

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Verhaltensbiologische Aspekte in einem  
experimentellen Kopfschmerzmodell**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Martina Scheinhof  
Tierärztin  
aus Borkum

Berlin 2010

Journal-Nr.: 3382

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Erster Gutachter: PD Dr. André Rex  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Fink  
Dritter Gutachter: PD Dr. Uwe Reuter

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

rats, animal models, headache, behaviour, interleukin 1, capsaicin

Tag der Promotion: 09.06.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-839-5

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2010

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

[verlag@menschundbuch.de](mailto:verlag@menschundbuch.de) – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

## Meinen Eltern

„Wer das Wissen vermehrt, vermehrt auch den Schmerz. Denn je größer die Erkenntnis, umso größer ist auch der Zweifel“



# Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG .....	1
2. LITERATURÜBERSICHT .....	3
<b>2.1 Kopfschmerz</b> .....	<b>3</b>
2.1.1 Das trigeminovaskuläre System .....	4
2.1.2 Neuropeptide und neurogene Entzündung .....	5
<b>2.2 Capsaicin</b> .....	<b>7</b>
2.2.1 Capsaicin in der Kopfschmerzforschung .....	9
<b>2.3 Interleukin-1<math>\beta</math></b> .....	<b>10</b>
2.3.1 Interleukin-1 $\beta$ in der Kopfschmerzforschung .....	11
<b>2.4 Kopfschmerzmodell am Versuchstier Ratte</b> .....	<b>13</b>
2.4.1 Schmerzsymptome bei der Ratte .....	13
2.4.2 Kopfschmerzmodelle .....	14
2.4.2.1 Vaskuläre Modelle .....	14
2.4.2.2 Neurovaskuläre Modelle .....	15
2.4.2.3 Die Elektrophysiologie der Neurone des trigeminozervikalen Komplexes (TZK) .....	18
2.4.2.4 Molekulare Studien .....	19
2.4.3 In dieser Arbeit verwendetes Kopfschmerzmodell .....	20
<b>2.5 Ethologische Betrachtung des Kopfschmerzes beim Menschen und daraus resultierende Verhaltenstests im Tierexperiment</b> .....	<b>22</b>
2.5.1 Pathologische humane Verhaltensmuster bei Kopfschmerz .....	22
2.5.2 Open Field .....	23
2.5.3 Ernährungsverhalten .....	25
2.5.4 Motorische Aktivität in gewohnter Umgebung .....	26
3. MATERIAL UND METHODEN .....	27
<b>3.1 Tiermaterial</b> .....	<b>27</b>
<b>3.2 Verwendete Substanzen</b> .....	<b>28</b>
<b>3.3 Technik der Operation</b> .....	<b>29</b>
<b>3.4 Versuchsanordnung und Tiergruppen</b> .....	<b>30</b>

<b>3.5 Versuchsdurchführung</b> .....	<b>32</b>
<b>3.6 Verwendete Verhaltenstests</b> .....	<b>35</b>
3.6.1 Open Field-Test.....	35
3.6.2 Untersuchungen im Heimatkäfig.....	36
<b>3.7 Versuchsauswertung und Statistik</b> .....	<b>37</b>
<b>4. ERGEBNISSE</b> .....	<b>39</b>
<b>4.1 Messung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig 5 Tage vor Versuchsbeginn/ Ausgangswertbestimmung</b> .....	<b>39</b>
4.1.1 Gruppe 1.....	39
4.1.2 Gruppe 2.....	42
<b>4.2 Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches</b> .....	<b>45</b>
4.2.1 Gruppe 1.....	45
4.2.2 Gruppe 2.....	48
4.2.3 Vergleich der Untergruppen „ohne OP“ (Gruppe 1) und „nur OP“ (Gruppe 2).....	51
<b>4.3 Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches</b> .....	<b>51</b>
4.3.1 Gruppe 1.....	51
4.3.2 Gruppe 2.....	60
<b>4.4 Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches</b> .....	<b>68</b>
4.4.1 Gruppe 1.....	68
4.4.2 Gruppe 2.....	74
<b>5. DISKUSSION</b> .....	<b>80</b>
<b>5.1 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1<math>\beta</math> auf das Verhalten im Open Field</b> .....	<b>81</b>
<b>5.2 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1<math>\beta</math> auf die motorische Aktivität</b> .....	<b>84</b>
<b>5.3 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1<math>\beta</math> auf die Futteraufnahme</b> .....	<b>88</b>
<b>5.4 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1<math>\beta</math> auf die Wasseraufnahme</b> .....	<b>93</b>
<b>5.5 Einsatz von Sprague-Dawley Ratten als Versuchstiere</b> .....	<b>94</b>
<b>5.6 Einfluss des Isoflurans auf das Verhalten der Versuchstiere, bedingt durch den Versuchsaufbau</b> .....	<b>96</b>
<b>5.7 Analyse der einzelnen Verhaltenstests hinsichtlich der Verwendung zur Beurteilung meningealen Schmerzes</b> .....	<b>98</b>
<b>5.8 Ausblick</b> .....	<b>99</b>

6. ZUSAMMENFASSUNG.....	101
7. SUMMARY.....	103
8. LITERATURVERZEICHNIS.....	105
DANKSAGUNG.....	122
SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	123

## Abkürzungsverzeichnis

Aqua dest	Aqua destillata
CFA	Complete Freund's Adjuvant
CGRP	calcitonin gene-related peptide
COX-2	Cyclooxygenase-2
CSD	Cortical spreading depression
DRG	dorsal root ganglion; Ganglion spinale; Gaglion der Radix dorsalis
et al.	et alii
etc.	et cetera
FHM	familiäre hemiplegische Migräne
Fos	Finkel osteosarcoma
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GTN	Glyceryltrinitrat
H <sup>+</sup>	Wasserstoff-Ion, Proton
hCGRP	spezifischer CGRP Antagonist
IHS	International Headache Society
IL	Interleukin, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$
IL-1ra	IL-1-Rezeptor-Antagonist
IL1RI	Interleukin-1-Rezeptor Typ I
IL1RII	Interleukin-1-Rezeptor Typ II
i.p.	intraperitoneal
n	Stichprobenumfang
NA	Noradrenalin
NaCl	isotonische Kochsalzlösung
NF- $\kappa$ B	nuclear factor-kappa-B
NKA	Neurokinin A
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
N. V	Nervus trigeminus
o.n.A.	ohne nähere Angaben
OP	Operation
PAG	periaquäduktale Grau
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin-E <sub>2</sub>
PPE	Plasma-Protein-Extravasation



SP	Substanz P
TRP-Kanal	Transient Rezeptor-Potential-Kanal
TRPV1	Transient Rezeptor-Potential-Vanilloid-Rezeptor-1
TZK	trigeminozervikalen Komplexes
VIP	Vasoaktives Intestinales Polypepid
vs.	versus
v/v	Volumenprozent
ZNS	Zentralnervensystem
$\alpha$ -MSH	$\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone
5-HT	5-Hydroxytryptam



## 1. Einleitung

22,5 Millionen Deutsche leiden regelmäßig unter Kopfschmerzen (Stiftung Kopfschmerz, 2009). Rund 54 Millionen Menschen in Deutschland geben Kopfschmerzen als bedeutende Gesundheitsstörung an (Göbel, 2009). Neben den sehr häufig auftretenden Formen, wie Spannungskopfschmerz oder Migräne, gibt es noch viele zahlreiche weitere Kopfschmerzformen, deren Ausprägungen bzw. Symptome sehr vielfältig sind. In Deutschland leiden etwa 6–8% aller Männer und 12–14% aller Frauen unter Migräne (Diener, 2002 a).

Epidemiologische Studien belegen die hohe Prävalenz und die immensen persönlichen und sozioökonomischen Auswirkungen (Castillo et al., 1998). Aktuelle Forschungen zeigen, dass allein die Migräne in Europa zu 27 Milliarden Euro direkter und indirekter Kosten führt (Göbel, 2009).

Die Behandlung insbesondere von chronischen Kopfschmerzen, das heißt Kopfschmerzen, die an mehr als 15 Tagen im Monat und länger als 3 Monate bestehen, gestaltet sich schwierig. Es existieren bereits einige Medikamente, jedoch lindern sie das Leid der Betroffenen zum Teil nur unzureichend. Zu vielfältig sind die Erscheinungsformen und die Triggerfaktoren, die mit Kopfschmerzerkrankungen in Zusammenhang gebracht werden können. Genetische Ursachen spielen zumindest bei einigen Kopfschmerzformen, wie z.B. bei der familiären hemiplegischen Migräne, eine prädisponierende Rolle (Ophoff et al., 1996; Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004).

Bei der Genese von Kopfschmerzen sind nur wenige Gewebe, die Meningen und die Sinus venosi, involviert, da viele Strukturen im Inneren des Kopfes nicht schmerzempfindlich sind. Werden nozizeptive Nervenfasern dieser Gewebe gereizt, wird diese Erregung über das Trigeminalganglion in die trigeminalen Hirnstammkerne weitergeleitet. Nach mehrfacher Umschaltung, u.a. auch im Thalamus, wird diese Erregung an mehrere Gebiete des Großhirns verteilt. Der Schmerz kann jetzt bewusst wahrgenommen werden. Das Gehirn schüttet Schmerzbotenstoffe aus, die über die Blutgefäße verteilt werden. Im Bereich der Hirnhäute sind diese Blutgefäße durch die Reizung permeabel geworden, was eine Extravasation der Botenstoffe auf die Hirnhäute ermöglicht. Hier kommt es nun zu einer neurogenen Entzündung.

Bei der Entstehung von primären Kopfschmerzen wird heute allgemein angenommen, dass ihr eine Fehlsteuerung dieses nozizeptiven Nervensystems im Gehirn zugrunde liegt.

Die nozizeptiven Nervenfasern der Hirnhäute scheinen bei dieser Fehlsteuerung eine wesentliche Rolle zu spielen. Die Erregung dieser Nervenfasern und ihrer nachgeschalteten Neurone im Hirnstamm sind deshalb Gegenstand der experimentellen Kopfschmerzfor-

schung. Einige Mediatoren, wie z.B. Histamin oder das calcitonin gene-related peptide, stehen in diesem Geschehen im Fokus der Forschung. Noch ist nicht vollständig geklärt, wie und ob verschiedene Mediatoren kaskadenartig miteinander in Verbindung stehen, wo der Prozess beginnt und welche Substanz für die Schmerzentstehung am wesentlichsten ist?

Verschiedene Forschergruppen konnten bereits im Tierversuch, durch die Stimulation der Dura mater, pathophysiologische Veränderungen hervorrufen, wie sie auch symptomatisch für eine Migräneattacke beim Menschen sind (Kurosawa et al., 1995; Reuter et al., 2000 und 2001; Holland et al., 2005; Bergerot et al., 2006). Das Prinzip der „rat cranial window technique“, welches in dieser Arbeit Anwendung fand, ist mehrfach beschrieben und erfolgreich in der Kopfschmerzforschung angewendet worden (Kurosawa et al., 1995; Strecker et al., 2002; Dux et al., 2002 und 2003). Wesentlich ist dabei, dass bis heute kein verhaltensgestütztes Kopfschmerzmodell existiert (Bergerot et al., 2006; Eikermann-Haerter & Moskowitz, 2008), das Untersuchungen an wachen Tieren ermöglicht und durch die Interpretation ihres Verhaltens die „face validity“ dieses Kopfschmerzmodelles überprüft.

Ziel dieser Arbeit sollte es deshalb sein neuroethologisch zu beweisen, dass Ratten meningealen Schmerz empfinden können und das in dieser Arbeit angewendete Kopfschmerzmodell zur Erforschung chronischen Kopfschmerzes zu etablieren.

Zu Beginn wurden bei allen Ratten, abgesehen von einer kammerlosen Kontrollgruppe, in einer Operation die Dura mater freigelegt und diese von einer wieder verschließbaren Kammer umgeben. Nach 2 Tagen Rekonvaleszenz wurden mit jeweils einem bzw. 2 Tagen zwischengelegter Ruhephase drei Verhaltensversuche durchgeführt. Diese wurden so ausgewählt, dass sie eine gute Vergleichbarkeit zu jenen Symptomen aufweisen, wie sie bei Menschen im Zuge einer Migräneattacke auftreten können.

Zur Herbeiführung einer meningealen Entzündung und damit der Auslösung von Schmerzen, wie sie bei Migräne auftreten, kamen zwei Substanzen zum Einsatz, die häufig Anwendung finden und verlässlich zu Entzündung führen: Capsaicin und Interleukin-1 $\beta$ .

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Kopfschmerz

Das Deutsche Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) definiert den Begriff „Kopfschmerz“ als Gesichtsschmerz o.n.A., atypischen Gesichtsschmerz, Migräne und sonstige Kopfschmerzsyndrome und Trigeminusneuralgie, wobei zahlreiche Unterteilungen eine genauere Spezifizierung ermöglichen (DIMDI, 2009).

Zur besseren Klassifizierung erfolgt die Einteilung nach der Ursache der Schmerzentstehung.

Man spricht in diesem Kontext von primären oder sekundären Kopfschmerzerkrankungen. Zu letzteren zählen z.B. Kopfschmerzen, die infolge eines Krankheitsgeschehens ausgelöst wurden, als Beispiel wären an dieser Stelle das Glaukom, die Arteriitis oder Hirnblutungen zu nennen.

Primäre Kopfschmerzerkrankungen unterteilt die International Headache Society (IHS) in 1. Migräne, 2. Kopfschmerzen vom Spannungstyp, 3. Clusterkopfschmerzen und andere trigemino-autonome Kopfschmerzerkrankungen und 4. andere primäre Kopfschmerzen (z.B. primärer Hustenkopfschmerz) (Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004).

Die häufigsten Kopfschmerztypen sind Migräne mit und ohne Aura und Kopfschmerzen vom Spannungstyp. Die IHS gliedert die verschiedenen Formen anhand ihrer typischen diagnostischen Kriterien, wie z.B. einseitige (Hemikranie) oder beidseitige Lokalisation, Schmerzintensität, Übelkeit und/oder Erbrechen oder Auftreten von neurologischen Defiziten, wie sie bei der sog. Migräneaura vorkommen.

Vasomotorisch bedingter Kopfschmerz wie z.B. Migräne und Clusterkopfschmerz sind typischerweise von intracranialen Blutflußänderungen begleitet (Strecker et al., 2002). Dabei kommt es sowohl in den cerebralen als auch in den meningealen Blutgefäßen zu einem Blutflußanstieg. Versuche von Moskowitz et al. deuten darauf hin, dass die Blutflußänderung in der Dura mater ein wichtiges Phänomen im Rahmen der Schmerzentstehung ist (Moskowitz et al., 1989; Moskowitz, 1990). Nach heutigem Wissensstand ist noch unklar, ob es sich hierbei um ein primäres oder sekundäres Phänomen handelt. Neuere Untersuchungen scheinen aber darauf hinzuweisen, dass die Vasodilation eher ein Epiphänomen ist. In klinischen *in vivo* Studien, an Menschen während einer Migräneepisode durchgeführt, konnte eine gute Wirksamkeit des calcitonin gene-related peptide (CGRP) Rezeptor Antagonisten „BIBN 4096 BS“ gezeigt werden, obwohl dieser dabei keinen vasokonstriktorisches Effekt hervorrief (Olesen et al., 2004).

Neben der Veränderung des Blutflusses kommt es im Tierversuch auch zu einer sog. neurogenen Entzündung. Diese wird durch vasoaktive Neuropeptide hervorgerufen, die von sensorischen Nervenfasern entlassen werden, die die Blutgefäße innervieren und auf entsprechende Stimuli reagieren (Moskowitz, 1993).

Innerhalb des Gehirns sind lediglich einige Strukturen wie die Meningen, bestehend aus Dura mater und Leptomeninx (Pia mater und Arachnoidea) und die „Sinus venosi“ (venöse Blutleiter) in der Lage, nociceptive Signale zu erzeugen (Mayberger et al., 1981; Henke & Erhardt, 2001; Bolay et al., 2002). Vor diesem Hintergrund rückten in den letzten Jahrzehnten die Entstehung bzw. der Mechanismus der meningealen Vasodilatation und damit involvierte Neuropeptide in den Fokus der Kopfschmerzforschung.

Anhand von vorhergehenden tierexperimentellen und *in vivo* durchgeführten Arbeiten geht man heute davon aus, dass es durch einen Stimulus an der Dura mater zu einer Sensibilisierung von perivaskulären Nervenendigungen kommt, die dann eine neurogene Inflammation hervorrufen. Als Hauptkomponenten dieser Entzündung werden die Ausschüttung von Neuropeptiden, v. a. CGRP, und eine konsekutive Vasodilatation angesehen.

Die Aktivierung von Nozizeptoren im Bereich der meningealen Blutgefäße führen in ca. 70% der Fälle zunächst zu einer Sensibilisierung von peripheren trigeminalen Neuronen. Im weiteren Verlauf werden dann auch die nachgeschalteten zentralen Trigeminal-Neurone sensibilisiert. Durch die Sensibilisierung der sensorischen, perivaskulären Fasern kommt es zu einer Hyperalgesie und Gefäßpulsation, die als pulsierender und pochender Migräneschmerz wahrgenommen wird.

Kopfschmerz ist also immer ein trigeminal vermitteltes Phänomen.

### 2.1.1 Das trigeminovaskuläre System

Typisches Symptom bei der Migräne ist das unilaterale Auftreten des Schmerzes, dessen Lokalisation dem Versorgungsgebiet des Nervus trigeminus entspricht.

Der Nervus trigeminus innerviert beim Menschen und vielen anderen Säugetieren, unter anderem auch bei der Ratte, die cerebralen Blutgefäße (Suzuki et al., 1989) und die Meningen (Buzzi et al., 1991) mit zahlreichen schmerzsensitiven c-Fasern (Mayberger, 1981; Bolay et al., 2002; Davis & Dostrovsky, 1988).

Eine Vielzahl der Nervenfasern in der Dura mater stehen in engem Kontakt zu den duralen Blutgefäßen und führen dort, durch Neuropeptide vermittelt, zu vielfältigen Reaktionen (Edvinsson & Uddman, 1981; Meßlinger et al., 1993). Diese können von vasomotorischer Art

sein und z.B. eine Vasodilatation hervorrufen oder durch Plasmaproteinextravasation zu Entzündungsreaktionen führen. Bei Versuchen von Edvinsson und Uddman mit Meerschweinchen konnte gezeigt werden, dass alle vier verschiedenen Nervenfasertypen, Acetylcholinesterase (AChE)-positive Nervenfasern, Noradrenalin (NA)-enthaltende Nervenfasern sowie Fasern, die Vasoaktives Intestinales Polypeptid (VIP) und Substanz P (SP) enthalten, wenn auch in unterschiedlicher Häufung, auch ohne direkte Verbindung zu Blutgefäßen vorlagen. Man vermutete schon 1981, dass sie durch die Assoziation mit sensiblen Strukturen bei der Pathogenese des Kopfschmerzes beteiligt sind (Edvinsson & Uddman, 1981).

Heute weiß man, dass die Wahrnehmung des Schmerzes durch eine Aktivierung zentraler, sekundärer trigeminaler Neurone (Uhl et al., 1991) mit anschließender Weiterleitung über den Thalamus zum primär sensorischen Kortex hervorgerufen wird.

Andres et al. veröffentlichten 1987 bereits eine topographische Übersicht über die Innervation und Blutversorgung der Dura mater (Andres et al., 1987).

Das trigeminovaskuläre System umfasst alle c-Fasern, die vom trigeminalen Ganglion zur ipsilateralen Seite der Meningea ausstrahlen.

Diese Nervenfasern erhielten besondere Beachtung seit gezeigt wurde, dass sie vasoaktive Neuropeptide wie z.B. calcitonin gene-related peptide (CGRP), SP, VIP oder Neurokinin A (NKA) enthalten (Edvinsson et al., 1998; Meßlinger et al., 1993; Keller & Marfurt, 1991; Knyihar-Csillik et al., 1995). Dabei können verschiedene Neuropeptide in derselben Nervenfasern enthalten sein (Edvinsson et al., 1998).

Untersuchungen an Patienten während einer Kopfschmerzepisode zeigten, dass eine Aktivierung des trigeminalen Systems eine Freisetzung der Neuropeptide SP und CGRP verursacht (Goody et al., 1988). Diese Ergebnisse wurden durch tierexperimentelle *in vivo* Untersuchungen an der Ratte bestätigt (Limmroth et al., 2001).

### 2.1.2 Neuropeptide und neurogene Entzündung

Nozizeptoren sind Sinnesrezeptoren für noxische Stimuli. Sie gehören zu den langsam leitenden Afferenzen mit dünn myelinisierten  $\alpha\delta$ -(Gruppe III-) und unmyelinisierten c-(Gruppe IV-) Fasern.

Ein Teil der dünnen afferenten Nervenfasern der Dura mater leitet nicht nur Aktionspotentiale orthodrom an das zentrale Nervensystem und sorgt für eine entsprechende Antwort auf die von ihr innervierten Gefäße, sondern kann im Innervationsareal der peripheren Nervenendi-

gung zu einer Vielzahl von Veränderungen u.a. der neurogenen Entzündung, führen (Herbert & Holzer, 2002). Da diese Form der Nozizeption antidrom verläuft, spricht man auch von antidromer Vasodilatation oder Axonreflex.

Im Tierexperiment konnte eine meningeale Inflammation durch die elektrische Stimulation des Ganglion Trigeminale (Dimitriadou et al. 1992), aber auch durch lokale oder systemisch applizierte Substanzen hervorgerufen werden.

Auch das proinflammatorische Zytokin Interleukin (IL) und der Vanilloid-Rezeptoragonist Capsaicin können eine meningeale Entzündung hervorrufen (Herbert & Holzer, 2002).

Louis et al. bewiesen bereits 1989, dass sowohl CGRP als auch SP als potente Vasodilatoren eine Rolle in der neurologischen Entzündungsantwort spielen (Louis et al., 1989). Neuere Studien belegten dies (Edvinsson & Uddmann, 2005). Die Neuropeptide (SP, CGRP, NKA) interagieren mit Rezeptoren der Endothelschicht und/oder der glatten Muskulatur und verursachen damit eine Vasodilatation (Dimitriadou et al., 1992). Des Weiteren verursachen SP und NKA eine erhöhte Gefäßpermeabilität in der Dura mater, was zu einer Extravasation von Plasmaproteinen führt, und sie aktivieren Zellen, die bei der Entzündungsantwort beteiligt sind (Moskowitz, 1984 und 1993; Dimitriadou et al., 1992).

Viele Neuropeptide haben Einfluss auf die duralen Mastzellen. Sie sorgen zusätzlich für eine Ausschüttung von vasoaktiven Substanzen, wie z.B. Histamin (Ottosson & Edvinsson, 1997) und beeinflussen auf diesem Wege auch die neurogene Entzündung.

Die Bedeutung der neurogenen Inflammation in der Genese von Kopfschmerzen ist noch nicht vollständig geklärt. Ältere Hypothesen, basierend auf vorklinischen Beobachtungen, gingen davon aus, dass die Aktivierung trigeminaler sensorischer Nervenfasern in einer schmerzhaften neurogenen Entzündung mündet. Charakteristische Elemente waren, wie oben beschrieben, Plasmaprotein-Extravasation, Vasodilatation und Mastzell-Degranulation (Williamson & Hargreaves, 2001).

Interessanterweise brachten potenzielle Medikamente wie die Neurokinin-1 (NK-1) Rezeptor Antagonisten, die in vorklinischen Versuchen erfolgversprechend waren (Phebus et al., 1997), keine Wirkung bei der Behandlung der akuten Migräne beim Menschen (Goldstein et al., 1997; May & Goadsby, 2001).

In der heutigen Wissenschaft verliert die neurogene Entzündung in der Genese von Kopfschmerzen deshalb zunehmend ihre elementare Bedeutung. Der Fokus der Wissenschaft richtet sich heutzutage vielmehr auf die Ausschüttung bestimmter Neuropeptide und ihrer Aufgabe bei der Entstehung von Kopfschmerz.



Zwischenzeitlich wurden weitere Studien an Patienten durchgeführt, die Übereinstimmungen mit den tierexperimentellen Arbeiten zeigten.

Klinische Studien wiesen u.a. einen erhöhten CGRP-Spiegel im venösen Blut von Patienten im Verlauf einer Migräne-Attacke nach (Goadsby & Edvinsson, 1994), auch wenn eine neuere Arbeit dies nicht reproduzieren konnte (Tvedskov et al., 2005).

Interessanterweise konnte Migräne *in vivo* beim Menschen durch die Behandlung mit CGRP Rezeptor Antagonisten erfolgreich therapiert werden (Olesen et al., 2004; Ho et al., 2008).

Edvinsson & Uddman konnten anhand von klinischen Studien belegen, dass es zu unterschiedlichen Konzentrationserhöhungen der verschiedenen Neuropeptide im Jugularvenenblut von Patienten kam, abhängig davon, unter welcher Form von Kopfschmerz sie litten (Edvinsson & Uddman, 2005). Diese Studien belegten die elementare Bedeutung der Ausschüttung von Neuropeptiden, insbesondere von CGRP, bei der Entstehung von Kopfschmerzen.

## 2.2 Capsaicin

Capsaicin (8-Methyl-N-Vanillyl-6-Nonamid) ist ein Wirkstoff pflanzlichen Ursprungs, der zu den Vanilloiden gehört. Er kann aus Pflanzen der Gattung *Capsicum* gewonnen werden. Dazu zählt u.a. die Paprika- oder auch die Chili-Pflanze, die besonders reich an Capsaicin ist. Bekannt ist Capsaicin als Bestandteil des Cayennepfeffers, der zum Würzen von Speisen eingesetzt wird. Typisch für ihn sind sein scharfer Geschmack und ein sehr starkes Brennen auf Haut und Schleimhaut. Diesen Effekt macht sich die Humanmedizin zunutze. Als Bestandteil von Salben, Schmerzplastern oder Tinkturen soll Capsaicin schmerzlindernd wirken und über eine Erythembildung Muskelverspannungen lösen.

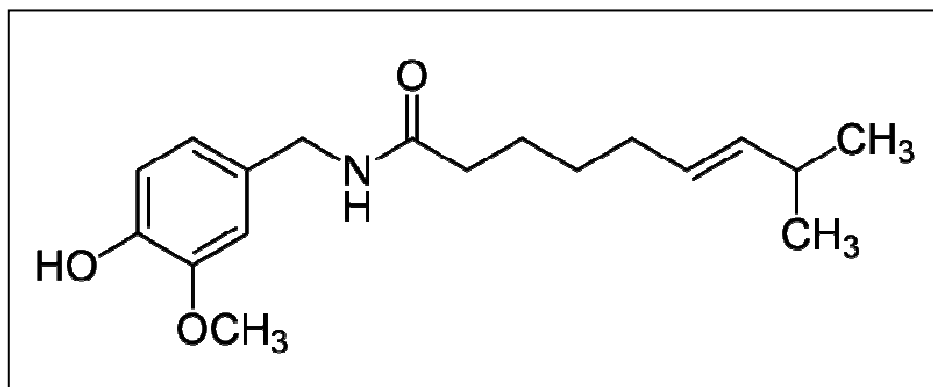


Abb. 1: Capsaicin, Strukturformel

Capsaicin bindet an den Hitze-Vanilloid-Rezeptor (TRPV1/VR1). Der TRPV1 gehört zur Familie der Transient-Rezeptor-Potential-(TRP-)Kanäle (Montell et al., 2002; Szallasi & Blumberg, 1999).

TRP-Kanäle sind in die sensorische Signaltransduktion involviert (Caterina et al., 1997), die der Verarbeitung von z.B. süßen, bitteren oder mechanischen Reizen dient.

Vanilloid-Rezeptoren werden ubiquitär im ZNS exprimiert. Eine besonders hohe Expression des TRPV1 findet man unter anderem in trigeminalen Neuronen (Szallasi & Blumberg, 1999), dabei können sowohl unmyelinisierte c-Faser-Neurone als auch dicke myelinisierte a $\delta$ -Faser-Neurone Capsaicin sensitiv sein (Buck & Burks, 1986; Holzer, 1991).

Versuche von Stucky et al. zeigten allerdings, dass auch mittelgroße, sonst Capsaicin un-sensible Neurone nach Vorinkubation mit Bradykinin durch Capsaicin aktiviert werden konnten (Stucky et al., 1998).

Heute weiß man, dass der analgetische Effekt des Capsaicins von einer Degeneration von Nervenfasern ausgeht (Simone et al., 1998), dabei ist die Höhe der verabreichten Dosis entscheidend. In dieser Testreihe verglichen Simone et al. intradermale Injektion und topikale Applikation auf die menschliche Haut miteinander und fanden heraus, dass die Form der Verabreichung in diesem Fall nicht entscheidend ist.

Capsaicin kann neben dem bereits erwähnten analgetischen Effekt aber auch zu einer Allergie führen, weshalb es zur wichtigsten Substanz in der Erforschung neurogener Entzündung und der sie auslösenden nozizeptiven Afferenzen wurde.

Bei akuter Anwendung tritt der exzitatorische Effekt in den Vordergrund, während nach systemischer hochdosierter oder lokal wiederholter Anwendung eine inhibitorische Wirkung zu verzeichnen ist (Herbert & Holzer, 2002).

### 2.2.1 Capsaicin in der Kopfschmerzforschung

Der Vanilloid-Rezeptor-Agonist Capsaicin ist ein bereits etablierter Wirkstoff in der Wissenschaft. In der Kopfschmerzforschung wird er in Modellen angewendet, die der Erforschung des akuten Schmerzes dienen. Alle zurzeit erhältlichen Medikamente, die zur Behandlung akuter Kopfschmerzen eingesetzt werden können, haben in Versuchen erfolgreich verschiedene Capsaicin induzierte Paradigmen, die mit Kopfschmerzen assoziiert werden, gehemmt. Die Wirkungsintensität und -dauer von Capsaicin ist abhängig von der Konzentration der Capsaicinlösung, die angewandt wird, dem Applikations- bzw. Injektionsort und der Häufigkeit der Anwendung.

Die Behandlung von neugeborenen Ratten mit Capsaicin führt zu einer irreversiblen lebenslang anhaltenden Ablation der afferenten c-Fasern. Bei Ratten, die erst im Erwachsenenalter mit Capsaicin behandelt wurden, hält die neurotoxische Wirkung nur einen begrenzten Zeitraum an (Gamse, 1982).

Bei topischer Applikation von Capsaicin auf die Dura mater von Ratten konnte man lediglich eine Wirkungsdauer von ca. 9 Minuten beobachten (Dux et al., 2003).

In vielen Versuchen wurde Capsaicin als chemischer Stimulus eingesetzt, wodurch eine direkte und indirekte Wirkung auf die Gefäßmuskulatur und das Hervorrufen einer meningealen Entzündung nachgewiesen werden konnte. Dabei führte die Stimulation mit Capsaicin bei der Gefäßmuskulatur dosisabhängig einerseits zu einer Vasokonstriktion zum anderen zu einer Vasodilatation.

Bei dem vasokonstriktorischem Effekt scheint Capsaicin eine direkte Wirkung auf die Muskelzellen, vermittelt durch einen Calcium-Einstrom, zu haben (Toda et al., 1972; Duckles, 1986; Edvinsson et al., 1990).

Die indirekte Wirkung auf die glatte Muskulatur von Gefäßen führt, über die Freisetzung von Neurotransmittern aus den Vanilloid-Rezeptoren, zu einer Vasodilatation.

Frühere Veröffentlichungen zeigten, dass eine orthodrome chemische Aktivierung mit Capsaicin eine Freisetzung von Neuropeptiden aus den trigeminalen Gefäßnervenfasern der Dura mater verursacht (Jancsó et al., 1977; Holzer, 1991; Dimitriadou et al., 1992).

Vorausgehende Studien besagten auch, dass der vasodilatorische Effekt des Capsaicins von Capsaicin-unsensiblen primären afferenten Nerven hervorgerufen wird (Peitl et al., 1999).

CGRP, heute als wichtigster Mediator des vasodilatorischen Effekts bei der Stimulation von sensorischen Nerven bekannt (Brain et al., 1985), ist aber sowohl in Capsaicin-sensitiven als auch in Capsaicin-unsensitiven Nerven enthalten (Carr et al., 1990).

Neben CGRP führen in Capsaicin-sensitiven sensorischen Nerven hauptsächlich die Neurotransmitter SP und NKA zu einer Vasodilatation (Holzer, 1991; Szallasi & Blumberg, 1999).

In neueren Versuchen von Dux et al. konnte durch direkte Applikation des Capsaicins auf die Dura mater sowohl die Existenz von Capsaicin-sensitiven Nerven in der Dura mater von Ratten nachgewiesen werden, als auch die fundamentale Rolle des CGRP bei der duralen Vasodilatation gezeigt werden. Der spezifische CGRP Antagonist hCGRP inhibiert den vasodilatatorischen Effekt des Capsaicins (Dux et al., 2003).

Die Relevanz des TRPV1 im Schmerzgeschehen konnte durch den Einsatz sogenannter TRPV1-knockout Mäuse, die eine deutliche Reduktion der Hyperalgesie zeigten, bewiesen werden (Caterina et al., 2000; Davis et al., 2000).

### 2.3 Interleukin-1 $\beta$

Interleukine gehören der Gruppe der Zytokine an. In der Reihenfolge ihrer Entdeckung wurden sie in Untergruppen eingeteilt und mit Zahlen benannt. Im Wesentlichen handelt es sich um regulatorische Proteine, die von einer Vielzahl von Zellarten gebildet werden können. Jüngste Studien haben bidirektionale, durch Zytokine vermittelte Interaktionen zwischen Immun- und Nervensystem dargestellt (Hou et al., 2003, Dantzer, 2004). Zytokine haben sowohl eine direkte rezeptorvermittelte Auswirkung auf afferente Nervenfasern als auch eine indirekte, die andere Mediatoren mit einbeziehen (Sommer & Kress, 2004).

Zur Interleukin (IL)-1-Familie gehören drei Mitglieder: Interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) und der natürlich vorkommende IL-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1ra) (Dinarello, 1994). Sie zählen zu den proinflammatorischen Zytokinen und spielen eine entscheidende Rolle in der Generierung der systemischen und lokalen Antwort bei Infektionen, Verletzungen und Immunerkrankungen (Quagliarello et al., 1991).

Die Mitglieder der IL1-Familie binden an zwei Rezeptortypen. Jedoch nur der IL-1-Rezeptor Typ I (IL1RI), der in geringer Anzahl auf fast allen Zelloberflächen vorkommt, vermittelt eine zelluläre Antwort (Sims et al., 1993).

Der IL-1-Rezeptor Typ II (IL1RII), der auf vielen Zellen, in erster Linie aber auf neutrophilen Granulozyten, Monocyten und B-Lymphocyten vorkommt, ist trotz Bindung von IL-1 nicht in der Lage, Signale weiterzuleiten (Stylianou et al., 1992), er fungiert vielmehr als „decoy“-Rezeptor, der durch das Einfangen des Liganden dessen Wirkungen begrenzt (Colotta et al., 1994).

Eine weitere Möglichkeit IL1 $\alpha$  und IL1 $\beta$  in seiner Wirksamkeit einzudämmen, ist die Konkurrenz der Rezeptorbindungsstellen mit dem IL-1-Rezeptor Antagonisten.

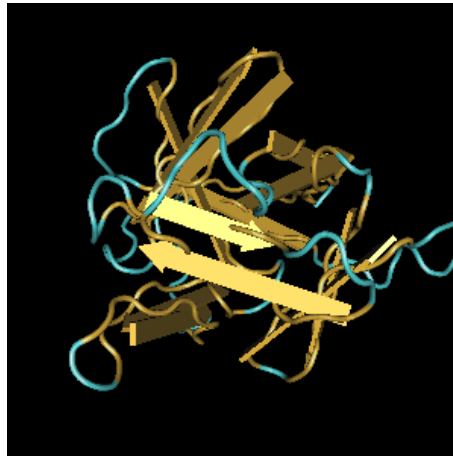


Abb. 2: humanes IL-1 $\beta$  (PubMed, 2009)

IL-1 $\beta$  zählt zu den potenten endogenen Pyrogenen. Schon wenige Nanogramm genügen, um z.B. Fieber, einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten, der Thrombocyten, der Akute-Phase-Proteine und des zirkulierenden Interleukin-6 zu bewirken (Dinarello, 2005).

IL-1 $\beta$  ist ein Stimulator jener Neurone, die im Hypothalamus Corticotropin Releasing Hormone ausschütten und führt darüber zu einer Stimulation von ACTH und der Kortisonausschüttung in den Nebennieren bei Entzündungsreaktionen (Rivest et al., 2000).

### 2.3.1 Interleukin-1 $\beta$ in der Kopfschmerzforschung

Der Einsatz von IL-1 $\beta$  ist in der Forschung heute weit verbreitet. Seine Rolle bei der Entstehung von Entzündungen ist nach heutigem Wissensstand größtenteils erforscht.

In der Blutbahn zirkulierendes IL-1 $\beta$  aktiviert den IL1RI, der auch in Gehirndothelzellen vorkommt. Über den nuclear-factor-kappa-B (NF- $\kappa$ B)-Signalweg kommt es zur Transkription von Cyclooxygenase-2 (COX-2). IL-1 $\beta$  führt darüber hinaus zu einer vermehrten Bildung des im Gehirnparenchyms löslichen Stoffes Prostaglandin-E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (Rivest et al., 2000).

Vermutlich ist PGE<sub>2</sub> an der Entstehung von Sensibilisierungsvorgängen beteiligt. Versuche belegten, dass PGE<sub>2</sub>, welches bei Migränepatienten vermehrt vorkommt, entscheidend an der Auslösung von Schmerzen beteiligt ist (Millan, 1999).

Burstein (2001) konnte zeigen, dass eine Migräneattacke zu ca. 70 % mit einer Sensibilisierung einhergeht. Neuere Untersuchungen von Wienecke et al. (2009) bewiesen, dass PGE<sub>2</sub> darüberhinaus zu einer Induktion von Migräneattacken beim gesunden Menschen führt.

Dosisabhängig führt IL-1 zu einem biphasischen Effekt: Hohe Dosen verursachen Analgesie, während niedrige Dosen Hyperalgesie hervorrufen.

Man geht davon aus, dass die Sensibilisierung für den hyperalgetischen Effekt einer „low dose“ („nonpyrogenic dose“) IL-1 $\beta$  Behandlung verantwortlich ist. Der Effekt des IL-1 $\beta$  konnte sowohl durch eine Vorbehandlung mit IL-1ra und  $\alpha$ -Melanozyten-stimulierendes Hormon ( $\alpha$ -MSH), als auch mit dem antiinflammatorisch wirksamen Natriumsalicylat komplett unterbunden werden (Bianchi et al., 1998).

Im Tierexperiment mit Mäusen reduzierten neutralisierende Antikörper für IL-1 schmerzassoziiertes Verhalten (Sommer & Kress, 2004).

In der Kopfschmerzforschung ist IL-1 $\beta$  bereits lange etabliert. IL-1 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 $\beta$  zuverlässig eine inflammatorische Reaktion in den meisten Geweben aus, aktiviert vermutlich das trigeminale System und sensibilisiert bestimmte neuronale Systeme, was die bidirektionalen Interaktionen zwischen Nerven- und Immunsystem belegt. Hou et al. zeigten dazu in ihrer Studie zum ersten Mal, dass IL-1 $\beta$  direkt zu einem Anstieg der CGRP-Ausschüttung führt, verursacht durch eine Steigerung der CGRP-Gen-Transkription und -Translation (Hou et al., 2003). Dabei ist der Anstieg der CGRP Synthese und Freisetzung, vermittelt durch den NF- $\kappa$ B-Signalweg, abhängig von der Konzentration der IL-Lösung und von der Zeit der vorherigen Inkubation (Li et al., 2004). Wie bereits erläutert, ist CGRP, welches in den Neuronen des DRG (dorsal root ganglion) synthetisiert wird, ein wesentlicher Mediator in der neurogenen Inflammation.

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). Die Ödembildung, im Zuge der neurogenen Entzündung, ist essentieller Bestandteil in experimentellen Kopfschmerzmodellen.

Durch die Behandlung mit Complete Freund's Adjuvant (CFA) konnten Samad et al. zeigen, dass es in verschiedenen Regionen des ZNS zu einer erhöhten COX-2 Expression und damit verbunden zu einer erhöhten PGE<sub>2</sub>-Konzentration im Liquor kommt. CFA führt, nach Aussage der Autoren, zu einer massiven Hochregulation von IL-1 $\beta$ . Dies ist der größte Verursacher der COX-2 Expression im ZNS (Samad et al., 2001). Weiterhin wurde nachgewie-

sen, dass die höchste Konzentration an COX-2 messenger RNA 6 Stunden nach der Inflammation messbar war.

Da Interleukin zeitlich wesentlich längere physiologische und biochemische Wirkungen hervorruft als Capsaicin, wird es vornehmlich in Tiermodellen angewendet, die der Erforschung länger andauernden Schmerzes dienen.

## 2.4 Kopfschmerzmodell am Versuchstier Ratte

### 2.4.1 Schmerzsymptome bei der Ratte

Die Definition für Schmerz, modifiziert nach der International Association for the Study of Pain, lautet:

„Schmerz ist eine unangenehme Empfindung und ein emotionales Erlebnis, das mit einem aktuellen oder potentiellen Gewebeschaden einhergeht“ (Henke & Erhardt, 2001).

Die physiologischen und biochemischen Prozesse bei der Entstehung und Erregungsleitung von Schmerzen sind bei Mensch und Tier gut erforscht und die Ergebnisse sind vom Tier auf den Menschen und umgekehrt weitgehend übertragbar (Zimmermann, 1983; Henke & Erhardt, 2001).

Die Forschung geht zurzeit davon aus, dass höher entwickelte Wirbeltiere auch zu einem Zustand fähig sind, der dem Empfinden von Schmerzen bei Menschen ähnlich ist (Bernatzky, 1997).

Der Schlüssel zum Erkennen von Schmerzen bei Tieren liegt also im Verständnis ihres artspezifischen Verhaltens (Henke & Erhardt, 2001) und der Fähigkeit, Rückschlüsse aus bestimmten Symptomen zu ziehen.

Generell weiß man heute, dass Beutetiere wie die Ratte Schmerzverhalten eher unterdrücken, um Fressfeinde nicht auf sich aufmerksam zu machen.

Aus diesem Grund haben verschiedene Arbeitsgruppen versucht, Bewertungssysteme zu entwickeln, mit denen Schmerz objektiver beurteilt werden kann (Morton & Griffiths, 1985; FELASA, 1994).

Aufgrund umfangreicher Forschungen auf dem Gebiet der Versuchstierbiologie und der bereits erwähnten Bewertungssysteme gibt es einige Verhaltensweisen oder Symptome, die darauf schließen lassen, dass eine Ratte Schmerzen empfindet und mit entsprechenden Folge-

erscheinungen reagiert. Verkriechen, Diarrhöe, plötzliche Aggression oder ein stumpfes Haarkleid sind nur einige Beispiele.

Nach dem heutigen Stand der Forschung werden zahlreiche Verhaltensauffälligkeiten als typische Indizien für ein erkranktes Tier angesehen. Kent et al. fasste jene unspezifischen Verhaltensänderungen, die im Zuge einer Erkrankung auftreten, als „sickness behavior“, in dieser Arbeit mit dem Begriff des Krankheitsverhaltens übersetzt, zusammen (Hart, 1988; Kent et al., 1992).

### 2.4.2 Kopfschmerzmodelle

Im Rahmen der Kopfschmerzforschung wurden zahlreiche, zum Teil sehr unterschiedliche Modelle entwickelt, die uns zu unserem heutigen Wissensstand geführt haben.

Als Standardverfahren zur Induktion einer neurogenen Entzündung etablierte sich im Tierversuch die elektrische Reizung peripherer Nerven oder die lokale Applikation von Capsaicin bzw. Senföl. Am Menschen durchgeführte Untersuchungen erfolgen vorwiegend mit Capsaicin und Senföl (Herbert & Holzer, 2002).

Kopfschmerzen in ihrer Komplexität sind so vielfältig, dass es bis heute noch nicht gelungen ist, ein Modell zu entwickeln, das alle pathologischen Veränderungen und Auffälligkeiten miteinander vereint.

In erster Linie dienen Kopfschmerzmodelle der Erforschung von Migräne. Eine sehr gute Übersicht über das Zusammenspiel der gebräuchlichsten Kopfschmerzmodelle und der gängigsten Migräne-Pharmaka liefert die Übersichtsarbeit von De Vries et al. (1999).

Kopfschmerzmodelle, die der Erforschung von Migräne dienen, sind so ausgerichtet, dass sie das trigeminovaskuläre System aktivieren. Den Nervus trigeminus (N. V) kann man im Tierexperiment elektrisch, chemisch oder immunologisch aktivieren.

#### 2.4.2.1 Vaskuläre Modelle

Eine der einfachsten Modelle im Bereich der Kopfschmerzforschung stellt die *in vitro* Untersuchung an isolierten Blutgefäßen dar. Sie wird gern herangezogen, um Interaktionen zwischen Rezeptoren und Medikamenten zu untersuchen, da viele Störfaktoren wie z.B. zirkulierende Hormone, dabei ausgeschlossen werden können (Maassen VanDenBrink et al., 2000).

Daneben existieren aber auch *in vivo* Tiermodelle mit ganz unterschiedlichen Fragestellungen. Dabei geht es z.B. um die Erzeugung einer Vasodilatation, wie sie im Zuge einer Migräneattacke zu finden ist.



#### 2.4.2.2 Neurovaskuläre Modelle

Zur Gruppe der neurovaskuläre Kopfschmerzmodell werden zahlreiche Versuchsmethoden gezählt, mit deren Hilfe über unterschiedliche Untersuchungstechniken verschiedene biochemische und physiologische Parameter bestimmt werden können:

##### I) Finkel osteosarcoma (Fos)-Expression

Das Fos-Protein, welches zuerst aus humanen Tumoren isoliert wurde, gehört zur Gruppe der Akute Phase Proteine und wird in der heutigen Forschung im Zuge einer Fos-Protein-Immunreaktion als nozizeptiver Marker verwendet (Mitsikostas & Sanchez del Rio, 2001).

Eine Fos-Expression im trigeminalen Nukleus kann durch mechanische bzw. elektrische Stimuli des trigeminalen Ganglions selbst, des Sinus sagittalis superior oder durch chemische Stimuli von extrakraniellen bzw. intrakraniellen Geweben ausgelöst werden, sofern diese vom N. V innerviert sind, ferner durch die Auslösung einer Cortical spreading depression (CSD) (Mitsikostas & Sanchez del Rio, 2001).

Auf der Grundlage dieses Modells war es möglich, die neuronale Aktivierung des trigeminovaskulären Systems kartographisch zu erfassen (Goadsby & Hoskin, 1997).

##### II) CSD als ein Modell für Migräne mit Aura

Die sogenannte CSD, die erstmals von Aristide Leão im Kaninchen beobachtet wurde (Leão, 1944), zeigt sich durch eine Suppression der Hirnaktivität und eine Absenkung des kortikalen Gleichspannungspotentials.

Die CSD beginnt meist spontan an einem Punkt und breitet sich wellenartig, in konzentrischen Kreisen, mit einer Geschwindigkeit von 2-5 mm pro Minute aus. Dabei bleibt sie in der Regel auf eine Hemisphäre beschränkt. In den betroffenen Gebieten depolarisieren die Zellmembranen der Neurone, die elektrisch messbare Aktivität bricht praktisch völlig zusammen. Die CSD ist als wandernde Welle neuronaler und glialer Depolarisation zu charakterisieren. Weiterhin ist ein Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration über eine kritische Schwelle von ungefähr 10 mM zu verzeichnen, die zu weiteren Zelldepolarisationen und damit zum erneuten Ausstrom von Kaliumionen und zur nochmaligen Erhöhung der extrazellulären Konzentration auf mehr als 50 mM führt. Andere Ionen und Metaboliten wie z.B. NO, H<sup>+</sup>, Glutamat oder Adenosin werden zusätzlich ausgeschüttet und verstärken die Depolarisation. Es kommt nach der Depolarisation zu einer temporären Untererregbarkeit der Zellen (Somjen, 2001).

Mit dem Kaliumausstrom einher geht der Einstrom von Natrium-, Kalzium- und Chlorionen, freies Wasser folgt, so dass der Extrazellulärraum auf etwa die Hälfte schrumpft.

Die Glukosekonzentration sinkt mit jeder Depolarisationswelle, während dem gegenüber die Laktatkonzentration zunimmt. Periodisch auftretende Depolarisationswellen, die das Hirngewebe durchziehen, verschlechtern somit schrittweise die Energiebilanz. Ein Kompensationsmechanismus sorgt allerdings dafür, dass das Gewebe unter physiologischen Bedingungen nicht bleibend geschädigt wird. An jede Depolarisation ist ein Anstieg der regionalen Durchblutung gekoppelt, wodurch verbrauchtes Substrat effektiv ersetzt und die Sauerstoffbilanz ausgeglichen wird.

Eine langsame Ausbreitung dieser Depolarisation über das Sehzentrum wird als elektrophysiologisches Korrelat wandernder Flimmerskotome angesehen, die häufig während einer Migräneaura beobachtet werden können (Hadjikhani et al., 2001; Richter & Lehmenkühler, 2008).

Die CSD kann in Versuchstieren durch die Applikation von chemischen Substanzen, wie z.B. Kalium ( $K^+$ ), durch mechanische (Nadelstiche) oder durch elektrische Stimuli des Cortex ausgelöst werden (Reuter et al., 2000).

### III) Stickstoffmonoxid (NO)

NO wird durch seine unpaarige Elektronenbindung zu den freien Radikalen gezählt. Es kommt als neuronaler Botenstoff sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem vor (Moncada et al., 1991).

Infusionen von Glyceryltrinitrat (GTN), das nur eine kurze Halbwertszeit im Körper hat und in NO metabolisiert werden kann (man spricht daher auch von einem NO-Donator), rief bei Versuchspersonen in Untersuchungen von Iversen et al. Kopfschmerzen hervor, die denen von Migräne ähnlich waren (Iversen et al., 1989). Versuche von Olesen et al. bestätigten diese Ergebnisse. Es konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass nach einer Infusion mit GTN sowohl Kontrollpersonen als auch Migränepatienten einen sofortigen Kopfschmerz verspürten. Jedoch nur die Migränepatienten entwickelten nach einem beschwerdefreien Intervall einen verzögerten Kopfschmerz, der dem Bild einer Migräne entsprach (Olesen et al., 1993).

Spätere Versuche belegten, dass die Hemmung der Nitritoxid-Synthase (NOS), z.B. über eine signifikante Senkung der Fos-Expression (Hoskin et al., 1999), zu einer Abnahme von Migränesymptomen führte (Lassen et al., 1997).

#### IV) Intravital-Mikroskopie

Dieses von Williamson et al. entwickelte Kopfschmerzmodell erlaubt *in vivo* eine direkte Studie der duralen Gefäße (Williamson et al., 1997 a und b). Dafür wird ein kleines Fenster in die Schädeldecke gebohrt und mittels Videomikroskopie ist eine craniale durale und piaie Darstellung der Blutgefäße möglich. Durchmesseränderungen, wie sie z.B. bei einer Vasodilatation auftreten, sind mit diesem Modell bestimmbar (Akerman et al., 2004; Holland et al., 2005).

#### V) Meningeale Blutflußuntersuchungen mittels Laser-Doppler-Flussmessung

Bei der Laser-Doppler-Flussmessung, die als Vorläufer der Intravital-Mikroskopie gilt, wird der meningeale Blutfluss gemessen und der Gefäßdurchmesser indirekt auf die ermittelten Änderungen bezogen.

Äquivalent zur Intravital-Mikroskopie führt auch bei dieser Methode eine elektrische Stimulation zu einem meningealen Blutflußanstieg (Kurosawa et al., 1995). Bolay et al. (2002) nutzten u.a. diese Methode, um die Blutflussänderungen im Zuge einer CSD zu bestimmen.

#### VI) Durale Entzündungsaktivierung mittels Plasma-Protein-Extravasation (PPE)

Um eine Aktivierung des trigeminovaskulären Systems herbeizuführen kann man den N. V mittels elektrischer oder chemischer Stimuli reizen (Markowitz et al., 1987 und 1988; Knyihar-Csillik et al., 1995).

Es kommt zu einer Freisetzung von Neuropeptiden wie CGRP, SP oder NA aus den perivaskulären Nervenfasern, die dann z.B. zu einer Vasodilatation, Thrombozytenaggregation, Aktivierung von Endothelzellen oder zu einer Mastzellaktivierung führen, was letztendlich in eine PPE mündet.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche gehören dieser Gruppe der Kopfschmerzmodelle an und wurden bereits vorangehend ausführlich behandelt, so dass an dieser Stelle auf Einzelheiten nicht mehr detailliert eingegangen werden muss.

### VII) Mikrodialyse

Die Mikrodialyse erlaubt *in vivo* die direkte Bestimmung von extrazellulären Konzentrationen bestimmter Stoffe, z.B. von Neurotransmittern, die es ermöglichen, kleinste Veränderungen in der Neurochemie bestimmter Hirnareale zu detektieren.

Durch Versuche von Oshinsky & Luo konnte mit Hilfe dieses Kopfschmerzmodelles die wichtige Rolle von Glutamat im trigeminalen Nucleus caudalis bei Migräne oder anderen Kopfschmerzsyndromen untermauert werden (Oshinsky & Luo, 2006).

#### 2.4.2.3 Die Elektrophysiologie der Neurone des trigeminozervikalen Komplexes (TZK)

Im Verlauf einer Migräneattacke berichten Patienten häufig über Symptome wie unterschiedlichste Schmerzen im Bereich des vorderen Kopfes. Vielfach wird dabei die sogenannte Allodynie genannt, bei der es zu Schmerzempfindungen schon bei leichter, normalerweise nicht schmerzhafter Berührung, Wärme- oder Kälteapplikation kommt. Auffällig ist, dass im Zuge einer Migräneattacke die Allodynie häufig in dem Gesichtsbereich auftritt, die dem Versorgungsgebiet des ophthalmischen Anteils des N. V entspricht (Burstein et al., 2000).

Aus diesem Kontext heraus ergab sich ein weiterer Ansatzpunkt in der Kopfschmerzfor-schung: Die Verschaltung von trigeminalen und fazialen afferenten Bahnen, die zu einer Sensibilisierung der trigeminozervikalen Neurone führt. Man spricht auch von dem trigeminozervikalen Komplex (TZK).

Neurone im TZK des Hirnstamms sind die primären afferenten Schaltstellen für den nozizeptiven Eingang der Meningen und zervikalen Strukturen in das Rückenmark. Ihnen sind zentrale Strukturen, wie z.B. der Hypothalamus (Benjamin et al., 2004), das periaquäduktale Grau (PAG) oder die rostroventrale Medulla (RVM) übergeordnet und nehmen antinocizeptiven Einfluß.

Die ersten, die auf eine bestehende Konvergenz zwischen trigeminalen und zervikalen afferenten Bahnen hingewiesen haben, waren Kerr & Olafsen (1961). Jüngste Studien haben eine direkte Verbindung zwischen meningealen und zervikalen afferenten Bahnen in einem Tiermodell beschrieben (Bartsch & Goadsby, 2002 und 2003). Diese neuen Ergebnisse bestätigten die bereits gewonnenen Daten aus der Humanmedizin (Piovesan et al., 2001). Um die Pharmakologie der trigeminozervikalen Neurone genauer zu erforschen, kam die Mikroiontophorese zum Einsatz. Mit Hilfe dieser Technik kann die Wirkung bestimmter Medikamente an einzelnen Neuronen getestet werden, ohne dass das gesamte Nervensystem beeinflusst wird. Medikamente wurden direkt an ein Neuron injiziert, um deren pharmakologische Effekte als Reaktion des Membranpotenzials, der Membranströme oder der neuronalen Entladungsrate zu ermitteln.

So ist es möglich, endogene Moleküle, deren Rezeptoren und die Agonist-Antagonist-Kombinationen an dem gleichen Tier und dem gleichen Neuron zu untersuchen.

Mit dieser Methode konnte das erste Mal gezeigt werden, dass eine direkte Applikation von 5-Hydroxytryptamin (5-HT)<sub>1B/1D</sub> Agonisten, Triptane wie z.B. Sumatriptan oder Zolmitriptan, eine reversible Hemmung von trigeminalen Neuronen verursacht (Storer & Goadsby, 1997). In neueren Studien wurde mittels Mikroiontophorese gezeigt, dass im TZK CGRP-Rezeptoren vorkommen, die nicht präsynaptisch lokalisiert sind (Storer et al., 2004). Diese Resultate könnten in der Therapie der akuten Migräne von Nutzen sein. Untersuchungen von Williamson & Hargreaves mittels Intravital-Mikroskopie stützen die Theorie, dass die Rolle von CGRP-Rezeptor-Antagonisten in der Behandlung von Migräne in naher Zukunft entscheidend sein könnte (Williamson & Hargreaves, 2001). Weitere pharmakologische Entwicklungen und klinische Untersuchungen auf diesem Gebiet sind notwendig, da CGRP-Antagonisten die Blut-Hirn-Schranke normalerweise nicht penetrieren.

Auch die übergeordneten Systeme, wie z.B. das PAG, insbesondere der vasolaterale Anteil des PAG, rücken in den Fokus der Kopfschmerzforschung (Bartsch et al., 2004).

#### 2.4.2.4 Molekulare Studien

Heute ist es unumstritten, dass Migräne von genetischen Faktoren beeinflusst wird. So konnte eine Mutation im Ca<sup>2+</sup>-Kanal-Gen „CACNA1A“ (FHM1, Chromosom 19p13) mit der familiären hemiplegischen Migräne (FHM) in Verbindung gebracht werden (Ophoff et al., 1996).

Durch Versuchstiere, die entweder natürlicherweise oder transgen erzeugt einen gewünschten Gendefekt aufweisen, wie z.B. Cacna1a-Maus-Modelle, entstanden völlig neue Formen von Kopfschmerzmodellen.

Ein vielversprechendes Modell aus dieser Reihe ist das kürzlich entwickelte Knock-in Maus-Modell, bei dem die Versuchstiere die humane FHM1 R192Q Mutation in ihrem Genom tragen (van den Maagdenberg et al., 2004).

Weiterhin finden Knock-out Maus-Modelle Anwendung. So konnte mit Hilfe von Knock-out Mäusen, bei denen der 5-HT<sub>1B</sub> Rezeptor nicht exprimiert wird, die durale PPE gehemmt werden (De Vries et al., 1999).

### 2.4.3 In dieser Arbeit verwendetes Kopfschmerzmodell

Es existieren heutzutage viele verschiedene Kopfschmerzmodelle, für die die „construct validity“ durch nachgewiesene pathognomonische biochemische und histologische Veränderungen und mittels zusätzlichen Einsatzes von Pharmaka auch die „predictive validity“ hinreichend bewiesen wurde.

All jene sind indirekte Modelle, sie wurden an narkotisierten Tieren durchgeführt. Bis heute existiert kein verhaltensgestütztes Kopfschmerzmodell, das Ergebnisse an wachen Versuchstieren liefert (Bergerot et al., 2006; Eikermann-Haerter & Moskowitz, 2008).

Im Zuge dieser Arbeit soll nun erstmalig eine verhaltensbiologische Validierung durchgeführt werden, um die wichtige „face validity“ zu überprüfen.

Dabei wird ein spezifisches Krankheitsverhalten, welches auch beim Menschen im Zuge einer Migräneattacke auftritt, durch zwei verschiedene chemische Stimuli ausgelöst, die, belegt durch eine Vielzahl von Versuchen, zuverlässig Schmerzreaktionen auslösen.

Erste ethologisch gestützte Arbeiten von Kent et al. zeigten die Auswirkungen von Zytokinen auf das Verhalten von Versuchstieren. Schon früh konnte bewiesen werden, dass Zytokine ein Krankheitsverhalten hervorrufen (Kent et al., 1992). Des Weiteren führte die Injektion von IL-1 $\beta$ , peripher oder zentral, bei Ratten zu einer verminderten Futter- und Wasseraufnahme und zu Gewichtsverlust (Kent et al., 1994 und 1996). Eine Veröffentlichung von Kelley et al. stellte jene Zytokin-induzierten Symptome den unspezifischen Krankheitssymptomen gegenüber. Dabei zeigt sich, dass Zytokine ganz ähnliche ZNS-Effekte hervorrufen wie sie bei Krankheit allgemein pathognomonisch sind (Kelley et al., 2003).

Eine Studie aus dem Jahr 2001 belegt, dass IL-1 $\beta$  an der Entstehung von Anorexie beteiligt ist. Man geht davon aus, dass Neurone, die Neuropeptid Y enthalten und den IL1RI exprimieren, eine Rolle in der Entstehung der krankheitsbedingten Anorexie spielen (Konsman & Dantzer, 2001).

Dantzer beschrieb 2004, dass die Futteraufnahme unter dem Einfluss von Zytokinen nicht nur quantitativ sondern auch qualitativ beeinflusst wird. Er spricht von selektiver Futteraufnahme. Nach Injektion von IL-1 $\beta$  kam es zu einer Reduzierung der Futteraufnahme, aber auch zu einer Änderung der Futterbestandteilmengen. Es wurden relativ mehr Kohlehydrate und weniger Protein aufgenommen. Die Menge an aufgenommenem Fett blieb gleich (Dantzer, 2004).

Wie Versuche von Dux et al. gezeigt hatten, kann man durch die topische Applikation von Capsaicin auf die Dura mater, vermittelt durch CGRP, zuverlässig eine Vasodilatation hervorrufen, die nach heutiger Ansicht in der Ätiologie des Kopfschmerzgeschehens essentiell ist (Dux et al., 2003).

Die Dura mater als eine der wenigen schmerz sensitiven Strukturen im Gehirn sollte in dieser Versuchsreihe zur Erzeugung von Kopfschmerzen beim Versuchstier dienen. Frühere Experimente hatten bereits gezeigt, dass elektrische Stimulation an der Dura mater, vermittelt durch CGRP der trigeminalen Nervenfasern, zu einer Vasodilatation führt (Kurosawa et al., 1995).

Die Ergebnisse anderer Arbeiten belegten, dass auch selektive chemische Stimulationen der Dura mater zur Ausschüttung bestimmter Neurotransmitter und somit zu einer Veränderung des meningealen Blutflusses führen. Wie auch bei dieser Arbeit fand dabei die mittlerweile etablierte „rat cranial window technique“ Anwendung (Kurosawa et al., 1995; Dux et al., 2002 und 2003; Strecker et al., 2002).

Frühere verhaltenspharmakologische Arbeiten zeigten, dass es essentiell ist, standardisierte Arbeitsbedingungen zu schaffen, da gerade bei ethologischen Beobachtungen Veränderungen in der Umgebung zu differenten Ergebnissen führen können (Dawson & Tricklebank, 1995). Der Kontakt zwischen Versuchstier und Mensch ist sorgfältig zu planen, da auch er die Testergebnisse beeinflussen kann (Lawlor, 2002). Aus diesem Grund wurden die Tiere im Zuge dieser Arbeit nur von einer Person behandelt und versorgt. Alle Experimente wurden zur gleichen Tageszeit durchgeführt und es wurde darauf geachtet, den Stress für die Versuchstiere vor den Versuchen zu minimieren.

Die Tiere wurden, getrennt von allen anderen Tieren, die sich noch im Institut befanden, in einem separaten Raum untergebracht, so dass Störungen durch parallel laufende Versuchsreihen oder durch den täglichen Arbeitsablauf minimiert werden konnten. Des Weiteren fanden für die Versuchsreihen männliche Sprague-Dawley Ratten Anwendung, da männliche Tiere im allgemeinen geringeren hormonellen Schwankungen unterliegen. Der Rattenstamm Sprague-Dawley wurde ausgewählt, da er zu den am häufigsten verwendeten Zuchtlinien in der Forschung gehört (Rex et al., 2007).

### 2.5 Ethologische Betrachtung des Kopfschmerzes beim Menschen und daraus resultierende Verhaltenstests im Tierexperiment

#### 2.5.1 Pathologische humane Verhaltensmuster bei Kopfschmerz

So vielfältig der Krankheitskomplex des Kopfschmerzes auch ist, so vielfältig sind die Symptome, die bei den verschiedenen Kopfschmerzformen auftreten können.

Die nachstehend aufgeführten Symptome sind pathognomonisch für einige Kopfschmerzformen:

- Einseitige Lokalisation des Schmerzes
- Übelkeit und/oder Erbrechen
- Photophobie und Phonophobie
- Verstärkung durch körperliche Routineaktivitäten und führt zu deren Vermeidung
- Appetitlosigkeit
- Stechender Kopfschmerz, der sich ausschließlich oder vorrangig auf das Versorgungsgebiet des ersten Trigeminusastes beschränkt.

Dabei können die einzelnen Symptome je nach Diagnosegruppe in verschiedener Intensität und unterschiedlicher Zusammenstellung auftreten (Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004).

Die Übertragbarkeit einzelner Symptome in ein Tiermodell variiert sehr stark. So kann man in neuroethologisch gestützten Tests nicht eindeutig belegen, ob eine Ratte einseitigen Kopfschmerz verspürt oder ob sie von einem Kopfschmerz geplagt wird, der dem Versorgungsgebiet des ersten Trigeminusastes entspricht.

Besser zu überprüfen wäre eine vorliegende Photo- oder Phonophobie. Relativ gut zu messen, ist eine Erhöhung oder Reduzierung von Routineaktivität oder das Vorliegen von Appetitlosigkeit.



## 2.5.2 Open Field

### a) Exploration und Rearing

Der klassische Open Field-Test wurde das erste Mal von Hall (1934) beschrieben. Es handelt sich hierbei um eine Fläche frei bestimmbarer Größe, von Wänden umgeben, die von dem jeweiligen Versuchstier erkundet werden kann.

Ratten markieren mit Urin, Kot und dem Duft ihrer Drüsen bestimmte Wege oder Orte (Galef & Buckley, 1996; Roche & Timberlake, 1998), um sich zu Recht zu finden und den anderen Tieren einer Gruppe den Weg zu weisen. Um Beeinflussungen durch olfaktorische Signale vorhergehenden Tieren zu vermeiden, wurde in diesem Versuchsaufbau das Open Field nach jedem Versuchsdurchlauf mit Alkohol gereinigt.

Das Open Field-Modell, das auf unkonditioniertem Verhalten und auf Exploration basiert, existiert heute in verschiedenen Formen und Varianten und wird häufig als Anxiolyse-Test eingesetzt (Prut & Belzung, 2003). Durch Modifikation, wie z.B. das Anbieten von Futter in der Mitte der freien Fläche (Britton & Britton, 1981; Rex et al., 1996 und 1998) oder unterschiedliches Ausleuchten der freien Fläche kann man verschiedene aversive Situationen simulieren und dadurch Rückschlüsse auf das jeweilige Verhalten der Versuchstiere ziehen.

In früheren Untersuchungen wurde das lokomotorische und explorative Verhalten von Ratten in einem dunkel oder hell ausgeleuchteten Open Field ermittelt. Dabei wurde deutlich, dass die Aktivität der Versuchstiere im dunkleren Open Field höher war, als in dem heller ausgeleuchteten Open Field (Hirsjärvi & Junnila, 1986).

Heute weiß man, dass die Sehfähigkeit der nachtaktiven Ratte nicht sehr ausgeprägt ist, da sie langwelliges Licht nicht wahrnehmen kann. Deshalb können Verhaltensbeobachtungen während der Dunkelphase bei Rotlicht durchgeführt werden, wie Weiss et al. erneut beschrieb (2003).

In nicht veröffentlichten Versuchen wurde herausgefunden, dass Ratten bei völliger Dunkelheit sogar ein erhöhtes Angstverhalten zeigen (Rex, 2007).

Die im Verlauf dieser Arbeit erfolgten Versuchsreihen im Open Field fanden bei Rotlicht statt, da die Beobachtungen während der Dunkelphase durchgeführt wurden und die Versuchstiere, abgesehen von der chemischen Stimulation der Dura mater, keiner zusätzlichen Stressquelle ausgesetzt werden sollten. Zur Auswertung wurde sowohl die Exploration auf der freien Fläche als auch das vertikale Erkundungsverhalten herangezogen.

Anders als ihre wild lebenden Artgenossen zeigen Laborratten einen deutlich stärkeren Drang zur Erkundung unbekannter Gebiete. Unterschiedliche Stimuli können zur Auslösung einer Exploration führen. Dazu zählen Hunger, Durst oder das Bedürfnis sich zu bewegen, aber auch neue Reize von außen, die einen inneren Antrieb zur Bewegung auslösen (Persch, 1994; Saibaba et al., 1996).

Man kann davon ausgehen, dass aversive Stimulation, z.B. das Auslösen von Schmerzen, zu einer Veränderung des emotionalen Gemütszustandes führt, was sich nach den Veröffentlichungen verschiedener Autoren unter anderem in einer geringen Anzahl der zurückgelegten Felder im Open Field widerspiegelt (Weyers et al., 1994; Garcia-Cairasco et al., 1998). Hirsjärvi und Junnila machten Versuche mit Ratten im Open Field unter verschiedensten Bedingungen. Jene Tiere, die unter den stressärmsten Bedingungen, nämlich im dunklen Open Field getestet wurden, waren im Gegensatz zu allen anderen Gruppen, z.B. bei hell ausgeleuchtetem Open Field oder einem höheren Geräuschpegel, am aktivsten (Hirsjärvi & Junnila, 1986). Die Stressauswirkungen machten sich sowohl in einer reduzierten, horizontal gerichteten Bewegungsaktivität als auch in einem reduzierten Rearing-Verhalten bemerkbar.

Weiss et al. (2003) sagen sogar nachdrücklich, dass sich Anzeichen von Schmerzen in einem reduzierten Erkundungsverhalten widerspiegeln.

### b) Putzen

In der Ethologie werden unter dem Sammelbegriff „Putzen“ verschiedene Verhaltensweisen aufgeführt (Spruijt et al., 1992). Eine normale Putzsequenz bei der Ratte umfasst verschiedenen Formen, wie z.B. „licking“ oder „scratching“ (Aldridge, 2005), weshalb im Zuge dieser Arbeit keine genauere Unterscheidung des Putzverhaltens vorgenommen wurde. In erster Linie dient das Putzen der Fell- und Körperpflege, aber auch zur Regulation der Körpertemperatur kann das Verteilen von Speichel auf der Körperoberfläche dienlich sein. Bei sozialen Kontakten der Tiere miteinander stellt das Putzen auch eine Ersatz- oder Übersprungshandlung dar.

Nach Versuchen von Saibaba, bei denen Ratten, nach dem Umsetzen in einen frisch gereinigten Käfig, ein erhöhtes Putzverhalten zeigten, wurde der Schluss gezogen, dass diese Tiere zur Streßbewältigung ein vermehrtes Putzverhalten als Ersatz- oder Übersprungshandlung zeigten (Saibaba et al., 1996).

Leidet ein Tier Schmerzen, kann es zu reduziertem Putzverhalten unter starker Schmerzbelastung aber auch zu übermäßigem Lecken und Kratzen der betroffenen Stellen kommen (Henke & Erhardt, 2001; Sanford et al., 1986; Weiss et al., 2003). Die Tiere sehen struppiger aus, teilweise kommt es zum sogenannten Brillenauge (durch Hämatoporphyrinpigment der Harderschen Drüsen, das durch reduziertes Pflegeverhalten nicht entfernt wird). Bei starker Schmerzbelastung kann es bei der Ratte auch zu Automutilationen kommen.

Kent et al. zählen das Verschwinden von typischen Verhaltensmustern, die der Körperpflege dienen, zu den typischen Symptomen von „sickness behavior“ (Kent et al., 1992). Schon Hart beschrieb einige Jahre zuvor, dass ein reduziertes Putzverhalten bei kranken Tieren zu beobachten sei (Hart, 1988).

### 2.5.3 Ernährungsverhalten

Ratten haben, was die Aufnahme von unbekanntem Futter angeht, von Natur aus eine ausgeprägte Neophobie (Eibl-Eibesfeldt, 1950).

Bei wild lebenden Ratten fressen bestimmte Tiere sogenannte „Demonstratoren“ immer zuerst, die anderen Ratten, „Observer“ genannt, lernen durch sie das neue Futter kennen (Galef & White, 1997).

Um die Neophobie als Störgröße während der Versuche auszuschließen, wurde im Fütterungsversuch das bereits bekannte Pelletfutter verwendet und der im zweiten Fütterungsversuch verwendete Kirschagar bereits einige Tage vor Versuchsbeginn angeboten, um den Tieren Gelegenheit zu geben, sich an das süße Futter zu gewöhnen.

Ratten nehmen während der Dunkelphase die größte Menge an Futter auf. Sie fressen in zwei bis drei bzw. drei bis fünf über die Dunkelphase verteilten voneinander abgegrenzten Fressperioden (Weiss et al., 2003), wobei je ein Aktivitätspeak zur Futteraufnahme am Beginn und am Ende der Dunkelphase zu verzeichnen ist (Claassen, 1994). Aus diesem Grund ist es sinnvoll, geplante Verhaltensversuche in diesen Zeitraum zu legen.

Steht Ratten Wasser ad libitum zur Verfügung, so zeigt sich ein paralleler, circadianer Rhythmus analog der Futteraufnahme (Claassen, 1994).

Eine reduzierte Futter- und Wasseraufnahme kann als Zeichen für Schmerzen und Stress beim Tier dienen (Morten & Griffiths, 1985; Sanford et al., 1986; Henke & Erhardt, 2001; Weiss et al., 2003).

Anorexie zählt nach heutigem Wissensstand zu den typischen Symptomen eines kranken Tieres (Kent et al., 1992; Hart, 1988). Was im ersten Moment paradox erscheint, kann für das kranke Tier von Vorteil sein: Nicht auf Futtersuche zu gehen, heißt Energie zu sparen, die z.B. für die Aufrechterhaltung von Fieber benötigt wird. Oft geht im Zuge einer Erkrankung eine verminderte Futteraufnahme, auch mit einer verminderten Wasseraufnahme, einher (Hart, 1988).

### 2.5.4 Motorische Aktivität in gewohnter Umgebung

Naturgemäß sind Ratten als dämmerungs- und nachtaktive Tiere überwiegend in der Dunkelphase aktiv, die gekennzeichnet ist von häufigen Aktivitätsmaxima, unterbrochen von unterschiedlich langen Ruhephasen. Vor allem zu Beginn der Hellphase schlafen die Ratten. Verhaltensversuche, bei denen eine Verminderung der motorischen und exploratorischen Aktivität erwartet wird, sollten beim Versuchstier Ratte daher in der Dunkelphase erfolgen, da die Tiere tagsüber inaktiver sind. Mit Beginn der Dunkelphase werden sie dann deutlich aktiver (Weiss et al., 2003). Versuche von Büttner und Wollnik unterstützen diese These. Ratten, die einem normalen 12-Stunden-hell/dunkel-Rhythmus ausgesetzt sind, haben ein Aktivitätspeak zu Beginn der Dunkelperiode (Büttner & Wollnik, 1984).

Leiden Ratten Schmerzen kann sich das in einem gestörten Schlafverhalten und in einer reduzierten Aktivität bis hin zur Teilnahmslosigkeit äußern (Henke & Erhardt, 2001; Sanford et al., 1986; Weiss et al., 2003).

Kent et al. werten eine verminderte Aktivität sogar als deutliches Anzeichen bei Krankheit (Kent et al., 1992).

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Tiermaterial

Für die Versuche wurden männliche Sprague-Dawley Ratten der Firma Charles River (Sulzfeld, Deutschland) mit einem Gewicht von 200 – 220 g je Ratte geliefert.

Die Tiere wurden eine Woche nach Lieferung zusammen in Gruppen von drei bis fünf Tieren in einem Makrolon-Käfig (EBECO, Castrop- Rauxel, Deutschland) des Typs M4 (19 cm hoch, 35 cm breit, 56 cm lang) zur Akklimatisation untergebracht.

Nach Ablauf dieser Woche wurden die Ratten einzeln in Makrolon-Käfigen des Typs M3 (15 cm hoch, 35 cm breit, 56 cm lang) gesetzt.

Nach der Operation wurden die Tiere in einen höheren Käfig des Typs M3-180 (18 cm hoch, 35 cm breit, 56 cm lang) untergebracht.

Die Versuche und die Unterbringung der Ratten erfolgten im selben Raum. Ein Lichtprogramm regelte in Zwölfstundenintervallen von 5:30 h bis 17:30 h einen Tag- und Nachtzyklus.

Die Umgebungstemperatur betrug  $21^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , die relative Luftfeuchtigkeit lag zwischen 50-60 %.

Die Lichtintensität im Tierstall betrug tagsüber 150 lux. In der Open Field-Untersuchungskammer betrug sie während der Versuchsdurchführung lediglich 2 lux.

Wasser und Pelletfutter der Firma ssniff Spezialdiäten GmbH (Soest, Deutschland) standen den Tieren ad libitum zur Verfügung.

Die Durchführung der in dieser Arbeit dargestellten Tierversuche wurde nach § 8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes der Bundesrepublik Deutschland unter der Tierversuchsnummer 168/05 der Senatsverwaltung für Gesundheit in Berlin genehmigt.

### 3.2 Verwendete Substanzen

- 1) **Capsaicin** wurde von der Firma SIGMA (Steinheim, Deutschland) bestellt und in einem Vehikel zu einer 10  $\mu$ Molaren Lösung verdünnt.
- 2) **Chloralhydrat** von der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) wurde mit destilliertem Wasser (Aqua dest) zu einer 5%igen Lösung gemischt und zur Narkose verwendet.
- 3) Rattenspezifisches **Interleukin-1 $\beta$**  (Rat Interleukin-1 $\beta$ ) wurde von der Firma RnD-Systems (Wiesbaden, Deutschland) bezogen.  
Das Interleukin wurde in einer Verdünnung von 10 $\mu$ g/ml in 0,1% BSA (Bovines Serum Albumin) gelöst und zu je 50  $\mu$ l pro Tube bei -80°C bis zur Verwendung tiefgefroren.
- 4) **Isofluran** von der Firma ABBOTT (Wiesbaden, Deutschland) wurde zur Inhalationsnarkose verwendet.
- 5) Isotonische Kochsalzlösung (**NaCl**) Fresenius der Firma Fresenius Kabi (Bad Homburg, Deutschland)
- 6) Thiopental-Natrium (**Trapanal**<sup>®</sup>), von der Firma Altana Pharma (Konstanz, Deutschland), wurde mit Aqua dest zu einer 5%igen Lösung hergestellt und zur Narkose verwendet.
- 7) **Vehikel** wurde selbst angesetzt. Um 100 ml Vehikel anzusetzen wurden 10 ml 99%- absolutes Ethanol (abs. EtOh) und 10 ml Tween 80 in 80 ml zweifach destilliertem Wasser (bi-dest-Wasser) gelöst.

Die Applikation von Chloralhydrat und Trapanal erfolgte nach vorheriger Inhalationsnarkose mit Isofluran intraperitoneal.

Capsaicin, Interleukin-1 $\beta$ , Vehikel und isotone Kochsalzlösung wurden nach vorheriger Inhalationsnarkose mit Isofluran in die Kammer auf die Dura mater appliziert.

### 3.3 Technik der Operation

Vor der Operation wurden die entsprechenden Tiere erst mit Isofluran in Kurzzealnarkose und dann mit 5 %igem Chloralhydrat (300 mg/kg) und 5%igem Thiopental-Natrium (30 mg/kg) mittels intraperitonealer Injektion in Langzealnarkose gebracht. Trapanal® wurde zeitgleich zum Chloralhydrat appliziert, um die Wirkdauer des Chloralhydrates zu verlängern und eine ausreichende Analgesie zu erzielen.

Als die Tiere ein ausreichend tiefes Narkosestadium erreicht hatten, wurden sie mittels Ohrstiften und Schneidezahnhalterung in einem stereotaktischen OP-Tisch fixiert.

Die Körpertemperatur wurde mit einer Wärmematte und einem kombinierten rektalen Temperaturmesser (Carnegie Medicin AB, Stockholm, Schweden) konstant auf 37-37,5°C gehalten.

Die Kopfhaut wurde in cranio-caudaler Richtung in einer Länge von ca. 2 cm eröffnet und das Schädeldach freipräpariert. Der Muskelus temporalis wurde von der Temporalleiste präpariert. Anschließend wurde die Schädeldecke mit Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) desinfiziert und letzte Blutungen gestillt.

Mittels eines Bohrers (Minimot 40, Proxxon GmbH, Niersbach, Deutschland) wurde im parientalen Segment ca. 6,5 mm caudal und ca. 4,5 mm lateral des Bregmas ein ca. 4 × 2 mm großes Loch in den Knochen gebohrt ohne die Dura mater zu beschädigen. Maßgeblich war die Lokalisation direkt oberhalb der Arteria meningea media, die der Versorgung der Dura mater dient, da in diesem Bereich die Innervationsdichte der trigeminalen Nerven am höchsten ist.

Um die Wärmeentwicklung beim Bohren zu minimieren, wurde die Bohrung mit gekühlter isotonischer Kochsalzlösung umspült.

Das herausgebohrte Stück der Schädeldecke wurde wieder auf die Dura gelegt, um einem Austrocknen der Dura entgegenzuwirken. Anschließend wurde um die Trepanationsstelle eine Kammer befestigt.

Dazu wurde von einem 1,5 ml-Eppendorf Tube (Safe-Lock Reaktionsgefäß der Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland) der Boden ca. 2,9 cm abgesetzt. Diese Kammer wurde mittels Knochenwachs (Ethicon, Norderstedt, Deutschland) auf dem trockenen Schädelknochen fixiert und mit Zahnzement (Palaxpress der Firma Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) dauerhaft befestigt.

Die Kammer wurde mit NaCl gespült und das lose Knochensegment im Inneren entfernt. War die Kammer dicht, wurde sie mit NaCl befüllt und verschlossen. Die Kopfhaut um die Kammer wurde mit einem Seidenfaden (USP 4/0, Suprama, Berlin, Deutschland) vernäht.



Abb. 3: Ratte zum Ende der Operation

Danach wurden alle Ratten zurück in den Tierstall verbracht, wo sie weiter beobachtet wurden und dort für 48 Stunden ohne weitere Manipulation verblieben.

### 3.4 Versuchsanordnung und Tiergruppen

Alle verwendeten Tiere wurden nach der Anlieferung eine Woche in Gruppen von drei bis fünf Tieren in Käfigen belassen. Nach dieser Woche wurden sie in Einzelkäfige gesetzt.

Am Folgetag wurde die motorischen Aktivität mittels eines Infrarot- Bewegungsmelders erfasst und computergestützt gespeichert (InfraMot, TSE, Bad Homburg, Deutschland). Den Tieren wurde am selben Tag ein Stück mit Kirschsirup versetzter Agar in den Heimatkäfig gelegt.

Zur Herstellung des Agar-Kirschsirup-Gemisches gibt man zwei Gramm Agar Agar (Roth, Karlsruhe, Deutschland) in 100 ml Kirschsirup der Marke Rainbow (SIG GmbH, Düsseldorf, Deutschland). Durch Aufkochen wurde das Gemisch gelöst und in Mengen à 50 ml in Petrischalen gegossen. Das Agar-Kirschsirup-Gemisch erstarrte nach einiger Zeit der Lagerung bei Zimmertemperatur und konnte bis zur Verwendung im Kühlschrank gelagert werden.



Am 11. bzw. 12. Tag nach der Anlieferung erfolgte die Operation. Eine Gruppe wurde keiner Operation unterzogen.

Das Gewicht der einzelnen Tiere am Tag der Operation lag zwischen  $295 \pm 17$  g ( $n = 60$ ).

2 Tage nach der Operation wurde der 1. Verhaltensversuch, das Open Field, am 4. Tag post operationem (p. OP) der 2. Versuch, Untersuchung der Futter- und Wasseraufnahme und Bestimmung der motorischen Aktivität, und 7 Tage nach der Operation der 3. Versuch, Untersuchung der Kirschagar- und Futteraufnahme und Bestimmung der motorischen Aktivität, durchgeführt.

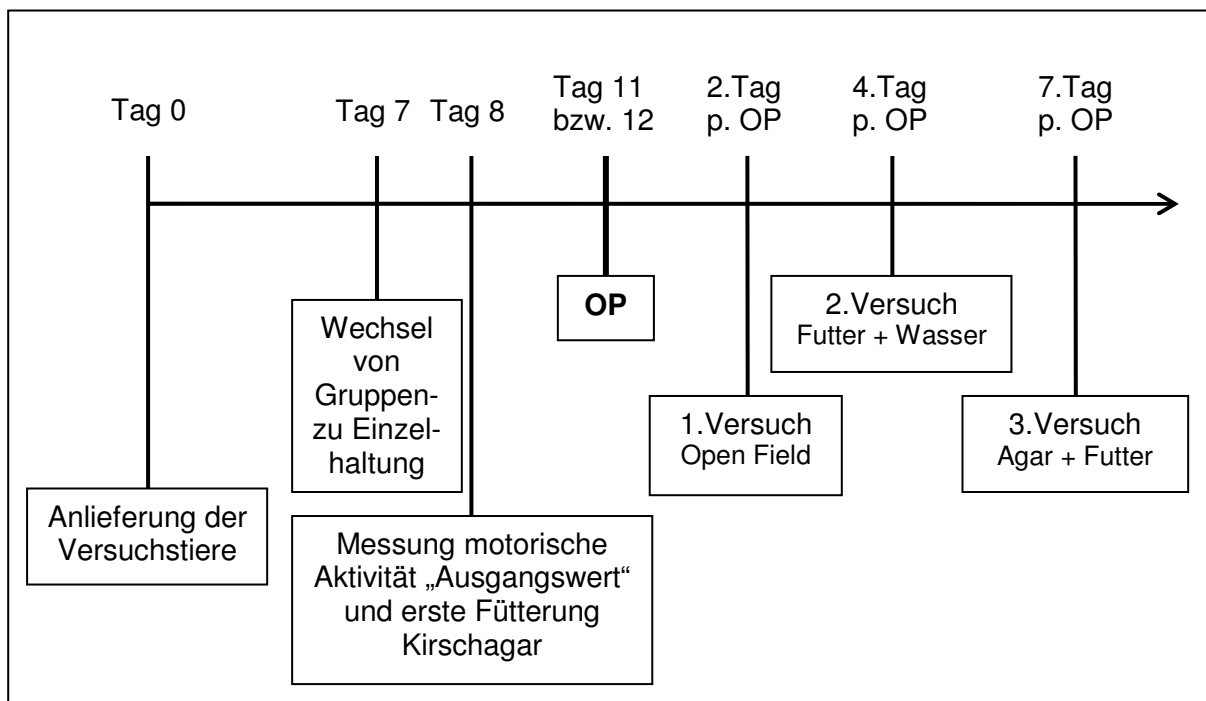


Abb. 4: schematische Darstellung des zeitlichen Versuchsablaufes jeder Gruppe

Anhand des Zeitpunktes der Behandlung vor den Versuchen, sind die Tiere in zwei große Gruppen zu unterteilen:

### 1.) Gruppe 1

Diese Tiere wurden ca. 4 Minuten vor dem Verhaltensversuch in Inhalationsnarkose gelegt und mit der entsprechenden Substanz behandelt.

Die Gruppe 1 umfasste vier Untergruppen:

- A) Tiere ohne OP („ohne OP“)
- B) mit NaCl behandelte Tiere
- C) mit Vehikel behandelte Tiere
- D) mit Capsaicin behandelte Tiere

### 2.) Gruppe 2

Diese Tiere, mit Ausnahme der Gruppe „nur OP“, wurden ca. 6 Stunden vor dem Verhaltensversuch in Inhalationsnarkose gelegt und mit der entsprechenden Substanz behandelt.

Die Gruppe 2 umfasste drei Untergruppen:

- E) Tiere, die nur operiert wurden, bei denen danach aber keine Kammermanipulation mehr stattfand („nur OP“)
- F) mit NaCl behandelte Tiere
- G) mit Interleukin behandelte Tiere

## 3.5 Versuchsdurchführung

Unterbringung und Verhaltensversuche, die erst mit Einbruch der Dunkelphase (17:30h) begannen, fanden im selben Tierstall statt.

Das Open Field befand sich zusätzlich in einer schallgeschützten fensterlosen Untersuchungskammer (1,91 m x 1,91 m x 2,47 m).

Die Temperatur innerhalb der Verhaltensbox und im Tierstall stimmten überein, sie betrug während der Versuchszeit  $21^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

Die Versuche des Open Fields konnten vom Versuchsdurchführenden über eine in der Untersuchungskammer befindlichen Videokamera (Sanyo B/W CCD, Japan), die an einen außerhalb der Kammer angebrachten Monitor (Panasonic TX-28A2C, Deutschland) angeschlossen war, überwacht werden. Die Kamera befand sich in einer Höhe von 2,00 m über dem Boden.

Gleichzeitig wurden die Versuche mittels eines Videorecorders (Panasonic NV-HS 860 IG, Deutschland) aufgezeichnet.

Um die Ergebnisse der Untersuchungen zu objektivieren, erfolgte die Auswertung des Verhaltens mit Hilfe eines computergestützten Systems (Video Mot 2, Version 5.39, TSE, Bad Homburg, Deutschland).

Da zur Aufzeichnung der Versuche mittels Videokamera und bei der Inhalationsnarkose und anschließender Befüllung der Kammer etwas Licht vonnöten ist, die Versuche aber in der Dunkelphase stattfanden, wurden die Untersuchungskammer und ein kleiner Arbeitsplatz im Tierstall indirekt mit einer Rotlichtquelle ausgeleuchtet, die einer Lichtintensität von 2 lux entsprach.

Da Ratten ihre Umgebung mit Duftmarken kennzeichnen, wurde das Open Field wurde nach jedem Versuchsdurchlauf mit Alkohol gereinigt, um die Beeinflussung durch vorherige Versuchstiere auszuschließen.

Für den Agar-Fütterungsversuch wurde 5 Tage vor Versuchsdurchführung das Agar-Kirschsirup-Gemisch jeweils frisch angesetzt und bis zum Versuch im Kühlschrank gelagert. Die Tiere hatten am 8. Tag nach ihrer Anlieferung ins Institut die Möglichkeit dieses süße Futter vor Versuchsbeginn kennenzulernen. Dazu wurde ihnen ein kleines Stück in den Käfig gelegt. Am Versuchstag wurde ein Teilstück des Kirschagars entnommen, gewogen und den Tieren im Versuchsverlauf angeboten.



Abb. 5: Ratten im mit InfraMot-System ausgestatteten Heimatkäfig

Die Aktivität im Heimatkäfig (Abb. 5) während der Fütterungsversuche wurde mittels des InfraMot-Systems (TSE, Bad Homburg, Deutschland) bestimmt.

Nach Beginn der Dunkelphase (17:30h) wurden alle Tiere der Gruppe 1 in Inhalationsnarkose gelegt und 100  $\mu$ l der entsprechenden Substanz (Capsaicin, Vehikel oder NaCl) in die Kammer appliziert.

Die Tiere der Gruppe 2, mit Ausnahme der Tiere der Gruppe „nur OP“, wurden noch während der Hellphase (11:30h) kurz narkotisiert und 50  $\mu$ l Interleukin oder 100  $\mu$ l NaCl in die Kammer appliziert.

Nach Beendigung der Versuche wurden die Tiere, die mit einer Kammer ausgestattet waren, erneut in Inhalationsnarkose gelegt und die Kammern erst mit NaCl gespült, um Reste des Capsaicins, des Vehikels oder des Interleukins zu entfernen. Anschließend wurden alle Kammern mit NaCl befüllt, um ein Austrocknen der Dura mater zwischen den einzelnen Versuchstagen zu verhindern.

Alle Tiere, die für diese Untersuchungen verwendet wurden, wurden nach Beendigung des letzten Versuches getötet. Dazu wurden die Tiere mit Isofluran in eine tiefe Narkose versetzt und durch Genickbruch getötet.

### 3.6 Verwendete Verhaltenstests

#### 3.6.1 Open Field-Test

Der Open Field-Test stellt eine der einfachsten Arten dar, das Explorationsverhalten zu bewerten.

Das Tier wird in eine unbekannte Umgebung gesetzt, die es erkunden kann, und für eine definierte Zeit beobachtet. Mittels bestimmter Variablen kann dann das Verhalten des Tieres eingeordnet werden.

Man kann die Exploration sowohl in horizontaler, Anzahl der Unterbrechungen der Lichtschranke, als auch in vertikaler Ausrichtung, Anzahl der Rearings, messen. Daneben kann man eine Reihe weiterer Verhaltensparameter mit ihm ermitteln.

In diesem Versuchsaufbau wurde das Open Field nicht hell ausgeleuchtet, sondern lediglich mit einer 25 Watt starken Rotlichtquelle, was einer Intensität von 2 lux entsprach, beschienen, da die Versuche während der eigentlichen Dunkelphase stattfanden.



Abb. 6: Ratte im Open Field, versuchsabweichend mit Tageslicht

Die Apparatur (Abb. 6) bestand aus einer schwarzen quadratischen 100 x 100 cm Kunststoffgrundfläche, umrandet von 30 cm hohen weiß gestrichenen Begrenzungswänden.

Um die Lokomotion zu messen, waren an den Wänden jeweils fünf Infrarot-Lichtschranken in einem Abstand von jeweils 17 cm in der Breite und 3,5 cm über dem Boden angebracht worden. Eine mehrfache Unterbrechung der Lichtschranken durch Dreh- oder Putzbewegungen wurde durch eine Blockierschaltung verhindert.

Ein Versuchsdurchlauf dauerte 10 Minuten. Die Tiere wurden einzeln in der Mitte des Feldes ausgesetzt und verblieben für 10 Minuten im Open Field.

Zwischen den einzelnen Testdurchläufen wurden die Apparatur mit 50 %igem Propanol (Meliseptol®, B. Braun Melsungen AG, Deutschland) gereinigt und anschließend trocken gewischt, um Duftmarken und damit Orientierungshilfen vom Vorgängertier zu entfernen.

Im Laufe des Versuches wurden folgende Parameter untersucht:

- Die Zeit, die die Tiere in den schützenden Ecken des Feldes verbrachten (in Sekunden)
- Die Häufigkeit des Auftretens von Putzverhalten (Groomings)
- Die Anzahl des Erhebens der Tiere mit beiden vorderen Pfoten über dem Boden (Rearings)
- Die Anzahl der Unterbrechungen der Infrarot-Lichtschranken (Transitions)

Der Aufenthalt der Versuchstiere in den Ecken wurden nachträglich mit Hilfe des Computerprogramms Video Mot 2 ausgewertet.

Die Anzahl der Groomings und Rearings wurde zu einem späteren Zeitpunkt mittels des gemachten Videobandes visuell ausgezählt.

Die Häufigkeit der Lichtschrankenunterbrechungen wurde direkt mit Hilfe eines angeschlossenen Gerätes (MOTA 05, Charité-Werkstätten, Berlin, Deutschland) ermittelt.

### 3.6.2 Untersuchungen im Heimatkäfig

#### a) Erster Fütterungsversuch, Bestimmung des Fress- und Trinkverhaltens

Die Untersuchungen des Fress- und Trinkverhaltens wurden im Tierstall im Heimatkäfig durchgeführt. Dabei wurde der Wasser- und Futterbedarf bei den Ratten in vier verschiedenen Zeiträumen, nach Substanzapplikation und/oder Inhalationsnarkose, ermittelt.

Zu Beginn des Versuches wurde den Ratten eine bekannte Wasser- und Futtermenge (Pelletfutter) in die Futterraufen gegeben. 1/2, 1, 2 und 12 Stunden nach Versuchsbeginn wurde die übrig gebliebene Futter- und Wassermenge durch Wiegen auf einer Waage (Sartorius LC2200-00V1, Göttingen, Deutschland) ermittelt und aus der Differenz die verzehrte Menge festgestellt.

#### b) Zweiter Fütterungsversuch, Bestimmung des Futter- und Kirschagarverbrauchs

Dieser Versuch war ähnlich aufgebaut wie der vorherige. Den Ratten wurde Wasser angeboten, der Verbrauch aber nicht ermittelt. Dafür wurde zusätzlich zum Standardfutter noch ein süßes Futter in Form eines Kirschagarstückchens angeboten, das den Tieren bereits als süße Futterquelle bekannt war. Der Verbrauch von Futter und Kirschagar wurde nach 1/2, 1 und 2 Stunden ermittelt.

#### c) Motorische Aktivität

Die motorische Aktivität wurde im Heimatkäfig als Ausgangswert eine halbe Woche vor der Operation und die eigentlichen Versuchsmessungen parallel zu beiden Fütterungsversuchen bestimmt. Dazu war auf jedem Käfig ein Infrarot-Bewegungsmelder montiert, der alle Bewegungen eines Tieres registrierte und entsprechende Impulse an ein computergestütztes System (InfraMot, TSE, Bad Homburg, Deutschland) zur Speicherung weiterleitete. Um falsch positive Ergebnisse während der Manipulation am Käfig im Zuge der Versuche auszuschließen, wurden entsprechende Zeitintervalle, die für den Wechsel des Futters, des Wassers oder des Kirschagar nötig gewesen waren, aus der Auswertung genommen.

### 3.7 Versuchsauswertung und Statistik

Generell wurde nicht von einer Normalverteilung der Daten ausgegangen.

In den Graphiken sind die Medianwerte mit den 25./75. Perzentilen und den 5./95. Perzentilen sowie die Mittelwerte (gestrichelte Linie) dargestellt.

Die Berechnung der Signifikanz erfolgte generell mittels Varianzanalyse nach Kruskal und Wallis mit nachfolgendem Dunn's Test.

Die Auswertung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig, bei der mehrere Gruppen zu verschiedenen Zeitpunkten miteinander verglichen werden sollten, wurde mittels zweifaktorieller Varianzanalyse, durchgeführt.

Sollten bei der Auswertung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig mehrere Gruppen zu einem Zeitpunkt miteinander verglichen werden, wurde die einfaktoriellen Varianzanalyse herangezogen.

Ein statistisch signifikanter Unterschied lag vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  betrug. Befand sich die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p > 0,05$  und  $\leq 0,1$ , so wird im Folgenden von Trend oder Tendenz gesprochen, da eine deutliche Abweichung von der Kontrollgruppe, trotz fehlender Signifikanz, zu verzeichnen war.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von SigmaStat Version 3.0 und die Grafiken wurden mit SigmaPlot Version 8.0 erstellt.

Unterschiede in der Tieranzahl in den einzelnen Untergruppen, dargestellt in unten aufgeführter Tabelle (Tab. 1), ergaben sich aus dem Ausschluss der Tiere, bei denen z.B. die Kammer undicht wurde oder sich löste. Weiterhin gab es technisch bedingte Ausfälle, wie z.B. fehlende Messungen des InfraMot-Systems, was bedeutete, dass man bestimmte Tiere in einzelnen Versuchen nicht mit zur Auswertung heranziehen konnte. In anderen Versuchen war eine Auswertung aber ohne Probleme möglich. 37 Tiere mussten bereits vor Beginn des 1. Verhaltensversuches aus der Versuchsreihe genommen werden, da entweder die Kammern undicht wurden, sich die Kammern komplett von der Schädeldecke gelöst hatten oder Tiere in der Operationsnarkose verstorben sind.

Um eine statistische Auswertung dennoch zu ermöglichen, wurde die vorgegebene Stichprobenmenge von Anzahl ( $n$ ) = 6 Tieren bis zum Abschluss des letzten Versuches eingehalten.

<b>Anzahl</b>	<b>Versuch, bei dem Tiere nicht mit ausgewertet wurden</b>
37	Tiere, die in keinem der 3 Versuche zur Auswertung kamen
3	1. Verhaltensversuch
1	2. Verhaltensversuch
6	3. Verhaltensversuch
9	InfraMot- Ausgangswertbestimmung
4	InfraMot- 2. Verhaltensversuch
10	InfraMot- 3. Verhaltensversuch

Tab. 1: Auflistung, der aus der Auswertung genommenen Tiere



## 4. Ergebnisse

### 4.1 Messung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig 5 Tage vor Versuchsbeginn/Ausgangswertbestimmung

Ziel dieser Untersuchung war es, einen eventuell vorher bestehenden Unterschied zwischen den Untergruppen auszuschließen.

Zu diesem Zweck wurde die motorische Aktivität im Heimatkäfig während der definierten Versuchszeit von 17:30 Uhr bis 19:30 Uhr und in der Zeit von 20:00 Uhr bis 8:00 Uhr ermittelt. Um die motorischen Aktivität des 2. Verhaltensversuches mit Ausgangswerten direkt vergleichen zu können, erfolgte die Einteilung der Zeitfenster in der Zeit von 20:00 bis 8:00 Uhr entsprechend der im 2. Verhaltensversuch.

#### 4.1.1 Gruppe 1 (Vorbehandlungszeit 4 min)

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	09
NaCl	09
Vehikel	08
Capsaicin	08

Tabelle 2: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während der Ausgangswertbestimmung

## a) Aktivität während der Versuchszeit

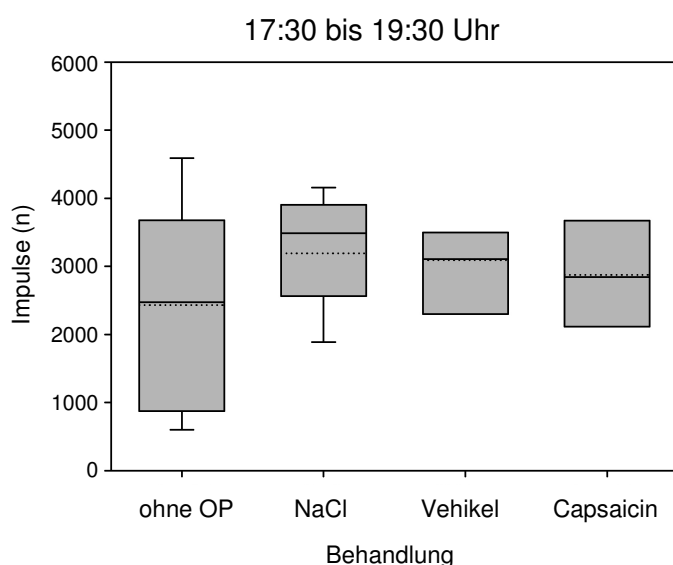


Abb. 7: Motorische Aktivität der Gruppe 1 im Heimatkäfig, 5 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 2 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

## b) Aktivität während der Nacht, Einteilung in drei Zeitperioden

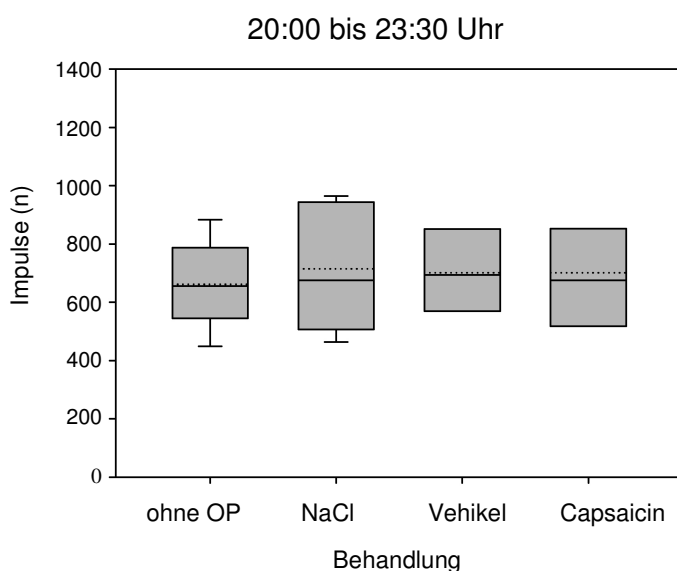


Abb. 7a: Motorische Aktivität der Gruppe 1 im Heimatkäfig, 5 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 3,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

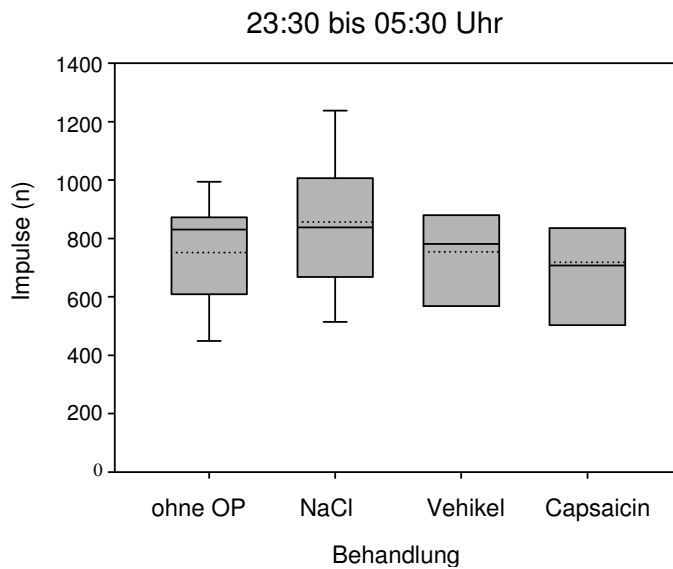


Abb. 7b: Motorische Aktivität der Gruppe 1 im Heimatkäfig, 5 bzw. 4 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 6 Stunden verschiedener Zeitperioden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

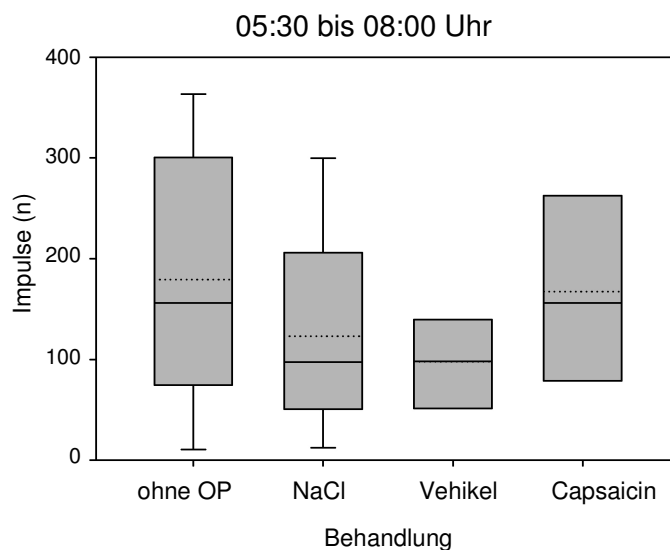


Abb. 7c: Motorische Aktivität der Gruppe 1 im Heimatkäfig, 4 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 2,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Sowohl während der Versuchszeit von 17:30 Uhr bis 19:30 Uhr, als auch im Verlauf der Nacht waren keine Unterschiede zwischen den Medianen der Untergruppen zu erkennen.

## 4.1.2 Gruppe 2 (Vorbehandlungszeit 6 h)

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	12

Tabelle 3: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während der Ausgangswertbestimmung

## a) Aktivität während der Versuchszeit

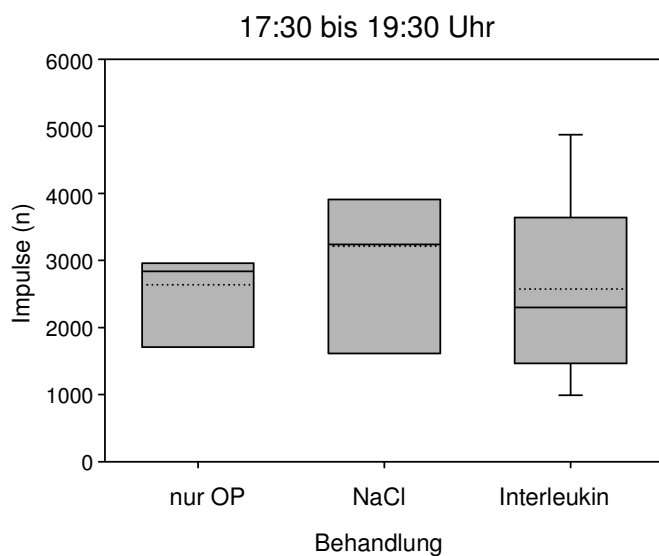


Abb. 8: Motorische Aktivität der Gruppe 2 im Heimatkäfig, 5 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb einer Zeitperiode, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

## b) Aktivität während der Nacht, Einteilung in drei Zeitperioden

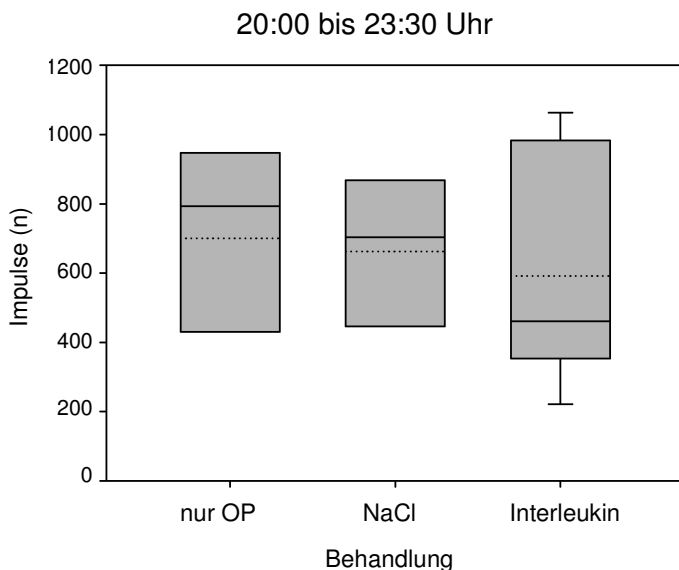


Abb. 9a: Motorische Aktivität der Gruppe 2 im Heimatkäfig, 5 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 3,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

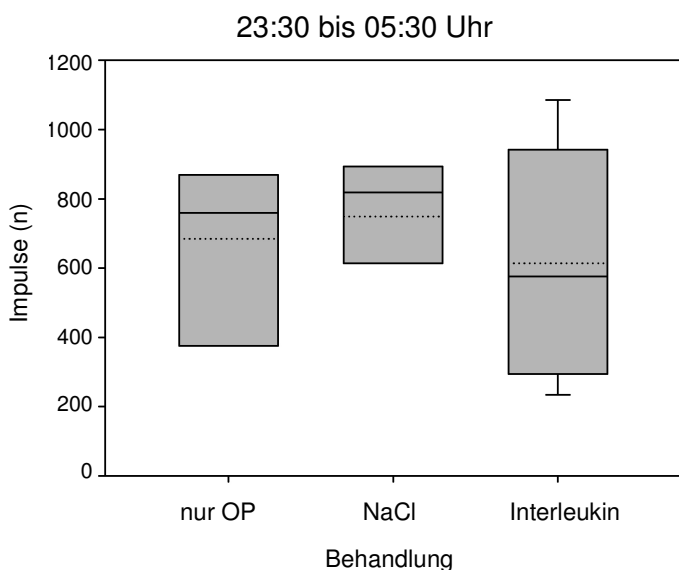


Abb. 9b: Motorische Aktivität der Gruppe 2 im Heimatkäfig, 5 bzw. 4 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 6 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

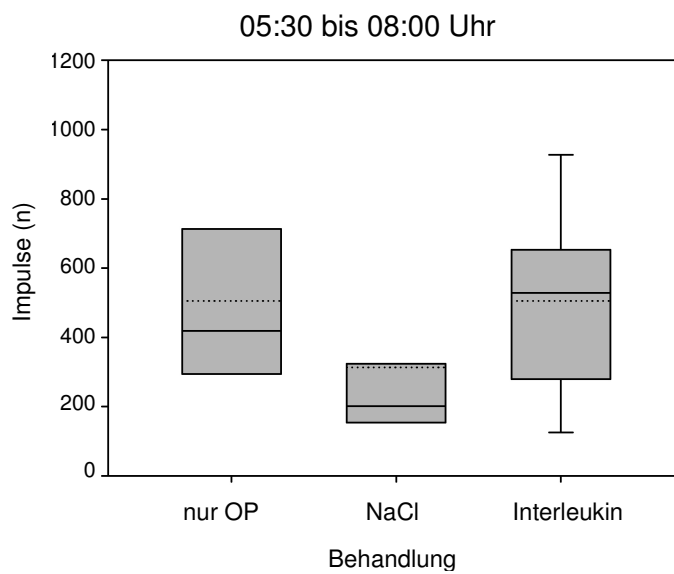


Abb. 9c: Motorische Aktivität der Gruppe 2 im Heimatkäfig, 4 Tage vor Versuchsbeginn. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 2,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Sowohl während der Versuchszeit von 17:30 Uhr bis 19:30 Uhr, als auch im Verlauf der Nacht waren keine Unterschiede zwischen den Medianen der Untergruppen zu erkennen.

## 4.2 Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches

Bei diesem Verhaltensversuch wurden in einem Open Field die Transition, die Anzahl der Rearings, die Häufigkeit des Grooming und der Aufenthalt in den Ecken bestimmt. Verglichen wurden die behandelten Tiere mit den Tieren der jeweiligen Kontrollgruppe, entweder „ohne OP“ oder „nur OP“.

Eine verminderte Exploration, sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Ausrichtung und eine längere Aufenthaltsdauer in den Ecken wurde als Beeinträchtigung der Ratten in ihrem normalen Verhalten gewertet.

Das Groomingverhalten sollte Auskunft darüber geben, ob die Tiere nach der Behandlung in ihrem physiologischen Verhalten beeinträchtigt sind. Dies kann sich in einem verändertem Putzverhalten zeigen, sowohl eine Reduktion als auch eine deutlichen Erhöhung des Groomings sind möglich.

In Gruppe 1 sollte ein Vergleich der Tiere, die nicht mit einer Kammer ausgestattet wurden, mit der mit Kochsalzlösung behandelten Gruppe Aufschluss darüber geben, ob die Inhalationsnarkose, die kurz vor den Versuchen durchgeführt werden musste, einen Einfluss auf das Verhalten der Versuchstiere hatte.

### 4.2.1 Gruppe 1 (Vorbehandlungszeit 4 min)

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	10
NaCl	10
Vehikel	09
Capsaicin	11

Tabelle 4: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 1. Verhaltensversuches

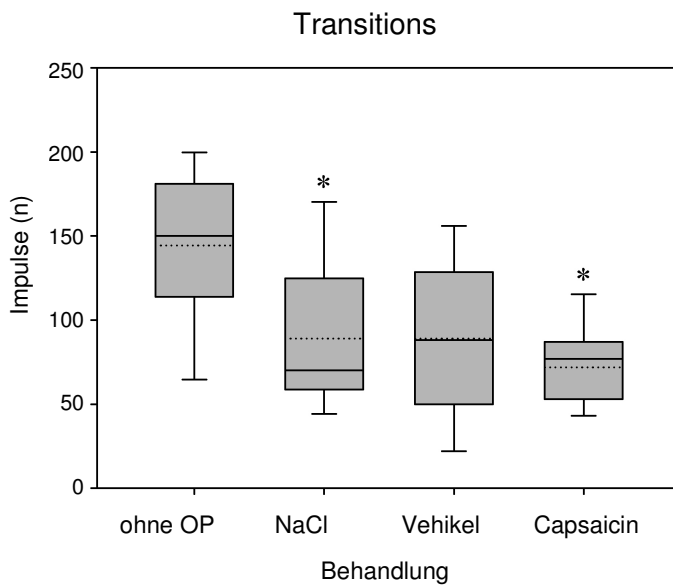


Abb. 10a: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Dargestellt sind die Anzahl der Durchtritte durch die Lichtschranke, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

\* $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

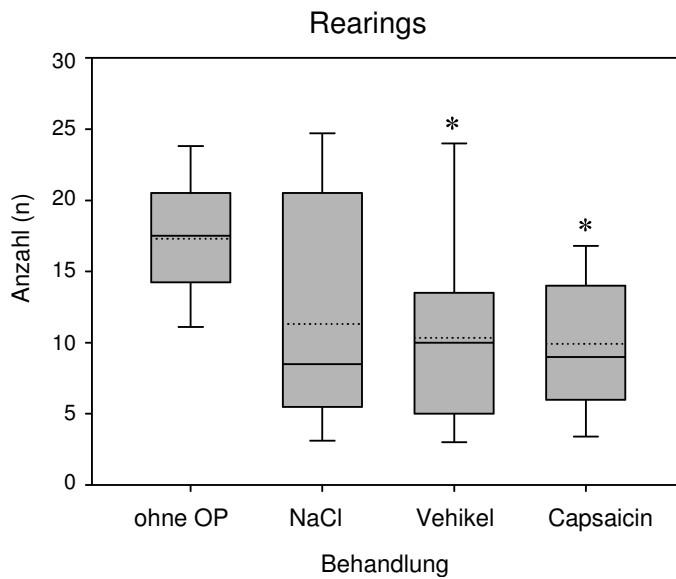


Abb. 10b: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Dargestellt sind die Anzahl der Rearings, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

\* $p < 0,05$  vs. „ohne OP“



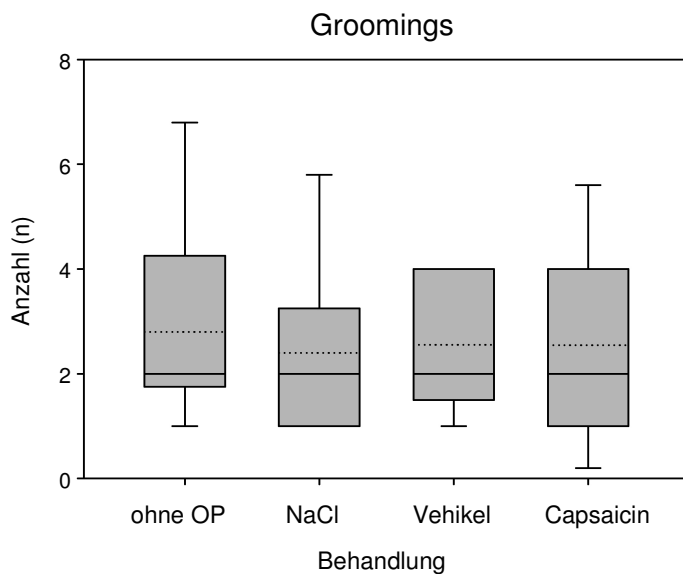


Abb. 10c: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Dargestellt sind die Anzahl der Groomings, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

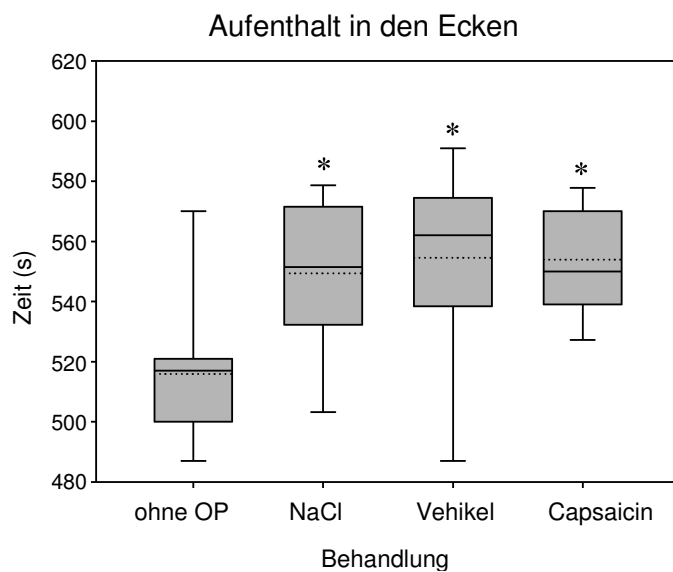


Abb. 10d: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Dargestellt sind die Aufenthaltsdauer in den Ecken, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

\* $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

Die Ergebnisse des Open Field-Testes ergaben deutliche Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Untergruppe „Capsaicin“. In der Lokomotion, beim Aufenthalt in den Ecken und im Rearingverhalten wurden Unterschiede sichtbar.

Auch die Untergruppe „NaCl“ unterschied sich von der Kontrollgruppe in der Lokomotion und beim Aufenthalt in den Ecken. Eine Tendenz zu vermindertem Rearingverhalten war zu sehen.

Bei der „Vehikel“-Untergruppe bestand im Vergleich zur Kontrollgruppe ein Unterschied im Rearingverhalten und beim Aufenthalt in den Ecken. Im Bereich der Lokomotion zeigten die Vehikel-Tiere tendenziell eine verminderte Aktivität zur Kontrollgruppe.

Die Beurteilung des Groomingverhaltens ergab keine Unterschiede zwischen den Untergruppen.

4.2.2 Gruppe 2 (Vorbehandlungszeit 6 h)

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	12

Tabelle 5: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 1. Verhaltensversuches

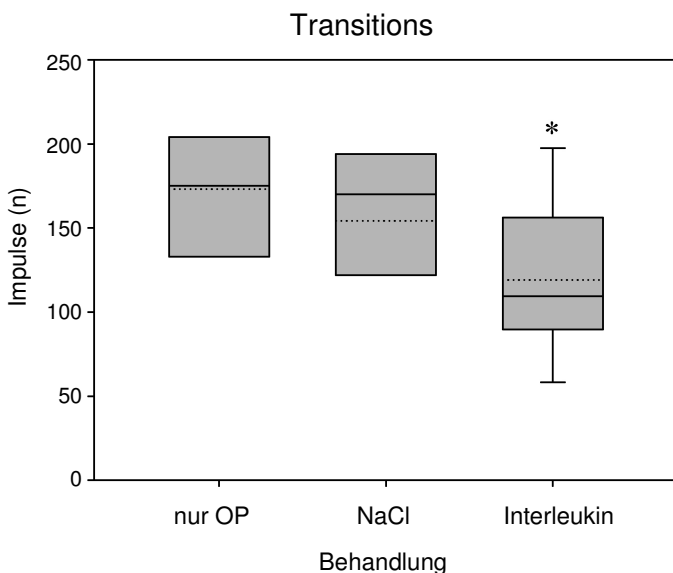


Abb. 11a: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Dargestellt sind die Anzahl der Durchtritte durch die Lichtschranke, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

\*p<0,05 vs. „nur OP“

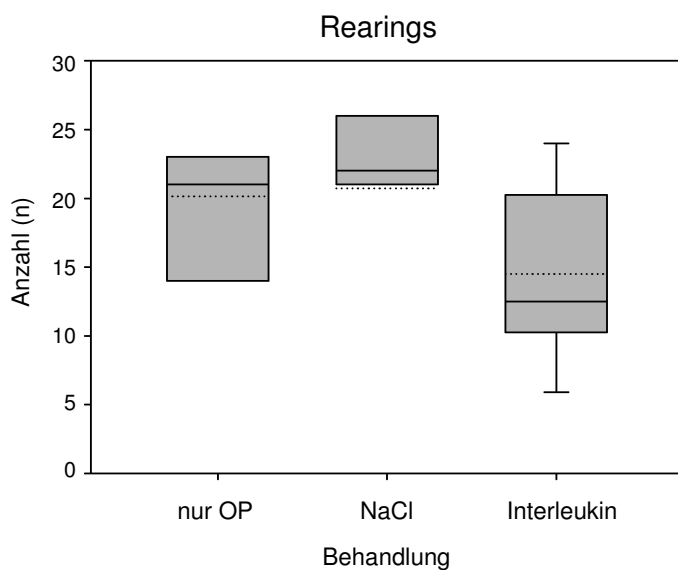


Abb. 11b: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Dargestellt sind die Anzahl der Rearings, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

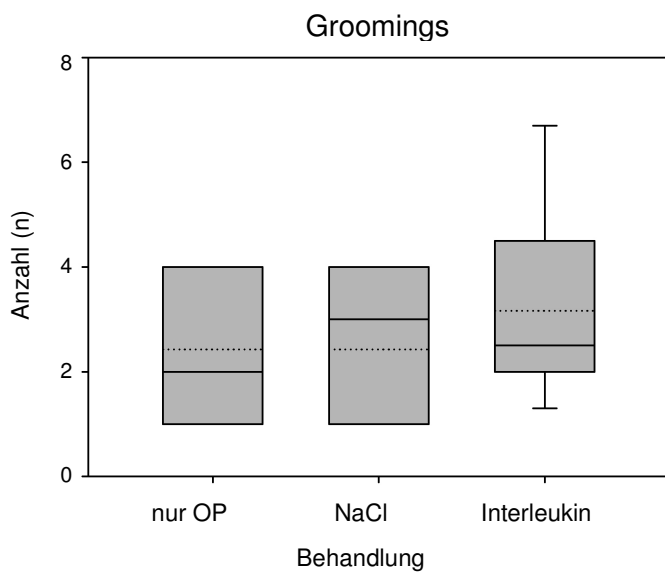


Abb. 11c: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Dargestellt sind die Anzahl der Groomings, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

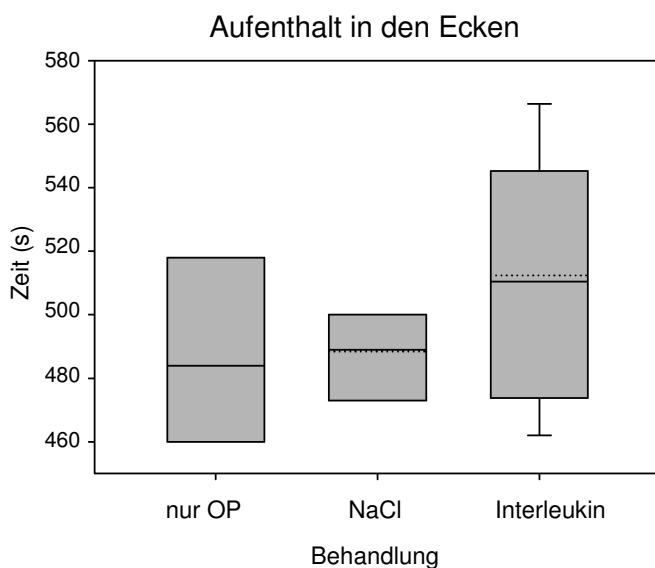


Abb. 11d: Ergebnisse des 1. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Dargestellt sind die Aufenthaltsdauer in den Ecken, demonstriert durch die Medianwerte (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und die Mittelwerte (gestrichelte Linie).

Bei der Beurteilung der Lokomotion ergab sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Tieren der „Interleukin“-Untergruppe und den Tieren, die nur der OP unterzogen wurden.

Bei der Beurteilung des Rearingverhaltens und dem Aufenthalt in den Ecken wurde lediglich eine Tendenz sichtbar. Die Tiere der „Interleukin“-Untergruppe verbrachten mehr Zeit in den Ecken und sie richteten sich weniger auf, als die Tiere der anderen beiden Untergruppen.

Bei der Beurteilung des Grooming-Verhaltens zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Untergruppen.

#### 4.2.3 Vergleich der Untergruppen „ohne OP“ (Gruppe 1) und „nur OP“ (Gruppe 2)

Ein Vergleich der scheinladierten Tiere aus Gruppe 2, mit den Tieren aus Gruppe 1, die nicht mit einer Kammer ausgestattet waren, sollte Aufschluss darüber geben, ob die Operation einen Einfluss auf das Verhalten der Versuchstiere hatte.

Die Implantation der Kammer alleine, ohne anschließende Manipulation vor jedem Verhaltensversuch, im Vergleich zu Tieren, die keine Kammer erhielten, sich aber vor jedem Versuch einer kurzen Inhalationsnarkose unterziehen lassen mussten, konnte im Open Field bei den Tieren der Untergruppe „nur OP“ keine Verhaltensveränderung bewirken.

#### 4.3 Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches

Zielsetzung dieses Versuches war es, die Beeinträchtigung der Tiere in Bezug auf die aufgenommene Menge Standardfutter und Wasser zu ermitteln. Zeitgleich wurde die motorische Aktivität im Heimatkäfig ermittelt.

Eine verminderte Futter- und Wasseraufnahme wurde als Beeinträchtigung des physiologischen Verhaltens gewertet, ebenso eine herabgesetzte Aktivität.

##### 4.3.1 Gruppe 1 (Vorbehandlungszeit 4 min)

###### l) Futteraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	12
NaCl	10
Vehikel	10
Capsaicin	10

Tabelle 6: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches

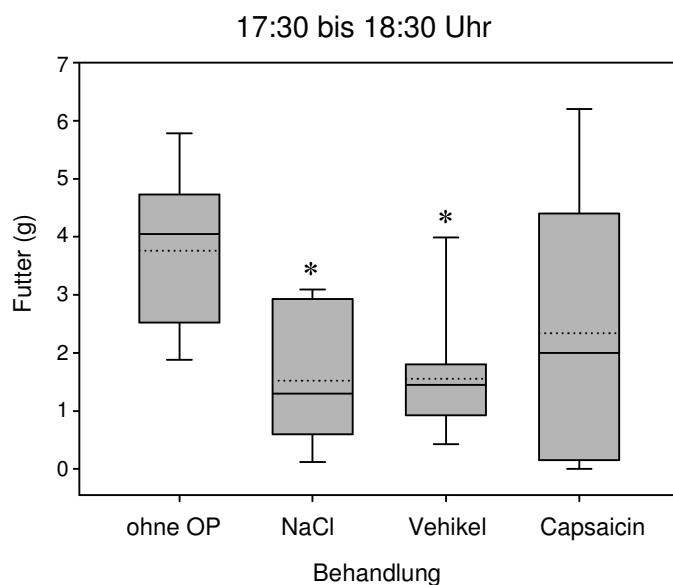


Abb. 12a: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Futtermengen innerhalb von 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

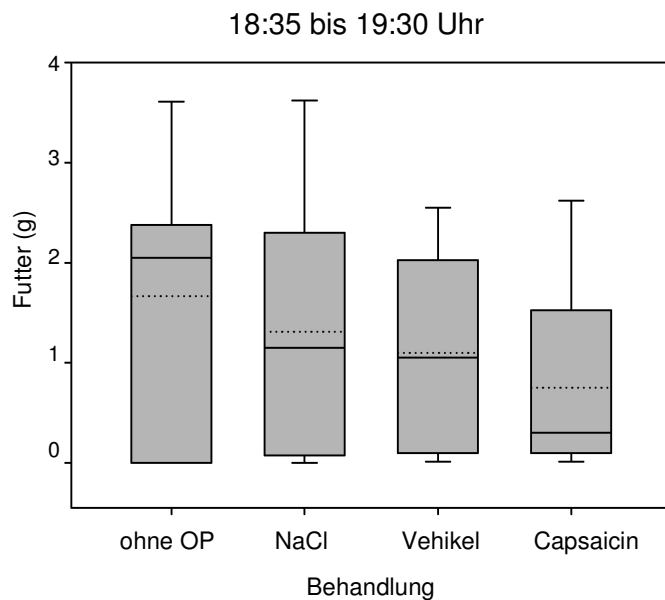


Abb. 12b: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Futtermengen innerhalb von 55 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

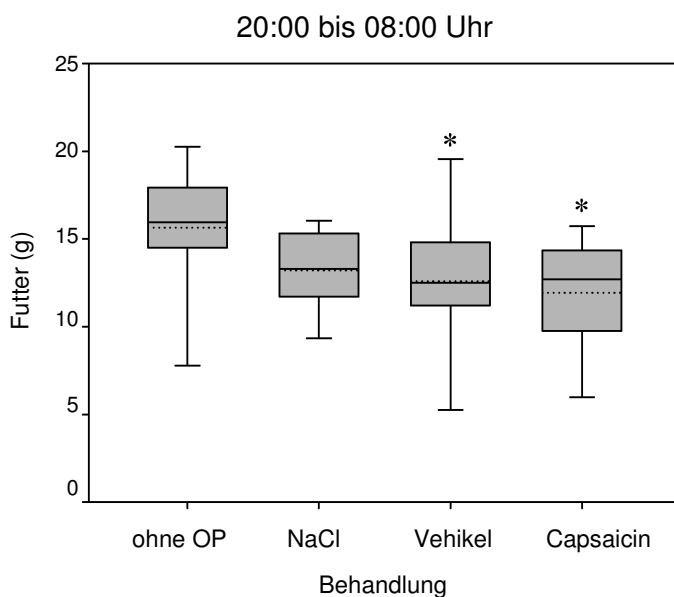


Abb. 12c: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Futtermengen innerhalb von 12 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

## II) Wasseraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	12
NaCl	10
Vehikel	10
Capsaicin	10

Tabelle 7: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches

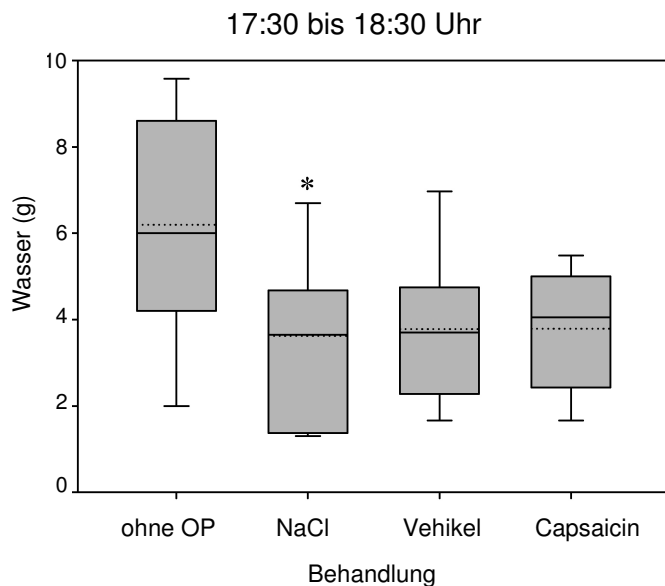


Abb. 13a: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Wassermengen innerhalb von 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

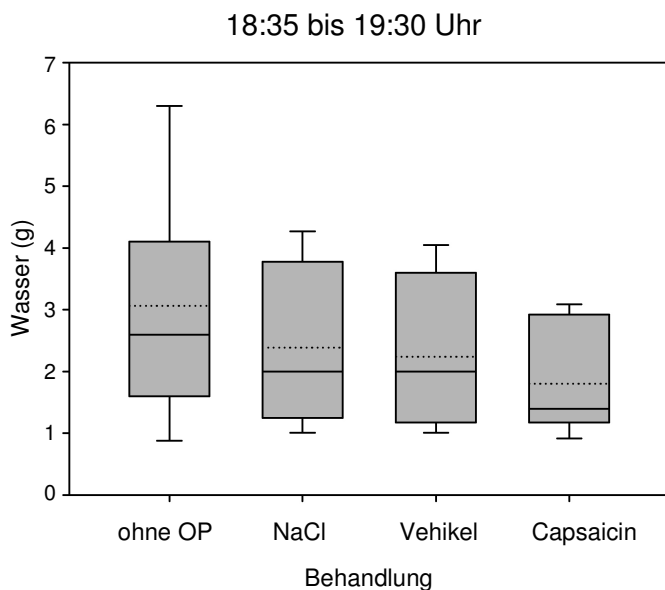


Abb. 13b: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Wassermengen innerhalb von 55 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).



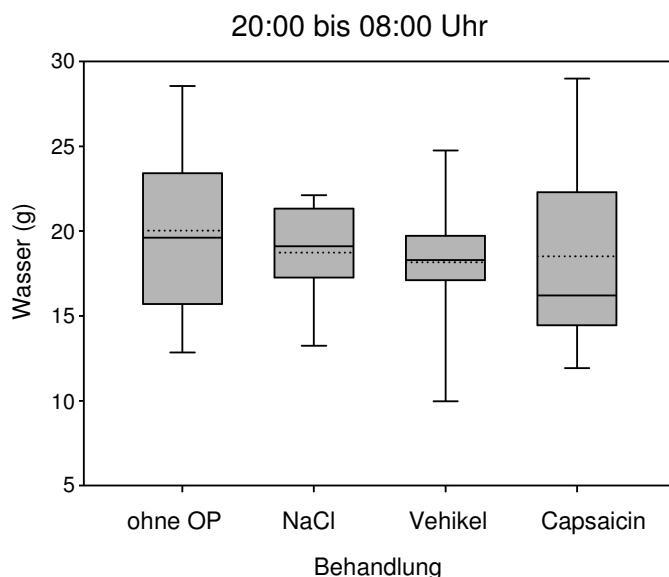


Abb. 13c: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Wassermengen innerhalb von 12 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Im Verlauf des gesamten Fütterungsversuches zeigte sich, dass die behandelten Tiere aller drei Untergruppen weniger fraßen, als die Tiere der Kontrollgruppe.

Ein deutlicher Unterschied bestand aber nur während der 1. Stunde zwischen den Vehikel- bzw. den NaCl-Tieren und der Untergruppe, die nicht mit einer Kammer ausgestattet wurde, und in der Zeit von 20:00 Uhr bis 8:00 Uhr zwischen den Tieren, die mit Capsaicin bzw. mit Vehikel behandelt wurden, und der Kontrollgruppe.

Insgesamt fraßen alle Tiere während der Zeit von 18:35 Uhr bis 19:30 Uhr weniger als während der 1. Stunde.

Hinsichtlich der Wasseraufnahme zeigte sich, ähnlich dem Fressverhalten, während der 1. Stunde der Trend, dass die behandelten Tiere weniger tranken als die Tiere der Kontrollgruppe. Ein deutlicher Unterschied bestand lediglich zwischen der Untergruppe „ohne OP“ und „NaCl“. Im weiteren Versuchsverlauf waren die Unterschiede nicht mehr nachzuweisen.

Insgesamt tranken die Tiere aller Untergruppen während der 2. Stunde deutlich weniger als während der 1. Versuchsstunde. Diese Ergebnisse waren analog zum Fressverhalten.

Betrachtet man das Fressverhalten und die aufgenommene Menge Wasser während der 1. Stunde des Versuches und verglich die Kontrollgruppe mit der „NaCl“-Untergruppe, so wurde

deutlich, dass die Narkose keinen Einfluss auf das Verhalten der Tiere hatte. Während der 2. Stunde des Versuches war ein ähnliches Bild zu verzeichnen.

### III) Aktivität im Heimatkäfig

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	09
NaCl	10
Vehikel	10
Capsaicin	10

Tabelle 8: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches

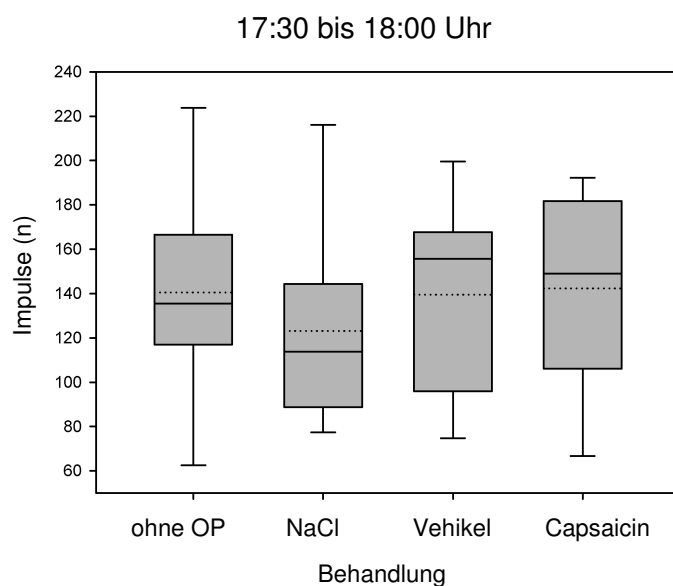


Abb. 14a: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 30 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

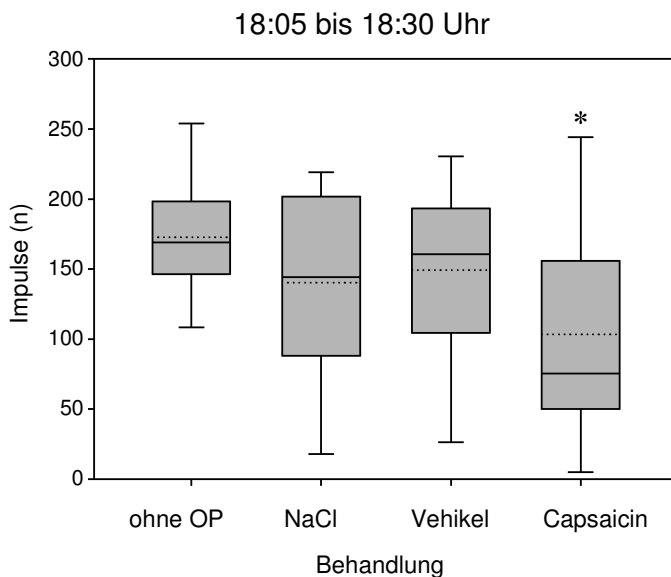


Abb. 14b: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 25 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

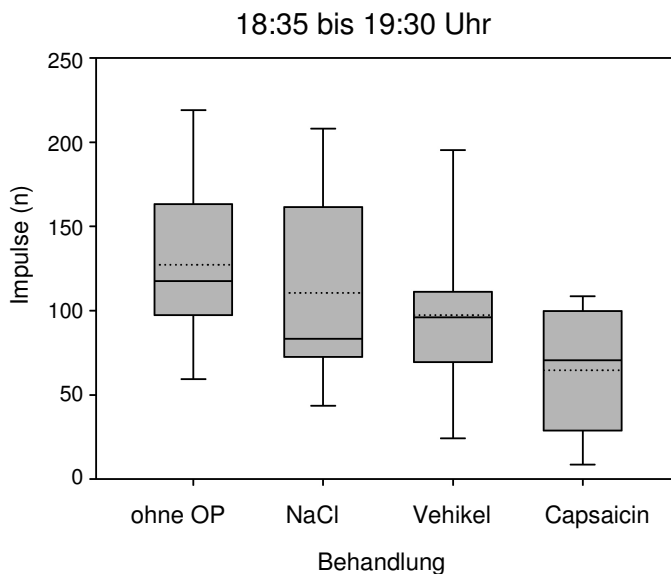


Abb. 14c: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 55 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

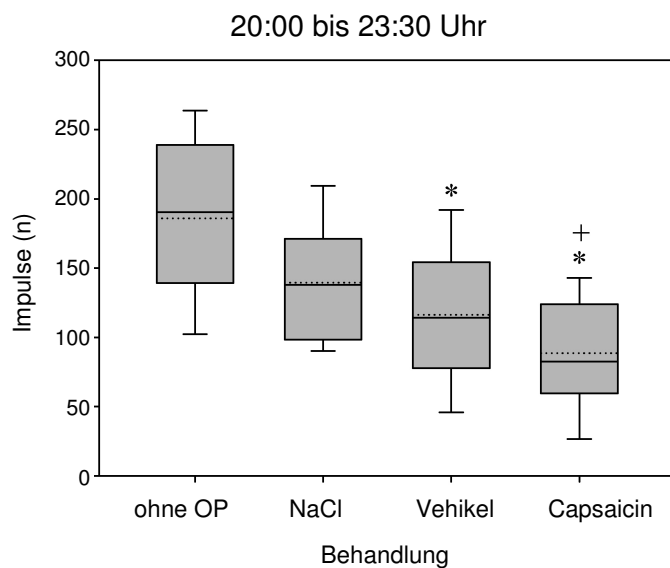


Abb. 14d: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb 3,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „ohne OP“

+  $p < 0,05$  vs. „NaCl“

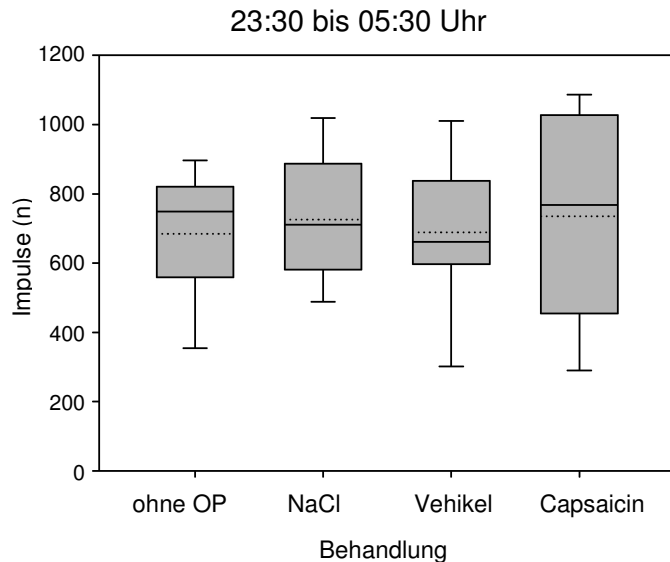


Abb. 14e: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 6 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

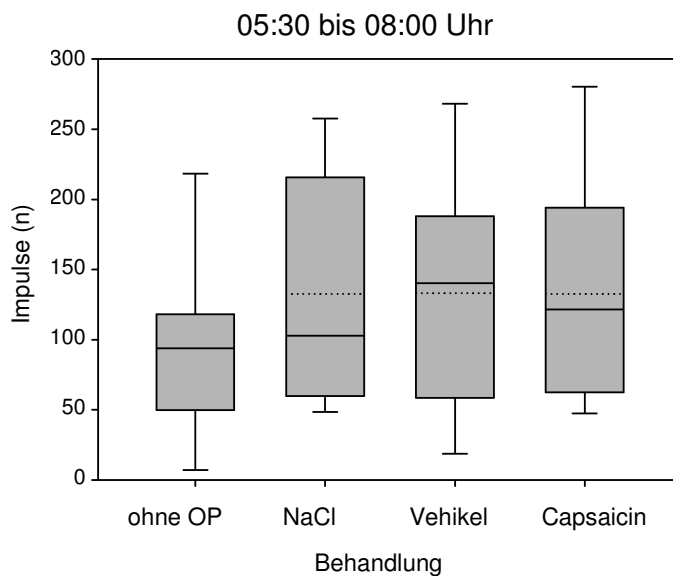


Abb. 14f: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 2,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Während der ersten 1/2 Stunde des Fütterungsversuches war zwischen den Medianen der vier Untergruppen kein Unterschied zu erkennen. Erst in der Zeitspanne von 18:05 Uhr bis 23:30 Uhr war zu sehen, dass die Tiere der „Capsaicin“-Untergruppe in ihrer Aktivität am stärksten gehemmt und die Tiere der Kontrollgruppe die Aktivsten waren.

Ein deutlicher Aktivitätsunterschied zeigte sich in der Zeit von 18:05 Uhr bis 18:30 Uhr zwischen den Medianen der „Capsaicin“- und „ohne OP“-Untergruppe.

Insgesamt gesehen waren die Tiere während der 1. Stunde des Versuches lebhafter als während der 2. Stunde.

In dem Zeitfenster von 20:00 Uhr bis 23:30 Uhr bestand nicht nur ein Unterschied zwischen den Medianen der „Capsaicin“ bzw. „Vehikel“-Untergruppe und der Kontrollgruppe, sondern auch zwischen der Untergruppe „Capsaicin“ und „NaCl“.

Im weiteren Versuchsverlauf waren keine Unterschiede zwischen den einzelnen Untergruppen mehr zu erkennen.

## 4.3.2 Gruppe 2 (Vorbehandlungszeit 6 h)

## I) Futteraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	12

Tabelle 9: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches

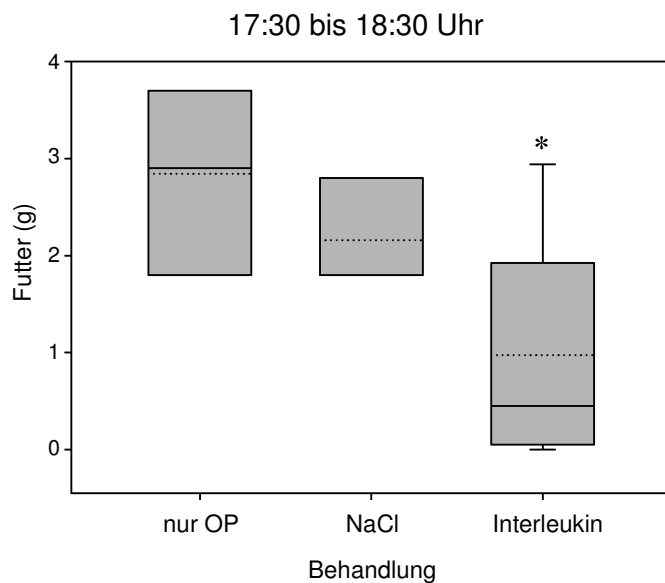


Abb. 15a: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Futtermengen innerhalb von 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

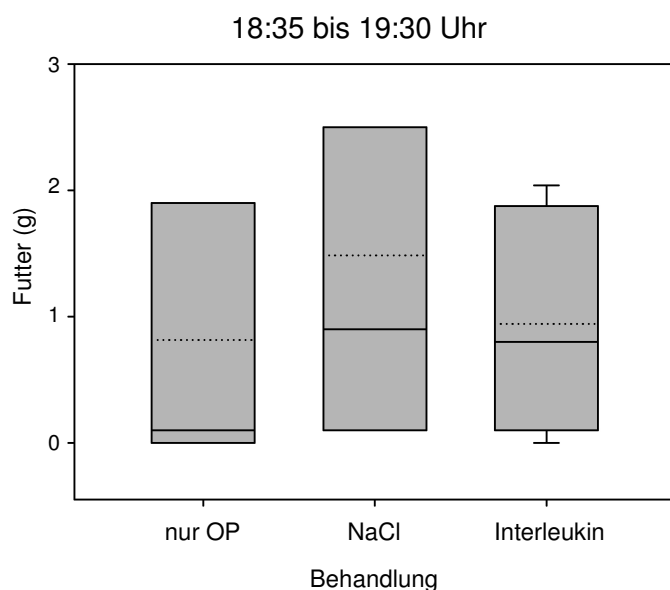


Abb. 15b: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Futtermengen innerhalb von 55 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

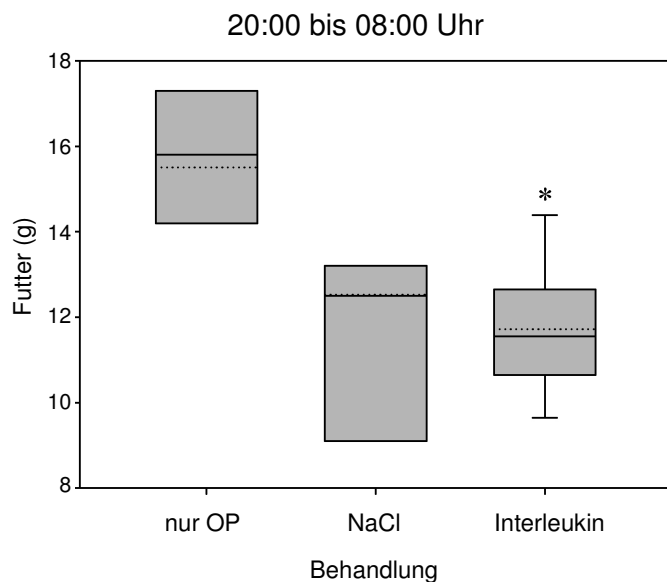


Abb. 15c: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Futtermengen innerhalb von 12 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

## II) Wasseraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	12

Tabelle 10: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches

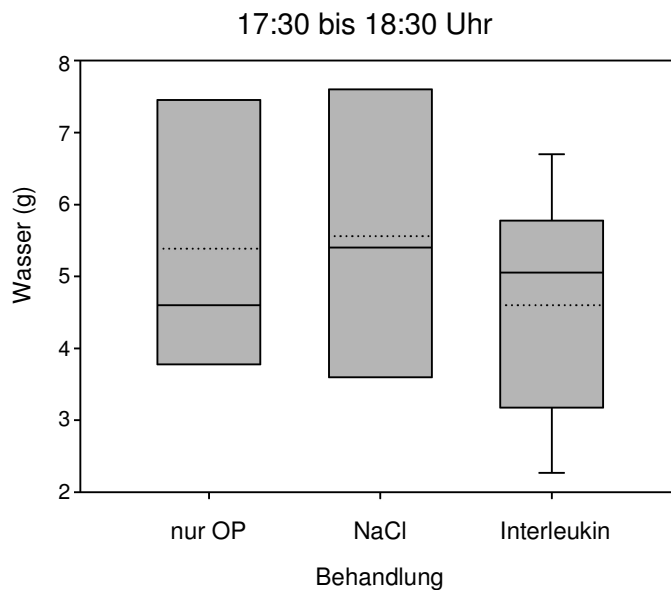


Abb. 16a: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Wassermengen innerhalb von 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).



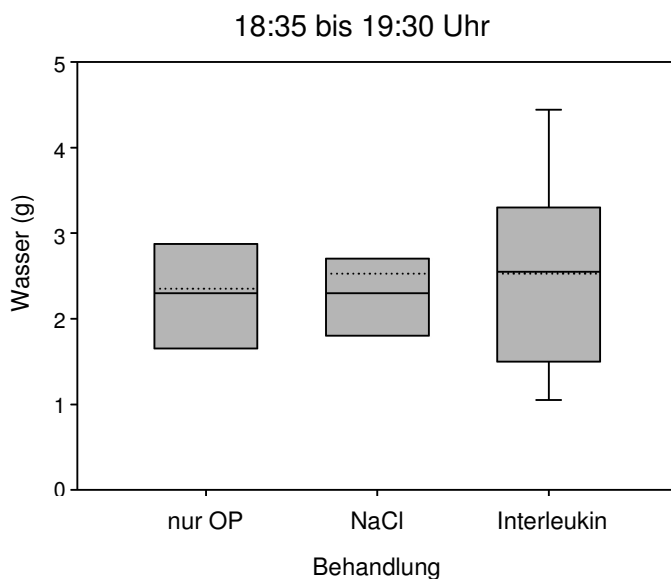


Abb. 16b: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Wassermengen innerhalb von 55 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

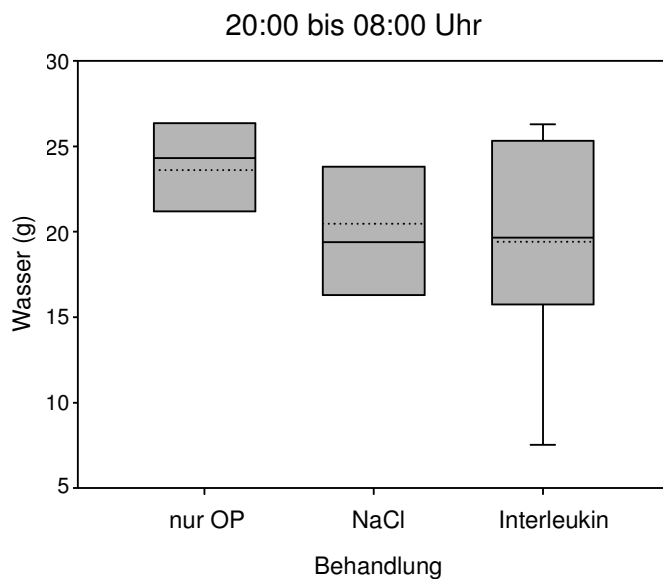


Abb. 16c: Ergebnisse des 2. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Wassermengen innerhalb von 12 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

In der 1. Stunde bestand ein deutlicher Unterschied zwischen der aufgenommenen Futtermenge der „Interleukin“-Untergruppe und der Kontrollgruppe „nur OP“. Die Interleukin-Tiere fraßen auch weniger als die Tiere der NaCl-Untergruppe.

Während der 2. Stunde des Versuches fraßen die Tiere, die mit Interleukin behandelt wurden, immer noch wenig, doch auch in Gruppe 2 zeigt sich, dass die Tiere insgesamt gesehen in der 2. Stunde des Versuches weniger fraßen als zu Beginn der Dunkelphase, so dass hier keine Unterschiede zwischen den Gruppen zu sehen war.

In der Zeitspanne von 20:00 Uhr bis 8:00 Uhr wurde der Unterschied in der aufgenommenen Futtermenge zwischen den mit Interleukin behandelten Tieren und der Kontrollgruppe dann wieder deutlich.

In Bezug auf die Wasseraufnahme gab es im gesamten Versuchsverlauf keine großen Unterschiede zwischen den drei Untergruppen.

Es fiel lediglich auf, dass während der 1. Stunde insgesamt mehr getrunken wurde als während der 2. Stunde des Versuches. Dieses Ergebnis deckte sich mit dem Ergebnis des Fressverhaltes und mit der Beobachtung innerhalb der Gruppe 1.

### III) Aktivität im Heimatkäfig

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	12

Tabelle 11: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches

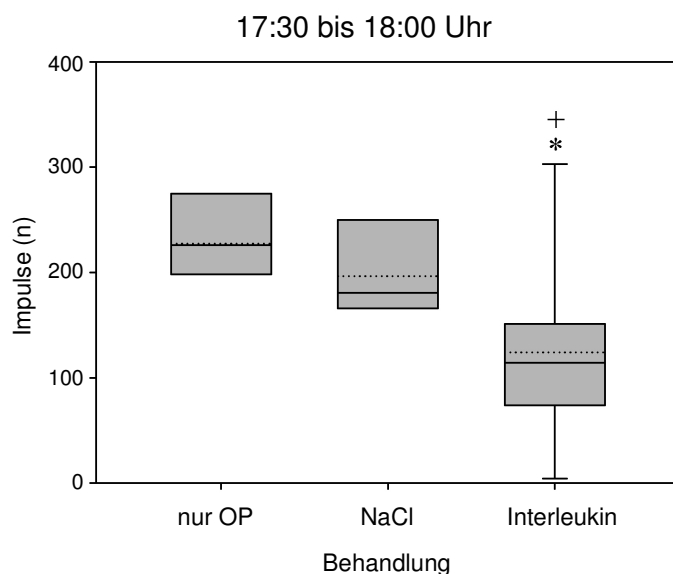


Abb. 17a: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 30 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

+  $p < 0,05$  vs. „NaCl“

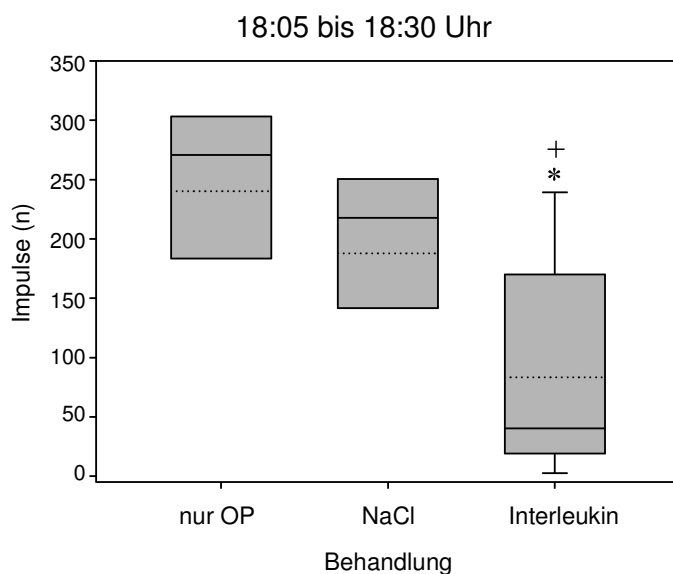


Abb. 17b: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb 25 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

+  $p < 0,05$  vs. „NaCl“

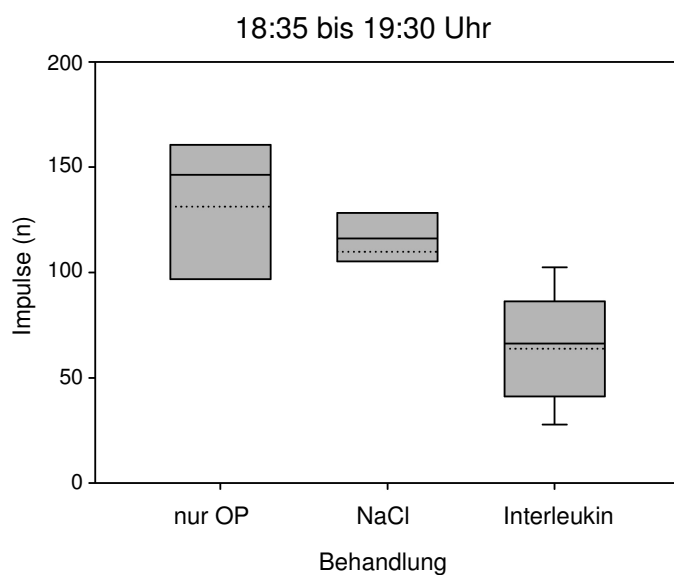


Abb. 17c: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 55 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

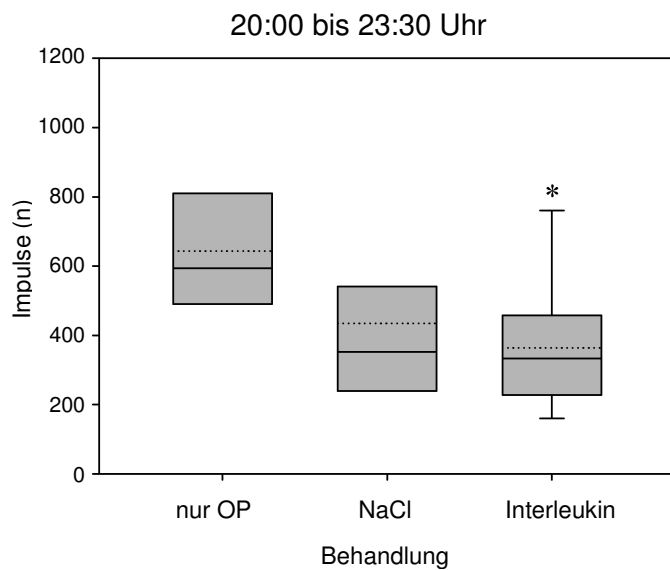


Abb. 17d: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 3,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

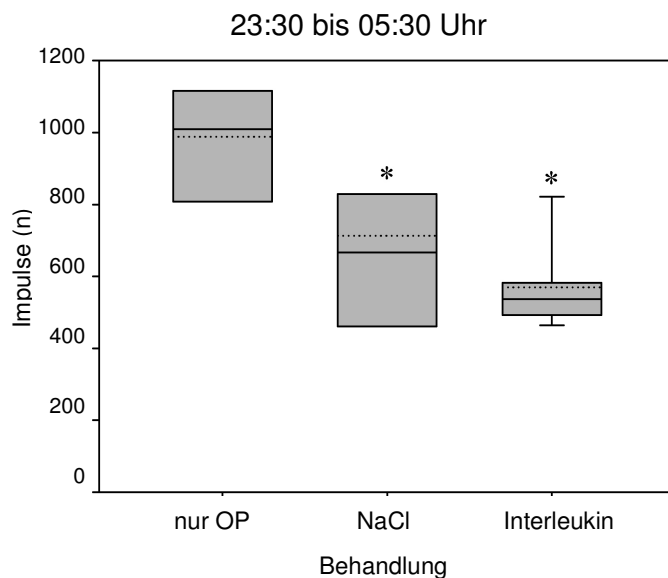


Abb. 17e: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 6 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

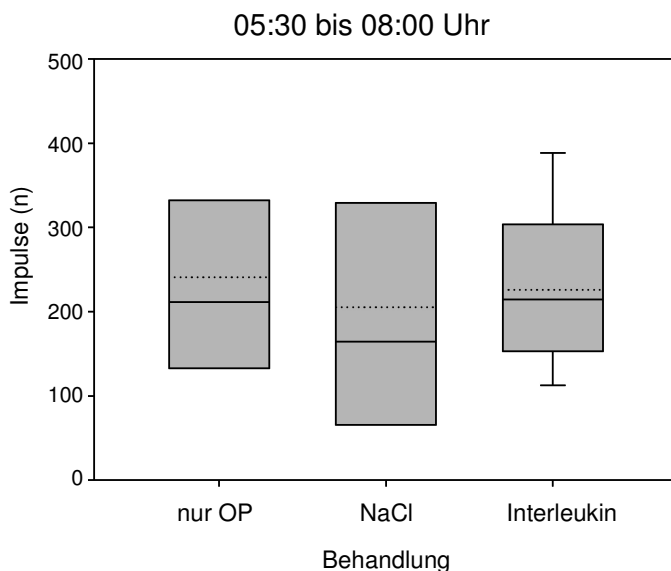


Abb. 17f: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 2. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb 2,5 Stunden, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

In der 1. Stunde des Versuches zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen dem Median der Untergruppe „Interleukin“ und denen der anderen beiden Untergruppen. Dieser Trend hielt während der 2. Stunde des Versuches an.

In der Zeit von 20:00 Uhr bis 5:30 Uhr war dann erneut ein deutlicher Unterschied der Mediane der Untergruppe „Interleukin“ und der Kontrollgruppe zu erkennen.

Weiterhin zeigte sich tendenziell, dass sich die „NaCl“-Untergruppe weniger bewegte als die Kontrollgruppe. In der Zeit von 23:30 Uhr bis 5:30 Uhr war dieser Unterschied sogar deutlich. In den frühen Morgenstunden, von 5:30 Uhr bis 8:00 Uhr, glichen sich die Untergruppen hinsichtlich ihrer motorischen Aktivität einander wieder an.

#### 4.4 Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches

Den Tieren wurde im Verlauf dieses Versuches sowohl süßes Futter als auch Pelletfutter angeboten.

Der Verbrauch dieser beiden Futtermittel sollte Aufschluss darüber geben, ob die Tiere der einzelnen Untergruppen so sehr beeinträchtigt sind, dass sie auch ein präferiertes Futter verschmähen würden.

Gemessen wurde die aufgenommene Menge Standardfutter, Kirschagar und die motorische Aktivität im Heimatkäfig.

Eine verminderte Nahrungsaufnahme oder eine herabgesetzte Aktivität wurde als Beeinträchtigung des physiologischen Verhaltens gewertet.

##### 4.4.1 Gruppe 1 (Vorbehandlungszeit 4 min)

###### I) Kirschagaraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	11
NaCl	10
Vehikel	09
Capsaicin	09

Tabelle 12: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 3. Verhaltensversuches

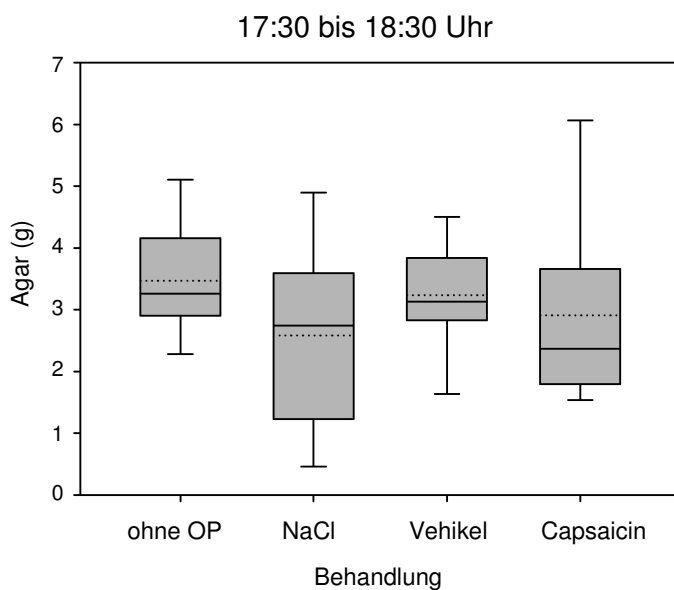


Abb. 18a: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Kirschagarmengen innerhalb 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

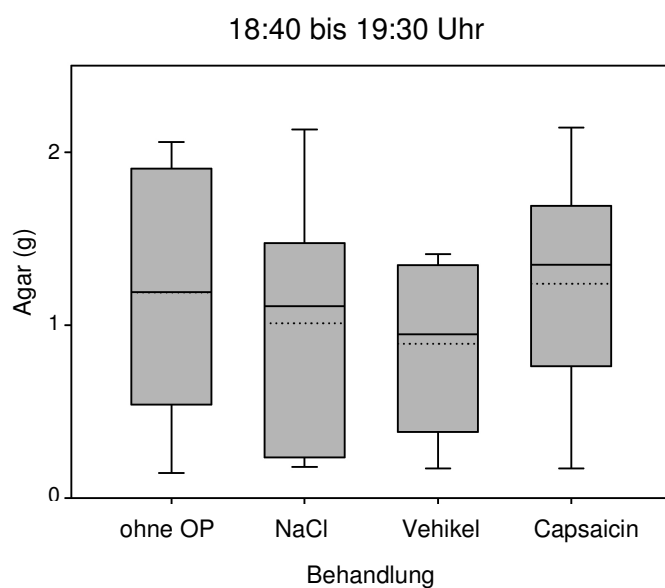


Abb. 18b: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Kirschagarmengen innerhalb von 50 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

## II) Futteraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	11
NaCl	10
Vehikel	09
Capsaicin	09

Tabelle 13: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 3. Verhaltensversuches

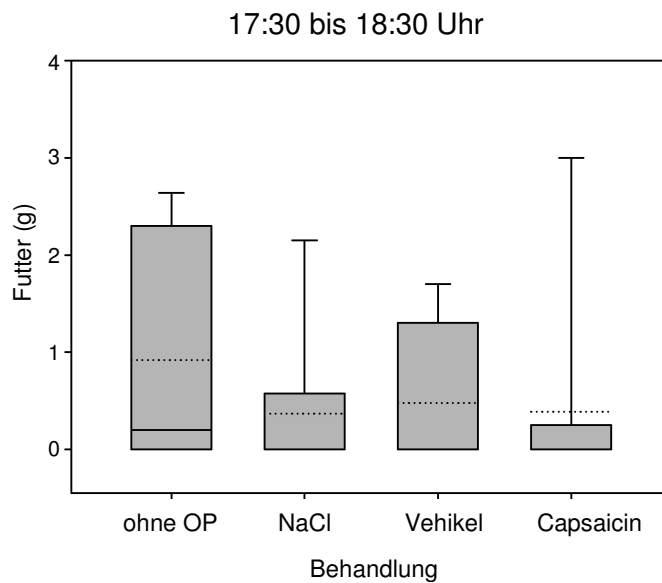


Abb. 19a: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Standardfutttermengen innerhalb von 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).



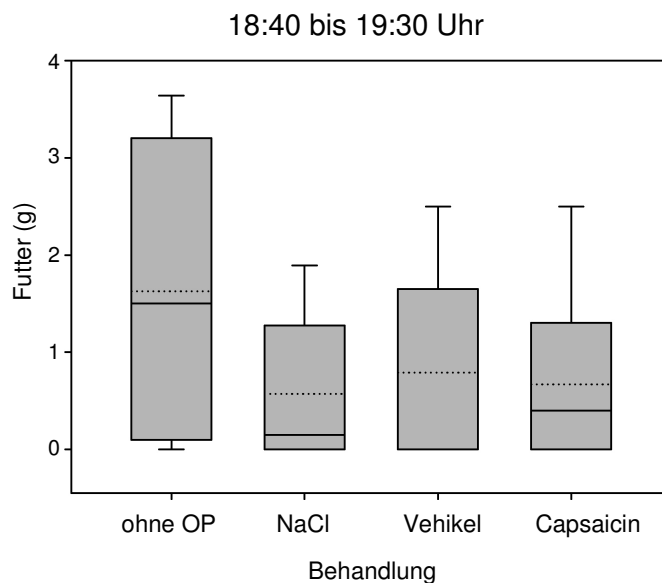


Abb. 19b: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 1. Erfasst sind die Standardfuttermengen innerhalb von 50 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Sowohl während der 1. Stunde als auch während der 2. Stunde des Versuches war kein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Untergruppen bei der aufgenommenen Menge Kirschagar zu sehen.

Auch die aufgenommene Menge Standardfutter während der 1. Stunde ließ keine großen Unterschiede zwischen den Untergruppen erkennen.

Lediglich im Verlauf der 2. Stunde fraßen die Tiere der Kontrollgruppe „ohne OP“ mehr Standardfutter als die Tiere der übrigen Untergruppen.

Die Tiere aller Untergruppen fraßen im Verlauf der 1. Stunde mehr als während der 2. Stunde, des Weiteren wurde deutlich, dass der Kirschagar bevorzugt gefressen wird, wenn beide Futtersorten angeboten werden.

## III) Aktivität im Heimatkäfig

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Ohne OP	11
NaCl	09
Vehikel	08
Capsaicin	07

Tabelle 14: Stichprobenumfang der Gruppe 1 während des 3. Verhaltensversuches

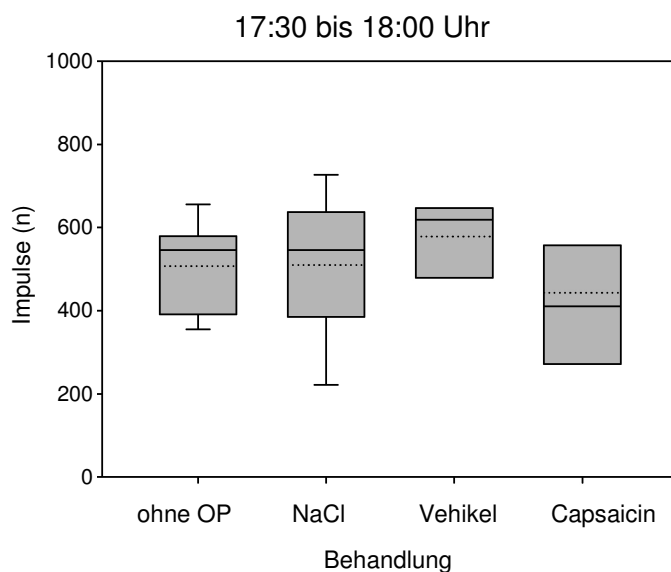


Abb. 20a: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 3. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 30 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

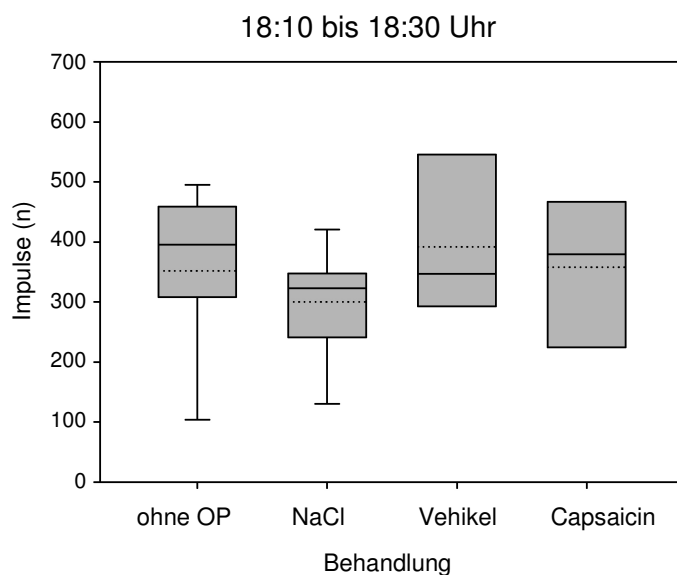


Abb. 20b: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 3. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 20 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

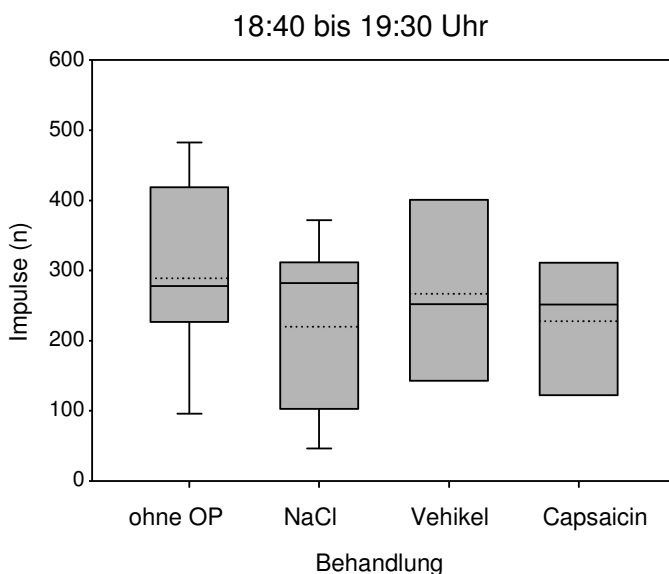


Abb. 20c: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 1 während des 3. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 50 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Auch die Aktivitätsmessung im Heimatkäfig während des gesamten Versuchsverlaufes bestätigten das mit der Nahrungsaufnahme entstandene Bild.

Es gab keine Unterschiede zwischen den Medianen der Untergruppen.

## 4.4.2 Gruppe 2 (Vorbehandlungszeit 6 h)

## I) Kirschagaraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	10

Tabelle 15: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 3. Verhaltensversuches

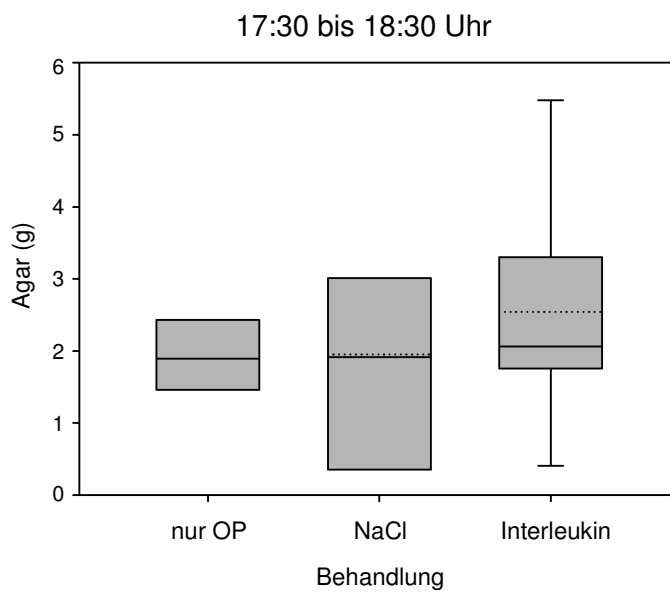


Abb. 21a: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Kirschagarmengen innerhalb von 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

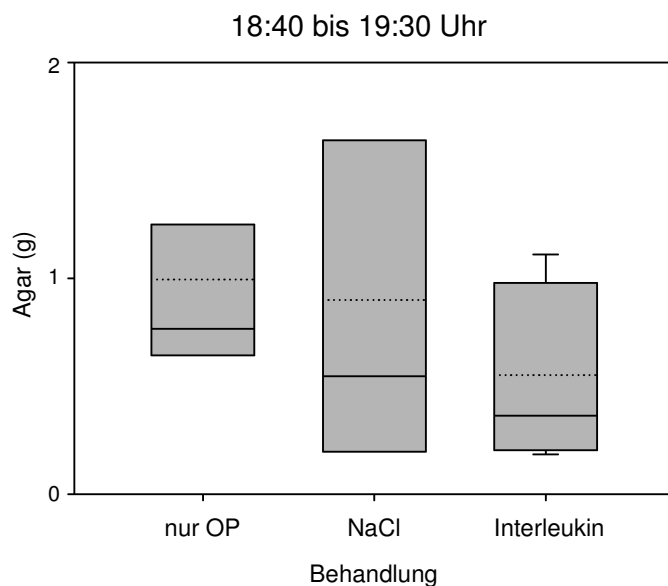


Abb. 21b: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Kirschgarmengen innerhalb von 50 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

## II) Futteraufnahme

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	10

Tabelle 16: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 3. Verhaltensversuches

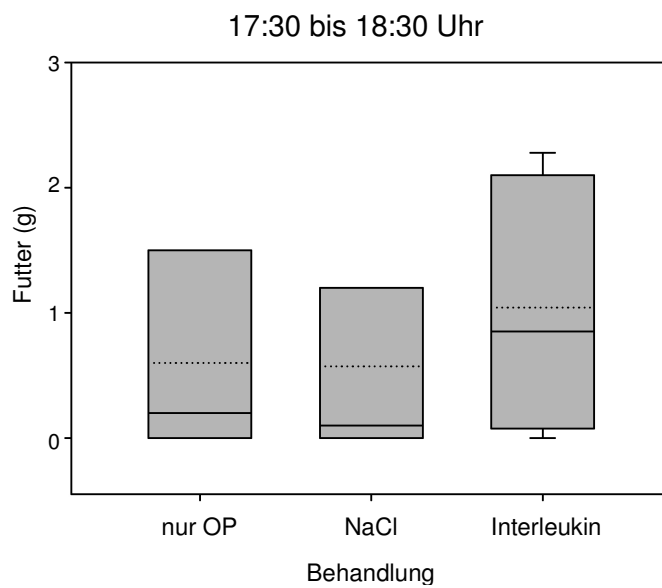


Abb. 22a: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Standardfuttermengen innerhalb 1 Stunde, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

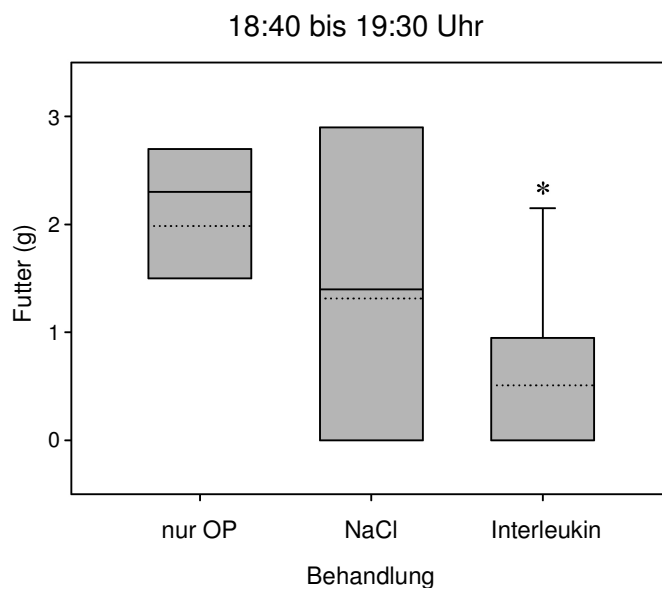


Abb. 22b: Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches der Gruppe 2. Erfasst sind die Standardfuttermengen innerhalb von 50 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

\*  $p < 0,05$  vs. „nur OP“

Sowohl während der 1. Stunde als auch während der 2. Stunde des Versuches war kein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Untergruppen hinsichtlich der aufgenommenen Menge Kirschagar zu sehen.

Die aufgenommene Menge Standardfutter während der 1. Stunde ließ auch keine Unterschiede zwischen den Untergruppen erkennen.

Lediglich im Verlauf der 2. Stunde nahmen die Tiere der „Interleukin“-Untergruppe signifikant weniger Standardfutter zu sich als die Kontrollgruppe.

Die Tiere aller Untergruppen fraßen im Verlauf der 1. Stunde mehr als während der 2. Stunde. Weiterhin wurde deutlich, dass der Kirschagar bevorzugt gefressen wird, wenn beide Futtersorten angeboten werden. Diese Erkenntnisse waren analog zu denen aus Gruppe 1.

### III) Aktivität im Heimatkäfig

Untergruppe	Stichprobenumfang (n)
Nur OP	07
NaCl	07
Interleukin	10

Tabelle 17: Stichprobenumfang der Gruppe 2 während des 3. Verhaltensversuches

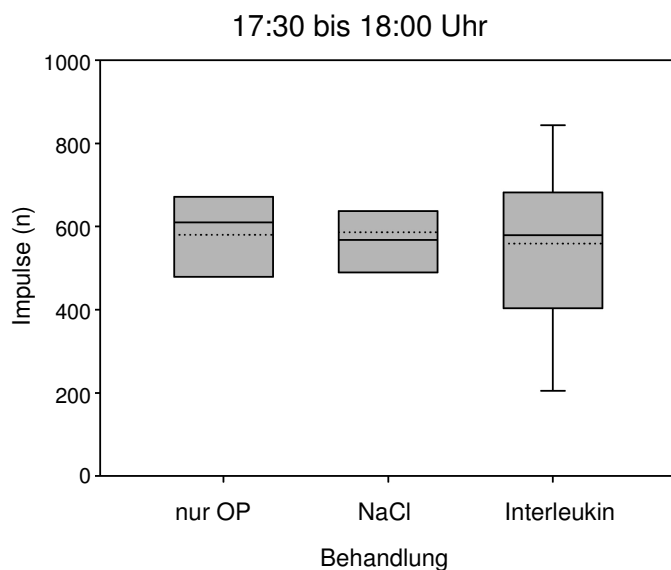


Abb. 23a: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 3. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 30 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

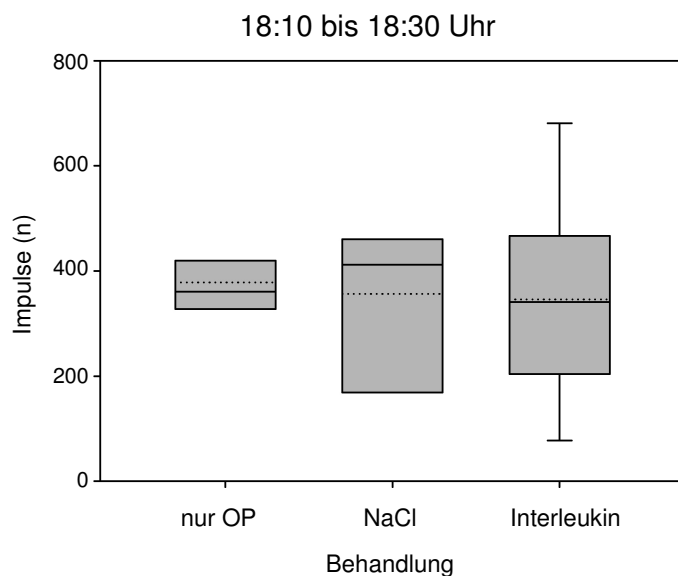


Abb. 23b: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 3. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 20 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).



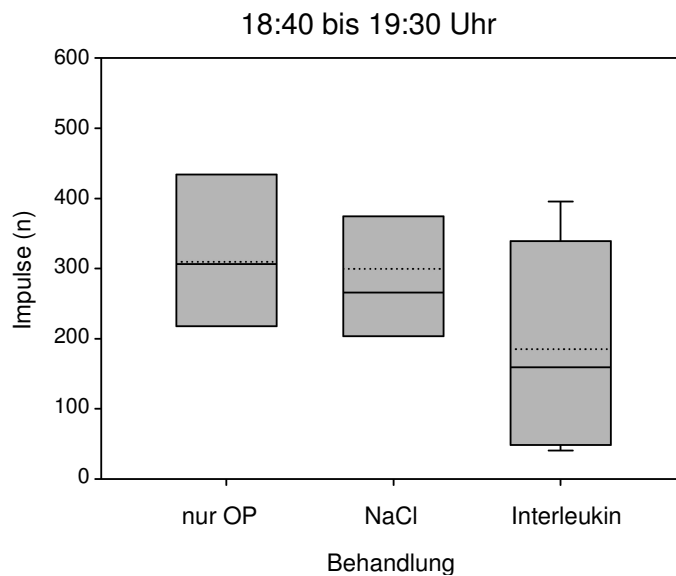


Abb. 23c: Motorische Aktivität im Heimatkäfig der Gruppe 2 während des 3. Verhaltensversuches. Erfasst ist die Anzahl der Impulse des Bewegungsmelders innerhalb von 50 Minuten, dargestellt sind der Medianwert (durchgezogene Linie) mit den 25./75. bzw. 5./95. Perzentilen und der Mittelwert (gestrichelte Linie).

Vergleichbar mit den Ergebnissen der Nahrungsaufnahme ergab die Bestimmung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig während der 1. Versuchsstunde keine Unterschiede zwischen den Medianen der Untergruppen. Lediglich im Verlauf der 2. Stunde war die Tendenz zu sehen, dass sich die mit Interleukin behandelten Tiere weniger bewegten als die Tiere der anderen beiden Untergruppen.

## 5. Diskussion

Kopfschmerzen werden zu dem großen Komplex der Volkskrankheiten gezählt.

22,5 Millionen Menschen leiden allein in Deutschland regelmäßig unter Kopfschmerzen (Stiftung Kopfschmerz, 2009), wobei Migräne die am häufigsten auftretende Form ist. Frauen sind mit ca. 12%-14% etwas häufiger von Migräne betroffen als Männer (ca. 6% - 8%), bei Frauen verläuft eine Attacke erfahrungsgemäß länger und intensiver (Diener, 2002 a). Interessanterweise ist die Migränehäufigkeit bei fast allen untersuchten Völkern gleich.

Neben dem individuellen Leid verursachen Kopfschmerzen auch Milliardenkosten aufgrund von Arbeitsausfällen, vorzeitigen Berentungen sowie Komplikationen durch eine uneffektive Schmerztherapie. Allein 900.000 Menschen leiden jeden Tag in Deutschland an Migräne-Attacken. Rund 100.000 Betroffene sind bundesweit täglich durch Migräneanfälle mit Schmerzen und Erbrechen an das Bett gefesselt (Göbel, 2009). Aktuelle Forschungen zeigen, dass allein die Migräne in Europa zu 27 Milliarden Euro an direkten und indirekten Kosten führt. Nach der Altersdemenz gilt Migräne als die teuerste neurologische Erkrankung. Weitere 250 Kopfschmerzursachen sind bekannt, die zu ähnlich hohen Kosten führen (Göbel, 2009). Die Epidemiologie dieser Erkrankung und die damit einhergehenden hohen wirtschaftlichen Kosten machen die Entwicklung effektiver Therapien und weitergehende Forschung unabdingbar. Derzeit sind einige Kopfschmerzmedikamente auf dem Markt, die den Betroffenen in den meisten Fällen zumindest Linderung verschaffen, die Ätiologie primärer Kopfschmerzen, vor allem von chronischen Kopfschmerzen, ist dennoch nicht ausreichend erforscht. Das könnte unter anderem auch daran liegen, dass kein experimentelles Modell zur Studie der Pathophysiologie chronischer Kopfschmerzen existiert. Zahlreiche unterschiedliche Kopfschmerzmodelle werden in der heutigen Wissenschaft angewendet, doch wird die Übertragbarkeit auf den Menschen immer wieder angezweifelt.

Ziel dieser Arbeit sollte es sein mittels Verhaltensversuche zu beweisen, dass Ratten meningealen Schmerz empfinden können und so die „face validity“ dieses Kopfschmerzmodelles auf den Menschen herzustellen.

Es wurden dazu Verhaltenstests ausgewählt, deren Grundlage eine Homologie zu den Symptomen aufweisen, wie sie bei Menschen im Verlauf einer Migräneattacke auftreten.

Um meningeale Schmerzen bei den Versuchstieren herbeizuführen wurden zwei Substanzen verwendet, die in der Kopfschmerzforschung bereits seit langem etabliert sind: Capsaicin und Interleukin-1 $\beta$ .

### 5.1 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1 $\beta$ auf das Verhalten im Open Field

Der Open Field-Test wird aufgrund seiner vielfältigen Verwendungsmöglichkeiten seit langem (Hall, 1934) und oft bei Verhaltensuntersuchungen angewendet (Nosek et al., 2008). Besonders häufig wird er bei der Beurteilung des angstbezogenen Verhaltens eingesetzt, da die meisten Nagetiere das Betreten freier Flächen meiden. Der Einsatz des Open Field-Testes als Angstmodell ist von pharmakologischer Seite her bereits gut validiert (Nosek et al., 2008). Aufgrund seines einfachen Aufbaus kann er sehr gut zur Bestimmung explorationsbezogenen Verhaltens und der Lokomotion genutzt werden. In dieser Arbeit wurden zur Bewertung die lokomotorische Aktivität, das Grooming, das Rearing und der Aufenthalt in den Ecken herangezogen.

Zahlreiche vorangegangene Untersuchungen belegten, dass im Verlauf einer Erkrankung eines Tieres gewisse Verhaltensänderungen als Krankheitsverhalten gewertet werden können. Dazu zählt z.B. eine reduzierte Aktivität (Weyers et al., 1994; Garcia-Cairasco et al., 1998; Weiss et al., 2003) und damit einhergehend ein verlängerter Aufenthalt in den schützenden Ecken des Open Fields, da Tiere allg. das Bedürfnis haben, bei Unwohlsein Schutz zu suchen. Aber auch eine Veränderung im Groomingverhalten (Henke & Erhardt, 2001; Sanford et al., 1986; Weiss et al., 2003) sowie ein reduziertes Rearingverhalten (Hirsjärvi & Junnila, 1986) sind nach heutigem Wissensstand als Bewertungsparameter für Krankheitsverhalten zulässig.

Die Ergebnisse der Verhaltensbeobachtungen im Open Field nach Applikation von Capsaicin, das 4 Minuten vor der Verhaltensbeobachtung verabreicht wurde, zeigten deutliche Unterschiede im Verhalten der Capsaicin-Tiere zu den Kontrolltieren. Die mit Capsaicin behandelten Tiere bewegten sich deutlich weniger, was sich sowohl in einer erniedrigten Anzahl der ermittelten Transitions als auch in einem verlängerten Aufenthalt in den Ecken zeigte. Zusätzlich waren die Rearings deutlich erniedrigt.

Diese Ergebnisse decken sich mit denen aus der Studie von Bauhofer et al. (2009). Dort wurde das Verhalten von Ratten im Open Field untersucht, die mittels i.p. Inokulation eine Sepsis entwickelten. Diese Tiere zeigten eine deutliche Reduktion der Lokomotion und der Rearings.

In einem immunologischen Model der „major depression“ untersuchten Pitychoutis et al. (2009) mittels Open Field und anderer Testverfahren Ratten, die mit Lipopolysacchariden behandelt wurden. Ziel dieser Studie war es mögliche geschlechtliche Differenzen aufzuzeigen. Interessanterweise wiesen nur die männlichen Ratten eine deutliche Reduktion der Lokomotion gegenüber den Kontrolltieren auf. Bei der Ermittlung der Rearings konnten keine Unter-

schiede zwischen den Geschlechtern aufgezeigt werden, gegenüber der Kontrollgruppe waren beide signifikant erniedrigt.

Im Zuge dieser Arbeit wiesen teilweise jedoch auch die mit Vehikel versehenen Tiere der gleichen Gruppe und sogar die nur mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Tiere deutliche Verhaltensunterschiede zur Kontrollgruppe auf, was sich besonders deutlich beim Aufenthalt in den Ecken zeigte. Dies lässt nur die Interpretation zu, dass auch die mit Vehikel oder isotonischer Kochsalzlösung behandelten Tiere, 4 Minuten vor Messbeginn, einer Beeinträchtigung ausgesetzt waren. Mögliche Störfaktoren wären die Narkose und die Manipulation an der Kammer.

Lediglich beim Groomingverhalten waren weder bei den Capsaicin-Tieren noch bei den anderen beiden Untergruppen Unterschiede zur Kontrollgruppe erkennbar.

Das Verhalten der Tiere der Kontrollgruppe, die nicht operiert wurden, aber zum selben Zeitpunkt wie die Tiere der anderen Untergruppen kurz vor den Verhaltensversuchen in Inhalationsnarkose gelegt wurden, wies keine Verhaltensänderung auf, wie sie bei den mit Capsaicin, Vehikel oder isotonischer Kochsalzlösung behandelten Tieren zu verzeichnen war. Daher kann darauf geschlossen werden, dass die Narkose alleine keinen Einfluss auf die Verhaltensversuche hatte. Diese Ergebnisse untermauern die Vermutung, dass die Manipulation an der Kammer eine nachhaltige Beeinflussung des Verhaltens verursacht.

Die Ergebnisse der Untergruppen der Gruppe 2, die zum Teil 6 Stunden vor der Verhaltensbeobachtung mit z.B. Interleukin behandelt wurden, zeigten ein differentes Bild zur anderen Gruppe, die kurz vor dem Versuch stimuliert wurden. Lediglich in der Lokomotion ergab sich ein deutlicher Unterschied zwischen den mit Interleukin behandelten Tieren und der Kontrollgruppe.

Die Untergruppe „NaCl“ zeigte keinen Unterschied zur Kontrollgruppe, was so gedeutet werden könnte, dass die Manipulation an der Kammer 6 Stunden vor dem eigentlichen Versuch keinen Einfluss auf das Verhalten hatte.

Betrachtet man die Ergebnisse der mit Interleukin behandelten Untergruppe im Hinblick auf das Rearingverhalten und den Aufenthalt in den Ecken, so zeigte sich zumindest die Tendenz, dass die so behandelten Tiere sich weniger aufrichteten und länger in den Ecken verweilten.

Diese Ergebnisse deckten sich mit anderen Untersuchungen. So konnte bei verschiedenen Nagetierarten 2 Stunden nach der Behandlung mit Interleukin-1 $\beta$  und dem Tumor Nekrose

Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) eine deutliche Reduktion der sozialen Exploration, wie z.B. der olfaktorischen Interaktion mit anderen Tieren der Gruppe, nachgewiesen werden (Dantzer, 2001). Weiterhin zeigten Studien von Dunn & Swiegiel (2005), dass Interleukin i.p. verabreicht zu einer verminderten Exploration und einem verminderten Rearingverhalten im Open Field führte.

Analog zur Gruppe 1, die kurz vor den Verhaltensbeobachtungen in Narkose gelegt bzw. z.T. mit Capsaicin behandelt wurden, zeigten sich keine Unterschiede im Groomingverhalten.

Insgesamt gesehen entsprachen die Ergebnisse der Gruppe 2 eher den Erwartungen. Der Hypothese entsprechend konnte man von einer Beeinträchtigung lediglich der mit Interleukin oder Capsaicin stimulierten Tiere ausgehen. Angenommen wurden eine Verminderung der Lokomotion und des Rearingverhaltens, weiterhin eine Verlängerung des Aufenthaltes in den Ecken gegenüber den Kontrolltieren.

Betrachtet man beide Gruppen, so ist deutlich ersichtlich, dass bei Gruppe 2 nur die mit Interleukin behandelten Tiere Verhaltensänderungen zeigten, wohingegen alle Tiere der Gruppe 1, bei denen unmittelbar vor den Versuchen eine Manipulation an der Kammer stattfand, kleine bis deutliche Verhaltensänderungen zeigten.

In beiden Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede im Groomingverhalten zu erkennen, was dafür spricht, dass der menigeale Schmerz, der sich bei anderen Parametern durchaus beeinflussend darstellte, unter unseren Versuchsbedingungen offenbar keine Auswirkungen auf das Groomingverhalten zu haben schien. Diese Ergebnisse gehen nicht konform mit jener Aussage von Hart (1988), der ein reduziertes Putzverhalten als typisches Indiz erkrankter Tiere ansieht. Es könnte aber auch sein, dass die Versuchsratten sich nicht so schlecht fühlten, dass sie von diesem normalen Verhalten abwichen. In Untersuchungen von Hirsjärvi & Junnila (1986) zeigten Ratten, die im Open Field durch Licht oder Geräusche erhöhtem Stress ausgesetzt waren, jedoch ein erhöhtes Putzverhalten, was bedeutet, dass Putzen auch der Stressbewältigung und nicht nur z.B. der Körperpflege oder der Thermoregulation dienen kann (Spruijt et al., 1992; Saibaba et al., 1996).

Im Zuge dieser Arbeit wurden verschiedene Verhaltensaspekte gemeinsam unter dem Begriff „Putzen“ ausgewertet, darunter fielen z.B. „genital grooming“, „licking“ und „wash face“. Der allgemeine Parameter Grooming scheint also keine klare Interpretation zuzulassen. Eine genauere Analyse jeder Putzsequenz und damit einhergehend die Unterscheidung verschie-

dener Aspekte des Groomingverhaltens könnte eine bessere Auslegung des Gemütszustandes einer Ratte bringen (Spruijt et al., 1992).

Vergleicht man die Tiere aus Gruppe 1, die nicht operiert wurden, mit den Tieren aus Gruppe 2, die zwar operiert wurden danach aber weder in Narkose gelegt noch einer Kammermanipulation unterzogen wurden, so war kein Unterschied zu verzeichnen.

Hieraus lässt sich schließen, dass die Operation allein keinen Einfluss auf die Verhaltensversuche hatte.

### 5.2 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1 $\beta$ auf die motorische Aktivität

Die motorische Aktivität ist ein einfach zu ermittelnder und daher auch viel genutzter Parameter in der Neuroethologie. Mit der Bestimmung der motorischen Aktivität lassen sich Rückschlüsse auf die generelle nicht durch stimuliertes Verhalten forcierte Bewegungslust eines Versuchstieres ziehen. Verschiedene Quellen belegen, dass eine reduzierte Aktivität als Krankheitsverhalten gewertet werden kann (Sanford et al., 1986; Henke & Erhardt, 2001; Weiss et al., 2003). Aufgrund vieler Patientenbefragungen weiß man, dass Migräne durch körperliche Routineaktivitäten (z.B. Gehen oder Treppensteigen) verstärkt wird und die Patienten diese körperlichen Beanspruchungen erfahrungsgemäß vermeiden (IHS, 2009). Aus den vorgehend angeführten Gründen wurde die motorische Aktivität als Parameter für eine kopfschmerzinduzierte Verhaltensänderung in dieser Arbeit herangezogen.

5 Tage vor dem eigentlichen Versuchsbeginn wurde bei allen Versuchsgruppen die motorische Aktivität im Heimatkäfig ermittelt, um eventuell bestehende Unterschiede zwischen den Untergruppen auszuschließen. In keiner der Gruppen und zu keinem der festgelegten Untersuchungszeitpunkte, die analog zu den späteren Untersuchungszeiträumen waren, ergaben sich Unterschiede.

Wie man aus zahlreichen vorangegangenen Verhaltensversuchen weiß, zeigen Ratten zu Beginn der Dunkelperiode eine Aktivitätssteigerung (Büttner & Wollnik, 1984). Die Ergebnisse dieser Versuche bestätigten dies. Insgesamt gesehen waren sowohl die Tiere der Gruppe 1, als auch die Tiere der Gruppe 2, in der Zeit in der die Versuche stattfinden sollten, wesentlich aktiver als während der Nacht, was Grundlage für die Auswahl des Zeitfensters für die Durchführung der Verhaltensversuche war. Die Ratten sollten möglichst aktiv sein und Störfaktoren, wie z.B. Müdigkeit, sollten vermieden werden, um nicht zu falsch negativen Ergebnissen zu kommen.

Die motorische Aktivität im Heimatkäfig wurde doppelt, im Zuge zweier Verhaltensversuche (Verhaltensversuch 2 und 3), ermittelt. Im Verlauf des 2. Verhaltensversuches wurde zeitgleich die Futter- und Wasseraufnahme bestimmt. Im Verhaltensversuch 3 wurde neben der Ermittlung der motorischen Aktivität noch die aufgenommene Menge Pelletfutter und Kirschagar ermittelt. Der Untersuchungszeitraum beider Verhaltensversuche lag zwischen 17:30h und 19:30h, wobei im Zuge des 2. Verhaltensversuches zusätzlich noch eine Nachtmessung von 20:00h bis 8:00h durchgeführt wurde.

Die motorische Aktivität der Tiere der Gruppe 1, die 4 Minuten vor Messbeginn in Narkose gelegt und z.T. mit Capsaicin behandelt wurden, zeigte während der ersten 1/2 Stunde des 2. Verhaltensversuches keinen Unterschied zwischen den einzelnen Untergruppen. Erst in der Zeit von 18:05h bis 23:30h waren die Capsaicin-Tiere am wenigsten aktiv, wobei sich ein signifikanter Unterschied nur in der Zeit von 18:05h bis 18:30h und zwischen 20:00h bis 23:30h zeigte. In der Zwischenzeit war lediglich eine Tendenz zu reduzierter Aktivität sichtbar. Dies könnte aber damit erklärt werden, dass die Capsaicin-Tiere zwar weniger aktiv sind, die Tiere der Kontrollgruppe aber aus physiologischen Gründen ebenfalls weniger aktiv sind und deshalb keine großen Unterschiede und damit einhergehend keine Signifikanz zustande kam (Büttner & Wollnik, 1984).

Auffällig ist, dass in der Zeit von 20:00h bis 23:30h auch die Vehikel-Tiere einen deutlichen Unterschied zur Kontrollgruppe zeigten und die Capsaicin-Tiere sowohl zur Kontrollgruppe als auch zur Gruppe „NaCl“ einen signifikanten Unterschied aufwiesen. Man könnte daraus schließen, dass die Capsaicin-Wirkung erst nach dieser Zeit zum Tragen kam und in der Zeit vorher eventuell die Manipulation an der Kammer die Wirkung des Capsaicin überlagerte.

Die Tatsache, dass die Capsaicin-Tiere beginnend mit der ersten Hälfte der Nachtperiode signifikant weniger aktiv waren belegt deutlich, dass die Capsaicin-Wirkung viel länger anhält als erwartet. In Versuchen von Dux et al. wurde die Auswirkung von Capsaicin in topischer Anwendung auf der Dura mater untersucht. Unter anderem wurde die meningeale Blutflussänderung gemessen, dabei konnte dosisabhängig lediglich eine Blutflussänderung von ca. 5-12 Minuten Dauer nachgewiesen werden. In dieser Versuchsreihe wurden anschließend keine Verhaltenstests durchgeführt (Dux et al., 2003). Diese Daten ließen auf eine sehr kurze Wirkungsdauer des Capsaicins schließen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten nunmehr beweisen, dass eine Wirkung des Capsaicin über die Dauer des Auslösens einer duralen Blutflussänderung hinaus im Tierversuch zu erwarten ist.

Warum zeigten aber auch die Vehikel-Tiere einen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe? Eine Beeinflussung durch die Kammermanipulation kann in diesem Fall ausgeschlossen werden, da die mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Tiere sich der Kontrollgruppe bereits hinsichtlich der motorischen Aktivitäten wieder angenähert hatten.

Dieses Phänomen könnte einen Hinweis auf eine mögliche Wirkung des Vehikels auf die Dura mater und damit eventuelle Beeinflussungen des Verhaltens sein. Der Vehikel enthält, wenn auch verdünnt, 99 %iges Ethanol und Tween 80. Eine mögliche Wirkung von Polysorbat 80 (Tween 80) auf die Dura mater kann aufgrund seiner nicht reizenden Eigenschaften an Haut und Auge (Sicherheitsdatenblatt der Carl Roth GmbH, 2006) ausgeschlossen werden. 99%iges Ethanol kann dagegen eine reizende Wirkung, z.B. am Auge, hervorrufen (Sicherheitsdatenblatt der AppliChem GmbH, 2004). Das in dieser Arbeit angewendete Vehikel enthält aber nur ca. 10 %iges Ethanol. Bei einer endoskopisch kontrollierten humanmedizinischen Untersuchung an gesunden Probanden wurde herausgefunden, dass das Trinken von 4-, 10- und 40-prozentigem (v/v) Ethanol innerhalb von 30 Minuten zu dosisabhängigen Erosionen der Magenschleimhaut führt (Singer & Teyssen, 1997). Diese Untersuchungen bewiesen, dass Ethanol auch schon in geringeren Verdünnungen direkte Schleimhaut schädigende Wirkung zeigt und Entzündungen hervorruft.

Noch nicht veröffentlichte Studien, in denen das Vehikel bereits 1 Stunde vor den Verhaltensversuchen auf die Dura aufgebracht wurde, zeigten, dass das Vehikel dann keine Verhaltensänderung herbeiführte (Rex, 2008). Diese Ergebnisse lassen nur den Schluss zu, dass das Vehikel zwar eine milde Reizung an der Dura hervorzurufen scheint, diese aber schnell reversibel ist und nach einiger Zeit keine Auswirkungen mehr auf das Verhalten von Ratten hat.

6 Stunden nach Beginn der Versuche und Behandlung einiger Tiere mit Capsaicin konnten kein Trend und keine Signifikanz mehr festgestellt werden. Eine mögliche Abnahme der Wirkung des Capsaicins wäre denkbar, ebenso könnte aber auch eine längere Wirksamkeit des Capsaicins durch eine generelle Abnahme der Aktivität der Kontrolltiere maskiert werden. Denn insgesamt zeigte sich aber auch hier das Bild, dass alle Tiere zu Beginn der Dunkelphase lebhafter sind als zu einem späteren Zeitpunkt.

Die motorische Aktivität der Tiere der Gruppe 1, die 4 Minuten vor Messbeginn in Narkose gelegt und z.T. mit Capsaicin behandelt wurden, wurde während des 3. Verhaltensversuches nur in der Zeit von 17:30h bis 19:30h ermittelt. Zeitgleich fanden noch die Ermittlung der Pel-



letzfutteraufnahme und die des Kirschagars statt. Die Ergebnisse der motorischen Aktivität zeigten keine Unterschiede zwischen den Untergruppen, nicht einmal Tendenzen wurden sichtbar. Diese vom 2. Verhaltensversuch abweichenden Ergebnisse deckten sich mit den Ergebnissen aus der Ermittlung der Menge Standardfutter und des süßen Futters. Folgerichtig bedeutet eine gute Futteraufnahme in Verlauf der Versuchszeit auch hohe Messwerte an motorischer Aktivität, da sich die Tiere zur Nahrungsaufnahme bewegen müssen. Warum konnte bei den Tieren der Untergruppen, die im Zuge des vorangegangenen Verhaltensversuches eine Beeinträchtigung festgestellt wurde, hier aber keine verminderte Futteraufnahme bzw. Aktivität festgestellt werden? Ganz offensichtlich beeinträchtigte die Kammermanipulation die Tiere in diesem Versuchsaufbau nicht so stark, dass sie nicht doch fressen mögen und sich dabei natürlich auch mehr bewegten. Wie an anderer Stelle detaillierter erläutert (siehe 5.3 b und 5.7) kann dieser Umstand mit dem zusätzlichen Anbieten von süßem Futter erklärt werden oder die Tiere könnten eine Art Gewöhnung an die Kammermanipulation erfahren haben. Interessant ist auch der Betrachtungspunkt, dass eine mehrfache Anwendung von Capsaicin zu einer Desensibilisierung von Geweben führt (Pini et al., 1990; Simone et al., 1998) (siehe 5.7).

Die Messung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig nach Applikation von Interleukin, 6 Stunden vor Beginn des 2. Verhaltensversuches, offenbarte eine deutliche Beeinträchtigung dieser Untergruppe im Gegensatz zur Kontrollgruppe, die nur einer Operation unterzogen wurde, später aber nicht mehr in Narkose gelegt wurde.

Diese Beeinträchtigung konnte während der gesamten Versuchsdauer von 17:30h bis 19:30h festgestellt werden, wobei während der ersten Stunde ein signifikanter Unterschied sowohl zur Kontrollgruppe als auch zur Untergruppe „NaCl“ bestand.

Generell waren die Tiere der mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Untergruppe weniger bewegungsfreudig, als die Kontrolltiere dieser Gruppe. Dieser Unterschied wurde in der Zeit von 20:00h bis 5:30h deutlich, wobei er in der Zeitspanne ab 23:30h signifikant war. Eine mögliche Entzündungsreaktion könnte dafür ursächlich sein, da die Kammer zu diesem Zeitpunkt bereits vier Mal geöffnet und befüllt wurde.

Wie schon bei Gruppe 1 glichen sich die Untergruppen der Gruppe 2 spätestens ab 5:30h hinsichtlich der Aktivität einander wieder an und insgesamt betrachtet waren auch die Tiere der Gruppe 2 zu Beginn der Dunkelphase lebhafter sind, als im späteren Verlauf der Nachtperiode.

Die Ergebnisse der motorische Aktivität der Gruppe 2, die zum Teil 6 Stunden vor der Verhaltensbeobachtung mit Interleukin behandelt wurden, erbrachten während des 3. Verhaltensversuches, bei dem den Ratten auch Kirschagar zum Fressen angeboten wurde, keine Unterschiede zwischen den Untergruppen, lediglich ab 18:40h war bei den mit Interleukin stimulierten Tieren die Tendenz zu sehen, dass die motorische Aktivität eingeschränkt war. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die relativ große Menge aufgenommenen Kirschagars sein, da auch die Bewegungen bei der Nahrungsaufnahme als motorische Aktivität erfasst wurden. Eine Analyse der aufgenommenen Menge Kirschagar erbrachte keinen Unterschied innerhalb der drei Untergruppen (siehe 5.2 b).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bei beiden Gruppen die motorische Aktivität im Heimatkäfig im Zuge des 3. Verhaltensversuches keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Untergruppen aufzeigte. Dass beide Gruppen diese Ergebnisse aufwiesen, lässt nur die Interpretation zu, dass das Anbieten von „preferred food“ die möglichen Wirkungen von Interleukin, Capsaicin oder der Kammermanipulation überdeckte (detailliertere Erläuterungen siehe 5.7).

### 5.3 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1 $\beta$ auf die Futteraufnahme

#### a) Im Verlauf des 2. Verhaltensversuches

Untersucht wurde, unterteilt in verschiedene Zeitperioden, die aufgenommene Menge Standardfutter, die im Heimatkäfig angeboten wurde. Konform zur Messung der Aktivität im Heimatkäfig wurde auch die aufgenommene Futtermenge während der Nachtperiode ermittelt. Eine reduzierte Futteraufnahme wurde als relativ objektives und sicheres Zeichen von Krankheitsverhalten gewertet (Morten & Griffiths, 1985; Sanford et al., 1986; Henke & Erhardt, 2001; Weiss et al., 2003; Kent et al., 1992; Hart, 1988), weshalb sie als Parameter in dieser Arbeit Anwendung fand.

In den bereits an anderer Stelle angesprochenen Untersuchungen von Pitychoutis et al. (2009) (siehe 5.1) wurde auch die aufgenommene Menge Standardfutter bestimmt. Kongruent zu den Ergebnissen der Lokomotion wiesen auch bei diesem Parameter die männlichen Ratten eine deutliche Reduktion der Futteraufnahme gegenüber den Kontrolltieren auf. Die Tiere der Gruppe 1, die mit Capsaicin, Vehikel oder isotoner Kochsalzlösung behandelt wurden, fraßen während der gesamten Versuchszeit von 17:30h bis 19:30h weniger als die Kontrolltiere. Die Manipulation an der Kammer scheint die Tiere dieser drei Untergruppen

stark zu beeinträchtigen, denn sogar zwischen der mit isotoner Kochsalzlösung behandelte Untergruppe bestand während der ersten Versuchsstunde einen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe. Erstaunlich ist auch, dass zur gleichen Versuchszeit bei der „Capsaicin“-Untergruppe zwar eine Tendenz zur geringeren Nahrungsaufnahme zu verzeichnen war, eine Signifikanz allerdings nicht erreicht wurde. Daraus könnte geschlossen werden, dass die Wirkung des Capsaicins einen geringeren Einfluss hatte, als die Manipulation selbst. Die Beobachtungen während der Versuchszeit setzten sich in der Nachtperiode fort, hier bestand ein deutlicher Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Capsaicin- bzw. Vehikel-Tieren. Diese Ergebnisse deckten sich mit denen aus der Ermittlung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig während des selben Versuches: Die Wirkung des Capsaicins scheint erst nach einiger Zeit deutlicher hervorzutreten, ein signifikanter Unterschied war erst in der Nachtperiode festzustellen, d.h. auch hier bestätigte sich das Bild, dass die Capsaicin-Wirkung viel länger anhält, als zuvor beschrieben (Dux et al., 2003) (siehe 5.2). Auch die Auswirkung des Vehikels auf das Fressverhalten war analog zu der motorischen Aktivität im Heimatkäfig. Während sich die mit isotoner Kochsalzlösung behandelte Untergruppe der Kontrollgruppe nach 19:30h wieder angenähert hatte, fraßen die Tiere der „Vehikel“-Untergruppe immer noch so wenig, dass ein deutlicher Unterschied zu erkennen war (siehe 5.2).

Eine Auswirkung der Narkose auf die Futteraufnahme kann wiederum ausgeschlossen werden, da die Tiere der Gruppe „ohne OP“ wie die anderen Untergruppen auch, kurz vor dem Versuch in Inhalationsnarkose gebracht wurden und sie deutlich mehr fraßen als alle anderen Untergruppen.

Betrachtet man die aufgenommene Futtermenge der mit Interleukin behandelten Tiere der Gruppe 2 während der 1. Versuchsstunde, so lag ein deutlicher Unterschied der so stimulierten Tiere zur Kontrollgruppe vor. Im Verlauf der 2. Stunde waren keine Unterschiede zu sehen. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Dantzer (2001), der ebenfalls eine Suppression der Futteraufnahme binnen einer Stunde nach Behandlung mit Interleukin-1 $\beta$  und Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) beobachten konnte. In dieser Arbeit wurde darüber hinaus eine deutliche Reduktion der Futteraufnahme während der Nachtperiode nachgewiesen, was doch auf eine länger andauernde Interleukin-Wirkung hindeutet. In der 2. Versuchsstunde hingegen war kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen. Hier demonstrierten die Tiere erneut das arteigene Verhalten, dass Ratten zu Beginn der Dunkelphase am meisten fressen, zwischenzeitlich aber auch Phasen von geringer Futteraufnahme zeigen. Durch diesen

Sachverhalt war die Differenz der Futteraufnahme in der 2. Stunde zwischen den Kontrolltieren und den mit Interleukin behandelten Tieren physiologischer Weise geringer.

Es ließ sich eindeutig feststellen, dass die Tiere der Untergruppe „Interleukin“ die Futtermenge, die die Tiere der anderen beiden Untergruppen während der gesamten Versuchszeit aufnahmen, nicht mehr aufholen konnten. Dieses Ergebnis weist auf den Schweregrad des Unwohlseins der Versuchstiere hin. Eine verminderte Futteraufnahme und eine verminderte Gewichtszunahme, je nach Ausprägung, werden als Einteilungskriterium für die Belastbarkeit in Tierversuchen herangezogen (siehe Belastungskatalog der FELASA, 1994).

Da die mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Tiere während der 1. Versuchsstunde keine eklatanten Abweichungen von der Kontrollgruppe aufwiesen, ist davon auszugehen, dass die Kammer selbst oder die Manipulation 6 Stunden vor Versuchsbeginn die Tiere nicht so stark beeinträchtigte, dass sich eine deutliche Verhaltensänderung bemerkbar machte.

Insgesamt gesehen fraßen alle Tiere der Gruppe 1 und 2 während der 1. Versuchsstunde mehr als im Verlauf der 2. Stunde. Diese Beobachtungen deckten sich mit den Ergebnissen der motorischen Aktivität im Heimatkäfig und früheren Untersuchungen (siehe 5.2).

### b) Im Verlauf des 3. Verhaltensversuches

Ermittelt wurde, unterteilt in verschiedene Zeitperioden, die aufgenommene Menge Standardfutter und Kirschagar, die im Heimatkäfig angeboten wurden.

Generell kann, wie unter 5.3 a) aufgeführt, ein reduziertes Futteraufnahmeverhalten als Krankheitsindiz gewertet werden. Bis dato war nur eine Studie auffindbar, die sich mit der Futteraufnahme von „preferred food“ im Zuge eines Krankheitsgeschehens beschäftigte.

Bei der von Pitychoutis et al. (2009) durchgeführten Untersuchung wurden männlichen und weiblichen Ratten eine 1%ige Saccharose-Lösung angeboten. Ermittelt wurde die aufgenommene Menge Lösung einer weiblichen und männlichen Kontrollgruppe im Gegensatz zu zwei Gruppen, männlicher und weiblicher Tiere, die mit Lipopolysacchariden behandelt wurden. Beide Geschlechtergruppen nahmen signifikant weniger Saccharose-Lösung auf als die Kontrollgruppen.

Die Ergebnisse der Futteraufnahme der Tiere der Gruppe 1, die 4 Minuten vor Messbeginn in Narkose gelegt und z.T. mit Capsaicin behandelt wurden, erbrachten während des 3. Verhaltensversuches in keiner der beiden Versuchsstunden eine deutliche Divergenz, ohne Unterschied im Hinblick auf die aufgenommene Menge Standardfutter oder Kirschagar. Lediglich im Verlauf der 2. Stunde war erkennbar, dass alle drei Untergruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe weniger Standardfutter fraßen. Die Ergebnisse des 3. Verhaltensversuches belegten, dass die Manipulation an der Kammer die Tiere offensichtlich nicht so stark beeinträchtigte, dass sie nicht auch das „preferred food“ verschmähten. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass eine wiederholte Kammermanipulation eine Art Gewöhnung bewirkt, die dadurch eventuell eine negative Auswirkung schmälert.

Betrachtete man die Tiere der Gruppe 2, die 6 Stunden vor Messbeginn in Narkose gelegt und z.T. mit Interleukin behandelt wurden, hinsichtlich der aufgenommenen Menge Kirschagar, konnten im Verlauf der gesamten Versuchszeit bei den Tieren der Gruppe 2 keine großen Unterschiede festgestellt werden. Bei der aufgenommenen Menge Standardfutter hingegen zeigte sich während der 1. Versuchsstunde und im Verlauf der Nachtperiode von 20:00h bis 8:00h ein signifikanter Unterschied zwischen den mit Interleukin behandelten Tieren und denen der Kontrollgruppe.

Die Ratten scheinen durch die Behandlung mit Interleukin in ihrem Verhalten zwar so beeinträchtigt, dass sie weniger Futter aufnahmen als ihre Artgenossen, es scheint ihnen aber nicht so schlecht zu gehen, dass sie auch das süße und bevorzugte Futter missachteten.

Im Zuge einer Migräneattacke kann es neben Übelkeit in der Prodromalphase auch zu Heißhunger auf bestimmte Lebensmittel, wie z.B. Süßigkeiten, kommen (Marcus et al., 1997; Diener, 2002 b; Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004). Wäre es nun möglich, dass die Ratten, verursacht durch den meningealen Schmerz sogar vermehrten Hunger auf süßes Futter haben?

Die eben erwähnte Prodromalphase kündigt sich beim Menschen Tage bis Stunden vor dem eigentlichen Schmerzgeschehen an. Es ist also davon auszugehen, dass es durch die direkte Auslösung einer meningealen Entzündung mittels Interleukin im Versuchstier Ratte nicht zur Ausbildung einer Prodromalphase mit einhergehendem Heißhunger auf Zucker kommt.

Sowohl durch die Gruppe 1 als auch durch die Gruppe 2 konnte bestätigt werden, dass die Ratten in diesem Versuchsaufbau das süße Futter eindeutig dem Standardfutter vorgezogen haben und sich durch den Einfluss von Interleukin oder der Kammermanipulation nicht beeindruckten ließen. Diese Ergebnisse decken sich nicht mit denen von Pitychoutis et al.

(2009) (s.o.), die Hypothese der Hypophagie auch von „preferred food“ ist in diesem Fall nicht haltbar.

Cabanac und Johnson (1983) konnten in Untersuchungen ebenfalls demonstrieren, dass Ratten für die Aufnahme besonders schmackhafter Nahrungsmittel auch bereit sind sehr ungünstige Umweltbedingungen, in diesem Fall  $-15^{\circ}\text{C}$ , auf sich zu nehmen, obwohl ihnen die ganze Zeit Standardfutter in einem normal temperiertem Bereich angeboten wurde. Dabei war die Bereitschaft der Tiere sehr stark von der Art der Nahrungsmittel abhängig. Die Tiere fraßen alle länger und öfter von dem schmackhafteren Futter als von ihrem gewohnten Futter. Diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen dieser Arbeit. Ergänzend kann man hinzufügen, dass menigealer Schmerz ebenfalls kein Hinderungsgrund zu sein scheint sehr schmackhaftes Futter, in diesem Fall sehr zuckerhaltiges Futter, aufzunehmen.

Die Auswirkungen von Zucker auf das Gehirn sind heutzutage bereits gut erforscht. In Versuchen von Avena et al., bei denen Ratten über einen bestimmten Zeitraum neben ihrem normalen Futter auch eine Zuckerlösung angeboten wurde, konnte bei diesen Versuchstieren eine Abhängigkeit von Zucker nachgewiesen werden (Avena et al., 2008). Zucker, besonders in großen Mengen aufgenommen, fördert die massive Ausschüttung von Dopamin im Gehirn, welches mit den Wirkungen von Drogen vergleichbar ist (Avena et al., 2009).

Dopamin ist ein Neurotransmitter, der vor allem im Mittelhirn gebildet wird. Die Ausschüttung dieses Botenstoffes im Gehirn führt beim Menschen zu angenehmen Gefühlen der Selbstbestätigung und des Wohlbefindens. Daran beteiligt ist das sogenannte dopaminerge Belohnungssystem (Reward-System).

Zucker hat also, vermittelt über den Botenstoff Dopamin, eine indirekte Wirkung auf das Belohnungssystem des Gehirns. Diese Substanz kann, wie in Versuchen nachgewiesen wurde, eine hohe Motivation hervorrufen und den Anreiz liefern, diese Substanz wiederholt aufzunehmen. Diese Studie konnte ergänzend beweisen, dass Ratten auch unter dem Einfluss von Unwohlsein bzw. Schmerzen zuckerhaltige Futtermittel weiterhin aufnehmen, während sie ihr Standardfuttermittel weniger bis gar nicht mehr fressen.

Insgesamt betrachtet fraßen alle Tiere beider Gruppen auch im Verlauf des 3. Verhaltensversuches im Verlauf der 1. Stunde mehr als während der 2. Versuchsstunde. Dieses Bild deckte sich mit dem des 2. Verhaltensversuches.

#### 5.4 Einfluss von Capsaicin und Interleukin-1 $\beta$ auf die Wasseraufnahme

Unter normalen Bedingungen ist, analog zur Futteraufnahme, ein paralleler, circadianer Rhythmus in der Wasseraufnahme zu verzeichnen (Claassen, 1994).

Das Phänomen, dass Futter- und Wasseraufnahme in gewisser Relation zueinander stehen, wird, laut Aussage der meisten Autoren, durch Stress oder Schmerzen nicht verändert. Die Autoren werten auch eine reduzierte Wasseraufnahme als relativ sicheres Zeichen für Schmerzen und Stress beim Tier (Morten & Griffiths, 1985; Sanford et al., 1986; Hart, 1988; Henke & Erhardt, 2001; Weiss et al., 2003).

Bei den Untersuchungen zur Wasseraufnahme in Gruppe 1, die 4 Minuten vor Messbeginn in Narkose gelegt und z.T. mit Capsaicin behandelt wurden, zeigte sich lediglich während der 1. Stunde die Tendenz, dass die Tiere der Untergruppen „Vehikel“ und „Capsaicin“ weniger tranken als die Kontrollgruppe. Die mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Tiere zeigten sogar einen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe. Im weiteren Versuchsverlauf waren zwischen den einzelnen Untergruppen keine Unterschiede zu verzeichnen.

Aufgrund des Umstandes, dass alle drei Untergruppen einen Unterschied zur Kontrollgruppe aufwiesen, der Unterschied der Untergruppe „NaCl“ zur Kontrollgruppe sogar signifikant war, zeigte sich, dass alle drei Untergruppen einer Beeinträchtigung ausgesetzt waren, die dazu führte, dass sie weniger tranken. Hier ließe sich die Kammermanipulation als mögliche Ursache erneut heranziehen.

Betrachtet man in Gruppe 2 die mit Interleukin behandelte Untergruppe bezüglich der Trinkmenge, so zeigte sich, dass während der 1. Versuchsstunde zwar weniger Nahrung aufgenommen wurde, die Tiere aber nicht entsprechend weniger tranken. Die Wasseraufnahme scheint ein ungeeigneter Parameter zur Bestimmung der Beeinflussung meningealen Schmerzes zu sein.

Insgesamt gesehen tranken alle Tiere der Gruppe 1 und 2 während der 1. Stunde mehr als im Verlauf der 2. Versuchsstunde. Diese Beobachtungen deckten sich mit den Ergebnissen der aufgenommenen Standardfuttermenge, der motorischen Aktivität im Heimatkäfig im Zuge dieser Untersuchungsreihe und früheren Untersuchungen (siehe 5.2).

### 5.5 Einsatz von Sprague-Dawley Ratten als Versuchstiere

In dieser Arbeit wurden Ratten als Versuchstiere gewählt, da die Komplexität der Erforschung von Vorgängen im Zentralen Nervensystem die Verwendung warmblütiger Wirbeltiere erfordert. Für die Durchführung von Untersuchungen des Zentralen Nervensystems an lebenden Tieren werden zumeist Ratten genutzt. Die grundlegenden neurobiologischen Mechanismen sind bei Ratte und Mensch gleich. Zudem besteht eine große Ähnlichkeit des trigeminalen Nervensystems der Ratte mit dem des Menschen. Diese Vergleichbarkeit zwischen Mensch und Versuchstier macht die Verwendung der Ratte so populär. Aufgrund der Größe der Ratten ist es möglich operative Eingriffe durchzuführen (Weiss et al., 2003) und speziell im Bereich der neurologischen Forschung ist es von Vorteil, dass das Rattengehirn auch ausreichend groß ist, um einzelne Strukturen darin zu lokalisieren und gezielt zu untersuchen.

In dieser Arbeit ging es um Grundlagenforschung und um ein Modell, das bereits Anwendung findet (Kurosawa et al., 1995; Strecker et al., 2002; Dux et al., 2003) und auch in Zukunft weiter eingesetzt werden soll. Daher ist es sinnvoll ein Versuchstier zu wählen, das zum einen am häufigsten Verwendung findet und zum anderen im Zuge dieser Versuchsreihe üblicherweise zum Einsatz kommt (Rex et al., 2007). Das garantiert gewonnene Resultate besser mit denen anderer Forschungsgruppen vergleichen zu können.

Ratten und Mäuse haben den Vorteil, dass sie leicht verfügbar sind, man sie gut unter Laborbedingungen halten kann, weiterhin sollen sie über eine beachtliche Widerstandskraft und ein gut funktionierendes Immunsystem verfügen (Weiss et al., 2003).

In den von der George Mason University herausgegebenen standardisierten Arbeitsbedingungen für den Umgang mit Labortieren werden allerdings andere Stimmen laut. Hier werden gegenteilig die bereits mehrfach veröffentlichten Ergebnisse angeführt, dass Ratten und Mäuse doch viel anfälliger für Infektionen sind, als bisher langläufig angenommen. Subklinische Infektionen scheinen unter Stress oder einer immunsuppressiven Situation sehr häufig zu klinisch manifesten Infektionen zu führen, die ihrerseits Auswirkungen auf physiologische und Verhaltensparameter in Versuchen haben kann. In ihren Arbeitsanweisungen wird ganz eindringlich u.a. für eine sterile Arbeitsweise geworben (Office of Research Subject Protections- George Mason University, 2009).

Sprague-Dawley Ratten werden neben Wistar Ratten in der Forschung am häufigsten benutzt. Zahlreiche frühere Veröffentlichungen weisen auf die Bedeutung von Unterschieden zwischen verschiedenen Spezies oder Stämmen einer Spezies hin, was in einer unterschied-



lichen neuroanatomischen oder neurophysiologischen Ausprägung münden kann (Nosek et al., 2008; Le Bars et al., 2001; Stöhr et al., 1998; Chaouloff et al., 1995).

In Versuchen von Rex et al. (1996) wurden verschiedene Rattenstämme und Ratten des gleichen Stammes, die aber von verschiedenen Züchtern bezogen wurden, vier verschiedenen Verhaltenstests unterzogen. Dabei konnte gezeigt werden, dass sich sowohl die Rattenstämme untereinander, als auch die gleichen Stämme von verschiedenen Rattenzüchtern unterschieden. Genetische Faktoren, sowie Zuchtbedingungen scheinen also einen wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse eines neuroethologischen geprägten Versuches zu haben. Gerade der auch in dieser Arbeit durchgeführte Open Field-Test ist besonders anfällig für Verhaltensunterschiede der einzelnen Tierlinien, da er sich auf exploratives Verhalten stützt. Dieses wird von Ratten mit geringerem angeborenem oder geprägtem Angstverhalten besser gemeistert. Um möglichst einheitliches Tiermaterial innerhalb dieser Versuchsreihe zu erhalten, wurden alle Versuchstiere von einem Tierzüchter und zusätzlich noch aus einem Tierstall geordert. Das Handling der Tiere oblag allein einer Person.

Die Beurteilung der Verhaltensänderung im Schmerzgeschehen ist ein zusätzlicher kritischer Faktor. Wie bereits vorstehend mehrfach belegt, können gewisse ethologische Veränderungen als Krankheitsverhalten gewertet werden. Doch laut Haskins (1992) äußert sich mäßiger Schmerz mit und ohne sichtbare Veränderung im Verhalten, der Aktivität etc., was bedeutet, dass man im Zuge dieser Arbeit zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen gekommen sein könnte. Die Bewertung einer Verhaltensänderung kann dem Untersucher zwar einen Hinweis darauf geben, ob ein Versuchstier Unwohlsein verspürt, leider kann man wie in dieser Arbeit gewünscht aber nicht eindeutig belegen, ob ein Tier Schmerzen leidet. Lediglich bei sehr deutlichen Lautäußerungen, wie Jaulen oder Quietschen, oder bei deutlichen Handlungen, wie z.B. ständigem Belecken derselben Körperstelle, kann relativ sicher davon ausgegangen werden, dass das Versuchstier tatsächlich einen Schmerz verspürt (FELASA, 1994; Bundesamt für Veterinärwesen, 1994).

## 5.6 Einfluss des Isoflurans auf das Verhalten der Versuchstiere, bedingt durch den Versuchsaufbau

Besonders im Zuge des Versuchsaufbaus der Gruppe 1, bei dem alle Tiere 4 Minuten vor den Verhaltensversuchen einer Narkose unterzogen wurden, ist ein Einfluss des volatilen Anästhetikums Isofluran auf das Verhalten der Versuchstiere nicht abwegig.

Isofluran ist eins der gebräuchlichsten Inhalationsanästhetika (Larsen, 2002; Erhardt et al., 2004) und wurde daher auch bei dieser Arbeit eingesetzt.

Isofluran wird zu 99,8% über die Lunge wieder eliminiert. Es besitzt einen sehr geringen Blut-Gas-Verteilungskoeffizient von 1,4, so dass erst bei länger andauernden Narkosen eine Speicherung in Muskulatur und Fettgewebe stattfindet und es so zu einer verzögerten Aufwachphase oder einer Metabolisierung des Pharmakons kommt (Löscher, 2006; Erhardt et al., 2004). Trotzdem ist die Elimination der metabolisierten Bestandteile von Isofluran länger als z.B. bei Halothan (Dale & Brown, 1987). Isofluran weist eine Eliminationshalbwertszeit beim Menschen von 20,58 Minuten auf (Pfeifer, 1992).

Eine Studie von Philip et al. (1996) zeigte, dass Menschen, die im Zuge einer Operation einer Isofluran-Narkose ausgesetzt waren, relativ viel Zeit benötigten, bis sie ihre psychomotorischen und kognitiven Fähigkeiten wiedererlangt hatten. Im Schnitt konnten sie nach ca. 60 Minuten wieder sitzen ohne Schwindel oder Übelkeit zu empfinden. Beim Menschen hat eine Inhalationsnarkose also eine relativ lange Rekonvaleszenz zur Folge. Nun muss man in diesem Fall aber bedenken, dass die Patienten, anders als die Versuchsratten in dieser Arbeit, auch einer tatsächlichen Operation unterzogen wurden.

Grundsätzlich hat Isofluran eine dosisabhängige depressive Wirkung auf das zentrale Nervensystem (Eger, 1981), aber man kann aufgrund der oben genannten Gründe bei kurzen Narkosen, wie sie im Zuge dieser Arbeit stattfanden, von einer schnellen Abflutung des Narkosemittels aus dem Gehirn und den Geweben ausgehen, was wiederum relativ wenig oder keine Beeinflussung auf Verhaltensversuche impliziert würde.

Viele Jahre ging man davon aus, dass Narkosemittel nach der Ausscheidung aus dem Körper keine weiteren Auswirkungen auf den Organismus haben würden. In zahlreiche Untersuchungen an Patienten, die zuvor einer Operationen unterzogen wurden, konnten mit Hilfe von neuropsychologischen Tests Symptome einer postoperativen kognitiven Dysfunktion bis zu 3 Monate post operationem nachgewiesen werden. Hanning (2005) interpretiert diese Ergebnisse so, dass es lang andauernde oder sogar permanente neuronale und neurologische Veränderungen in Gehirn geben muss, die zu solchen kognitiven Dysfunktionen führen. Großes Problem dieser Untersuchungen ist die Tatsache, dass alle Patienten nicht nur einer

Narkose sondern auch einer Operation unterzogen wurden. Eine mögliche Beeinflussung durch die Operation (Schmerz, Stress, ungewohnte Umgebung, etc.) auf die kognitive Leistung konnte unter diesen Bedingungen nicht ausgeschlossen werden.

Aus diesem Grund untersuchten Bothschafter (2005) und Osl (2008) den alleinigen Effekt des Isofluran auf das Lernen und das Gedächtnis in einem Mausmodell. Es konnte interessanterweise gezeigt werden, dass eine vorhergehende zweistündige Narkose mit Isofluran das Lernen beschleunigt und die Gedächtnisleistung verbessert, was besonders das deklarative Gedächtnis zu betreffen schien (Osl, 2008). Auf das explorative Verhalten, einschließlich der Rearings, einen Tag nach der Narkose hatte die Isofluran-Narkose jedoch keinen Einfluss. Die Untersucherin kam zu dem Schluss, dass es zu keinen Beeinflussungen des Verhaltens kam, dass dieses volatile Anästhetika aber tatsächlich die hippokampale Gedächtnisleistung bei Mäusen zu verbessern scheint (Osl, 2008). Konträr dazu zeigten die Mäuse in den Versuchen von Bothschafter (2005) allerdings eine erhöhte Motivation zur Exploration bei reduzierter Ängstlichkeit.

Diese Versuche zeigten eine deutliche Auswirkung von Isofluran über den Zeitraum der Narkosedauer hinaus. Anmerken muss man allerdings, dass die Versuche nicht direkt im Anschluss an die Narkose stattfanden und die Narkosedauer in den Versuchen von Osl (2008) und Bothschafter (2005) 2 Stunden betrug, was ganz entscheidend von der Narkoselänge der Versuche dieser Arbeit abweicht.

Viele Auswirkungen des Isofluran auf das Gehirn auf biochemischer Ebene wurden in früheren Arbeiten bereits aufgezeigt. So hat Isofluran z.B. einen Einfluss auf Acetylcholin-, N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)- und  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)-Rezeptoren im Gehirn (Scheller et al., 1997; Ming et al., 2002; Detsch et al., 2002).

Mit Hilfe von Verhaltensversuchen konnte gezeigt werden, dass es bei Mäusen zu einer signifikant erhöhten Lern- und Gedächtnisleistung kommt, wenn genetisch bedingt eine erhöhte Expression der NR2B-Untereinheit am NMDA-Rezeptor im Hippokampus vorliegt (Tang et al., 1999).

Fraglich bleibt weiterhin inwieweit Isofluran, das auf verschiedene Rezeptoren Einfluss nimmt, das Verhalten der Versuchstiere beeinflussen kann?

Letztlich konnte in dieser Studie eine Beeinflussung des Isofluran auf das hier untersuchte Verhalten nicht aufgezeigt werden. Weitere Studien wären nötig, um die biochemischen Effekte volatiler Anästhetika und deren eventuellen Wechselwirkungen auf das Verhalten von Versuchstieren, zu untersuchen.

### 5.7 Analyse der einzelnen Verhaltenstests hinsichtlich der Verwendung zur Beurteilung meningealen Schmerzes

Allgemein ist festzustellen, dass der Versuchsaufbau, bei dem Interleukin 6 Stunden vor den Verhaltensversuchen appliziert wurde, sich als vorteilhafter herausgestellt hatte. Dennoch zeigten die Ergebnisse aus dem 2. Verhaltensversuch, dass Capsaicin eine Wirkung zeigte, die leider anfänglich durch die Manipulation an der Kammer überlagert wurde.

Die Ergebnisse des Open Field-Tests waren, abgesehen von der Beeinflussung der Kammermanipulation der Gruppe 1, als sehr aussagekräftig einzustufen. Interessanterweise erwies sich das Groomingverhalten, sofern keine weitere Differenzierung der Putzsequenzen stattfindet, als nicht geeignet meningealen Schmerz zu beurteilen.

Die Untersuchungen des 2. Verhaltensversuches, bei dem sowohl die motorische Aktivität, als auch die Futter- und Wasseraufnahme ermittelt wurden, erbrachten eindeutige Ergebnisse, betrachtet man die Tiere der Gruppe 2. Die mit Interleukin behandelten Tiere zeigten deutliche Verhaltensänderungen im Gegensatz zu den Kontrolltieren. Diese Beobachtungen deckten sich mit denen von Dunn et al. (2005). In seiner Übersichtsarbeit schrieb er, dass Interleukin-1 in Versuchstieren Krankheitsverhalten, z.B. Hypophagie oder Hypomotilität, auslöst.

Wie vorstehend beschrieben, sind die Ergebnisse des 2. und 3. Verhaltensversuches nicht konform, sowohl die aufgenommene Standardfuttermenge als auch die motorische Aktivität im Heimatkäfig unterschieden sich deutlich.

Zahlreiche frühere Arbeiten belegten bereits, dass Capsaicin, vor allem wiederholt angewendet, eine nervenschädigende Wirkung hat, die zum Teil irreversibel sein kann (Pini et al., 1990; Simone et al., 1998). So führt Capsaicin zu einer starken Abnahme des Substanz P-Gehaltes an afferenten Nervenfasern und in der Folge auch zur chemischen Zerstörung dieser Fasern. Entsprechend der Erwartung wurde durch diese Manipulation bei Versuchstieren auch die Reaktion auf bestimmte experimentelle Schmerzreize reduziert (Zimmermann, 1983). Weitere Arbeiten zeigten, dass die wiederholte Anwendungen von Capsaicin an einer Gewebestelle zu einer verminderten Schmerzhaftigkeit in diesem Bereich führte. Diese desensibilisierende Wirkung des Capsaicin machte es gerade in der Anwendung beim chronischen Schmerzsyndrom so attraktiv (Fusco & Giacobazzo, 1997; Herbert & Holzer, 2002).

Man muss sich infolge dessen die Frage stellen, ob die wiederholte Anwendung von Capsaicin in einem Versuchsaufbau zur Erzeugung meningealen Schmerzes dienlich ist. Da aller-

dings auch in der Interleukin-Gruppe diese Unterschiede zwischen den Verhaltensversuchen 2 und 3 zu verzeichnen sind, kann man davon ausgehen, dass das Angebot von „preferred food“ den noch im 2. Verhaltensversuch so sichtbaren Verhaltensänderungen entgegengewirkt hat. In Ermangelung durchgeführter Studien wurde, in Anlehnung an die Untersuchungen von Pitychoutis et al. (2009), die Hypothese aufgestellt, dass große Schmerzen oder starkes Unwohlsein auch zu einem Verschmähen von „preferred food“ führen müssten. Im Zuge dieser Arbeit konnte aber bewiesen werden, dass zumindest unter den hier offerierten Bedingungen „preferred food“ von den Versuchstieren nicht verschmäht wurde.

## 5.8 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten deutlich, dass die meningeale Reizung mittels Capsaicin und dem Zytokin Interleukin-1 $\beta$  das Verhalten der Ratten in den verwendeten Versuchen deutlich veränderte.

Unsere Ergebnisse dieser Arbeit wiesen aber auch deutlich darauf hin, dass die Manipulation an der Kammer eine Beeinflussung auf das Verhalten der Versuchstiere in den Versuchen hatte. Daraus resultierend wäre es vorstellbar, dass in zukünftigen Untersuchungen, die neuroethologisch gestützte sind und die Anwendung von Capsaicin mittels „cranial window technique“ miteinander verbinden möchten, die Zeit zwischen Kammermanipulation und Verhaltensversuch verlängert werden sollte, um somit die Auswirkung der Kammermanipulation verringern zu können.

Weiterhin konnte eine länger andauernde Wirkung des Capsaicin, wie bei der motorischen Aktivität im Heimatkäfig im 2. Verhaltensversuch gesehen, nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis bekräftigt die Möglichkeit nach der Applikation des Capsaicins eine gewisse Zeit abzuwarten, bevor die eigentlichen Versuche beginnen.

Weiterführende Untersuchungen sollten beweisen, dass die durch Interleukin oder Capsaicin hervorgerufenen Verhaltensänderungen durch die Verwendung eines Migränepharmakons, z.B. Triptane, nicht mehr auslösbar sind. Die „predictive validity“ solcher Pharmaka in ihrem Einsatz bei Kopfschmerzerkrankungen ist bereits hinreichend bewiesen und würde die „face validity“ dieses Kopfschmerzmodells zusätzlich verbessern.

Wenn Zytokine, wie Interleukin, bestimmte Verhaltensänderungen hervorrufen, müsste die vorherige Anwendung von Zytokin-Antagonisten diese verhindern (Dunn et al., 2005).

Die deutlichen Ergebnisse des Open Field-Testes und des 3. Verhaltensversuches könnten in einem neuen Versuchsaufbau miteinander vereint werden. Dazu könnte man ein Stück Kirschagar in die Mitte der Explorationsfläche des Open Field legen. Weiterhin denkbar wäre ein Versuchsaufbau bei dem in der Mitte des Open Field eine kleine Rampe steht, auf deren höchster Ebene sich ein Stück Kirschagar befindet. Verglichen werden kann dann z.B. das Verhalten der Ratten in diesem modifizierten Open Field mit dem einer Kontrollgruppe in einem Open Field ohne Kirschagar auf der Explorationsfläche.

Die Auswertung des Groomingverhaltens im Zuge des Open Field-Testes ließ bei beiden Gruppen keine klare Interpretation zu. Wie frühere Arbeiten bereits demonstrierten ist das Groomingverhalten ein sehr vielfältiger Verhaltensparameter. Weiterführende Untersuchungen könnten mit Hilfe einer genaueren Analyse der Putzsequenzen eindeutigere Ergebnisse hervorbringen.

Um die Validierung dieses Kopfschmerzmodells zu verbessern wäre es, aus oben (siehe 5.5) dargelegten Gründen sicher sinnvoll, die gleiche Versuchsreihe noch mit einem oder mehreren anderen Rattenstämmen durchzuführen bzw. sogar mit einer anderen Nagetierart. Dem gegenüber steht der essentielle Aspekt des Tierschutzes, der den Einsatz einer möglichst kleinen Anzahl von Versuchstieren fordert.

## 6. Zusammenfassung

### **„Verhaltensbiologische Aspekte in einem experimentellen Kopfschmerzmodell“**

Kopfschmerz ist ein sehr häufig auftretendes Krankheitsbild, das verschiedene Ausprägungen haben kann. Die Symptome, besonders der chronischen Kopfschmerzerkrankungen, sind zum Teil so schwerwiegend, dass es zu erheblichen persönlichen Beeinträchtigungen kommen kann.

Die Behandlung chronischer Kopfschmerzerkrankungen ist sehr schwierig und bereits genutzte Pharmaka sind oft unzureichend therapeutisch wirksam oder mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen behaftet.

Fortführende Untersuchungen zur weiteren Entwicklung von Kopfschmerzmedikamenten und zur Verbesserung des Verständnisses der pathophysiologischen Grundlagen sind unabdingbar. Verschiedene tierexperimentelle Kopfschmerzmodelle wurden in der Vergangenheit an narkotisierten Tieren durchgeführt. Eine verhaltensbezogene Evaluierung eines Kopfschmerzmodells ist bisher nicht erfolgt.

Ziel dieser Arbeit war der Nachweis, dass Ratten meningealen Schmerz empfinden können und dadurch Veränderungen des Verhaltens hervorgerufen werden. Dazu wurde ein bereits etabliertes Kopfschmerzmodell so modifiziert, dass es zur Erforschung chronischen Kopfschmerzes an der wachen Ratte verwendet werden kann.

Es wurden Verhaltensparameter zur Beobachtung ausgewählt, die eine gute Vergleichbarkeit zu jenen Symptomen zulassen, die beim Menschen im Zuge einer Migräneattacke zu beobachten sind und die aufgrund vieler vorangegangener Untersuchungen gute Bewertungskriterien für das Krankheitsverhalten bei der Ratte liefern.

Die wesentlichen Beobachtungsschwerpunkte im Rahmen der hier durchgeführten Untersuchungen waren die Beobachtung des explorativen Verhaltens, die Lokomotion und verschiedene Aspekte des Freßverhaltens. Eine reduzierte Aktivität und eine verminderte Futteraufnahme der Ratten, die auch symptomatisch bei der Migräneattacke des Menschen sind, wurden als Beeinträchtigung gewertet.

Die im Rahmen dieser Arbeit erbrachten Ergebnisse zeigen eindeutig, dass es nach der Behandlung der Dura mater mit Interleukin-1 $\beta$  oder Capsaicin zu einer anhaltenden aber reversiblen Beeinträchtigung des Verhaltens von Ratten kommt.

Interessanterweise kann eine generelle Reduktion der Futteraufnahme beobachtet werden, die Verminderung der Aufnahme einer süßen Belohnung allerdings war in keiner der Gruppen zu verzeichnen. Trotz des beobachteten Krankheitsverhaltens scheinen die Tiere für

angebotene Belohnungen weiterhin empfänglich zu sein, was auf eine geringere Beeinträchtigung des motivierten Verhaltens hindeutet.

Weiterhin konnte eine Reduktion der Exploration im Open Field, der mit Interleukin (und Capsaicin) behandelten Tiere festgestellt werden. Die Auswertung der motorischen Aktivität im Heimatkäfig zeigte eine noch weit in die Nachtperiode andauernde Beeinträchtigung der mit Interleukin-1 $\beta$  oder Capsaicin behandelten Tiere.

Bei allen drei Verhaltensversuchen der Gruppe, die zum Teil mit Capsaicin behandelt wurde, waren Abweichungen im Verhalten aller Tiere, bei denen kurz vor den Versuchen eine Kammermanipulation stattfand, während der 1. Stunde zu verzeichnen. Dies kann man als generelle Einflussnahme auf das Verhalten werten. Trotzdem war eine Wirkung des Capsaicin auch noch später zu verzeichnen, die bei den mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Tieren nicht mehr zu finden war. In folgenden Versuchen wäre eine längere Rekonvaleszenz nach der Kammermanipulation ratsam.

Zur Verbesserung der Validierung dieses Kopfschmerzmodelles wäre der Einsatz mit z.B. Zytokin-Antagonisten, Vanilloid-Rezeptor-Antagonisten oder einem Migränepharmakon wie Triptanen denkbar, die eine Aufhebung oder Verminderung der Verhaltensänderung herbeiführen sollten.

Die Ergebnisse dieser auf das Verhalten von Ratten gestützten Arbeit, weisen auf eine gute „face validity“ des hier angewendeten Kopfschmerzmodelles hin.



## 6. Summary

### **“Ethological aspects in an animal model of headache“**

Headaches are a common medical condition and can take various forms. The symptoms, especially those resulting from chronic type headaches, can be so intense as to result in considerable personal limitation. The treatment of chronic headaches is very complicated and current pharmaceutical products often have insufficient therapeutic effects or are associated with adverse drug reactions.

Further investigations are vital in order to develop better treatments and to improve understanding of the pathophysiological principles that give rise to chronic headaches. In the past various experimental models have been carried out on anaesthetised animals. However an evaluation of rat behaviour associated with the various headache models has not yet been conducted.

The aim of this dissertation is to show that rats can experience meningeal pain which can result in changes to their behavioural patterns. A previously established headache model has been modified in such a way as to allow research on chronic headaches in rats without the use of narcotics.

The behavioural parameters used in the study were chosen based on two criteria 1) they should allow for a comparison of the symptoms that result from a migraine attack in humans and rats and 2) they should have well established evaluation criteria for the animals. Emphasis was placed on explorative behaviour, motor locomotion and various aspects of feeding behaviour. A reduction in physical activity and reduced food intake (symptoms also observed in humans during the course of a migraine attack) were assessed as a sickness-related impairment.

During the course of this investigation it was shown that local administration of Interleukin-1 $\beta$  or Capsaicin to the dura mater resulted in a reversible behavioural patterns in the animals. It was also shown that groups of sick animals tended to reduce their general food intake; however, there was no reduced consumption of sweet rewards. Despite behaviour associated with sickness the observed animals continued to react positively to the food rewards offered to them.

Also noted was a reduction in exploration tendencies in the open field of animals treated with Interleukin-1 $\beta$  (and Capsaicin). Furthermore evaluation during the nocturnal period of animals housed in their home cages demonstrated the long lasting effect of Interleukin-1 $\beta$  and Capsaicin on motoric activity.

One particular group of animals which were partly treated with Capsaicin and had experienced chamber manipulation shortly before the start of the investigation showed deviations in all three behavioural tests. Despite this the effect of Capsaicin treatment could still be observed at later time points. This was not the case with animals which had been administered a saline solution. In future investigations it may be necessary to allow the animals a longer period of convalescence following any manipulation of the chamber.

In order to improve the face validity of the headache model the use of a Cytokine-antagonist, a Vanilloid receptor antagonist or an anti-migraine drug such as the Triptans might be necessary to eliminate or to reduce the behavioural changes induced by meningeal stimulation.

The results of the behavioural responses of the rats observed during our investigations give credence to the validity of the headache model evaluated in this dissertation.

## 8. Literaturverzeichnis

**Akerman S., Kaube H., Goadsby P.J., 2004**

Anandamide acts as a vasodilator of dural blood vessels in vivo by activating TRPV1 receptors.

British Journal of Pharmacology 142:1354-1360

**Aldrige J.W., 2005**

In: The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook with Tests, Hrsg.: Whishaw I.Q., Kolb B., Verlag: Oxford Univ Pr, S. 141-149

**Andres K.H., von Düring M., Muszynski K., Schmidt R.F., 1987**

Nerve fibres and their terminals of the dura mater encephali of the rat.

Anat Embryol 175:289-301

**AppliChem GmbH, 2004**

Sicherheitsdatenblatt „Ethanol 99 % reinst“

[http://www.applichem.de/fileadmin/datenblaetter/a5007\\_de.pdf](http://www.applichem.de/fileadmin/datenblaetter/a5007_de.pdf)

Zugegriffen am 16.03.2009

**Avena N.M., Rada P., Hoebel B.G., 2008**

Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake.

Neurosci Biobehav Rev. 32(1):20-39

**Avena N.M., Rada P., Hoebel B.G., 2009**

Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behaviour.

J. Nutr. 139(3):623-628

**Bartsch T., Goadsby P.J., 2002**

Stimulation of the greater occipital nerve induces increased central excitability of dural afferent input.

Brain 125:1496-1509

**Bartsch T., Goadsby P.J., 2003**

Increased responses in trigeminocervical nociceptive neurones to cervical input after stimulation of the dura mater.

Brain 126:1801-1813

**Bartsch T., Knight Y.E., Goadsby P.J., 2004**

Activation of (5-HT)<sub>1B/1D</sub> receptors in the periaqueductal grey inhibits meningeal nociception.

Ann. Neurol. 56:371-381

**Bauhofer A., Ho Y.-J., Schmitt A., Köster M., Schwarting R.K.W., Pawlak C.R., 2009**

Individual behavioral differences in recovery from abdominal sepsis in rats.

Inflamm. res. 58:248–256

**Benjamin L., Levy M.J., Lasalandra M.P., Knight Y.E., Akerman S., Classey J.D., Goadsby P.J., 2004**

Hypothalamic activation after stimulation of the superior sagittal sinus in the cat: a Fos study.  
Neurobiol. Dis. 16:500-505

**Bergerot A., Holland P.R., Akerman S., Bartsch T., Ahn A.H., MaassenVanDenBrink A., Reuter U., Tassorelli C., Schoenen J., Mitsikostas D.D., van den Maagdenberg A.M., Goadsby P.J., 2006**

Animal models of migraine: looking at the component parts of a complex disorder.  
Eur J Neurosci. 24(6):1517-1534

**Bernatzky G., 1997**

Schmerzen bei Tieren  
In: Sambaous H.H. und Steiger A. (Hrsg.): Das Buch vom Tierschutz

**Bianchi M., Dib B., Panerai A.E., 1998**

Interleukin-1 and nociception in the rat.  
J. Neurosci Res. 53(6):645-50

**Bolay H., Reuter U., Dunn A.K., Huang Z., Boas D.A., Moskowitz M.A., 2002**

Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model.  
Nature Medicine Vol 8, No 2, 136-142

**Bothschafter S.M., 2005**

Auswirkungen der Narkose mit Isofluran auf die kognitive Leistungsfähigkeit von 3 Monate alten, transgenen Alzheimer-Mäusen und ihren gesunden Wurfgeschwistern.  
Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München. <http://edoc.ub.uni-muenchen.de/4110/>. Zugegriffen am 08.03.2009

**Brain S.D., Williams T.J., Tippins J.R., Morris H.R., MacIntyre I., 1985**

Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator.  
Nature Vol 313, 54-56

**Britton D.R., Britton K.T., 1981**

A sensitive open field measure of anxiolytic drug activity.  
Pharmacol. Biochem. Behav. 15(4):577-582

**Buck S.H., Burks T.F., 1986**

The Neuropharmacology of Capsaicin: Review of Some Recent Observations.  
Pharmacological Reviews Vol 38, No 3, 179-226

**Bundesamt für Veterinärwesen, 1994**

Retrospektive Einteilung von Tierversuchen nach Schweregraden (Belastungskategorien).  
[www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz/00777/00778/index.html](http://www.bvet.admin.ch/themen/tierschutz/00777/00778/index.html)  
Zugegriffen am 06.03.2009

**Burstein R., 2001**

Deconstructing migraine headache into peripheral and central sensitization.  
Pain 89(2-3):107-10

**Burstein R., Cutrer M.F., Yarnitsky D., 2000**

The development of cutaneous allodynia during a migraine attack.  
Brain 123:1703-1709

**Büttner D., Wollnik F., 1984**

Strain- Differentiated Circadian and Ultradian Rhythms in Locomotor Activity of the Laboratory Rat.  
Behavior Genetics 14, 137-152

**Buzzi M.G., Carter W.B., Shimizu T., Heath H., Moskowitz M.A., 1991**

Dihydroergotamine and Sumatriptan attenuate levels of CGRP in plasma in rat superior sagittal sinus during electrical stimulation of the trigeminal ganglion.  
Neuropharmacology Vol 30, No 11, 1193-1200

**Cabanac M., Johnson K.G., 1983**

Analysis of a Conflict Between Palatability and Cold Exposure in Rats.  
Physiology & Behavior, Vol 31, 249-253

**Carl Roth GmbH & Co KG, 2006**

Sicherheitsdatenblatt „Tween® 80, reinst“  
<http://www.carl-roth.de/jsp/de-de/sdpdf/4859.PDF>  
Zugegriffen am 06.03.2009

**Carr P.A., Yamamoto T., Nagy J.I., 1990**

Calcitonin gene-related peptide in primary afferent neurons of rat: co-existence with fluoride-resistant acid phosphatase and depletion by neonatal capsaicin.  
Neuroscience Vol 36, No 3, 751-760

**Castillo J., Muñoz P., Guitera V., Pascual J., 1998**

Epidemiology of Chronic Daily Headache in the General Population.  
Headache 39:190-196

**Caterina M.J., Leffler A., Malmberg A.B., Martin W.J., Trafton J., Petersen-Zeit K.R., Koltzenburg M., Basbaum A.I., Julius D., 2000**

Impaired Nociception and Pain Sensation in Mice Lacking the Capsaicin Receptor.  
Science Vol 288, 306-313

**Caterina M.J., Schumacher M.A., Tominaga M., Rosen T.A., Levine J.D., Julius D., 1997**

The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway.  
Nature Vol 389, 816-824

**Chaouloff F., Kulikov A., Sarieau A., Castanon N., Mormède P., 1995**

Male Fischer 344 and Lewis rats display differences in locomotor reactivity, but not in anxiety-related behaviours: relationship with the hippocampal serotonergic system.  
Brain Res. 693:169-178

**Claassen V., 1994**

Neglected Factors in Pharmacology and Neuroscience Research.  
Elsevier Science B.V., Techniques in the Behavioral and Neural Sciences 12:267-272

**Colotta F., Dower S.K., Sims J.E., Mantovani A., 1994**

The type II 'decoy' receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1.  
Immunol. Today 15, 562-566

**Dale O., Brown B.R. Jr., 1987**

Clinical pharmacokinetics of the inhalational anaesthetics.  
Clin Pharmacokinet 12(3):145-167

**Dantzer R., 2001**

Cytokine-Induced Sickness Behavior: Mechanisms and Implications.  
Annals New York Academy of Science 933:222-234

**Dantzer R., 2004**

Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity.  
European Journal of Pharmacology 500, 399-411

**Davis J.B., Gray J., Gunthorpe M.J., Hatcher J.P., Davey P.T., Overend P., Harries M.H., Latcham J., Clapham C., Atkinson K., Hughes S.A., Rance K., Grau E., Harper A.J., Pugh P.L., Rogers D.C., Bingham S., Randall A., Sheardown S.A., 2000**

Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia.  
Nature Vol 405, 183-187

**Davis K.D., Dostrovsky J.O., 1988**

Response of Feline Trigeminal Spinal Tract Nucleus Neurons to Stimulation of the Middle Meningeal Artery and Sagittal Sinus.  
Journal of Neurophysiology Vol 59, No 2, 648-666

**Dawson G.R., Tricklebank M.D., 1995**

Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents.  
Trends Pharmacol Sci 16:33-37

**Detsch O., Kochs E., Siemers M., Bromm B., Vahle-Hinz C., 2002**

Differential effects of isoflurane on excitatory and inhibitory synaptic inputs to thalamic neurones in vivo.  
British Journal of Anaesthesia 89(2):294-300

**De Vries P., Villalón C.M., Saxena P.R., 1999**

Pharmacological aspects of experimental headache models in relation to acute antimigraine therapy.  
European Journal of Pharmacology 375:61-74

**Diener H.C., 2002 a**

In: Migräne: Taschenatlas spezial.  
3. überarb. Aufl.- Stuttgart: Thieme

**Diener H.C., 2002 b**

In: Migräne. Ein Buch mit sieben Siegeln? 100 Fragen und 100 Antworten.  
3. überarb. Aufl.- Stuttgart: Thieme

**DIMDI, 2009**

Kapitel XVIII- Symptome und abnorme klinische und Laborbefunde, die anderenorts nicht klassifiziert sind- (R00-R99).  
<http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlgm2009/block-r50-r69.htm>  
Zugegriffen am 18.04.2009

**Dimitriadou V., Buzzi M.G., Theoharides T.C., Moskowitz M.A., 1992**

Ultrastructural evidence for neurogenically mediated changes in blood vessels of the rat Dura mater and tongue following antidromic trigeminal stimulation.  
Neuroscience Vol 48, No 1, 187-203

**Dinarello C.A., 1994**

The interleukin-1 family: 10 years of discovery.  
The FASEB Journal 8, 1314-1325

**Dinarello C.A., 2005**

Blocking IL-1 in systemic inflammation.  
J Exp Med 201:1355-1359

**Duckles S.P., 1986**

Effects of capsaicin on vascular smooth muscle.  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 333:59-64

**Dunn A.J., Swiegiel A.H., 2005**

Effects of interleukin-1 and endotoxin in the forced swim and tail suspension test in mice.  
Pharmacology, Biochemistry and Behavior 81:688-693

**Dunn A.J., Swiergiel A.H., de Beaurepaire R., 2005**

Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies?  
Neurosci Biobehav Rev 29(4-5):891-909

**Dux M., Santha P., Jancso G., 2003**

Capsaicin- sensitive neurogenic sensory vasodilatation in the dura mater of the rat.  
The Physiological Society 552(3):859-867

**Dux M., Schwenger N., Messlinger K., 2002**

Possible role of histamine (H<sub>1</sub>- and H<sub>2</sub>-) receptors in the regulation of meningeal blood flow.  
British Journal of Pharmacology 137, 874-880

**Edvinsson L., Gulbenkian S., Barroso C.P., Cunha e Sá M., Polak J.M., Mortensen A., Jørgensen L., Jansen-Olesen I., 1998**

Innervation of the Human Middle Meningeal Artery: Immunohistochemistry, Ultrastructure, and Role of Endothelium for Vasomotility.  
Peptides Vol 19, No 7, 1213-1225

**Edvinsson L., Jansen I., Kingman T.A., McCulloch J., 1990**

Cerebrovascular responses to capsaicin in vitro and in situ.  
Br. J. Pharmacol. 100, 312-318

**Edvinsson I., Uddman R., 1981**

Adrenergic, cholinergic and peptidergic nerve fibers in dura mater involvement in headache.  
Cephalalgia Vol 1, 175-9

**Edvinsson L., Uddman R., 2005**

Neurobiology in primary headaches.  
Brain Research Reviews 48, 438-456

**Eger E.I. II, 1981**

Isoflurane: a review.  
Anesthesiology 55:559-76

**Eibl-Eibesfeldt I., 1950**

Beiträge zu Biologie der Haus- und der Ährenmaus nebst einigen Beobachtungen an anderen Nagern.  
Z. Tierpsychol. 7, 558-587

**Eikermann-Haerter K., Moskowitz M.A., 2008**

Animal models of migraine headache and aura.  
Curr Opin Neurol 21:294-300

**Erhardt W., Henke J., Kroker R., 2004**

Inhalationsanästhetika.  
In: Erhardt W., Henke J., Haberstroh J. (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, Stuttgart, Schattauer Verlag 67-87

**Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA), 1994**

Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs.  
Lab Anim 28, 97-112

**Fusco B.M., Giacobazzo M., 1997**

Peppers and pain. The promise of capsaicin.  
Drugs 53(6):909-914

**Galef B., Buckley L., 1996**

Use of foraging trails by Norway rats.  
Anim. Behav. 51:765-71

**Galef B., White D., 1997**

Socially acquired information reduces Norway rats latencies to find food.  
Anim. Behav. 54, 705-14

**Gamse R., 1982**

Capsaicin and nociception in the rat and mouse. Possible role of substance P.  
Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 320, 205-216



**Garcia-Cairasco N., Oliveira J.A.C., Wakamatsu H., Bueno S.T.B., Guimaraes F.S., 1998**  
Reduced exploratory activity of audiogenic seizures susceptible Wistar rats.  
Physiol. Behav. 64, 671-674

**Goadsby P.J., Hoskin K.L., 1997**  
The distribution of trigeminovascular afferents in the nonhuman primate brain *Macaca nemestrina*: a c-fos immunocytochemical study.  
J. Anat. 190:367-375

**Goadsby P.J., Edvinsson L., 1994**  
Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache.  
Neuropeptide changes and effects of acute attacks therapies.  
Brain 117, 427-434

**Goadsby P.J., Edvinsson L., Ekman R., 1988**  
Release of Vasoactive Peptides in the Extracerebral Circulation of Humans and the Cat During Activation of the Trigeminovascular System.  
Ann Neurol 23:193-196

**Göbel H., 2009**  
Kopfschmerzen und Migräne  
[http://www.schmerzlinik.de/wp-content/uploads/2009/02/kopfschmerzen\\_und\\_migrane\\_-\\_schwerpunkt\\_frauen\\_\\_schwangerschaft\\_\\_kinder\\_-\\_schmerzlinik\\_kiel.pdf](http://www.schmerzlinik.de/wp-content/uploads/2009/02/kopfschmerzen_und_migrane_-_schwerpunkt_frauen__schwangerschaft__kinder_-_schmerzlinik_kiel.pdf)  
Zugriffen am 19.03.2009

**Goldblum S.E., Yoneda K., Cohen D.A., McClain C.J., 1988**  
Provocation of Pulmonary Vascular Endothelial Injury in Rabbits by Human Recombinant Interleukin-1 $\beta$ .  
Infection And Immunity Vol 56, No 9, 2255-2263

**Goldstein D.J., Wang O., Saper J.R., Stoltz R., Silberstein S.D., Mathew N.T., 1997**  
Ineffectiveness of neurokinin-1 antagonist in acute migraine: a crossover study.  
Cephalalgia 17(7):785-790

**Hadjikhani N., Sanchez Del Rio M., Wu O., Schwartz D., Bakker D., Fischl B., Kwong K.K., Cutrer F.M., Rosen B.R., Tootell R.B., Sorensen A.G., Moskowitz M.A., 2001**  
Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex.  
Proc Natl Acad Sci USA 98(8):4687-4692

**Hall C.S., 1934**  
Emotional behaviour in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality.  
J Comp Physiol Psychol 18:385-403

**Hanning C.D., 2005**  
Postoperative cognitive dysfunction.  
Br J Anaesth 95:82-7

**Hart B.L., 1988**  
Biological basis of the behavior of sick animals.  
Neurosci. Biobehav. Rev. 12:123-137

**Haskins S.C., 1992**

Postoperative analgesia. In: Haskins SC, Klide AM (eds.): Opinions in small animals anaesthesia.

W.B. Saunders Company, Philadelphia, 353-356

**Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004**

The International Classification of Headache Disorders: 2<sup>nd</sup> edition.

Cephalalgia 24 (Suppl 1), 9-160

**Henke J., Erhardt W., 2001**

In: Schmerzmanagement bei Klein- und Heimtieren, Hrsg.: Enke- Verlag, S. 4 u. 22-31

**Herbert M.K., Holzer P., 2002**

Neurogenic Inflammation. Basic Mechanisms, Physiology and Pharmacology.

Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 37:314-325

**Hirsjärvi P.A., Junnila M.A., 1986**

Effects of light and noise test stimuli on the open-field behaviour of Wistar rats.

Scand. J. Psychol. 27, 311-319

**Ho T.W., Mannix L.K., Fan X., Assaid C., Furtek C., Jones C.J., Lines C.R., Rapoport A.M.; MK-0974 Protocol 004 study group, 2008**

Randomized controlled trial of an oral CGRP receptor antagonist, MK-0974, in acute treatment of migraine.

Neurology. 70(16):1304-1312

**Holland P.R., Akerman S., Goadsby P.J., 2005**

Orexin 1 Receptor Activation Attenuates Neurogenic Dural Vasodilation in an Animal Model of Trigeminovascular Nociception.

JPET 315:1380-1385

**Holzer P., 1991**

Capsaicin: Cellular Targets, Mechanisms of Action, and Selectivity for Thin Sensory Neurons.

Pharmacological Reviews Vol 43, No 2, 143-201

**Hoskin K.L., Blumer D.C.E., Goadsby P.J., 1999**

Fos expression in the trigeminocervical complex of the cat after stimulation of the superior sagittal sinus is reduced by L-NAME.

Neurosci. Lett. 266:173-176

**Hou L., Li W., Wang X., 2003**

Mechanism of Interleukin-1 $\beta$ - Induced Calcitonin Gene-Related Peptide Production From Dorsal Root Ganglion Neurons of Neonatal Rats.

Journal of Neuroscience Research 73, 188-197

**IHS, 2009**

IHS Classification ICHD II.

[http://ihs-classification.org/de/02\\_klassifikation/02\\_teil1/01.01.00\\_migraine.html](http://ihs-classification.org/de/02_klassifikation/02_teil1/01.01.00_migraine.html)

Zugegriffen am 15.03.2009

**Iversen H.K., Olesen J., Tfelt-Hansen P., 1989**

Intravenous nitroglycerin as an experimental headache model. Basic characteristics.  
Pain 38:17-24

**Jancsó G., Kiraly E., Jancsó-Gábor A., 1977**

Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurones.  
Nature Vol 270, 741-743

**Keller J.T., Marfurt C.F., 1991**

Peptidergic and Serotonergic Innervation of the Rat Dura Mater.  
The Journal of Comparative Neurology 309:515-534

**Kelley K.W., Bluthé R.-M., Dantzer R., Zhou J.-H., Shen W.-H., Johnson R.W., Broussard S.R., 2003**

Cytokine-induced sickness behaviour.  
Brain, Behavior and Immunity 17:112-118

**Kent S., Bluthé R.M., Kelley K.W., Dantzer R., 1992**

Sickness behavior as a new target for drug development.  
Trends Pharmacol. Sci. 13:24-28

**Kent S., Bret-Dibat J.L., Kelley K.W., Dantzer R., 1996**

Mechanisms of Sickness-Induced Decreases in Food-Motivated Behavior.  
Neuroscience and Biobehavioral Reviews Vol 20, No 1, 171-175

**Kent S., Rodriguez F., Kelley K.W., Dantzer R., 1994**

Reduction in Food and Water Intake Induced by Microinjection of Interleukin-1 $\beta$  in the Ventromedial Hypothalamus of the Rat.  
Physiology & Behavior Vol 56, No 5, 1031-1036

**Kerr F.W.L., Olafsen R.A., 1961**

Trigeminal and cervical volleys.  
Arch. Neurol. 5:69-76

**Knyihar-Csillik E., Tajti J., Mohtasham S., Sari G., Vecsei L., 1995**

Electrical stimulation of the Gasserian ganglion induces structural alteration of calcitonin gene-related peptide-immunoreactive perivascular sensory nerve terminals in the rat cerebral dura mater: a possible model of migraine headache.  
Neuroscience Letters 184:189-192

**Konsman J.P., Dantzer R., 2001**

How the Immune and Nervous Systems Interact During Disease-Associated Anorexia.  
Nutrition 17, 664-668

**Kurosawa M., Messlinger K., Pawlak M., Schmidt R.F., 1995**

Increase of meningeal blood flow after electrical stimulation of rat dura mater encephali: mediation by calcitonin gene-related peptide.  
British Journal of Pharmacology 114, 1397-1402

**Larsen R., 2002**

Inhalationsanästhesie.

In: Larsen R. (Hrsg.) Anästhesie, München, 8.Aufl., Urban und Schwarzenberg Verlag, 19-60

**Lassen L.H., Ashina M., Christiansen I., Ulrich V., Olesen J., 1997**

Nitric oxide synthesis inhibition in migraine.

Lancet 349:401-402

**Lawlor M., 2002**

Comfortable quarters for laboratory animals.

In : Reinhardt V. (Hrsg.) Washington D.C.: Animal Welfare Institute, 26-32

**Le Bars D., Gozariu M., Cadden S.W., 2001**

Animal Models of Nociception.

Pharmacol Rev 53:597-652

**Leão A., 1944**

Spreading depression of activity in the cerebral cortex.

Neurophysiology 7, 359-390

**Li W., Hou L., Hua Z., Wang X., 2004**

Interleukin-1 $\beta$  induces  $\beta$ -calcitonin gene-related peptide secretion in human type II alveolar epithelial cells.

The FASEB Journal 18:1603-1605

**Limmroth V., Katsarava Z., Liedert B., Guehring H., Schmitz K., Diener H.-C., Michel M.C., 2001**

An in vivo rat model to study calcitonin gene related peptide release following activation of the trigeminal vascular system.

Pain 92:101-106

**Löscher W., 2006**

Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem.

In: Löscher W., Ungemach F.R., Kroker R.: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Parey Verlag, Stuttgart, 7. Auflage: 63-124

**Louis S.M., Jamieson A., Russell N.J.W., Dockray G.J., 1989**

The role of Substance P and Calcitonin Gene-Related Protein in neurogenic plasma extravasation and vasodilatation in the rat.

Neuroscience Vol 32, No 3, 581-586

**Maassen VanDenBrink A., van den Broek R.W.M., Bogers A.J.J.C., Avezaat C.J.J., Saxena P.R., 2000**

Craniovascular selectivity of eletriptan and sumatriptan in human isolated blood vessels.

Neurology 55:1524-1530

**Marcus D.A., Scharff L., Turk D., Gourley L.M., 1997**

A double-blind provocative study of chocolate as a trigger of headache.

Cephalalgia 17:855-62

**Markowitz S., Saito K., Moskowitz M.A., 1987**

Neurogenically Mediated Leakage of Plasma Protein Occurs from Blood Vessels in Dura Mater But Not Brain.

The Journal of Neuroscience 7(12):4129-4136

**Markowitz S., Saito K., Moskowitz M.A., 1988**

Neurogenically mediated plasma extravasation in dura mater: Effect of ergot alkaloids  
A possible mechanism of action in vascular headache.

Cephalalgia 8(2):83-91

**May A., Goadsby P.J., 2001**

Substance P receptor antagonists in the therapy of migraine.

Expert Opin. Investig. Drugs 10(4):673-678

**Mayberger M., Langer R.S., Zervas N.T., Moskowitz M.A., 1981**

Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headache in man.

Science 213:228-230

**Meßlinger K., Hanesch U., Baumgärtel M., Trost B., Schmidt R.F., 1993**

Innervation of the dura mater encephali of cat and rat: ultrastructure and calcitonin gene-related peptide-like and substance P-like immunoreactivity.

Anat Embryol 188:219-237

**Millan M.J., 1999**

The induction of pain: an integrated review.

Prog. Neurobiol. 57, 1-164

**Ming Z., Griffith B.L., Breese G.R., Mueller R.A., Criswell H.E., 2002**

Changes in the effect of isoflurane on N-methyl-D-aspartic acid-gated currents in cultured cerebral cortical neurons with time in culture: evidence for subunit specificity.

Anesthesiology 97:856-67

**Mitsikostas D.D., Sanchez del Rio M., 2001**

Receptor systems mediating c-fos expression within trigeminal nucleus caudalis in animal models of migraine.

Brain Research Reviews 35:20-35

**Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A., 1991**

Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology.

Pharmacol. Rev. 43:109-142

**Montell C., Birnbaumer L., Flockerzi V., Bindels R.J., Bruford E.A., Caterina M.J., Clapham D.E., Harteneck C., Heller S., Julius D., Kojima I., Mori Y., Penner R., Prawitt D., Scharenberg A.M., Schultz G., Shimizu N., Zhu M.X., 2002**

A unified nomenclature for the superfamily of TRP cation channels.

Mol. Cell 9, 229-231

**Morton D.B., Griffiths P.H.M., 1985**

Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment.

Vet.Rec. 116, 431-436

**Moskowitz M.A., 1984**

The Neurobiology of Vascular Head Pain.  
Ann Neurol 16, 157-168

**Moskowitz M.A., 1993**

Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine.  
Neurology 43 (Suppl 3):16-20

**Moskowitz M.A., 1990**

Basic mechanisms in vascular headache.  
Neurol Clin 8, 801-15

**Moskowitz M.A., Buzzi M.G., Sakas D.E., Linnik M.D., 1989**

Pain mechanisms underlying vascular headache.  
Rev Neurol 145, 181-93

**Nosek K., Dennis K., Andrus B.M., Ahmadiyah N., Baum A.E., Solberg Woods L.C., Redei E.E., 2008**

Context and strain-dependent behavioral response to stress.  
Behav. Brain Funct. 4(1):23

**Office of Research Subject Protections, 2009**

SOP: Analgesia, Anesthesia, Pre- and Post-Operative Care  
George Mason University. <http://research.gmu.edu/ORSP/AnimalPoliciesAndProcedures.html>. Zugegriffen am 04.10.2009

**Olesen J., Diener H.-C., Husstedt I.W., Goadsby P.J., Hall D., Meier U., Pollentier S., Lesko L.M., 2004**

Calcitonin Gene-Related Peptide Receptor Antagonist BIBN 4096 BS for the Acute Treatment of Migraine.  
N. Engl. J. Med. 350:1104-1110

**Olesen J., Iversen H.K., Thomsen L.L., 1993**

Nitric oxide supersensitivity: a possible molecular mechanism of migraine pain.  
Neuroreport 4(8):1027-1030

**Ophoff R.A., Terwindt G.M., Vergouwe M.N., van Eijk R., Oefner P.J., Hoffman S.M.G., Lamerdin J.E., Mhrenweiser H.W., Bulman D.E., Ferrari M., Haan J., Lindhout D., van Ommen G.-J.B., Hofker M.H., Ferrari M.D., Frants R.R., 1996**

Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2+</sup> channel gene CACNL1A4.  
Cell. 87:543-552

**Oshinsky M.L., Luo J., 2006**

Neurochemistry of Trigeminal Activation in an Animal Model of Migraine.  
Headache 46:39-44

**Osl M.K., 2008**

Lernen und Gedächtnis einen und sieben Tage nach Isoflurannarkose bei der Maus.  
Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München. <http://edoc.ub.uni-muenchen.de/9031/>. Zugegriffen am 08.03.2009

**Ottosson A., Edvinsson L., 1997**

Release of histamine from dural mast cells by substance P and calcitonin gene-related peptide.  
Cephalalgia 17, 166-74

**Peitl B., Pethô G., Pórszász R., Németh J., Szolcsányi J., 1999**

Capsaicin-insensitive sensory-efferent meningeal vasodilatation evoked by electrical stimulation of trigeminal nerve fibres in the rat.  
British Journal of Pharmacology 127, 457-467

**Persch A., 1994**

Die Bedeutung des Explorationsverhaltens bei Versuchstieren.  
Tierärztl. Umschau 49, 539-545

**Pfeifer S., 1992**

Pharmacokinetics in newborns and children.  
Pharmazie 47(10):735-745

**Phebus L.A., Johnson K.W., Stengel P.W., Lobb K.L., Nixon J.A., Hipkind P.A., 1997**

The non-peptide NK-1 receptor antagonist LY303870 inhibits neurogenic dural inflammation in guinea pigs.  
Life Sci. 60(18):1553-1561

**Philip B.K., Kallar S.K., Bogetz M.S., Scheller M.S., Wetchler B.V., 1996**

A multicenter comparison of maintenance and recovery with sevoflurane or isoflurane for adult ambulatory anesthesia.  
Anesth Analg 83, 314-319

**Pini A., Baranowski R., Lynn B., 1990**

Long-Term Reduction in the Number of C-Fibre Nociceptors Following Capsaicin Treatment of a Cutaneous Nerve in Adult Rats.  
Eur. J. Neurosci. 2(1):89-97

**Piovesan E.J., Kowacs P.A., Tatsui C.E., Lange M.C., Ribas L.C., Werneck L.C., 2001**

Referred pain after painful stimulation of the greater occipital nerve in humans: evidence of convergence of cervical afferents on trigeminal nuclei.  
Cephalalgia 21:107-109

**Pitychoutis P.M., Nakamura K., Tsonis P.A., Papadopoulou-Daifoti Z., 2009**

Neurochemical and behavioral alterations in an inflammatory model of depression: Sex differences exposed.  
Neuroscience 159:1216-1232

**Prut L., Belzung C., 2003**

The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review.  
European Journal of Pharmacology 463, 3-33

**PubMed, 2009**

Human Interleukin-1 Beta [Signaling Protein].  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?uid=8930>  
Zugegriffen am 03.03.2009

**Quagliarello V.J., Wispelwey B., Long W.J. Jr., Scheld W.M., 1991**

Recombinant Human Interleukin-1 Induces Meningitis and Blood-Brain Barrier Injury in the Rat. Characterization and Comparison with Tumor Necrosis Factor.  
J Clin Invest Vol 87, 1360-1366

**Reuter U., Bolay H., Jansen-Olesen I., Chiarugi A., Sanchez del Rio M., Letourneau R., Theoharides T.C., Waeber C., Moskowitz M.A., 2001**

Delayed inflammation in rat meninges: implications for migraine pathophysiology.  
Brain 124, 2490-2502

**Reuter U., Sanchez del Rio M., Moskowitz M.A., 2000**

Experimental models of migraine.  
Funct. Neurol. 15 Suppl. 3:9-18

**Rex A., 2007**

Gesteigertes Angstverhalten bei Ratten in völliger Dunkelheit.  
persönliche Mitteilung, Berlin

**Rex A., 2008**

Vehikel verursacht keine Verhaltensänderung.  
persönliche Mitteilung, Berlin

**Rex A., Kolbasenko A., Bert B., Fink H., 2007**

Choosing the Right Wild Type: Behavioral and Neurochemical Differences Between 2 Populations of Sprague-Dawley Rats from the Same Source but Maintained at Different Sites.  
Journal of the American Association for Laboratory Animal Science Vol 46, No 5, 20-32

**Rex A., Sondern U., Voigt J.P., Franck S., Fink H., 1996**

Strain differences in fear-motivated behavior of rats.  
Pharmacol. Biochem. Behav. 54:107-111

**Rex A., Stephens D.N., Fink H., 1996**

"Anxiolytic" actions of diazepam and abecarnil in a modified open field test.  
Pharmacol. Biochem. Behav. 53(4):1005-1011

**Rex A., Voigt J.P., Voits M., Fink H., 1998**

Pharmacological evaluation of a modified open-field test sensitive to anxiolytic drugs.  
Pharmacol. Biochem. Behav. 59(3):677-683

**Richter F., Lehmenkühler A., 2008**

Cortical spreading depression (CSD): a neurophysiological correlate of migraine aura.  
Schmerz 22(5):544-550

**Rivest S., Lacroix S., Vallières L., Nadeau S., Zhang J., Laflamme N., 2000**

How the Blood Talks to the Brain Parenchyma and the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus During Systemic Inflammatory and Infectious Stimuli.  
Proc Soc Exp Biol Med 223(1):22-38

**Roche J., Timberlake W., 1998**

The influences of artificial paths and landmarks on the foraging behaviour of Norway rats.  
Anim. Learn Behav. 26:76-84



**Saibaba P., Sales G.D., Stodulski G., Hau J., 1996**

Behaviour of rats in their home cages: daytime variations and effects of routine husbandry procedures analysed by time sampling techniques.  
Laboratory Animals 30, 13-21

**Samad T.A., Moore K.A., Sapirstein A., Billet S., Allchorne A., Poole S., Bonventre J.V., Woolf C.J., 2001**

Interleukin-1 $\beta$ -mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity.  
Nature Vol 410, 471-475

**Sanford J., Ewbank R., Molony V., Tavernor W.D., Uvarov O., 1986**

Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals.  
Veterinary Record 118, 334-338

**Scheller M., Bufler J., Scheck H., Kochs E., Franke C., 1997**

Isoflurane and sevoflurane interact with the nicotinic acetylcholine receptor channels in micromolar concentrations.  
Anesthesiology 86:118-27

**Simone D.A., Nolano M., Johnson T., Wendelschafer-Crabb G., Kennedy W.R., 1998**

Intradermal injection of capsaicin in humans produces degeneration and subsequent reinnervation of epidermal nerve fibers: correlation with sensory function.  
J. Neurosci. 18(21):8947-59

**Sims J.E., Gayle M.A., Slack J.L., Alderson M.R., Bird T.A., Giri J.G., Colotta F., Re F., Mantovani A., Shanebeck K., Grabstein K.H., Dower S.K., 1993**

Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor.  
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90, 6155-6159

**Singer M.V., Teyssen S., 1997**

Alkohol – nur ein Genußmittel?  
[http://www.uni-heidelberg.de/uni/presse/RuCa1\\_97/singer.htm](http://www.uni-heidelberg.de/uni/presse/RuCa1_97/singer.htm)  
Zugegriffen am 23.03.2009

**Somjen G.G., 2001**

Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization.  
Physiological Reviews 81, 1065–1096

**Sommer C., Kress M., 2004**

Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia.  
Neuroscience Letters 361, 184-187

**Spruijt B.M., Van Hooff J.A.R.A.M., Gispen W.H., 1992**

Ethology and Neurobiology of Grooming Behavior.  
Physiological Reviews Vol 72, No 3, 825-852

**Stiftung Kopfschmerz, 2009**

<http://www.stiftung-kopfschmerz.de/index-3.html>  
Zugegriffen am 03.05.2009

**Stöhr T., Schulte-Wermeling D., Weiner I., Feldon J., 1998**

Rat strain differences in open-field behavior and the locomotor stimulating and rewarding effects of amphetamine.  
Pharmacol. Biochem. Behav. 59:813-818

**Storer R.J., Goadsby P.J., 1997**

Microiontophoretic application of serotonin (5-HT)<sub>1B/1D</sub> agonists inhibits trigeminal cell firing in the cat.  
Brain 120:2171-2177

**Storer R.J., Akerman S., Goadsby P.J., 2004**

Calcitonin gene-related peptide (CGRP) modulates nociceptive trigeminovascular transmission in the cat.  
Br. J. Pharmacol. 142:1171-1181

**Strecker T., Dux M., Messlinger K., 2002**

Increase in meningeal blood flow by nitric oxide- interaction with calcitonin gene- related peptide receptor and prostaglandin synthesis inhibition.  
Cephalalgia 22, 233-241

**Stucky C.L., Abrahams L.G., Seybold V.S., 1998**

Bradykinin increases the proportion of neonatal rat dorsal root ganglion neurons that respond to capsaicin and protons.  
Neuroscience 84, 1257-65

**Stylianou E., O'Neill L.A., Rawlinson L., Edbrooke M.R., Woo P., Saklatvala J., 1992**

Interleukin 1 induces NF-kappa B through its type I but not its type II receptor in lymphocytes.  
J. Biol. Chem. 267, 15836-15841

**Suzuki N., Hardebo J.E., Owman Ch., 1989**

Origins and pathways of cerebrovascular nerves storing Substance P and Calcitonin Gene-Related Peptide in rat.  
Neuroscience Vol 31, No 2, 427-438

**Szallasi A., Blumberg P.M., 1999**

Vanilloid (Capsaicin) Receptors and Mechanisms.  
Pharmacological Reviews Vol 51, No 2, 159-211

**Tang Y.P., Shimizu E., Dube G.R., Rampon C., Kercher G.A., Zhuo M., Liu G., Tsien J.Z., 1999**

Genetic enhancement of learning and memory in mice.  
Nature 401:63-69

**Toda N., Usui H., Nishino N., Fujiwara M., 1972**

Cardiovascular effects of capsaicin in dogs and rabbits.  
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics Vol 181, No 3, 512-521

**Tvedskov J.F., Lipka K., Ashina M., Iversen H.K., Schifter S., Olesen J., 2005**

No increase of calcitonin gene-related peptide in jugular blood during migraine.  
Ann. Neurol. 58(4):561-568

**Uhl G.R., Walther D., Nishimori T., Buzzi M.G., Moskowitz M.A., 1991**

Jun B, c-jun, jun D and c-fos mRNAs in nucleus caudalis neurons: rapid selective enhancement by afferent stimulation.  
Brain Res Mol Brain Res. 11(2):133-41

**van den Maagdenberg A.M.J.M., Pietrobon D., Pizzorusso T., Kaja S., Broos L.A.M., Cesetti T., van de Ven R.C.G., Tottene A., van der Kaa J., Plomp J.J., Frants R.R., Ferrari M.D., 2004**

A Cacna1a knock-in migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression.  
Neuron 41:701-710

**Weiss J., Maeß J., Nebendahl K., 2003**

In: Haus- und Versuchstierpflege, Hrsg.: Enke-Verlag, S.69-75

**Weyers P., Janke W., Macht M., Weijers H.G., 1994**

Social and non-social open field behaviour of rats under light and noise stimulation.  
Behav. Process. 31, 257-268

**Wienecke T., Olesen J., Oturai P.S., Ashina M., 2009**

Prostaglandin E(2) (PGE(2)) induces headache in healthy subjects.  
Cephalalgia 29(5):509-519

**Williamson D.J., Hargreaves R.J., 2001**

Neurogenic inflammation in the context of migraine.  
Microsc. Res. Tech. 53(3):167-178

**Williamson D.J., Hargreaves R.J., Hill R.G., Shephard S.L., 1997a**

Intravital microscope studies on the effects of neurokinin agonists and calcitonin gene-related peptide on dural blood vessel diameter in the anaesthetized rat.  
Cephalalgia 17:518-524

**Williamson D.J., Hargreaves R.J., Hill R.G., Shephard S.L., 1997b**

Sumatriptan inhibits neurogenic vasodilation of dural vessels in the anaesthetized rat-intravital microscope studies.  
Cephalalgia 17:525-531

**Zimmermann M., 1983**

Physiologische Mechanismen von Schmerz und Schmerztherapie.  
Der praktische Tierarzt 64, 10-25

## Danksagung

Frau Prof Dr. Fink, Herrn Dr. Reuter und Herrn Dr. Rex danke ich für die Überlassung des Themas und der Möglichkeit fachübergreifend zu arbeiten.

Herrn Dr. Rex gilt mein besonderer Dank für die hervorragende Betreuung!

Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie mir mit Rat und Tat zur Seite standen und mich unermüdlich wieder aufgebaut haben, wenn die Motivation (und ich) mal am Boden lag. Meiner Mutter im Besonderen, für die tatkräftige Hilfe bei den Korrekturen meiner Doktorarbeit und der Tatsache, dass sich immer eine Lösung finden lässt..

Hauke möchte ich für die letzten drei gemeinsamen Jahre danken, in denen wir uns gegenseitig so gut durch die Höhen und Tiefen der Doktorarbeitszeit gesprochen haben, besonders wenn mal wieder jemand fragte: „Und was macht deine Doktorarbeit?“

Meinem Hund Cosma. Sie hat die langen Stunden am PC durch regelmäßige Besuche am Schreibtisch wesentlich erträglicher gemacht. Danke für die schöne Zeit!

Meiner Freundin Sonja, die den Kontakt zu Herrn Dr. Reuter aus der Charité hergestellt hat und mir unermüdlich bei der Beschaffung wichtiger Veröffentlichungen geholfen hat, als ich selbst nicht mehr in Berlin wohnte.

Meinen Mädels (nebst tierischem Anhang) für eine unvergessliche Zeit in Berlin und all meinen anderen Freunden, dafür dass sie einfach da sind.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Versuchsratten, die für die Wissenschaft und meinen Dokortitel ihr Leben lassen mussten.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne die unzulässige Hilfe Dritter angefertigt habe.

Ich versichere, dass ich keine anderen als die im Literaturverzeichnis aufgeführten Literaturquellen verwendet habe.

Stade, 16. Februar 2010

Martina Scheinhof