

Aus der Klinik für Neurologie
(Direktorin: Prof. Dr. med. Daniela Berg)
Sektion für Neurologische Schmerzforschung und -therapie

(Leiter: Prof. Dr. med. Ralf Baron)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**ETABLIERUNG KÄLTE-EVOZIERTER POTENTIALE ZUR TESTUNG
DER INTEGRITÄT DÜNN-MYELINISIERTER NERVENFASERN BEI
GESUNDEN PROBANDEN**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde einer Doktorin der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

ANNIKA NERDAL

aus Kiel

Kiel 2018

1. Berichterstatter: **PD Dr. Philipp Hüllemann**

2. Berichterstatter: **Prof. Dr. Dr. Lioba Baving**

Tag der mündlichen Prüfung: **25.04.2019**

Zum Druck genehmigt, Kiel, den **31.01.2019**

gez.: **Prof. Dr. Ralf Baron**

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1 Thermorezeption	2
1.2 A-delta- und C-Fasern	4
1.3 Evozierte Potentiale (EP)	5
1.4 Fragestellung und Hypothese der Arbeit.....	7
2. Material und Methoden.....	8
2.1 Rekrutierungen	8
2.2 Ethik und Aufklärung	8
2.3 Probandengruppierungen.....	9
2.4 Versuchsablauf	9
2.5 Einstellungen des Medoc Pathway Stimulator	11
2.6 CEP-Aufzeichnungen	12
2.6.1 CEP-Aufzeichnungen - <i>all trial average</i>	12
2.6.2 CEP-Aufzeichnungen - <i>best trial average</i>	13
2.7 A-Faserblock	14
2.8 Statistik.....	16
3. Ergebnisse.....	16
3.1 Kälte-evozierte Potentiale - <i>all trial average</i>	19
3.2 Kälte-evozierte Potentiale - <i>best trial average</i>	20
3.3 Kälte-evozierte Potentiale während des A-Faserblocks - Funktionsverlust	23
3.4 Kälte-evozierte Potentiale nach dem A-Faserblock - Funktionsregeneration	23
3.5 Nicht-sensible Areale der Handrücken nach A-Faserblock	25
3.6 Methodische Aspekte	26
3.6.1 Hauttemperatur der Probanden.....	26
3.6.2 Technisches Potential des Medoc Pathway Stimulator	26
3.6.3 A-Faserblock	28
4. Diskussion	28
4.1 <i>Best trial</i> Analyse Paradigma	28
4.2 Methodische Aspekte	29
4.3 Studienlimitationen	31
4.4 Vorteile von CEP-Aufnahmen bei der Beurteilung dünner Nervenfasern	31
5. Zusammenfassung.....	32
6. Literaturverzeichnis	34

7. Tabellenverzeichnis.....	40
8. Abbildungsverzeichnis.....	40
9. Anhang.....	41
9.1 Ethikvotum.....	41
9.2 Probandenaufklärung.....	43
10. Danksagung.....	47
11. Veröffentlichungen von Teilen dieser Arbeit.....	47

Abkürzungsverzeichnis

AMH	A-Faser-Mechano-Hitze-Nozizeptor
ANOVA	<i>analysis of variance</i> (Varianzanalyse)
CEP	<i>cold evoked potentials</i> (Kälte-evozierte Potentiale)
CHEPS	<i>contact heat evoked potentials</i> (Kontakt-Hitze-evozierte Potentiale)
C3, C4, C5, C6	<i>central</i> , Positionsnummer (Elektrodenposition nach 10-20 System)
Cz	<i>central zero</i> (Elektrodenposition nach 10-20 System)
dpi	<i>dots per inch</i> (Punktedichte)
EEG	Elektroenzephalographie
EOG	Elektrookulographie
Fz	<i>frontal zero</i> (Elektrodenposition nach 10-20 System)
LEP	Laser-evozierte Potentiale
N1	Erstes negatives Potential
N2	Zweites negatives Potential
NRS	Numerische Rating-Skala
n.s.	Nicht signifikant
Pz	<i>parietal zero</i> (Elektrodenposition nach 10-20 System)
QST	Quantitative sensorische Messung
SD	<i>standard deviation</i> (Standardabweichung)
T3, T4	<i>temporal</i> , Positionsnummer (Elektrodenposition nach 10-20 System)
TRP	<i>transient receptor potential</i>
TRPA1	<i>transient receptor potential</i> (ANKTM1-Unterfamilie)
TRPV1	<i>transient receptor potential</i> (Vanilloid-Rezeptor-Unterfamilie)
TRPM8	<i>transient receptor potential melastatin 8</i> (Melastatin-Unterfamilie)

1. Einleitung

Im somatosensorischen System des menschlichen Körpers sind verschiedene Rezeptoren und Nervenfasertypen für unterschiedliche Reizwahrnehmungen verantwortlich. Dazu gehören beispielsweise die Berührungs-, Kalt- und Warmwahrnehmung sowie das Schmerzempfinden. Nach Erlanger und Gasser werden Nervenfasern in verschiedene Fasergruppen eingeteilt, wobei man Thermoafferenzen und nozizeptive Afferenzen den schnellleitenden, dünnmyelinisierten A-delta- sowie den langsameren C-Fasern zuordnet (Klinke et al. 2005).

Viele Patienten leiden unter neuropathischen Schmerzen als Folge einer Läsion des somatosensorischen Systems (Jensen et al. 2011) oder Ausdruck einer Erkrankung, welche hauptsächlich das Nervensystem betrifft. Die Patienten klagen über spontane Schmerzereignisse, einschließenden Schmerz und/oder verstärktes Schmerzempfinden nach noxischen oder nicht-noxischen Stimuli.

In Ergänzung zum neurologischen Befund ist zur Objektivierung somatosensorischer Defizite oft ein bestätigendes Testverfahren nötig. In der klinischen Routine sind Testverfahren zur Prüfung des somatosensorischen Systems üblich, welche die Kältesensation häufig nicht einschließen (La Cesa et al. 2015).

Für den Nachweis von Pathologien dünner Nervenfasern und des spinothalamischen Trakts gelten Laser-evozierte Potentiale (LEPs) als die zuverlässigste Methode (Baumgärtner et al. 2012). Allerdings sind Laserstimulationen schmerzhaft für den Patienten und Aufnahmen von LEPs erfordern aufwändige Schutzmaßnahmen (Laserschutzbrillen, speziell gekennzeichnete Räume, Warnleuchten, usw.). Obwohl Laser-evozierte Potentiale als der „Gold-Standard“ in der Detektion von A-delta-Faser-Abnormitäten gelten (Haanpää et al. 2011), besteht eine diagnostische Lücke, was die kälteleitende A-delta-Faser Subklasse betrifft, deren Rezeptoren nicht mittels Laserhitzereizen stimuliert werden können. Vorangegangene Studien versuchten diese Lücke durch hohen technischen Aufwand zu überwinden (Chatt und Kenshalo, 1979; Duclaux et al. 1974), da eine standardisierte, kommerziell erhältliche Ableittechnik fehlte, die in der Lage war, selektiv A-delta-Faser-Kälterezeptoren zu reizen. Der Medoc Pathway Stimulator enthält eine Thermode, die in der Lage ist, sich in weniger als 0,5 Sekunden um 5°C abzukühlen, was die Aufzeichnung von reproduzierbaren Kälte-evozierten Potentialen (CEPs) ermöglicht. Die Aufzeichnung von CEPs hat verschiedene Vorteile: (A) CEPs sind non-invasiv und schmerzlos. (B) Es handelt sich um eine elektrophysiologische Methode, welche objektive Messungen sicherstellt, ohne auf die subjektive Beurteilung des Patienten angewiesen zu sein

(Baumgärtner et al. 2012). (C) Schutzmaßnahmen sind dabei nicht notwendig. (D) Es existieren zunehmend Hinweise, dass Kältewahrnehmung eine der ersten somatosensorischen Funktionen ist, die bei Patienten mit Neuropathien der dünnen Nervenfasern verändert sind (Maag et al. 2008; Uceyler et al. 2013). Bei dem Fabry-Syndrom wurde der frühe isolierte Funktionsverlust von Kältewahrnehmung wiederholt festgestellt (Schiffmann 2015).

In dieser Studie wurden CEPs bei sechzehn gesunden Probanden von Gesicht, Handrücken, Fußrücken und Fußsohle aufgezeichnet. Durch Anlegen eines A-Faser-Blocks am rechten Handgelenk sollten die Einsatzmöglichkeiten von CEPs zur Beurteilung von experimentell herbeigeführten A-Faser-Pathologien aufgezeigt werden.

1.1 Thermorezeption

Temperatur- sowie Schmerzwahrnehmung gehören zu den Oberflächensensibilitäten. Als Rezeptoren dienen freie Endigungen von Nervenzellen in der Dermis (Lederhaut), deren Perikaryen in den Spinalganglien oder in den Ganglien der Hirnnerven lokalisiert sind (pseudounipolare Nervenzellen) (Klinke et al. 2005). Durch deren Reizung kommt es zur Entstehung von elektrischen Potentialen, sogenannten Generatorpotentialen, in den spezifischen Sinnesrezeptoren. Die Zahl und die Frequenz der entstehenden Nervenaktionspotentiale sind dabei abhängig von der Höhe dieses Generatorpotentials. Axone übermitteln die afferenten Signale als unmyelinisierte, langsamer leitende C-Fasern (0,5-2 m/s) oder als dünn-myelinisierte, schneller leitende (10-30 m/s) A-delta-Fasern zum spinothalamischen Trakt. Im Gehirn werden die Impulse in der primär somatosensiblen Hirnrinde verarbeitet und weitergeleitet (Klinke et al. 2005).

Kälterezeptoren finden sich sowohl in behaarter als auch in unbehaarter Haut. Eine Kältesensation wird bei Erniedrigung der physiologischen Hauttemperatur um mehr als 1,5°C ausgelöst. Temperaturreize unter 20°C werden bei gesunden Personen als stechend oder als brennende Kälteschmerz-Sensation wahrgenommen (Baumgärtner et al. 2012).

In einer Nervenzellmembran befinden sich so genannte TRP-Kanäle (*transient receptor potential*), die als Ionenkanäle eine wesentliche Rolle bei der Thermorezeption im peripheren Nervensystem spielen. Diese Kanäle tragen zur Temperaturwahrnehmung über das gesamte Temperaturspektrum bei und sind auch bei der Schmerzsignalisierung von großer Bedeutung (McKemy 2005). Es handelt es sich um eine Gruppe von Ionenkanälen, von denen jeder sechs

Transmembranregionen aufweist, die eine zentrale Pore bilden (zwischen S5 und S6), welche unspezifisch durchlässig für Kationen ist. Bei einem Temperaturreiz können sich diese Kanäle derartig verändern, dass sie durchlässig für bestimmte Ionen, wie geladene Natrium- oder Kalziumionen, werden. Diese können nun durch die Membran strömen und dadurch das elektrische Potential der Zelle verändern. Der Kanal TRPM8 (*transient receptor potential melastatin 8*) wird durch niedrige Temperaturen (Kühlen unter ca. 26°C), elektrische Spannung und chemische Kühlmittel, die eine Kältesensation hervorrufen (z.B. Menthol, Icilin), aktiviert (Bautista et al. 2007). Bei einer Temperaturerniedrigung bis 8°C nehmen dabei die Impulsraten zu. Dieser Kanal reagiert bei unschädlichen und potenziell auch bei schädlichen Kältetemperaturen (McKemy 2005). Ein weiterer Kanal der TRP-Familie, der TRPA1, weist einige Gemeinsamkeiten mit dem bereits genannten TRPM8-Kanal auf. Diese beiden Kanäle werden in unterschiedlichen und sich nicht überschneidenden Populationen von sensorischen Afferenzen gefunden, wobei TRPA1-Kanäle lediglich in einigen Neuronen gefunden werden, welche gleichzeitig den hitzeleitenden Kanal TRPV1 exprimieren. Auch diese Neuronen können potenziell durch Kälte aktiviert werden. Eine Reizung des TRPA1-Kanals bedarf jedoch einer stärkeren Temperaturerniedrigung (McKemy 2005, Karashima et al. 2009) und wird daher eher der nozizeptiven Kälteempfindung zugeschrieben.

Kälterezeptoren registrieren Temperaturen von etwa 10-38°C. Die maximale Impulsrate der Kaltfasern befindet sich bei 23-28°C. Das Erhitzen über 45°C kann bei manchen Kaltfasern auch zu paradoxen Kälteantworten führen (Klinke und Brenner 2014). Hier können Kaltfasern wieder zunehmend mehr Aktivität zeigen. Dieses lässt sich durch die Anwesenheit von TRPV1-Rezeptoren erklären, die einige Kältefasern zusätzlich besitzen.

Temperaturen zwischen 31°C und 36°C liegen im Bereich der physischen Indifferenztemperatur. Hier sind sowohl Warm- als auch Kaltfasern aktiv. Diese Temperaturen werden als neutral empfunden, solange keine Temperaturveränderung auftritt (Deetjen und Alzheimer 2005; Klinke und Brenner 2014) (siehe **Abbildung 1**).

Ist eine Temperatur konstant, zeigen die Fasern ein tonisches Entladungsmuster, welches bei Änderung der Temperatur steigen oder fallen kann. Bei Abkühlung reagieren Kälterezeptoren mit einer überschießenden Impulszunahme (*overshoot*) und bei Erwärmung mit einer Impulsabnahme (*undershoot*) (McKemy 2005).

Die Rezeptoren reagieren bei einer Temperaturänderung mit einer kurzen phasischen Entladung, der eine längere tonische Aktivität folgt. Sie zeigen also eine PD-Charakteristik (Proportional-Differenzial-Rezeptor) (Klinke und Brenner 2014).

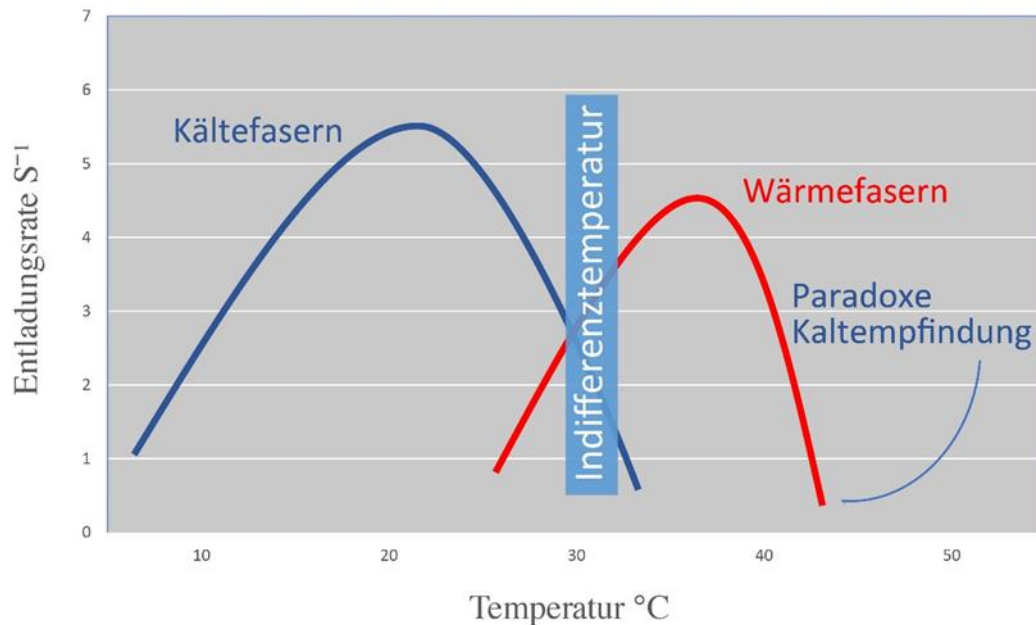


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Impulsraten von Kaltfasern, Warmfasern und Indifferenztemperatur (nach Deetjen 2005 und Speckmann und Hescheler 2004)

1.2 A-delta- und C-Fasern

Nervenfasern können anhand diverser Parameter in Gruppen unterteilt werden. Diese beziehen sich vor allem auf den Durchmesser, die Nervenleitgeschwindigkeit und die Myelinisierung. Erlanger und Gasser unterscheiden A-, B- und C-Fasern, wobei sowohl eine Untergruppe der A-Fasern, die A-delta-Fasern, als auch die C-Fasern thermische Reize leiten können (Klinke et al. 2005).

Bei den A-delta-Fasern handelt es sich um myelinisierte Nervenfasern mit saltatorischer Erregungsleitung (Wu et al. 2012). Da sich hier ein Aktionspotential fast verlustlos von einem Schnürring über ein Internodium zum nächsten Schnürring elektrotonisch ausbreitet, kommt es hier zu einer deutlichen Beschleunigung der Impulsausbreitung. C-Fasern hingegen weisen eine langsame Leitgeschwindigkeit auf, was auf den schmalen Durchmesser sowie auf die nicht vorhandene Myelinisierung zurückzuführen ist (Klinke et al. 2005).

Kälteempfindungen werden typischerweise über A-delta-Thermorezeptoren vermittelt, wohingegen Kälteschmerz meist durch marklose C-Fasern übermittelt wird (Lloyd et al. 2015). A-delta-Nozizeptoren benötigen Temperaturabfälle unter 0°C, C-Faser-Nozizeptoren registrieren Kälte bereits ab unter 30°C (Baumgärtner et al. 2012).

Faser	A-beta-Fasern	A-delta-Fasern	C-Fasern
Myelinisierung	myelinisiert	myelinisiert	Unmyelinisiert
Durchmesser (µm)	7-15	2-5	0,5-1,5
Leitgeschwindigkeit (m/s)	40-90	10-30	0,5-2
afferente Funktion	Mechanoafferenzen der Haut	Mechano-, Thermo- und nozizeptive Afferenzen aus Haut	Mechano-, Thermo und chemosensible Afferenzen aus Haut und tiefer gelegenen Strukturen

Tabelle 1: A-delta-Fasern, A-beta-Fasern, C-Fasern und ihre Eigenschaften (Lloyd et al. 2015)

1.3 Evozierte Potentiale (EP)

Die Auslösung evozierter Potentiale als diagnostische Methode erfolgt durch eine gezielte somatosensorische Reizsetzung. Die Potentiale lassen sich als das zeitliche Aufeinanderfolgen negativer und positiver Schwankungen des zwischen zweier Ableitelektroden bestehenden Differentialpotentials beschreiben. Eine relative Negativierung der differierten Elektrode zeigt einen Kurvenausschlag nach oben, eine Positivierung einen Ausschlag nach unten. Die größten Ausschläge werden als N (negativ) und P (positiv) bezeichnet. Messbar bei einem EP sind die Latenz und die Amplitude (siehe **Abbildung 2**).

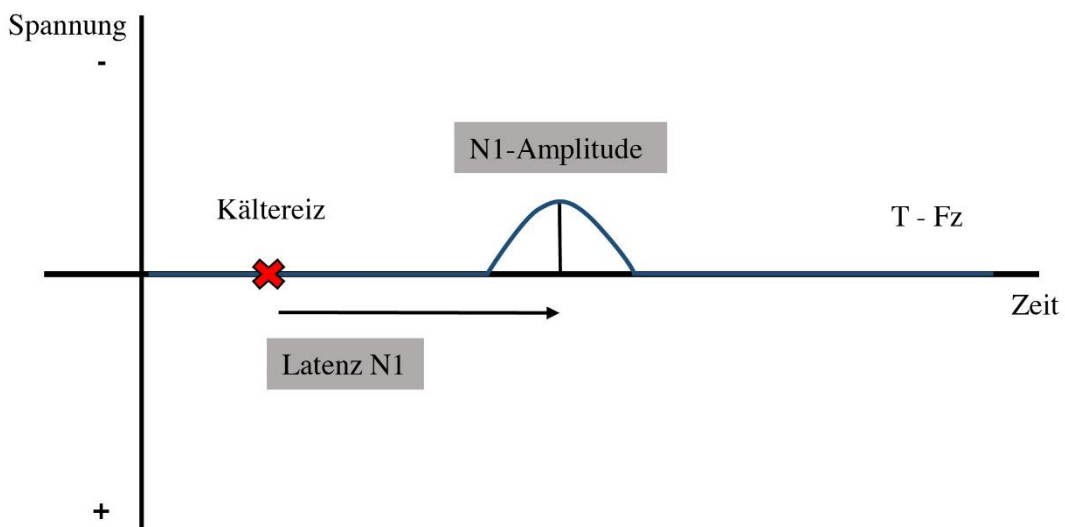
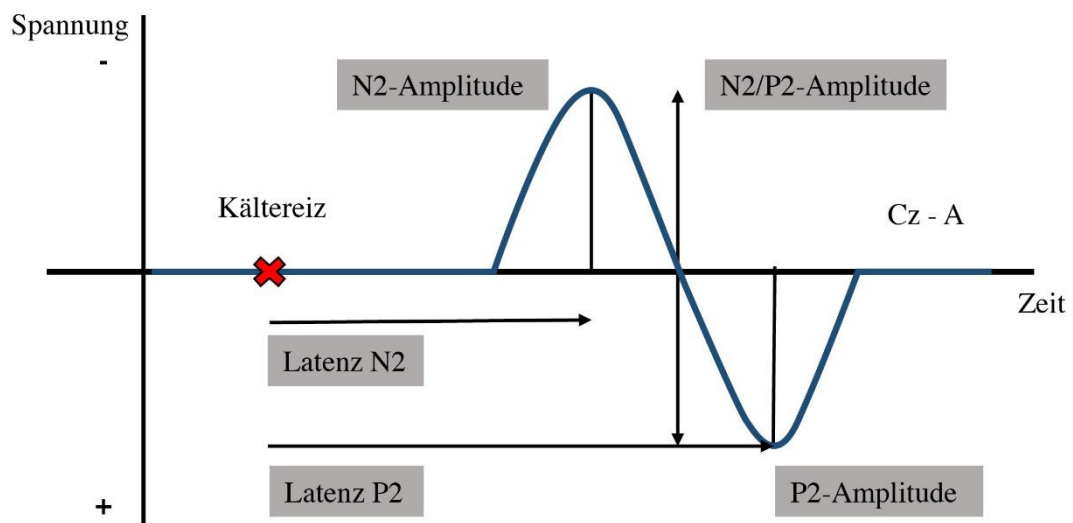


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Kälte-evozierten Potentials (modifiziert nach (Treede et al., 2003)). Negative N1-Auslenkung: frühe Komponente abgeleitet zwischen den temporalen Elektroden und Fz (T-Fz), negatives N2- und positives P2-Potential: späte Komponente abgeleitet zwischen Cz und den Ohren (Cz-A) (siehe auch **Abbildung 4**)

1.4 Fragestellung und Hypothese der Arbeit

Nervenfasern werden hinsichtlich ihres Durchmessers, ihrer Leitungsgeschwindigkeit und ihrer Myelinisierung in verschiedene Gruppen aufgeteilt (A-, B- und C-Fasern).

A-delta-Fasern stellen eine Untergruppe der A-Fasern dar, welche nicht nur mechanische und nozizeptive, sondern auch thermische Afferenzen der Haut leiten. Sie zählen zu den dünnmyelinisierten Fasern und sind unter anderem hauptverantwortlich für die Kälterezeption.

Zur Prüfung der Integrität dünner Nervenfasern werden in der klinischen Diagnostik zurzeit Testverfahren eingesetzt, welche die Überprüfung einer Subklasse der A-delta-Fasern, nämlich der kälteleitenden Fasern, nicht miteinschließen. Es existieren jedoch Krankheitsbilder, bei denen eine Störung der Kältewahrnehmung ein frühes Symptom darstellt und deren frühe Diagnostik zu einer schnelleren und zielgerichteten Behandlung führen könnte (z.B. Morbus Fabry).

Zurzeit stellen Laser-evozierte Potentiale eine ausgiebig belegte und häufig eingesetzte Methode zur Prüfung von A-delta- und C-Fasern dar. Diese und weitere Methoden, wie zum Beispiel die Anwendung Hitze-evozierter Potentiale, können allerdings unangenehm für die Patienten (Schmerzen) oder mit aufwendigen Untersuchungen (durch Schutzmaßnahmen) verbunden sein.

Ein Testverfahren, was die Integrität der speziellen kälteleitenden A-delta-Faser Subklasse prüfen kann, befindet sich noch nicht in der klinischen Diagnostikroutine.

In dieser Studie sollte deshalb an 16 gesunden Probanden mittels schmerzloser Kältereize einer speziellen Thermode (PATHWAY Pain & Sensory Evaluation System CE-Nummer 0473) geprüft werden, ob reproduzierbare Kälte-evozierte Potentiale an verschiedenen Körperlokalisationen (Gesicht, Handrücken, Fußsohle, Fußrücken) abgeleitet werden können. Dabei wurden Amplitude und Latenz als Parameter erfasst, um die Vergleichbarkeit der Potentiale zu gewährleisten. Um eine Schädigung oder ein Krankheitsbild der dünnen Nervenfasern zu imitieren, wurde ein A-Faserleitungsblock durchgeführt.

Dieser Studie werden folgende Hypothesen zugrunde gelegt: (1) Bei gesunden Probanden können an allen getesteten Körperlokalisationen (Hand, Fuß, Gesicht) reproduzierbare CEPs abgeleitet werden; (2) ein vollständiger A-Faserblock führt zu einer deutlich reduzierten CEP-Amplitude und einer verzögerten CEP-Latenz; (3) nach Entfernen des A-Faserblocks kommt

es zu einer vollständigen Wiederherstellung der A-Faserleitungsfunktion im Sinne einer *restitutio ad integrum*, welche mittels CEP gemessen werden kann.

Bei positivem Nachweis dieser These bilden die generierten Daten eine fundamentale Grundlage zur Entwicklung eines einfachen und schmerzlosen Verfahrens, welches zur frühzeitigen Diagnose bestimmter Krankheitsbilder führt, bei denen die gestörte Kältewahrnehmung zu den (frühen) Symptomen zählt.

2. Material und Methoden

2.1 Rekrutierungen

Die experimentellen Versuche fanden mit insgesamt 16 Probanden (4 Männer, 12 Frauen) im Zeitraum von August 2015 bis November 2015 in einem der Laboratorien der Sektion für Neurologische Schmerzforschung und -therapie, in der Klinik für Neurologie in Kiel, statt. Bei den Probanden handelte es sich um Freiwillige im Alter von 22 bis 29 Jahren (mittleres Alter war $24,2 \pm 1,8$ Jahre), die aus dem Bekanntenkreis rekrutiert wurden und keinerlei neurologische Vorerkrankungen aufwiesen. Alle Versuchsteilnehmer haben in den jeweils vorangegangenen Nächten beider Versuchsabschnitte mindestens 6 Stunden geschlafen und wiesen dadurch einen aufmerksamen Gemütszustand auf.

2.2 Ethik und Aufklärung

Alle Probanden nahmen auf freiwilliger Basis an den Experimenten teil. Vor den Versuchen fand eine umfassende schriftliche Aufklärung über Abläufe und Risiken statt, die jede Testperson zur Kenntnis nahm und dieses durch die eigene Unterschrift bestätigte (siehe Anhang: **Probandenaufklärung**). Zusätzlich wurden Daten wie Alter, Körpergröße, Nachtschlaf vor beiden Versuchsteilen, E-Mail-Adresse, Telefonnummer und Geburtsdatum erhoben. Während aller Testungen war für eventuell auftretende Rückfragen oder Probleme ein Arzt, der über die Versuche unterrichtet war, im Klinikgebäude anwesend.

Für den Aufwand an der Studie erhielten die Teilnehmer eine Aufwandsentschädigung von 10 Euro pro Stunde, wobei sich der erste Teil der Testung auf circa 2 und der zweite Teil auf 3-4 Stunden beliefen.

Eine Versicherung wurde für alle Probanden abgeschlossen. Die Ethik-Kommission der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel hatte die Studie genehmigt und als unbedenklich

eingestuft (AZ A101/15, siehe Anhang: **Ethikvotum**). Sie erfüllt dabei die Anforderungen der Deklaration von Helsinki.

2.3 Probandengruppierungen

Der Versuch setzte sich aus zwei Teilen zusammen und wurde an zwei unterschiedlichen Untersuchungstagen, die mindestens zwei Wochen auseinander lagen, in randomisierter Abfolge durchgeführt. Dadurch konnte eine Beeinflussung der Versuchsteile aufeinander vermieden werden. Darüber hinaus wurde jeder Testperson eine persönliche Teilnehmernummer von 1 bis 16 zugeordnet.

2.4 Versuchsablauf

Versuchstag 1

Alle Versuchsteilnehmer wurden einzeln einbestellt und gebeten, sich während der Versuche nicht untereinander auszutauschen. Nach ausführlicher Aufklärung über die Versuchsabläufe und Unterzeichnung der Einwilligungserklärung wurde den Probanden ein EEG angelegt. Mit diesem konnten sie sich körperlich vollkommen entspannt auf eine Untersuchungsfläche (siehe **Abbildung 3**) legen. Während der Testungen wurden die Testpersonen instruiert einen 15 cm langen und 1 cm breiten schwarzen Strich auf weißem Untergrund zu fixieren, der sich in einer individuell eingestellten Entfernung vom Liegenden befand. Diese wurde so eingerichtet, dass der Strich ohne Anstrengung fixiert werden konnte. Der Versuchsablauf wurde stets bei einer konstanten Raumtemperatur von 22°C-23°C durchgeführt.

Nun wurden Testungen an drei Körperregionen der rechten Körperseite (Handrücken, Gesicht (perioral) und Fußsohle) durchgeführt. Dabei wurde eine Thermode mit einem circa 3 cm großen Durchmesser mit leichtem Druck auf das zu untersuchende Hautareal aufgelegt und die Testungen ausgeführt. Bei den Versuchen kühlte sich die Thermode in Abständen von 8-12 Sekunden (randomisierte zeitliche Abfolge) 20 mal nacheinander von einer Starttemperatur von 30°C innerhalb von ca. 500 ms um 5°C ab und erwärmte sich anschließend wieder.



Abbildung 3: Anordnung der Untersuchungs- und Liege im Versuchsraum

Versuchstag 2

Am zweiten Versuchstag wurde zunächst die rechte Hand nach oben genanntem Schema getestet. Anschließend wurde die zu untersuchende Hand bequem auf einem Kissen gelagert und um das dazugehörige Handgelenk ein Softband gelegt, an dem ein 1,25 kg schweres Gewicht befestigt war. Die Hand wurde in dieser Position fixiert. Dadurch kam es über die nächste Stunde zu einer Unterdrückung der A-Fasern, welche oberflächliche Berührungs- und Kaltempfindungen vom Handrücken leiten (A-Faserleitungsblock) (Ziegler et al. 1999). Nach 45 Minuten wurden zur Bestimmung des Zeitpunktes, an dem der A-Faserblock vollständig ist, alle zehn Minuten Testungen vorgenommen. Diese beinhalteten eine Temperaturmessung, eine Bestimmung der Reaktionszeit auf einen Schmerzreiz und verschiedene Überprüfungen der Berührungs-, Kalt- und Warmwahrnehmung (Baumgärtner et al. 2002). Bei vollständigem Block (siehe **2.7 A-Faserblock**) der im Mittel nach $86,9 \pm 26,9$ Minuten auftrat, wurden erneut Kälte-evozierte Potentiale, unter Blockierung der A-Faservermittelten Empfindungen, am Handrücken getestet.

Daraufhin erfolgte die Lösung des A-Faserleitungsblocks. Nach 10 Minuten Erholungszeit wurden erneut diejenigen Testungen zur Ermittlung eines vollständigen A-Faserblocks durchgeführt. Sobald alle Parameter wieder einer Situation vor Leitungsblock entsprachen, wurden ein letztes Mal Kälte-evozierte Potentiale getestet und der Proband entlassen.

Versuchstag 3

Aus methodischen Gründen wurden im Rahmen einer Nachtestung CEPs vom Fußrücken bei 12 von 16 Testpersonen aufgezeichnet.

Durchführung

Alle Probanden wurden gebeten, während der Kältereize und jeweils 3 Sekunden nach einem Reiz, nicht zu blinzeln oder sich zu bewegen. Nach 3 Sekunden wies ein Tonsignal darauf hin, dass nun einige Male geblinzelt werden durfte, bevor der Strich wieder fixiert wurde. Zusätzlich wurden die Testpersonen aufgefordert die Intensität aller Reize (Wärme sowie Kälte) auf einer numerischen Skala von 1 bis 10 einzuschätzen, direkt nachdem das Tonsignal zu hören war (0 = kein Reiz, 10 = stärkste vorstellbare Kälte oder Hitze).

2.5 Einstellungen des Medoc Pathway Stimulator

Das Medoc Pathway System zur Evaluation von Schmerz- und Gefühlswahrnehmung (PATHWAY - Pain and sensory evaluation system. CE-Nummer 0473; software version 4.0.11.0) wurde entwickelt, um durch kurze Hitzeimpulse, die über eine runde Thermode (Durchmesser von 3 cm) auf die Haut übertragen werden, Hitze-evozierte Potentiale (CHEPS) zu erzeugen. Es ist ebenso möglich mit derselben Thermode kurze Kälteimpulse zu erzeugen. Folgende Einstellungen wurden gewählt: (1) Abkühlungsgeschwindigkeit von 20°C/s und (2) Erwärmungsgeschwindigkeit von 40°C/s. Diese stellen die maximalen technischen Möglichkeiten des Gerätes dar. Aufgrund von technischen Begrenzungen ist eine stärkere Abkühlung als 5°C nicht möglich.

Um beurteilen zu können, welcher Temperaturabfall am intensivsten wahrgenommen wird, wurden an vier Probanden Vorversuche durchgeführt. Da ein schnelles Abkühlen der Thermode auf 25°C die stärkste Kaltwahrnehmung hervorrief, wurden 30°C als Ausgangstemperatur und 25°C als Zieltemperatur definiert. Diese Kältewahrnehmung fällt in den Detektionsbereich von A-delta-Faser-Kälterezeptoren (Campero et al. 2001; LaMotte und Thalhammer 1982). Während der Vorversuche wurde zusätzlich festgestellt, dass Kältereize an der Fußsohle im Vergleich zum Fußrücken wesentlich intensiver wahrgenommen werden. Des Weiteren zeigten auch Reize, bei denen die Lokalisation der Thermode stets geändert wurde, undeutlichere Kurven. Dieses lässt sich vermutlich durch das störende Gefühl bei Änderung der Thermodenposition erklären.

2.6 CEP-Aufzeichnungen

Es wurden zwei Analysen mit den erhobenen EEG-Daten durchgeführt. Die erste Analyse (*all trial average*) schloss alle artefaktfreien (siehe **Abschnitt 2.6.1**) CEPs von 16 Probanden ein (oder entsprechend 12 Probanden bei CEPs vom Fußrücken). Die zweite Analyse (*best trial analysis*) enthielt CEPs, welche keine Artefakte und bei visueller Inspektion einen typischen CEP-Verlauf aufwiesen (siehe **Abschnitt 2.6.2**).

2.6.1 CEP-Aufzeichnungen - *all trial average*

Es wurden jeweils 20 Kältereize an der Hand (Areal des Ramus superficialis des Nervus Radialis), im Gesicht (perioral), am Fußrücken und an der Fußsohle appliziert. In Vorversuchen mit 4 Probanden wurden 20, 25 oder 30 Reize an der Fußsohle in Bezug darauf verglichen, bei welcher Anzahl die deutlichsten CEPs zu sehen waren. Diese zeigten sich bei einer Anzahl von 20 aufeinanderfolgenden Reizen. Zwischen jedem Stimulus vergingen 8-12 Sekunden. Die Thermode wurde zwischendurch nicht bewegt.

Während der Stimulusapplikation wurde ein EEG mittels Brain Vision Recorder 1.2, unter Nutzung des BrainAmp MR plus EEG amplifier (Brain products GmbH; Gilching, Germany), nach dem internationalen 10-20 System (Buchner et al. 2005; Kirschstein 2008) abgeleitet und mit dem Brain Vision Analyser 2.0 (Brain Products GmbH; Gilching, Germany, Version 2.0.3.6367) analysiert. Dabei wurden die Elektroden Fz, Cz, Pz, C3, C5, C4, C6 mit beiden verlinkten Ohr läppchen als Referenzen für die Aufzeichnung der N2/P2 Komponente verwendet und die Elektroden T3 und T4 mit Fz (Hand- und Gesichtsstimulation) für die Aufnahme der N1 Komponente gewählt. Die Elektroden wurden mittels einer Kontaktpaste auf die aufgeraute, oberflächliche Hautschicht angelegt. Hierbei sind vier anatomische Bezugspunkte wegweisend: Nasion, Inion und den rechten und linken präaurikulären Punkt, von denen die Elektroden im 20- oder 10-prozentigem Abstand angelegt wurden (siehe **Abbildung 4**). Augenbewegungen wie Blinzeln oder andere Muskelartefakte konnten mittels eines EOG's (Elektrookulogramm) detektiert werden. Für die Erdung wurde ein feuchtes Armband am rechten Unterarm angebracht. Alle Aufzeichnungen, die Artefakte beinhalteten, die durch Bewegung oder Blinzeln innerhalb von 0,5 s vor bis 2 s nach dem Kältestimulus verursacht wurden, konnten herausgefiltert und von der Analyse ausgeschlossen werden. Das EEG wurde mit 0,3-35 Hz Breitband-gefiltert. Die Abtastrate betrug 1000 Hz.

Die N2/P2-Amplitude wurde vom negativsten bis zum positivsten Ausschlag gemessen. Die N1-Amplitude wurde von der Grundlinie zur N1-Spitze gemessen (Baselinekorrekturen

wurden durch ein pre-Stimulus-Intervall durchgeführt (-500 ms - 0 ms)). Die Latenz von jeder A-delta-Komponente wurde von Stimulusbeginn (0 ms) bis zur Spitze des Durchschnittspotentials gemessen. Die Hauttemperaturen der Probanden wurden kurz vor den CEP-Testungen an allen Testlokalisationen mittels eines Infrarot-Thermometers (Votcraft IR-1000 L, Wollerau, Schweiz) gemessen.

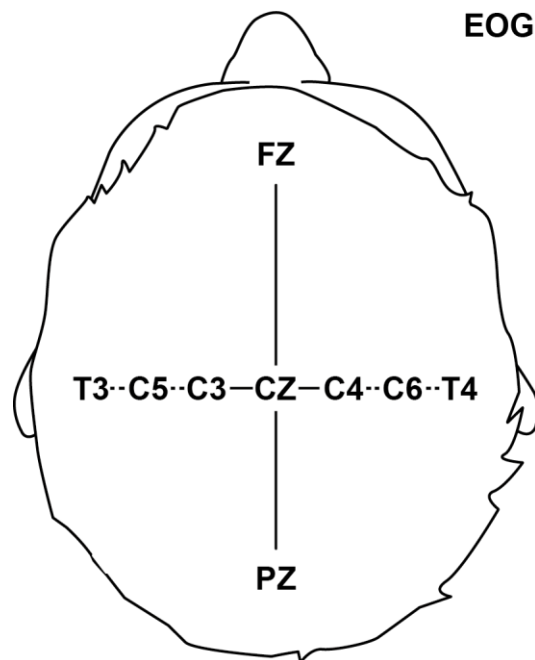


Abbildung 4: Platzierung der verwendeten Elektroden am Kopf der Probanden (10-20-System).

2.6.2 CEP-Aufzeichnungen - *best trial average*

Zur Verbesserung der *signal-to-noise-ratio* (Verhältnis von Signal zu Hintergrundrauschen) wurde eine zweite Analyse, unter Verwendung eines neuen Paradigmas, auf der Basis von Einzelpotentialanalysen durchgeführt. Folgende Kriterien wurden festgelegt:

Es wurden lediglich EEG-Abschnitte in das *averaging* mitbeinbezogen, die (A) einen negativen *peak* (N2) im Bereich von 2,5 Standardabweichung der N2 Komponente des *all trial averages* jedes einzelnen Probanden aufwiesen und (B) welchen ein positiver *peak* im Bereich von 2,5 Standardabweichung von P2 des *all trial averages* folgte. Alle anderen EEG-Abschnitte wurden ausgeschlossen. Eine ähnliche Methode wurde bereits zur verbesserten Detektion von C-Faser-vermittelten Laser-evozierten Potentialen verwendet (Hüllemann et al. 2015).

2.7 A-Faserblock

Die Anwendung eines selektiven A-Faserblocks am Ramus superficialis des N. Radialis für die Untersuchung einer reversibel veränderten A-Faser-Integrität wurde bereits wiederholt in früheren Studien durchgeführt (Ziegler et al. 1999; Baumgärtner et al. 2002; Wasner et al. 2004; Madsen et al. 2012; Magerl et al. 2001). Dabei wurde eine Nervenkompression mittels eines 1,25 kg schweren Gewichts, welches an einem 2,5 cm breiten Softband am rechten Handgelenk befestigt war, erreicht. Während die Testperson auf einer komfortablen Liege (siehe **Abbildung 3**) lag, wurde die Hand auf einer gepolsterten Armlehne in einer Position zwischen Pronation und Supination platziert. Die Hand war dabei auf derselben Höhe des Ellbogens platziert, sodass keine Muskelarbeit des Probanden von Nöten war, um die Hand in Position zu halten. Das Gewicht hing in einem Spalt zwischen Untersuchungs- und Armlehne ohne jeglichen Kontakt.

Für die Kontrolle des A-Faserblocks wurden verschiedene Parameter überprüft. Getestet wurden diese vor Anlegen des Gewichts und ab Minute 45 nach Anlegen alle 10 min bis zur Vollständigkeit des Blocks. Zusätzlich wurden die Parameter 10 min nach Beendigung des Blocks überprüft.

Folgende Tests wurden durchgeführt:

1. Reaktionszeit (Magerl et al. 2001) auf einen Nadelstichstimulus durch ein Semmes-Weinstein Monofilament (geschätzte Stärke: 745 mN) für die Beurteilung der A-delta-Faserfunktion. Die Probanden wurden instruiert sofort zu reagieren, sobald ein Reiz von ihnen wahrgenommen wird. Die Reaktionszeit wurde durch eine laufende Stoppuhr (Wasner et al. 2004) gemessen. Der trainierte Untersucher startete diese Stoppuhr zum gleichen Zeitpunkt, an dem das Semmes-Weinstein Monofilament die Haut des Probanden berührte. Die Uhr wurde vom Probanden sofort nach Wahrnehmung des Stichreizes gestoppt.
2. Berührungswahrnehmung von einem Wattebausch und von Wattedfasern (A-beta-Faserfunktion; (Madsen et al. 2012)) beim Streichen über den Handrücken.
3. Wahrnehmung einer Thermode mit der voreingestellten Temperatur von 40°C (C-Faserfunktion; basierend auf (Madsen et al. 2012))
4. Wahrnehmung einer Thermode mit der voreingestellten Temperatur von 20°C (A-delta-Faserfunktion; basierend auf (Madsen et al. 2012))

Die Reaktionszeit wurde in jeder Testperiode drei Mal getestet. Bei der Berührungswahrnehmung wurde lediglich zwischen “wahrgenommen” und “nicht wahrgenommen” unterschieden. Kalt- und Warmreize wurden in randomisierter Abfolge appliziert, um auszuschließen, dass Probanden ein Muster erkennen können.

Der A-Faserblock konnte als vollständig erachtet werden, sobald die Probanden keinen Kältereiz mehr erkennen konnten (Wasner et al. 2004). Als Kontrollmesswerte wurden zusätzlich (A) die Verzögerungen bei der Wahrnehmung von Nadelstichreizen, (B) die Wahrnehmung von einem 4 mN Frey-Haar (Magerl et al. 2001) und (C) die Berührungswahrnehmung von einem Wattestäbchen und Watterfasern beobachtet (Madsen et al. 2012).

Das betroffene Hautareal sowie der Bereich auf dem die Thermode auflag, wurden mit einem Hautstift markiert, nachdem der Block vollständig war (siehe oben) und CEPs wurden unter der Blocksituation durchgeführt.

Das Hautareal, in dem der Proband keine Berührung mehr mit einem Wattebausch wahrnehmen konnte (dieses wurde durch einen Hautstift auf dem Handrücken markiert), wurde auf eine Overheadfolie übertragen (siehe **Abbildung 5**).

Die transparente Folie, auf der das Hautareal markiert wurde, welches keine Berührungswahrnehmung mehr aufwies, wurde mit 300 dpi gescannt und mittels ImageJ (Version 2.0.0-rc-23) vermessen. Hierbei wurde das Areal mit der Funktion „Polygon selections“ markiert und die *Counts* des Bildes dem Histogramm des Analyseprogramms entnommen. Durch Umrechnung der *Counts* in cm^2 wurde der Flächeninhalt ermittelt (siehe **Tabelle 5**).

Zuletzt wurden alle Probanden 10 Minuten nach Entfernung des Blocks von Neuem getestet. Aus Sicherheitsgründen wurde eine Block-Zeit von 150 Minuten nie überschritten (inklusive der CEP-Messungen während des vollständigen A-Faserblocks (Magerl et al. 2001)).



Abbildung 5: Dokumentation des Thermodenareals (rote Markierung, roter Pfeil) und des vom A-Faserblock betroffenen Hautareals (blaue Markierung, blauer Pfeil) beim Probanden (exemplarische Abbildungen)

2.8 Statistik

Die Ergebnisse wurden mittels PASW Statistics 22.0 (SPSS Inc., 233 South Wacker Drive, 11th Floor, Chicago, IL 60606-6412.) analysiert. Die N1-Latenz (ms) und N1-Amplitude (μV) sowie N2- und P2-Latenz und N2/P2-Amplituden wurden aufgezeichnet. Durchschnitts-CEP-Intensitätseinschätzungen (Numerische Rating-Skala 0-10; 0 = keine Kälteempfindung, 10 = stärkste vorstellbare Kälteempfindung) sind in **Abbildung 6** aufgeführt. Zusammenhänge zwischen den Kältebewertungen an verschiedenen Hautlokalisationen und Blockzuständen wurden grafisch mit dem Programm Prism 7 (Version 7.0c, GraphPad Software, Inc) dargestellt. N2/P2-Amplituden und CEP-Einstufungen von den drei Testreihen (vor, während und nach Block) wurden mittels ANOVA mit Messwiederholungen und Bonferroni-Korrektur ($p < 0,05$) als *post-hoc*-Test analysiert. CEP-Latenzen und Amplituden des *best-trial average* wurden mit Latenzen und Amplituden des *all-trial average* mit Hilfe des Wilcoxon-Tests verglichen. Zusammenhänge zwischen beiden Messungsmethoden wurden mit dem Spearman-Korrelation Koeffizienten (r) berechnet.

3. Ergebnisse

Die Kälteeinschätzungen im Folgenden wurden nach einer numerischen Rating-Skala (NRS 0 - 10, 0 = keine Wahrnehmung, 10 = stärkst vorstellbarer Kältereiz) bewertet und \pm der Standardabweichungen dargestellt.

Im Gesicht wurde das Kältegefühl am stärksten empfunden und dementsprechend hoch bewertet ($4,3 \pm 2,3$). Im Vergleich dazu wurden die Empfindungen an Hand ($3,5 \pm 1,6$) und

Fußsohle ($2,9 \pm 1,4$) niedriger beurteilt ($F_{(2;30)} = 6,882$, $p = 0,003$; *post-hoc* Gesicht vs. Fuß $p = 0,022$, andere Vergleiche n.s.). Die Kältewahrnehmung am Fußrücken lag bei $3,1 \pm 1,7$. Dieses war vergleichbar mit der Fußsohle (Vergleich n.s.). Während des A-Faserblocks fiel die Bewertung der Kälteempfindung an der rechten Hand von $3,1 \pm 0,3$ bis auf $0,4 \pm 0,2$ auf der numerischen Rating-Skala (0-10). Nach Entfernung des Blocks stieg das Rating auf $2,7 \pm 0,3$ ($F_{(1,475;22,121)} = 54,852$, $p < 0,0001$; *post-hoc* vor Block versus A-Faserblock $p < 0,0001$ und Block versus nach Block $p < 0,0001$; vor Block versus nach Block $p = 0,074$), siehe **Abbildung 6**.

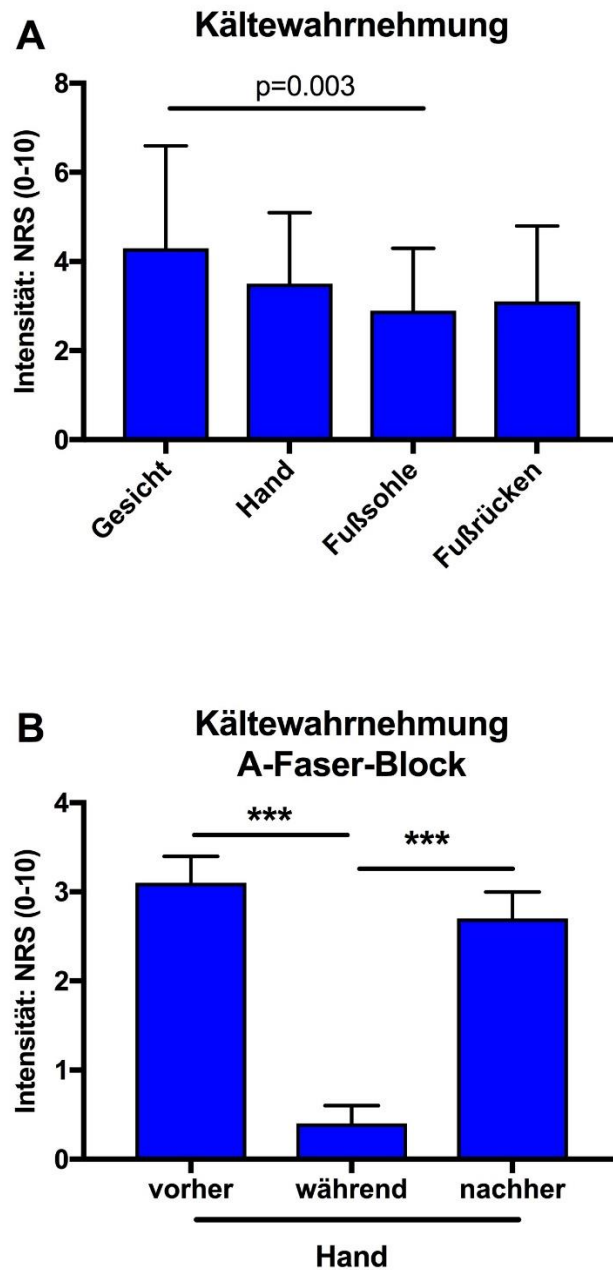


Abbildung 6: Bewertungen der Kältewahrnehmung durch die Probanden (n = 16) **(A)** an den verschiedenen Hautlokalisationen und **(B)** vor, während und nach Blockzustand an der Hand. Die Probanden wurden gebeten, den Kältereiz, der von der Thermode ausging, auf einer numerischen Skala (NRS) zu bewerten (0 = keine Wahrnehmung, 10 = stärkst vorstellbarer Kältereiz). Dargestellt sind die mittleren Bewertungen mit Standardabweichungen und statistischer Signifikanz (* = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$).

3.1 Kälte-evozierte Potentiale - *all trial average*

Für den *grand average* aller CEPs wurden $18,0 \pm 2,7$ EEG-Abschnitte vom Gesicht, $17,4 \pm 3,1$ von der Hand, $18,4 \pm 1,0$ von der Fußsohle und $15,8 \pm 3,6$ vom Fußrücken miteinbezogen. CEP-Latenzen und Amplituden der N1- und N2/P2-Komponenten sind in **Tabelle 2** zu sehen. N1-Latenzen und Amplituden waren nach Fuß-Stimulation uneinheitlich. N2- und P2-Latenzen konnten bei allen Probanden bei allen Lokalisationen aufgezeichnet werden und waren am kürzesten nach Stimulation des Gesichts und am längsten nach Fußstimulation (ANOVA für N2: $F = 156,352_{(2;30)}$, $p < 0,0001$; *post-hoc* Gesicht versus Hand $p = 0,004$, Gesicht oder Hand versus Fußsohle $p < 0,0001$; für P2: $F = 135,613_{(2;30)}$, $p < 0,0001$; *post-hoc* $p < 0,001$ für alle Vergleiche). Die N2/P2-Amplitude war nach Handstimulation am höchsten und am niedrigsten nach Fußsohlenstimulation ($F = 6,297_{(2;30)}$, $p = 0,005$, *post-hoc* Gesicht oder Hand versus Fußsohle $p = 0,038$ und $p = 0,030$; Hand versus Gesicht n.s.), siehe **Tabelle 4** und **Abbildung 7**.

ANOVA unter Einbeziehung des Fußrückens:

N2-Latenz: $F = 363,892_{(3;33)}$, $p < 0,0001$; *post-hoc* Gesicht versus Hand $p = 0,055$, alle anderen Vergleiche $p < 0,0001$.

P2-Latenz: $F = 193,483_{(3;33)}$, $p < 0,0001$; alle *post-hoc* Vergleiche $p < 0,01$. N2/P2 Amplitude: $F = 5,146_{(3;33)}$, $p = 0,005$, *post-hoc* Gesicht vs. Fußsohle $p = 0,037$, alle anderen Vergleiche n.s..

CEP Komponente	Elektrodenposition	Gesicht					Hand					Fußrücken					Fußsohle				
		n	mean	SD	LCL	UCL	n	mean	SD	LCL	UCL	n	mean	SD	LCL	UCL	n	mean	SD	LCL	UCL
N1 Latenz	T3	10	192,2	29,0	171,5	212,9	13	246,3	28,7	229,0	263,7	8	397,8	41,9	362,7	432,8	6	591,5	84,4	502,9	680,1
	T4	8	228,8	32,6	201,5	256,0	13	283,4	21,5	270,4	296,4	5	427,6	53,1	361,7	493,5	2	544,5	125,2	-580,0	1669,0
N1 Amplitude	T3	10	5,4	1,9	4,0	6,7	13	5,2	2,4	3,7	6,6	8	4,8	2,2	6,6	2,9	6	3,8	2,4	1,4	6,3
	T4	8	3,9	1,5	2,6	5,2	13	4,5	3,4	2,5	6,5	5	6,2	0,9	7,2	5,1	2	2,7	1,8	-13,6	19,0
N2 Latenz	Cz	16	276,4	38,9	255,7	297,1	16	318,6	31,6	301,8	335,5	12	474,2	41,6	447,7	500,6	16	627,6	84,4	582,6	672,5
	Fz	16	274,6	39,7	253,5	295,8	16	319,6	32,0	302,5	336,6	12	472,4	39,4	447,4	497,5	16	638,8	87,1	592,3	685,2
	Pz	16	275,3	36,9	255,7	295,0	16	325,6	30,6	309,3	341,9	12	483,7	55,9	448,2	519,2	16	627,1	87,7	580,4	673,9
	C3	16	272,4	39,2	251,5	293,3	16	310,6	30,7	294,2	326,9	12	475,1	39,2	450,2	500,0	16	626,6	84,6	581,6	671,7
	C4	16	265,2	38,1	244,9	285,5	16	322,3	27,4	307,7	336,9	12	475,3	40,2	449,7	500,8	16	638,7	90,0	590,7	686,6
	C5	16	268,3	41,0	246,5	290,2	16	311,2	36,2	291,9	330,5	12	469,2	37,6	445,3	493,1	16	635,8	87,9	588,9	682,6
P2 Latenz	Cz	16	389,8	52,5	361,8	417,8	16	477,7	43,6	454,4	500,9	12	586,5	55,1	551,5	621,5	16	774,2	94,0	724,1	824,3
	Fz	16	388,5	53,6	359,9	417,1	16	468,6	39,1	447,7	489,4	12	589,4	54,3	554,9	623,9	16	778,4	92,0	729,4	827,4
	Pz	16	395,1	60,4	362,9	427,3	16	475,6	42,5	453,0	498,3	12	583,0	58,8	545,6	620,4	16	773,7	85,5	728,1	819,2
	C3	16	391,1	53,5	362,6	419,6	16	463,6	39,4	442,6	484,5	12	594,1	55,0	559,1	629,0	16	780,2	90,0	732,2	828,2
	C4	16	398,3	60,1	366,2	430,3	16	474,1	46,0	449,5	498,6	12	589,5	53,7	555,4	623,6	16	768,8	87,1	722,4	815,2
	C5	16	392,1	56,0	362,2	421,9	16	461,0	47,1	435,9	486,1	12	595,7	56,3	559,9	631,4	16	779,6	91,5	730,8	828,3
N2/P2 Amplitude	Cz	16	10,7	4,1	8,6	12,9	16	11,3	4,1	9,2	13,5	12	11,7	3,7	9,3	14,0	16	7,5	4,1	5,3	9,7
	Fz	16	9,5	4,4	7,2	11,9	16	9,7	4,2	7,5	11,9	12	10,5	3,3	8,4	12,6	16	6,8	2,8	5,3	8,3
	Pz	16	9,2	3,5	7,3	11,1	16	10,1	4,3	7,8	12,4	12	11,3	4,2	8,6	13,9	16	8,0	4,3	5,7	10,3
	C3	16	9,0	3,6	7,1	10,9	16	9,7	3,6	7,8	11,6	12	9,1	3,1	7,1	11,1	16	7,1	2,7	5,6	8,5
	C4	16	9,6	3,5	7,8	11,5	16	9,7	3,5	7,8	11,5	12	9,5	4,1	6,9	12,1	16	7,0	3,5	5,2	8,9
	C5	16	8,2	3,4	6,4	10,0	16	7,0	2,8	5,5	8,5	12	7,3	2,0	6,0	8,6	16	6,0	2,9	4,4	7,5
C6	16	8,5	3,0	6,9	10,0	16	8,4	3,0	6,7	10,0	12	8,5	4,0	5,9	11,0	16	5,8	3,6	3,8	7,7	

Tabelle 2: CEP-Latenzen und Amplituden der *all trial average* (alle Elektroden mitbeinbezogen): Werte sind gezeigt mit Mittelwert (*mean*), Standardabweichung (SD) und oberer und unterer Grenze einer 95% -igen Sicherheitswahrscheinlichkeit (LCL und UCL)

3.2 Kälte-evozierte Potentiale - *best trial average*

Für den *best trial average* wurden folgende EEG-Abschnitte verwendet: $11,4 \pm 3,2$ vom Gesicht, $9,0 \pm 2,2$ von der Hand, $8,4 \pm 3,1$ von der Fußsohle und $10,1 \pm 3,3$ von dem Fußrücken. CEP-Latenzen und Amplituden des *best trial average* sind in **Tabelle 3** dargestellt. Latenzen des *grand average*, einschließlich aller artefaktfreien Potentiale (*all trial average*) sind vergleichbar mit den Latenzen des *best trial average* ($p > 0,1$ für alle Vergleiche). Die N2/P2-Amplitude des *best trial average* an der Hand war um 33,5% ($11,3 \pm 4,1$ versus $17,0 \pm 4,3$, $p = 0,001$), an der Fußsohle um 49% ($7,5 \pm 4,1$ versus $14,7 \pm 5,1$, $p = 0,001$) und am Fußrücken um 31,7% ($11,7 \pm 3,7$ vs. $17,1 \pm 4,7$, $p = 0,004$) vergrößert. Die Amplitude im Gesicht war nicht signifikant verändert ($10,7 \pm 4,1$ vs. $13,6 \pm 5,8$, $p = 0,061$), siehe **Tabelle 4** und **Abbildung 7**.

Die Spearman Korrelation zeigte einen moderaten Zusammenhang zwischen *best trial average* und *all trial average* für die N2/P2-Amplitude ($r = 0,538$, $p = 0,016$), einen moderaten Zusammenhang für die N2-Latenz ($r = 0,656$, $p = 0,003$) und eine starke Korrelation für die P2-Latenz ($r = 0,762$, $p < 0,0001$).

CEP Komponente	Elektrode	Gesicht					Hand					Fußrücken					Fußsohle				
		n	mean	SD	LCL	UCL	n	mean	SD	LCL	UCL	n	mean	SD	LCL	UCL	n	mean	SD	LCL	UCL
N1 Latenz	T3	10	201,3	34,5	176,6	226,0	13	245,2	28,8	227,8	262,5	6	382,0	43,5	336,4	427,6	6	570,2	69,6	497,2	643,2
	T4	10	237,2	26,9	217,9	256,5	13	281,5	39,6	257,6	305,5	5	425,4	53,0	359,6	491,2	5	595,4	96,5	475,6	715,2
N1 Amplitude	T3	10	5,4	2,2	3,8	7,0	13	5,4	2,7	3,8	7,0	6	5,1	2,6	7,9	2,4	6	4,4	2,3	1,9	6,8
	T4	10	3,8	1,5	2,7	4,9	13	4,0	3,0	2,1	5,8	5	6,4	4,1	11,5	1,3	5	5,2	2,3	2,3	8,0
N2 Latenz	Cz	16	275,3	37,3	255,4	295,1	16	321,1	29,4	305,4	336,7	12	471,7	42,3	444,8	498,6	16	614,4	93,8	564,4	664,3
	Fz	16	277,8	38,6	257,2	298,4	16	325,6	28,3	310,5	340,7	12	471,2	40,5	445,4	496,9	16	617,8	93,6	567,9	667,7
	Pz	16	277,4	37,3	257,5	297,3	16	325,4	33,3	307,7	343,2	12	473,2	38,4	448,7	497,6	16	612,8	90,3	564,7	660,9
	C3	16	276,4	40,1	255,1	297,8	16	317,1	30,2	301,0	333,2	12	471,2	42,8	444,0	498,3	16	610,0	90,5	561,8	658,2
	C4	16	273,0	39,4	252,0	294,0	16	318,6	30,6	302,3	334,9	12	467,2	37,9	443,1	491,3	16	608,2	89,0	560,8	655,6
	C5	16	270,8	43,1	247,8	293,8	16	313,3	29,5	297,5	329,0	12	472,3	42,3	445,4	499,2	16	607,9	83,3	563,5	652,3
	C6	16	266,4	38,6	245,8	286,9	16	318,9	31,3	302,2	335,6	12	471,3	43,1	443,9	498,7	16	613,0	87,4	566,4	659,6
P2 Latenz	Cz	16	391,9	50,8	364,9	419,0	16	479,8	36,4	460,4	499,2	12	584,8	45,0	556,1	613,4	16	740,5	86,3	694,5	786,5
	Fz	16	398,3	43,8	374,9	421,6	16	482,6	36,1	463,4	501,9	12	585,4	45,1	556,8	614,1	16	732,8	92,0	683,7	781,8
	Pz	16	395,5	57,2	365,0	426,0	16	480,4	44,8	456,6	504,3	12	595,7	57,1	559,4	632,0	16	735,4	90,2	687,3	783,4
	C3	16	393,5	49,2	367,3	419,7	16	466,9	33,9	448,8	484,9	12	591,1	54,6	556,4	625,8	16	730,1	94,5	679,8	780,5
	C4	16	397,5	56,3	367,5	427,5	16	476,7	41,9	454,4	499,0	12	598,0	58,2	561,0	635,0	16	738,8	87,4	692,2	785,4
	C5	16	397,8	52,8	369,7	426,0	16	470,8	34,9	452,2	489,4	12	591,4	57,0	555,2	627,7	16	742,9	98,2	690,6	795,3
	C6	16	386,4	50,5	359,4	413,3	16	477,6	42,7	454,8	500,3	12	597,3	59,2	559,7	634,9	16	752,1	103,4	697,0	807,2
N2/P2 Amplitude	Cz	16	13,6	5,8	10,5	16,7	16	17,0	4,3	14,7	19,3	12	17,1	4,7	14,1	20,1	16	14,7	5,1	12,0	17,4
	Fz	16	12,0	5,6	9,0	15,0	16	14,2	3,9	12,1	16,2	12	15,1	4,5	12,2	17,9	16	12,1	4,3	9,8	14,4
	Pz	16	11,5	4,4	9,1	13,8	16	15,5	5,3	12,7	18,3	12	15,2	5,2	11,9	18,5	16	13,7	5,1	11,0	16,5
	C3	16	11,2	4,2	9,0	13,5	16	13,7	4,9	11,1	16,3	12	12,3	2,9	10,5	14,2	16	12,2	4,2	10,0	14,4
	C4	16	12,1	4,6	9,7	14,6	16	14,7	4,2	12,4	16,9	12	14,4	4,8	11,3	17,4	16	12,6	5,1	9,9	15,3
	C5	16	9,3	3,8	7,3	11,4	16	11,7	5,2	8,9	14,4	12	9,3	2,2	7,9	10,7	16	9,9	4,0	7,7	12,0
	C6	16	10,7	4,1	8,5	12,9	16	12,9	4,3	10,6	15,2	12	12,0	4,5	9,1	14,9	16	10,3	5,1	7,6	13,1

Tabelle 3: CEP-Latenzen und Amplituden der *best trial average* (alle Elektroden miteinbezogen): Werte sind gezeigt mit Mittelwert (*mean*), Standardabweichung (SD) und oberer und unterer Grenze einer 95%-igen Sicherheitswahrscheinlichkeit (LCL und UCL).

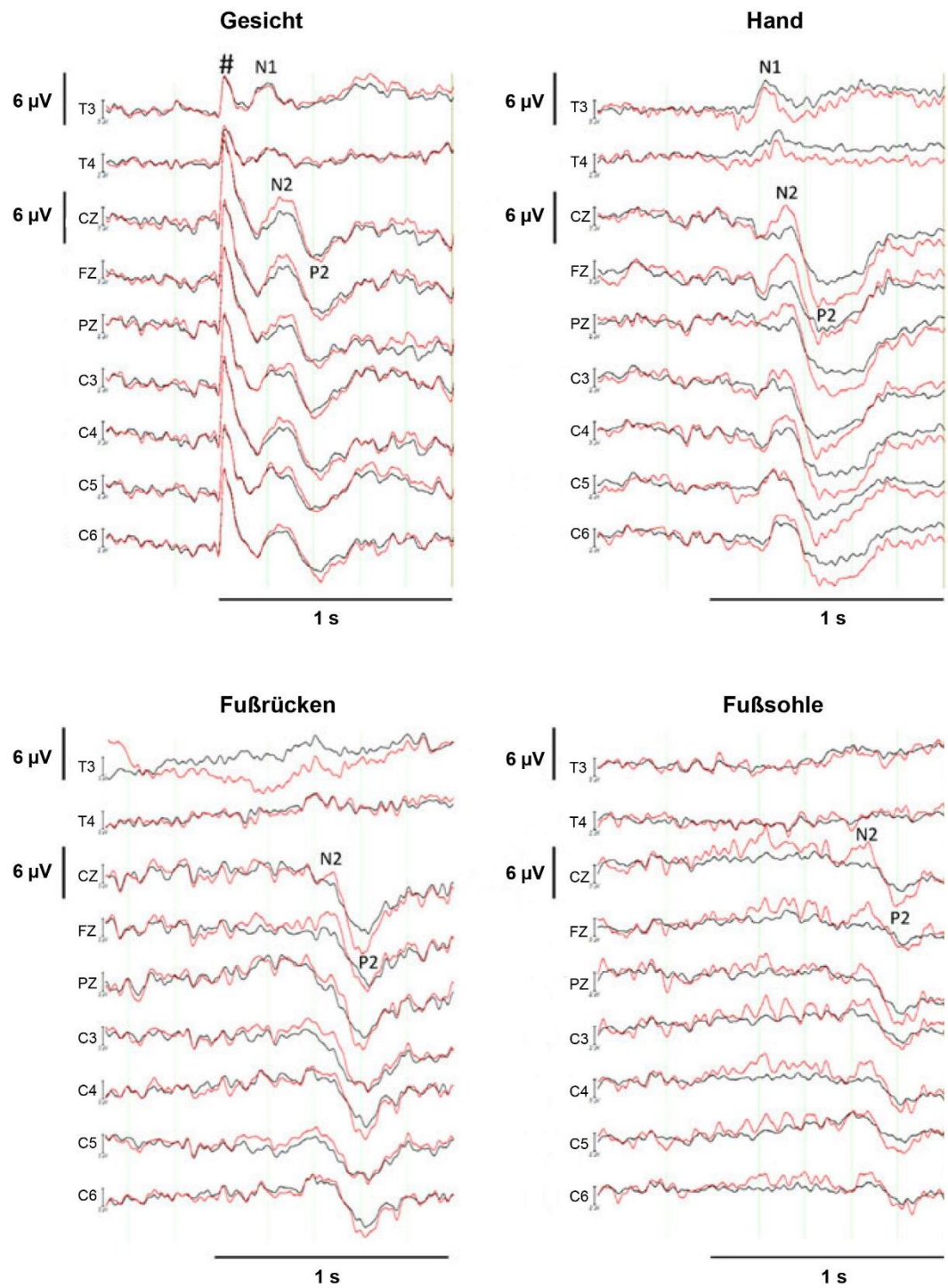


Abbildung 7: Darstellung der Kälte-evozierten Potentiale (CEPs) nach Gesicht-, Hand- und Fußstimulation für die einzelnen Elektrodenpositionen. Schwarze Linie = *all trial grand average*; rote Linie = *best trial grand average*; während der Gesichtsstimulation kann man ein Thermoden-induziertes Artefakt vor der N1-Komponente erkennen (siehe Rautezeichen).

		Gesicht			Hand		
CEP Komponenten	Elektrode	n	All trial	Best trial	n	All trial	Best trial
N1 Latenz	T3	10	192,2 ± 29	201,3 ± 34,5	13	246,3 ± 28,7	245,2 ± 28,8
N1 Amplitude	T3	10	5,4 ± 1,9	5,4 ± 2,2	13	5,2 ± 2,4	5,4 ± 2,7
N2 Latenz	Cz	16	276,4 ± 38,9	275,3 ± 37,3	16	318,6 ± 31,6	321,1 ± 29,4
P2 Latenz	Cz	16	389,8 ± 52,5	391,9 ± 50,8	16	477,7 ± 43,6	479,6 ± 36,4
N2/P2 Amplitude	Cz	16	10,7 ± 4,1	13,6 ± 5,8	16	11,3 ± 4,1	17 ± 4,3
		Fußrücken			Fußsohle		
CEP Komponenten	Elektrode	n	All trial	Best trial	n	All trial	Best trial
N1 Latenz	T3	8/6	397,8 ± 41,9	382 ± 43,5	6	591,5 ± 84,4	570,2 ± 69,6
N1 Amplitude	T3	8/6	4,8 ± 2,2	5,1 ± 2,6	6	3,8 ± 2,4	4,4 ± 2,3
N2 Latenz	Cz	12	474,2 ± 41,6	471,7 ± 42,3	16	627,6 ± 84,4	614,4 ± 93,8
P2 Latenz	Cz	12	586,5 ± 55,1	584,8 ± 45	16	774,2 ± 94	740,5 ± 86,3
N2/P2 Amplitude	Cz	12	11,7 ± 3,7	17,1 ± 4,7	16	7,5 ± 4,1	14,7 ± 5,1

Tabelle 4: : CEP-Latenzen und Amplituden der *all trial average* und *best trial average*

3.3 Kälte-evozierte Potentiale während des A-Faserblocks - Funktionsverlust

Bei zwei Probanden konnten trotz des A-Faserblocks CEPs nachgewiesen werden. Diese traten jedoch mit einer erheblichen Latenzverlängerung auf (Proband 3: N2 = 392 ms; P2 = 521 ms; N2/P2 Amplitude = 10,0 µV; Proband 9: N2 = 476 ms; P2 = 562 ms; N2/P2 Amplitude = 7,5 µV). Zuvor trat bei beiden Probanden ein vollständiger A-Faserblock ein. Dieser beinhaltete den Verlust der Kältewahrnehmung, eine Wahrnehmungsverzögerung auf einen Nadelstichreiz von > 500 ms und den Verlust der Berührungswahrnehmung. Bei allen anderen Testpersonen konnten keine erkennbaren CEPs während des A-Faserblockes festgestellt werden. Im *grand average* aller 16 Testpersonen konnten keine erkennbaren CEPs im geblockten Zustand nachgewiesen werden (siehe **Abbildung 8**).

3.4 Kälte-evozierte Potentiale nach dem A-Faserblock - Funktionsregeneration

Bei 14 von 16 Testpersonen konnten die N2/P2-Amplituden wiederhergestellt werden (vorher versus nachher: $p = 0,79$). Es lag jedoch eine Zunahme der N2-Latenz von $319,2 \pm 39,0$ ms auf $360,8 \pm 39,2$ ms vor ($p = 0,026$; siehe **Abbildung 8**). Bei zwei von 16 Probanden konnten keine erkennbaren CEPs 10 Minuten nach Lösung des A-Faserblocks detektiert werden. Alle

weiteren Vergleiche bezüglich der N1-Latenz, N1-Amplitude und P2-Latenz unterschieden sich nicht signifikant.

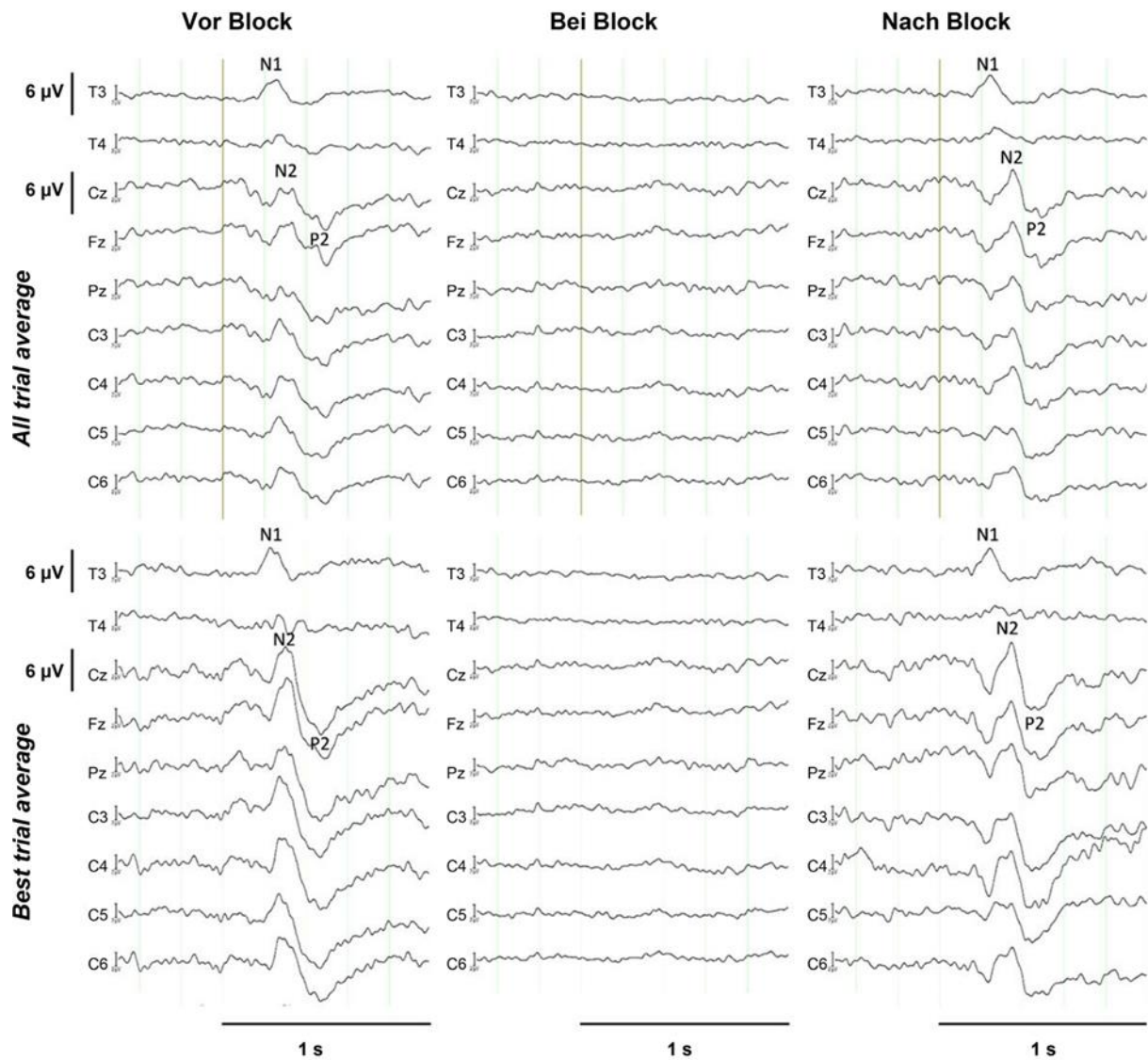


Abbildung 8: Darstellung von Kälte-evozierten Potentialen vor, während und 10 Minuten nach dem A-Faserblock. Vertikale grüne Linie: Stimulusbeginn, schmalere graue Linien: Zeitabschnitt von 200ms

3.5 Nicht-sensible Areale der Handrücken nach A-Faserblock

Das Hautareal wurde auf transparente Folie übertragen und vermessen (siehe **Abschnitt 2.7.1**). Im Mittel wurde eine Fläche \pm Standardabweichung (SD) von $29,88 \pm 8,507 \text{ cm}^2$ bestimmt ($n = 16$, Minimum: $14,36 \text{ cm}^2$, Maximum: $47,91 \text{ cm}^2$; siehe **Tabelle 5**).

Proband	Pixel 300 dpi	Fläche cm^2
1	406503	29,14
2	535889	38,41
3	668403	47,91
4	550265	39,45
5	300291	21,53
6	359311	25,76
7	328456	23,55
8	394565	28,28
9	363309	26,04
10	346959	24,87
11	382990	27,45
12	421435	30,21
13	400355	28,7
14	407595	29,22
15	602827	43,21
16	200357	14,36

Tabelle 5: Ermittlung der betroffenen Handrückenareale durch computerunterstützte Pixel-Auszählung (300 dpi).

3.6 Methodische Aspekte

3.6.1 Hauttemperatur der Probanden

Im Gesicht der Probanden ließen sich die höchsten Hauttemperaturen nachweisen ($34,1 \pm 1,0^\circ\text{C}$). Die Temperaturen der Hand ($33,4 \pm 1,8^\circ\text{C}$) und der Fußsohle ($30,3 \pm 1,73^\circ\text{C}$) waren etwas niedriger ($F_{(2;28)} = 38,890$, $p < 0,0001$; *post-hoc* Gesicht versus Hand und Fuß $p < 0,0001$, Gesicht versus Fuß n.s.). Die Temperaturen des Fußrückens lagen bei $31,0 \pm 1,7^\circ\text{C}$.

3.6.2 Technisches Potential des Medoc Pathway Stimulator

Die Software-Einstellungen des Pathway Stimulator implizieren eine Zeitspanne von 250 ms bis die Zieltemperatur erreicht ist und 125 ms bis die Ausgangstemperatur wieder erreicht ist. Tatsächlich wurde die Zieltemperatur von 25°C an der Hand nach 541 ms (Rückkehr zur Ausgangstemperatur 400 ms), im Gesicht nach 941 ms (Rückkehr zur Ausgangstemperatur 320 ms), und am Fuß nach 521 ms (Rückkehr zur Ausgangstemperatur 339 ms) erreicht. Die Temperaturkurven des Pathway Stimulators werden in **Abbildung 9** gezeigt. Die Abkühlungsgeschwindigkeit der Thermode war im Gesicht weniger steil, was durch die höhere Hauttemperatur, verglichen mit der Hand und dem Fuß, erklärt werden könnte ($p < 0.0001$).

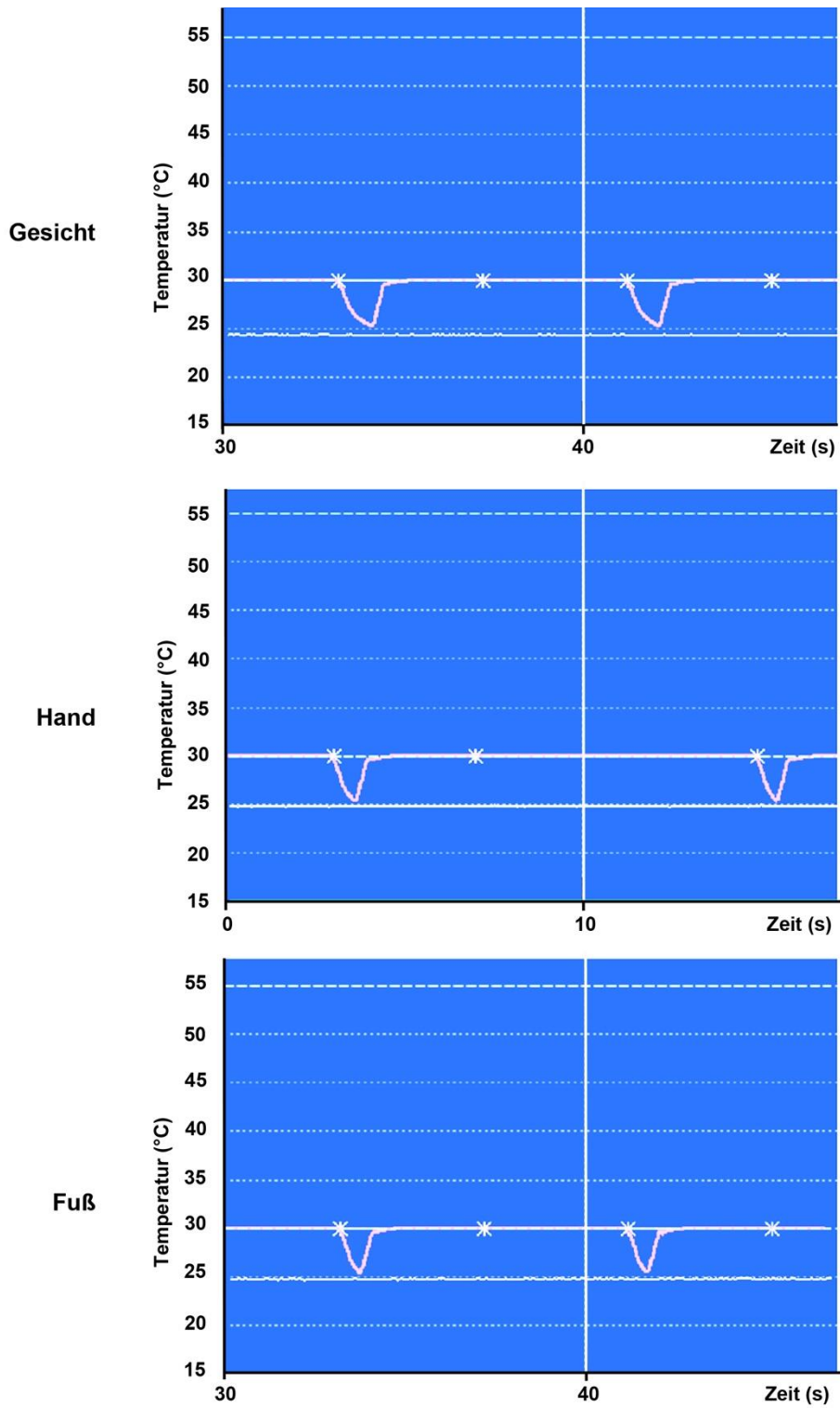


Abbildung 9: Abkühlungsgeschwindigkeit der Kältereize einer Pathway-Stimulator-Thermode in Abhängigkeit vom Applikationsort. Die Sternchen stellen die Tonsignale dar.

3.6.3 A-Faserblock

Ein vollständiger A-Faserblock wurde bei allen Probanden nach $86,9 \pm 26,9$ Minuten erreicht. Das bedeutet, dass kein Proband in der Lage war während des Blocks einen Kältereiz von 20°C oder ein von Frey-Haar von 4 mN wahrzunehmen. Das Wattestäbchen wurde von einer Testperson erkannt. Die Reaktionszeit auf den Nadelstichreiz verlängerte sich um 48% (610 ms) während des A-Faserblocks ($0,66 \pm 0,20$ s versus $1,27 \pm 0,37$ s) und reduzierte sich wiederum um 40,4% (510 ms) zehn Minuten nach Lösung des Blocks ($0,76 \pm 0,29$; Greenhouse-Geisser: $F = 56,87_{(1,32;30)}$, $p < 0,0001$; *post-hoc* $p < 0,0001$ für den Vergleich Ausgangswert versus Block und Block versus Lösung; Ausgangswert versus Lösung n.s.). Die Wärmewahrnehmung blieb bei allen Probanden erhalten. Der A-Faserblock wurde nach $103 \pm 26,4$ min. gelöst.

4. Diskussion

Reproduzierbare Kälte-evozierte Potentiale konnten sowohl im Gesicht, als auch an Hand und Fuß mittels eines kommerziell erhältlichen Kältestimulators erzeugt werden. Obwohl die CEP-Amplituden klein ausfielen, konnten sie bei jedem Probanden an jeder Lokalisation detektiert werden. Dieses legt nahe, dass CEPs eine nützliche, non-invasive Methode für die Untersuchung der A-delta-Faserfunktion darstellen. Während eines reversiblen A-Faserblocks im Bereich des Ramus superficialis des Nervus Radiales (Madsen et al. 2012; Magerl et al. 2001; Wasner et al. 2004) waren die CEPs im *grand average* aufgehoben, was die Fähigkeit von CEPs unterstreicht, A-Faser-Pathologien zuverlässig zu erkennen. 10 Minuten nach Lösen des Blocks konnte die CEP-Amplitude wiederhergestellt werden. Dieses zeigt die Möglichkeit, die Restitution der A-Faser-Funktion mittels CEPs zu erfassen, was eine wichtige Voraussetzung für Verlaufsuntersuchungen bei Patienten ist, zum Beispiel nach erfolgreicher Behandlung.

4.1 Best trial Analyse Paradigma

Ein bekanntes Problem bei evozierten Potentialen mittels nicht-schmerzhaften Methoden ist die schlechte Abgrenzung gegen das Hintergrundrauschen. Hauptsächlich wird dieses durch ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis verursacht, wie es auch bei C-Faser vermittelten Laser-evozierten Potentialen zu beobachten ist (Opsommer et al. 1999). Mittels *all trial average* konnten reproduzierbare CEPs an allen Körperstellen aufgezeichnet werden. Dennoch waren

die N2/P2-Amplituden nach Fußsohlenstimulation klein und die N1-Komponente war unbeständig nachweisbar. Zusätzlich verhindert die lange Stimulusapplikation (verglichen mit LEPs) eine starke phasische Rezeptorenaktivierung, was zu einem schwächeren Signal-Rausch-Verhältnis und damit zu einer schlechteren Sichtbarkeit und Reproduzierbarkeit der CEPs, besonders nach Fußsohlenstimulation, führt. *Across trial averaging* wird weitgehend verwendet, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern (Dawson 1951, 1954). Trotzdem ist das Auftreten einzelner evozierter Potentiale nicht gleichbleibend und die Potentiale können in Amplitude und Latenz variieren, was eine verzerrte Kurvenform (Iannetti et al. 2005) oder eine verminderte Amplitude nach Mittelung aller Potentiale (Mayhew et al. 2006) begünstigt. *Across trial* Variationen könnten auch durch Veränderungen in der Stimulus-Intensität, der Lokalisation und Dauer sowie durch Schwankungen der Aufmerksamkeit, Erwartung, Gewöhnung etc. bedingt sein (Legrain et al. 2003; Lee et al. 2009). Neue methodologische Untersuchungen führten Analysen einzelner Potentiale (Single-Trial) (Huang et al. 2013; Hatem et al. 2012) und mehrfachlineare Regression (Hu et al. 2011) durch, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Im *best trial average* Paradigma wurden Einzel-Trial-Analysen durchgeführt, welche durch visuelle Inspektion ausgewählt wurden und alle EEG-Abschnitte ausschlossen, die keine typische CEP-Form (siehe Methodenteil) innerhalb von 2,5 Standardabweichung der gemittelten CEPs des *all trial average* jedes Probanden, aufwiesen. Eine ähnliche Methode wurde in einer früheren Studie zur Detektion C-Faser-vermittelter Laser-evozierter Potentiale verwendet (Hüllemann et al. 2015). Wir favorisierten diese Methode, da diese einfach anzuwenden ist und die abgerufenen EEG-Daten nicht in eine zusätzliche Analyse-Software übertragen werden müssen, wie beispielsweise bei mehrfachlinearer Regression. Um die Vergleichbarkeit der CEPs, die durch das *best trial average*-Muster bewertet wurden, sicherzustellen, wurden Korrelationsanalysen für jede CEP-Komponente durchgeführt. Die Übereinstimmungsanalyse zeigte eine moderate bis starke Korrelation der CEP-Latenzen und Amplituden, was für die Anwendung des *best trial averages* in zukünftigen EP-Studien spricht, wenn nicht-schmerzhafte (schwache) Stimuli appliziert werden. Beachtenswert ist, dass signifikant moderate bis starke Übereinstimmungen gefunden wurden, obwohl die Anzahl der Probanden gering war (N = 16).

4.2 Methodische Aspekte

Die Abkühlungsgeschwindigkeit der Thermode war im Gesicht deutlich langsamer. Dies könnte durch die höhere Hauttemperatur in diesem Bereich erklärt werden.

Andere Arbeitsgruppen betrachteten einen A-Faserblock erst als vollständig, sobald drei Faktoren (1. Verzögerung der Wahrnehmung eines Nadelstichreizes über 500 ms, 2. Fehlen von Kaltwahrnehmung und 3. Fehlen von Berührungswahrnehmung (Madsen et al. 2012; Magerl et al. 2001) verändert waren. Bei 5 von 16 Probanden konnte keine Latenzzeit von über 500 ms auf einen Nadelstichreiz festgestellt werden, was möglicherweise für einen inkompletten Block sprechen könnte. Frühere Studien schlugen einen zur Reizsetzung synchronen Beginn der Reaktionszeit vor (Magerl et al. 2001). Anstelle dessen wurde ein trainierter Untersucher genutzt, der manuell die Stoppuhr zeitgleich zur Berührung der Haut mittels Monofilament startete (Wasner et al. 2004). Dennoch wurde die Beurteilung der Reaktionszeit auf eine standardisierte Weise durchgeführt (gleicher Untersucher, gleiche Vorgehensweise). Kleine Messungenauigkeiten der Reaktionszeit sind allerdings möglich. Das Ziel dieser Studie war zu testen, inwiefern CEPs in der Lage sind Funktionsverluste der kälteleitenden A-delta-Fasern zu detektieren. Nachdem keine der Testpersonen Kältestimuli während des A-Faserblocks wahrnahm, konnte der Block bei allen Probanden als suffizient erachtet werden.

CEP-Aufzeichnungen: Fußsohle versus Fußrücken

N1-, N2- und P2-Latenzen, die am Fußrücken aufgenommen wurden, zeigten eine ähnliche Länge wie solche des behaarten Teil des Fußes und des Unterschenkels, welche bei früheren CHEPS-Untersuchungen gemessen wurden (Atherton et al. 2007; Chao et al. 2007; Chen et al. 2006; Lagerburg et al. 2015). Unsere Ergebnisse zeigten, dass CEP-N2- und P2-Latenzen nach einer Fußsohlenstimulation länger waren als bei einer Fußrückenstimulation (N2 24.4 % länger und P2 26.2 % länger). Eine ähnliche Beobachtung wurde schon früher von Iannetti und Mitarbeitern gemacht, welche 25 % und 24 % längere Latenzen für N2 und P2 feststellten, nachdem sie CHEPS vom Handrücken mit denjenigen von der Handinnenseite verglichen. Dieses wurde mit der hautdurchmesserabhängigen Verzögerung und Abschwächung der Temperaturintensität auf Nozizeptor-Level nach Hitzeapplikation erklärt (Iannetti et al. 2006). Dieses könnte ebenfalls für die Fußsohle gelten.

Das Wissen über kälteleitende Fasern ist hauptsächlich auf Tierstudien zurückzuführen, bei denen kälteleitende Fasern sowohl in der behaarten, als auch in der unbehaarten Haut gefunden wurden (Leem et al. 1993). Eine frühere Studie nutzte Kältesensationen an der Fußsohle, um die Innervation nach einer Fersenrekonstruktion mittels eines Plantaris-Medialis-Lappens zu überprüfen (Wan et al. 2011). Plantare sensorische Zeichen zeigen sich bei vielen Neuropathien. Zum Beispiel leiden Patienten mit diabetischer Neuropathie oft an Fußulcera der Fußsohle. Daneben zeigt jeder dritte Patient mit dem Fabry-Syndrom eine frühe Änderung der

Kältesensation an der Fußsohle in Form von starken Schmerzen in diesem Bereich (Uceyler et al. 2014). Daher könnte ein Testverfahren, welches fähig ist die Funktionen in diesem Bereich zu bewerten, eine große Bereicherung für die klinische Diagnostik sein.

4.3 Studienlimitationen

Obwohl die *best trial average*-Methode die Sichtbarkeit der CEPs verbessert, ist eine Interpretation nur möglich, wenn vorher ein *all trial average* durchgeführt wurde. Nicht ausgeschlossen ist, dass die diagnostische Interpretation der *best trial average* CEPs durch die Herausnahme einzelner EEG-Abschnitte, welche nicht in das Muster passen, verzerrt sein könnte. Daher sollten für eine diagnostische Interpretation die artefaktfreien *all trial average*-Potentiale herangezogen werden. Diese Beschränkung betrifft hauptsächlich die Interpretation der CEP-Amplituden, wohingegen N2- und P2-Latenzen auch beim *best trial average* als verlässlich eingestuft werden können (es wurden keine signifikanten Latenzunterschiede zwischen dem *best trial average* und dem *all trial average* festgestellt).

4.4 Vorteile von CEP-Aufnahmen bei der Beurteilung dünner Nervenfasern

Laut den aktuellen Richtlinien zur Beurteilung von Pathologien dünner Nervenfasern und des spinothalamischen Trakts sind LEPs das verlässlichste elektrophysiologische Untersuchungsverfahren (Haanpää et al. 2011; Cruccu et al. 2010). Schmerzhaftes Laser- (LEP) und Hitzekontaktstimulationen (CHEPS) reizen hitzesensitive AMH Typ-II A-delta-Fasern in der behaarten Haut (Granovsky et al. 2005; Treede et al. 1995). Dieses wird über späte Antworten im EEG dargestellt. In der unbehaarten Haut reizen LEPs sehr wahrscheinlich AMH Typ-I-Fasern (Towell et al. 1996), was sich ebenfalls als späte Antwort im EEG darstellt. Im Gegensatz dazu zeigen CHEPS sehr späte Antworten (*ultra-late responses*) bei Stimulation der Handinnenfläche und keine oder nur unbeständige, sehr späte Antworten bei Stimulation der Fußsohle, wobei späte Antworten (*late responses*) möglicherweise nicht aufgezeichnet werden können (Granovsky et al. 2005). Dieses wurde durch die Annahme erklärt, dass in der unbehaarten Haut keine AMH Typ-II-Fasern gefunden wurden (Treede et al. 1995). Dieses Ergebnis wurde von Iannetti et al. angezweifelt, da AMH Typ-II-vermittelte späte Antworten von der unbehaarten Haut nach einer Handinnenflächenstimulation nachgewiesen werden konnten (siehe 4.2 (Iannetti et al. 2006)). Nichtsdestotrotz scheint es nicht möglich zu sein

CHEPS von der unbehaarten Haut der Fußsohle aufzuzeichnen, was als indirekter Beweis für die Abwesenheit von AMH Typ-II-Fasern angesehen werden kann (Granovsky et al. 2005) oder ein Indiz für eine reduzierte Faserdichte, die eine verlässliche Aufzeichnung verhindert, sein könnte.

Kälterezeptoren der Haut sind kältesensitiv aber antworten nicht auf mechanische oder Hitzereize (Campero et al. 2001; LaMotte und Thalhammer 1982). Die Tatsache, dass CEPs verlässlich späte EEG-Antworten bei allen Probanden an der unbehaarten Haut hervorrufen, könnte ein diagnostischer Vorteil gegenüber den CHEPs sein. Maier et al. konnten eine verminderte Kältewahrnehmung bei 40% der Polyneuropathien, bei 63% der postherpetischen Neuralgien, bei 50% der peripheren Nervenverletzungen und bei 49% der Patienten mit zentralen Schmerzen nachweisen (Maier et al. 2010). Dieses zeigt, dass CEPs eine wertvolle Ergänzung zu CHEPs oder LEPs bei der Untersuchung der Integrität kälteleitender Fasern darstellen, indem sie diese elektrophysiologische Lücke schließen.

Andere Studien berichteten, dass Kältewahrnehmung als eine wichtige somatosensorische Entität bei Patienten mit Neuropathien der dünnen Nervenfasern frühzeitig verändert ist (wie beim Fabry-Syndrom (Maag et al. 2008; Uceyler et al. 2013)). Durch CEPs könnten diese Veränderungen früh detektiert werden.

5. Zusammenfassung

Neuropathische Schmerzen sind Folge einer Läsion oder Ausdruck einer Erkrankung, welche hauptsächlich das somatosensorische Nervensystem betrifft. Neben dem neurologischen Befund muss oft ein bestätigendes Testverfahren durchgeführt werden, um somatosensorische Defizite objektivieren zu können.

Aktuell übliche Testverfahren zur Prüfung des somatosensorischen Systems umfassen dabei nur selten die Kältesensation. Für den Nachweis von Pathologien dünner Nervenfasern und des spinothalamischen Trakts gelten Methoden wie Laser-evozierte Potentiale (LEPs) als zuverlässige Verfahren. Jedoch kann die kälteleitende A-delta-Faser Subklasse nicht mittels Laser-, Hitze- oder Schmerzstimuli detektiert werden. Die Überprüfung der kälteleitenden A-delta-Faser Subklasse und damit des spinothalamischen Trakts ist durch Kälte-evozierte Potentiale möglich. Darüber hinaus werden bei dieser Methode die Nachteile (Schmerzen, notwendige Schutzmaßnahmen) anderer Untersuchungsmethoden vermieden.

Bei dem in dieser Studie getesteten Verfahren werden kurze Kältestimuli über eine Thermode auf die Haut appliziert und die mittels EEG erhobenen Kurvenausschläge ausgewertet.

Die zu Beginn der Arbeit aufgestellten Hypothesen konnten bestätigt werden. Während der Studie konnten bei 16 gesunden Probanden Kälte-evozierte Potentiale zuverlässig an Hand, Gesicht, Fußrücken und Fußsohle mit diesem kommerziell erhältlichen Stimulator abgeleitet werden. Sowohl reversible A-Faser-Funktionsverluste während eines A-Faserblocks (hier waren die Kälte-evozierten Potentiale unterdrückt) und die Wiederherstellung der A-Faser-Funktion kurze Zeit nach Lösung des A-Faserblocks konnten objektiv mit Hilfe von Kälte-evozierten Potentialen nachgewiesen werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Kälte-evozierte Potentiale als eine wertvolle non-invasive Methode zur Messung der A-Faser-Integrität bei gesunden Probanden verwendet werden können. Obwohl die Amplituden der Kälte-evozierten Potentiale klein ausfielen, konnten sie an jeder Körperlokalisierung konstant nachgewiesen werden.

Die Studie dient als Grundlage für weitere Untersuchungen bezüglich Kälte-evozierter Potentiale, welche sich mit *Small-Fiber*-Neuropathien und der Detektion von A-delta-Faser-Störungen befassen. Der nächste Schritt für einen diagnostischen Gebrauch von Kälte-evozierten Potentialen wird der Versuch sein, reproduzierbare Ergebnisse in einer Patientenstudie mit nachgewiesenen A-Faser-Funktionsstörungen zu erzeugen.

6. Literaturverzeichnis

- Atherton, D. D., Facer, P., Roberts, K. M., Misra, V. P., Chizh, B. A., Bountra, C., Anand, P. (2007): Use of the novel Contact Heat Evoked Potential Stimulator (CHEPS) for the assessment of small fibre neuropathy: correlations with skin flare responses and intra-epidermal nerve fibre counts. *BMC neurology*, 7, 21
- Baumgärtner, U., Greffrath, W., Treede, RD. (2012): Contact heat and cold, mechanical, electrical and chemical stimuli to elicit small fiber-evoked potentials: merits and limitations for basic science and clinical use. *Neurophysiologie clinique = Clinical neurophysiology*, 42 (5), 267–280
- Baumgärtner, U., Magerl, W., Klein, T., Hopf, H. C., Treede, R. D. (2002): Neurogenic hyperalgesia versus painful hypoalgesia: two distinct mechanisms of neuropathic pain. *Pain*, 96 (1-2), 141–151
- Bautista, D. M., Siemens, J., Glazer, J. M., Tsuruda, P. R., Basbaum, A. I., Stucky, C. L., Jordt, S. E., Julius, D. (2007): The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold. *Nature*, 448 (7150), 204–208
- Buchner, H., Noth, J., Armbruster, S., Baron, R., Boor, R. (2005): *Evozierte Potenziale, Neurovegetative Diagnostik, Okulographie*, Thieme, Stuttgart
- Campero, M., Serra, J., Bostock, H., Ochoa, J. L. (2001): Slowly conducting afferents activated by innocuous low temperature in human skin. *The Journal of physiology*, 535 (Pt 3), 855–865
- Chao, C. C., Hsieh, S. T., Chiu, M. J., Tseng, M. T., Chang, Y. C. (2007): Effects of aging on contact heat-evoked potentials: the physiological assessment of thermal perception. *Muscle & nerve*, 36 (1), 30–38
- Chatt, A. B., Kenshalo, D. R., Sr. (1979): The afferent fiber population mediating the thermal evoked response to skin cooling in man. *Experimental neurology*, 64 (1), 146–154
- Chen, I. A., Hung, S. W., Chen, Y. H., Lim, S. N., Tsai, Y. T., Hsiao, C. L., Hsieh H. Y., Wu T. (2006): Contact heat evoked potentials in normal subjects. *Acta neurologica Taiwanica*, 15 (3), 184–191

- Cruccu, G., Sommer, C., Anand, P., Attal, N., Baron, R., Garcia-Larrea, L., Haanpää, M., Jensen, T. S., Serra, J., Treede, R. D. (2010): EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. *European journal of neurology*, 17 (8), 1010–1018
- Dawson, G. D. (1951): A summation technique for detecting small signals in a large irregular background. *The Journal of physiology*, 115 (1), S. 2p-3p
- Dawson, G. D. (1954): A summation technique for the detection of small evoked potentials. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 6 (1), 65–84
- Deetjen, P., Alzheimer, C. (2005): *Physiologie*. Mit 88 Tabellen ; plus CD-ROM mit Prüfungsfragen und allen Abbildungen. 4. Aufl., Elsevier Urban & Fischer, München
- Deetjen, P., Speckmann, E.-J., Hescheler, J. (2004): *Physiologie*, 4. Aufl., Elsevier Urban & Fischer, München
- Duclaux, R., Franzen, O., Chatt, A. B., Kenshalo, D. R., Stowell, H. (1974): Responses recorded from human scalp evoked by cutaneous thermal stimulation. *Brain research*, 78 (2), 279–290
- Granovsky, Y., Matre, D., Sokolik, A., Lorenz, J., Casey, K. L. (2005): Thermoreceptive innervation of human glabrous and hairy skin: a contact heat evoked potential analysis. *Pain*, 115 (3), 238–247
- Haanpää, M., Attal, N., Backonja, M., Baron, R., Bennett, M., Bouhassira, D., Cruccu, G., Hansson, P., Haythornthwaite, J. A., Iannetti, G. D., Jensen, T. S., Kauppila, T., Nurmikko, T. J., Rice, A. S., Rowbotham, M., Serra, J., Sommer, C., Smith, B. H., Treede, R. D. (2011): NeuPSIG guidelines on neuropathic pain assessment. *Pain*, 152 (1), 14–27
- Hatem, S. M., Hu, L., Ragé, M., Gierasimowicz, A., Plaghki, L., Bouhassira, D., Attal, N., Iannetti, G. D., Mouraux, A. (2012): Automated single-trial assessment of laser-evoked potentials as an objective functional diagnostic tool for the nociceptive system. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 123 (12), 2437–2445
- Hu, L., Liang, M., Mouraux, A., Wise, R. G., Hu, Y., Iannetti, G. D. (2011): Taking into account latency, amplitude, and morphology: improved estimation of single-trial ERPs by wavelet filtering and multiple linear regression. *Journal of neurophysiology*, 106 (6), 3216–3229
- Huang, G., Xiao, P., Hu, L., Hung, Y. S., Zhang, Z. (2013): Single-trial laser-evoked potentials feature extraction for prediction of pain perception. *Conference proceedings : ... Annual*

- International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference, 2013, 4207–4210
- Hüllemann, P., Shao, Y. Q., Manthey, G., Binder, A., Baron, R. (2015): Central habituation and distraction alter C-fibre-mediated laser-evoked potential amplitudes. *European journal of pain*, 20 (3), 377-385
- Iannetti, G. D., Zambreanu, L., Cruccu, G., Tracey, I. (2005): Operculoinsular cortex encodes pain intensity at the earliest stages of cortical processing as indicated by amplitude of laser-evoked potentials in humans. *Neuroscience*, 131 (1), 199–208
- Iannetti, G. D., Zambreanu, L., Tracey, I. (2006): Similar nociceptive afferents mediate psychophysical and electrophysiological responses to heat stimulation of glabrous and hairy skin in humans. *The Journal of physiology* 577 (Pt 1), 235–248
- Jensen, T. S., Baron, R., Haanpaa, M., Kalso, E., Loeser, J. D., Rice, A. S. C., Treede, R.-D. (2011): A new definition of neuropathic pain. *Pain*, 152 (10), 2204–2205
- Karashima, Y., Talavera, K., Everaerts, W., Janssens, A., Kwan K. Y., Vennekens, R., Nilius, B., Voets, T. (2009): TRPA1 acts as a cold sensor in vitro and in vivo. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america* 104 (4), 1273-1278
- Kirschstein, T. (2008): Wie entsteht das EEG? *Das Neurophysiologie-Labor* 30 (1), 29–37
- Klinke, R., Brenner, B. (2014): *Physiologie*, 7. Aufl., Thieme, Stuttgart
- Klinke, R., Pape, H.-C., Silbernagl, S. (2005): *Physiologie*, 5. Aufl., Thieme, Stuttgart
- La Cesa, S., Tamburin, S., Tugnoli, V., Sandrini, G., Paolucci, S., Lacerenza, M., Marchettini, P., Cruccu, G., Truini A. (2015): How to diagnose neuropathic pain? The contribution from clinical examination, pain questionnaires and diagnostic tests. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 36 (12), 2169-2175
- Lagerburg, V., Bakkens, M., Bouwhuis, A., Hoeijmakers, J. G. J., Smit, A. M., Van Den Berg, S. J., Hordijk-De Boer, I., Brouwer-Van Der Lee, M. D., Kranendonk, D., Reulen, J. P., Faber, C. G., Merkies, I.S. (2015): Contact heat evoked potentials: normal values and use in small-fiber neuropathy. *Muscle & nerve*, 51 (5), 743–749

- LaMotte, R. H., Thalhhammer, J. G. (1982): Response properties of high-threshold cutaneous cold receptors in the primate. *Brain research*, 244 (2), 279–287
- Lee, M. C., Mouraux, A., Iannetti, G. D. (2009): Characterizing the cortical activity through which pain emerges from nociception. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29 (24), 7909–7916
- Leem, J. W., Willis, W. D., Chung, J. M. (1993): Cutaneous sensory receptors in the rat foot. *Journal of neurophysiology*, 69 (5), 1684–1699
- Legrain, V., Guérit, J.-M., Bruyer, R., Plaghki, L. (2003): Electrophysiological correlates of attentional orientation in humans to strong intensity deviant nociceptive stimuli, inside and outside the focus of spatial attention. *Neuroscience letters*, 339 (2), S. 107–110
- Lloyd, D. M., McGlone, F. P., Yosipovitch, G. (2015): Somatosensory pleasure circuit: from skin to brain and back. *Experimental dermatology*, 24 (5), 321–324
- Maag, R., Binder, A., Maier, C., Scherens, A., Toelle, T., Treede, R.-D., Baron, R. (2008): Detection of a characteristic painful neuropathy in Fabry disease: a pilot study. *Pain medicine (Malden, Mass.)*, 9 (8), 1217–1223
- Madsen, C. S., Johnsen, B., Fuglsang-Frederiksen, A., Jensen, T. S., Finnerup, N. B. (2012): The effect of nerve compression and capsaicin on contact heat-evoked potentials related to A δ - and C-fibers. *Neuroscience*, 223, 92–101
- Magerl, W., Fuchs, P. N., Meyer, R. A., Treede, R. D. (2001): Roles of capsaicin-insensitive nociceptors in cutaneous pain and secondary hyperalgesia. *Brain: a journal of neurology*, 124 (Pt 9), 1754–1764C
- Maier, C., Baron, R., Tolle, T. R., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., Gierthmühlen, J., Flor, H., Geber, C., Hüge, V., Krumova, E. K., Landwehrmeyer, G. B., Magerl, W., Maihöfner, C., Richter, H., Rolke, R., Scherens, A., Schwarz, A., Sommer, C., Tronnier, V., Uçeyler, N., Valet, M., Wasner, G., Treede, R. D. (2010): Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): somatosensory abnormalities in 1236 patients with different neuropathic pain syndromes. *Pain*, 150 (3), 439–450
- Mayhew, S. D., Iannetti, G. D., Woolrich, M. W., Wise, R. G. (2006): Automated single-trial measurement of amplitude and latency of laser-evoked potentials (LEPs) using multiple

- linear regression. *Clinical neurophysiology: official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 117 (6), 1331–1344
- McKemy, D. D. (2005): How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation. *Molecular Pain*, 1, 16
- Opsommer, E., Masquelier, E., Plaghki, L. (1999): Determination of nerve conduction velocity of C-fibres in humans from thermal thresholds to contact heat (thermode) and from evoked brain potentials to radiant heat (CO2 laser). *Neurophysiologie clinique = Clinical neurophysiology*, 29 (5), 411–422
- Schiffmann, R. (2015): Fabry disease. *Handbook of clinical neurology*, 132, 231–248
- Towell, A. D., Purves, A. M., Boyd, S. G. (1996): CO2 laser activation of nociceptive and non-nociceptive thermal afferents from hairy and glabrous skin. *Pain*, 66 (1), 79–86
- Treede, R. D., Meyer, R. A., Raja, S. N., Campbell, J. N. (1995): Evidence for two different heat transduction mechanisms in nociceptive primary afferents innervating monkey skin. *The Journal of physiology*, 483 (Pt 3), 747–758
- Treede, R. D., Lorenz, J., Baumgärtner, U. (2003): Clinical usefulness of laser-evoked potentials. *Neurophysiologie clinique*, 33 (6), 303-314
- Uceyler, N., Ganendiran, S., Kramer, D., Sommer, C. (2014): Characterization of pain in fabry disease. *The Clinical journal of pain*, 30 (10), 915–920
- Uceyler, N., Kahn, A.-K., Kramer, D., Zeller, D., Casanova-Molla, J., Wanner, C., Weidemann, F., Katsarava, Z., Sommer, C. (2013): Impaired small fiber conduction in patients with Fabry disease: a neurophysiological case-control study. *BMC neurology*, 13, 47
- Wan, D. C., Gabbay, J., Levi, B., Boyd, J. B., Granzow, J. W. (2011): Quality of innervation in sensate medial plantar flaps for heel reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*, 127 (2), 723–730
- Wasner, G., Schattschneider, J., Binder, A., Baron, R. (2004): Topical menthol--a human model for cold pain by activation and sensitization of C nociceptors. *Brain : a journal of neurology*, 127 (Pt 5), 1159–1171
- Wu, L. M. N., Williams, A., Delaney, A., Sherman, D. L., Brophy, P. J. (2012): Increasing internodal distance in myelinated nerves accelerates nerve conduction to a flat maximum. *Current biology: CB*, 22 (20), 1957–1961

Ziegler, E. A., Magerl, W., Meyer, R. A., Treede, R. D. (1999): Secondary hyperalgesia to punctate mechanical stimuli. Central sensitization to A-fibre nociceptor input. *Brain: a journal of neurology*, 122 (Pt 12), 2245–2257

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eigenschaften von A-delta-Fasern, A-beta-Fasern und C-Fasern

Tabelle 2: Kälte-evozierte Potentiale (CEP) - *all trial average*

Tabelle 3: Kälte-evozierte Potentiale (CEP) - *best trial average*

Tabelle 4: Kälte-evozierte Potentiale (CEP) - *all trial average* und *best trial average*

Tabelle 5: Ermittlung betroffener Handrückenareale durch computerunterstützte Pixel-Auszählung

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Impulsraten von Kaltfasern, Warmfasern und Indifferenztemperatur

Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Kälte-evozierten Potentials

Abbildung 3: Untersuchungsfläche im Versuchsraum

Abbildung 4: Platzierung der verwendeten Elektroden am Kopf der Probanden (10-20-System)

Abbildung 5: Dokumentation des Thermodenareals und des vom A-Faserblock betroffenen Hautareals (exemplarische Abbildung)

Abbildung 6: Bewertung der Kältewahrnehmung

Abbildung 7: Darstellung Kälte-evozierter Potentiale (CEPs) nach Gesicht-, Hand- und Fußstimulation

Abbildung 8: Darstellung Kälte-evozierter Potentiale (CEPs) vor, während und 10 Minuten nach dem A-Faserblock

Abbildung 9: Abkühlungsgeschwindigkeit der Kältereize einer Pathway-Stimulator-Thermode in Abhängigkeit vom Applikationsort

9. Anhang

9.1 Ethikvotum

MEDIZINISCHE FAKULTÄT
DER CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL

ETHIK-KOMMISSION



Universitäts-Kinderklinik - Schwannenweg 20 - 24105 Kiel

Prof. Dr. med. Ralf Baron
z.Hd. Dr. med. Philipp Hüllemann
Sektion Neurologische Schmerzforschung
und -therapie
UKSH, Campus Kiel
Arnold-Heller-Straße 3, Haus 41
24105 Kiel

Postadresse:
Arnold-Heller-Straße 3 / Haus 9
D-24105 Kiel
Telefon 04 31 / 597-18 09
Telefax 04 31 / 597-53 33
ethikkomm@email.uni-kiel.de

Datum:
20.7.2015

AZ: A 101/15 (bitte stets angeben)
Studienplan: Identifizierung spezifischer neurologischer Profile bei Patienten mit Morbus Fabry und anderen chronischen Schmerz-erkrankungen anhand sensorischer Testungen und Durchblutungsanalysen
Studienleiter und Antragsteller: Prof. Dr. med. Ralf Baron, UKSH, Campus Kiel
Sponsor: Genzyme GmbH, Neu-Isenburg
Erst-Antrag vom: 13. Januar 2015
Überarb. Antrag: 8. April 2015
Amendment vom: 26. Juni 2015: Etablierung von Kälte-evozierten Potentialen zur Testung der Integrität dünn-myelinisierter Nervenfasern bei gesunden Probanden
Anschreiben mit Basisformular für einen Ethikantrag und Prüfplan undatiert; Probandeninformation und Einwilligungserklärung ohne Versionsdatum
Nachreichung vom: 9. Juli 2015: Stellungnahme zu Schreiben vom 29. Juni 2015, Probandeninformation und Einwilligungserklärung, Version 2

Sehr geehrter Herr Kollege Hüllemann, sehr geehrter Herr Kollege Baron,

wir bestätigen den Eingang des obengenannten Amendments zur Beratung gemäß § 15 Berufsordnung (BO) der Ärztekammer Schleswig-Holstein.

Nach Durchsicht der Unterlagen durch die Geschäftsstelle und durch mich als Vorsitzenden der Ethik-Kommission bestehen gegen die Durchführung der Studie *nunmehr* keine berufsethischen und berufsrechtlichen Bedenken.

Die im Folgenden aufgeführten Hinweise müssen beachtet werden:

1. Die Ethik-Kommission benötigt vor Studienbeginn die Versicherungsbestätigung der Probandenversicherung.
2. Es wird darauf hingewiesen, dass künftige Änderungen der Studie der Ethik-Kommission anzuzeigen sind und gegebenenfalls eine erneute Beratung erforderlich machen.
3. Die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung dieser Studie verbleibt

beim Projektleiter und den an der Studie teilnehmenden Ärzten.

4. Die Ethik-Kommission weist darauf hin, dass für eventuell in Zukunft weitere teilnehmende Zentren eine berufsrechtliche Beratung bei der jeweils für sie zuständigen Ethik-Kommission erforderlich ist.

5. Gemäß Deklaration von Helsinki **muss** die Studie/das Amendment vor Beginn der Rekrutierung in einer öffentlich zugänglichen Datenbank registriert werden. Wir empfehlen die Registrierung im Deutschen Register für Klinische Studien (www.drks.de).

6. Gemäß Deklaration von Helsinki **muss** der Ethik-Kommission nach Studienende ein Abschlussbericht vorgelegt werden, der eine Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen der Studie enthält.

Wir wünschen Ihnen für die Durchführung der Studie viel Erfolg.

Mit freundlichen kollegialen Grüßen


Prof. Dr. med. H. M. Mehdorn
Vorsitzender der Ethik-Kommission


Dr. med. Christine Glinicke
Geschäftsführung der Ethik-Kommission

9.2 Probandenaufklärung

Probandenaufklärung

Etablierung von Kälte-evozierten Potentialen zur Testung der Integrität dünnmyelinisierter Nervenfasern bei gesunden Probanden

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband,

Wir möchten Sie bitten, an einer wissenschaftlichen Untersuchung teilzunehmen, bei der ein nicht-invasives Verfahren zur Messung dünner Nervenfasern etabliert werden soll.

1. Ziel der Untersuchung

Etablierung der Untersuchung dünner Nervenfasern (deren Funktion die Weiterleitung von Schmerz- und Kältereizen ist) mittels Kälte-evozierten Potentialen bei gesunden Probanden.

2. Ablauf der Untersuchung

Die Untersuchung wird an zwei unterschiedlichen Versuchstagen durchgeführt werden (zwischen den Messungen sollten mindestens 2 Wochen liegen).

Am ersten Versuchstag wird auf drei Körperregionen (rechter Handrücken, rechte Wange und rechte Fußsohle) eine ca. 2,5 cm durchmessende Thermode auf die Haut mit leichtem Druck aufgelegt. An jeder zu messenden Körperregion wird sich die Thermode in Abständen von etwa 10 Sekunden mehrfach von einer Starttemperatur von 32° innerhalb einer Sekunde um 5° abkühlen und anschließend wieder erwärmen. Sie werden nach Erklängen eines Ping-Tones gebeten die Intensität des Kältereizes auf einer Skala von 0-10 (0 = keine Kälteempfindung, 10 = stärkster vorstellbarer Kältereiz) zu bewerten. Da die Aufzeichnung mittels Hirnstromableitung (EEG) erfolgt, bitten wir Sie, während der Reizapplikation bis zum Erklängen des Ping-Tones den Kiefer zu entspannen und nicht zu blinzeln (jeweils ca. 3 Sekunden), da dieses die Aufzeichnung des EEGs während des Aufbringens des Kältereizes stören kann.

Am zweiten Versuchstag wird zunächst die rechte Hand nach o.g. Schema getestet. Anschließend wird die zu untersuchende Hand bequem auf Decken gelagert und um Ihr Handgelenk wird ein Softband gelegt, das am Ende mit 1,3 kg beschwert ist. Dadurch kommt es über die nächste Stunde zu einer Unterdrückung von Nervenfasern (A-Fasern), die oberflächliche Berührungs- und Kaltempfindungen vom Handrücken leiten. Wegen der bequemen Lagerung werden sie den Druck aufs Handgelenk kaum spüren. Stattdessen stellt sich ein Taubheitsgefühl im Bereich des Handrückens ein.

Sie werden regelmäßig gefragt, ob sie während der Nervenfaser-Blockade eine Temperatur- und/oder Schmerzempfindung haben und wie die Schmerzqualität ist. Hierzu werden wir wiederholt unterschiedliche Faserfunktionen testen (Berührung mittels eines dünnen Kunststoff-Filaments, Kälte mittels einer Thermode mit voreingestellten 20° C, Erkennen stechender Schmerzreize mittels eines Metallstiftes (Pinprick-Pen) mit abgerundeter Spitze und definiertem Gewicht von 512 mN, Wärmeempfindung mittels Thermode mit einer voreingestellten Temperatur von 40°C.

Sobald die A-Faser vermittelten Empfindungen geblockt wurden (dieses kann bis zu 90 Minuten dauern), werden erneut Kälte-evozierte Potentiale auf dem Handrücken getestet.

Anschließend wird das Softband entfernt. Innerhalb weniger Minuten kehrt das Gefühl im Bereich des Handrückens vollständig zurück. In diesen Minuten werden Sie erneut regelmäßig gefragt, ob sie eine Temperatur- und/oder Schmerzempfindung haben und wie die Schmerzqualität ist. Sobald die Empfindung wieder vollständig hergestellt ist (i.d.R. nach wenigen Minuten) werden wir ein drittes Mal Kälte-evozierte Potentiale auf dem Handrücken testen.

Die Methode zur Blockierung der A-Fasern ist ein seit mehr als dreißig Jahren etabliertes Verfahren, das von unserer Arbeitsgruppe in vorangegangenen Studien und auch von mehreren anderen deutschen Arbeitsgruppen angewandt wurde, ohne dass jemals Komplikationen aufgetreten sind (Bromm and Treede 1987; Mackenzie et al. 1975; Torebjörk and Hallin 1973; Wahren et al. 1989; Ziegler et al. 1999). Nach Entfernung des Blocks kann ein unangenehmes Kribbel- und Taubheitsgefühl auf dem Handrücken im Bereich des Daumens für mehrere Minuten fortbestehen (ein Gefühl „wie eingeschlafen“), bevor es gänzlich verschwindet. Besondere Risiken hinsichtlich einer Schädigung der Durchblutung der Hand, der Nervenfasern oder des Hautgewebes sind nicht bekannt.

Für alle Probanden wurde eine Versicherung abgeschlossen, die unabhängig vom Verschulden in einem Schadensfall wirksam wird. Wegeunfälle sind aus Studiengründen nicht mitversichert.

Bei Verdacht auf einen studienbedingten Gesundheitsschaden sind Sie verpflichtet, dieses der Versicherung und dem Prüfarzt unverzüglich anzuzeigen. Es besteht andernfalls die Gefahr, dass der Versicherungsschutz verloren geht. Sie müssen den Versicherer entweder selbst

benachrichtigen oder können sich zur Vereinfachung an den Prüfarzt wenden, der dann in Ihrem Auftrag die Versicherung informiert. Der Prüfarzt wird Ihnen eine Kopie dieser Anzeige aushändigen. Die Versicherung mit der Versicherungs-Nr.: AS-9100160838 wurde bei der Allianz abgeschlossen.

Für die Teilnahme an der Studie (zeitlicher Aufwand insgesamt ca. 5 Stunden) erhalten Sie eine Aufwandsentschädigung von 50 Euro.

Sollten Sie jetzt noch Fragen zu der Untersuchung haben, wenden Sie sich bitte an den Studienarzt.

Einwilligungserklärung

Etablierung von Kälte-evozierten Potentialen zur Testung der Integrität dünn-myelinisierter Nervenfasern bei gesunden Probanden

Vor- und Nachname der Probandin/ des Probanden

Ich bin ausreichend in mündlicher und schriftlicher Form über die Ziele und Methoden, die möglichen Risiken und den Nutzen der Studie informiert worden. Ich habe die Patienten-/Probandeninformation gelesen und den Inhalt verstanden.

Ich hatte ausreichend Gelegenheit, die Studie mit meinem Arzt zu besprechen und Fragen zu stellen. Alle meine Fragen und Bedenken wurden zu meiner Zufriedenheit beantwortet.

Ich bin damit einverstanden, dass im Rahmen der Studie meine personenbezogenen Daten (Name, Geburtsdatum, Anschrift etc.) und meine medizinischen Daten aufgezeichnet und anonymisiert/pseudonymisiert (d.h. ohne Namensnennung verschlüsselt) zur Auswertung der Ergebnisse verwendet werden. Alle im Rahmen der Studie erhobenen Daten werden strikt vertraulich gemäß dem Datenschutzgesetz behandelt.

Einer wissenschaftlichen Auswertung der Daten und einer möglichen Veröffentlichung der vollständig anonymisierten Ergebnisse stimme ich zu.

Ich weiß, dass meine Studienteilnahme freiwillig ist und dass ich jederzeit ohne Angabe von Gründen meine Zusage zur Teilnahme widerrufen kann und mir daraus keine Nachteile

entstehen. Beim Widerruf werden auf mein Verlangen alle erhobenen Daten gelöscht, soweit zuvor keine vollständige Anonymisierung erfolgte. Ich gebe hiermit meine freiwillige Zustimmung zur Teilnahme an dieser Studie. Eine Kopie dieser Einwilligung und eine Kopie der Patienten-Probandeninformationsschrift habe ich erhalten.

Ort, Datum

Unterschrift der Probandin / des Probanden

Die Probandin / der Proband wurde von mir über Ziel, Bedeutung, Tragweite sowie etwaige Risiken der Studie aufgeklärt.

Ort, Datum

Unterschrift des Arztes

10. Danksagung

Mein Dank gilt folgenden Personen, die mich während der Dissertationserarbeitung unterstützt haben:

Herrn Prof. Dr. Ralf Baron, der es mir ermöglichte diese Arbeit in der Klinik für Neurologie in der Sektion Schmerzforschung durchzuführen,

den Mitarbeitern der Sektion Schmerzforschung, die mir bei der Durchführung von Versuchen immer mit Rat und Tat zur Seite standen,

allen Probanden, die an dieser Studie teilnahmen,

und mein ganz besonderer Dank richtet sich an meinen Doktorvater PD Dr. Philipp Hüllemann, der durch seine stets verlässliche Unterstützung und großartige Betreuung die Arbeit in dieser Form erst ermöglichte.

Außerdem danke ich meiner Familie, die während des gesamten Studiums hinter mir stand.

11. Veröffentlichungen von Teilen dieser Arbeit

Hüllemann, P., **Nerdal, A.**, Binder, A., Helfert, S., Reimer, M., Baron, R. (2016): Cold-evoked potentials – Ready for clinical use? *European journal of pain*, 20 (10), 1730-1740

Hüllemann, P., Wafteh, R., Shao, Y. Q., **Nerdal, A.**, Binder, A., Baron, R. (2015): Peripheral sensitization reduces laser-evoked potential habituation. *Neurophysiologie Clinique*, 45 (6), 457-467

Poster vom Kongress der Gesellschaft für Neurologie 2016:

Nerdal, A., Hüllemann, P., Möller, P., Binder, A., Baron, R.: Kälteevozierte Potentiale: bereit für den klinischen Einsatz?

