„Pathomechanismen der Migräne“

HABILITATIONSSCHRIFT
zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach

Neurologie

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der
Charité - Universitätsmedizin Berlin
von

Herrn Dr. med. Uwe Reuter

geboren am 02.03.1967 in Frankfurt/M.-Höchst

Dekane: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen
Prof. Dr. Martin Paul

öffentlich-wissenschaftlicher Vortrag am: 21.06.2004

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. H. C. Diener
2. Prof. Dr. med. A. Straube

Zusammenfassung

Die Auslöser der Migräne sind weitgehend unbekannt. Eine Cortical Spreading Depression, das pathophysiologische Korrelat der Migräne Aura, führt im Tierexperiment zur Aktivierung des trigeminalen Schmerzsystems. Hieraus resultieren verschiedenste Veränderungen in der Dura mater, zu denen ein verzögerter Blutflussanstieg in der A. meningea media und die Extravasation von Plasmaproteinen gehören. Diese Ereignisse sind mit der Genese von Kopfschmerzen vereinbar.
Die Infusion von Nitroglycerin führt zu der Entwicklung einer meningealen Inflammation, welche als Korrelat der verzögerten Migräneattacke nach Nitroglycerin Infusion in Patienten angesehen werden könnte.
Die repetitive Gabe von Sumatriptan und Zolmitriptan hat keinen funktionell relevanten Einfluss in experimentellen Paradigmen zur Wirksamkeit von Triptanen. Zudem wird die Expression von Serotonin (5-HT_1) Rezeptor mRNA in Geweben mit Relevanz zur Migräne nicht entscheidend verändert.

Diese Untersuchungen zeigen neue Pathomechanismen in der Genese der Migräne auf und identifizieren damit bisher unbekannte Ziele, die zur Entwicklung innovativer medikamentöser Strategien zur Behandlung der Migräne dienen können.

Meinen Eltern
in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	5
1	**Zusammenfassung der Forschungsergebnisse**	
1.1	Einleitung	6
1.1.1	Klinische Charakteristika der Migräne	6
1.1.2	Klinische Charakteristika der Migräne-Aura	6
1.1.3	Genetik der Migräne	7
1.2	Pathophysiologischer Kenntnisstand zu Migräne-Kopfschmerz und Migräne-Aura	
1.2.1	Erkenntnisse aus humanen Untersuchungen	9
1.2.2	Erkenntnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen	9
1.3	Pathophysiologischer Kenntnisstand zur Migräne-Aura	13
1.3.1	Erkenntnisse aus humanen Untersuchungen	13
1.3.2	Erkenntnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen	14
1.4	Akuttherapie der Migräne	15
1.5	Fragestellungen	17
1.6	Eigene Forschungsergebnisse	
1.6.1	Mechanismen zur Entstehung der CSD-assoziierten Hyperperfusion	18
1.6.2	Neue pathophysiologische Aspekte zum Zusammenhang von Migräne-Kopfschmerz und Migräne-Aura	21
1.6.3	Veränderungen in der Dura mater der Ratte nach Applikation des NO-Donators Glyceryltrinitrat	26
1.6.4	Konsequenzen einer häufigen Behandlung mit Triptanen	32
1.7.	Folgerung und Ausblick	35
	Literaturverzeichnis	38
	Danksagung	47
	Eidestattliche Erklärung	48
2	**Zusammenstellung wesentlicher Publikationen**	

Abkürzungsverzeichnis

BOLD	*Blood oxygenation level dependent*
CGRP	*Calcitonin gene related peptide*
CSD	*Cortical spreading depression*
GTN	Glyceryltrinitrat/ Nitroglycerin
5-HT	Serotonin
HRP	Meerrettich Peroxidase
IHS	*International Headache Society*
L-NMMA	*(N(G)-monomethyl-L-arginine*)
L-NAME	*N(G)-nitro-L-arginine methylester*
mCPP	*m-chlorophenylpiperazine*
MEG	Magnetenzephalographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MRNA	*messenger RNA*, Boten-Ribonucleinsäure
NCL.	Nukleus
NCN	Nervus nasociliaris
NK	Neurokinin
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid Synthetasen
PET	Positronen Emissions Tomographie
rCBF	regionaler cerebraler Blutfluss
SPECT	Single Photonen Emissions Tomographie

1 Zusammenfassung der Forschungsergebnisse

1.1 Einleitung

1.1.1 Klinische Charakteristika der Migräne

Migräne ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankung mit einer Prävalenz von 12-14% für Frauen und 6-8% für Männer in Westeuropa und Nordamerika (Kavuk et al., 2003). Sie ist gekennzeichnet durch einen attackenartig auftretenden starken, zumeist unilateralen klopfenden oder pulsierenden fronto-temporalen Kopfschmerz mit einer Dauer von 6-72 Stunden (Headache Classification Committee of the International Headache Society 1988). Frauen sind von der sich zumeist im 10.-20. Lebensjahr manifestierenden Erkrankung 2-3 mal häufiger betroffen als Männer. Der Kopfschmerz ist assoziiert mit vegetativen Symptomen wie Nausea oder Vomitus. Darüber hinaus besteht während der Kopfschmerzepisoden zumeist Phono- und/oder Photophobie, seltener Osmophobie und Harnflut. Ein weiteres Charakteristikum der Erkrankung ist die Akzentuierung der Beschwerden bei körperlicher Belastung sowie ein Kopfschmerzbeginn in den Morgenstunden.
In 60-70% der Patienten ist ein Familienangehöriger 1. Grades ebenfalls an Migräne erkrankt, welches auf eine genetische Komponente der Migräne hinweist. Wetteränderung, hormonelle Veränderungen, Schlafmangel und Alkohol sind einige der Umweltfaktoren, die zur Entstehung einer Migräneattacke führen können, wobei die genauen Mechanismen nicht determiniert sind.
Beim Erwachsensen wird nach der IHS-Klassifikation zwischen Migräne ohne Aura, Migräne mit Aura, retinaler Migräne, Komplikationen der Migräne und der wahrscheinlichen Migräne unterschieden (Headache Classification Committee of the International Headache Society, 2004).

1.1.2 Klinische Charakteristika der Migräne Aura

In 10-15% der Migräne-Patienten treten in unregelmäßiger Häufigkeit vor dem Migräne-Kopfschmerz fokal neurologische Defizite mit einer Dauer von 15-60

Minuten, die sog. Migräne-Aura, auf. Führend unter den verschiedenen Typen der Aura ist die visuelle Aura, die in ca. 90% der Fälle besteht (Rasmussen und Olesen, 1992). Sie wurde erstmals im Detail von dem Psychologen Lashley und später Millner beschrieben (Lashley, 1941; Millner, 1958).
Zu Begin einer typischen visuellen Aura entstehen zumeist Szintillationen im Zentrum des Gesichtsfeldes, die sich unidirektional mit einer Geschwindigkeit von ca. 3 mm/min in die Peripherie des Gesichtsfeldes ausbreiten. Diese Positivphänomene sind gefolgt von einem ebenfalls expandierenden Skotom, welches anschließend langsam vom Zentrum des Gesichtsfeldes remittiert.
Andere Repräsentationsmöglichkeiten der Migräne-Aura (<10%) sind unilaterale wandernde Sensibilitätsstörungen oder Paresen der Extremitäten, die sich häufig von distal nach proximal ausbreiten (Russel et al., 1993). Weitere Phänomene die innerhalb von 24-48 h vor Beginn des Migräne-Kopfschmerzes auftreten können sind u.a. Konzentrationsstörungen und Heißhungerattacken, die bisher pathophysiologisch nicht eindeutig zugeordnet werden können (Griffin et al., 2003).

1.1.3 Genetik der Migräne

Die Migräne wird heute als genetisch determinierte Erkrankung angesehen, wobei Umweltfaktoren wie z.B. Stress oder Schlafmangel zur Auslösung einer Attacke führen. Bisher sind eine Reihe von Mutationen auf den Chromosomen 19 und 1 bekannt, die zur Ausbildung einer Sonderform der Erkrankung, der sog. familiären hemiplegischen Migräne, führen (Ophoff et al., 1996; Gardner et al., 1997, Ducros et al., 1997). Sie folgt einem autosomal dominaten Erbgang. Zusätzlich wurden in jüngster Zeit in Assoziations- (linkage) Analysen Gene identifiziert, die mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Migräne mit Aura assoziiert sind. Diese sind auf den Chromosomen 19p13.2, 11q24, 4q24 und Xq lokalisiert (Jones et al., 2001; Nyholt et al., 2000, Wessman et al., 2002, Cader et al., 2003). Vor wenigen Wochen konnte für die Migräne ohne Aura erstmals ein Gen auf Chromosom 4q21 lokalisiert werden (Björnsson et al., 2003).

1.2 Pathophysiologischer Kenntnisstand zum Migräne-Kopfschmerz

1.2.1 Erkenntnisse aus humanen Untersuchungen

Aufgrund der unilateralen Lokalisation des Migräne-Kopfschmerzes entsprechend dem Versorgungsgebiet des Nervus trigeminus wird davon ausgegangen, dass dieser maßgeblich an der Entstehung einer Migräneattacke beteiligt ist (Übersicht bei Wolff, 1963). Der N. trigeminus innerviert im Menschen und in vielen Tierspezies (u.a. Nager) die Dura mater mit einem dichten Netz von schmerzsensitiven Fasern (c-Fasern) und macht diese so zu einer der wenigen schmerzsensitiven intrakraniellen Strukturen (Ray und Wolff, 1940; Mayberg et al., 1981). Die Perikarya der pseudounipolaren trigeminalen Neurone liegen im gleichseitigen Ganglion trigeminale und sind zusätzlich über Neurite mit dem gleichseitigen Hirnstammkern des N. trigeminus (Ncl. caudalis N. trigemini) verbunden (Uddmann et al., 1985, Edvinsson et al., 1989).
Trigeminale c-Fasern in der Dura mater exprimieren an ihrer Oberfläche Serotonin Rezeptoren vom 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} und 5-HT_{1F} Typ, über welche die Aktivität der Neurone moduliert werden kann (Buzzi und Moskowitz, 1990; Rebeck et al., 1994). Trigeminale Neurone exprimieren eine Reihe von Neurotransmittern, die bei ihrer Aktivierung ausgeschüttet werden. Hierzu gehören Calcitonin gene related peptide (CGRP), Substanz P und Neurokinin A. Experimentelle Daten zeigen, dass CGRP während der Migräneattacke beim Menschen in erhöhter Konzentration im Jugularvenenblut vorliegt und diese nach Applikation von Triptanen (z.B. Sumatriptan) parallel zur Remission des Kopfschmerzes wieder abfällt (Goadsby und Edvinsson, 1993). Diese Beobachtung ist ein weiterer Hinweis für eine Aktivierung des trigeminalen Schmerzsystems im Rahmen der Migräneattacke.

Seit vielen Jahren ist bekannt, dass Stickstoffmonoxid (NO) zur Auslösung von Migräneattacken führen kann. Initial stand hierbei die Beobachtung vor mehr als 100 Jahren, dass Arbeiterinnen, die in Sprengstoff-produzierenden Unternehmen mit Nitroglycerin, einem NO-Donator, arbeiteten, vermehrt an Kopfschmerzen und Migräne litten (Trainor und Jones, 1966).

Der Zusammenhang zwischen NO und Migräne wurde erstmals 1993 von Olesen systematisch untersucht (Olesen et al., 1993). In dieser Studie wurde gezeigt, dass die Infusion des NO-Donators Glyceryltrinitrat/Nitroglycerin sowohl in Kontrollpersonen als auch in Patienten mit Migräne zu einem sofortigen, in der letzten Gruppe akzentuierten, Kopfschmerz führte. Nach einem beschwerdefreien Intervall entwickelten anschließend nur Migränepatienten einen verzögerten Kopfschmerz, der die Charakteristika einer Migräne erfüllt.
Ein weiterer Hinweis für eine wichtige Rolle von NO in der Genese von Migräne konnte aus einer doppelblinden, Placebo kontrollierten Medikamentenstudie gewonnen werden. Hierbei führte die Applikation des unselektiven Inhibitors L-NMMA (N(G)-monomethyl-L-arginine) der Stickstoffmonoxid produzierenden Enzyme (Stickstoffmonoxidsynthetasen; NOS) während einer spontanen Migräneattacke zur deutlichen Besserung des Migräne-Kopfschmerzes in 2/3 der Patienten (Lassen et al., 1997). Zudem wurde auch die vegetative Begleitsymptomatik gebessert.

Neben diesen Untersuchungen gibt es noch eine Reihe weitere Beobachtungen, die auf einen Zusammenhang zwischen Migräne und NO hinweisen (Gallai et al., 1996; Sarchielli et al., 1996). Exemplarisch soll erwähnt werden, dass beim Migränepatienten in Thrombozyten Reaktionsprodukte des NO Stoffwechsels, sog. Nitrate und Nitrite, erhöht vorgefunden werden und diese während Kopfschmerzattacken weiter ansteigen. (Stepien et al., 1998, Shimomura et al., 1999).
Aufgrund dieser klinischen Beobachtungen entschlossen wir uns, die Konsequenzen einer Nitroglycerin Applikation im Tierexperiment zu untersuchen mit dem Ziel, pathophysiologisch relevante Mechanismen für die Entstehung des Migräne-Kopfschmerzes zu erheben.

1.2.2 Erkenntnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen

Die Stimulation trigeminaler Neurone im Tierexperiment z.B. durch eine einseitige elektrische Reizung des Ganglion trigeminale führt zu einer Ausschüttung von Neuropeptiden (Calcitonin gene related peptide [CGRP], Substanz P, Neurokinin

A) aus perivaskulären Nervenendigungen in Blutgefäße der Hirnhaut (Limmroth et al., 2001; Goadsby et al., 1988), einer Aktivierung von Mastzellen (Dimitriadou et al., 1991), Thrombozytenaggregation, der Aktivierung von Endothelzellen in duralen Blutleitern und einer Vasodilatation duraler Blutgefässe (Dimitriadou et al., 1992). All diese Veränderungen münden in einer Extravasation von Plasmaproteinen aus den venösen Blutleitern in die Hirnhaut (Markowitz et al., 1987). In der Gesamtheit wird dieses Phänomen als sterile Inflammation der Meningen bezeichnet (Übersicht bei Williamson und Hargreaves, 2001). Zusätzlich kommt es zu einer Aktivierung zentraler, sekundärer trigeminaler Neurone (Uhl et al., 1991), die über den Thalamus zum primär sensorischen Kortex weitergeleitet wird, welches zur Wahrnehmung des Schmerzes führt. Die Aktivierung zentraler trigeminaler Neurone kann u.a. mit Hilfe histologischer Verfahren dargestellt werden, wobei als Parameter die Expression des immediate early genes c-fos im Ncl. caudalis N. trigemini eingesetzt wird (Mitsikostas und Sanchez del Rio, 2001).

Sumatriptan und andere Serotonin 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptor Agonisten, sowie Ergotaminderivate und nicht steroidale anti-inflammatorische Substanzen blockieren die Plasmaproteinextravasation, Neuropeptidausschüttung (CGRP) und Mastzelldegranulation im Tierexperiment (Buzzi et al., 1989, Buzzi und Moskowitz, 1990, Goadsby und Edvinsson, 1993). Zudem werden diese Substanzen seit einigen Jahren erfolgreich in der Migränetherapie eingesetzt (Ferrari et al., 2001).

Die Rolle der Dura mater und die Gültigkeit des Konzepts der neurogenen duralen Inflammation als ein pathophysiologisches Korrelat des Migräne-Kopfschmerzes wird durch eine preliminäre SPECT Studie (3 Patienten) gestützt (Papagallo und Esposito, 1999). Hierbei konnte während einer Migräneattacke eine Plasmaproteinextravasation in extrazerebralen, intrakraniellen Strukturen ipsilateral zur Seite des Kopfschmerzes gezeigt werden. Es ist wahrscheinlich, dass diese Struktur der Dura mater entspricht. Letztendlich fehlt jedoch ein eindeutiger Beweis für die pathophysiologische Bedeutung dieses Phänomens zumal z.B. NK-1 Rezeptor-Antagonisten die Plasmaproteinextravasation deutlich reduzieren, jedoch klinisch die Migräne nicht signifikant verbessern. NK-1

Rezeptoren sind die Bindungsstellen von Substanz P an Blutgefäßen (Lee et al., 1993; Diener und Limmroth, 1999; Diener 2003).

Die Bedeutung von Stickstoffmonoxid im Rahmen einer meningealen Inflammation ist bisher nicht im Detail studiert worden. Bisher ist nur bekannt, dass eine pharmakologisch mit Hilfe von m-chlorophenylpiperazine (m-CPP) induzierte Plasmaproteinextravasation durch die Applikation des Stickstoffmonoxidsynthetase (NOS) Inhibitors N(G)-nitro-L-arginine methylester (L-NAME) reduziert werden kann (Johnson et al., 2003). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Gabe desselben NOS Inhibitors (L-NAME) zur Reduktion der c-fos Expression im Nucleus caudalis N. trigemini nach Stimulation des Sinus sagittalis superior der Katze führt (Hoskin et al.1999). Die Sinus sagittalis superior Stimulation ist ein etabliertes Modell zur Untersuchung des trigeminalen Schmerzsystems (Übersicht bei Reuter et al., 1999). Auch die neurogene Vasodilatation duraler Blutgefässe wird durch die Gabe von NOS-Inhibitoren moduliert (Akerman et al., 2002). All diese Daten deuten auf eine kritische Rolle von NO in der Genese von Kopfschmerzen hin.

Die Mechanismen der Aktivierung des trigeminalen Nervensystems sind weitgehend unbekannt. Eine Hypothese geht davon aus, dass durch Stressreize endotheliale 5-$HT_{2B/C}$ Rezeptoren aktiviert werden, hierdurch Stickstoffmonoxid (NO) vermehrt produziert und ausgeschüttet wird. NO soll trigeminale c-Fasern direkt aktivieren, welches zur Entwicklung der duralen neurogenen Inflammation führt (Fozard et al., 1991).
Diese Hypothese konnte jedoch im Rahmen einer Untersuchung von Martin und Martin (2001) nicht bestätigt werden. Es gelang diesen Autoren nicht, mit Hilfe der 5-HT_{2B} Rezeptor Agonisten m-chlorophenylpiperazine (m-CPP) und BW723C86 die Expression von c-fos Immunreaktivität im Ncl. caudalis N. trigemini nachzuweisen. Eine Beobachtung die daraufhin deutet, dass das trigeminale Schmerzsystem nicht über 5-HT_{2B} Rezeptor abhängige Mechanismen aktiviert werden kann.

Basierend auf diesen tierexperimentellen Erkenntnissen und mit Kenntnis der Daten aus humanen Studien entschlossen wir uns, die Folgen einer Applikation

des NO-Donators Glyceryltrinitrat in schmerzsensitiven intrakraniellen Strukturen (Dura mater) und in Funktionsuntersuchungen mit Relevanz zur Pathophysiologie der Migräne zu untersuchen.

1.3 Pathophysiologischer Kenntnisstand zur Migräne-Aura

1.3.1 Erkenntnisse aus humanen Untersuchungen

In klinischen Untersuchungen konnte mit Hilfe der Magnetresonanztomographie gezeigt werden, dass es während einer typischen visuellen Aura zu einer temporären sich ausbreitenden Reduktion des zerebralen Blutvolumens, des zerebralen Blutflusses und einer Verlängerung der mittleren Transitzeit im zum klinisch betroffenen visuellen Hemifeld kontralateral gelegenen visuellen Kortex kommt, welches auf eine passagere Minderperfusion für die Dauer von insgesamt 2 h in dieser Region hinweist (Cutrer et al., 1998). Bereits einige Jahr vorher war es mittels Positronen Emissions Tomographie (PET) in einem Probanden gelungen eine sich nach frontal ausbreitende, verminderte zerebrale Perfusion während einer spontanen Migräneattacke zu beobachten, welche große Ähnlichkeit zu der später im MRT beschriebenen, über die Dauer der Aura hinaus anhaltende, Hypoperfusion zeigt (Woods et al.,1993).

Mit Hilfe einer weiteren MR-Technik, dem sog. BOLD (blood oxygenation level dependent) Verfahren wurden neue Erkenntnisse über die Aura gewonnen (Hadjikhani et al., 2001). Das BOLD Signal repräsentiert eine Kombination aus neuronaler Aktivität und regionaler Blutflussänderung (Übersicht bei Logothetis, 2003). Während einer visuellen Migräne-Aura wurden sich über den visuellen Kortex ausbreitende Signalveränderungen beobachtet, die eine Welle neuronaler Erregung gefolgt von neuronaler Untererregbarkeit repräsentieren und mit einer Geschwindigkeit von 3-4 mm/min über den Kortex wandern, parallel zu der Ausbreitung der Migräne-Aura im Gesichtsfeld des Patienten (Hadjikhani et al., 2001).

Eine wandernde Welle neuronaler Erregung wurde ebenfalls mit Hilfe der Magnetenzephalographie (MEG) während visuell induzierter Auren beobachtet (Bowyer et al, 2001). Diese im MRT und MEG beobachteten Veränderungen während der Migräne-Aura entsprechen der sog. Cortical Spreading Depression (CSD; Olesen et al., 1981), ein Phänomen das tierexperimentell näher beschrieben und charakterisiert wurde.

1.3.2 Erkenntnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen

Die Cortical Spreading Depression (CSD) wurde erstmals 1944 von Leao im Kaninchen beschrieben. Nicht zuletzt aufgrund der Stereotypie der Charakteristika des klinischen Phänomens und der tierexperimentellen CSD wurde lange bevor mit Hilfe der bildgebenden Verfahren (MRT und PET) übereinstimmende Charakteristika zwischen dem Aura Phänomen im Migräne-Patienten und der experimentellen CSD beschrieben wurden, davon ausgegangen, dass die CSD der Aura zugrunde liegt.

Die CSD kann tierexperimentell durch eine chemische (Applikation von $K^{+)}$, mechanische (Nadelstich) oder elektrische Reizung des gyrencephalen Kortex ausgelöst werden. Hierdurch kommt es zur Depolarisation von Neuronen und Gliazellen, die sich in alle Richtungen gleichmäßig über den Kortex, mit einer Geschwindigkeit von ca. 3mm/ Minute, ausbreitet. Im Rahmen der CSD werden multiple Ionen und Metabolite wie z.B. NO, H^+, Kalium, Adenosin und Glutamat ausgeschüttet, die die weitere wellenförmige Entladung kortikaler Neurone und Gliazellen bewirkt und nachfolgend zu temporärer Untererregbarkeit der Zellen führt (Übersicht bei Somjen, 2001).

Parallel zur neuronalen Depolarisation wird im Tierexperiment eine ebenfalls kurz anhaltende temporäre Vasodilatation in pialen und kortikalen Blutgefäßen beobachtet, die einen Anstieg des regionalen Blutflusses (>100% Anstieg) bewirkt und in eine anhaltende Reduktion des kortikalen Blutflusses, bis zur *restitutio ad integrum* nach ca. 30 Minuten, mündet. Die cerebrale Hyperperfusion erscheint elementar für die Wiederherstellung der Homöostase des Gehirns nach der Aura zu sein. Sofern die Hyperperfusion tierexperimentell durch lokal hohe K^+ Konzentrationen und eine Inhibition der Stickstoffmonoxid generierenden Enzyme (NOS) blockiert wird, kommt es zur Ausbildung einer kortikalen cerebralen Ischämie im Rahmen der CSD (Dreier et al., 1998). Diese Untersuchung unterstreicht eindeutig, dass es sich bei den cerebralen CSD-assoziierten Blutflussveränderungen (Hyperperfusion) um kein unbedeutendes Epiphänomen, sondern um einen elementaren Mechanismus zur Aufrechterhaltung bzw.

Wiederherstellung der Homöostase des Gehirns während und nach der Aura handelt.

Wir haben uns mit der Genese der CSD-assoziierten Blutflussveränderungen beschäftigt und den Schwerpunkt unserer Untersuchungen auf das trigeminale Nervensystem und dessen Neurotransmitter gelegt. Aufgrund des engen zeitlichen Ablaufs zwischen dem Auftreten der Migräne-Aura und des Migräne-Kopfschmerzes in der überwältigenden Patientenzahl, fokussierten wir unsere weiteren Untersuchungen auf die Frage nach einem pathophysiologischen Zusammenhang zwischen Migräne-Aura und Migräne-Kopfschmerz.

1.4 Akuttherapie der Migräne

Die Akuttherapie der Migräne umfasst heute als Gold-Standard die Gabe von Agonisten an 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptoren, den sog. Triptanen. Zu dieser Substanzklasse gehören Sumatriptan, Zolmitriptan, Naratriptan, Rizatriptan, Almotriptan, Eletriptan, Frovatriptan, die teilweise in verschiedenen Darreichungsformen und Dosierungen erhältlich sind. Die schnellste und effektivste Darreichungsform stellt die subkutane Applikation von Sumatriptan dar, die nach 1 Stunde in ca. 72% der Patienten eine signifikante Besserung bringt (The Subcutaneous Sumatriptan International Study Group, 1991). Alle Präparate sind in oraler Verabreichungsform als Tabletten erhältlich und bieten unterschiedliche Vor- und Nachteile in ihrer Pharmakokinetik. Es scheint, als ob aus den unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften jedoch keine signifikanten Vorteile ableitbar sind (Jhee et al., 2001). Auf die detaillierten klinischen Unterschiede zwischen den einzelnen oralen Verabreichungsformen der Triptane soll im Rahmen dieser Habilitationsschrift nicht eingegangen werden, zumal sie für das Verständnis der Arbeit nicht relevant sind (Ferrari et al., 2001).

Für die Triptane ist in tierexperimentellen Modellen gezeigt, dass sie in verschiedensten Funktionsuntersuchungen mit Relevanz für die Pathophysiologie der Migräne die Zielparameter reduzieren. Hierzu gehören unter anderem die Plasmaproteinextravasation, die elektrophysiologische Aktivität im Ncl. caudalis N. trigemini nach Stimulation des Sinus sagittalis superior oder der Dura mater, die induzierte c-fos Expression im Ncl. caudalis N. trigemini sowie die CGRP Ausschüttung in das Blut der V. jugularis (Übersicht bei Reuter et al., 1999).
Für leichte Migräneattacken ist im Rahmen des Stufenschemas einer Behandlung die Verabreichung von Acetylsalicylsäure, nicht steroidale Antiphlogistika (z. B. Ibuprofen, Diclofenac) oder Paracetamol indiziert (Diener, 2003). Auch diese Substanzen haben in klinischen Studien und in verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen ihre Wirksamkeit gezeigt.

1.5 Fragestellungen

In den nachfolgend dargestellten Forschungsarbeiten der letzten Jahre haben wir versucht, relevante Fragen für das Verständnis und die Mechanismen zur Initiierung des Migräne-Kopfschmerzes zu klären:

1) Kann eine Cortical Spreading Depression, die als das pathophysiologische Korrelat der Migräne-Aura gilt, im Tierexperiment das trigeminale Nervensystem aktivieren?

2) Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Migräne-Aura und dem Migräne-Kopfschmerz?

3) Welche Veränderungen bewirkt die Applikation eines NO-Donators (GTN) in der Hirnhaut der Ratte? Sind diese Veränderungen vereinbar mit der Generierung eines Kopfschmerzes?

Zur Beantwortung dieser Fragen haben wir tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten durchgeführt und Blutflussmessungen in pialen und duralen Blutgefässen während und nach CSD durchgeführt. Darüber hinaus haben wir histologische und biochemische und molekularbiologische Methoden angewandt um Veränderungen in der Dura mater zu untersuchen.

In einer Untersuchung zur Therapie des Migräne-Kopfschmerzes mit Triptanen wollten wir die folgenden Fragen beantworten:

4) Welche Auswirkungen hat die wiederholte Gabe von Triptanen (Sumatriptan, Zolmitriptan) in der Ratte auf die Zielparameter funktioneller Untersuchungen mit Relevanz zur Migräne? Führt die repetitive Gabe von Triptanen zur Änderung der Expression von 5-HT_1 Rezeptoren in Geweben, die für die Genese oder Therapie des Migräne-Kopfschmerzes bedeutend sind?

1.6 Eigene Forschungsergebnisse

1.6.1 Mechanismen zur Entstehung der CSD-assoziierten Hyperperfusion

Die Rolle von Neuropeptiden oder neurogenen Mechanismen an der Entstehung der CSD-Hyperperfusion war weitgehend unbekannt. Dagegen waren bereits in den vergangenen Jahren verschiedene andere Faktoren identifiziert worden, die zum kurzfristigen CSD induzierten kortikalen Blutflussanstieg beitragen. Hierzu gehören Kalium [K^+] (Lassen, 1968), Wasserstoff Ionen [H^+] (Paulson, 1987), Adenosin und Stickstoffmonoxid (Dirnagl et al., 1994) sowie eine vorbestehende Hyperkapnie (Wolf et al., 1999).
Die Kenntnis über die Mechanismen die zur CSD-Hyperperfusion beitragen sind von elementarer Bedeutung. Ergänzend zu der Beobachtung, dass eine Inhibition von Stickstoffmonoxid Synthetasen gemeinsam mit einer erhöhten K+-Konzentration nicht mehr zu einer CSD- Hyperperfusion sondern zu einer länger anhaltenden, jedoch ebenfalls transienten kritischen Reduktion des cerebralen Blutflusses nach CSD mit nachfolgender kortikaler Ischämie führt, konnten wir gemeinsam mit der Arbeitsgruppe von J. Dreier zeigen, dass auch die topische Applikation von Hämoglobin kombiniert mit niedrigen Glucose- oder hohen K^+-Konzentration im Rahmen einer CSD zu kortikalen Infarkten führt. Mit diesem Model könnten z.B. kortikale Infarkte bei der Subarachnoidalblutung erklärt werden (Dreier et al., 2000).

Um die Beteiligung perivaskulärer trigeminaler Neurone an der CSD assoziierten Hyperperfusion zu determinieren, haben wir in einem ersten Schritt piale und kortikale Blutgefässe einer Hemisphäre chronisch denerviert. Dies kann durch eine Transsektion des Nervus nasociliaris (NCN) am Foramen ethmoidale erreicht werden, die nach ca. 2 Wochen in einer Degeneration der perivaskulären Neurone und ihrer Neuropeptide resultiert (Suzuki et al., 1990). Der N. nasociliaris ist ein Ast des N. trigeminus, der die ipsilaterale Dura mater, die pialen und kortikalen Blutgefässe innerviert. Diese Denervierung trigeminaler Fasern führte nach 14 Tagen zu einer signifikanten Reduktion der ipsilateralen CSD-Hyperperfusion. Die kontralaterale CSD-Hyperperfusion war bei gegenseitiger

Auslösung erwartungsgemäß unverändert, ebenso war die gleichseitige CSD Hyperperfusion nach akuter NCN Transsektion nicht verändert. Der regionale zerebrale Blutfluss wurde in allen Versuchen mit Hilfe einer Laser Doppler Sonde gemessen.
Die gleichzeitige chronische Denervierung durch eine Transsektion des NCN und parasympathischer Neurone (Suzuki et al., 1990), die ebenfalls durch das Foramen ethmoidale in das Innere des Schädels ziehen, führte zur einer deutlicher akzentuierten Reduktion der CSD-Hyperperfusion im Vergleich zur alleinigen NCN Transsektion.
Dahingegen war die physiologische Antwort (Vasodilatation) der kortikalen Blutgefässe auf eine Hyperkapnie in allen Versuchsgruppen gleich.

Da unsere bisherigen Untersuchungen daraufhin deuteten, dass die CSD-Hyperperfusion nicht an die Integrität perivaskulärer Neurone gebunden ist (akute NCN Transsektion ist ohne Effekt) haben wir in einem weiteren Schritt untersucht ob Neuropeptide, die in den Endigungen der perivaskulären Neurone gespeichert sind, zur CSD-Hyperperfusion beitragen. Im trigeminalen Nervensystem ist der potente endogene Vasodilatator CGRP ein wichtiger Neurotransmitter der seine Wirkung über den CGRP Rezeptor ausübt. Das CGRP Pendant im parasympathischen System ist Acetylcholin, welches über nicotinerge und muskarinartige Rezeptoren an der Zielzelle (z.B. Endothelzelle) bindet.

Wir konnten demonstrieren, dass die kortikale Superfusion des CGRP Rezeptor Antagonisten $CGRP_{8-37}$ in einem geschlossenen kraniellen Fenster zu einer dosisabhängigen deutlichen Reduktion des CSD- assoziierten Blutflussanstiegs führt. Die Applikation von $CGRP_{8-37}$ gemeinsam mit Atropin, einem Antagonist an muskarinischen Rezeptoren, verstärkte diesen Effekt. Dahingegen führte die Verabreichung von $CGRP_{8-37}$ und Atropin auf einen chronisch denervierten Kortex nicht zu einer weiteren signifikanten Reduktion der CSD Hyperperfusion.

Mit dieser Arbeit konnten wir zeigen, dass die CSD perivaskuläre piale trigeminale und parasympathische Neurone aktiviert und die hieraus resultierende Freisetzung von Neuropeptiden zur kortikalen/pialen CSD-Hyperperfusion beiträgt. Unsere Ergebnisse konnten von Bari et al. bestätigt werden. In dieser

Studie wurden die Neuropeptidspeicher mit Hilfe von Capsaicin, einem Extrakt von Chilli-Paprika, entleert. Dies resultierte zumindest in der Hochdosisgruppe nach 48h ebenfalls in einer Reduktion der CSD-Hyperperfusion (Bari et al., 2000). Kontrastierend zu den bisher geschilderten Resultaten gelang es jedoch nicht, eine erhöhte Ausschüttung von CGRP im Jugularvenenblut der Katze nach CSD zu zeigen (Piper et al., 1993).

Nach Fozard soll eine Aktivierung trigeminaler Neurone über 5-$HT_{2B/2C}$ Rezeptoren an Endothelzellen und konsekutiver NO Ausschüttung mediiert werden können (Fozard et al., 1995). Wir haben daher in einer weiteren Studie untersucht, ob die CSD zur Aktivierung trigeminaler perivaskulärer Neurone über 5-HT_2 Rezeptoren führt, und eine Blockade von 5-HT_2 Rezeptoren zur Reduktion der CSD Hyperperfusion führt. Unter den multiplen Serotonin Rezeptoren ist dieser Typ ein besonders valides Ziel, da seine Antagonisierung auch ein Ziel in der medikamentösen Prophylaxebehandlung (Pizotifen) der Migräne ist (Übersicht bei Mylecharane, 1991). Im Gegensatz hierzu wird der akute Migräne-Kopfschmerz durch eine agonistische Wirkung an 5-HT_1 Rezeptoren reduziert.
In unseren Untersuchungen konnten wir demonstrieren, dass die Blockade der 5-$HT_{2A/2C}$ Rezeptoren durch Ritanserin zu einer ca. 44% Reduktion der CSD-assoziierten Hyperperfusion führt, welches auf eine Rolle von Serotonin in der Entstehung der CSD Hyperperfusion hinweist. Die Aktivierung von 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptoren durch 311C90 (Zolmitriptan) war dahingegen ohne Effekt auf die CSD-Hyperperfusion.
Aus diesen Studien kann gefolgert werden, dass die CSD-Hyperperfusion über Serotonin Rezeptoren vom Typ 2A/C moduliert wird. Im Gegensatz hierzu war Zolmitriptan, eine wirksame Substanz zur Behandlung von Migräneattacken ohne Effekt. Diese Daten stehen in Übereinstimmung mit klinischen Studien, in denen gezeigt wurde, dass Zolmitriptan die Migräne-Aura nicht attenuiert und auch den nachfolgenden Kopfschmerz nicht mildert, wenn die Substanz während der Aura eingenommen wird. Übereinstimmende Resultate konnten nach Applikation von Sumatriptan gezeigt werden. Auch hier ergab sich keine Veränderung der Charakteristika der CSD in einem experimentellen Katzenmodell mit Hilfe von diffusionsgewichteten MRT-Aufnahmen (Bradley et al., 2001).

1.6.2 Neue pathophysiologische Aspekte zum Zusammenhang von Migräne-Kopfschmerz und Migräne-Aura

In einer weiteren Serie von Experimenten untersuchten wir, ob eine Cortical Spreading Depression, das Korrelat der Migräne-Aura, pathophysiologische Veränderungen im trigeminalen Schmerzsystem und schmerzsensitiven intrakraniellen Strukturen bewirkt, die mit der Entstehung von Kopfschmerzen vereinbar sind. Als tierexperimentelle Korrelate des Migräne-Kopfschmerzes werden z.B. die c-fos Expression im Hirnstammkerngebiet des N. trigeminus, Blutflussänderungen in der Dura mater oder die Plamaproteinextravasation in der Dura mater angesehen.

Wir konzentrierten uns zunächst auf die Frage, ob multiple CSDs zur Aktivierung sekundärer trigeminaler Neurone im gleichseitigen Hirnstammkern des N. trigeminus, dem Ncl. caudalis N. trigemini, führen. Als Zeichen einer neuronalen Aktivierung wählten wir das immediate early gene c-fos, ein Onkogen, welches als etablierter histologischer Marker in verschiedenen Kopfschmerzmodellen zuvor eingesetzt wurde. Ein Nachteil dieses immediate early genes ist seine fehlende Spezifität (Mitsikostas und Sanchez del Rio, 2001).
Unsere Untersuchungen ergaben, dass multiple elektrisch induzierte CSDs zu einer signifikanten, einseitigen Expression von c-fos Protein in Lamina I und II des ipsilateralen Ncl. caudalis N. trigemini führt. Die gleichermaßen durchgeführte Instrumentierung der Kalottengegenseite, jedoch ohne CSD Induktion, resultierte in einer wesentlich geringeren, basalen c-fos Expression im Trigeminuskern.
Die einseitige Durchtrennung des N. nasociliaris führte 2 Wochen später zu einer signifikant geringeren CSD induzierten c-fos Expression im ipsilateralen Trigeminuskern im Vergleich zu Kontrolltieren mit einer sog. Sham-Operation. Ebenfalls zu einer deutlichen Reduktion der Anzahl c-fos positiver Zellen führte die Applikation des Serotonin 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptor Agonisten Sumatriptan vor Auslösung der 1. CSD.
Unsere Resultate bestätigen Daten von Moskowitz und Mitarbeitern 1993, die nach Induktion der CSD mit KCL ebenfalls eine einseitige c-fos Expression beobachten konnten, die an die Integrität des trigeminalen Nervensystem

gebunden war (Moskowitz und Kraig, 1993). Zudem wurde in diesem Jahr (2003) eine Untersuchung von Kunckler et al. publiziert, die unsere Ergebnisse unterstützt. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass eine hippocampale CSD ebenfalls zur Aktivierung trigeminale Neurone mit der Expression von c-fos in Lamina I und II im Trigeminuskern führt. Hier war die c-fos Expression jedoch bilateral ausgeprägt (Kunkler und Kraig, 2003).
Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen gelang es am ehesten aus technischen Gründen bisher nicht, eine elektrophysiologische Aktivierung sekundärer trigeminaler Neurone nach CSD zu zeigen (Ebersberger et al., 2001; Lambert et al., 1999).

In einem nächsten Schritt wollten wir die Frage klären, ob die CSD zur einseitigen sterilen, neurogenen Inflammation der Dura mater führt. Als Marker der neurogenen Inflammation untersuchten wir die Extravasation von Plasmaproteinen mit Hilfe histologischer Verfahren. Wir injizierten Meerrettich Peroxidase (HRP) parallel zur Auslösung der 1. CSD intravenös in die V. femoralis der Ratte. HRP bindet an körpereigenes Albumin und tritt mit diesem aus Blutgefässen in das umliegende Gewebe aus. Es repräsentiert damit die Menge des körpereigenen Albumin-Extravasats. Dieser HRP-Albumin Komplex kann anschließend mit histologischen Methoden (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride; DAB) sichtbar gemacht werden. Es folgt ein Vergleich der Menge des Extravasates in der Dura mater über der Hemisphäre mit CSD und ohne CSD in ausgesuchten Feldern.
Bereits eine CSD und auch multiple CSDs führten in der ipsilateralen Dura mater im Vergleich zur gegenüberliegenden Dura zu einer deutlichen Extravasation von Plasmaproteinen, mit einem Maximum um die Basis der Arteria meningea media.
Zur Determination eines neurogen vermittelten Effektes führten wir erneut eine chronische einseitige trigeminale Denervierung der Hirnhaut durch (NCN-Transsektion 2 Wochen zuvor), welche darin resultierte, dass in der gleichseitigen Dura mater eine deutlich geringere Extravasation beobachtet werden konnte. Es bestand nun auch keine Unterschied zur Dura mater über der Kontrollhemisphäre.
Einen ähnlichen Effekt hatte die Blockade von Substanz P. Dieses Neuropeptid bindet an Neurokinin-1 Rezeptoren an Endothelzellen und führt hierdurch zur

Konformationsänderung der Endothelzellen und zur Öffnung von tight junctions welches in einer Plasmaproteinextravasation mündet. Der NK-1 Rezeptor Antagonist L-733,060 reduziert die CSD induzierte gleichseitige durale Proteinextravasation signifikant.
Darüber hinaus ergaben unsere Untersuchungen mit Hilfe der unilateralen chronischen parasympathischen Denervierung, dass die CSD induzierte Proteinextravasation nicht an die Integrität des parasympathischen Nervensystems gebunden ist oder von dessen Transmittern abhängig ist.

Da eine experimentelle elektrische Aktivierung des Ganglion trigeminale oder des N. trigeminus/nasociliaris zu ipsilateralen Blutflussveränderungen in vom N. trigeminus innervierten Arealen führt (Goadsby, 1993; Edvinsson et al., 1998), fokussierten wir eine nächste Serie von Untersuchungen auf Blutflussveränderungen durch die CSD in duralen Blutgefässen.
Dazu wurde das sog. SPECKLE Imaging verwendet, das mit einer hohen zeitlichen und räumlichen Auflösung cerebrale Blutflussänderungen detektieren kann (Dunn et al., 2001). Wir beobachteten mit Hilfe dieses optischen Verfahrens einerseits den sofortigen bekannten transienten Blutflussanstieg in der ipsilateral zur CSD gelegenen A. meningea media, parallel zum kortikalen Blutflussanstieg während der CSD. Darüber hinaus konnte ein verzögerter regionaler Blutflussanstieg (Anstieg auf 140%) selektiv in der ipsilateral zur CSD gelegenen A. meningea media gemessen werden. Der Blutfluss erreichte hier seinen maximalen Anstieg nach ca. 20 min. und kehrte nach ca. 1 h zu seinem Ausgangswert zurück. Es konnten weder frühe noch verzögerte Blutflussveränderungen in der gegenseitigen A. meningea media gemessen werden.
Der verzögerte CSD-induzierte Blutflussanstieg in den duralen Blutgefässen wurde durch eine chronische (2 Wochen zuvor) und auch akute Durchtrennung des N. nasociliaris am Foramen ethmoidale um 80% attenuiert. Die Transsektion parasympathischer Fasern hatte denselben Effekt.
Diese Untersuchungen zeigen, dass der Blutflussanstieg in der A menigea media nach einer CSD neurogen vermittelt wird. Dies steht im Gegensatz zu den transienten kortikalen Blutflussveränderungen der CSD, die wie in den Vorarbeiten gezeigt, nicht neurogen vermittelt werden.

Der verzögerte durale Blutflussanstieg wird zudem durch eine gleichseitige Rhizotomie des N. trigeminus (Durchtrennung zwischen Hirnstamm und Ganglion trigeminale) reduziert. Diese Beobachtung weißt darauf hin, dass der verzögerte durale Bluflussanstieg über noch nicht genauer charakterisierte Hirnstammverbindungen zwischen dem Kern des N. trigeminus und parasympathischen Kernen vermittelt wird. Die letztgenannten Resultate zeigen auch, dass der verzögerte Anstieg des duralen Blutflusses nicht durch die Ausschüttung von CGRP aus perivaskulären trigeminalen Neuronen, die bei einer Rhizotomie intakt bleiben, bedingt ist.

Die topische Applikation von MK-801, ein Inhibitor der CSD-Propagation (Marrannes et al., 1988) verhinderte das Auftreten aller beobachteten CSD-Blutflussänderungen und schliesst damit aus, dass letztere unspezifisch durch das Auslösen (kortikaler Nadelstich oder elektrischer Stimulus) der CSD bedingt sind.

Zusammengefasst konnten wir erstmals zeigen, dass die Cortical Spreading Depression, ein hirneigenes intrinsisches Signal und das pathophysiologische Korrelat der Migräne-Aura, in der Lage ist Nozizeptoren in der Pia und Dura mater zu stimulieren (Abb. 1).
Es gelang uns zudem mit dieser Arbeit erstmals eine Verbindung zwischen der experimentellen Basis der Migräne-Aura und dem unilateralen Migräne-Kopfschmerz aufzuzeigen. Diese Beobachtung könnte darüber hinaus dazu dienen das strikte zeitliche Auftreten (>90%) von Migräne-Aura und Kopfschmerz zu erklären. Das Entstehen der Migräne ohne Aura kann mit diesen Untersuchungen nicht erklärt werden und war auch nicht Ziel dieser Studien.

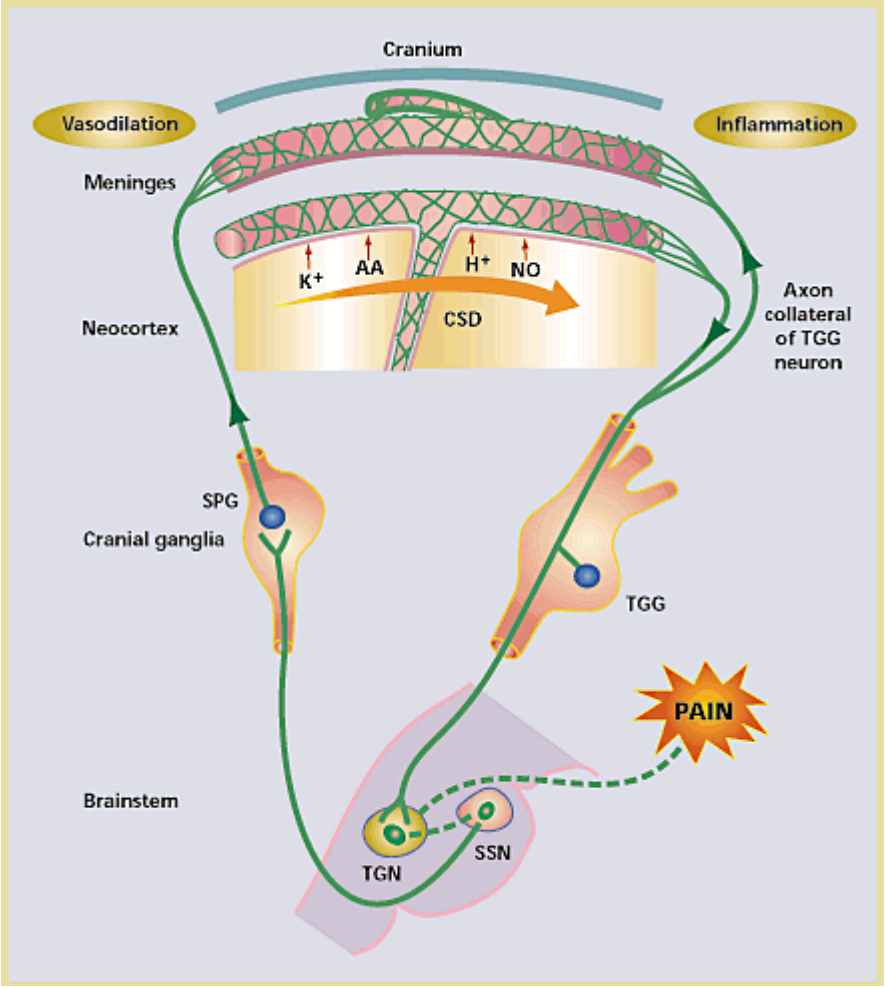

Abb. 1

Abbildung 1 illustriert schematisch die Verbindung zwischen der Cortical Spreading Depression und dem Kopfschmerz im Rahmen der Migräne mit Aura.

Eine CSD führt zur Ausschüttung von verschiedenen Ionen und Metaboliten in den Extrazellulärraum des Neokortex. Dies resultiert in einer Aktivierung perivaskulärer trigeminaler Neurone und sekundärer trigeminaler Neurone im Hirnstamm. Gleichzeitig kommt es Ausschüttung von Neuropeptiden aus kollateralen Axonen aus dem Ganglion trigeminale (TGG), welches zur Extravasation von Plasmaproteinen und einer Inflammation in der gleichseitigen Dura mater führt. Die Aktivierung trigeminaler Neurone mündet zudem in einer gleichseitigen duralen Vasodilatation über einen Mechanismus, der von parasympathischen Neuronen im Hirnstamm (Nucleus salivatorius superior; SSN) und Neuronen im Ganglion sphenopalatinum (SPG) vermittelt wird. Die Verbindungen im Hirnstamm zwischen dem trigeminalen und parasympathischen Nervensystem sind bisher nicht im Detail identifiziert (gestrichelte Linie). Diese Abbildung ist von B. Crimi im Rahmen eines Kommentars (C. Iadecola, Nature medicine 2002;8:110-112) zu Bolay, Reuter et al. (Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal Afferents in a migraine model. Nat Med. 2002;8:136-42) erstellt worden.

1.6.3 Veränderungen in der Dura mater der Ratte nach Applikation des NO-Donators Glyceryltrinitrat

Die Infusion des NO-Donators Glyceryltrinitrat führt zum Auftreten eines verzögerten Migräne-Kopfschmerzes bei Migräne-Patienten. Wir haben untersucht welche pathophysiologischen Veränderungen in schmerzsensitiven intrakraniellen Geweben (z.B. Dura mater) nach einer GTN Infusion auftreten können.
Der Fokus unserer Untersuchungen lag dabei auf der Expression der induzierbaren Stickstoffmonoxid Synthetase (NOS Typ II oder iNOS), die in der Lage ist weitaus größere Mengen an NO zu produzieren als die anderen beiden NOS-Isoenzyme (Moncada, 1997). Hierbei handelt es sich um die konstitutiv exprimierten Formen neuronale NOS (nNOS/NOS Typ I) und endotheliale NOS (eNOS/NOS Typ III). Im Gegensatz zur iNOS sind diese Isoformen Ca^{2+} abhängig. Von besonderer Relevanz für NOS-Typ II ist, dass dieses Enzym im Zusammenhang mit inflammatorischen Prozessen exprimiert wird (Colasanti, 2000). Dieses legt einen Zusammenhang zur Migräne nahe. Wie zuvor im Detail beschrieben (1.2.2), soll bei diesem Kopfschmerz eine sogenannte sterile neurogene Inflammation vorliegen, die möglicherweise eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Migräne spielt. Nicht zuletzt die Reduktion des Schmerzes durch nicht–steroidale anti-inflammatorische Substanzen (z.B. Diclofenac), Acetylsalicylsäure oder Cortison weißt auf eine entzündliche Genese der Migräne hin (The Diclofenac-K/Sumatriptan Migraine Study Group., 1999; Diener, 1999).

Bisher war bekannt, dass die Administration einer sehr hohen Nitroglycerin Dosis im Tierexperiment zu einer erhöhten Expression von neuronaler NOS im Hirnstamm führt (Pardutz et al., 2000). Zudem wird auch die Expression des immediate early genes c-fos in multiplen Hirnarealen der Ratte, darunter auch im Trigeminuskerngebiet beobachtet (Tassorelli und Joseph, 1995).

Wir konnten zeigen, dass die Infusion von GTN in der Dura mater zu einer Expression von NOS-Typ II Protein führt, die nach ca. 4 Stunden beginnt. Zudem gelang es uns eine Abhängigkeit der iNOS Expression von der infundierten GTN Dosierung sowie einen Zeitverlauf für die iNOS Protein Expression zu zeigen.

Diejenige GTN Dosis, welche eine suffiziente NOS- Typ II Expression, jedoch keinen Abfall des systemischen arteriellen Blutdrucks zur Folge hatte, wurde für alle weiteren Versuche eingesetzt und ist darüber hinaus äquivalent zu der beim Menschen verwandten GTN Dosis.
Mit Hilfe der Polymerase Ketten Reaktion (PCR) gelang es uns zu nachzuweisen, dass die iNOS Protein Expression durch eine *de novo* Gen Expression und mRNA Synthese bedingt ist. Die NOS Typ II mRNA Expression konnte frühestens 2 h nach GTN Infusion detektiert werden.

Unsere nächste Frage fokussierte sich auf den zellulären Ursprung der NOS Typ II Expression. Mittels Immunhistochemie (Myeloperoxidase Färbung) gelang es uns zunächst auszuschliessen, dass ein erhöhter Austritt von neutrophilen Granulozyten aus den Blutleitern in das umgebende Dura mater Gewebe stattfindet. Diese können somit nicht die Quelle der iNOS Produktion sein. Stattdessen produzieren überwiegend perivaskulär gelegene Makrophagen, die den Marker ED-2 an ihrer Oberfläche exprimieren (McMenamin, 1999), NOS Typ II, welches wir fluoreszenzmikroskopisch beobachten konnten.
Zusätzlich gelang es mit elektronenmikroskopischen Verfahren zu demonstrieren, dass 4 h nach der GTN Infusion durale Mastzellen eindeutige Zeichen der Degranulation aufweisen. Die Degranulation der Mastzellen ist ein sicherer Hinweis für deren Aktivierung. Eine Mastzellaktivierung ist auch in vielen anderen experimentellen Migränemodellen in der Hirnhaut zu finden, wenngleich die Bedeutung dieses Phänomens nicht völlig geklärt ist (Theoharides, 1996).

Wir konnten in den Meningen über die Expression von NOS Typ II hinaus eine erhöhte Konzentration anderer pro-inflammatorischer Mediatoren nach GTN Infusion zeigen. Einerseits zeigte sich in Immunoblot Untersuchungen ein biphasischer Anstieg von Interkeukin-1β in Dura mater Homogenaten mit einem maximalen Anstieg nach 6 h. Darüber hinaus war die Produktion von Interleukin-6 im Liquor deutlich erhöht (nach 6h). Beide Marker unterstützen die Genese einer entzündlichen meningealen Reaktion als Folge der GTN Administration.

Um eine weitere Parallelität zu etablierten Migränemodellen zu demonstrieren, war ein Ziel unserer Studien, eine Extravasation von Plasmaproteinen in die Dura

mater als Folge der GTN Stimulation zu zeigen. Die durale Plasmaproteinextravasation ist zum Zeitpunkt 4 und 6 Stunden nach GTN Infusion deutlich erhöht im Vergleich zu Kontrolltieren. Zur Determinierung dieser Protein Extravasation führten wir diesmal radioaktive Untersuchungen durch. Hierbei wird [^{125}I]-BSA, welches sich parallel zu körpereigenem Albumin verhält ca. 15 Minuten vor dem Ende des Versuches appliziert. Nach der transkardialen Perfusion der Ratte werden die radioaktiven counts/minute in der Dura mit Hilfe einer γ-Kamera bestimmt und auf die Gewichtsmenge der getrockneten Dura mater umgerechnet. Somit kann ein Vergleich zwischen GTN und Kontrolltieren gebildet werden.
Die GTN induzierte verzögerte Plasmaproteinextravasation konnte durch die Zugabe des unspezifischen NOS Inhibitors L-NMMA (N(G)-monomethyl-L-arginine) signifikant reduziert werden, welches die NO-Abhängigkeit dieses Phänomens zeigt. Darüber hinaus konnten wir die NOS-Typ II Abhängigkeit des Protein Austritts demonstrieren. Der selektive iNOS Inhibitor L-NIL (L-N6-(1-iminoethyl) lysine) war ebenfalls in der Lage die GTN induzierte verzögerte Plasmaproteinextravasation zu reduzieren und zwar im selben Maße wie L-NMMA. Dieses deutet daraufhin, dass die Plasmaproteinextravasation in diesem Paradigma hauptsächlich durch NO bedingt ist, das von NOS Typ II generiert wird.

Nachdem wir multiple Übereinstimmungen in diesem GTN-Kopfschmerz Modell mit anderen etablierten Migränemodellen festgestellt hatten und darüber hinaus eine Zeitkinetik aufzeigen konnten, die eine hohe Parallelität zu den humanen GTN-Migräne Studien besitzt, haben wir uns den Mechanismen der NOS Typ II Expression zugewandt.
Die Expression von NOS Typ II wird in vielen Geweben transkriptionell reguliert über eine Transkriptionskaskade, die als Kernelement den nukleären Faktor Kappa B (NFκB) enthält (Übersicht bei Laroux et al., 2000). NFκB besteht aus mehreren Untereinheiten, wie z.B. p50 und p65 und liegt in inaktiver Form im Zytosol vor. Dabei ist NFκB an eine Kinase, den inhibierende Faktor I Kappa B alpha (IκBα) gebunden, welcher wiederum an den inhibierenden Faktor I Kappa Kappa (I$\kappa\kappa$) im inaktivierten Zustand gebunden ist.

Die Aktivierung von Iκκ und IκBα erfolgt durch ihre Phosphorylierung, welche letztlich in der Aktivierung von NFκB und somit Spaltung der NFκB p50 und p65 Einheit mündet. Die p65 Einheit wird dann in den Zellkern transloziert und kann eine Genexpression z.B. von NOS Typ II oder COX-II initiieren.

Mit Hilfe von Western Blot Analysen gelang es uns zu zeigen, dass bereits 60 Minuten nach GTN Infusion der inhibierende Faktor I Kappa B alpha (IκBα) reduziert in Dura mater Homogenaten vorgefunden wird. Parallel hierzu beobachteten wir, das die phosphorylierte Form von IκBα (p-IκBα) bereits 30 min nach GTN Applikation in Dura Homogenaten erhöht vorgefunden wird. Die Aktivierung und Translokation der p65 Untereinheit von NFκB in den Nucleus konnten wir mit Hilfe von Gel – shift Analysen nachweisen.
Als zelluläre Quelle der NFκB Aktivierung wurden mittels Fluoreszenzmikroskopie wiederum meningeale ED-2 positive Makrophagen ausgemacht. Es gelang uns mikroskopisch die Translokation der p65 Untereinheit von NFκB in den Zellkern in dieser Zellpopulation zu zeigen.
Zur Demonstration, dass der zuvor aufgezeigte Transkriptionsweg von Bedeutung für die Expression von NOS Typ II in unserem Kopfschmerzmodell ist, führten wir eine Inhibitionsuntersuchungen durch. Hierzu setzten wir Tanacetum parthenium ein.
Tanacetum parthenium (Parthenolide), eine pflanzliche Substanz, die in der Prophylaxe der Migräne eingesetzt wird, inhibiert die Phosphorylierung von IκBα und somit die Aktivierung von NFκB (Pittler et al., 2000; Kwok et al., 2001).
Wir konnten demonstrieren, dass die GTN induzierte IκBα Phosphorylierung und Translokation der p65 NFκB Untereinheit durch die Applikation von Tanacetum parthenium reduziert wird. Darüber hinaus reduzierte Tanacetum parthenium auch die NOS Typ II Potein Expression in der Dura mater, welches den Zusammenhang zwischen der Transkriptionskaskade und NOS Typ II Expression aufzeigt. Diese Untersuchungen sind in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Zellkulturuntersuchungen in Makrophagen, die ebenfalls eine Inhibiton der NFκB Aktivierung durch Tanacetum parthenium zeigen.

Zur Klärung der Frage, ob das *de novo* produzierte NOS Typ II Protein funktionell aktiv ist und NO produziert, haben wir einen Fluoreszenzfarbstoff (DAF-2A) eingesetzt. Dieser Farbstoff DAF-2A wird in inaktivem Zustand appliziert, bindet an NO und fluoresziert erst in diesem aktivierten Zustand (Kojima et al., 1998). Wir konnten eine NO Synthese mittels Immunfluoreszenz in der Dura mater 4 h und 6 h nach einer GTN Infusion nachweisen, mit einem Verteilungsmuster der NO produzierende Zellen ähnlich dem von NOS Typ II produzierenden meningealen Makrophagen. Eine Doppelfärbung war leider aufgrund der Beschaffenheit von DAF-2A nicht möglich. Diese GTN induzierte NO- Produktion war nach vorheriger Applikation von Parthenolide deutlich reduziert, welches auch die Abhängigkeit der durch iNOS generierten NO Menge von der NFκB Transkriptionskaskade erneut belegt.

In einer letzten Untersuchung haben wir uns die Frage gestellt, ob die GTN Infusion auch zur Ausschüttung von CGRP aus trigeminalen Nervenfasern führt. Eine CGRP Ausschüttung kann während der Migräneattacke im Patienten im Jugularvenenblut beobachtet werden. Die Besserung des Migräne-Kopfschmerzes durch Sumatriptan führt parallel hierzu auch zur Reduktion der CGRP Ausschüttung (siehe Kapitel 1.2.1).

In unseren Untersuchungen gelang es weder mit der in den vorherigen Untersuchungen eingesetzten GTN Dosierungen noch mit einer 25-fach höhern GTN Dosierung (50μg/kg/min) oder einem anderen NO-Donator (DEA-NONOate) eine CGRP Ausschüttung im Jugularvenenblut während der ersten Stunde nach GTN Infusion oder noch zu späteren Zeitpunkten (4 und 6 h) nachzuweisen.

Unserer Ansicht nach deutet dies daraufhin, dass die GTN induzierte Migräneattacke über CGRP unabhängige Mechanismen ausgelöst wird. Dieses negative experimentelle Resultat wird unterstützt z.B. durch Untersuchungen an Patienten mit einem Spannungskopfschmerz (Ashina et al., 2001). Auch hier führt die Infusion von Nitroglycerin zu einem typische Spannungskopfschmerz, der jedoch im Patienten auch nicht von einem CGRP Anstieg begleitet wird, welches die Hypothese eines CGRP unabhängigen Mechanismus in der Genese des NO induzierten Kopfschmerzen unterstützt. Bisher gelang es nur in einer *in vitro* Präparation des Ratten Schädels (Hemikraniektomie) eine Ausschüttung von CGRP nach der Inkubation mit NO-Donatoren zu zeigen (Strecker et al., 2002).

Humane Daten zur CGRP Ausschüttung während GTN-induzierter Akutkopfschmerzen oder verzögerten Migräneattacken liegen bisher nicht vor.

Mit dieser Arbeit gelang es uns eine mögliche pathophysiologische Basis für die Entstehung des GTN induzierten verzögerten Migräne-Kopfschmerz zu zeigen. Darüber hinaus könnte die Generierung von NOS Typ II auch für die Entstehung spontaner Migräneattacken von Bedeutung sein. Die Darstellung des NFκB-NOS Typ II Transkriptionswegs identifizierte möglicherweise neue Ziele in der prophylaktischen Behandlung der Migräne (Waeber und Moskowitz, 2003).

1.6.4 Konsequenzen einer häufigen Behandlung mit Triptanen

In einem klinisch orientierten Ansatz haben wir uns mit den Effekten einer repetitive Triptanapplikation in einem tierexperimentellen Model beschäftigt.
Triptane gehören heute zur Standardtherapie in der Behandlung der Migräneattacke und des Clusterkopfschmerzes. Dabei werden diese 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptor Agonisten im Besonderen beim Clusterkopfschmerz mehrfach am Tag und viele Tage hintereinander eingenommen, zumeist ohne ihre Wirkung in diesen Patienten zu verlieren (Centonze et al., 2000). Im Kontrast hierzu gibt es Patientengruppen, die einen sog. medikamenteninduzierten Kopfschmerz nach häufiger Triptaneinnahme entwickeln. Diese Phänomen wird auch bei zu häufiger Einnahme anderer Analgetika (nicht–steroidale anti-inflammatorischen Substanzen, Ergotamine) beim Kopfschmerzpatienten beobachtet (Katsarava et al., 2001). Eine wiederholte, übermäßig häufige Einnahme von Triptanen kann in diesen Patienten dazu führen, dass diese ihre Wirkung verlieren, d.h. es kommt zu keiner Reduktion des Kopfschmerzes. Dies könnte durch eine Desensibilisierung von 5-HT_1 Rezeptoren oder deren verminderte Expression bedingt sein (Borgland, 2001).
Wir haben im Rattenexperiment untersucht, ob eine wiederholte Triptangabe zur Änderung der Serotonin Rezeptoren (5-$HT_{1B/1D/1F}$) mRNA Expression führt und uns hierbei auf Gewebe konzentriert, die eine Bedeutung in der Pathogenese des Migräne-Kopfschmerzes bzw. in der Entstehung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen von Triptanen haben. Diese sind die Dura mater, das Ganglion trigeminale, die Koronararterien und die A. basilaris.
Zudem untersuchten wir in etablierten Funktionsuntersuchungen, ob die Eigenschaften dieser 5-HT_1 Serotonin Rezeptoren durch eine repetitive Stimulation attenuiert werden. Dazu verabreichten wir zweimal täglich entweder Sumatriptan 300μ/kg oder Zolmitriptan 100 μg/kg oder Vehikel (Cyclodextran) über 14-17 Tage in einem Volumen von 100 μl. Wir wählten diese beiden Triptane aufgrund ihrer unterschiedlichen Fähigkeit zur Penetration der Blut Hirn Schranke aus, wobei Zolmitriptan diese im Gegensatz zu Sumatriptan unter physiologischen Bedingungen penetriert (Kaube et al., 1993; MacLennan et al., 1998).

In den funktionellen Untersuchungen konnten wir nach der zweiwöchigen Behandlung mit beiden Triptanen keine Veränderungen zwischen den 3 Gruppen feststellen. Im Model der unilateralen trigeminalen Ganglienstimulation war die Inhibition der duralen Plasmaproteinextravasation durch Sumatriptan nicht verändert nach vorheriger repetitiver Triptanapplikation im Vergleich zu unbehandelten oder mit Vehikel behandelten Ratten.
Auch die kontraktile Antwort der Koronararterien und der A. basilaris auf die Applikation von Serotonin und den selektiven 5-HT_1 Rezeptor Agonisten 5-carboxyamidotryptamin (5-CT) war nur im maximalen Stimulationsbereich gering reduziert, jedoch im relevanten physiologischen Bereich (ED_{50}) nicht verändert. Wir untersuchten am Beispiel der Substantia nigra zusätzlich die intrakranielle Bindungsaktivität von 5-HT_1 Rezeptoren mit Hilfe von GTPγS. Die Substantia nigra ist eine Region im Gehirn die besonders reich mit Serotonin Rezeptoren ausgestattet ist. Sie dient exemplarisch als Beispiel für andere Regionen wie z.B. den Trigeminuskern, der im Kontext von Kopfschmerzen eine wesentlich höhere Bedeutung hat. Dieser kann jedoch aufgrund technischer Schwierigkeiten in diesem Verfahren (GTPγS Bindung) nicht untersucht werden (Waeber und Moskowitz, 1997). Auch in diesem Verfahren konnten wir keinen Unterschied zwischen mit Triptanen behandelten und Vehikel behandelten Ratten sehen.
Zusammengefasst waren keine Unterschiede in den funktionellen Untersuchungen nach zweiwöchiger repetitiver Applikation von Triptanen zu beobachten.

Mit Hilfe der PCR konnten wir zeigen, dass nur im Ganglion trigeminale die Expression von 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptoren nach Gabe von Zolmitriptan und Sumatriptan signifikant reduziert ist. Darüber hinaus war eine sehr geringe Reduktion von 5-HT_{1B} und 5-HT_{1D} mRNA in der A. basilaris zu beobachten. Diese mRNA Reduktionen waren jedoch funktionell nicht von Bedeutung. Gründe hierfür könnten eine Reduktion der mRNA sein, die sich translational jedoch nicht auf die Proteineben überträgt. Dieses könnte z.B. mit einem Überschuss an Rezeptor mRNA erklärt werden.
Zusammenfassend haben wir beobachtet, dass eine repetitive Triptan Applikation in den von uns untersuchten Verfahren funktionell ohne Bedeutung war. Unsere Beobachtungen deuten daraufhin, dass ein medikamenteninduzierter

Kopfschmerz oder eine nachlassende Wirkung von Triptanen bei übermäßiger Triptan Einnahme nicht durch eine 5-HT_1 Rezeptor Desensibilisierung oder verminderte 5-HT_1 mRNA Rezeptor Expression bedingt sind.

1.7 Folgerung und Ausblick

Die Migräne basiert klinisch auf zentralen Charakteristika zu denen ohne Zweifel der Kopfschmerz gehört. Darüber hinaus kommt es bei einer Untergruppe der Erkrankung, in den allermeisten Fällen stereotyp vor dem Begin des Kopfschmerzes, zum Auftreten einer Migräne-Aura. Als pathophysiologisches Korrelat des Schmerzes kann die Aktivierung des trigeminalen Nervensystems und eine durale Inflammation angesehen werden. Als gesichert gilt zudem, dass die Cortical Spreading Depression das einer Aura zugrunde liegende pathophysiologische Phänomen ist.

In unseren Forschungsarbeiten haben wir uns darauf konzentriert Mechanismen der Initiierung des Migräne-Kopfschmerzes in tierexperimentellen Modellen zu untersuchen und können in Beantwortung der eingangs gestellten Fragen feststellen:

1) Die Cortical Spreading Depression, ein hirneigenes intrinsisches Phänomen, ist in der Lage das gleichseitige trigeminale Nervensystem zu stimulieren. Diese Aktivierung trägt wesentlich zur Entstehung des akuten transienten Anstiegs des CSD induzierten kortikalen Blutflusses bei. Darüber hinaus mündet diese trigeminale Aktivierung in einer Serie von Ereignissen in der Dura mater, die vereinbar sind mit der Entwicklung eines Kopfschmerzes. Mit dieser Arbeit ist es erstmals gelungen, eine mögliche pathophysiologische Verbindung zwischen Aura und Migräne-Kopfschmerz aufzuzeigen.

2) In Anlehnung an das Nitroglycerin – Migränemodell im Patienten konnten wir folgendes zeigen: Eine Nitroglycerin Infusion in der Ratte führt zur Generierung einer verzögerten inflammatorischen Antwort in der Dura mater. Diese besteht u.a. aus einer Expression von NOS Typ II in duralen Makrophagen, verzögerter NO Produktion, Mastzelldegranulation und einer verzögerten Extravasation von Plasmaproteinen und könnte als

pathophysiologisches Korrelat des GTN induzierten Migräne-Kopfschmerzes angesehen werden.

3) Nitroglycerin führt in duralen Makrophagen zu einer transkriptionellen Aktivierung/Phosphorylierung von Kinasen (Iκκ, IκBα), die wiederum eine Stimulation von NFκB und subsequente Translokation der NFκB p65 Untereinheit vom Zytosol in den Zellkern zur Folge hat. Dies resultiert in einer NOS Typ II Expression. NFκB Translokation und NOS Typ II Expression könne durch Tanacetum parthenium inhibiert werden. Diese Untersuchungen sind die ersten, die eine transkriptionelle Kaskade aufdecken konnten, die in der Genese von Migräne-Kopfschmerzen von Bedeutung sein können.

4) Die wiederholte Einnahme von Triptanen führt in tierexperimentellen Studien nicht zu einer Reduktion der Serotonin 5-$HT_{1B/1D/1F}$ Rezeptor abhängigen Funktionen in experimentellen Paradigmen, die in der Genese von Kopfschmerzen relevant sind.

Unsere Ergebnisse liefern neue Ansätze in der akuten und prophylaktischen Behandlung von Migräne-Kopfschmerzen. Hierbei ist es vorstellbar, dass für die Migräne mit Aura eine medikamentöse Intervention entwickelt werden kann, die auf einer Unterbrechung der CSD beruht oder die CSD induzierte Aktivierung des trigeminalen Schmerzsystems verhindert. Eine solche Therapie würde möglicherweise das Auftreten des Kopfschmerzes nach einer Aura verhindern und stellt einen innovativen Ansatz in der Migränetherapie dar.
Ebenso offeriert die Identifikation von Transkriptionsfaktoren in dem Nitroglycerin Model neue Ziele für die prophylaktischen Behandlung der Migräne.

Aus unseren Untersuchungen zur repetitiven Triptanbehandlung kann die zusätzliche Sicherheit für Patienten abgeleitet werden, dass eine limitierte, wiederholte Anwendung von Triptanen zur Behandlung von Migräneattacken zu keinem Wirkungsverlust dieser Substanzklasse führt. Es soll jedoch keinesfalls

ein unlimitierter Triptangebrauch mit dieser Untersuchung gerechtfertigt oder befürwortet werden.

In unseren zukünftigen experimentellen Studien beabsichtigen wir, Mechanismen zu identifizieren, über die Nitroglycerin zur Aktivierung des trigeminalen Schmerzsystems führt. Hierzu wollen wir u.a. Untersuchungen in primären trigeminalen neuronalen Zellkulturen durchführen.

Literaturverzeichnis

(1) **Akerman S, Williamson DJ, Kaube H, Goadsby PJ** (2002) Nitric oxide synthase inhibitors can antagonize neurogenic and calcitonin gene-related peptide induced dilation of dural meningeal vessels. *Br. J. Pharmacol*.;137: 62-8.

(2) **Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, Schifter S, Olesen J** (2001) Calcitonin gene-related peptide levels during nitric oxide-induced headache in patients with chronic tension-type headache. *Eur J Neurol*.;8: 173-8.

(3) **Bari F, Paprika D, Jancso G, Domoki F** (2000) Capsaicin-sensitive mechanisms are involved in cortical spreading depression-associated cerebral blood flow changes in rats. *Neurosci Lett*.;292: 17-20.

(4) **Bjornsson A, Gudmundsson G, Gudfinnsson E, Hrafnsdottir M, Benedikz J, Skuladottir S, Kristjansson K, Frigge ML, Kong A, Stefansson K, Gulcher JR** (2003) Localization of a Gene for Migraine without Aura to Chromosome 4q21. *Am J Hum Genet*.;73: 986-93.

(5) **Borgland SL** (2001) Acute opioid receptor desensitization and tolerance: is there a link? *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28: 147-54.

(6) **Bowyer SM, Aurora KS, Moran JE, Tepley N, Welch KM** (2001) Magnetoencephalographic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura. *Ann Neurol*.;50: 582-7.

(7) **Bradley DP, Smith MI, Netsiri C, Smith JM, Bockhorst KH, Hall LD, Huang CL, Leslie RA, Parsons AA, James MF** (2001) Diffusion-weighted MRI used to detect in vivo modulation of cortical spreading depression: comparison of sumatriptan and tonabersat. *Exp Neurol*.;172: 342-53.

(8) **Buzzi MG, Sakas DE, Moskowitz MA** (1989) Indomethacin and acetylsalicylic acid block neurogenic plasma protein extravasation in rat dura mater. *Eur J Pharmacol* ;165: 251-8.

(9) **Buzzi MG, Moskowitz MA** (1990) The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol*.;99: 202-6.

(10) **Cader ZM, Noble-Topham S, Dyment DA, Cherny SS, Brown JD** (2003) Significant linkage to migraine with aura on chromosome 11q24. *Hum Mol Genet*.;12: 2511-7.

(11) **Centonze V, Bassi A, Causarano V, Dalfino L, Cassiano MA, Centonze A, Fabbri L, Albano O** (2000) Sumatriptan overuse in episodic cluster headache: lack of adverse events, rebound syndromes, drug dependence and tachyphylaxis. *Funct Neurol*.15: 167-70.

(12) **Colasanti M, Suzuki H** (2000) The dual personality of NO. *Trends Pharmacol Sci.;*21(7): 249-52.

(13) **Cutrer FM, Sorensen AG, Weisskoff RM, Ostergaard L, Sanchez del Rio M, Lee EJ, Rosen BR, Moskowitz MA** (1989) Perfusion-weighted imaging defects during spontaneous migrainous aura. *Ann Neurol*.;43: 25-31.

(14) **Diener HC** (2003) RPR100893 Study Group. RPR100893, a substance-P antagonist, is not effective in the treatment of migraine attacks. *Cephalalgia*.;23: 183-5.

(15) **Diener HC, Limmroth V** (1999) Acute management of migraine: triptans and beyond. *Curr Opin Neurol.;*12: 261-7.

(16) **Diener HC** (1999) Efficacy and safety of intravenous acetylsalicylic acid lysinate compared to subcutaneous sumatriptan and parenteral placebo in the acute treatment of migraine. A double-blind, double-dummy, randomized, multicenter, parallel group study. The ASASUMAMIG Study Group. *Cephalalgia.*;19: 581-8.

(17) **Diener HC** (2003) Pharmacological approaches to migraine. *J Neural Transm Suppl*. 2003;64: 35-63.

(18) **Dirnagl U, Niwa K, Lindauer U. Villringer A** (1994**)** Coupling of cerebral blood flow to neuronal activation: role of adenosine and nitric oxide. *Am. J. Physiol*.; 267:H296-301.

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

(20) **Dimitriadou V, Buzzi MG, Theoharides TC, Moskowitz MA** (1992) Ultrastructural evidence for neurogenically mediated changes in blood vessels of the rat dura mater and tongue following antidromic trigeminal stimulation. *Neuroscience*.;48: 187-203.

(21) **Dreier JP, Korner K, Ebert N, Gorner A, Rubin I, Back T, Lindauer U, Wolf T, Villringer A, Einhaupl KM, Lauritzen M, Dirnagl U** (1998) Nitric oxide scavenging by hemoglobin or nitric oxide synthase inhibition by N-nitro-L-arginine induces cortical spreading ischemia when K+ is increased in the subarachnoid space. *J Cereb Blood Flow Metab*.;18: 978-90.

(22) **Ducros A, Joutel A, Vahedi K, Cecillon M, Ferreira A, Bernard E, Verier A, Echenne B, Lopez de Munain A, Bousser MG, Tournier-Lasserve E** (1997) Mapping of a second locus for familial hemiplegic migraine to 1q21-q23 and evidence of further heterogeneity. *Ann Neurol*.;42: 885-90.

(23) **Dunn AK, Bolay H, Moskowitz MA, Boas DA** (2001) Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab*.;21: 195-201.

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

(25) **Edvinsson L, Hara H, Uddman R** (1989) Retrograde tracing of nerve fibers to the rat middle cerebral artery with true blue: colocalization with different peptides. *J Cereb Blood Flow Metab*.;9: 212-8.

(26) **Edvinsson L, Mulder H, Goadsby PJ, Uddman R** (1998) Calcitonin gene-related peptide and nitric oxide in the trigeminal ganglion: cerebral vasodilatation from trigeminal nerve stimulation involves mainly calcitonin gene-related peptide. *J Auton Nerv Syst.*;70:15-22.

(27) **Ferrari MD, Frants RR** (1996) Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca2+ channel gene CACNL1A4. *Cell*.;87: 543-52.

(28) **Ferrari MD, Roon KI, Lipton RB, Goadsby PJ** (2001) Oral triptans (serotonin 5-HT(1B/1D) agonists) in acute migraine treatment: a meta-analysis of 53 trials. *Lancet.*;358: 1668-75.

(29) **Fozard JR** (1995) The 5-hydroxytryptamine-nitric oxide connection: the key link in the initiation of migraine? *Arch Int Pharmacodyn Ther.*;329: 111-9.

(30) **Fozard JR, Kalkman HO** (1994) 5-Hydroxytryptamine (5-HT) and the initiation of migraine: new perspectives. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*.;350: 225-9.

(31) **Gallai V, Floridi A, Mazzotta G, Codini M, Tognoloni M, Vulcano MR, Sartori M, Russo S, Alberti A, Michele F, Sarchielli P** (1996) L-arginine/nitric oxide pathway activation in platelets of migraine patients with and without aura. *Acta Neurol Scand*;94: 151–60.

(32) **Gardner K, Barmada MM, Ptacek LJ, Hoffman EP** (1997) A new locus for hemiplegic migraine maps to chromosome 1q31. *Neurology.*;49: 1231-8.

(33) **Giffin NJ, Ruggiero L, Lipton RB, Silberstein SD, Tvedskov JF, Olesen J, Altman J, Goadsby PJ, Macrae A** (2003) Premonitory symptoms in migraine: An electronic diary study. *Neurology*.;60: 935-40.

(34) **Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R** (1988) Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol*.;23: 193-6.

(35) **Goadsby PJ, Edvinsson L** (1993) The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol*.;33: 48-56.

(36) **Goadsby PJ** (1993) Inhibition of calcitonin gene-related peptide by h-CGRP(8-37) antagonizes the cerebral dilator response from nasociliary nerve stimulation in the cat. *Neurosci Lett*.;151: 13-6.

(37) **Hadjikhani N, Sanchez Del Rio M, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, Kwong KK, Cutrer FM, Rosen BR, Tootell RB, Sorensen AG, Moskowitz MA** (2001) Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*.;98: 4687-92.

(38) **Headache Classification Committee of the International Headache Society** (1998) Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia*.;8 Suppl 7: 1-96.

(39) **Headache Classification Committee of the International Headache Society** (2004) The international classification of headache disorders. *Cephalalgia.*;24 Suppl 1: 1-150.

(40) **Hoskin KL, Bulmer DC, Goadsby PJ** (1999) Fos expression in the trigeminocervical complex of the cat after stimulation of the superior sagittal sinus is reduced by L-NAME. *Neurosci. Lett*.,14: 173-6.

(41) **Jhee SS, Shiovitz T, Crawford AW, Cutler NR** (2001); Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the triptan antimigraine agents: a comparative review. *Clin Pharmacokinet*.;40: 189-205.

(42) **Johnson KW, Nelson DL, Dieckman DK, Wainscott DB, Lucaites VL, Audia JE, Owton WM, Phebus LA** (2003) Neurogenic dural protein extravasation induced by meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) involves nitric oxide and 5-HT2B receptor activation. *Cephalalgia.;23: 117-123.*

(43) **Jones KW, Ehm MG, Pericak-Vance MA, Haines JL, Boyd PR, Peroutka SJ** (2001) Migraine with aura susceptibility locus on chromosome 19p13 is distinct from the familial hemiplegic migraine locus. *Genomics*.;78: 150-4.

(44) **Jones MG, Lever I, Bingham S, Read S, McMahon SB, Parson A** (2001) Nitric oxide potentiates response of trigeminal neurons to dural or facial stimulation in the rat. *Cephalalgia.*;21: 643-55.

(45) **Katsarava Z, Diener HC, Limmroth V** (2001) Medication overuse headache: a focus on analgesics, ergot alkaloids and triptans. *Drug Saf* ;24: 921-7.

(46) **Kaube H, Hoskin KL, Goadsby PJ** (1993) Inhibition by sumatriptan of central trigeminal neurones only after blood-brain barrier disruption. *Br J Pharmacol.;*109: 788-92.

(47) **Kavuk I, Katsarava, Z, Diener H-C**, (2003) Epidemiologie von Kopfschmerzen; in Diener H-*C Referenzreihe Neurologie*:Kopfschmerz: 10-16.

(48) **Kojima H, Nakatsubo N, Kikuchi K, Kawahara S, Kirino Y, Nagoshi H, Hirata Y, Nagano T** (1998) Detection and imaging of nitric oxide with novel fluorescent indicators: diaminofluoresceins. *Anal Chem*.;70: 2446-53.

(49) **Kunkler PE, Kraig RP** (2003) Hippocampal spreading depression bilaterally activates the caudal trigeminal nucleus in rodents. *Hippocampus*;13: 835-44.

(50) **Kwok BH, Koh B, Ndubuisi MI, Elofsson M, Crews CM** (2001) The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb Feverfew directly binds to and inhibits IkappaB kinase. *Chem Biol.;*8: 759-66.

(51) **Lambert GA, Donaldson C, Boers PM, Zagami AS** (2000) Activation of trigeminovascular neurons by glyceryl trinitrate. *Brain Res*.;887: 203-10.

(52) **Lambert GA, Michalicek J, Storer RJ, Zagami AS** (1999) Effect of cortical spreading depression on activity of trigeminovascular sensory neurons. *Cephalalgia*.;19: 631-8.

(53) **Laroux FS, Lefer DJ, Kawachi S, Scalia R, Cockrell AS, Gray L, Van der Heyde H, Hoffman JM, Grisham MB** (2000) Role of nitric oxide in the regulation of acute and chronic inflammation. *Antioxid Redox Signal*.;2: 391-6.

(54) **Lassen NA** (1968) Brain extracellular pH: the main factor controlling cerebral blood flow. Scand. *J.Clin. Lab. Invest*.; 22: 247-251.

(55) **Lassen LH, Ashina M, Christiansen I, Ulrich V, Olesen J** (1997) Nitric oxide synthase inhibition in migraine. *Lancet*.;349: 401-2.

(56) **Lashley KS** (1941) Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine. *Arch Neurol Psychiatry* ;46: 331-9.

(57) **Leao AAP** (1944) Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol.*;7: 359-390.

(58) **Leao AAP**, Morison RS (1945) Propagation of spreading cortical depression. *J Neurophysiol* ;8: 33-45.

(59) **Lee WS, Moskowitz MA** (1993) Conformationally restricted sumatriptan analogues, CP-122,288 and CP-122,638 exhibit enhanced potency against neurogenic inflammation in dura mater. *Brain Res.*;626: 303-5.

(60) **Limmroth V, Katsarava Z, Liedert B, Guehring H, Schmitz K, Diener HC, Michel MC** (2001) An in vivo rat model to study calcitonin gene related peptide release following activation of the trigeminal vascular system. *Pain.*;92: 101-6.

(61) **Logothetis NK** (2003) The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *Neurosci*.;23: 3963-71.

(62) **MacLennan SJ, Cambridge D, Whiting MV, Marston C, Martin GR** (1998) Cranial vascular effects of zolmitriptan, a centrally active 5-HT1B/1D receptor partial agonist for the acute treatment of migraine. *Eur J Pharmacol*.;361: 191-7.

(63) **Markowitz S, Saito K, Moskowitz MA** (1987) Neurogenically mediated leakage of plasma protein occurs from blood vessels in dura mater but not brain. *J Neurosci*.;7:4129-36.

(64) **Marrannes R, Willems R, De Prins E, Wauquier A** (1988**)** Evidence for a role of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in cortical spreading depression in the rat. *Brain Res*.;457:226-40.

(65) **Mayberg M, Langer RS, Zervas NT, Moskowitz MA** (1981) Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headaches in man. *Science.*;213: 228-230.

(66) **McMenamin PG** (1999) Distribution and phenotype of dendritic cells and resident tissue macrophages in the dura mater, leptomeninges, and choroid plexus of the rat brain as demonstrated in wholemount preparations. *J Comp Neurol*.;405: 553-62.

(67) **Mylecharane EJ** (1991) 5-HT2 receptor antagonists and migraine therapy. *J Neurol.*;238 Suppl 1: 45-52.

(68) **Millner PM** (1958) Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and sprerading depession of Leao. *Electroencephalograph Clin Neurophysiol.*;10: 705.

(69) **Mitsikostas DD, Sanchez del Rio M** (2001) Receptor systems mediating c-fos expression within trigeminal nucleus caudalis in animal models of migraine. *Brain Res Brain Res Rev*.;35: 20-35.

(70) **Moncada S** "Ottorino Rossi" Award 1997. The biology of nitric oxide. *Funct Neurol.*;12: 134-40.

(71) **Moskowitz MA, Nozaki K, Kraig RP** (1993) Neocortical spreading depression provokes the expression of c-fos protein-like immunoreactivity within trigeminal nucleus caudalis via trigeminovascular mechanisms. *J Neurosci*.;13: 1167-77.

(72) **Nyholt DR, Curtain RP, Griffiths LR** (2000) Familial typical migraine: significant linkage and localization of a gene to Xq24-28. *Hum Genet*.;107: 18-23.

(73) **Olesen J, Larsen B, Lauritzen M** (1981) Focal hyperemia followed by spreading oligemia and impaired activation of rCBF in classic migraine. *Ann Neurol.*;9: 344-52.

(74) **Olesen J, Iversen HK, Thomsen LL** (1993) Nitric oxide supersensitivity: a possible molecular mechanism of migraine pain. *Neuroreport.*;4: 1027-30.

(75) **Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Lamerdin JE, Mohrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, Hofker MH, Ferrari MD, Frants RR** (1996) Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca2+ channel gene CACNL1A4. *Cell.*;87: 543-52.

(76) **Papagallo M, Szabo Z, Esposito G** (1999) maging Neurogenic Inflammation in Patients with Migraine Headaches. *Neurology.;*52: A274-A275.

(77) **Pardutz A, Krizbai I, Multon S, Vecsei L, Schoenen J** (2000) Systemic nitroglycerin increases nNOS levels in rat trigeminal nucleus caudalis. *Neuroreport.;*11: 3071-5.

(78) **O.B. Paulson and E.A. Newman** (1987) Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate cerebral blood flow. *Science.;*237, 896-898.

(79) **Piper RD, Edvinsson L, Ekman R, Lambert GA** (1993) Cortical spreading depression does not result in the release of calcitonin gene-related peptide into the external jugular vein of the cat: relevance to human migraine. *Cephalalgia*.;13: 180-3.

(80) **Pittler MH, Vogler BK, Ernst E** (2000) Feverfew for preventing migraine. *Cochrane Database Syst Rev*.;3: CD002286.

(81) **Rasmussen BK, Olesen J** (1992) Migraine with aura and migraine without aura: an epidemiological study. *Cephalalgia*.;12: 221-8.

(82) **Ray BS, Wolff HG** (1940) Experimental studies and headache. Pain sensitive structures of the head and their significance in headache. *Arch Surg*.;41: 813-857.

(83) **Rebeck GW, Maynard KI, Hyman BT, Moskowitz MA** (1994) Selective 5-HT1D alpha serotonin receptor gene expression in trigeminal ganglia: implications for antimigraine drug development. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;91: 3666-9.

(84) **Reuter U, Sanchez del Rio M, Moskowitz MA** (2000) Experimental models of migraine. Funct Neurol.;15 Suppl 3: 9-18.

(85) **Russell MB, Iversen HK, Olesen J** (1994) Improved description of the migraine aura by a diagnostic aura diary. *Cephalalgia.*;14: 107-17.

(86) **Sarchielli P, Tognoloni M, Russo S, Vulcano MR, Feleppa M, Mala M, Sartori M, Gallai** (1996) Variations in the platelet arginine/nitric oxide pathway during the ovarian cycle in females affected by menstrual migraine. *Cephalalgia.*;16: 468–75.

(87) **Schmuck K, Ullmer C, Kalkman HO, Probst A, Lubbert H** (1996) Activation of meningeal 5-HT2B receptors: an early step in the generation of migraine headache? *Eur J Neurosci*.;8: 959-67.

(88) **Shimomura T, Murakami F, Kotani K, Ikawa S, Kono S** (1999) Platelet nitric oxide metabolites in migraine*. Cephalalgia.;*19: 218–22.

(89) **Somjen GG** (2001) Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. *Physiol Rev*.;81:1065-96.

(90) **Stepien A, Chalimoniuk M Stepien A, Chalimoniuk M** (1998) Level of nitric oxide-dependent cGMP in patients with migraine. *Cephalalgia.*;18: 631–4.

(91) **Strecker T, Dux M, Messlinger K** (2002) Nitric oxide releases calcitonin-gene-related peptide from rat dura mater encephali promoting increases in meningeal blood flow. *J Vasc Res*.;39: 489-96.

(92) **Suzuki N, Hardebo JE, Kahrstrom J, Owman C** (1990) Effect on cortical blood flow of electrical stimulation of trigeminal cerebrovascular nerve fibres in the rat. *Acta Physiol Scand.*;138: 307-16.

(93) **Suzuki N, Hardebo JE, Kahrstrom J, Owman C** (1990) Selective electrical stimulation of postganglionic cerebrovascular parasympathetic nerve fibers originating from the sphenopalatine ganglion enhances cortical blood flow in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*.;10: 383-91.

(94) **Tassorelli C, Joseph SA** (1995) Systemic nitroglycerin induces Fos immunoreactivity in brainstem and forebrain structures of the rat. *Brain Res*.;682: 167-81.

(95) **The Diclofenac-K/Sumatriptan Migraine Study Group** (1999) Acute treatment of migraine attacks: efficacy and safety of a nonsteroidal anti-inflammatory drug, diclofenac-potassium, in comparison to oral sumatriptan and placebo. *Cephalalgia*.;19: 232-40.

(96) **The Subcutaneous Sumatriptan International Study Group** (1991) Treatment of migraine attacks with sumatriptan. *N Engl J Med*.;325: 316-21.

(97) **Theoharides TC** (1996) The mast cell: a neuroimmunoendocrine master player. *Int J Tissue React*.;18: 1-21.

(98) **Trainor DC, Jones RC** (1966) Headaches in explosive magazine workers. *Arch Environ Health*.;12: 231–4.

(99) **Uddman R, Edvinsson L, Ekman R, Kingman T, McCulloch J** (1985) Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: trigeminal origin and co-existence with substance P. *Neurosci Lett.*;62: 131-6.

(100) **Uhl GR, Walther D, Nishimori T, Buzzi MG, Moskowitz MA** (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: 133-41.

(101) **Waeber C, Moskowitz MA** (1998) 5-Hydroxytryptamine1A and 5-hydroxytryptamine1B receptors stimulate [35S]guanosine-5'-O-(3-thio)triphosphate binding to rodent brain sections as visualized by in vitro autoradiography. *Mol Pharmacol*.;52: 623-31.

(102) **Waeber C, Moskowitz MA** (2003) Therapeutic implications of central and peripheral neurologic mechanisms in migraine. *Neurology*.;61: S9-S20.

(103) **Wessman M, Kallela M, Kaunisto MA, Marttila P, Sobel E, Hartiala J, Oswell G, Leal SM, Papp JC, Hamalainen E, Broas, P, Joslyn G, Hovatta I, Hiekkalinna T, Kaprio J, Ott J, Cantor RM, Zwart JA, Ilmavirta M, Havanka H, Farkkila M, Peltonen L, Palotie A** (2002) A susceptibility locus for migraine with aura, on chromosome 4q24. *Am J Hum Genet*.;70: 652-62.

(104) **Williamson DJ, Hargreaves RJ** (2001) Neurogenic inflammation in the context of migraine. *Microsc Res Tech.;*53: 167-78

(105) **Woods RP, Iacoboni M, Mazziotta JC** (1994) Brief report: bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N Engl J Med*.;331:1689-92.

(106) **Wolf T, Lindauer U, Villringer A, Dirnagl U** (1997) Excessive oxygen or glucose supply does not alter the blood flow response to somatosensory stimulation or spreading depression in rats. *Brain Res*.;761: 290-9.

(107) **Wolff HG** (1963) Headache and other head pain. New York: Oxford University Press.

Danksagung

Herrn Professor Karl M. Einhäupl und Herrn Professor Ulrich Dirnagl möchte ich für die grosszügige Förderung, die Unterstützung und das entgegengebrachte Vertrauen herzlich danken.

Herrn PD Dr. Guy Arnold danke ich für seine Unterstützung in klinischen Fragestellungen und seine überaus konstruktive und kritische Begleitung meines bisherigen klinischen und wissenschaftlichen Werdegangs.

Herrn Prof. Michael A. Moskowitz möchte ich sehr herzlich danken. Er hat meinen wissenschaftlichen Werdegang entscheidend geprägt.

Mein besonderer Dank gilt den ehemaligen und gegenwärtigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe „Kopfschmerz“: Den Postgraduierten Nikolas Offenhauser, Karsten Böhnke, Dr. M. Forgon und Tina Zinck; den Doktoranden Jan Hoffmann, Katharina Schiemann und Swantje Sieck sowie den Medizinisch Technischen Assistentinnen Frau Sonja Blumenau und Frau Anna Hegele. Vielen Dank für Euer Engagement.

Herrn Dr. Christian Waeber (Assistant Professor of Neurology), Frau Dr. Sigrid Schuh-Hofer, Frau Dr. Margarita Sanchez del Rio, Frau Dr. Hayrunnisa Boley, Frau Dr. Inger Jansen-Olesen, Herrn PD Dr. Jens Dreier, Herrn Dr. Alberto Chiaruggi sage ich Dank für die wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Allen Mitarbeitern der Neurologischen Klinik der Charité und der Abteilung „Experimentelle Neurologie“ danke ich für die freundliche Aufnahme und das gute Betriebsklima.

Meiner Mutter und meiner Schwester Claudia danke ich für die emotionale Unterstützung in schwierigen Lagen.

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

gemäß Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;

- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,

- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 11.12.2003

2 Zusammenstellung wesentlicher Publikationen

A Wolf T., U. Lindauer, **U. Reuter**, T. Back, U. Dirnagl (1997) Noninvasive near infrared spectroscopy monitoring of regional cortical blood oxygenation changes during periinfarct depolarizations in experimental focal cerebral ischemia. J.-Cereb.-Blood-Flow and Metab 17: 950-954

B **Reuter U.**, L. Gold, J.R. Weber, G. Arnold, T. Wolf, J. Dreier, U. Lindauer, U. Dirnagl (1998) Locally triggered release of neurotransmitters from perivascular nerves contributes to cortical spreading depression associated hyperemia in rats. Am. J. Physiol.274: H 1979-H1987.

C Gold L., T. Back, G. Arnold, J.P. Dreier, **U. Reuter,** U. Dirnagl (1998) Cortical spreading depression associated hyperemia in rats: involvement of serotonin. Brain Res. 783: 188-193.

D Arnold G., **U. Reuter**, S. Kinze, T. Wolf, K.M. Einhäupl (1998) Migraine with aura shows gadolinium enhancement, which is reversed following prophylactic treatment. Cephalalgia 18: 644-6.

E Dreier JP., N. Ebert, J Priller, D. Megow, U. Lindauer, R. Klee, **U. Reuter**, Y. Imai, KM. Einhaupl, I. Victorov, U. Dirnagl (2000) Products of hemolysis in the subarachnoid space inducing spreading ischemia in the cortex and focal necrosis in rats: a model for delayed ischemic neurological deficits after subarachnoid hemorrhage? J Neurosurg. 93:658-66.

F **Reuter U.**, H. Bolay, I. Jansen-Olesen, A. Chiarugi, MS. del Rio, R. Letourneau, TC. Theoharides, C. Waeber, MA Moskowitz (2001) Delayed inflammation in rat meninges: implications for migraine pathophysiology. Brain 124: 2490-2502.

G Hoffmann O., N. Keilwerth, M. Bastholm Bille, **U. Reuter**, K. Angstwurm, RR Schumann, U. Dirnagl, J R.Weber (2002) Triptans reduce the inflammatory response in bacterial meningitis. J Cereb Blood Flow Metab.22:988-96.

H Bolay H., **U. Reuter***, A. Dunn, Z. Huang, D. Boas, M. A. Moskowitz (2002) Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. Nat Med. 2002 8:136-42.
* gleichberechtigter Erstautor

I **Reuter U.**, A. Chiarugi, H. Bolay, M.A. Moskowitz (2002) Nuclear factor-kappaB as a molecular target for migraine therapy. Ann Neurol. 51: 507-16.

J **Reuter U.**, S. Salomone, GW. Ickenstein, C. Waeber (2003) Effects of chronic sumatriptan and zolmitriptan treatment on 5-HT $_1$ receptor expression and function in rats. Cephalalgia 23, proof

K **Reuter U.**, M. Sanchez Del Rio, J. Carpay, C: Boes, Silberstein S (2003) Placebo adverse events in headache trials: headache as an adverse event of placebo. Cephalalgia 23: 496-503.

L Sanchez del Rio M. and **U. Reuter** (2003) Pathophysiology of Headache. Curr Neurol Neurosci Rep 3: 109-114.