

An die
Forschungsförderung der DGUV
Alte Heerstraße 111
53757 Sankt Augustin

forschungsfoerderung@dguv.de

**Gefördert aus Mitteln des Forschungsfonds der
Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV)**

Abschlussbericht zum FP 440

MRT-Untersuchungen von Geruchs- und Reizstoffwirkungen: Multimodale Objektivierung des Nozebo-Effekts bei Reizsensitiven im Alltag, und deren möglicher Einfluss auf Unfallrisiken und die Arbeitsleistung

Laufzeit: 1.12.2019 bis 30.6.2024

Forschungsleiter

Prof. Dr. Martin Tegenthoff
Neurologische Klinik, BG Universitätsklinikum Bergmannsheil
gGmbH
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, 44789 Bochum
Tel.: + 49 (0)234 30-26808
Fax: + 49 (0)234 30-26888
E-Mail: martin.tegenthoff@rub.de

Kooperationspartner

Prof. Dr. Thomas Brüning
Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der DGUV (IPA)
Institut der Ruhr-Universität Bochum
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, 44789 Bochum

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Kurzfassung Englisch	3
Kurzfassung Deutsch	4
Problemstellung und Vorhabenziel	5
Methodik	9
<i>Rekrutierung der Studienteilnehmenden</i>	9
<i>Confokale Corneamikroskopie (CCM)</i>	9
<i>Quantitative Sensorische Testung (QST)</i>	10
<i>Independent Component Analyse (ICA) der funktionellen resting-state Bildgebung</i>	10
<i>GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex</i>	10
<i>PRESS-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex</i>	11
<i>Arbeitsgedächtnisleistung unter Nocebostimulation</i>	11
<i>Neuronale Korrelate der Nocebostimulation</i>	13
<i>Auswertung der Ergebnisse</i>	13
Ergebnisse in der Migräne-Gruppe	13
<i>Rekrutierung der Studienteilnehmenden</i>	13
<i>Confokale Corneamikroskopie</i>	15
<i>Quantitative Sensorische Testung</i>	15
<i>GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex</i>	16
<i>Independent Component Analyse (ICA) der funktionellen resting-state Bildgebung</i>	16
<i>PRESS-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex</i>	17
<i>Arbeitsgedächtnisleistung unter Nocebostimulation</i>	17
<i>Neuronale Korrelate der Nocebostimulation</i>	17
<i>Zusammenfassung der Ergebnisse für die Migräne-Gruppe</i>	18
Ergebnisse in der Capsaicin-Gruppe	19
<i>Rekrutierung der Studienteilnehmenden</i>	19
<i>Confokale Corneamikroskopie</i>	20
<i>Quantitative Sensorische Testung</i>	20
<i>Independent Component Analyse (ICA) der funktionellen resting-state Bildgebung</i>	20
<i>GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex</i>	20
<i>PRESS-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex</i>	21
<i>Arbeitsgedächtnisleistung unter Nocebostimulation</i>	21
<i>Neuronale Korrelate der Nocebostimulation</i>	21

<i>Zusammenfassung der Ergebnisse für die Capsaicin-Gruppe</i>	21
Darstellung aufgetretener Probleme	23
Auflistung der zwischenzeitlichen für das Vorhaben relevanten Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilten Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen	24
Hat sich seit Beginn des Projektes der Bezug des Forschungsvorhabens zur gesetzlichen Unfallversicherung bestätigt oder verändert, insbesondere im Hinblick auf die Praxisverknüpfung	25
Ausblick auf die mögliche Fortführung des Forschungsvorhabens	25
Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan	26
Literatur	27
Unterschriftenseite verpflichtend für Kooperationsprojekte	31

Kurzfassung Englisch

(1) Objectives: A key topic in the current discussion on setting limits for substances with local effects is the consideration of susceptible groups by applying appropriate extrapolation factors. A critical issue in this context is the growing number of workers with chronic illnesses, which may be associated with increased sensitivity to odors and irritants. Strong odors in the workplace may pose a safety risk to this group, as they may become distracted from their tasks (distraction effect), potentially leading to accidents. The research project aimed to investigate biomarkers for identifying and characterizing susceptible groups in terms of odor and irritant sensitivity, using migraine sufferers as an example. Additionally, healthy individuals with a strong respiratory response to capsaicin were studied to evaluate the research hypotheses in a group without chronic illness.

(2) Activities/Methods: To achieve the objectives, imaging techniques and new investigative methods were employed. These included structural and functional MRI scans to examine the activity and connectivity of specific brain areas. GABA and PRESS spectroscopy were used to measure neurotransmitter concentrations, while Quantitative Sensory Testing (QST) assessed sensory sensitivity. Confocal Corneal Microscopy (CCM) was utilized to examine nerve fibers in the cornea, and n-back tasks of varying difficulty levels were employed to investigate the distraction effect of a nocebo odor on working memory.

(3) Results: The study showed multiple significant differences between migraine sufferers and control subjects. Migraine sufferers exhibited an increased branching density of pain fibers in the cornea, indicating heightened pain sensitivity. Additionally, lower GABA concentrations were observed in the insula, suggesting reduced inhibition of neuronal activity. These neurobiological changes led to increased neural connectivity in the brain, particularly in networks responsible for processing pain and sensory stimuli. Under nocebo stimulation, migraine sufferers reported significant impairment of well-being and exhibited greater distractibility at the neural level, though there was no significant impact on cognitive performance at the behavioral level. A similar increased sensitivity to odors and irritants is expected in other common chronic illnesses, such as asthma or other respiratory diseases.

In the capsaicin group, an increased pain sensitivity was observed, though it did not consistently correlate with the other biomarkers. The hypothesized increased sensitivity to odors and irritants could not be confirmed in this group of non-chronically ill individuals.

Kurzfassung Deutsch

(1) **Ziele:** Ein zentrales Thema bei der aktuellen Diskussion über die Festlegung von Grenzwerten für Stoffe mit lokalen Effekten ist die Berücksichtigung suszeptibler Personengruppen durch die Anwendung entsprechender Extrapolationsfaktoren. Kritisch ist in diesem Zusammenhang die steigende Anzahl Erwerbstätiger mit einer chronischen Erkrankung, die u.U. mit einer verstärkten Geruchs- und Reizsensitivität einhergeht. Intensive Gerüche am Arbeitsplatz stellen für diese Personengruppe möglicherweise ein Sicherheitsrisiko dar, da sie sich von der Arbeitsaufgabe ablenken lassen (Distraktionseffekt), was in der Folge zu Unfällen führen kann. Das Forschungsprojekt hatte zum Ziel, Biomarker zur Identifikation und Charakterisierung von suszeptiblen Personengruppen gegenüber Geruchs- und Reizstoffwirkungen am Beispiel von Migränebetroffenen zu untersuchen. Zusätzlich wurde gesunde Personen mit einer starken Reaktion der Atemwege auf Capsaicin untersucht, um die Forschungshypothesen an einer Gruppen nicht chronisch Kranker zu evaluieren.

(2) **Aktivitäten/Methoden:** Zur Erreichung der Ziele wurden bildgebende Verfahren und neue Untersuchungsmethoden eingesetzt. Dazu gehörten strukturelle und funktionale MRT-Aufnahmen, um die Aktivität und die Konnektivität bestimmter Hirnareale zu untersuchen. GABA- und PRESS-Spektroskopie kamen zum Einsatz, um Neurotransmitterkonzentrationen zu messen, während die Quantitative Sensorische Testung (QST) dazu diente, die sensorische Empfindlichkeit zu evaluieren. Mit der Confokalen Corneamikroskopie (CCM) wurden die Nervenfasern in der Cornea untersucht und n-back Aufgaben mit unterschiedlichen Schwierigkeitsstufen wurden genutzt, um den Distraktionseffekt eines Nocebo-Geruchs auf das Arbeitsgedächtnis zu untersuchen.

(3) **Ergebnisse:** Die Studie zeigte mehrere signifikante Unterschiede zwischen Migränebetroffenen und Kontrollpersonen. Migränebetroffene wiesen eine erhöhte Verzweigungsdichte der Schmerzfasern in der Cornea auf, was auf eine erhöhte Schmerzempfindlichkeit hindeutet. Zudem wurde eine geringere GABA-Konzentration in der Insula festgestellt, was auf eine verringerte Hemmung neuronaler Aktivitäten schließen lässt. Diese neurobiologischen Veränderungen führten zu einer erhöhten neuronalen Konnektivität im Gehirn, insbesondere in Netzwerken, die für die Verarbeitung von Schmerzen und sensorischen Reizen verantwortlich sind. Unter Nocebo-Stimulation klagten Migränebetroffene über einer starke Beeinträchtigung ihres Wohlbefindens. Außerdem zeigte sich bei ihnen eine stärkere Ablenkbarkeit auf neuronaler Ebene, jedoch keine signifikante Beeinträchtigung der kognitiven Leistungsfähigkeit auf der Verhaltensebene. Eine in ähnlicher Weise erhöhte Empfindlichkeit für Geruchs- und Reizstoffe ist auch bei anderen häufigen chronischen Erkrankungen zu erwarten, wie z.B. bei Asthma oder anderen Atemwegserkrankungen.

In der Capsaicin-Gruppe zeigte sich eine erhöhte Schmerzempfindlichkeit, die jedoch nicht konsistent mit den anderen Biomarkern korrelierte. Die postulierte erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Geruch- und Reizstoffen konnte in dieser Gruppe der nicht chronisch Kranken nicht bestätigt werden.

Problemstellung und Vorhabenziel

Nahezu die Hälfte aller Arbeitsplatzgrenzwerte beruht auf der Vermeidung von Reizwirkungen an den Augen und den oberen Atemwegen. Zur Festsetzung gesundheitsbasierter Grenzwerte für diese sogenannten "Stoffe mit lokalen Effekten" werden belastbare Daten aus Studien am Menschen benötigt (Brüning et al., 2014). Vor allem am Innenraumarbeitsplatz, z.B. im Büro, werden vor dem Hintergrund steigender Anforderungen und zunehmender psychischer Belastungen intensive und unangenehm riechende Stoffe am Arbeitsplatz als ebenso bedeutsame Faktoren ungünstiger Arbeitsumgebungsbedingungen angesehen wie z.B. Lärm, ungünstiges Raumklima oder schlechte Beleuchtung. In den USA wurden sogar Arbeitsplatzgrenzwerte für Substanzen aufgrund ihres "widerwärtigen" Geruchs festgelegt. Dabei orientierte sich die Occupational Safety and Health Administration (OSHA) an Berichten über gesundheitliche Beschwerden und der Hypothese, dass starke Gerüche von der Arbeitsaufgabe ablenken (Distraktionseffekt) und damit ein Sicherheitsrisiko darstellen können (Dalton & Jaén, 2010). Es konnte gezeigt werden, dass sich die Aufmerksamkeit bei akutem Stress auf den ablenkenden Reiz richtet, was zu Lasten der Arbeitsleitung geht (Oei et al., 2012).

Die Theorie der Ablenkung besagt, dass Aufmerksamkeit prinzipiell eine begrenzte Ressource ist, die für jegliche Art der Wahrnehmung und bei der Bewältigung von Arbeitsaufgaben benötigt wird. Studien mit bildgebenden Verfahren bestätigen, dass der Vorgang der Geruchs- und Reizwahrnehmung Ressourcen im Gehirn beansprucht und so mit der Verarbeitung von anderen sensorischen Eindrücken (Sehen, Hören, Tastsinn) konkurriert, da sie alle über ein gemeinsames Aufmerksamkeitssystem kontrolliert werden (Zeki et al., 2004). Für den Arbeitsschutz und die Ableitung präventiver Maßnahmen sind mögliche Ablenkungsprozesse von besonderer Bedeutung, da eine Beeinträchtigung der Aufmerksamkeit zu Fehlern und in letzter Konsequenz auch zu Unfällen führen kann.

Im Vorgängerprojekt FP365 konnten wir den Distraktionseffekt mit der Methode der Magnetresonanztomographie (MRT) sichtbar machen. Bei der Bearbeitung einer Arbeitsgedächtnisaufgabe ohne Geruch war das erwartete, typische Aktivierungsmuster in den entsprechenden Hirnarealen erkennbar. Bei gleichzeitiger Darbietung von Benzaldehyd (angenehmer Mandelgeruch) war die Aktivierung in den geruchsverarbeitenden Hirnarealen erhöht und in den mit der Aufgabenbearbeitung assoziierten Hirnarealen vermindert. Der Distraktionseffekt zeigte sich jedoch nicht auf der Verhaltensebene in Form einer sichtbaren Beeinträchtigung der Leistung, d.h. die Fehlerrate war nicht erhöht und die Reaktionszeiten waren nicht verlängert.

Möglicherweise war die im Vorgängerprojekt verwendete Arbeitsgedächtnisaufgabe zu leicht. Generell geht man davon aus, dass eine mittlere Aufgabenschwierigkeit zu einem optimalen Erregungsniveau führt. Bei einer Unterforderung, wie z.B. bei monotonen, sich wiederholenden Aufgaben, ist die Erregung (synonym: Anspannung, Aktivierung) zu niedrig. Eine zusätzliche Stimulation der Sinne, z.B. durch Geruch oder eine leichte sensorische Reizung, aber auch durch Licht oder Töne, kann das Erregungsniveau erhöhen und damit die Leistung verbessern. Bei Aufgaben mittlerer oder höherer

Schwierigkeit ist das Erregungsniveau bereits optimal oder sogar zu hoch, so dass eine zusätzliche Stimulation durch Geruch ablenkend wirken kann (Wolkoff, 2005).

Ein weiterer Grund könnte sein, dass der Geruch nach Mandeln eher angenehm ist und damit weniger ablenkend wirkte als ein unangenehmer oder sogar ekelregender Geruch. In einer Studie, in der verdorbene Bierhefe zur Erzeugung der Emotion "Ekel" eingesetzt wurde, verschlechterte sich die Leistung in einem Arbeitsgedächtnistest bei der schwierigen Variante deutlicher als bei der leichten (Schneider et al., 2006). In einer zweiten Studie zeigte nur etwa die Hälfte der untersuchten Personen eine Beeinträchtigung der Arbeitsgedächtnisleistung bei der schwierigen Version und in Anwesenheit des unangenehmen Geruchs (Habel et al., 2007). Die Autoren schlossen daraus, dass es susceptible Personen gibt, die sich bei der Bearbeitung einer Aufgabe eher von negativen Gerüche ablenken lassen als andere.

Neuere Studien zeigen, dass Aufmerksamkeitsprozesse nicht durch einzelne Hirnareale gesteuert werden, sondern durch unterschiedliche Netzwerke von miteinander verbundenen Hirnregionen. Die sogenannte Konnektivität eines solchen Netzwerkes im Ruhezustand ist ein Marker für dessen Integrität und Funktionalität und kann von unteraktiv, normal bis überaktiv reichen. Die beiden stabilsten Netzwerke sind das Default-Mode-Netzwerk (u.a. wichtig für Introspektion und Selbstwahrnehmung) und das Salienz-Netzwerk (Raichle, 2015; Mak et al., 2017). Das Salienz-Netzwerk wird aktiv, wenn Reize beispielsweise aufgrund ihrer Intensität oder Neuheit aus ihrem Kontext hervorstechen, eine besondere Bedeutung erlangen und unsere Aufmerksamkeit fordern, wie beispielsweise ein intensiver oder unangenehmer Geruch. Veränderungen der Konnektivität wurden z.B. bei Patientinnen und Patienten mit chronischen Schmerzzuständen gefunden. Man geht davon aus, dass Personen mit einem überaktiven Salienz-Netzwerk eher durch bestimmte Reize ablenkbar sind und eine Beeinträchtigung der Leistung zeigen.

Eine den wenigen Studien, die die Netzwerk-Konnektivität im Zusammenhang mit der Verarbeitung von Gerüchen untersuchte konnte zeigen, dass eine enge Verbindung zwischen dem Default-Mode-Netzwerk und dem olfaktorischen Kortex besteht. Während der Verarbeitung von Geruchsreizen wird das Default-Mode-Netzwerk deaktiviert, was darauf hindeutet, dass die Geruchswahrnehmung Ressourcen für Verarbeitungs-, Aufmerksamkeits- und Speicherungsprozesse verbraucht (Karunanayaka et al., 2017). In einer anderen Studie wurden im Zusammenhang mit einer erhöhten Anfälligkeit für den Distractionseffekt Veränderungen in der Konnektivität zwischen dem Salienz- und dem Default-Mode-Netzwerk gefunden (Götting et al., 2017).

Im Vorgängerprojekt FP365 konnte bei gesunden Personen eine susceptible Untergruppe abgegrenzt werden. Es handelte sich um Personen mit einer starken Reaktion der Atemwege auf Capsaicin (sog. "Capsaicin-Sensitive"). Auf neuronaler Ebene zeigten sich entsprechende Veränderungen in den Verbindungen zwischen dem olfaktorischen Kortex und dem Default-Mode-Netzwerk sowie innerhalb des Salienz-Netzwerks. Außerdem wiesen diese Personen eine erhöhte Schmerzsensitivität und eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle auf, als Konsequenz einer verminderten Konzentration des

hemmenden Neurotransmitters Gamma-Aminobuttersäure (GABA) im Thalamus, dem „Tor zum Bewusstsein“ (Heba et al., 2020).

Hier zeigte sich im Ansatz ein Wirkungsmechanismus, der zuvor auch bei Patientinnen und Patienten mit chronischen Schmerzen beobachtet worden war. Aufgrund dieser Ergebnisse stellten wir uns die Frage, ob bestimmte chronische Erkrankungen mit einer veränderten Geruchs- und Reizsensitivität einhergehen. Eine veränderte Sensitivität könnte dazu führen, dass diese Personen potenziell stärker durch Geruchs- und Reizstoffe abgelenkt und somit in ihrer Arbeitsleistung beeinträchtigt werden als gesunde Personen. Bei bestimmten chronischen Erkrankungen kann die Wahrnehmung eines Geruchs- oder Reizstoffes sogar eng mit dem Auftreten eines Krankheitsschubes verbunden sein. Migräne bietet hierfür ein prominentes Beispiel und wurde daher in unserer Studie als erstes Modell genutzt. Viele Migränapatienten fühlen sich unwohl, wenn sie einen Geruch, beispielsweise Parfüm, wahrnehmen (Osmophobie). Im Extremfall kann ein Geruch sogar einen Migräneanfall auslösen (Fornazieri et al., 2016).

Genau hier setzte das aktuelle Forschungsprojekt an. Untersucht wurde, ob sich von Migräne betroffene Personen eher durch einen Geruchs- und Reizstoff ablenken lassen und in ihrer Leistungsfähigkeit beeinträchtigt werden als gesunde Kontrollpersonen. Anstelle eines echten Geruchsstoffs wurde ein Nozebo-Geruch verwendet. Dies hatte folgende Gründe: Zum einen stand das im Vorgängerprojekt FP365 entwickelte MRT-Olfaktometer nicht zur Verfügung. Zum anderen schien es ethisch problematisch, Personen mit einer bekannten Empfindlichkeit gegenüber Gerüchen einem Geruchsstoff auszusetzen, der unter Umständen eine stärkere adverse Reaktion, wie z.B. einen Migräneanfall bei Migränebetroffenen, auslösen könnte. Das Ziel des Projektes war, bildgebende Verfahren und neue Untersuchungsmethoden einzusetzen, um die Netzwerk-Konnektivität des Gehirns, seine Neurotransmitterausstattung, die sensorische Empfindlichkeit und die Nervenfaserversorgung der Cornea als Biomarker für die Identifikation und Charakterisierung von suszeptiblen Personengruppen nutzbar zu machen.

Zusätzlich zu den im Ursprungsantrag definierten Forschungszielen wurde das Forschungsprojekt, nach Absprache mit dem Forschungsbegleitkreis (FBK) und auf Basis der Erkenntnisse aus dem Vorgängerprojekt FP365 um eine "Capsaicin-Gruppe" erweitert. Die Empfindlichkeit gegenüber Capsaicin kann mit einem einfachen Test ermittelt werden und wird bei der Diagnose einer sensorischen Hyperreaktivität (SHR, Sensory Airway Hyperreactivity) der Atemwege eingesetzt (Hoffmeyer et al., 2013). Capsaicin-sensitive Personen sind eine heterogene Gruppe, die auf Geruchs- und Reizstoffe mit asthmaähnlichen Symptomen wie Atemnot und Husten reagieren. Im klinischen Kontext zeigte eine 2020 veröffentlichte Studie, dass eine erhöhte Sensitivität gegenüber Capsaicin bei Patienten mit Asthma mit schlechteren Prognosen korreliert ist (Deshpande & Yu, 2020). Physiologisch wird diese Reaktion durch spezifische Schmerzrezeptoren vermittelt, die nicht nur auf chemische Substanzen wie Capsaicin, sondern auch auf einen niedrigen pH-Wert oder hohe Temperaturen ($> 42^{\circ}\text{C}$) reagieren (Fischer et al., 2020). Mögliche Mechanismen einer erhöhten Sensitivität gegenüber Capsaicin sind

entweder eine erhöhte Rezeptordichte oder eine niedrigere Aktivierungsschwelle. Darüber hinaus gibt es Hinweise auf eine zentral gesteigerte Schmerzempfindlichkeit, was durch die Ergebnisse des Vorgängerprojektes FP365 bestätigt wurde (Heba et al., 2020).

Die für die Migräne-Gruppe definierten Hypothesen wurden deshalb auf die Capsaicin-Gruppe erweitert.

Migränebetroffene zeigen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

- ①a eine veränderte Morphologie bzw. Verteilung der Schmerzfasern in der Cornea;
- ①b in der Inselregion und im Thalamus eine geringere Konzentration des hemmenden Neurotransmitters GABA;
- ①c eine erhöhte Konnektivität zwischen dem olfaktorischen Kortex und dem Default-Mode Netzwerk, sowie innerhalb des Salienz-Netzwerks.

Zudem zeigen Migränebetroffene Leistungsbeeinträchtigungen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

- ②a bei Verabreichung eines Nozebo-Geruchs und/oder
- ②b bei einer niedrigeren Arbeitsbelastung.

Methodik

Rekrutierung der Studienteilnehmenden

Da überwiegend Frauen Migränebetroffene sind und sich insofern deutlich mehr Frauen für die Studienteilnahme meldeten, wurde die Studie schließlich nur mit Frauen durchgeführt. Die Probandinnen wurden über Facebook-Gruppen, die Probandendatenbank des IPA, sowie ausgehängte Flyer in der Uni und im Universitätsklinikum Bergmannsheil rekrutiert. Mithilfe eines Screening-Fragebogens wurden Probandinnen auf Basis der folgenden Kriterien ausgeschlossen: fehlende Studieneinwilligung, schwangere oder stillende Frauen, aktueller Nikotinkonsum, neurologische Erkrankungen, manifeste Herz-Kreislauferkrankungen, stärkere Einschränkungen des Seh- und/oder Hörvermögens, Erkrankungen des Nasen-/Rachenraums (z.B. Sinusitis), Riechstörungen (Anosmie).

Nach Feststellung der generellen Studieneignung wurde am ersten Studientag (U1) im IPA eine medizinische Eignungsuntersuchung durchgeführt. Diese umfasste eine ausführliche fragebogengestützte Anamnese (z.B. chronische Erkrankungen) inkl. körperlicher Untersuchung, Capsaicin-Test, Blutuntersuchung (z.B. sIgE (Atopie)), Urinuntersuchung (Cotinin (Rauchen)), Ruhe-EKG, Sniffin Sticks Test (Riechvermögen)), Fragebögen zur Geruchsempfindlichkeit. Am Bergmannsheil wurden an insgesamt zwei Untersuchungstagen (U2, U3) folgende Untersuchungen durchgeführt: Strukturelle MRT-Aufnahmen des Gehirns, funktionelle MRT-Aufnahmen des Gehirns in Ruhe (resting-state) und während der Bearbeitung von Arbeitsgedächtnisaufgaben (n-back) mit oder ohne gleichzeitiger Applikation eines Nocebo-Geruchs, GABA-sensitive und Glutamat-sensitive (PRESS) Spektroskopie des Gehirns, Confokale Corneamikroskopie (CCM), Quantitative Sensorische Testung (QST).

Confokale Corneamikroskopie (CCM)

Die Nervenfasern in der Cornea stellen einen Biomarker für die Erfassung individueller Schmerzempfindungen dar. Als durchsichtiges Medium erlaubt die Cornea die Darstellung von Nerven *in vivo* und eröffnet so eine sehr gute Möglichkeit, Schmerznervenfasern zu untersuchen. Die Cornea des Auges weist Nervenfasern zur Thermo- und Mechanorezeption auf. Außerdem korreliert die Nervendichte in der Cornea eng mit der in der Haut. Die CCM stellt daher einen vielversprechenden Untersuchungsansatz dar, um eine veränderte Morphologie bzw. Verteilung der Schmerzfasern in der Cornea bei Personen mit einer chronischen Erkrankung und ggf. einer veränderten Empfindlichkeit gegenüber Reizstoffen mit einer nicht-invasiven und technisch einfachen Methode an den Augen zu untersuchen.

Das Untersuchungsgerät (Heidelberg Retina-Topograph III mit Rostock Cornea-Modul; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland) gehört zur Ausstattung der Neurologischen Klinik des BG UK Bergmannsheil. Nach Applikation eines Lokalanästhetikums in Form von Augentropfen in das zu untersuchende Auge, wird das Cornea-Modul an das Auge herangeführt und ein Kontakt zur Cornea

hergestellt. Durch optische Feinjustierung wird der corneale Nervenplexus in einer Tiefe von ca. 70 μm detektiert und digital fotografiert. Die Auswertung der CCM erfolgt softwaregestützt. Gemessen werden die corneale Nervenfasernlänge und -dichte, sowie die Verzweigungsdichte der nicht-myelinisierten C-Fasern.

Quantitative Sensorische Testung (QST)

Jede Probandin absolvierte einige Tests aus der Quantitativen Sensorischen Testbatterie (QST). Am linken Unterarm wurden die folgenden Parameter bestimmt: Kältewahrnehmungsschwelle (CDT), Wärmewahrnehmungsschwelle (WDT), Kälteschmerzschwelle (CPT), Hitzeschmerzschwelle (WPT), mechanische Schmerzschwelle (MPT), mechanische Schmerzsensitivität (MPS) und mechanische Schmerzsummation (WUR). Die Durchführung der Tests erfolgte nach dem klinischen Standardprotokoll (Rolke et al., 2006).

Independent Component Analyse (ICA) der funktionellen resting-state Bildgebung

Bei der Untersuchung des Gehirns im Ruhezustand (resting-state) kann man die Verbindungen von Gehirnarealen erkennen. Gehirnregionen, die ohne äußeren Anlass gleichzeitig aktiv sind, tauschen Informationen miteinander aus. Für die ICA erfolgte die Vorverarbeitung der resting-state MRT-Aufnahmen mittels Matlab-basierter Software (CONN 20.b; Allen et al., 2014). Die resultierenden Aufnahmen wurden anschließend mittels GIFT Toolbox in funktionelle resting-state Netzwerke zerlegt (Calhoun et al., 2001). Alle Verteilungsmuster entsprechen der bekannten Literatur. Zudem wurde die subjektive Identifizierung der einzelnen Netzwerke durch multiple Regressionen mit räumlichen „template“-Netzwerken bestätigt (Royston et al., 2006); $R > 0,46$).

GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex

Als Biomarker zur Identifikation von Personen mit einer veränderten Empfindlichkeit gegenüber Reizstoffen kann GABA, der wichtigste hemmende Botenstoff des Gehirns, genutzt werden. Die Bestimmung der GABA-Konzentration erlaubt Rückschlüsse auf die Erregbarkeit der entsprechenden Hirnregion. Eine verminderte GABA-Konzentration in der Inselregion wurde beispielsweise bei Personen mit chronischen Schmerzen nachgewiesen. Diese Hirnregion spielt für das Salienz-Netzwerk und für die Geruchswahrnehmung eine entscheidende Rolle.

Die GABA-Spektroskopie ermöglicht die nicht-invasive quantitative Erfassung der GABA-Konzentration im Kortex und bildet somit das Bindeglied zwischen funktionaler Bildgebung und Forschung über die Funktionen verschiedener Neurotransmitter mithilfe der Methodiken der NMR-Forschung. Dafür wird eine ausgewählte Hirnregion, hier der Thalamus und die anteriore Insula, eines spezifischen Frequenzbands stimuliert und die Stärke der T2-Relaxation Time beobachtet. Die Auswertung erfolgt mithilfe von Gannet (v. 3.3.2, Edden et. al., 2014) und SPM (v. 12, 2014). Die

Ausgabe ist einheitenlos und kann nur im Rahmen des jeweiligen Untersuchungsprotokolls verglichen werden.

PRESS-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex

Die Press-Spektroskopie ist eine Variante der GABA-Spektroskopie, die eine ganze Reihe von Neurotransmittern stimuliert und die jeweilige Stärke der Frequenzantwort verrechnet. Da sie im Gegensatz zur GABA-Spektroskopie eine breitere Gruppe an Transmittern misst, hat sie eine geringere Signal/Rausch-Rate und damit eine hohe Ausfallquote von Datensätzen zur Folge. Die Auswertung erfolgt mithilfe von LCModel (v. 6.2.0).

Arbeitsgedächtnisleistung unter Nocebostimulation

Als Nozebo-Geruch wurde mit blauer Lebensmittelfarbe gefärbtes, destilliertes Wasser (Abbildung 1) zusammen mit der Suggestion verwendet, es handle sich um eine Chemikalie (6-n-Propylthiouracil; PROP) mit einem ekelerregenden Geruch ("saure Milch"). Die Substanz sei zwar stark verdünnt worden und daher kaum noch wahrnehmbar, könne aber dennoch zu Ekelempfindungen führen. Um den Einfluss des Nocebo-Geruchs auf die Arbeitsgedächtnisleistung zu untersuchen, absolvierten die Probandinnen sogenannte n-back Aufgaben, einmal ohne und einmal mit Darbietung des Nocebo-Geruchs.

Die Probandinnen wurden vor Beginn des Experiments gebeten, die Geruchsintensität, ihr allgemeines Wohlbefinden und die subjektive körperliche Wirkung (z.B. Kratzen im Hals, verstopfte Nase, leichte Übelkeit, generelles Unwohlsein, Schwindel) des Geruchs auf einer Skala mit Werten von 0-9 zu bewerten, wobei 0 „kein Geruch wahrnehmbar“, respektive „sehr schlecht“ oder „keine Wirkung“ bedeutete. Personen, die die Geruchsintensität mit maximal „1“ bewerteten und keine Verschlechterung ihres Wohlbefindens bzw. keine körperlichen Wirkungen berichteten, wurden als Non-Responder (keine Suggestivwirkung) kategorisiert (Schienle et al., 2018).



Abbildung 1 Applikation des Nozebo-Geruchs

Das Arbeitsgedächtnis stellt eine wichtige Ressource im Alltag dar. Es ermöglicht Informationen kurzzeitig zu speichern im Sinne des Kurzzeitgedächtnisses, aber auch Informationen zu manipulieren.

Von der im Rahmen des Projektes verwendeten n-zurück Arbeitsgedächtnisaufgaben ist bekannt, dass sie komplexe Anforderungen an die Aufmerksamkeit und das kurzfristige Behalten von Informationen stellen, wie z.B. das zeitliche Sortieren und Speichern von Informationen, das Erinnern und Vergleichen, um den richtigen Zielreiz zu identifizieren, sowie das Unterdrücken einer falschen und das Ausführen einer richtigen Antwortreaktion. Die den n-zurück Arbeitsgedächtnisaufgaben zugrundeliegenden Verarbeitungsprozesse im Gehirn sind gut untersucht.

Bei der n-back Aufgabe wurden nacheinander einzelne Punkte auf einem Bildschirm präsentiert (Abbildung 2). Der Punkt erschien an einer von 16 möglichen Positionen eines 4 x 4 Punkterasters. Die Aufgabe bestand darin zu entscheiden, ob die aktuell gezeigte Position des Punktes mit der Position übereinstimmte, die zwei (2-back) bzw. drei Bilder zuvor (3-back) gezeigt wurde. Jedes Bild sollte durch Tastendruck nach diesem Kriterium mit "Ja" oder "Nein" beantwortet werden. Als Kontrollbedingung wurde 0-back verwendet, d.h. bei jedem Bild muss eine Taste gedrückt werden.

Somit konnte die n-back Aufgabe in drei Schwierigkeitsstufen durchgeführt werden: 0-back, als reine Aufmerksamkeitsaufgabe und damit als Kontrollbedingung; 2-back, als Aufgabe mit einer mittleren Belastung des Arbeitsgedächtnisses; 3-back, als Aufgabe mit einer hohen Belastung des Arbeitsgedächtnisses. Zeitgleich mit der Bearbeitung der n-back Aufgaben wurden MRT-Daten aufgenommen, einmal in der Bedingung mit und einmal ohne Darbietung des Nocebo-Geruchs, um Veränderungen in der kortikalen Verarbeitung zu untersuchen.

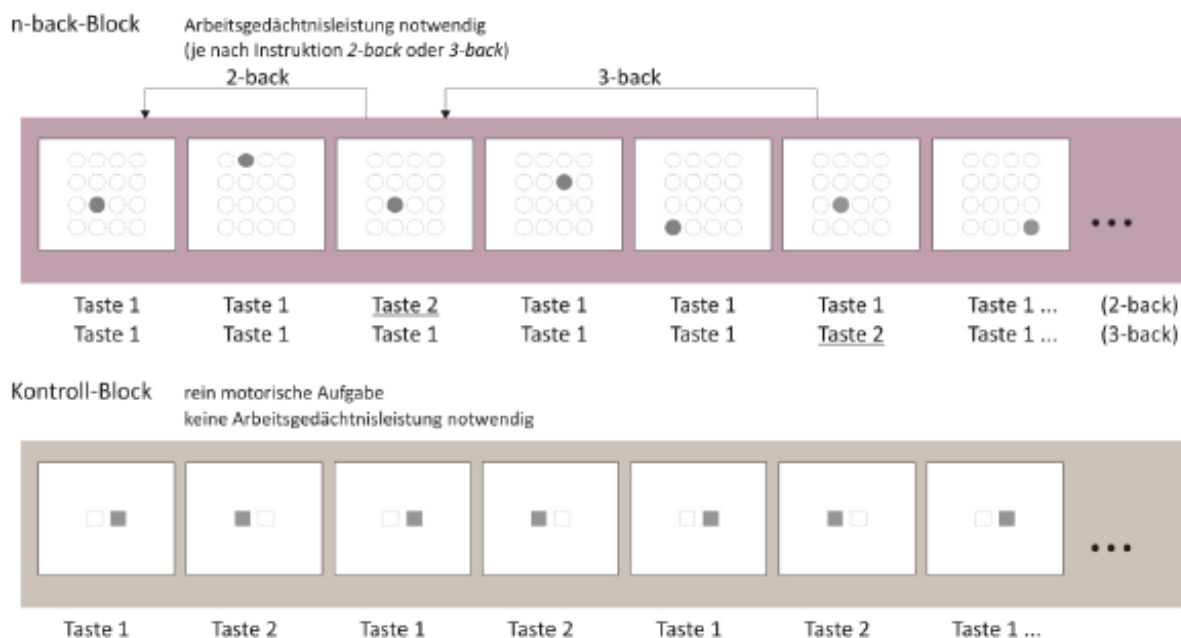


Abbildung 2 Darstellung der Arbeitsgedächtnisaufgabe (n-back Aufgabe). Eine rein motorische Aufgabe dient als Kontrollbedingung (0-back)

Als behavioraler Wert für die Leistung in den Aufgaben wurde jeweils d' prime berechnet:

$$d'_{\text{prime}} = z(\text{True}_{\text{positive}}) - z(\text{False}_{\text{negative}})$$

Dafür wurde die Anzahl an korrekten und falschen Antworten normalisiert, standardisiert und voneinander subtrahiert. Eine optimale Leistung entspricht einem $d'_{\text{prime}} = 3.6$.

Neuronale Korrelate der Nocebostimulation

Um Unterschiede in der neuronalen Verarbeitung zu visualisieren, wurden T2-gewichtete Aufnahmen im MRT gemacht, während die Probandinnen die oben beschriebene n-back Aufgabe bearbeiteten. Die so entstandenen Aufnahmen wurden entsprechend vorverarbeitet (Slicetime-Korrektur, Realignment zur ersten Aufnahme, Normalisierung auf ein Standard-MNI Bild und Weichzeichnen mit einem 6 mm Kernel). Um die MRT-Daten mit dem beobachteten Verhalten zu korrelieren, wurden die Behavioral Log-Dateien verarbeitet und die Zeitpunkte der Stimuluspräsentation nach Kondition aufgeteilt und extrahiert. Ein General Linear Model wurde mithilfe von Nilearn (v. 0.10.4) auf die MRT-Daten angewandt, wobei eine klassische HRF Funktion und ein Dispersion Drift Modell genutzt wurden.

Auswertung der Ergebnisse

Alle normalverteilten Variablen, die nicht Cluster-Effekten unterlagen (MRT), wurden mithilfe eines t-Tests ausgewertet. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0.05$ festgelegt. Die Ergebnisse werden im Format $t(\text{Freiheitsgrade}) = t\text{-Wert}$, $p = \text{Signifikanzniveau}$ berichtet. Für Variablen, die nicht normalverteilt waren, wurde der Wilcoxon Ranked-Sign Test für unabhängige Stichproben verwendet. Berichtet wird im Format $p = \text{Signifikanzniveau}$. Für die Auswertung von funktionaler Bildgebung wurden die Peak-Level Family Wise Error (FWE) Raten berechnet. Als Signifikanzniveau wurde auch hier $p(\text{FWE}) < 0.05$ verwendet. Tendenzen werden berichtet, wenn der unkorrigierte p-Wert < 0.001 entspricht.

Ergebnisse in der Migräne-Gruppe

Rekrutierung der Studienteilnehmenden

Für die Migräne-Gruppe wurden insgesamt 99 Frauen mithilfe der oben beschriebenen Fragebogens gescreent (Abbildung 3). Davon waren 44 nicht für die Studie geeignet, weitere 14 meldeten sich nicht zur U1 im IPA an. Insgesamt 41 Probandinnen nahmen an der U1 teil, davon waren 8 nicht geeignet, eine geeignete Probandin meldete sich nach der U1 nicht mehr. Schließlich wurden 32 Probandinnen vollständig untersucht.

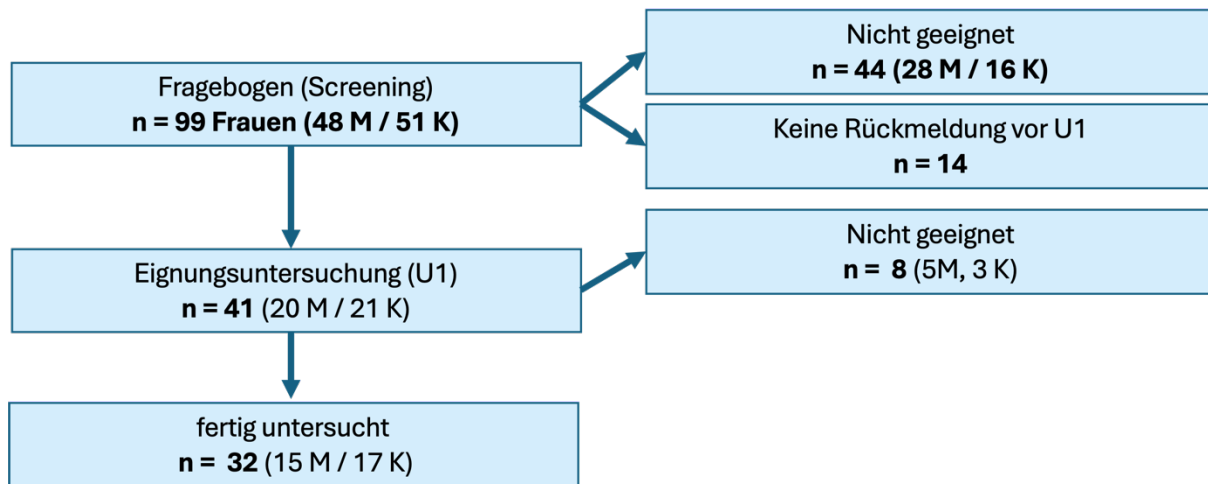


Abbildung 3 Rekrutierungsverlauf der Migräne-Gruppe

Wie in Tabelle 1 zu sehen ist, waren die Frauen in der Migräne- und in der Kontroll-Gruppe etwa gleich alt. Es gab keine auffälligen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen im Hinblick auf ein erhöhtes Körpergewicht (BMI, Body Mass Index), die Anzahl der Personen, die mit dem Rauchen aufgehört haben, oder die Anzahl der Personen mit einem eingeschränkten Riechvermögen. Allerdings fanden sich in der Kontroll-Gruppe im Vergleich zur Migräne-Gruppe mehr Personen mit einer Atopie, d.h. einer Neigung auf den Kontakt mit ansonsten harmlosen Substanzen aus der Umwelt mit einer allergischen Reaktionen des Soforttyps zu reagieren zu finden.

Mit Fragebögen, wie der Umweltbesorgnisskala, der Positive and Negative Affect Schedule (PANAS) zur Erfassung des emotionalen Erlebens, der Odour Awareness Scale (OAS) und der Chemischen Geruchssensitivitätsskala (CGSS) wurden Probandinnen identifiziert, die von sich selbst sagen, dass sie eher empfindlich auf Gerüche und Chemikalien reagieren (Tabelle 2). Die Anzahl der Non-Responder war insgesamt sehr gering und in beiden Gruppen etwa gleich groß. Die Suggestion des Nocebo-Geruchs kann also als erfolgreich angesehen werden.

Tabelle 1 Ergebnisse der medizinischen Eignungsuntersuchung

	KONTROLLE (17)	MIGRÄNE (15)	GESAMT (32)
Alter	28 ± 7 (21-51)	27 ± 8 (21-48)	27 ± 7 (21-51)
BMI erhöht	2	1	3
Ex-Rauchen	1	2	3
Atopie (sx1 im Blut)	8	3	11
Hyposmie (Sniffin Sticks Test)	2	3	5

Tabelle 2 Charakterisierung der Studiengruppe

	KONTROLLE (17)	MIGRÄNE (15)	GESAMT (32)
Umweltbesorgt	10	7	17
Erhöhte negative Affektivität (PANAS)	1	0	1
Erhöhte Aufmerksamkeit für negative Gerüche (OAS)	2	2	4
Chemikaliensensitiv	5	2	7
Non-Responder	2	1	3

Confokale Corneamikroskopie

Bei der Auswertung der CCM zeigt sich in der Migräne-Gruppe eine signifikant stärkere Verästelung der C-Fasern im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ($T=2,31$; $p<0.05$).

Quantitative Sensorische Testung

Bei der Auswertung der Quantitativen Sensorischen Testung zeigte sich in der Migräne-Gruppe eine signifikant erhöhte Sensitivität gegenüber leichter mechanischer Stimulation ($t = 2,58$; $p < 0.05$; MPS-Test). Keiner der anderen Parameter war signifikant verändert (Abbildung 4).

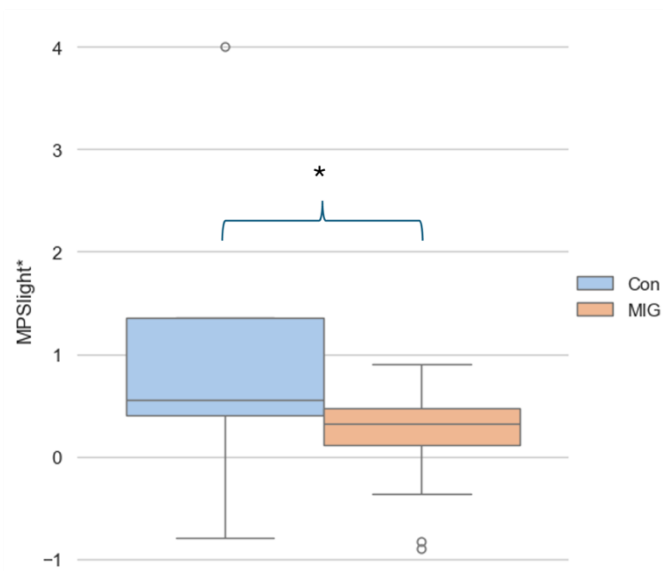


Abbildung 4 Migränepatienten zeigen eine signifikant erhöhte Sensitivität gegenüber leichter mechanischer Stimulation (MPS); Con (Kontrollgruppe), MIG (Migräne-Gruppe)

GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex

Bei der GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Kortex zeigte sich eine signifikant reduzierte GABA-Konzentration ($t = 3,87$; $p < 0.05$) in der anterioren Insula in der Migräne-Gruppe. Der marginale Unterschied im Thalamus war nicht signifikant (Abbildung 5).

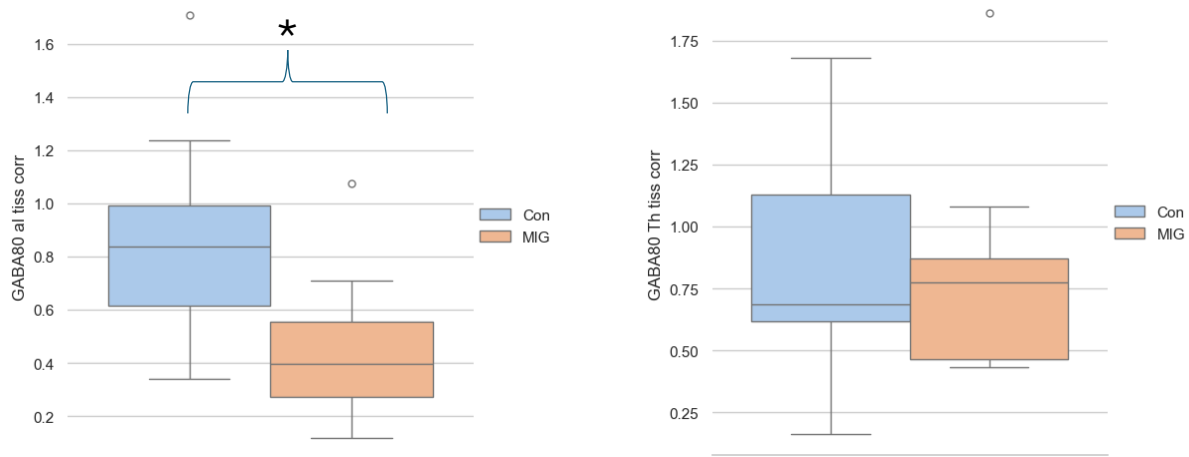


Abbildung 5 Links: GABA-Konzentration in der anterioren Insula. Rechts: GABA-Konzentration im Thalamus;); Con (Kontrollgruppe), MIG (Migräne-Gruppe)

Independent Component Analyse (ICA) der funktionellen resting-state Bildgebung

Bei zwei der betrachteten resting-state Netzwerke zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. In der Migräne-Gruppe zeigte sich zum einen eine signifikant erhöhte Aktivität im Basalganglien-Netzwerk ($t = 2,16$; $p < 0.05$), bestehend aus dem anterioren Thalamus, dem Putamen sowie dem Caudatum (Abbildung 6), welches mit Handlungswahl und Belohnungslernen assoziiert ist.

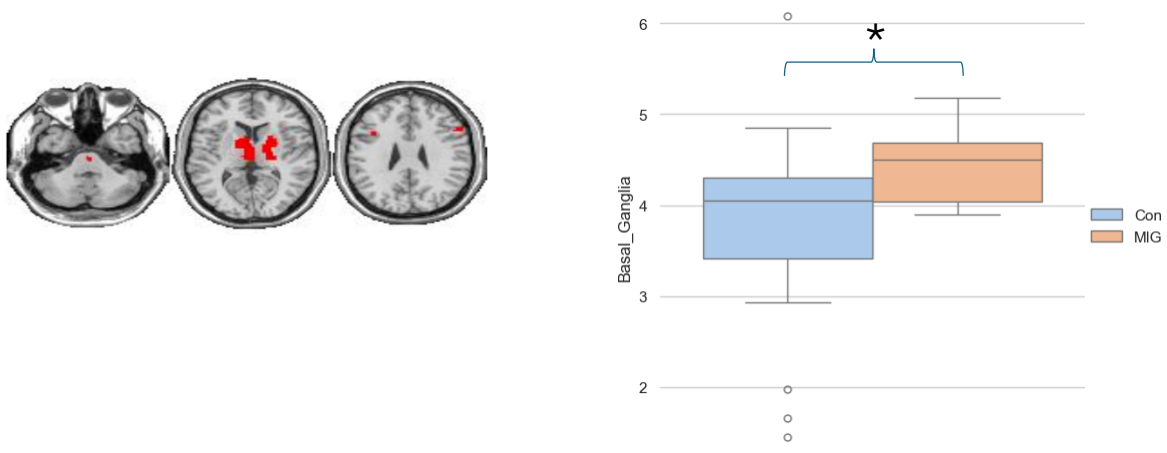


Abbildung 6 Unterschiede in der Aktivierung im Basalganglien-Netzwerk (anterioren Thalamus, Putamen, Caudatum)); Con (Kontrollgruppe), MIG (Migräne-Gruppe)

Zum anderen zeigte sich eine signifikante erhöhte Aktivität im posterioren Saliency-Netzwerk ($t = 2,75$; $p < 0.05$), bestehend aus der posterioren Insula sowie dem dorsalen anterior cingulären Cortex (Abbildung 7), welches mit dem Beobachten und Einordnen von emotionalen und sensorischen Stimuli assoziiert ist. Es wird als funktionales Korrelat der Valenz vorgestellter Situationen (alltäglich: Tagträume) interpretiert. Eine stärkere Aktivierung beider Netzwerke könnte bedeuten, dass Migränebetroffene vorgestellte Ereignisse lebendiger und mit höherer emotionaler Bedeutung erfahren.

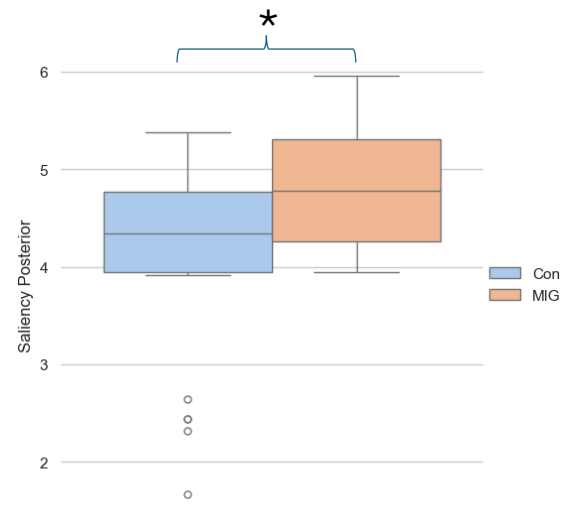
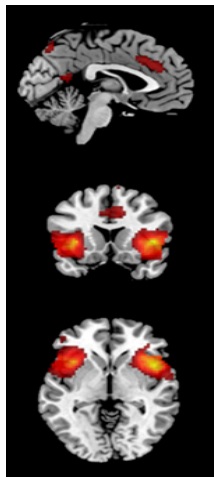


Abbildung 7 Signifikante Unterschiede in der Aktivierung des posterioren Saliency-Netzwerks); Con (Kontrollgruppe), MIG (Migräne-Gruppe)

PRESS-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex

Bei der Press-Spektroskopie konnten keine signifikanten Effekte nachgewiesen werden.

Arbeitsgedächtnisleistung unter Nocebostimulation

In der Migräne-Gruppe zeigte sich eine signifikante Verschlechterung des subjektiven Wohlbefindens bei der Darbietung des Nocebo-Geruchs ($t = 3,45$; $p < 0.05$). Im Hinblick auf die Leistungsfähigkeit zeigten sich dagegen keine signifikanten Unterschiede zwischen der Migräne- und der Kontroll-Gruppe.

Neuronale Korrelate der Nocebostimulation

In der Migräne-Gruppe zeigte sich bei der relativen Veränderung von keiner zu einer mittleren Belastung des Arbeitsgedächtnisses (0-back zu 2-back) und gleichzeitiger Darbietung des Nocebo-Geruchs eine signifikante Hypoaktivierung im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex. Bei der relativen Änderung von mittlerer zu hoher Belastung des Arbeitsgedächtnisses (2-back zu 3-back) und gleichzeitiger Darbietung des Nocebo-Geruchs zeigte sich eine Hypoaktivierung im linken Hippocampus und im linken Angular Gyrus. Der dorsolaterale präfrontale Kortex ist eng mit der Etablierung und Aufrechterhaltung von Aufmerksamkeit verbunden (Knight et al., 2020), während sowohl dem

Hippocampus (Kwan et al., 2015) als auch dem Angular Gyrus (Seghier, 2013) wichtige Funktionen im Arbeitsgedächtnis zugeschrieben werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse für die Migräne-Gruppe

Im Hinblick auf die Migränebetroffenen konnten alle fünf Forschungshypothesen bestätigt werden. Die CCM zeigte, dass Migränebetroffene eine stärkere Verästelung der C-Fasern im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen aufweisen. Die GABA-Konzentration in der anterioren Insula, nicht aber im Thalamus, war bei Migränebetroffenen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen reduziert. Zwei der drei resting-state Netzwerke, die mit der Verarbeitung von Salienzeffekten in Verbindung gebracht werden (Basalganglien-Netzwerk, posteriores Saliency-Netzwerk), waren bei Migränebetroffenen stärker aktiviert als bei gesunden Kontrollpersonen. Bei der Darbietung des Nocebo-Geruchs berichteten Migränebetroffene eine starke Verschlechterung ihres subjektiven Wohlbefindens im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Die Leistungsfähigkeit bei der Bearbeitung der n-back Aufgaben war jedoch nicht signifikant unterschiedlich, unabhängig von der Aufgabenschwierigkeit. Allerdings wurde bei den Migränebetroffenen im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen eine Hypoaktivierung in Hirnarealen, die mit der Etablierung und Aufrechterhaltung von Aufmerksamkeit verbunden sind und wichtige Funktionen im Arbeitsgedächtnis erfüllen, sichtbar, wenn sie die n-back Aufgaben bearbeiteten und gleichzeitig den Nocebo-Geruch dargeboten bekamen.

Aus diesen Ergebnisse lassen sich mehrere Schlussfolgerungen im Hinblick auf das Projektziel, die Identifikation und Charakterisierung von suszeptiblen Personengruppen gegenüber Geruchs- und Reizstoffwirkungen, ziehen. Zum einen zeigten sich bei Migränebetroffenen ähnliche Unterschiede zur Gesamtbevölkerung, wie bei der im Vorgängerprojekt FP365 beschriebenen Gruppe der Capsaicin-Sensitiven. Sowohl die Veränderungen in der Verzweigungsdichte der Schmerzfasern in der Cornea als auch die erhöhte Sensitivität für mechanische Stimulation sprechen für eine physiologisch messbare erhöhte Sensitivität gegenüber Umweltreizen. Diese Ergebnisse werden durch eine signifikant reduzierte GABA-Konzentration in der anterioren Insula untermauert. Eine reduzierte GABA-Konzentration in der Insula wurde in mehreren Studien (Petrou et al., 2012; Bar-Shalita et al., 2019) mit chronischen Schmerzerkrankungen in Zusammenhang gebracht.

Zum anderen zeigte die veränderte neuronale Aktivierung bei der Bearbeitung der Arbeitsgedächtnisaufgaben und gleichzeitigem Nocebo-Geruch, dass Migränebetroffene auch dann verstärkt auf Ablenkung durch einen Geruchsstoff reagieren, wenn dieser in Wirklichkeit nicht existent ist. Insbesondere die relative Verschlechterung des subjektiven Wohlbefindens unter Nocebo zeigt, dass Migränebetroffene auf die Antizipation einer Geruchsstoffwirkung reagieren. Diese Daten werden durch die Ergebnisse der funktionellen Bildgebung untermauert. Bei den Migränebetroffenen zeigt sich der erwartete Distractionseffekt bei der Aufgabenbearbeitung unter Nocebo-Geruch, in Form einer entsprechend verringerten Aktivierung in den Hirnarealen, die für Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtnis zuständig sind. Auf der Verhaltensebene wurde der Distractionseffekt demgegenüber jedoch

nicht, z.B. in Form einer Leistungsbeeinträchtigung mit erhöhter Fehlerrate oder verlängerten Reaktionszeiten sichtbar.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Migränebetroffene, die zwar eine grundsätzliche Krankheitsdisposition aufweisen, aber keine aktuelle manifeste klinische Symptomatik im Alltag zeigen, allein schon bei der Antizipation von negativen Geruchwirkungen eine erhöhte Sensitivität und eine veränderte neuronale Aktivierung aufweisen. Daraus ergeben sich wichtige Implikationen für die Berücksichtigung suszeptibler Personengruppen bei der Festlegung gesundheitsbasierter Grenzwerte.

Ergebnisse in der Capsaicin-Gruppe

Rekrutierung der Studienteilnehmenden

Im Rahmen der Rekrutierung für die Capsaicin-Gruppe wurden insgesamt 57 Probandinnen mittels Fragebogen gescreent (Abbildung 8). Von diesen erfüllten 8 nicht die zuvor definierten Ausschlusskriterien. Weitere 31 Probandinnen meldeten sich nicht zur U1 am IPA an. Insgesamt 18 Probandinnen durchliefen die Eignungsuntersuchung, in deren Rahmen der 12-stufige Capsaicin-Test durchgeführt wurde. Die Zuordnung der Probandinnen zur Gruppe der Capsaicin-Sensitiven erfolgte, wenn maximal 9 von 12 möglichen Stufen erreicht wurde. Probandinnen, die die Stufe 10, 11 oder 12 erreichten, wurden der Gruppe der Capsaicin-Insensitiven zugeteilt. Von den 18 Probandinnen, die die Eignungsuntersuchung abgeschlossen hatten, konnten 17 vollständig untersucht werden. Eine Probandin erschien nicht zur letzten Messung und wurde von der Datenauswertung ausgeschlossen.

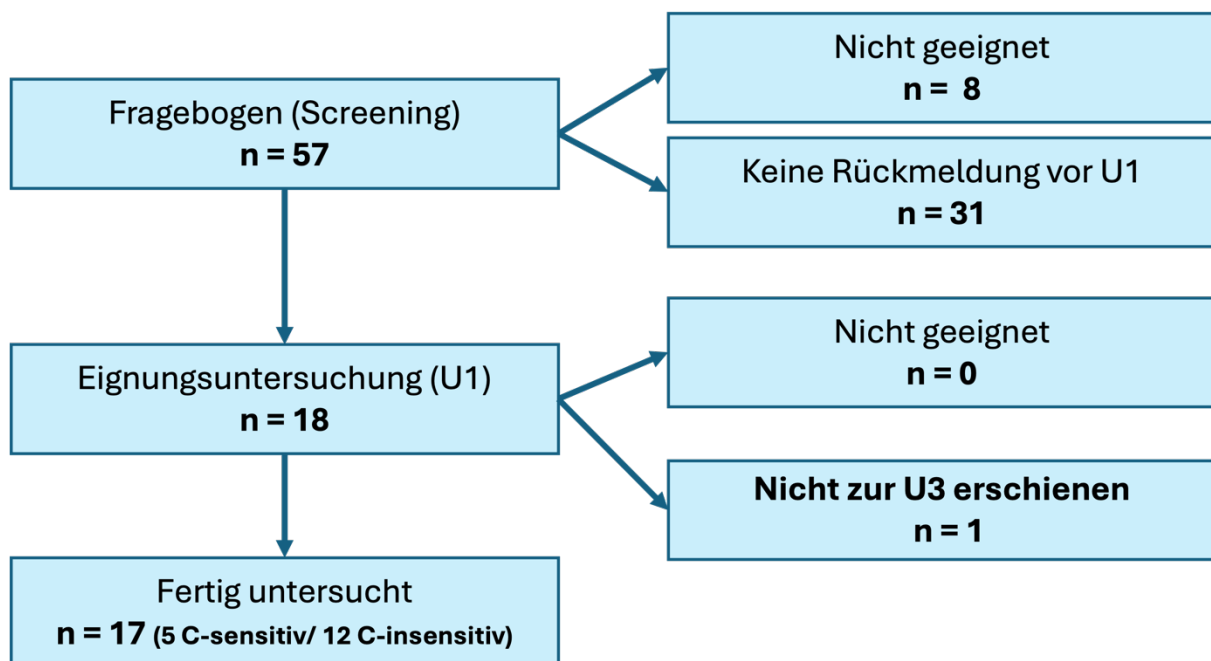


Abbildung 8 Rekrutierungsverlauf der Capsaicin-Gruppe

Wie in Tabelle 3 zu sehen ist, waren die Frauen in den beiden Gruppen etwa gleich alt. Es gab keine auffälligen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen im Hinblick auf ein erhöhtes Körpergewicht (BMI, Body Mass Index), Rauchen oder Riechvermögen.

Tabelle 3 Ergebnisse der medizinischen Eignungsuntersuchung

	C-INSENSITIV (N=12)	C-SENSITIV (N=5)	GESAMT (N=17)
Alter	29 ± 11 (20-57)	27 ± 7 (21-52)	27 ± 8 (20-57)
BMI erhöht	2	1	3
Ex-Rauchen	2	1	3
Atopie (sx1 im Blut)	4	3	7
Hyposmie (Sniffin Sticks Test)	1	0	1
Non-Responder	1	1	2

In beiden Gruppe waren etwa gleich viele Personen mit einer Atopie, d.h. einer Neigung auf den Kontakt mit ansonsten harmlosen Substanzen aus der Umwelt mit einer allergischen Reaktionen des Soforttyps zu reagieren zu finden. Die Anzahl der Non-Responder war insgesamt sehr gering und in beiden Gruppen gleich groß. Die Suggestion des Nocebo-Geruchs kann also als erfolgreich angesehen werden.

Confokale Corneamikroskopie

Bei der Auswertung der CCM wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt. Ebenso konnte keine Korrelation zwischen der Capsaicin-Sensitivität und den erhobenen Parametern nachgewiesen werden.

Quantitative Sensorische Testung

Bei der Auswertung der Quantitativen Sensorischen Testung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Ebenso zeigte sich keine Korrelation zwischen der Capsaicin-Sensitivität und den erhobenen Parametern.

Independent Component Analyse (ICA) der funktionellen resting-state Bildgebung

Bei keinem der betrachteten resting-state Netzwerken zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex

Bei der GABA-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Kortex zeigte sich eine signifikant reduzierte GABA-Konzentration ($t = 3,46; p < 0.05$) in der anterioren Insula in der Gruppe der Capsaicin-Sensitiven (Abbildung 10). Der marginale Unterschied im Thalamus war nicht signifikant.

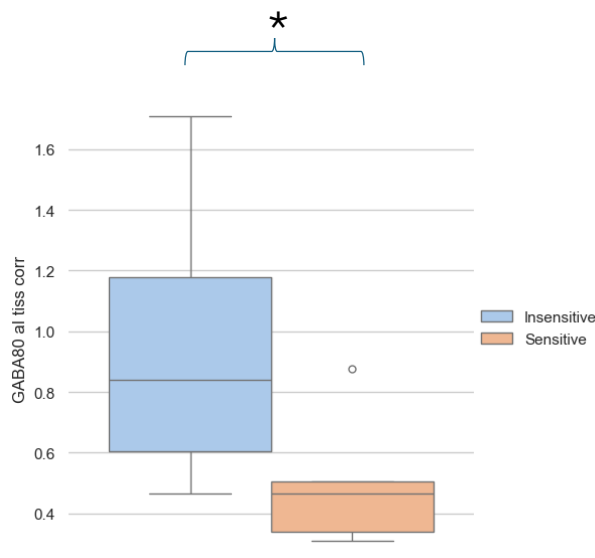


Abbildung 8 GABA-Konzentration in der anterioren Insula; Insensitive (Capsaicin-insensitiv; Sensitive (Capsaicin-sensitiv)

PRESS-Spektroskopie des Thalamus und des insulären Cortex

Bei der Press-Spektroskopie konnten keine signifikanten Effekte nachgewiesen werden.

Arbeitsgedächtnisleistung unter Nocebostimulation

Im Hinblick auf die Leistungsfähigkeit, das subjektive Wohlbefinden oder den Ablenkungseffekt des Nocebo-Geruchs zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Ebenso zeigte sich keine Korrelation zwischen der Capsaicin-Sensitivität und den erhobenen Parametern.

Neuronale Korrelate der Nocebostimulation

Bei keinem der betrachteten resting-state Netzwerke zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Ebenso zeigte sich keine Korrelation zwischen der Capsaicin-Sensitivität und den erhobenen Parametern.

Für alle Analysen gilt: Auch bei einer (probatorisch) reduzierten Signifikanzschwelle von $p < 0,1$ zeigten sich keine Tendenzen auf weitere neurologische oder Verhaltensunterschiede zwischen den untersuchten Gruppen.

Zusammenfassung der Ergebnisse für die Capsaicin-Gruppe

Bei vorzeitigem Abbruch dieses Studienteils (s.u.) konnte im Hinblick auf Capsaicin-Sensitive rein formal nur eine der fünf Forschungshypothesen bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikant reduzierte GABA-Konzentration in der anterioren Insula. Dieser letztlich hier isolierte Befund deutet darauf hin, dass Capsaicin-Sensitive neurofunktionale Veränderungen aufwiesen, die evtl. zu einer erhöhten Sensitivität gegenüber Umweltreizen, zu einer verstärkten subjektiven Beeinträchtigung des

Wohlbefindens durch antizipierte Geruchsstoffwirkungen oder zu dem erwarteten Distractionseffekt bei der Aufgabenbearbeitung unter Nocebo-Geruch führen können.

Darstellung aufgetretener Probleme

Der geplante Ablauf der Studie wurde im Verlauf mehrfach durch folgende Faktoren wesentlich beeinträchtigt:

Zunächst wurde der Start und die Initiierung der Studie infolge mehrfacher Unterbrechungen des Testbetriebes aufgrund der Covid-19 Pandemie massiv verzögert. Im Rahmen der für eine Klinik geltenden Schutzmaßnahmen sowie aufgrund der allgemeinen Regulierungen (z.B. lock down) kam der Forschungsbetrieb mehrfach in unregelmäßigen Abständen zum Stillstand.

Weiterhin führten im Verlauf zwei technische Ausfälle des 3-T-MRT-Geräts am Bergmannsheil zu Unterbrechungen, da ein Ausweichen auf andere MR-Scanner aufgrund der erforderlichen Datenkompatibilität nicht möglich war. Zusätzliche Probleme traten auf, als die Geräte für die Confokale Corneamikroskopie ausfielen und so eine vorübergehende Einstellung der Untersuchungen erforderlich wurde.

Die Untersuchung der Migräne-Gruppe verlief abgesehen von den o.g. Einschränkungen weitgehend problemlos. Eine wesentliche Änderung ergab sich durch die Entscheidung im FBK, die Studie nur mit Frauen durchzuführen. Diese Änderung verbesserte zwar die interne Validität der Daten, führte jedoch zu einer verzögerten Rekrutierung mit Verlängerung der Studiendauer und zum Verlust der Daten der bereits vollständig untersuchten Männer.

Die Untersuchung der Capsaicin-Gruppe war demgegenüber mit einer Vielzahl von Problemen behaftet. Ein grundlegendes Problem ergab sich durch die vorzeitige Beendigung der ECA-Studie am IPA, die nach der Diskussion im FBK zur Rekrutierung neuer Probandinnen und insbesondere von Capsaicin-Sensitiven beitragen sollte. Bei der Rekrutierung stellte sich heraus, dass die Verteilung der Capsaicin-Sensitivität in der rekrutierten Gruppe nicht wie erwartet um die Kategorisierungsschwelle normal verteilt, sondern stark in Richtung Insensitivität verschoben war. Dies stellte ein grundsätzliches Problem sowohl für kategoriale als auch für kontinuierliche Analysen dar.

Schließlich ergaben sich wesentliche Schwierigkeiten im Personalbereich. Zunächst verließ kurz nach Einreichung des ersten Zwischenberichts, eine zentrale wissenschaftliche Mitarbeiterin aufgrund einer kompletten beruflichen Umorientierung die Neurologische Arbeitsgruppe, was zu mehreren Unterbrechungen bei der Rekrutierung führte, bis adäquater Ersatz gefunden wurde. Im weiteren Verlauf wechselte dann eine zweite wissenschaftliche Mitarbeiterin vom IPA in ein anderes Institut der DGUV und verließ damit die Studiengruppe. Letztlich beendete der im Projekt tätige Doktorand nach Abschluss seiner Promotion seine wissenschaftliche Tätigkeit an der Ruhr-Universität Bochum, sodass für die zunächst vorgesehene Weiterführung der Studie keine aktuell in der vorliegenden Methodik erfahrene wissenschaftliche Mitarbeitende mehr vorhanden war. Diese anfangs so nicht vorhersehbare Entwicklung der Personalsituation ist zum Teil sicherlich auch der inzwischen erfolgten Emeritierung des Studienleiters geschuldet, welche aufgrund der initialen Verzögerungen vor Abschluss der Studie erfolgte, was bei der ursprünglichen Zeitplanung so nicht vorgesehen war.

Neben den dargestellten wiederholten Verzögerungen im Studienverlauf und den Rekrutierungs- und Auswerteproblemen in Bezug auf die neu eingeführte Capsaicin-Gruppe ist diese personelle Entwicklung der wesentliche Grund für die vorzeitige Beendigung der Studie.

Auflistung der zwischenzeitlichen für das Vorhaben relevanten Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilten Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen

Seit dem letzten Zwischenbericht hat sich die Forschungslandschaft auf diesem Gebiet in mehreren Aspekten weiterentwickelt. Eine Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2023 (Hu et al., 2023) untersuchte neun Studien zum Ruhezustands-fMRT bei Migränepatienten und identifizierte erhöhte Konnektivitätsmuster zwischen perzeptuellen Regionen wie dem Inferior Occipital Gyrus und dem Superior Occipital Gyrus sowie kognitiven Verarbeitungsregionen wie dem Parahippocampus und dem Posterior Cingulate Gyrus. Obwohl direkte Vergleiche mit den hier vorgestellten Ergebnissen aufgrund unterschiedlicher Analysemethoden schwierig sind, unterstützen diese Befunde die Ergebnisse der vorliegenden Studie. Die erhöhte Konnektivität einzelner Regionen, wie von Hu et al. beschrieben, korreliert notwendigerweise mit erhöhter Aktivität der hier beschriebenen Ruhezustandsnetzwerke.

Die Ergebnisse der Confokalen Corneamikroskopie, die eine erhöhte Verzweigungsdichte der Schmerzfasern in der Cornea bei Migränebetroffenen zeigen, finden sich vergleichbar in einer aktuellen Studie mit über 60 Migränepatienten (Guldiken et al., 2023).

In Bezug auf den untersuchten Nocebo-Effekt bei Migränebetroffenen deutet die Literatur zunehmend auf eine überproportionale Wirkung von Nocebos bei Migränepatienten hin (Colloca et al., 2023).

Studien zum Arbeitsgedächtnis von Migränepatienten haben gezeigt, dass während und kurz nach einer Migräneattacke die Leistung im n-back-Test reduziert ist (Gerstein et al., 2023; Ruiz-Tagle et al., 2024). Eine vergleichende Recherche zwischen Migränepatienten und gesunden Kontrollen ergab keine weiteren relevanten Ergebnisse.

Auch in der MRT-Spektroskopie bei Migräne gibt es neue Erkenntnisse. Zhang et al. (2023) konnten eine reduzierte Konzentration von GABA und Glutamat/Creatin im Thalamus bei Migränepatienten nachweisen. Obwohl die hier präsentierten Daten keine signifikante Änderung der GABA-Konzentration im Thalamus unterstützen, konnten sie doch eine grundlegende Reduktion der GABA-Konzentration in der Insula nachweisen.

Zusammenfassend zeigen sowohl die aktuelle Literatur als auch die hier vorgestellten Forschungsergebnisse eine verstärkte neuronale Konnektivität, eine erhöhte Verzweigungsdichte in der Cornea sowie eine reduzierte GABA-Konzentration in bestimmten Hirnregionen bei Migränebetroffenen. Diese Ergebnisse können als Hinweis auf die neuronalen Grundlagen dafür gesehen werden, dass Migränebetroffene eine Beeinträchtigung des Wohlbefindens bei der Antizipation einer negativen Geruchswirkung erleben.

Die Theorie eines körperlichen Korrelats als Basis für eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Geruchs- und Reizstoffen ist in den letzten Jahren mehrfach untersucht worden. So ergab beispielsweise eine Studie, die den Zusammenhang zwischen selbstberichteter erhöhter Empfindlichkeit für Chemikalien und entweder einer gesteigerten sensorischen Wahrnehmung oder einer erhöhten Bereitschaft zum Berichten von Befindlichkeitssymptomen untersuchte, dass subjektive Faktoren eine größere Rolle spielen als die Veränderung von objektiv messbaren psychophysiologischen Wahrnehmungsschwellen (Andersson et al., 2020).

Es zeigt sich ein dynamisches Bild der aktuellen Forschung, das auf die komplexen neurologischen und sensorischen Profile von Migränepatienten eingeht und gleichzeitig die Herausforderungen und Potenziale weiterer Untersuchungen von Reizsensitiven aufzeigt.

Schutzrechtsanmeldungen und Schutzrechte sind im Rahmen des Projektes nicht angemeldet worden/nicht erfolgt.

Hat sich seit Beginn des Projektes der Bezug des Forschungsvorhabens zur gesetzlichen Unfallversicherung bestätigt oder verändert, insbesondere im Hinblick auf die Praxisverknüpfung

Unter Berücksichtigung der aktuellen Literatur und der zu diesem Zeitpunkt im Projekt vorliegenden Daten sehen wir den Bezug des Forschungsvorhabens zu den initialen Hypothesen und zur Ausrichtung der konkreten Forschungsziele für den Bereich der gesetzlichen Unfallversicherung gegeben.

Ausblick auf die mögliche Fortführung des Forschungsvorhabens

Das Projekt wurde zum 30.06.2024 vorzeitig beendet (Erläuterungen s.o.).

Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/ziels, Schlussfolgerungen

Für den Arbeitsschutz und die Ableitung präventiver Maßnahmen sind mögliche Ablenkungsprozesse von besonderer Bedeutung, da eine Beeinträchtigung der Aufmerksamkeit zu Fehlern und in der Folge zu Unfällen führen kann. Ziel dieses Forschungsprojektes war die Identifikation und Charakterisierung von suszeptiblen Personengruppen gegenüber Geruchs- und Reizstoffwirkungen. Migränebetroffene, konnten als suszeptible Personengruppe identifiziert werden, die sowohl auf der subjektiven als auch auf der neurologischen Ebene einer erhöhte Empfindlichkeit aufwiesen. Der postulierte Distractionseffekt zeigte sich auf der Ebene der verwendeten Biomarker in der Aktivierung entsprechender Hirnareale, allerdings nicht auf der Verhaltensebene. Für die Gruppe der Capsaicin-Sensitiven kann aufgrund der begrenzten Datenlage (s.o.) keine begründete Aussage gemacht werden.

Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan

Ein zentrales Thema bei der aktuellen Diskussion über die Festlegung von Grenzwerten für Reizstoffe ist die Berücksichtigung susceptibler Personengruppen durch die Anwendung entsprechender Extrapolationsfaktoren. Kritisch ist in diesem Zusammenhang die steigende Anzahl Erwerbstätiger mit einer chronischen Erkrankung, die u.U. mit einer verstärkten Geruchs- und Reizsensitivität einhergeht. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstützen die Idee der Berücksichtigung von empfindlichen Personen, die stärker als andere auf Geruchs- und Reizstoffe reagieren, am Beispiel von Migränebetroffenen. Knapp 15 % Prozent der (weiblichen) Bevölkerung hat Migräne. Eine in ähnlicher Weise erhöhte Empfindlichkeit für Geruchs- und Reizstoffe ist auch bei anderen häufigen chronischen Erkrankungen zu erwarten, wie z.B. bei Asthma oder anderen Atemwegserkrankungen, sowie bei psychischen Gesundheitsstörungen wie z.B. den häufigen Angsterkrankungen. Dies sollte im Rahmen weiterer Forschungsbemühungen gezielt untersucht werden. In einem solchen Rahmen könnten dann auch ggf. genauere in der Alltagspraxis relevante quantitative Aussagen zu Noceboreizen erhoben werden.

Mit den hier vorgestellten Studienergebnissen wurden weitere Erkenntnisse zur Bewertung der Adversität von Reiz- und Geruchsstoffen gewonnen. Die Ergebnisse können dazu genutzt werden, um über tatsächliche Risiken (Aufmerksamkeitsablenkung und erhöhtes Unfallrisiko) und "Pseudo"-Risiken (Beeinträchtigungen des Wohlbefindens aufgrund antizipierter Geruchswirkungen) aufzuklären. Neben dieser praktischen Umsetzung können die Ergebnisse auch konzeptionell genutzt werden, um die Datenbasis für die Ableitung von Grenzwerten für Stoffe mit sensorisch irritativen Wirkung (Brüning et al., 2014) empirisch weiter abzusichern. Bislang wird davon ausgegangen, dass ein sogenannter "Intraspezies-Faktor", der die individuellen Unterschiede zwischen Menschen berücksichtigt, nicht benötigt wird, solange Daten aus guten experimentellen Expositionsstudien verfügbar sind (Brüning et al., 2014). Diese Studie lieferte entscheidende Erkenntnisse zur Suggestionwirkung von Geruchs- und Reizstoffen auf susceptible Personengruppen, um eine belastungsgerechte Arbeitsumgebung zu schaffen, was insbesondere zum Erhalt der Arbeitsfähigkeit und einer Teilhabe am Arbeitsplatz beiträgt. Zusammengefasst können die Studienergebnisse für die Erstellung entsprechender Informationsmaterialien verwendet werden und in die Beratungen der nationalen Gremien für die Festlegung von Arbeitsplatzgrenzwerten einfließen. Unsicherheiten, die bei der gesundheitlichen Bewertung von Reiz- aber auch Geruchseffekten nach wie vor herrschen, können so reduziert werden.

Literatur

- Allen, E. A., Damaraju, E., Plis, S. M., Erhardt, E. B., Eichele, T., & Calhoun, V. D. (2014). Tracking whole-brain connectivity dynamics in the resting state. *Cerebral Cortex*, 24(3), 663–676. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs352>
- Andersson, L., Sandberg, P., Åström, E., Lillqvist, M., & Claeson, A.-S. (2020). Chemical Intolerance Is Associated With Altered Response Bias, not Greater Sensory Sensitivity. *I-Perception*, 11(6), 2041669520978424. <https://doi.org/10.1177/2041669520978424>
- Bar-Shalita, T., Granovsky, Y., Parush, S., & Weissman-Fogel, I. (2019). Sensory Modulation Disorder (SMD) and Pain: A New Perspective. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 13, 27. <https://doi.org/10.3389/fnint.2019.00027>
- Brüning, T., Bartsch, R., Bolt, H. M., Desel, H., Drexler, H., Gundert-Remy, U., Hartwig, A., Jäckh, R., Leibold, E., Pallapies, D., Rettenmeier, A. W., Schlüter, G., Stropp, G., Sucker, K., Triebig, G., Westphal, G., & van Thriel, C. (2014). Sensory irritation as a basis for setting occupational exposure limits. *Archives of Toxicology*, 88(10), 1855–1879. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1346-z>
- Calhoun, V. D., Adali, T., Pearlson, G. D., & Pekar, J. J. (2001). A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Human Brain Mapping*, 14(3), 140–151. <https://doi.org/10.1002/hbm.1048>
- Colloca, L., Noel, J., Seneviratne, C., & Franklin, P. D. (2023). *Placebo Effects Through the Lens of Translational Research*. Oxford University Press.
- Dalton, P. H., & Jaén, C. (2010). Responses to odors in occupational environments. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*, 10(2), 127–132. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e3283373470>
- Deshpande, D. R., & Yu, J. E. (2020). Increased Capsaicin Sensitivity in Patients With Severe Asthma Is Associated With Worse Clinical Outcome. *Pediatrics*, 146(Supplement_4), S362–S363. <https://doi.org/10.1542/peds.2020-023861OOO>
- Edden, R. A. E., Puts, N. A. J., Harris, A. D., Barker, P. B., & Evans, C. J. (2014). Gannet: A batch-processing tool for the quantitative analysis of gamma-aminobutyric acid-edited MR spectroscopy spectra. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 40(6), 1445–1452. <https://doi.org/10.1002/jmri.24478>
- Fischer, M. J. M., Ciotu, C. I., & Szallasi, A. (2020). The Mysteries of Capsaicin-Sensitive Afferents. *Frontiers in Physiology*, 11, 554195. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.554195>
- Fornazieri, M. A., Neto, A. R., de Rezende Pinna F., Gobbi, P., Fabio, H., de Lima Navarro, P., Voegels, R. L., & Doty, R. L. (2016). Olfactory symptoms reported by migraineurs with and without auras. *Headache*, 56(10): 1608–1616. <https://doi.org/10.1111/head.12973>
- Gerstein, M. T., Wirth, R. J., Uzumcu, A. A., Houts, C. R., McGinley, J. S., Buse, D. C., McCarrier, K. P., Cooke, A., Touba, N. M., Nishida, T. K., Goadsby, P. J., Dodick, D. W., & Lipton, R. B.

- (2023). Patient-reported experiences with migraine-related cognitive symptoms: Results of the MiCOAS qualitative study. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 63(3), 441–454. <https://doi.org/10.1111/head.14484>
- Guldiken, Y. C., Petropoulos, I. N., Malik, A., Malik, R. A., Yüksel, R., Budak, F., & Selekler, H. M. (2023). Corneal confocal microscopy identifies corneal nerve fiber loss in patients with migraine. *Cephalalgia*, 43(5), 03331024231170810. <https://doi.org/10.1177/03331024231170810>
- Götting, F. N., Borchardt, V., Demenescu, L. R., Teckentrup, V., Dinica, K., Lord, A. R., Rohe, T., Hausdörfer, D. I., Li, M., Metzger, C. D., & Walter, M. (2017). Higher interference susceptibility in reaction time task is accompanied by weakened functional dissociation between salience and default mode network. *Neuroscience Letters*, 649, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.03.035>
- Habel, U., Koch, K., Pauly, K., Kellermann, T., Reske, M., Backes, V., Seiferth, N. Y., Stöcker, T., Kircher, T., Amunts, K., Shah, N. J., & Schneider, F. (2007). The influence of olfactory-induced negative emotion on verbal working memory: individual differences in neurobehavioral findings. *Brain Research*, 1152, 158–170. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.03.048>
- Heba, S., Sczesny-Kaiser, M., Sucker, K., Bünger, J., Brüning, T., Tegenthoff, M., & Schmidt-Wilcke, T. (2020). Pain Perception, Brain Connectivity, and Neurochemistry in Healthy, Capsaicin-Sensitive Subjects. *Neural Plasticity*, 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/9125913>
- Hoffmeyer, F., Sucker, K., Rosenkranz, N., Berresheim, H., Monse, C., Brüning, T., & Bünger, J. (2013). Reproducibility of Sensitivity to Capsaicin Assessed by Single Breath Inhalation Methodology. In M. Pokorski (Ed.), *Respiratory Regulation—Clinical Advances* (Vol. 755, pp. 71–78). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4546-9_9
- Hu, S., Hao, Z., Li, M., Zhao, M., Wen, J., Gao, Y., Wang, Q., Xi, H., Antwi, C. O., Jia, X., & Ren, J. (2023). Resting-state abnormalities in functional connectivity of the default mode network in migraine: A meta-analysis. *Frontiers in Neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1136790>
- Karunanayaka, P. R., Wilson, D. A., Tobia, M. J., Martinez, B. E., Meadowcroft, M. D., Eslinger, P. J., & Yang, Q. X. (2017). Default mode network deactivation during odor-visual association. *Human Brain Mapping*, 38(3), 1125–1139. <https://doi.org/10.1002/hbm.23440>
- Knight H.C., Smith D.T., Ellison A. (2020) The role of the left dorsolateral prefrontal cortex in attentional bias. *Neuropsychologia* 148, 107631. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2020.107631.
- Kwan, D., Craver, C. F., Green, L., Myerson, J., Gao, F., Black, S. E., & Rosenbaum, R. S. (2015). Cueing the personal future to reduce discounting in intertemporal choice: Is episodic prospection necessary?: INTERTEMPORAL CHOICE IN EPISODIC AMNESIA. *Hippocampus*, 25(4), 432–443. <https://doi.org/10.1002/hipo.22431>
- Mak, L. E., Minuzzi, L., MacQueen, G., Hall, G., Kennedy, S. H., & Milev, R. (2017). The Default Mode Network in Healthy Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Brain*

- Connectivity*, 7(1), 25–33. <https://doi.org/10.1089/brain.2016.0438>
- Oei, N. Y., Veer, I. M., Wolf, O. T., Spinhoven, P., Rombouts, S. A., & Elzinga, B. M. (2012). Stress shifts brain activation towards ventral 'affective' areas during emotional distraction. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 7(4), 403–412. <https://doi.org/10.1093/scan/nsr024>
- Petrou, M., Pop-Busui, R., Foerster, B. R., Edden, R. A., Callaghan, B. C., Harte, S. E., Harris, R. E., Clauw, D. J., & Feldman, E. L. (2012). Altered excitation-inhibition balance in the brain of patients with diabetic neuropathy. *Academic Radiology*, 19(5), 607–612. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2012.02.004>
- Raichle, M. E. (2015). The brain's default mode network. *Annual Review of Neuroscience*, 8(38), 433–447. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-014030>
- Rolke, R., Magerl, W., Campbell, K. A., Schalber, C., Caspari, S., Birklein, F., & Treede, R.-D. (2006). Quantitative sensory testing: A comprehensive protocol for clinical trials. *European Journal of Pain*, 10(1), 77–77. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2005.02.003>
- Royston, P., Altman, D. G., & Sauerbrei, W. (2006). Dichotomizing continuous predictors in multiple regression: A bad idea. *Statistics in Medicine*, 25(1), 127–141. <https://doi.org/10.1002/sim.2331>
- Ruiz-Tagle, A., Figueiredo, P., Pinto, J., Vilela, P., Martins, I. P., & Gil-Gouveia, R. (2024). Working memory during spontaneous migraine attacks: An fMRI study. *Neurological Sciences*, 45(3), 1201–1208. <https://doi.org/10.1007/s10072-023-07120-0>
- Schienze, A., Höfler, C., Übel, S., & Wabnegger, A. (2018). Emotion-specific placebo effects: an fMRI study. *Brain Imaging and Behaviour*, 12(1), 180–187. <https://doi.org/10.1007/s11682-017-9675-1>
- Schneider, F., Koch, K., Reske, M., Kellermann, T., Seiferth, N., Stöcker, T., Amunts, K., Shah, N. J., & Habel, U. (2006). Interaction of negative olfactory stimulation and working memory in schizophrenia patients: development and evaluation of a behavioral neuroimaging task. *Psychiatry Research*, 144(2-3), 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2004.12.013>
- Seghier, M. L. (2013). The Angular Gyrus: Multiple Functions and Multiple Subdivisions. *The Neuroscientist*, 19(1), 43–61. <https://doi.org/10.1177/1073858412440596>
- Wolkoff, P. (2005). Eye complaints in the office environment: Precorneal tear film integrity influenced by eye blinking efficiency. *Occupational and Environmental Medicine*, 62(1), 4–12. <https://doi.org/10.1136/oem.2004.016030>
- Zeki, S., Goodenough, O. R., Spence, S. A., Hunter, M. D., Farrow, T. F. D., Green, R. D., Leung, D. H., Hughes, C. J., & Ganesan, V. (2004). A cognitive neurobiological account of deception: Evidence from functional neuroimaging. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1451), 1755–1762. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1555>
- Zhang, X., Wang, W., Bai, X., Zhang, Y., Yuan, Z., Tang, H., Zhang, X., Li, Z., Zhang, P., Hu, Z.,

Zhang, Y., Yu, X., Man, X., Sui, B., Wang, Y. (2023) Changes in gamma-aminobutyric acid and glutamate/glutamine levels in the right thalamus of patients with episodic and chronic migraine: A proton magnetic resonance spectroscopy study. *Headache* 63(1), 104-113. doi: 10.1111/head.14449.