UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Systemische Neurowissenschaften

Direktor: Prof. Dr. med. Christian Büchel

Modulation der TRPV1-vermittelten Hyperalgesie im trigeminalen System bei Insufflation von Kohlenstoffdioxid

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Romy Sarina Reetz

aus Schwedt/Oder

Hamburg 2015

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 20.04.2016

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. A. May

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. C. Mulert

Publikation:

Jürgens, T.P., Reetz, R., May, A. (2013). No relevant modulation of TRPV1-mediated trigeminal pain by intranasal carbon dioxide in healthy humans. J. Headache Pain *14*, 33.

INHALTSVERZEICHNIS

1. Arbeitshypothese und Fragestellung 6

2. Einleitung 7

2.1. Verlauf, Kern- und Versorgungsgebiet des Nervus trigeminus……..…. 7

2.2. Schmerzweiterleitung und -verarbeitung im trigeminalen System…….. 8

2.3. Aufbau und Mechanismus des TRPV1-Rezeptors……...10

2.3.1. CGRP…… 11

2.4. Capsaicin……..…12

2.4.1. Aufbau und Eigenschaften…… 12

2.4.2. Capsaicin im trigeminalen Schmerzmodell 13

2.5. Bisherige Forschungsarbeiten zur Wirkungsweise von CO_2 auf trigeminale Schmerzen..... 15

2.5.1. Im Tiermodell 15

2.5.2. Im Humanmodell 16

3. Methoden..... 17

3.1. Studiendesign..... 17

3.2. Versuchsteilnehmer 17

3.3. Versuchsaufbau..... 18

3.3.1. Pilotstudie 18

3.3.2. Experiment 1 (wechselnde intranasale CO_2- und Luftapplikation nach intranasaler Capsaicingabe) 18

3.3.3. Experiment 2 (CO_2-Applikation oder Placebo nach intranasaler Capsaicingabe) 19

3.4. Capsaicinverabreichung 20

3.5. CO_2- und Luftapplikation 20

3.6. Atemtechnik 21

3.7. Schmerzbewertung 21

3.8. Kapilläre Blutgasanalyse 22

3.9. Datenerhebung 22

4. Ergebnisse 23

4.1. Pilotstudie mit kontinuierlicher CO_2-Insufflation (ohne Capsaicingabe) 23

4.2. Wechselnde CO_2- und Luftinsufflation (mit Capsaicingabe) 23

4.3. Kontinuierliche CO_2- oder Luftinsufflation (mit Capsaicingabe) 25

4.4. Nebenwirkung und Sicherheit 25

5. Diskussion 27

5.1. Eigenschaften, Verträglichkeit und Sicherheit von intranasal insuffliertem CO_2 27

5.2. Modulation von CO_2 im trigeminalen Schmerzsystem 29

5.3. Klinische Relevanz von CO_2 31

5.4. Kritische Betrachtung am Studiendesign 34

6. Zusammenfassung 36

7. Abkürzungsverzeichnis 37

8. Literaturverzeichnis 38

9. Danksagung 45

10. Lebenslauf 46

11. Eidesstattliche Erklärung 47

1. Arbeitshypothese und Ziel

In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass nasal insuffliertes Kohlenstoffdioxid (CO_2) eine antihyperalgetische bzw. antinozizeptive Wirkung in trigeminalen Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1)-positiven Neuronen hat, die durch das Chilischotenextrakt Capsaicin aktiviert wurden (Tzabazis et al., 2010; Vause et al., 2007). Im trigeminalen System sind solche TRPV1-positiven nozizeptiven Neurone möglicherweise an der Pathogenese von kraniofazialen Schmerzen wie Migräne oder Cluster-Kopfschmerz beteiligt (Evans et al., 2012). Eine Pilotstudie bei Probanden, die unter kraniofazialen Schmerzen litten, zeigte einen antinozizeptiven Effekt durch CO_2-Insufflation (Spierings, 2005a). Umgekehrt ist aber CO_2 auf Schleimhäuten leicht nozizeptiv (Hummel et al., 2003).

Aufgrund der genannten Hinweise wurde eine Studie mit 48 gesunden Probanden durchgeführt, um zu testen, ob eine intranasale CO_2-Insufflation einen modulierenden Effekt auf einen durch Capsaicin experimentell-induzierten TRPV1-vermittelten fazialen Schmerz hat. Ziel war die Beantwortung folgender Fragestellungen:

1. Wie schmerzhaft ist die intranasale Applikation von CO_2 mit einem Fluss von 1 l/min auf einer numerischen Ratingskala (NRS)?

2. Führt intranasal verabreichtes CO_2 zu relevanten systemischen Veränderungen des pH-Wertes und Kohlenstoffdioxidpartialdrucks (pCO_2) im kapillären Blut?

3. Moduliert intranasale CO_2-Insufflation die Schmerzratings nach intranasaler Capsaicingabe?

2. Einleitung

2.1. Verlauf, Kern- und Versorgungsgebiet des Nervus trigeminus

Der Nervus (N.) trigeminus ist der fünfte Hirnnerv (V) und innerviert fast den ganzen Kopfbereich sensibel, ein kleiner Teil enthält motorische Fasern für die Kaumuskulatur (Schünke et al., 2009).

Es gibt vier Kerngebiete des N. trigeminus, davon sind drei sensibel und einer motorisch. Den Hauptteil des Nervs stellt die Radix sensoria (Portio major) dar. Der einzige motorische Kern, der Nucleus motorius nervi (n.) trigemini, liegt im Pons und bildet die Radix motoria (Portio minor). Die anderen drei sensiblen Kerngebiete befinden sich im Hirnstamm und im oberen Rückenmark (bis C2/3). Der Nucleus mesencephalicus n. trigemini enthält hauptsächlich propriozeptive, der Nucleus principalis n. trigemini epikritische und der Nucleus spinalis n. trigemini prothopatische Fasern.

Nachdem der N. trigeminus lateral aus dem Pons austritt, verläuft er zum Ganglion trigeminale und teilt sich dort in seine drei Hauptäste auf: N. ophthalmicus (V_1), N. maxillaris (V_2), N. mandibularis (V_3). Diese geben je einen Ast zur Innervation der Dura ab (Ramus meningeus). Die Durchtrittsstellen für V_{1-3} aus der mittleren Schädelgrube sind für V_1 die Fissura orbitalis superior in die Orbita, für V_2 das Foramen rotundum in die Fossa pterygopalatina und für V_3 das Foramen ovale an die Unterseite der Schädelbasis.

Die somatoafferenten Fasern versorgen die Gesichtshaut, größtenteils die Nasen- und Rachenschleimhaut als auch die vorderen zwei Drittel der Zunge. Weiterhin führen einige Unteräste parasympathische Fasern zu einigen Glandulae mit, wie der N. lacrimalis (Ast von V_1) gemeinsam mit dem N. zygomaticus (Ast von V_2) zur Glandula lacrimalis, der N. lingualis (Ast von V_3) gemeinsam mit der Chorda tympani zu den Glandulae submandibularis und sublingualis, oder der N. auriculotemporalis (Ast von V_3) zur Glandula parotis. Der N. lingualis (Ast von V_3) enthält zudem noch viszeroafferente Geschmacksfasern von der Chorda tympani, die zu den vorderen zwei Drittel der Zunge verlaufen.

Der N. mandibularis führt als einziger der drei Äste auch motorische Fasern mit, die die Kaumuskulatur, teils auch die Mundboden-, Mittelohr- und Rachenmuskulatur innervieren.

2.2. Schmerzweiterleitung und –verarbeitung im trigeminalen System

Der Wissenschaftler René Descartes postulierte schon 1662, dass Schmerz von der Peripherie weitergeleitet und im Gehirn verarbeitet werden musste (Descartes, 1662; Donaldson, 2009). So zeigt die Abbildung (Abb.) 1 die Weiterleitung eines Schmerzreizes am Fuß über Leitungsbahnen im Körper zum Gehirn, wo es ebenso mehrere Kontrollinstanzen geben müsse. Diese „Sensitivitätstheorie“ erklärt nicht die Graduierung von Schmerz und die unterschiedlichen Schmerzqualitäten und wurde Mitte des 19. Jahrhunderts abgelöst von der „Spezifitätstheorie“ von Moritz Schiff (Gallacchi und Pilger, 2005), die davon ausging, dass es schon in der Peripherie unterschiedliche Rezeptorarten für unterschiedliche Modalitäten (mechanisch, nozizeptiv etc.) gibt.

Die Schmerzaufnahme in der Peripherie und Schmerzweiterleitung zum sensomotorischen Cortex erfolgt durch primär afferente Aδ- und unmyelinierte C-Fasern. Aδ-Neurone erzeugen einen gut lokalisierbaren, schnellen „ersten“ Schmerz, wohingegen die C-Fasern einen schlecht lokalisierbaren und durch ihren kleineren Durchmesser einen langsamen „zweiten“ Schmerz leiten (Basbaum et al., 2009).

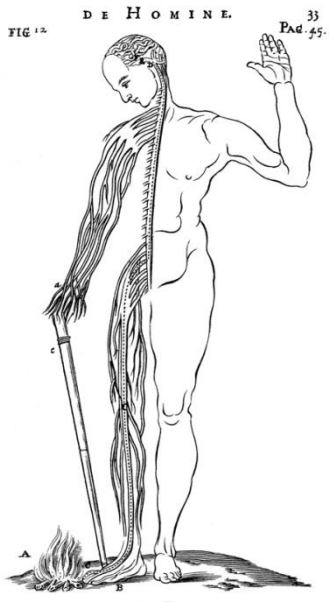

Abb. 1 Schuyls Interpretation von Descartes Vorstellung zur Schmerzweiterleitung (Descartes, 1662; Donaldson, 2009).

Die nozizeptiven Neurone des Kopfes verlaufen als Teil des N. trigeminus. An der Schmerzweiterleitung sind vier nacheinander geschaltete Neurone beteiligt (Schünke et al., 2009). Das erste Neuron ist eine pseudounipolare Zelle, dessen Soma im Ganglion trigeminale liegt und im Nucleus spinalis n. trigemini endet. Bei einem ausreichenden

Schmerzreiz werden über Nozizeptoren die nozizeptiven afferenten Axone des N. trigeminus aktiviert. Das Signal verläuft über das Soma im Ganglion trigeminale bis zum Axon im ipsilateralen Hirnstamm (Abb. 2). Von hier aus wird das 1. Neuron auf das 2. afferente Neuron verschaltet. Dieses zieht auf die Gegenseite und im Tractus trigeminothalamicus zum Nucleus ventralis posteromedialis, Nucleus ventralis posterior inferior, posterioren Komplex und zu den intralaminären Kernen im Thalamus (Beck et al., 2002). Man unterteilt die thalamische Schmerzbahn in ein mediales und ein laterales System. Zum medialen System gehören unter anderem die medialen Thalamuskerne sowie die intralaminären Kerne. Diese sind für Affektion und Emotion zuständig. Das laterale System spielt eine wichtige Rolle bei der sensorisch-diskriminativen Verarbeitung. Dazu zählt man beim trigeminalen System vor allem den Nucleus ventralis posteromedialis und den Nucleus ventralis posterior inferior. Ab den Thalamuskernen leitet das 3. Neuron das Schmerzsignal über die Radiatio thalami im Crus posterius der Capsula interna zum 4. Neuron in der Lamina granularis interna des Gyrus postcentralis im somatosensorischen Cortex (Schünke et al., 2009).

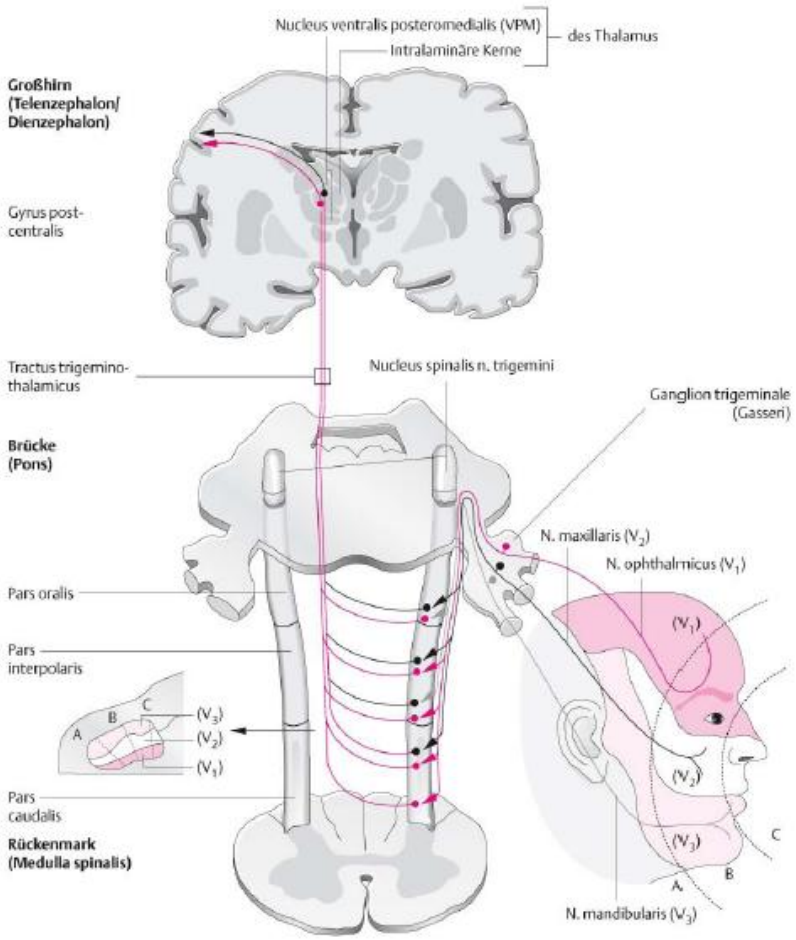

Abb. 2 Schmerzbahn des N. trigeminus (Beck et al., 2002).

2.3. Aufbau und Mechanismus des TRPV1-Rezeptors

Der TRPV1-Rezeptor ist ein Vanilloidrezeptor, der strukturell zur Familie der „*Transient Receptor Potencial-Kanäle“* gehört. Er besteht aus sechs transmembranösen Domänen (Abb. 3). Das C- und N-terminale Segment sowie Ankyrin-Domänen liegen intrazellulär (Caterina et al., 1997).

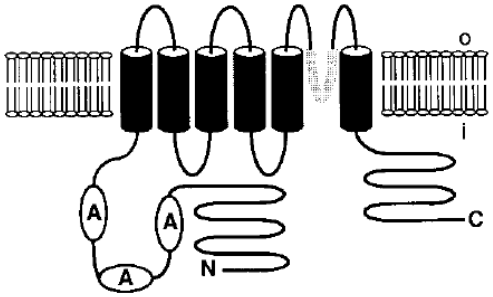

Abb. 3 Aufbau des TRPV1-Rezeptors mit seinen sechs transmembranösen Domänen, das C- und N-terminale Segment und der Ankyrin (A)-Domäne. o: outside/extrazellulär, i: inside/intrazellulär (Caterina et al., 1997).

Er ist ein polymodaler Kanal, d.h. er reagiert auf verschiedene Stimuli. Dazu gehören Capsaicin, der Wirkstoff der Chilischote, Hitze oberhalb von 43 °C, durch Protonen bei Raumtemperatur verursachte Verschiebung des pH-Werts auf ≤ 5,9 (Caterina et al., 1997; Tominaga et al., 1998), sowie Arachidonsäurederivate und Ethanol (Greffrath, 2006). Ein lokal stark erniedrigter pH-Wert (lokale Azidose) wird durch Gewebsverletzungen, Entzündungen und Ischämie im entsprechenden Gebiet verursacht und führt somit über die TRPV1-Aktivierung auch zum Schmerz (Tominaga et al., 1998; Greffrath, 2006). Man findet diesen Vanilloidrezeptor vorrangig in primär afferenten Aδ- und marklosen C-Fasern (Basbaum et al., 2009). TRPV1 ist ein nicht selektiver Kationen-Kanal, der eine hohe Kalzium (Ca^{2+})-Permeabilität aufweist (Caterina et al., 1997). Bei Stimulation des TRPV1-Rezeptors, z.B. durch seinen Liganden Capsaicin, kommt es zur Öffnung des TRPV1-Kanals, wodurch Ca^{2+} und Natrium in den Nozizeptor einströmen und ihn depolarisieren. Die daraus resultierenden Aktionspotenziale werden weitergeleitet und Neuropeptide werden freigesetzt. Neuropeptide wie Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) und Substanz P sind in den Neuronen des trigeminalen Systems enthalten (Uddman et al., 1985; Hunter und Dey, 1997; Sugimoto et al., 1997). Weitere Neuropeptide, z.B. Vasoaktives intestinales Peptid (VIP) und Neurokinin A, werden auch nach Stimulation trigeminaler nozizeptiver Neurone freigesetzt (Akerman et al., 2003; Caterina und Julius, 2001; Edvinsson und Goadsby, 1995; Greffrath, 2006; Jenkins et al., 2004; Sasamura und Kuraishi, 1999).

Der TRPV1-Rezeptor kann durch Mediatoren sensibilisiert werden. Dabei wird die Reizschwelle auf einen Stimulus gesenkt und die Zelle reagiert dann bereits auf einen normalerweise unterschwelligen Reiz. Diese *„primäre Hyperalgesie“* ist klinisch durch eine verstärkte Schmerzwahrnehmung vor allem auf Hitze und mechanische Stimuli im verletzten Gewebe charakterisiert. Bei der zentral vermittelten, sekundären Hyperalgesie spricht man von einer verstärkten Schmerzantwort auf mechanischen Schmerz im unverletzten Gebiet rund um das verletzte Gewebe (Fuchs und Peng, 2003). Dieser Effekt ist spinal vermittelt. Die thermische Hyperalgesie bei transgenen Mäusen ohne TRPV1-Rezeptoren ist reduziert, so dass dadurch ungenügender Schutz gegen noxische Hitzereize besteht (Caterina et al., 2000). Mediatoren wie Prostaglandin, Bradykinin, Adenosintriphosphat, Serotonin, Histamin oder Nerve Growth Factor (NGF) können den TRPV1-Rezeptor modulieren bzw. sensibilisieren, so dass die Reizschwelle für Temperaturen sinkt und bereits niedrige Temperaturen schmerzhaft sind (Caterina und Julius, 2001; Greffrath, 2006). Der TRPV1-Rezeptor befindet sich zudem direkt in zentralnervösen Regionen wie Hypothalamus, Thalamus, limbisches System, Substantia nigra, Locus coeruleus, trigeminales Ganglion, trigeminaler Nucleus caudalis als auch in nicht zentral-nervalen Zellen (Keratinozyten, Urothelzellen) und cerebraler Dura (Evans et al., 2012; Greffrath, 2006; Hou et al., 2002; Shimizu et al., 2007).

Der TRPV1-Rezeptor spielt somit möglicherweise eine Rolle in der Pathogenese der Migräne und des Cluster-Kopfschmerzes. So hemmt Sumatriptan den TRPV1-Rezeptor (Evans et al., 2012). Es muss allerdings eingewendet werden, dass der TRPV1-Rezeptor-Antagonist A-993610 in einem in vivo Migräne-Modell in Ratten wirkungslos blieb (Summ et al., 2011). Weitere Antagonisten des TRPV1-Rezeptors sind beispielsweise Capsazepin, Iodo-Resiniferatoxin oder Ruthenium Red (Geppetti und Trevisani, 2004), die bislang aber klinisch nicht getestet wurden.

2.3.1. CGRP

Die in 2.3. erwähnten Neurotransmitter (CGRP, Substanz P, VIP) rufen eine Vasodilatation (Gefäßerweiterung), eine Plasmaextravasation (Austritt von Plasma aus dem Blutgefäß ins umliegende Gewebe) und eine Aktivierung nicht-neuronaler Zellen (z.B. Mastzellen, Granulozyten) hervor und induzieren zudem die Freisetzung von

Entzündungsmediatoren, so dass es zu einer peripheren neurogenen Entzündung kommt (Edvinsson und Goadsby, 1995; Greffrath, 2006; Julius und Basbaum, 2001).

Nach der Freisetzung dieser Neuropeptide wird auch die kraniale Hämodynamik verändert. CGRP ist ein starker Vasodilatator (Jansen et al., 1990). Beattie und Connor (1994) berichteten, dass es nach Stimulation des trigeminalen Ganglions zum Blutdruckabfall der Arteria (A.) carotis sowie zur Reduktion des Gefäßwiderstandes mit Vasodilatation kommt. Dabei sind nicht nur CGRP und Substanz P beteiligt, sondern auch VIP. Nicolodi (1994) applizierte eine Capsaicinsuspension auf die Nasenschleimhaut von 18 Patienten mit episodischem Cluster-Kopfschmerz. Es wurden Substanz P, CGRP und VIP im Plasma und im Speichel mittels Radioimmunoassay gemessen. Dabei war Substanz P und CGRP im Speichel und VIP im Plasma erhöht. Man geht davon aus, dass CGRP an der Pathogenese von Migräne beteiligt ist (Lassen et al., 2002; Jenkins et al., 2004; Edvinsson und Goadsby, 1995). Während der Migräneattacke steigt der CGRP-Spiegel im kraniovaskulären System an (Goadsby et al., 1990). Zudem kann die Infusion von CGRP migräneartige Schmerzen auslösen (Hansen und Ashina, 2014; Lassen et al., 2002). Diese Hypothese wird dadurch gestärkt, dass CGRP-Rezeptor-Antagonisten Migräneattacken mildern oder beenden können (Ho et al., 2008; Olesen et al., 2004). Passend dazu berichten Sixt et al. (2009), dass durch Capsaicin die Expression des Aktivierungsmarkers Fos in dem trigeminalen Nucleus spinalis erhöht ist, wohingegen der CGRP-Antagonist Olcegepant (BIBN 4096 BS) die Expression von Fos und somit die trigeminal-spinale Aktivität inhibiert. Das könnte einen therapeutischen Nutzen in der Migräne haben.

2.4. Capsaicin

2.4.1. Aufbau und Eigenschaften

Capsaicin ist der Wirkstoff der Paprika- und Chilischote (Gattung Capsicum). Es ist ein Capsacinoid mit Vanillylamidanteil und gehört zur Gruppe der Alkaloide. Weiterhin bringt es noch hydrophobe und lipophile Eigenschaften mit (Hänsel und Stricher, 2010). Nelson legte 1919 einen Grundstein für die Aufklärung der Strukturformel des Capsaicins (Abb. 4) und machte es als Δ^6, 8-Methyl-nonenyl-vanillyl-amid öffentlich (Nelson, 1919; Nelson und Dawson, 1923). Charakteristisch ist das brennende und schmerzende Gefühl bei Kontakt mit Capsaicin (Hänsel und Stricher, 2010). Es kann Augen und Atemwege reizen und zur Schweißsekretion führen. Im Applikationsgebiet

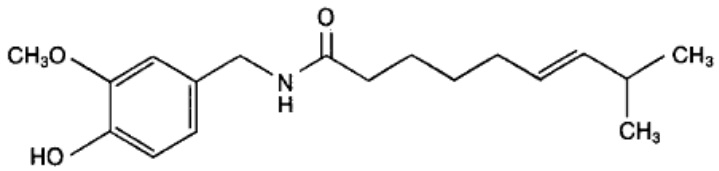

Abb. 4 Chemische Struktur des Capsaicins (Tominaga und Julius, 2000).

kommt es zur Hyperämie (Blutanreicherung). Die Reizkaskade beginnt mit der Aktivierung des TRPV1-Kanals durch Capsaicin (siehe 2.3.), was als schmerzhaft empfunden wird. Zudem bewirkt Capsaicin eine Rötung und über Capsaicin-sensible Neurone eine Hyperalgesie in der applizierten Umgebung (Barthó et al., 1990; Simone et al., 1989).

Interessanterweise kann Capsaicin, insbesondere bei wiederholter Anwendung, die Dichte epidermaler Nervenfasern beim Menschen verändern. Simone et al. (1998) und Nolano et al. (1999) beobachteten nach intradermaler Capsaicingabe eine fast vollständige passagere Degeneration von dünnen nozizeptiven Afferenzen im injizierten Epidermisgebiet und daraus resultierend eine Senkung der Schmerzempfindlichkeit. Nach einigen Wochen war das Hautareal wieder reinnerviert. Capsaicin kann somit den Zelltod bei Zellen, die den TRPV1-Rezeptor exprimieren, induzieren (Caterina et al., 1997) und bei längerer Anwendung das Applikationsgebiet desensibilisieren (Buck und Burks, 1986). Diese Desensibilisierung kann therapeutisch genutzt werden. Capsaicinsalbe wird bei chronischen Schmerzen wie Post-Zoster-Neuralgie, neuropathischen Schmerzen wie z.B. bei diabetischer Neuropathie oder chronischem Juckreiz eingesetzt (Sasamura und Kuraishi, 1999), während nach Mason et al. (2004) der Effekt auf chronische muskuloskelettale Schmerzen nur mäßig ist.

Capsaicin beeinflusst vegetative Funktionen, z.B. den Blutdruck und die Herzfrequenz. So erhöht es die präganglionäre Sympathikusaktivität in Neuronen der rostral venterolateralen Medulla. Dieser Effekt wird durch Kohlenstoffdioxid verstärkt (Seller et al., 1997).

2.4.2. Capsaicin im trigeminalen Schmerzmodell

Die topische Anwendung von Capsaicin wird in vielen Studien als Schmerzmodell verwendet, unter anderem um die Aktivierung des trigeminalen Systems und dessen

Auswirkungen auf das cerebrale Gefäßsystem zu untersuchen (Arulmani et al., 2006). Tierexperimentell wird Capsaicin zur Stimulation trigeminaler Ganglien und Nerven angewendet. Kwon et al. (2009) zeigten, dass die neuronale Aktivität im trigeminalen Nucleus caudalis von Ratten bei intracisternaler und somit V_1-vermittelter Capsaicinverabreichung ansteigt. Eine Erhöhung der spontanen Aktivität im trigeminalen Subnucleus caudalis fand sich bei 8 min und 15 min nach Capsaicinapplikation auf die Augenbindehaut und Zunge bei Ratten. Die Entladungsraten im Nucleus caudalis nach Capsaicinstimulation erreichten nach 4-6 min ihr Maximum (Carstens et al., 1998). Bei Meerschweinchen entluden sich die afferenten Fasern des N. ethmoidalis anterior nach intranasaler Capsaicingabe für durchschnittlich 3 min (Sekizawa und Tsubone, 1994).

Auch in humanen Schmerzmodellen wird Capsaicin eingesetzt. Geppetti et al. (1988) zeigten an 36 gesunden Probanden, dass Capsaicin auf der Nasenschleimhaut Schmerz, nasale Sekretion und Niesen verursacht. Eine Vorbehandlung mit Lidocain hemmt den Schmerz, jedoch nicht die Rhinorrhö. Diese Vorgänge sind Teil des trigemino-parasympathischen Reflexes (Stjärne et al., 1991; Gottselig und Messlinger, 2004). Frese et al. (2003) fanden zudem nach subkutaner Capsaicininjektion in die Stirn bei gesunden Probanden weitere autonome Symptome wie Miosis (Pupillenverengung), Lakrimation (Sekretion von Tränenflüssigkeit), Ptosis (Herabhängen des Oberlides), konjunktivale Injektion (rote, sichtbare und verschiebbare Gefäße in der Bindehaut) und eine verstopfte Nase. Das legt die Vermutung nahe, dass es eine funktionale Verbindung zwischen dem N. trigeminus und parasympathischen Fasern gibt. Wie schon zuvor erwähnt, bewirkt Capsaicin eine Vasodilatation, die lokal in der Nasenschleimhaut (Lundblad et al., 1982), aber auch an der ipsilateralen inneren Halsschlagader, der A. carotis interna, nach schmerzhafter Stimulation des N. ophthalmicus zu beobachten ist (May et al., 2001). Dabei injizierte man in drei verschiedenen Arealen (Stirn, Kinn, Bein) bei sechs gesunden Probanden 0,05 ml einer 0,1 %igen Capsaicinlösung. Die Gefäße wurden mittels Magnetresonanzangiographie erfasst. Bei Injektion in die Stirnhaut (V_1) führte der Capsaicin-induzierte Schmerz zur Dilatation der ipsilateralen A. carotis interna, nicht jedoch bei der Haut des Kinns (V_3) und des Beins. In einer Studie mit der Positronen-Emissions-Tomographie von May et al. (1998) stellte man zusätzlich nach subkutaner Capsaicininjektion in die rechte Stirn eine erhöhte regionale Durchblutung in der anterioren Insula bilateral, im kontralateralen Thalamus, im ipsilateralen anterioren cingulären Cortex und im

Kleinhirn bilateral fest. Auch bei Anwendung eines mechanischen Schmerzreizes durch Kneifen in den Nasenflügel wurde ein erhöhter Blutfluss auf der ipsilateralen Seite der Stirn, jedoch nicht der Wange, gemessen (Drummond, 1995). Mechanische Reizung durch Kneifen in die Oberlippe bewirkte eine Lakrimation und Vasodilatation im Bereich der Stirn, nicht jedoch der Wange. Somit führen Schmerzen vor allem in V_1- und vermutlich in geringerem Ausmaß auch in V_2, nicht aber im Areal von V_3, zu einer reflektorischen Vasodilatation und Lakrimation, was auf einen physiologischen trigemino-parasympathischen Reflex hinweist.

Die Verabreichung von Capsaicin stellt im trigeminalen Innervationsgebiet eine etablierte Methode zur nozizeptiven Reizung einerseits und Auslösung von autonomen parasympathischen Symptomen andererseits dar, wie man es auch bei primären Kopfschmerzformen wie z.B. dem Cluster-Kopfschmerz, der paroxysmalen Hemikranie, aber auch bei Unterformen der Migräne finden kann (Guven et al., 2013; May, 2003; Goadsby und Lipton, 1997; Barbanti et al., 2002; Goadsby, 2009). Die intranasale Gabe von 200 µg Capsaicin kann als potentes Schmerzmodell zur Stimulation von TRPV1-exprimierenden nozizeptiven Neuronen des ersten Hauptastes des N. trigeminus angewandt werden.

2.5. Bisherige Forschungsarbeiten zur Wirkungsweise von CO_2 auf trigeminale Schmerzen

2.5.1. Im Tiermodell

In einem tierexperimentellen Verhaltensmodell von Tzabazis et al. (2010) wurde mit Capsaicin eine Hyperalgesie auf der Wange von Ratten induziert. CO_2 wurde mit verschiedenen Flussraten und Applikationsdauern intranasal verabreicht. CO_2 hatte einen antihyperalgetischen Effekt für mindestens eine Stunde, wobei höhere Flussraten von 0,8 l/min CO_2 für 40 sek im Vergleich zu 0,4 l/min CO_2 oder Luft die größte Linderung trigeminaler Schmerzen bewirkte. Inhibitoren von säuresensitiven Kanälen, den Acid-Sensing Ion Channels (ASIC), und TRPV1-Rezeptoren reduzierten den Effekt von CO_2 signifikant. CO_2 hemmt die CGRP-Freisetzung, wenn trigeminale Ganglien von Ratten mit Capsaicin inkubiert werden (Vause et al., 2007). Dabei verursacht CO_2 unter isohydrischen Bedingungen einen intrazellulären pH-Wert-Abfall und eine Hemmung des Capsaicin-induzierten Anstiegs des intrazellulären Ca^{2+}, so dass CO_2 die sensorische Aktivität trigeminaler Neurone und somit die CGRP-Freisetzung hemmt.

2.5.2. Im Humanmodell

Es ist wenig über die Wirksamkeit von CO_2 bei kraniofazialen Schmerzen bekannt. Allerdings gab es schon vor über 60 Jahren Hinweise darauf, dass CO_2 Migräne mit Aura (Marcussen und Wolff, 1949, 1950) und postpunktionelle Kopfschmerzen lindern kann (Sikh und Agarwal, 1974). Weitere Versuche, die bislang allerdings nur als Abstract veröffentlicht wurden, legen eine Wirksamkeit von intranasal verabreichtem CO_2 auch bei primären Kopfschmerzerkrankungen wie der Migräne nahe (Spierings, 2005a; Spierungs, 2005b). Allerdings kann CO_2 auch als nozizeptiver Reizstoff im trigeminalen System wirken (Shusterman und Balmes, 1997; Thürauf et al., 1991; Kobal und Hummel, 1988), gerade bei nur kurzzeitiger phasischer Verabreichung. Bei kontinuierlicher Gabe von CO_2 kommt es nach einigen Minuten zum Abfall der Schmerzintensität (Hummel et al., 2003).

3. Methoden

3.1. Studiendesign

Die Studie war randomisiert und placebokontrolliert mit Parallelgruppendesign. Ziel der Studie war es, die Beeinflussung der lokalen Schmerzhaftigkeit nach intranasaler Capsaicingabe durch nasale CO_2-Insufflation über TRPV1-Rezeptoren im Gebiet der Nasenschleimhaut (N. trigeminus) in einem humanen Schmerzmodell zu untersuchen. Die Studie bestand aus einer Pilotstudie, dem Experiment 1 (wechselnde CO_2- und Luftapplikation nach intranasaler Capsaicingabe) und dem Experiment 2 (kontinuierliche CO_2-Applikation oder Placebo nach intranasaler Capsaicingabe). Die Pilotstudie wurde mit 20 Versuchsteilnehmern durchgeführt. Am Experiment 1 nahmen 48 Probanden teil. Diese wurden für das Experiment 2 jeweils zufällig in zwei gleichgroße Gruppen aufgeteilt, sodass 24 Probanden in Experiment 2 CO_2 und die anderen 24 Probanden Placebo erhielten. Zunächst wurde jeder Proband über die anstehenden Versuche ausführlich aufgeklärt und wurde erst nach schriftlicher Einverständniserklärung in die Studie eingeschlossen. Es stand ihm frei, zu jeder Zeit den Versuch ohne Angaben von Gründen abzubrechen. Die Aufwandsentschädigung betrug 20 € pro Versuch. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg bewilligt (Protokollnummer PV3814).

3.2. Versuchsteilnehmer

Die Studie wurde mit 48 gesunden Versuchsteilnehmern durchgeführt. Die Probanden wurden aus der Probandendatenbank des Instituts für Systemische Neurowissenschaften im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf rekrutiert und waren größtenteils Medizinstudenten der Universität Hamburg. Voraussetzungen für die Teilnahme der Studie waren das Alter ab 18 Jahren und die schriftliche Einwilligung in die Untersuchung.

Ausschlusskriterien waren relevante Schmerzerkrankungen in der Vorgeschichte, Schmerzmittel- oder Triptaneinnahme in den letzten 12 Stunden vor Studiendurchführung, schmerzhafte Erkrankung im Kopf- oder Gesichtsbereich in den letzten 4 Wochen (z.B. Zahnschmerzen), Anwendung von Capsaicin in den letzten 4 Wochen im Stirnbereich oder der Nase, Teilnahme an anderen Studien (Medikamentenstudien innerhalb der letzten 3 Monate), ein sinubronchialer Infekt in

den letzten 2 Wochen, schweres Asthma, eine schwere chronisch obstruktive Lungenerkrankung, Ateminsuffizienz, andere schwere Lungenerkrankungen, eine Allergie gegenüber Capsaicin, Schwangerschaft oder Stillzeit.

3.3. Versuchsaufbau

3.3.1. Pilotstudie

In der Pilotstudie sollte herausgefunden werden, ob erstens intranasal insuffliertes reines CO_2 schmerzhaft ist und zweitens dieses zu relevanten systemischen Veränderungen des pH-Wertes und pCO_2 im kapillären Blut führt. Dabei wurde bei 20 Probanden kontinuierlich für 18:40 min CO_2 mit einer Flussrate von 1 l/min nasal insuffliert (Abb. 5). Die Schmerzbewertung erfolgte alle 80 Sekunden. Während des gesamten Versuchs wurde nach gleichem Atemmuster, nämlich durch den Mund ein- und durch die Nase ausgeatmet. Damit sollte sichergestellt werden, dass CO_2 nicht inhaliert wird. Bei 10 Probanden wurde eine Blutgasanalyse durchgeführt, um den pH-Wert und pCO_2 vor, d.h. ohne CO_2-Einfluss, und am Ende des Versuchs, d.h. noch mit CO_2-Einfluss, zu bestimmen. Dazu wurde Kapillarblut aus dem Ohrläppchen entnommen. Beide Blutentnahmen stammen von der gleichen Ohrläppchenseite (meist links).

3.3.2. Experiment 1 (wechselnde intranasale CO_2- und Luftapplikation nach intranasaler Capsaicingabe)

In diesem Experiment sollte untersucht werden, inwiefern intranasale CO_2-Insufflationen im Wechsel mit Luftinsufflationen die Schmerzratings nach intranasaler Capsaicingabe modulieren. Jedem der 48 Probanden wurde am Anfang des Experiments ein Hub Capsaicinspray (200 µg) in das linke Nasenloch verabreicht. Nach 2 min Einwirkzeit bekam dieser über eine Nasenbrille abwechselnd für je 1 min CO_2 (1 l/min) und Luft (1 l/min) in beide Nasenlöcher insuffliert (Abb. 5). Es gab jeweils vier CO_2-Luft-Episoden mit einer 1-minütigen Pause nach der 2. Episode. Die Schmerzbewertung erfolgte initial vor der Capsaicingabe, nach 1 Minute und nach 2 Minuten, danach nach jeder Gasinsufflationsphase von einer Minute. Vor jeder Gasinsufflation wurde ein 20-sekündiges Intervall für Schmerzbewertung und den technischen Wechsel zwischen CO_2 und Luft eingeräumt. Der gesamte Versuch dauerte 14 min.

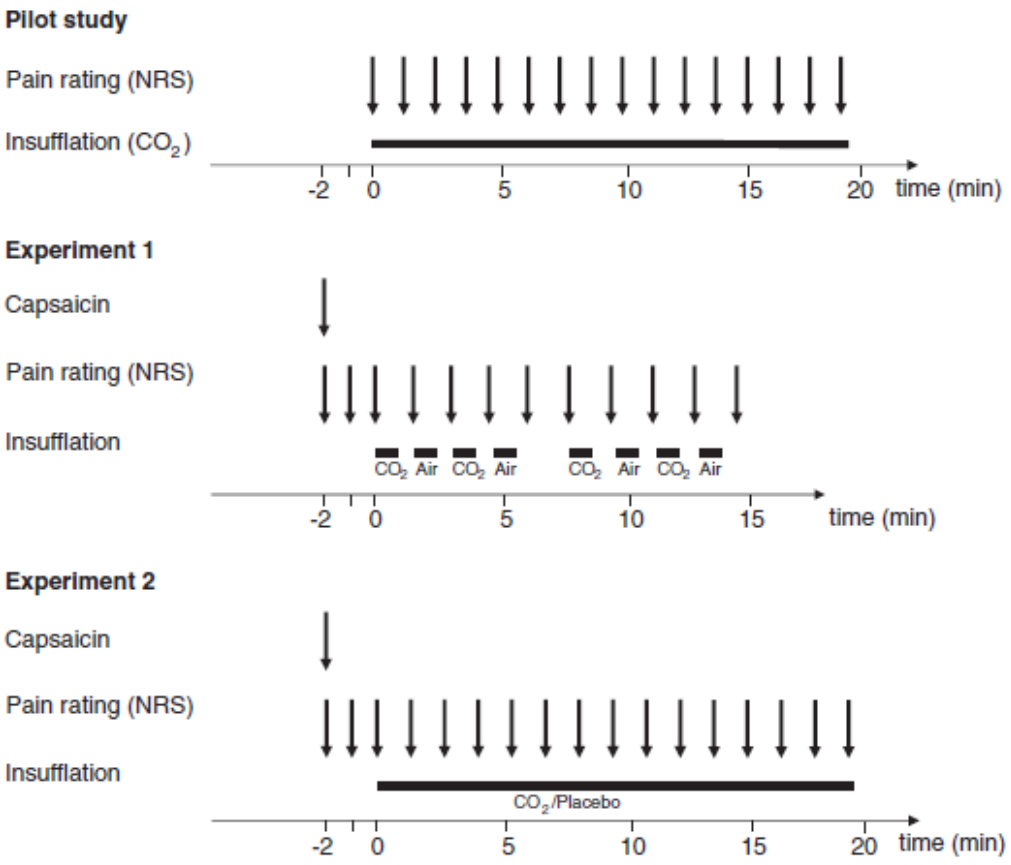

Abb. 5 Versuchsaufbau. Oben: In der Pilotstudie wurde konstant CO_2 mit 1 l/min ohne vorherige intransaler Schmerzstimulation insuffliert. Mitte: Im Experiment 1 erfolgte die wechselnde CO_2- und Luftinsufflation nach intranasaler Schmerzstimulation mit Capsaicin. Unten: Im Experiment 2 wurde CO_2 oder Luft kontinuierlich nach intranasaler Capsaicingabe insuffliert. Die horizontalen Balken stellen die Dauer des insufflierten Gases dar. Die auf den Balken gerichteten Pfeile zeigen die Zeitpunkte für die Schmerzbefragung auf der NRS an.

3.3.3. Experiment 2 (CO_2-Applikation oder Placebo nach intranasaler Capsaicingabe)

Im Experiment 2 wurde die Schmerzmodulation bei intranasal kontinuierlich insuffliertem CO_2 oder insufflierter Luft nach intranasaler Capsaicingabe untersucht. Die 48 Probanden vom Experiment 1 wurden per Zufall entweder in die CO_2-Gruppe (n = 24) oder in die Placebo-Gruppe (n = 24) eingeteilt. Nach gleichem Verlaufsmuster wie in Experiment 1 wurde den Probanden ein Hub Capsaicin (200 µg) ins linke Nasenloch verabreicht, welches wieder 2 min einwirken sollte. Danach bekam der Proband über eine Nasenbrille entweder kontinuierlich CO_2 mit einer Flussrate von 1 l/min für 18:40 min oder ein Placebo (Luft) insuffliert (Abb. 5). Die Schmerzbewertung

erfolgte genau wie im Experiment 1: vor Capsaicingabe, nach 1 min, nach 2 min und alle 80 sek inklusive eines 20-sekündigen Intervalls. Während des gesamten Versuchs wurde nach dem gleichen Atemmuster eingeatmet wie in der Pilotstudie und im 1. Experiment. Der Abstand zwischen dem 1. und dem 2. Experiment betrug mindestens 4 Wochen.

3.4. Capsaicinverabreichung

Ein Hub Nasenspray enthielt 200 µg Capsaicin (1,42 ml Capsaicin Flüssigkeitsextrakt 3 % und 0,05 ml Gelositin in 10 ml raffiniertem Sesamöl) und wurde von der klinikinternen Apotheke zubereitet. Vor der Verabreichung des Wirkstoffes beugte sich der Proband mit leicht anteflektiertem Kopf etwas nach vorn, um eine Rachenkontamination zu vermeiden. Während der Proband langsam durch die Nase ausatmete, wurde ihm ein Hub Capsaicinspray ins linke Nasenloch verabreicht. Da Capsaicin eine gesteigerte Sekretproduktion in der Nase bewirkt (Geppetti et al., 1988), wurde es den Probanden erlaubt, einen Zellstofftupfer unter die Nase zu halten, um den spontan nasalen Sekretausfluss abzufangen und eine Capsaicinverteilung supraoral zu vermeiden. Die Probanden wurden zudem angehalten, nicht die Nase zu putzen, um einen vorzeitigen und willkürlichen Substanzverlust des Capsaicins zu verhindern.

3.5. CO_2- und Luftapplikation

Das nasal verabreichte CO_2 stammt aus einer transportablen CO_2-Flasche (TMG, Krefeld, Deutschland) mit einem Volumen von 10 l. An dieser waren ein Druckventil (200 mbar/4.5 mbar) und ein Flowmeter (Gloor, Burgdorf, Schweiz) angebracht, worüber der Proband 1 l/min CO_2 intranasal erhielt. Die Luftzufuhr kam aus dem stationären Gassystem des Klinikums, wobei der Luftfluss über ein Flowmeter (Dräger, Lübeck, Deutschland) mit 1 l/min geregelt wurde. Beide Gase wurden den Probanden in sitzender Position über eine Sauerstoffbrille (Dahlhausen, Köln, Deutschland) intranasal in beide Nasenlöcher insuffliert.

3.6. Atemtechnik

Vor der Pilotstudie bzw. dem Experiment 1 (bei Probanden, die nicht an der Pilotstudie teilnahmen) wurde bei jedem Probanden ein Atemtraining mit CO_2 durchgeführt, um potentielle Atemfehler zu vermeiden und sich mit der nasalen CO_2-Gabe vertraut zu machen. Dieses Training fand meist einen Tag vor dem eigentlichen Experiment statt, um einen möglichweiser vorliegenden Gewöhnungseffekt von CO_2 durch das Atemtraining mit CO_2 auf das nachfolgende Experiment auszuschließen. Der Proband trug eine Nasenbrille, durch die er CO_2 insuffliert bekam. Die Einatmung erfolgte durch den Mund, während die Ausatmung durch die Nase erfolgte. Der Proband erhielt dreimal abwechselnd CO_2 und Luft für je 1 min. Bei der ersten CO_2-Gabe betrug die Flussrate 0,5 l/min. Falls der Proband die niedrige Flussrate tolerierte, konnte man diese bei den zwei weiteren CO_2-Gaben auf 1 l/min, d.h. auf die geplante Versuchsflussrate, steigern. Die Flussrate von Luft lag bei allen drei Verabreichungen bei 1 l/min.

3.7. Schmerzbewertung

Der Proband bewertete den subjektiv empfundenen Schmerz auf einer numerischen Ratingskala (Abb. 6). Die Skala war von 0-10 und in 0,5er Schritten aufgeteilt. Die Schmerzbewertung erfolgte, nachdem der Versuchsleiter den Probanden fragte, wie stark der Schmerz in der Nase beim Ausatmen sei. Der Versuchsteilnehmer zeigte dann mit einem Stift auf die für ihn zutreffende Schmerzzahl. 0 steht für Schmerzfreiheit und 10 für die am stärksten vorstellbaren Schmerzen.

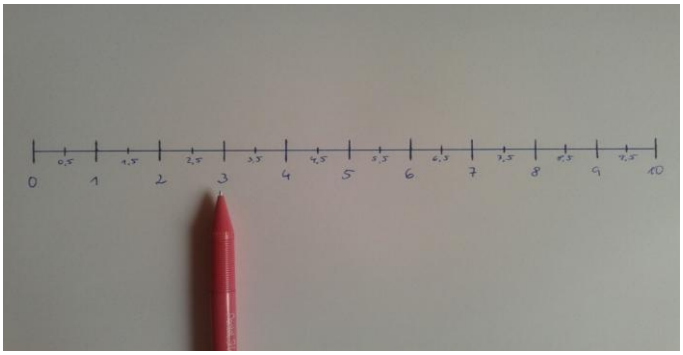

Abb. 6 Beispiel einer numerischen Ratingskala.

3.8. Kapilläre Blutgasanalyse

Die Blutproben für die Blutgasanalyse entstammten dem Ohrläppchen (meist links). Vor Blutentnahme wurde das Ohrläppchen mit einer durchblutungsfördernden Creme (5 % Benzylnicotinat) eingerieben. Nach einer 10-minütigen Einwirkzeit und Desinfektion wurde mit einer kleinen Nadel ins Ohr gestochen und das heraustretende Blut in ein kleines Probenröhrchen eingeführt. Diese Blutprobe wurde sofort ins Blutgasanalysegerät (ABL5, Radiometer Medical, Brønshøj, Dänemark) gegeben. Nach Handbuch des Herstellers sind die Referenzwerte für Kapillarblut wie folgt: pH 7.35-7.45; pCO_2 Männer: 35-48 mmHg, Frauen: 32-45 mmHg.

3.9. Datenerhebung

Alle Datenanalysen wurden mit der Statistiksoftware SPSS 20 (IBM, Amonk, NY, USA) erstellt. In den deskriptiven Statistiken wurden der Mittelwert und dessen Standardabweichung verwendet. Mittelwertdifferenzen wurden entweder durch gepaarte t-Tests oder Varianzanalysen (ANOVA= analysis of variance) für Messwiederholung ermittelt. In der Pilotstudie wurden die Schmerzratings in Abhängigkeit von der Zeit analysiert. Im Experiment 1 und 2 erfolgte die Analyse der Schmerzratings mit einer zweifaktoriellen ANOVA mit den Faktoren ZEIT (entsprechend der Schmerzratings) und GRUPPE (CO_2 oder Luft). Nominale Daten (z.B. Geschlecht) wurden mittels Chi^2-Test verglichen. Korrelationen wurden mittels Pearsons bivariater Korrelation analysiert. Als signifikant galt immer ein Wahrscheinlichkeitswert $p < 0,05$.

4. Ergebnisse

4.1. Pilotstudie mit kontinuierlicher CO_2-Insufflation (ohne Capsaicingabe)

Von den 20 Versuchsteilnehmern der Pilotstudie waren 10 Personen weiblich und 10 männlich. Die Probanden waren im Alter zwischen 21 und 35 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 24,4 ± 0,7 Jahre. Die Schmerzangaben auf einer NRS von 0-10 lagen durchschnittlich bei 0,6 (± 0,06). Der Höchstwert der Schmerzbewertung von 0,8 (± 0,21) wurde nach 1 min CO_2-Insufflation erreicht (Abb. 7). Die ANOVA mit Messwiederholungen ergab für den Faktor ZEIT mit 15 Schmerzratings einen signifikanten Effekt ($F_{14;\ 266}$ = 2,039; p = 0,001). 35% der Probanden gaben Schmerzfreiheit über die gesamte Versuchszeit an. Einige Probanden berichteten beim Atemtraining, welches meist ein Tag vor dem Experiment durchgeführt wurde, über ein unangenehmes Kribbeln im Bereich der oberen Nasenhöhle, Nasennebenhöhlen und des Rachens, sobald sie aus Versehen redeten, schluckten oder CO_2 nasal einatmeten (die Anweisung lautete: durch dem Mund einatmen und durch die Nase ausatmen). Die prä- und postexperimentellen pCO_2-Werte (d.h. vor und nach CO_2-Insufflation) korrelierten nicht mit den dazugehörigen Schmerzratings (Pearsons bivariate Korrelation: p> 0,05).

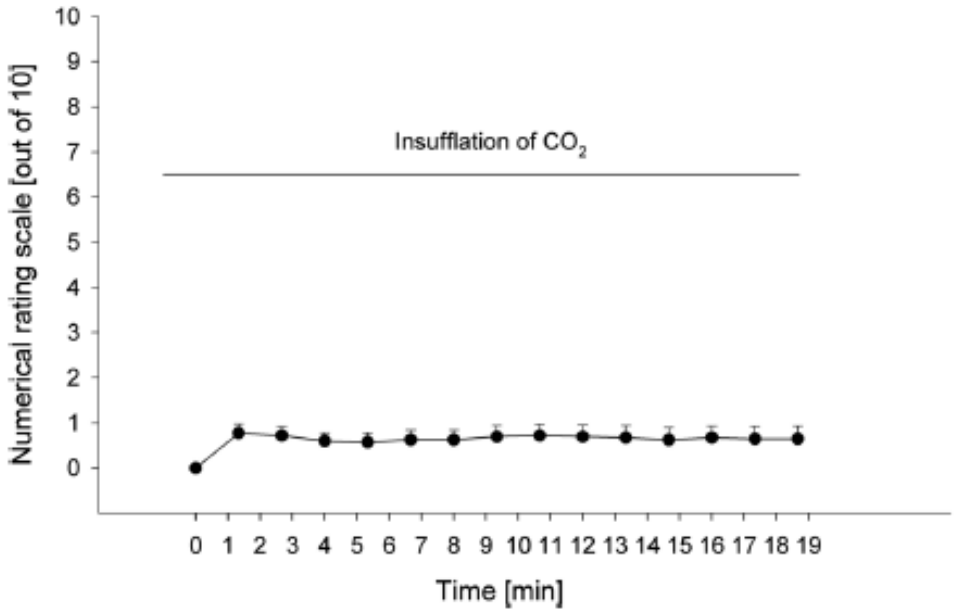

Abb. 7 NRS bei kontinuierlicher CO_2-Insufflation mit einer Flussrate von 1 l/min.

4.2. Wechselnde CO_2- und Luftinsufflation (mit Capsaicingabe)

An dem Experiment 1 nahmen 48 Probanden im Alter zwischen 20 und 37 Jahren teil. Geschlechtsverteilung und das Durchschnittsalter kann man der Tabelle 1 entnehmen.

	Alter (in Jahren)	Geschlechtsverhältnis (weiblich : männlich)
1. Experiment	24,8 (± 0,5)	24 : 24
2. Experiment (CO_2)	24,5 (± 0,6)	12 : 12
2. Experiment (Luft)	25,1 (± 0,7)	12 : 12
Statistik	t(46) = -0,636 p = 0,528	X^2(1, n = 48) = 0,000 p = 1,000

Tab. 1 Geschlechtsverhältnis und Mittelwert des Alters für das Experiment 1 und 2.

Abbildung 8 zeigt die NRS-Mittelwerte aller Probanden bei wechselnder CO_2- und Luftinsufflation mit einer Flussrate von je 1 l/min nach intranasaler Capsaicingabe. Die durchschnittliche Schmerzbewertung ergab nach allen vier CO_2-Insufflationen 3,6/10 ± 0,3 und 3,8/10 ± 0,3 nach allen vier Luftinsufflationen auf der NRS (t(47) = -2,107; p = 0,041). Aus der ANOVA mit Messwiederholungen mit dem Faktor ZEIT (Schmerzratings bei Insufflation 1-4) und dem Faktor GRUPPE (CO_2 oder Luft) resultierte kein signifikantes Ergebnis für den Faktor ZEIT ($F_{1,3;\ 63,3}$ = 2,039; p = 0,153), jedoch für den Faktor GRUPPE ($F_{1;\ 47}$ = 4,438; p = 0,041) und auch der Interaktion von ZEIT* GRUPPE ($F_{2,6;\ 121,2}$ = 3,3; p = 0,029).

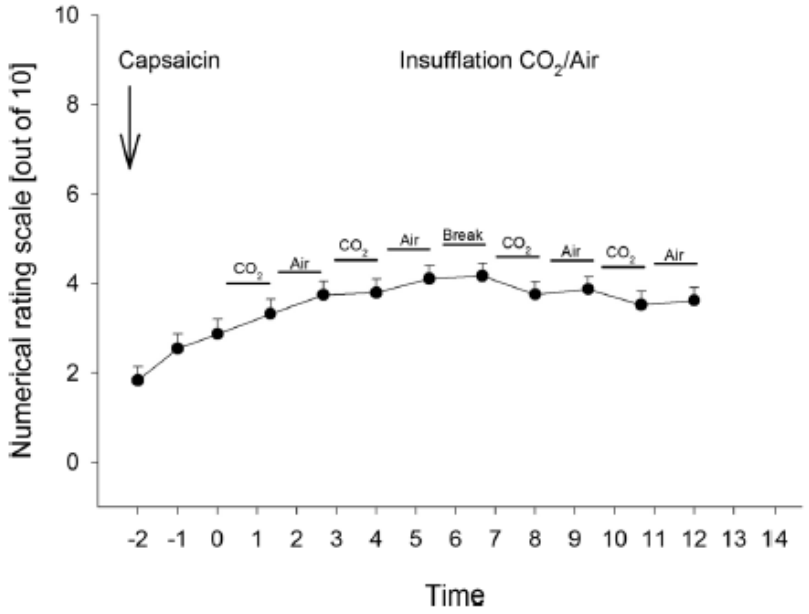

Abb. 8 NRS bei wechselnder CO_2- und Luftinsufflation mit einer Flussrate von je 1 l/min nach intranasaler Capsaicingabe.

4.3. Kontinuierliche CO_2- oder Luftinsufflation (mit Capsaicingabe)

Im Experiment 2 nahmen jeweils 24 Probanden im Verhältnis Frauen: Männer = 12 : 12 teil. Es ließ sich keine Signifikanz bezüglich des Alters und des Geschlechts in der CO_2-Gruppe und in der Luft-Gruppe erkennen (Tab. 1). Ein signifikanter Effekt ergab sich in der ANOVA mit Messwiederholungen mit den Faktoren ZEIT (Schmerzratings 1-17) und GRUPPE (CO_2 oder Luft) für ZEIT ($F_{2,1;\ 98,4} = 20,119$; $p < 0,001$), nicht jedoch für GRUPPE ($F_{1;\ 46} = 0,089$; $p = 0,767$) und der Interaktion ZEIT* GRUPPE ($F_{2,1;\ 98,4} = 0,624$; $p = 0,548$). Es konnte kein Unterschied zur Baseline festgestellt werden, wenn man die ersten NRS-Bewertungen der CO_2- bzw. Luft-Gruppe betrachtet (Abb. 9), d.h. nach Capsaicingabe und vor der ersten CO_2- bzw. Luftinsufflation (CO_2: 1,0 ± 0,4; Luft: 1,1 ± 0,3; $t(46) = 0,15$; $p = 0,902$).

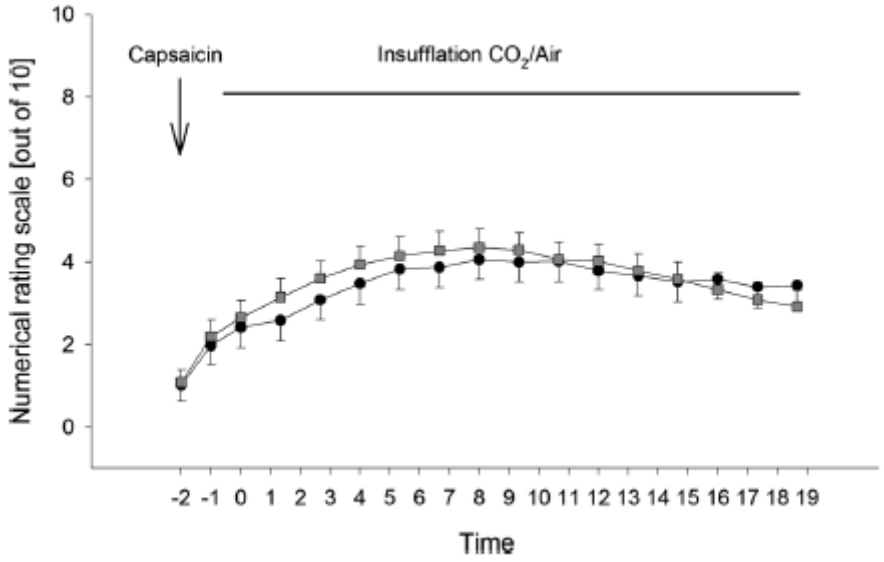

Abb. 9 NRS bei kontinuierlicher CO_2- (schwarze Punkte) oder Luftinsufflation (graue Kasten) mit einer Flussrate von 1 l/min nach intranasaler Capsaicingabe.

4.4. Nebenwirkung und Sicherheit

Die Studie wurde durch keinen Probanden vorzeitig beendet. Es wurden keine Beschwerden und insbesondere keine Dyspnoe, Kopfschmerz, Schwindel oder Übelkeit angegeben. Lediglich ein unangenehmes Kribbeln im Bereich der Nasenhöhle, Nasennebenhöhlen und Rachen beim Reden, Schlucken oder Einatmen des CO_2 über die Nase wurde von einigen Probanden berichtet. Die Aktivierung des

parasympathischen Nervensystems im Gesichtsbereich führte teilweise zur Rhinorrhö und Lakrimation.

Bei der Pilotstudie mit einer fast 20-minütigen CO_2-Insufflation kam es zu signifikanten pH-Wert- und pCO_2-Veränderungen (Abb. 10). Der kapilläre pH-Wert vor CO_2-Insufflation fiel von durchschnittlich 7,43 ± 0,01 auf 7,41 ± 0,01 nach CO_2-Insufflation ($t(9) = 3,21$; $p = 0,011$). Der kapilläre pCO_2 vor CO_2-Insufflation stieg von durchschnittlich 35,0 ± 1,4 mmHg auf 37,3 ± 1,0 mmHg nach CO_2-Insufflation ($t(9) = -3,15$; $p = 0,012$). Allerdings lagen diese Veränderungen noch im Normbereich für das Blutgasanalysegerät.

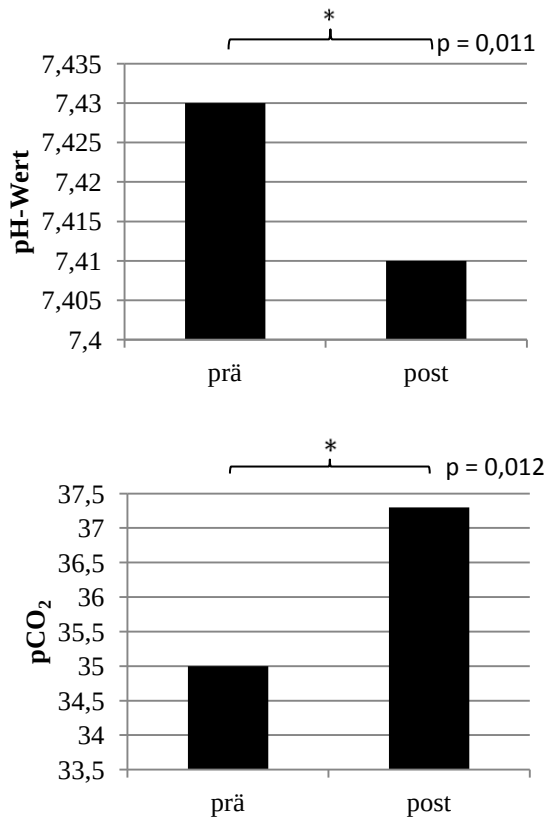

Abb. 10 pH-Wert und pCO_2 vor (prä) und nach (post) der CO_2-Insufflation bei 10 Probanden; *: Signifikant mit $p < 0,05$.

5. Diskussion

Intranasal verabreichtes CO_2 modulierte in dieser Studie einen Capsaicin-vermittelten Schmerz nur geringfügig. Darüber hinaus zeigte diese Pilotstudie, dass die kontinuierliche Insufflation von CO_2 selber einen sehr leichten Schmerz auslöste, der aber im Mittel nicht über 0,8 (± 0,21) auf der NRS stieg. Dieser Höchstwert wurde nach der ersten Minute der CO_2-Insufflation erreicht. Der in diesem Versuch gemessene kapilläre pH-Wert und pCO_2 veränderten sich vorhersagegemäß zwar signifikant, blieben jedoch noch innerhalb der physiologischen Normwerte. In Experiment 1 und 2 wurde dann intranasales Capsaicin zur Aktivierung des TRPV1-Rezeptors und damit zur Schmerzreizung im trigeminalen System eingesetzt. Ein signifikanter Effekt auf die Capsaicin-induzierte Schmerzhaftigkeit wurde im ersten Hauptexperiment bei rasch alternierender Insufflation von CO_2 und Luft beobachtet. Dieser Effekt konnte bei reiner CO_2-Insufflation im Experiment 2 im Vergleich zu Placebo jedoch nicht nachgewiesen werden.

5.1. Eigenschaften, Verträglichkeit und Sicherheit von intranasal insuffliertem CO_2

Die Anwendung wurde gut toleriert und war sicher, da die gemessenen Veränderungen von pH- und pCO_2-Wert zwar statistisch signifikant waren, aber immer noch innerhalb der gerätespezifischen Normwerte lagen (siehe 3.8.).

Aufgrund des kribbelnden, leicht stechenden Charakters von CO_2 in der Nasenhöhle, war eine komplette Verblindung von CO_2 mit der Flussrate von 1 l/min nicht sicher möglich. Bei höheren Flussraten wandelt sich das Kribbeln in Nase und Sinus zum stechenden Schmerz und intensiviert sich, bis es unangenehm werden kann. In einer propädeutischen Arbeit wurde versucht, die kribbelnden Eigenschaften des CO_2 mit gasförmigem Ammoniak zu simulieren (Daten nicht gezeigt). Dabei löste Ammoniak schon bei geringen Konzentrationen stechende Schmerzen aus, so dass es bei höheren Konzentrationen schnell unerträglich wurde und die Studie damit nicht verblindet hätte. Andere Symptome wie Lakrimation, Nasensekretion oder Husten wurden bereits bei niedrigen als auch höheren Ammoniakkonzentrationen beobachtet (Phillips et al., 2010). Somit stellte sich Ammoniak nicht als geeignete Kontrollbedingung dar. Es ist zusammenfassend unwahrscheinlich, aber möglich, dass ein Teil der Ergebnisse durch den Placeboeffekt erklärt werden kann.

Casale et al. (2008) benutzten in ihrem Versuch mit Patienten, die unter saisonal allergischer Rhinitis litten, niedrigere Flussraten von CO_2, nämlich 10 ml/s (= 0,6 l/min) zweimal für 60 s. Es traten keine schwerwiegenden Nebenwirkungen auf. Allerdings gaben 46,7 % der Patienten, die CO_2 verabreicht bekamen, ein Stechen in der Nase an, im Vergleich zur Placebogruppe (Luft), in der nur 7 % der Patienten ein Stechen in der Nase angaben. Lediglich 5 % der Patienten spürten unter intranasaler CO_2-Insufflation kein Stechen in der Nase, in der Placebogruppe hingegen über die Hälfte (55,2 %). Im Vergleich zu unserer Studie spürten 35 % der Probanden keine nasalen Schmerzen bei reiner CO_2-Insufflation. Zudem lag der Mittelwert der Schmerzratings in diesem Versuch bei 0,6 (± 0,06) auf der NRS. Allerdings waren die Probanden gesund und die Anwendung kontinuierlich. Man kann vermuten, dass neben der höheren Flussrate von 1 l/min auch die kontinuierliche Gabe von CO_2 besser toleriert wird als das phasisch verabreichte CO_2. Ein weiterer Aspekt ist der Zeitpunkt der Befragung der Schmerzratings. Die Probanden wurden beim Ausatmen nach den Schmerzratings befragt. Beim Einatmen hingegen ist der stechende Schmerz des CO_2 sehr ausgeprägt, so dass es bei dieser Variante wahrscheinlich zu höheren Schmerzratings kommt.

Die gleiche Flussrate wie in der Studie von Casale et al. (2008) wurde in den Versuchen von Spierings (2005a; 2005b) verwendet. Dabei untersuchte er die Wirksamkeit, Verträglichkeit und Sicherheit von CO_2 bei Patienten mit Migräne. Es traten keine signifikanten Veränderungen des kardiovaskulären und respiratorischen Systems auf. Daher schlussfolgerte der Autor, dass CO_2 sicher und gut verträglich ist. Davon unabhängig ist es fragwürdig, ob die Studien von Casale und Spierings wirklich verblindet waren, denn sowohl bei Casale als auch in der hier vorliegenden Studie berichtete die überwiegende Mehrzahl der Probanden über ein durch insuffliertes CO_2 unangenehmes nasales Kribbeln und Stechen, woran man das Gas möglicherweise identifizieren kann.

Die Insufflation von CO_2 mit geringer Flussrate (1 l/min) über einen Zeitraum von ca. 20 min wie im vorliegenden Experiment kann somit in dieser Studie als sicher eingeschätzt werden, jedoch wird es im Nasen-Rachen-Raum teilweise als unangenehm empfunden.

5.2. Modulation von CO_2 im trigeminalen Schmerzsystem

In dieser Studie wies die intranasale Applikation von CO_2 eine antinozizeptive bzw. antihyperalgetische Wirkung auf. Diese war im Experiment 1 mit wechselnder Insufflation von CO_2 und Luft statistisch signifikant, einschränkend muss gesagt werden, dass der Effekt klinisch nicht bedeutsam ist. Im Experiment 2 mit konstanter CO_2-Insufflation konnte kein signifikanter Effekt bzw. keine Schmerzminderung erreicht werden. Möglicherweise sind aufgrund des nur geringen Effekts Unterschiede besser erkennbar, wenn beide Gase unmittelbar gegeneinander kontrastiert werden. Zudem ist es denkbar, dass die Probanden durch die spezielle Atemtechnik (siehe 3.6.) vom unangenehmen Schmerzcharakter des CO_2 bei der alternierenden intranasalen Gasinsufflation kurzzeitig abgelenkt waren.

Intranasal verabreichtes reines CO_2 hatte bei Ratten für mindestens eine Stunde einen analgetischen bzw. antihypertensiven Effekt (Tzabazis et al., 2010). Es wurden in dieser Arbeit verschiedene Flussraten und Dauer der Anwendung von CO_2 verglichen und die Gruppe mit einer CO_2-Insufflation von einer Flussrate von 0,8 l/min für 40 s erzielte einen statistisch signifikanten antihyperalgetischen Effekt nach Capsaicingabe. Eine höhere Flussrate des CO_2 und eine längere Anwendungsdauer scheint eine effektivere Schmerzlinderung zu bewirken, da die Latenz zum Einsetzen eines nozifensiven Reflexes unter CO_2 größer war als bei niedrigeren Flussraten und geringerer Anwendungsdauer. Ein nozifensiver Reflex stellte eine Schutzreaktion auf einen noxischen Reiz dar und kann z.B. aus dem Wegziehen einer Extremität auf einen Hitzereiz bestehen. In der Studie von Tzabazis et al. wurden niedrigere Flussraten bei kürzerer Anwendungsdauer angewendet als in der vorliegenden Studie beim Menschen. CO_2 hat aber eventuell eine andere Wirkweise in Tierexperimenten als in der humanen Studie, in der zwar eine Signifikanz bei Kontrastierung der Gase gegeneinander (CO_2 versus Atemluft) beobachtet wurde, nicht jedoch bei kontinuierlicher CO_2-Gabe. Interessanterweise erhöhte sich in der Studie von Tzabazis et al. bei gleicher CO_2-Flussrate die Latenz des Zurückziehens der Hinterpfote nach Capsaicinsensitivierung auf der Wange. Dies deutet auf Effekte auch in extratrigeminalen Regionen hin, was zentralnervöse Mechanismen nahelegt. Eine Stimulation von nozizeptiven trigeminaler Afferenzen könnte über inhibitorische spinale Interneurone im Sinne einer „diffuse noxious inhibitory control“ (DNIC) über endogene schmerzmodulierende Pfade erfolgen (Jones et al., 2005; Tzabazis et al., 2010). Die Blockade von ASIC- und TRPV1-Rezeptoren reduzierte bei Tzabazis et al. den antinozizeptiven CO_2-Effekt. Im

Gegensatz dazu wird in anderen Studien bezweifelt, dass der TRPV1-Rezeptor eine CO_2-Antwort vermittelt (Wang et al., 2010), denn nach Blockierung des TRPV1-Rezeptors konnte dort keine neuronale Aktivität nach Capsaicingabe gemessen werden (Chen et al., 1997; Wang et al., 2010). Bei CO_2-Stimulation war die Antwort jedoch unverändert, was bedeutet, dass es keine Abnahme der neuronalen Antwort auf CO_2 bei Inhibition des TRPV1-Rezeptors gab. Der eng verwandte Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily A, member 1 (TRPA1) könnte jedoch neuronale Antworten auf CO_2 vermitteln. CO_2 aktivierte den TRPA1-Rezeptor über eine Senkung des intrazellulären pH-Werts (Wang et al., 2010), während erstaunlicherweise der TRPV1-Rezeptor neben einer Senkung des extrazellulären pH-Werts auch über eine Erhöhung des intrazellulären pH-Werts aktiviert wird (Dhaka et al., 2009).

In einem Zellmodell mit primären trigeminalen Ganglienkulturen von Ratten beobachtete man eine Hemmung der sensorischen Nervenaktivität und des CGRP-Anstiegs bei 100 %iger CO_2-Inkubation nach Capsaicingabe (Bowen et al., 2005; Vause et al., 2007). Ohne vorherige Capsaicineinwirkung stieg die CGRP-Sekretion in einer HEPES (2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure)-Pufferlösung bei 5-minütiger CO_2-Inkubation auf das 3-fache und bei 60-minütiger CO_2-Inkubation auf das über 5-fache im Vergleich zur unstimulierten Kontrollgruppe an (Vause et al., 2007). Unter isohydrischen Bedingungen, die einem Abfall des extrazellulären pH-Werts vorbeugen sollten, verursachte CO_2 jedoch keinen CGRP-Anstieg, zudem einen intrazellulären pH-Wert-Abfall und eine Hemmung des Capsaicin-induzierten Anstiegs von intrazellulärem Ca^{2+} (Vause et al., 2007). Die Autoren vermuteten, dass der brennende Schmerz in der Nase bei intranasaler CO_2-Insufflation in einigen Studien durch einen extrazellulären pH-Wert-Abfall in der Nasenschleimhaut herrührt, da Protonen die trigeminalen nozizeptiven Neuronen anregen. Denn biochemisch wird CO_2 von der Carboanhydrase in Protonen und Bicarbonat katalysiert (Fisher et al., 2010; Meldrum und Roughton, 1933). Auch in den eigenen Versuchen erwähnten Probanden ein Stechen oder Brennen in der Nase, wenn sich CO_2 zu lang in den oberen Atemwegen aufhielt. Man geht basierend auf diesen Ergebnissen davon aus, dass die Carboanhydrase eine entscheidende Rolle bei der trigeminalen Wahrnehmung von CO_2 spielt (Komai und Bryant, 1993). Der Carboanhydrase-Blocker Acetazolamid hemmte passend zu dieser Hypothese die neuronale Antwort auf CO_2 im trigeminalen Ast in der Zunge bei Ratten, nachdem eine CO_2- Lösung (hergestellt mit einem Karbonator und

stabilisiert mit NaOH) auf die lingualen trigeminalen Fasern hinzugegeben wurde (Komai und Bryant, 1993).

Während die intranasale CO_2-Insufflation in Tierversuchen eine antihyperalgetische Wirkung zu haben scheint, wurde ein schmerzreduzierender Effekt in der eigenen Studie nur in einem Teilexperiment bei direkter Kontrastierung mit Luft und nur mit geringer Signifikanz nachgewiesen. Es kann jedoch aus den vorliegenden Daten nicht geschlossen werden, dass intranasales CO_2 bei Patienten mit Migräne oder anderen primären Kopfschmerzformen keine Effekte hat, da die vorliegende Studie nur an gesunden Probanden durchgeführt wurde. Eine mögliche Hypothese hierfür sind plastische Veränderungen an der Schmerzverarbeitung beteiligter kortikaler Areale bei Kopfschmerzpatienten (May et al., 1999; Rocca et al., 2006; Schwedt et al., 2015; Valfrè et al., 2007). Neben diesen strukturellen Veränderungen konnte auch eine undulierende Aktivität der trigeminalen Kerngebiete im Hirnstamm gefunden werden, die vor und während Schmerzattacken höher ist als interiktal (Stankewitz et al., 2011).

5.3. Klinische Relevanz von CO_2

Schon vor über 60 Jahren unternahmen Marcussen und Wolff (1949, 1950) erste Studien zur Wirksamkeit von CO_2 bei Patienten mit Migräne mit Aura. Patienten mit Aura (z.B. Sehstörung und Parästhesien) inhalierten dreimal für 5 min während der Aura oder der Schmerzattacke ein Gemisch aus 10 % CO_2 und 90 % Sauerstoff (O_2). Dies führte immer zur vorübergehenden Besserung der Auraphänomene, während der Effekt auf die Kopfschmerzen allenfalls gering war. Interessanterweise kam es bei Wiederauftreten der Auren nach der Inhalation von CO_2 und Luft zu einer kompletten und anhaltenden Rückbildung der Auren, wenn anschließend 10 % CO_2 in 90% O_2 verabreicht wurde oder wenn direkt von Beginn an diese Kombination gegeben wurde (Marcussen und Wolff, 1950). Es ist daher auch denkbar, dass O_2 das eigentlich effektive schmerzlindernde Agens war. Reiner O_2 wird seit langem in der Therapie vor allem der Cluster-Kopfschmerz-Attacken eingesetzt und stellt neben der Einnahme von Triptanen das Mittel der Wahl in der Attackenkupierung dar (May, 2003). Aber auch bei anderen primären Kopfschmerzen, wie der Migräne, kann O_2 wirksam sein (Bennett et al., 2008; Jürgens et al., 2013; Ozkurt et al., 2012), wenngleich große kontrollierte Studien hierzu fehlen.

Ebenso deuten bislang nur wenige Studien auf eine Wirksamkeit der intranasalen CO_2-Insufflation bei Patienten mit Migräne hin (Spierings, 2005a; Spierings, 2005b). 36 % der Patienten mit Migräne, die intranasales CO_2 als Behandlung gegen akute Migränekopfschmerzen bekamen, blieben zwei Stunden nach der Behandlung schmerzfrei im Vergleich zu 10 % in der Placebogruppe. Als mögliche Erklärung ist die Hemmung der trigeminalen Aktivität und des CGRPs unter CO_2-Gabe zu erwähnen (Bowen et al., 2005; Vause et al., 2007). Während einer (Cluster-oder Migräne-) Kopfschmerz-Attacke wird das zur Vasodilatation führende CGRP freigesetzt (Goadsby und Edvinsson, 1994) und ist im Speichel erhöht messbar (Bellamy et al., 2006). Zudem sind CGRP-Antagonisten klinisch effektiv in der Behandlung von Migräneattacken (Olesen et al., 2004) eingesetzt worden, was die zentrale Rolle in der Anamnese von Migräneattacken unterstreicht. Klinisch sollte daher auf eine Senkung des CGRPs in den Referenzbereich und somit auf eine Reduktion der trigeminovaskulären Aktivität abgezielt werden. Die Frage ist, ob CO_2 CGRP auch bei kraniofazialen Schmerzen beim Menschen senken und somit den Kopfschmerz reduzieren und beenden kann. Zwar rufen sowohl CGRP (Uddman und Edvinsson, 1989) als auch CO_2 eine intrakranielle Vasodilatation (Wolff, 1936) hervor, aber ein Zusammenhang zwischen der cerebrovaskulären Vasodilatation während des Kopfschmerzes und dem vasodilatatorisch und möglicherweise antinozizeptiv wirkendem CO_2 ist unwahrscheinlich. Denn die Vasodilatation ist während des Kopfschmerzes nicht kausal bedingt, sondern wird als Epiphänomen eingestuft (Demarquay, 2014; May, 2006).

Intranasal verabreichtes CO_2 verbesserte bei Patienten mit saisonaler allergischer Rhinitis unter zweimalig 60-sekündiger Anwendung von 0,6 l/min allergisch bedingte Symptome wie nasale Kongestion, Rhinorrhö, Niesen und Nasenjucken sowohl kurz- (10 min) als auch langfristig (24 h) (Casale et al., 2008). Solche trigemino-parasympathischen Symptome treten auch, wie bereits unter 2.4.2. beschrieben, bei primären Kopfschmerzen auf. Somit könnte es theoretisch sein, dass CO_2 möglicherweise einen Effekt auf trigemino-parasympathische Symptome bei primären Kopfschmerzen zeigt, allerdings gibt es dazu keine valide Studie. In Folgestudien könnte daher das Design der vorliegenden Studie auf eine Gruppe mit Patienten, die an Clusterkopfschmerzen leiden, übertragen werden und speziell eine Bewertung der trigemino-parasympathischen Symptome vor und nach CO_2-Insufflation erfolgen.

Wie in der oben beschriebenen Studie von Marcussen und Wolff (1949, 1950), verwendete auch Sikh und Agarwal (1974) CO_2 bei postpunktionellen Kopfschmerzen. Bei 40 Patienten wurde CO_2 als Inhalation verabreicht, was bei 98 % zu einer Besserung der Schmerzen führte. Die Patienten inhalierten ein CO_2-O_2-Gemisch (600 ml CO_2 und 10 l O_2) ein- bis dreimal für 10 min im Intervall von 24 h. Dies führte zu einer signifikanten Schmerzreduktion nach der dritten Behandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe (58 %), die nur mit O_2 behandelt wurde. Die Autoren führen dies darauf zurück, dass CO_2 zu einer erhöhten Bildung von Liquor cerebrospinalis und somit zur Reduktion von postpunktionellen Kopfschmerzen führen könnte. Beide Studien über primären als auch sekundären Kopfschmerz waren in ihrer Behandlung trotz unterschiedlicher CO_2-Konzentrationen erfolgreich. Die Unterschiede beider Studien zur vorliegenden Studie können a.e. durch eine unterschiedliche Verabreichung von CO_2 erklärt werden. Zum einen wurde CO_2 inhalativ, zum anderen kürzer als in der vorliegenden Studie, verabreicht. Auch ist denkbar, dass -wie oben bereits ausgeführt- Patienten mit kraniofazialen Schmerzen, bedingt durch strukturelle und funktionelle Unterschiede in Strukturen des schmerzverarbeitenden Systems, anders auf CO_2 ansprechen als gesunde Probanden.

Im Gegensatz zu den o.g. Studien mit positivem Wirknachweis von CO_2 bei kraniofazialen Schmerzen gibt es auch Hinweise, dass CO_2 kopfschmerzinduzierend sein kann. 18 von 40 Studienteilnehmern, bei denen eine primäre Kopfschmerzerkrankung bekannt war, entwickelten nach Inhalation von 10 % CO_2 im Gemisch mit O_2 Kopfschmerzen (Engel, 1969). Interessanterweise waren es genau diejenigen Patienten, die auch auf andere bekannte experimentelle Trigger wie Histamin, Kopfschmerzen entwickelten. Dies konnte auch in einer kleinen Studie an Patienten mit episodischem Cluster-Kopfschmerz (innerhalb einer aktiven Phase) gefunden werden. Die Inhalation von 6 % CO_2 in Luft für 6 min provozierte bei 6 von 8 Patienten mittelstarke Schmerzen (Hannerz und Jogestrand, 1995). Somit scheint CO_2 bei einer Untergruppe von Patienten, die vermutlich besonders empfindlich für chemische Trigger sind, eine attackenauslösende Wirkung zu haben. Unklar ist, ob sich bei diesen Patienten im weiteren Verlauf die Schmerzen auf eine fortgesetzte Inhalation wieder bessern.

Zusammenfassend konnte die vorliegende Studie zeigen, dass lokal insuffliertes CO_2 einen geringen modulierenden Effekt auf einen durch Capsaicin-induzierten

trigeminalen Schmerz hat, wobei diese Schmerzreduktion klinisch nur geringe Relevanz hat.

5.4. Kritische Betrachtung am Studiendesign

Capsaicin wurde in dieser Studie als trigeminaler nozizeptiver Reiz in einem humanen Modell angewandt. Capsaicin erzeugte in dieser Studie eine Hyperalgesie mit nicht-linearem zeitlichem Verlauf (Abb. 9). Daher ist die Gabe von Capsaicin im trigeminalen System kein optimales Modell für Kopfschmerz, simuliert aber bestimmte pathophysiologische Vorgänge wie z.B. die Vasodilatation, die Ausschüttungen von Substanz P und CGRP sowie der Aktivierung des parasympathischen Nervensystems, die ein Teil der Klinik der trigemino-autonomen Kopfschmerzen ist (siehe 2.4.2. und 2.5.). Der maximale Wert auf der VAS lag bei kontinuierlicher Luftinsufflation nach Capsaicingabe in der Kontrollgruppe im Durchschnitt bei 4,4 (10 min). Man könnte diskutieren, ob eine höhere Capsaicinkonzentration zu höheren Schmerzleveln geführt hätte, und ob dies besser die Schmerzen eines Kopfschmerzsyndroms wiedergespiegelt hätte. Dies ist unwahrscheinlich, da das in dieser Studie intranasal applizierte Capsaicinspray lokale Schmerzen in der Nase hervorrief, nicht jedoch den Kopfschmerz an sich. Darüber hinaus wäre eine Erhöhung der Capsaicinkonzentration schon aus ethischen Gründen nicht zulässig. Wahrscheinlicher ist, dass der durch Capsaicin-induzierte Schmerz nur unzureichend durch CO_2 zu modulieren ist und daher das Tiermodell nicht einfach auf den Menschen übertragbar ist.

Es wäre weiterführend sicher interessant, in einer randomisierten kontrollierten Untersuchung an einer Gruppe von Patienten mit primären Kopfschmerzen zu überprüfen, ob CO_2 überhaupt einen klinisch relevanten Effekt bei diesen Patienten hat. Biochemisch gesehen reduziert intranasal insuffliertes CO_2 den pH-Wert und stimuliert somit den TRPV1-Rezeptor in der Nase und sekundär afferente nozizeptive trigeminale Fasern, was das teils beobachtete nasale Stechen und Brennen erklären kann. Des Weiteren bleibt zu untersuchen, ob CO_2 einen antinozizeptiven Effekt bei Schmerzreizung an anderen trigeminalen Arealen, z.B. Stirn, hat und ob eine andere Applikationsart des Capsaicins (Pflaster, Creme) sich anders auf das Schmerzverhalten auswirkt. Da der TRPV1-Rezeptor zudem polymodal ist, wäre es interessant, die Schmerzmodulation des CO_2 auch bei thermischen Schmerzreizen (> 43 °C) zu überprüfen. Es wäre ergänzend sinnvoll, die Wirkung von CO_2 auf schmerz-evozierte

Potentiale zu untersuchen (Mouraux et al., 2011; Zhang et al., 2012), in denen die durch nozizeptive Reizung evozierten kortikale Potenziale abgeleitet werden. Somit wäre der Schmerz möglicherweise objektivierbar und Effekte auf die Schmerzmodulation besser erfassbar.

Es wäre zudem interessant, den CGRP-Spiegel bei Probanden mit experimentell evozierten Schmerzen und Patienten mit primären Kopfschmerzen in Ruhe und unter Insufflation von CO_2 zu untersuchen, ggf. auch unter wechselnder intranasaler CO_2- und O_2- Insufflation, um neben rein psychophysischen Zielvariablen objektivere Biomarker für eine trigeminovaskuläre Aktivierung erheben zu können.

6. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde zum ersten Mal die Wirkung von intranasal insuffliertem CO_2 nach Aktivierung trigeminaler TRPV1-Rezeptoren durch intranasal appliziertes Capsaicin in einem humanen Schmerzmodell mit 48 gesunden Probanden untersucht. Die Studie umfasste eine Pilotstudie (kontinuierliche CO_2-Insufflation), das Experiment 1 (wechselnde CO_2- und Luftinsufflation nach intranasaler Capsaicingabe) und das Experiment 2 (kontinuierliche CO_2-Insufflation oder Placebo nach intranasaler Capsaicingabe). Es wurde Folgendes festgestellt:

1. Eine kontinuierliche intranasale CO_2-Insufflation mit einem Fluss von 1 l/min ergab einen minimal algetischen Effekt mit einer Schmerzhaftigkeit von 0,8 (± 0,21) auf der NRS.

2. Die kapillären Messungen von pH-Wert und pCO_2 im Blut zeigten zwar signifikante Veränderungen, diese präsentierten sich jedoch innerhalb des Referenzbereiches, so dass die Anwendung als sicher eingestuft wird. Einige Probanden beschrieben CO_2 als unangenehm stechend. Daher war eine Verblindung größtenteils ausgeschlossen.

3. Es stellte sich bei einem CO_2-Fluss von 1 l/min ein gering modulierender Effekt dar. Signifikante Effekte einer Schmerzreduktion von CO_2 wurden nur beim alternierenden Wechseln zwischen CO_2 und Luft erreicht, jedoch nicht bei kontinuierlicher CO_2-Insufflation.

Aufgrund der geringen schmerzlindernden Effekte und des negativen Ergebnisses bei der kontinuierlichen CO_2-Insufflation, halten wir einen klinischen Nutzen in diesem Modell für gering. Das verwendete Capsaicinmodell ist nur bedingt als Kopfschmerzmodell geeignet. Es wäre im Rahmen weiterer Studien interessant, bei Patienten mit kraniofazialen Schmerzen zu überprüfen, ob eine CO_2-Insufflation einen modulierenden Effekt im trigeminalen System hat. Dabei sollte überlegt werden, ob man anstelle des Capsaicins einen anderen TRPV1-Aktivator (z.B. Hitze > 43 °C) verwendet. Zudem könnte man andere Messmethoden anwenden, die den Schmerz objektivierbar machen wie z.B. nozizeptiv evozierte Potentiale mit dem EEG (Elektroenzephalogramm) zu messen.

7. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
ANOVA	analysis of variance
ASIC	Acid-Sensing Ion Channel
Ca^{2+}	Calcium-Ion
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptid
CO_2	Kohlenstoffdioxid
EEG	Elektroenzephalogramm
N.	Nervus
n.	nervi
NGF	Nerve Growth Factor
NRS	numerische Ratingskala
O_2	Sauerstoff
pCO_2	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
Tab.	Tabelle
TRPA1	Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily A, member 1
TRPV1	Transient Receptor Potential Vanilloid 1
V_1	N. ophthalmicus
V_2	N. maxillaris
V_3	N. mandibularis
VIP	Vasoaktives intestinales Peptid

8. Literaturverzeichnis

Akerman, S., Kaube, H., and Goadsby, P. (2003). Vanilloid type 1 receptors (VR1) on trigeminal sensory nerve fibres play a minor role in neurogenic dural vasodilatation, and are involved in capsaicin-induced dural dilation. Br. J. Pharmacol. *140*, 718–724.

Arulmani, U., Gupta, S., MaassenVanDenBrink, A., Centurion, D., Villalon, C., and Saxena, P. (2006). Experimental migraine models and their relevance in migraine therapy. Cephalalgia *26*, 642–659.

Barbanti, P., Fabbrini, G., Pesare, M., Vanacore, N., and Cerbo, R. (2002). Unilateral cranial autonomic symptoms in migraine. Cephalalgia *22*, 256–259.

Barthó, L., Stein, C., and Herz, A. (1990). Involvement of capsaicin-sensitive neurones in hyperalgesia and enhanced opioid antinociception in inflammation. Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. *342*, 666–670.

Basbaum, A., Bautista, D., Scherrer, G., and Julius, D. (2009). Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. Cell *139*, 267–284.

Beattie, D., and Connor, H. (1994). The influence of the trigeminal ganglion on carotid blood flow in anaesthetized guinea-pigs. Br. J. Pharmacol. *112*, 262.

Beck, H., Martin, E., Motsch, J., and Schulte am Esch, J. (2002). Anästhesiologie - Intensivmedizin - Notfallmedizin - Schmerztherapie. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag, 17-23.

Bellamy, J., Cady, R., and Durham, P. (2006). Salivary Levels of CGRP and VIP in Rhinosinusitis and Migraine Patients. Headache J. Head Face Pain *46*, 24–33.

Bennett, M., French, C., Schnabel, A., Wasiak, J., and Kranke, P. (2008). Normobaric and hyperbaric oxygen therapy for migraine and cluster headache. Cochrane Database Syst. Rev. CD005219.

Bowen, E., Niemann, C., and Durham, P. (2005). Carbon Dioxide Regulation of CGRP Secretion from Trigeminal Neurons {abstract]. Headache J. Head Face Pain *45*, 808.

Buck, S., and Burks, T. (1986). The neuropharmacology of capsaicin: review of some recent observations. Pharmacol. Rev. *38*, 179–226.

Carstens, E., Kuenzler, N., and Handwerker, H. (1998). Activation of Neurons in Rat Trigeminal Subnucleus Caudalis by Different Irritant Chemicals Applied to Oral or Ocular Mucosa. J. Neurophysiol. *80*, 465–492.

Casale, T., Romero, F., and Spierings, E. (2008). Intranasal noninhaled carbon dioxide for the symptomatic treatment of seasonal allergic rhinitis. J. Allergy Clin. Immunol. *121*, 105–109.

Caterina, M., and Julius, D. (2001). The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. Annu. Rev. Neurosci. *24*, 487–517.

Caterina, M., Schumacher, M., Tominaga, M., Rosen, T., Levine, J., and Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature *389*, 816–824.

Caterina, M., Leffler, A., Malmberg, A., Martin, W., Trafton, J., Petersen-Zeitz, K., Koltzenburg, M., Basbaum, A., and Julius, D. (2000). Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. Science *288*, 306–313.

Chen, X., Belmonte, C., and Rang, H. (1997). Capsaicin and carbon dioxide act by distinct mechanisms on sensory nerve terminals in the cat cornea. Pain *70*, 23–29.

Demarquay, G. (2014). La vasodilatation a-t-elle un rôle dans la migraine ? Non. Rev. Neurol. (Paris) *170*, 490–494.

Descartes, R. (1662). De homine figuris et latinatate donatus a Florentio Schuyl. Leyden: P Leffen & F Moyardum.

Dhaka, A., Uzzell, V., Dubin, A.E., Mathur, J., Petrus, M., Bandell, M., and Patapoutian, A. (2009). TRPV1 Is Activated by Both Acidic and Basic pH. J. Neurosci. *29*, 153–158.

Donaldson, I. (2009). The Treatise of man (De homine) by René Descartes. R. Coll. Physicians Edinb. *39*, 375–376.

Drummond, P.D. (1995). Lacrimation and cutaneous vasodilatation in the face induced by painful stimulation of the nasal ala and upper lip. J. Auton. Nerv. Syst. *51*, 109–116.

Edvinsson, L., and Goadsby, P. (1995). Neuropeptides in the Cerebral Circulation: Relevance to Headache. Cephalalgia *15*, 272–276.

Engel, D. (1969). Studies on headache produced by carbon dioxide, histamine and adrenalin. Acta Neurochir. (Wien) *21*, 269–283.

Evans, M., Cheng, X., Jeffry, J., Disney, K., and Premkumar, L. (2012). Sumatriptan Inhibits TRPV1 Channels in Trigeminal Neurons. Headache J. Head Face Pain *52*, 773–784.

Fisher, S., Kovalevsky, A., Domsic, J., Mustyakimov, M., McKenna, R., Silverman, D., and Langan, P. (2010). Neutron Structure of Human Carbonic Anhydrase II: Implications for Proton Transfer. Biochemistry (Mosc.) *49*, 415–421.

Frese, A., Evers, S., and May, A. (2003). Autonomic activation in experimental trigeminal pain. Cephalalgia *23*, 67–68.

Fuchs, P., and Peng, Y. (2003). Psychophysical evidence that central sensitization contributes to secondary mechanical hyperalgesia in human subjects. Semin. Pain Med. *1*, 132–138.

Gallacchi, G., and Pilger, B. (2005). Schmerzkompendium: Schmerzen verstehen und behandeln. Stuttgart: Thieme-Verlag, 19.

Geppetti, P., and Trevisani, M. (2004). Activation and sensitisation of the vanilloid receptor: role in gastrointestinal inflammation and function. Br. J. Pharmacol. *141*, 1313–1320.

Geppetti, P., Fusco, B., Marabini, S., Maggi, C., Fanciullacci, M., and Sicuteri, F. (1988). Secretion, pain and sneezing induced by the application of capsaicin to the nasal mucosa in man. Br. J. Pharmacol. *93*, 509.

Goadsby, P. (2009). Lacrimation, conjunctival injection, nasal symptoms... cluster headache, migraine and cranial autonomic symptoms in primary headache disorders--what's new? J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry *80*, 1057–1058.

Goadsby, P., and 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., and Lipton, R. (1997). A review of paroxysmal hemicranias, SUNCT syndrome and other short-lasting headaches with autonomic feature, including new cases. Brain *120*, 193–209.

Goadsby, P., Edvinsson, L., and Ekman, R. (1990). Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. Ann. Neurol. *28*, 183–187.

Gottselig, R., and Messlinger, K. (2004). Noxious chemical stimulation of rat facial mucosa increases intracranial blood flow through a trigemino-parasympathetic reflex - an experimental model for vascular dysfunctions in cluster headache. Cephalalgia *24*, 206–214.

Greffrath, W. (2006). Der Capsaicinrezeptor. Schmerz *20*, 219–225.

Guven, H., Çilliler, A., and Çomoğlu, S. (2013). Unilateral cranial autonomic symptoms in patients with migraine. Acta Neurol. Belg. *113*, 237–242.

Hannerz, J., and Jogestrand, T. (1995). Provocation of unilateral pain in cluster headache patients by breathing CO2. Headache *35*, 38–43.

Hänsel, R., and Stricher, O. (2010). Pharmakognosie- Phytopharmazie (Onlineversion). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1379-1383.

Hansen, J., and Ashina, M. (2014). Calcitonin gene-related peptide and migraine with aura: A systematic review. Cephalalgia *34*, 695–707.

Ho, T.W., Ferrari, M.D., Dodick, D.W., Galet, V., Kost, J., Fan, X., Leibensperger, H., Froman, S., Assaid, C., Lines, C., et al. (2008). Efficacy and tolerability of MK-0974 (telcagepant), a new oral antagonist of calcitonin gene-related peptide receptor, compared with zolmitriptan for acute migraine: a randomised, placebo-controlled, parallel-treatment trial. The Lancet *372*, 2115–2123.

Hou, M., Uddman, R., Tajti, J., Kanje, M., and Edvinsson, L. (2002). Capsaicin receptor immunoreactivity in the human trigeminal ganglion. Neurosci. Lett. *330*, 223–226.

Hummel, T., Mohammadian, P., Marchl, R., Kobal, G., and Lötsch, J. (2003). Pain in the trigeminal system: irritation of the nasal mucosa using short- and long-lasting stimuli. Int. J. Psychophysiol. *47*, 147–158.

Hunter, D., and Dey, R. (1997). Identification and neuropeptide content of trigeminal neurons innervating the rat nasal epithelium. Neuroscience *83*, 591–599.

Jansen, I., Alafaci, C., Uddman, R., and Edvinsson, L. (1990). Evidence that calcitonin gene-related peptide contributes to the capsaicin-induced relaxation of guinea pig cerebral arteries. Regul. Pept. *31*, 167–178.

Jenkins, D., Langmead, C., Parsons, A., and Strijbos, P. (2004). Regulation of calcitonin gene-related peptide release from rat trigeminal nucleus caudalis slices in vitro. Neurosci. Lett. *366*, 241–244.

Jones, T., Sweitzer, S., Peters, M., Wilson, S., and Yeomans, D. (2005). GABAB receptors on central terminals of C-afferents mediate intersegmental Aδ-afferent evoked hypoalgesia. Eur. J. Pain *9*, 233–233.

Julius, D., and Basbaum, A. (2001). Molecular mechanisms of nociception. Nature *413*, 203–210.

Jürgens, T., Schulte, L., and May, A. (2013). Oxygen treatment is effective in migraine with autonomic symptoms. Cephalalgia *33*, 65–67.

Kobal, G., and Hummel, C. (1988). Cerebral chemosensory evoked potentials elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. *71*, 241–250.

Komai, M., and Bryant, B. (1993). Acetazolamide specifically inhibits lingual trigeminal nerve responses to carbon dioxide. Brain Res. *612*, 122–129.

Kwon, Y., Jeong, Y., Kwon, J., Son, J., and Kim, K. (2009). The Antinociceptive Effect of Sigma-1 Receptor Antagonist, BD1047, in a Capsaicin Induced Headache Model in Rats. Korean J. Physiol. Pharmacol. *13*, 425.

Lassen, L., Haderslev, P., Jacobsen, V., Iversen, H., Sperling, B., and Olesen, J. (2002). Cgrp May Play A Causative Role in Migraine. Cephalalgia *22*, 54–61.

Lundblad, L., Änggard, A., and Lundberg, J. (1982). Capsaicin sensitive substance P nerves: Antidromic vasodilation and increased vascular permeability in the cat nasal mucosa. Br. J. Pharmacol. *77*, 378.

Marcussen, R., and Wolff, H. (1949). Therapy of migraine. JAMA J. Am. Med. Assoc. *139*, 198.

Marcussen, R., and Wolff, H. (1950). Effects of carbon dioxide-oxygen mixtures given during preheadache phase of the migraine attack; further analysis of the pain mechanisms in headache. Arch. Neurol. Psychiatry *63*, 42–51.

Mason, L., Moore, R., Derry, S., Edwards, J., and McQuay, H. (2004). Systematic review of topical capsaicin for the treatment of chronic pain. BMJ *328*, 991.

May, A. (2003). Headaches with (ipsilateral) autonomic symptoms. J. Neurol. *250*, 1273–1278.

May, A. (2006). A review of diagnostic and functional imaging in headache. J. Headache Pain *7*, 174–184.

May, A., Kaube, H., Büchel, C., Eichten, C., Rijntjes, M., Jüptner, M., Weiller, C., and Diener, H. (1998). Experimental cranial pain elicited by capsaicin: a PET study. Pain *74*, 61–66.

May, A., Ashburner, J., Büchel, C., and McGonigle, D. (1999). Correlation between structural and functional changes in brain in an idiopathic headache syndrome. - PubMed - NCBI. Nat Med *5*, 836–838.

May, A., Büchel, C., Turner, R., and Goadsby, P. (2001). Magnetic Resonance Angiography in Facial and Other Pain: Neurovascular Mechanisms of Trigeminal Sensation. J. Cereb. Blood Flow Metab. *21*, 1171–1176.

Meldrum, N., and Roughton, F. (1933). Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. J. Physiol. *80*, 113–142.

Mouraux, A., Iannetti, G., Colon, E., Nozaradan, S., Legrain, V., and Plaghki, L. (2011). Nociceptive steady-state evoked potentials elicited by rapid periodic thermal stimulation of cutaneous nociceptors. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *31*, 6079–6087.

Nelson, E. (1919). The constitution of capsaicin – the pungent principle of capsicum. J. Am. Chem. Soc. *41*, 1115–1121.

Nelson, E., and Dawson, L. (1923). The constitution of capsaicin, the pungent principle of capsicum. III. J. Am. Chem. Soc. *45*, 2179–2181.

Nicolodi, M. (1994). Nostril Capsaicin Application as a Model of Trigeminal Primary Sensory Neuronal Activation. Cephalalgia *14*, 134–138.

Nolano, M., Simone, D., Wendelschafer-Crabb, G., Johnson, T., Hazen, E., and Kennedy, W. (1999). Topical capsaicin in humans: parallel loss of epidermal nerve fibers and pain sensation. Pain *81*, 135–145.

Olesen, J., Diener, H.-C., Husstedt, I., Goadsby, P., Hall, D., Meier, U., Pollentier, S., and Lesko, L. (2004). Calcitonin Gene–Related Peptide Receptor Antagonist BIBN 4096 BS for the Acute Treatment of Migraine. N. Engl. J. Med. *350*, 1104–1110.

Ozkurt, B., Cinar, O., Cevik, E., Acar, A., Arslan, D., Eyi, E., Jay, L., Yamanel, L., and Madsen, T. (2012). Efficacy of high-flow oxygen therapy in all types of headache: a prospective, randomized, placebo-controlled trial. Am. J. Emerg. Med. *30*, 1760–1764.

Phillips, C., Pines, M., Latter, M., Muller, T., Petherick, J., Norman, S., and Gaughan, J. (2010). The physiological and behavioral responses of steers to gaseous ammonia in simulated long-distance transport by ship. J. Anim. Sci. *88*, 3579–3589.

Rocca, M.A., Ceccarelli, A., Falini, A., Colombo, B., Tortorella, P., Bernasconi, L., Comi, G., Scotti, G., and Filippi, M. (2006). Brain Gray Matter Changes in Migraine Patients With T2-Visible Lesions A 3-T MRI Study. Stroke *37*, 1765–1770.

Sasamura, T., and Kuraishi, Y. (1999). Peripheral and Central Actions of Capsaicin and VR1 Receptor. Jpn. J. Pharmacol. *80*, 275–280.

Schünke, M., Schulte, E., and Schumacher, U. (2009). Prometheus Kopf, Hals und Neuroanatomie, LernAtlas der Anatomie. Stuttgart: Thieme-Verlag, 104-107, 406, 468-469.

Schwedt, T.J., Chong, C.D., Wu, T., Gaw, N., Fu, Y., and Li, J. (2015). Accurate Classification of Chronic Migraine via Brain Magnetic Resonance Imaging. Headache J. Head Face Pain *55*, 762–777.

Sekizawa, S., and Tsubone, H. (1994). Nasal receptors responding to noxious chemical irritants. Respir. Physiol. *96*, 37–48.

Seller, H., Czachurski, J., and Zanzinger, J. (1997). Activation of chemosensitive neurons in the ventrolateral medulla by capsaicin in cats. Neurosci. Lett. *226*, 195–198.

Shimizu, T., Toriumi, H., Sato, H., Shibata, M., Nagata, E., Gotoh, K., and Suzuki, N. (2007). Distribution and origin of TRPV1 receptor-containing nerve fibers in the dura mater of rat. Brain Res. *1173*, 84–91.

Shusterman, D., and Balmes, J. (1997). Measurement of nasal irritant sensitivity to pulsed carbon dioxide: a pilot study. Arch. Environ. Health *52*, 334–340.

Sikh, S., and Agarwal, G. (1974). Post-spinal headache. A preliminary report on the effect of inhaled carbon dioxide. Anaesthesia *29*, 297–300.

Simone, D., Baumann, T., and LaMotte, R. (1989). Dose-dependent pain and mechanical hyperalgesia in humans after intradermal injection of capsaicin. Pain *38*, 99–107.

Simone, D., Nolano, M., Johnson, T., Wendelschafer-Crabb, G., and Kennedy, W. (1998). Intradermal Injection of Capsaicin in Humans Produces Degeneration and Subsequent Reinnervation of Epidermal Nerve Fibers: Correlation with Sensory Function. J. Neurosci. *18*, 8947–8959.

Sixt, M., Messlinger, K., and Fischer, M. (2009). Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist olcegepant acts in the spinal trigeminal nucleus. Brain *132*, 3134–3141.

Spierings, E. (2005a). Non-Inhaled, Intranasal Carbon Dioxide for the Abortive Treatment of Migraine Headache: Efficacy, Tolerability, and Safety. Ann. Neurol. *58*, 17.

Spierings, E. (2005b). Abortive treatment of migraine headache with non-inhaled intranasal carbon dioxide: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study [abstract]. Headache *45*, 809.

Stankewitz, A., Aderjan, D., Eippert, F., and May, A. (2011). Trigeminal Nociceptive Transmission in Migraineurs Predicts Migraine Attacks. J. Neurosci. *31*, 1937–1943.

Stjärne, P., Lacroix, J., Änggård, A., and Lundberg, J. (1991). Compartment analysis of vascular effects of neuropeptides an capsaicin in the pig nasal mucosa. Acta Physiol. Scand. *141*, 335–342.

Sugimoto, T., Fujiyoshi, Y., Xiao, C., He, Y.-F., and Ichikawa, H. (1997). Central projection of calcitonin gene-related peptide (CGRP)- and substance P (SP)-immunoreactive trigeminal primary neurons in the rat. J. Comp. Neurol. *378*, 425–442.

Summ, O., Holland, P.R., Akerman, S., and Goadsby, P.J. (2011). TRPV1 receptor blockade is ineffective in different in vivo models of migraine. Cephalalgia Int. J. Headache *31*, 172–180.

Thürauf, N., Friedel, I., Hummel, C., and Kobal, G. (1991). The mucosal potential elicited by noxious chemical stimuli with CO2 in rats: Is it a peripheral nociceptive event? Neurosci. Lett. *128*, 297–300.

Tominaga, M., Caterina, M., Malmberg, A., Rosen, T., Gilbert, H., Skinner, K., Raumann, B., Basbaum, A., and Julius, D. (1998). The Cloned Capsaicin Receptor Integrates Multiple Pain-Producing Stimuli. Neuron *21*, 531–543.

Tzabazis, A., Niv, S., Manering, N., Klyukinov, M., Cuellar, J., Bhatnagar, A., and Yeomans, D. (2010). Trigeminal antihyperalgesic effect of intranasal carbon dioxide. Life Sci. *87*, 36–41.

Uddman, R., and Edvinsson, L. (1989). Neuropeptides in the cerebral circulation. Cerebrovasc. Brain Metab. Rev. *1*, 230–252.

Uddman, R., Edvinsson, L., Ekman, R., Kingman, T., and McCulloch, J. (1985). Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: Trigeminal origin and co-existence with substance P. Neurosci. Lett. *62*, 131–136.

Valfrè, W., Rainero, I., Bergui, M., and Pinessi, L. (2007). Voxel-Based Morphometry Reveals Gray Matter Abnormalities in Migraine: January 2008. Headache J. Head Face Pain *48*, 109–117.

Vause, C., Bowen, E., Spierings, E., and Durham, P. (2007). Effect of Carbon Dioxide on Calcitonin Gene-Related Peptide Secretion From Trigeminal Neurons. Headache *47*, 1385–1397.

Wang, Y., Chang, R., and Liman, E. (2010). TRPA1 Is a Component of the Nociceptive Response to CO2. J. Neurosci. *30*, 12958–12963.

Wolff, H. (1936). The cerebral circulation. Physiol. Rev. *16*, 545–596.

Zhang, Z., Hu, L., Hung, Y., Mouraux, A., and Iannetti, G. (2012). Gamma-band oscillations in the primary somatosensory cortex--a direct and obligatory correlate of subjective pain intensity. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *32*, 7429–7438.

9. Danksagung

Ich bedanke mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Arne May, der mein Interesse im Bereich Kopfschmerz durch seine mitreißende Vorlesung zu diesem Thema geweckt hat. Des Weiteren danke ich ihm für die Möglichkeit zu diesem Thema am Institut für Systemische Neurowissenschaften zu forschen. Sehr hilfreich waren seine wertvollen Ratschläge zur Fertigstellung der Dissertation.

Ich bedanke mich herzlich bei meinem Betreuer PD Dr. Tim Jürgens, der mir das Thema der Dissertation bereitgestellt und die Studie ausführlich geplant hat. Mit der Hilfe seiner konstruktiven Kritik war es mir möglich mein Wissen im wissenschaftlichen Arbeiten zu vertiefen.

Weiterhin danke ich Sonja Schollmeyer, die mir bei der Arbeit mit dem Blutgasanalysegerät sehr geholfen hat, sowie den Mitarbeitern des Instituts für Systemische Neurowissenschaften. Danke an meine Kommilitonen und Probanden, die an dieser Studie teilnahmen und sie möglich machten.

Ein besonderer Dank geht an meine Freundinnen Franziska Gniech und Catina Schwemin, die meine Arbeit trotz engem Zeitplan sehr schnell Korrektur gelesen haben, sowie an Franziska Schlegel. Sie haben sich meine Sorgen angehört, mich emotional gestärkt und tapfer an meinen Versuchen teilgenommen.

Florian Sprung danke ich für seine überaus hilfreiche Kritik an meiner Arbeit. Danke für die aufhellenden Worte und Motivation in der Endphase der Doktorarbeit. Ich bin glücklich ihn an meiner Seite zu haben.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern. Ohne deren Hilfe hätte ich nicht Medizin studieren und diese Doktorarbeit schreiben können. Sie haben mich bisher immer in allen Dingen unterstützt und mir Mut zugesprochen.

Des Weiteren danke ich dem Rest meiner Familie für ihre Unterstützung.

10. Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

11. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....