

Medizinische Fakultät  
der  
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie  
und Verhaltensimmunbiologie

**Effekte einer systemischen Entzündungsreaktion auf die  
somatosensorische Schmerzwahrnehmung beim Menschen**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
durch die Medizinische Fakultät  
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von  
Janina Maluck  
aus Essen  
2016

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer  
1. Gutachter: Herr Prof. Dr. rer. medic. S. Benson  
2. Gutachter: Frau Univ.-Prof. Dr. med. U. Bingel

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Mai 2017

## Publikationen

Wegner, A., Elsenbruch, S., **Maluck, J.**, Grigoleit, J. S., Engler, H., Jäger, M., Spreitzer, I., Schedlowski, M., Benson, S. (2014). Inflammation-induced hyperalgesia: effects of timing, dosage, and negative affect on somatic pain sensitivity in human experimental endotoxemia. *Brain Behav Immun* 41, 46-54.

## Publizierte Abstracts

**Maluck, J.**, Wegner, A., Grigoleit, J. S., Jäger, M., Schedlowski, M., Elsenbruch, S., Benson, S. (2013): Effekte einer systemischen Entzündungsreaktion auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung: Abstractband zum 12. Forschungstag der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen.

Auszeichnung mit einem Posterpreis.

Wegner, A., **Maluck, J.**, Grigoleit, J. S., Schedlowski, M., Elsenbruch, S., Jäger, M., Benson, S. (2013): Einfluss der experimentellen Sepsis auf die somatosensorischen Schmerzschwellen beim Menschen. Deutscher Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie (DKOU 2013), Berlin, 22.-25.10.2013. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; DocPO15-1034.

Wegner, A., Elsenbruch, S., **Maluck, J.**, Schedlowski, M., Benson, S. (2013). Somatic pain sensitivity during experimentally-induced inflammation in humans. *PsychoNeuroImmunology Research Society's 20th Annual Scientific Meeting (PNIRS 2013)*, Stockholm, 5-8 June 2013. *Brain Behav Immun* 32 Suppl., 43-44.

Wegner, A., **Maluck, J.**, Schedlowski, M., Elsenbruch, S., Benson, S. (2013). Experimental endotoxemia as a model to study somatic pain sensitivity in humans. 10th Meeting of the German Endocrine Brain Immune Network (GEBIN 2013), Regensburg, 20.-23.03.2013. *Brain Behav Immun* 29 Suppl., 19.

## **Förderung**

Die Studie wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, BE 5173/2-1) und ein Stipendium der internen Forschungsförderung Essen (IFORES) für Herrn Dr. med. A. Wegner gefördert.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
1.1 Psychoneuroimmunologie: Einfluss des Immunsystems auf das ZNS.....	7
1.1.1 Signalwege .....	7
1.1.2 Physiologie und Pathologie.....	9
1.2 Aktivierung des Immunsystems .....	10
1.3 Immunsystem und Schmerz.....	13
1.3.1 Schmerzwahrnehmung und -verarbeitung .....	13
1.3.2 Modulation der Schmerzwahrnehmung .....	14
1.3.3 Einfluss des Immunsystems auf die Schmerzwahrnehmung .....	16
1.3.4 Schmerz als Komponente des Sickness Behavior.....	18
1.3.5 Chronische Schmerzsyndrome.....	21
1.4 Endotoxämie als experimentelles Krankheitsmodell .....	23
1.4.1 Effekte auf Kognition und Verhalten.....	24
1.4.2 Effekte auf Schmerzwahrnehmung.....	25
1.5 Herleitung der Fragestellung und Hypothesen .....	26
<b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>30</b>
2.1 Ethikvotum.....	30
2.2 Probanden.....	30
2.3 Studiendesign .....	32
2.4 Studienablauf.....	33
2.5 Messparameter.....	34
2.5.1 Schmerzwahrnehmung .....	34
2.5.2 Fragebögen .....	38
2.5.3 Vitalparameter.....	41
2.5.4 Laborwerte.....	41
2.6 Statistische Auswertung.....	42

<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	<b>44</b>
3.1 Probanden.....	44
3.2 Immunantwort.....	45
3.2.1 Zytokine .....	45
3.2.2 Cortisol .....	45
3.2.3 Leukozyten .....	45
3.2.3 Vitalparameter .....	47
3.3 Zustandsangst und Befindlichkeit .....	48
3.4 Krankheitssymptome .....	49
3.5 Schmerzwahrnehmung .....	51
3.5.1 Druckschmerzschwellen (Algometrie) .....	51
3.5.2 Mechanische Schmerzsensitivität (Pin Prick, Pinsel) .....	51
3.6 Korrelationsanalyse .....	53
<b>4. DISKUSSION</b> .....	<b>56</b>
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>78</b>
<b>6. LITERATUR</b> .....	<b>79</b>
<b>7. ANHANG</b> .....	<b>88</b>
7.1 Abbildungsverzeichnis .....	88
7.2 Tabellenverzeichnis.....	88
7.3 Abkürzungsverzeichnis.....	88
<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>92</b>
<b>LEBENSLAUF</b> .....	<b>93</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Psychoneuroimmunologie: Einfluss des Immunsystems auf das ZNS

Lange Zeit wurde angenommen, dass das Immunsystem und das zentrale Nervensystem (ZNS) als zwei voneinander unabhängige Systeme agieren. Inzwischen ist bekannt, dass das Immunsystem über verschiedene neuronale und humorale Wege mit dem ZNS kommuniziert und dort neuronale Prozesse beeinflusst (Dantzer et al., 2000; Tracey, 2010). Im Rahmen einer Immunaktivierung wird so ein Krankheitszustand hervorgerufen. Dabei kommt es zum Auftreten unspezifischer Symptome wie Fieber, Müdigkeit, Appetitverlust, Konzentrationsschwäche, sozialem Rückzug und depressiver Stimmung begleitet von hormonellen Veränderungen im Sinne einer Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (hypothalamic-pituitary-adrenal-axis, HPA-Achse) und des sympathischen Nervensystems (Dantzer et al., 2007; Hart, 1988; Watkins et al., 2005). Diese Veränderungen werden als Sickness Behavior bezeichnet (Kent et al., 1992).

### 1.1.1 Signalwege

Bisherige Studien unterstützen die Vermutung, dass peripher und auch zentral freigesetzte Zytokine (insbesondere Interleukin [IL-] 1, IL-6 und Tumornekrosefaktor [TNF-]  $\alpha$ ) eine maßgebliche Rolle bei der Kommunikation des Immunsystems mit dem ZNS sowie der Entstehung des Sickness Behavior spielen (Dantzer et al., 2000; Dantzer et al., 2008; Larson et al., 2001; Rothwell et al., 1995; Tracey, 2010). Da Zytokine relativ große hydrophile Moleküle darstellen, können sie die Blut-Hirn-Schranke (BHS) unter normalen Umständen nicht überwinden. Als Erklärung für die Kommunikation zwischen Immunsystem und ZNS werden daher verschiedene humorale und neuronale Signalwege diskutiert, die vermutlich parallel beziehungsweise konvergent ablaufen (Dantzer et al., 2000).

Tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass lokal produzierte Zytokine afferente Nervenfasern des Nervus (N.) vagus bei abdominalen Infektionen stimulieren können (Bluthe et al., 1994; Tracey, 2010; Watkins et al., 1994). Diese vagalen Afferenzen projizieren aus dem Bauchraum zum Nucleus (Ncl.) tractus solitarii im Hirnstamm und weiter zu der

ventrolateralen Medulla oblongata, dem Ncl. arcuatus und den paraventriculären und supraoptischen Nuclei des Hypothalamus (Wan et al., 1993). Untersuchungen zur Beteiligung des N. vagus an der Entstehung einzelner Symptome des Sickness Behavior ergaben keine konsistenten Ergebnisse (Dantzer et al., 2000; Roth et al., 2001). Widersprüchliche Ergebnisse könnten dabei durch die unterschiedlichen methodischen Ansätze wie Dosis und Applikationsart bedingt sein. Neuere Studien konnten darüber hinaus zeigen, dass lokale Entzündungen auch über andere Nerven wie den N. glossopharyngeus (Romeo et al., 2001) oder subkutane Nervenendigungen (Roth et al., 2001) Signale ins Gehirn übertragen können. Insbesondere bei lokalisierten Entzündungen scheinen diese neuronalen Mechanismen einen wichtigen Signalweg vom Immunsystem zum ZNS darzustellen. Daneben existieren aber auch andere, nicht-neuronale Signalwege, welche vor allem bei systemischen Immunreaktionen von Bedeutung zu sein scheinen.

Bei systemischen Entzündungen kommt es neben einem vorübergehenden Anstieg zirkulierender Zytokine im Blut auch zur Produktion von Zytokinen im ZNS (Dantzer et al., 2000; Hopkins, 2007; Quan et al., 1998; Rothwell et al., 1995). Unter normalen Umständen können Zytokine die BHS nicht passieren. Es konnten jedoch spezifische Transporter gefunden werden, wobei sich die Transportraten für einzelne Zytokine, einzelne Hirnregionen sowie unter physiologischen und pathologischen Bedingungen unterscheiden (Banks, 2005). Die während einer systemischen Immunaktivierung erreichten Level an zirkulierenden Zytokinen bedingen allerdings nur geringe Transportraten, sodass dieser Mechanismus eher eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint (Dantzer et al., 2000). Somit stellt sich die Frage, wie periphere Zytokine die Produktion zentraler Zytokine herbeiführen.

Im Bereich zirkumventrikulärer Organe (ZVO) bilden die Blutgefäße keine suffiziente Blut-Hirn-Schranke aus und bieten damit eine direkte Kontaktstelle von Zytokinen mit Zellen des ZNS. Dort lokalisierte immunkompetente Zellen können über Zytokinrezeptoren und Toll-like-Rezeptoren (TLR) auf eine Entzündung im peripheren Blut mit der Produktion von zentralen Zytokinen wie Interleukin-1 reagieren (Laflamme et al., 2001; Quan et al., 1998). Ein vergleichbarer Weg führt über die Zellen der Blut-Hirn-Schranke als Zwischenstation. Die dort befindlichen Endothelzellen und perivaskulären Makrophagen tragen Rezeptoren für zirkulierende Zytokine aus dem peripheren Blut und aus dem zentralen Nervensystem, deren Aktivierung zur Produktion und Ausschüttung von Zytokinen (Quan et al., 1998) und Prostaglandinen (Konsman et al., 2004) ins ZNS führt. Prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> spielt eine



maßgebliche Rolle bei der Induktion von Fieber und der Aktivierung der HPA-Achse (Hopkins, 2007; Roth et al., 2001) und stellt somit einen wichtigen Mediator zwischen Zytokinen und neuronalen Zellen dar.

Zentral freigesetzte Zytokine können sich per Diffusion im Hirnparenchym und Liquorsystem ausbreiten und in einer Kaskade die Ausschüttung weiterer Zytokine und anderer Mediatoren wie Prostaglandine durch zentrale Glia induzieren (Dantzer et al., 2000; Quan et al., 1998; Rothwell et al., 1995). Im ZNS können Zytokine auf verschiedenste Weise Einfluss auf Neurotransmitter und neuronale Aktivitäten nehmen (Besedovsky et al., 1996; Rothwell et al., 1995) und sind damit maßgeblich an der Entstehung des Sickness Behavior beteiligt (Dantzer et al., 2000; Dantzer et al., 2008). Für eine schematische Übersicht der Signalwege zwischen Immunsystem und zentralem Nervensystem siehe Abbildung 1, Seite 12.

Ergänzend zu den oben genannten Verhaltensänderungen kommt es im Zuge einer systemischen Entzündungsreaktion auch zur Aktivierung des sympathischen Nervensystems und der HPA-Achse (Besedovsky et al., 1996; Hopkins, 2007). Katecholamine und Glukokortikoide können neben ihrer vielfältigen Wirkung auf Stoffwechsel, Immunsystem und Vegetativum auch Einfluss auf Stimmung und Verhalten nehmen und spielen somit ebenfalls eine Rolle im Rahmen des Sickness Behavior (Larson et al., 2001; Young, 2004).

### **1.1.2 Physiologie und Pathologie**

Die unspezifischen Verhaltensänderungen während einer Krankheit werden inzwischen nicht mehr als maladaptiver Zustand, sondern vielmehr als hochorganisierte Anpassungsvorgänge angesehen, die neben der Aktivierung des Immunsystems zu einer optimalen Krankheitsbekämpfung beitragen und so das Überleben sichern sollen (Hart, 1988). So kann zum Beispiel physischer Rückzug zur Energieeinsparung und Fieber zur besseren Bekämpfung von Mikroorganismen beitragen. Weitere Symptome des Sickness Behavior umfassen Müdigkeit, Appetitverlust, Konzentrationsschwäche, sozialen Rückzug, depressive Stimmung und Freudlosigkeit (Dantzer et al., 2007; Larson et al., 2001).

Viele dieser genannten Symptome zählen auch zu den Kardinalsymptomen depressiver Störungen. Kommt es nun im Rahmen von chronischen Krankheiten zu einer längerfristig erhöhten Immunaktivität mit Ausschüttung von Zytokinen, können diese krankheitsbedingten Verhaltensänderungen andauern und eine depressive Störung bedingen (Dantzer et al.,

2008). So wird die vermehrte Inzidenz von Depressionen bei Autoimmunkrankheiten wie Multipler Sklerose, Rheumatoider Arthritis und Systemischem Lupus erythematoses sowie bei chronischen Entzündungen, chronischen Schmerzen und Tumorerkrankungen in Zusammenhang mit erhöhten Spiegeln pro-inflammatorischer Zytokine gebracht (Pollak et al., 2002). Außerdem weisen Patienten im Rahmen einer Zytokintherapie bei Tumorerkrankungen oder chronischer Hepatitis eine erhöhte Rate von Depressionen als Nebenwirkung auf (Capuron et al., 2001; Udina et al., 2012). Weitere Studien deuten auf einen Zusammenhang zwischen erhöhten Zytokinspiegeln und psychiatrischen Krankheiten wie bipolaren affektiven Störungen (Munkholm et al., 2013) und Schizophrenien (Potvin et al., 2008) hin. Daneben werden auch erhöhte Cortisolspiegel als Komponente bei der Entstehung affektiver Störungen angenommen (Young, 2004). Um die Frage nach dem kausalen Zusammenhang zu klären, bedarf es zum jetzigen Zeitpunkt jedoch noch weiterführender Studien.

Ursprünglich nicht als eine der klassischen Komponenten des Sickness Behavior angesehen (Hart, 1988), wurde eine erhöhte Schmerzwahrnehmung erst im weiteren Verlauf der Forschung zu den adaptiven Verhaltensänderungen während einer Krankheit gezählt (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994). Ebenso wie die vorgenannten Verhaltensänderungen erfüllt Schmerz eine Schutzfunktion, indem er durch Rückzug und Schonung zum Überleben des Organismus beitragen soll (Maier et al., 1992; Watkins et al., 2000, 2005). Chronischer Schmerz kann in diesem Sinne als ein unphysiologisches Fortdauern solcher adaptiver Mechanismen angesehen werden (Gold et al., 2010; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). Somit spielt die Beteiligung des Immunsystems und pro-inflammatorischer Mediatoren eine wichtige Rolle für die Untersuchung der zugrundeliegenden Mechanismen bei der Entstehung chronischer Schmerzen (Bjurstrom et al., 2014; Uceyler et al., 2008). Für Näheres siehe auch Kapitel 1.3.4 „Schmerz als Komponente des Sickness Behavior“ und 1.3.5 „Chronische Schmerzsyndrome“.

## **1.2 Aktivierung des Immunsystems**

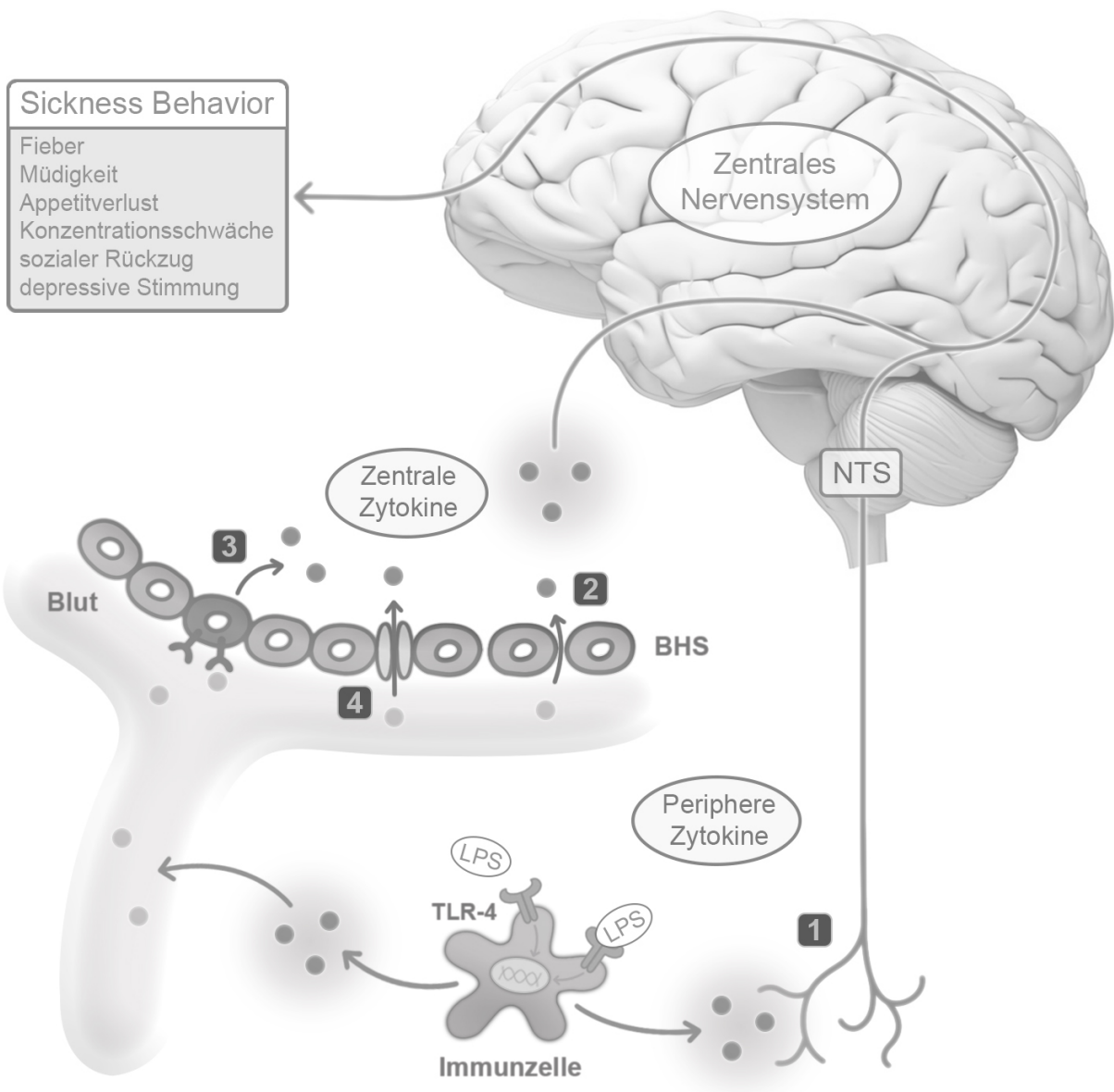
Jede Immunantwort wird durch die Ausschüttung pro- und anti-inflammatorischer Zytokine gesteuert. Pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  und Interferon (IFN)- $\gamma$

sind dabei für die Aktivierung, Anlockung und klonale Expansion von Immunzellen verantwortlich und an der Entstehung des Sickness Behavior beteiligt (Dantzer et al., 2008). Anti-inflammatorische Zytokine wie IL-1ra (Interleukin-1 Rezeptorantagonist), IL-4, IL-10 und IFN- $\alpha$  hingegen regulieren die Intensität und Dauer der Immunantwort.

Als Teil des angeborenen Immunsystems können Makrophagen pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  ausschütten und spielen so eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Sickness Behavior (Moon et al., 2011). Sie entwickeln sich entweder aus chemotaktisch angelockten Monozyten aus dem Blut oder sind ortsständig im Gewebe, wie z.B. die Kupffer-Sternzellen in der Leber oder die Microglia im ZNS.

Die Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine durch Makrophagen kann durch IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  oder über die Erkennung Pathogen-assoziiertes molekularer Muster (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) bewirkt werden (Janeway, 1992; Moon et al., 2011). Diese Muster stellen hochkonservierte Aminosäuren-Sequenzen von Mikroorganismen dar und werden durch membranständige Muster-Erkennungsrezeptoren (pattern recognition receptors, PRRs) erkannt (Akira et al., 2001; Janeway, 1992). Neben Makrophagen werden PRRs auch von dendritischen Zellen und neutrophilen Granulozyten exprimiert. Zur Familie der PRRs gehören auch die Toll-like-Rezeptoren. Als besonders erwähnenswerter Rezeptor bindet TLR-4 zusammen mit CD14 (cluster of differentiation 14) Lipopolysaccharid (LPS), welches in der Zellwand gramnegativer Bakterien vorkommt und auch als Endotoxin bezeichnet wird (Beutler, 2000). Nach Bindung an TLR-4 kommt es über eine MyD88- (myeloid differentiation primary response 88-) abhängige zytoplasmatische Signalkaskade zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), der im Zellkern zur Stimulation von Entzündungs- und Immunantwort-Genen und so unter anderem zur Produktion pro-inflammatorischer Zytokine führt (Akira et al., 2001).

Neben der Zytokinantwort präsentieren Makrophagen auch über PRR aufgenommene und anschließend prozessierte Antigene auf MHC- (major histocompatibility complex-) II-Domänen an CD4<sup>+</sup> T-Zellen und leiten damit die adaptive Immunantwort ein, die unter anderem die Produktion von Immunglobulinen durch B-Zellen umfasst (Janeway, 1992).



**Abbildung 1: Schematische Übersicht der Signalwege zwischen Immunsystem und zentralem Nervensystem.** Die Abbildung zeigt ausgewählte Signalwege zwischen Immunsystem und zentralem Nervensystem. Über diese Signalwege kann eine periphere Entzündung die Entstehung von Verhaltensänderungen hervorrufen, welche als Sickness Behavior bezeichnet werden. Für Details siehe Text.

Ziffern: Ziffer 1 = Neuronale Signalwege. Ziffer 2-4 = Humorale Signalwege. Ziffer 2 = Zirkumventrikuläre Organe; Ziffer 3 = Endothelzellen und perivaskuläre Makrophagen der Blut-Hirn-Schranke; Ziffer 4 = Zytokintransporter. Abkürzungen: LPS = Lipopolysaccharid, TLR-4 = Toll-like-Rezeptor 4; BHS = Blut-Hirn-Schranke; NTS = Nucleus tractus solitarii.

Anmerkung: Aus Gründen der Übersichtlichkeit können Einzelheiten der Darstellung von der anatomischen Richtigkeit abweichen. Modifiziert nach Tracey (2010) und Schedlowski et al. (2014).

## **1.3 Immunsystem und Schmerz**

Schmerz definiert sich als eine unangenehme Sinneswahrnehmung, deren Aufgabe es ist, den Körper vor potentiell schädlichen Reizen von außen zu warnen (Gold et al., 2010; Woolf, 2010). Somit dient die Wahrnehmung von Schmerz dem Schutz des Individuums und übernimmt eine lebensnotwendige Funktion. Neben diesem physiologischen nozizeptiven Schmerz existieren weitere Formen des Schmerzes: Entzündlicher Schmerz entsteht vermittelt durch Immunzellen infolge von Gewebsverletzungen und dient der Schonung und somit der besseren Heilung; daneben gibt es aber auch pathologischen Schmerz, welcher ohne adäquaten Stimulus auftritt und durch Fehlfunktionen des Nervensystems (dysfunktional) oder durch Nervenschäden (neuropathisch) bedingt sein kann (Woolf, 2010). Schmerz erfüllt somit nicht nur eine physiologische Schutzfunktion, sondern kann auch in pathologischer Form als Bestandteil verschiedener Schmerzsyndrome auftreten und spielt damit eine wichtige Rolle im klinischen Alltag (Breivik et al., 2006).

### **1.3.1 Schmerzwahrnehmung und -verarbeitung**

Unter dem Begriff Nozizeption versteht man die Erkennung, Weiterleitung und Verarbeitung von schädlichen Reizen durch das periphere und zentrale Nervensystem (Dubin et al., 2010). Die bewusste Empfindung von Schmerz entsteht schließlich als eine subjektive Wahrnehmung und kann durch verschiedene individuelle Faktoren beeinflusst werden (Bartley et al., 2013; Dubin et al., 2010; Eccleston, 2001; Wiech et al., 2009). Der Erkennung schädlicher Reize dienen sogenannte Nozizeptoren, welche von freien Nervenendigungen sensibler Neurone von Spinalganglien und des Ganglion trigeminale gebildet werden (Basbaum et al., 2009; Dubin et al., 2010). Nozizeptoren werden durch verschiedene Stimuli wie extreme Temperaturen, mechanische Reize, chemische Noxen oder eine bereits eingetretene Gewebsverletzung aktiviert (Dubin et al., 2010; Gold et al., 2010). Bei den Nozizeptoren lassen sich zwei Fasertypen unterscheiden: Myelinisierte A $\delta$ -Fasern leiten den schnellen, ersten und gut lokalisierbaren Schmerz, während nicht-myelinisierte C-Fasern für die Wahrnehmung des langsamen, dumpfen und schlecht lokalisierbaren Schmerzes verantwortlich sind (Basbaum et al., 2009; Besson et al., 1987).

Erkennt ein Nozizeptor einen schädlichen Reiz, leitet er sein Aktionspotential an das Rückenmark und somit das zentrale Nervensystem weiter. Wesentliche Transmitter für die

Übertragung auf das zweite Neuron sind Glutamat, Substanz P und Calcitonin gene-related peptide (CGRP), die über spannungsgesteuerte Calcium-Kanäle ausgeschüttet werden (Zamponi et al., 2009). Vom Hinterhorn wird das Signal dann über den Tractus spinothalamicus im Vorderseitenstrang zum Thalamus und von dort zum Kortex sowie in spinoretikulären und spinobulbären Bahnen zu verschiedenen subkortikalen Zentren wie dem Ncl. parabrachialis, der Formatio reticularis, dem periaquäduktalen Grau (PAG) und der rostralen ventromedialen Medulla oblongata (RVM) geleitet (Besson et al., 1987; Kwon et al., 2013). Zu den aktivierten Hirnrindenarealen zählen schließlich der primär und sekundär sensorische Kortex (S1 und S2), der anteriore zinguläre Kortex und der Inselkortex sowie der präfrontale Kortex (Apkarian et al., 2005; Schweinhardt et al., 2010). Dabei wird angenommen, dass die Aktivierung verschiedener Hirnregionen die unterschiedlichen Komponenten der Schmerzwahrnehmung repräsentiert: Neben dem primär sensorischen Kortex, der die sensorisch-diskriminative Komponente des Schmerzes abbildet, werden der anteriore zinguläre Kortex und der Inselkortex als Bestandteile des limbischen Systems für die affektive Komponente sowie der präfrontale Kortex für die kognitive Komponente der Schmerzwahrnehmung verantwortlich gemacht (Apkarian et al., 2005; Grace et al., 2014).

### **1.3.2 Modulation der Schmerzwahrnehmung**

Die Wahrnehmung von Schmerz kann als Motivationsprozess verstanden werden, wobei die eigentliche Empfindung nicht alleine von der Intensität des Schmerzreizes abhängt, sondern vielmehr durch das Zusammenspiel von Schmerzhemmung und Schmerzbahnung entsteht (Maier et al., 1992). Die schmerzmodulierenden Systeme umfassen neben supraspinalen auch spinale und periphere Mechanismen, die Einfluss auf die Weiterleitung nozizeptiver Reize nehmen, bevor sie ins Bewusstsein gelangen.

#### Schmerzhemmung

Durch Stress, akute Schmerzen oder Bedrohung des Organismus von außen kommt es zur Aktivierung absteigender Bahnen, die im Hinterhorn des Rückenmarks die Schmerzweiterleitung hemmen und so zu einer Analgesie führen (Maier et al., 1992). Wesentliche Zentren dieser absteigenden analgetischen Bahnen stellen das PAG und die RVM mit dem Ncl. raphe magnus (NRM) dar, die über endogene Opiode enthemmt werden (Basbaum et al., 1984). Das PAG erhält Afferenzen von verschiedenen Hirnregionen wie dem

Frontal- und Inselkortex sowie der Amygdala und projiziert größtenteils zur RVM (Basbaum et al., 1984; Heinricher et al., 2009; Kwon et al., 2013). Ausgehend von der RVM können pro- und anti-nozizeptive absteigende Bahnen unterschieden werden, die Einfluss auf die Schmerzweiterleitung im spinalen Hinterhorn nehmen (Fields et al., 1991; Heinricher et al., 2009). Im Rahmen der Schmerzhemmung entsendet die RVM serotonerge und noradrenerge Bahnen, die unter anderem inhibitorische Opioid-Interneurone im Hinterhorn des Rückenmarks aktivieren und so Erregbarkeit und Transmitterfreisetzung bei der Übertragung vom ersten auf das zweite nozizeptive Neuron hemmen (Basbaum et al., 1984; Fields et al., 1991; Kwon et al., 2013). Inhibitorische Interneurone können zusätzlich auch über eingehenden Afferenzen aus der Peripherie im Hinterhorn aktiviert werden (Basbaum et al., 1984; Besson et al., 1987). Die Antwortstärke des aufsteigenden Rückenmarkneurons auf einen nozizeptiven Reiz ergibt sich schließlich aus dem Zusammenspiel inhibitorischer und exzitatorischer Afferenzen.

### Schmerzbahnung

Im Rahmen der Schmerzverstärkung müssen zwei wesentliche Mechanismen voneinander unterschieden werden: Antianalgesie und Hyperalgesie (Maier et al., 1992). Der Begriff Antianalgesie bezeichnet die Aufhebung von Analgesie auf Rückenmarksebene durch absteigende Bahnen, die dann auftritt, wenn dem Körper nach vorausgegangener Bedrohung wieder Sicherheit signalisiert wird (Maier et al., 1992; Watkins et al., 2000). Im Gegensatz dazu versteht man unter Hyperalgesie eine darüber hinausgehende verstärkte Schmerzwahrnehmung, welche im Rahmen von Entzündungen und Infektionen auftreten kann (Maier et al., 1992). Dieser Mechanismus kann weiter in Hyperalgesie im eigentlichen Sinne sowie in Allodynie unterteilt werden. Dabei bedeutet Hyperalgesie eine erhöhte Schmerzhaftigkeit im Sinne einer gesenkten Schmerzschwelle, wohingegen man unter Allodynie die schmerzhaft empfundene Reize zuvor nicht schmerzhafter Reize versteht (Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2000; Woolf, 2011). Beim Vorgang der Allodynie können dann auch geringere mechanische Reize, die physiologisch über A $\beta$ -Fasern geleitet werden, eine schmerzhaft empfundene Wahrnehmung auslösen (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011). Bei diesen Vorgängen können zusätzlich A $\delta$ - und A $\beta$ -Fasern in benachbarten Segmenten miteinbezogen werden (sekundäre Hyperalgesie), wodurch es zu einer räumlichen Ausdehnung der verstärkten Schmerzwahrnehmung kommt (Woolf, 2011).

Analog zu den absteigenden schmerzhemmenden Bahnen aus dem Hirnstamm existiert ein absteigendes schmerzahnendes System. Dabei geht man davon aus, dass absteigende Bahnen der RVM Anti-Analgesie und Hyperalgesie auf Rückenmarksebene vermitteln (Fields et al., 1991; Heinricher et al., 2009; Maier et al., 1992). Auf spinaler und peripherer Ebene können weitere Mechanismen zu einer erhöhten Erregbarkeit von nozizeptiven Fasern und damit zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung beitragen. Diese Mechanismen werden als periphere und zentrale Sensitivierung bezeichnet und sind eng mit Mediatoren, die durch Immunzellen ausgeschüttet werden, verknüpft. Aus diesem Grund soll im nächsten Kapitel (1.3.3 „Einfluss des Immunsystems auf die Schmerzwahrnehmung“) näher darauf eingegangen werden.

Zusätzlich zu den zuvor genannten Mechanismen können Emotionen wie Aufmerksamkeit, Erwartung, Angst und negative Affektivität zu einer vermehrten Aktivierung schmerzahnender Systeme führen (Eccleston, 2001; Wiech et al., 2009). Dieser Vorgang umfasst auch eine erhöhte Aktivität von Hirnzentren, die an der Bewertung von Schmerzreizen beteiligt sind (Apkarian et al., 2005; Schweinhardt et al., 2010). Daneben können auch individuelle Faktoren wie Persönlichkeit, Geschlecht, Alter und ethnischer Hintergrund Einfluss auf das Erleben von Schmerz haben (Bartley et al., 2013; Eccleston, 2001).

### **1.3.3 Einfluss des Immunsystems auf die Schmerzwahrnehmung**

Schmerzverstärkung kann im Sinne einer entzündlichen Hyperalgesie auftreten und ist in diesem Fall maßgeblich mit einer Aktivierung des Immunsystems verknüpft. Diese kann akut als physiologischer Schutzmechanismus angesehen werden, aber auch pathologisch als chronischer Schmerz auftreten (Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2005). Dabei nimmt man an, dass in der Folge von Infektionen oder Entzündungen sowie nach Gewebe- oder Nervenverletzungen Zytokine freigesetzt werden, die dann direkt oder indirekt zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung führen (Watkins et al., 2000; Watkins et al., 1994; Wieseler-Frank et al., 2005). Bereits 1988 konnten Ferreira et al. (1988) erstmals eine verstärkte Schmerzwahrnehmung nach Applikation des pro-inflammatorischen Zytokins IL-1 $\beta$  beobachten. Anschließende Studien konnten weitere periphere und zentrale Zytokine mit einer entzündlichen Hyperalgesie in Verbindung bringen (Kawasaki et al., 2008; Maier et al.,



1993; Reeve et al., 2000), wobei verschiedene Mechanismen bei der Entstehung diskutiert werden.

Der Begriff periphere Sensitivierung beschreibt eine erhöhte Erregbarkeit von primären nozizeptiven Afferenzen durch Modulation der Verteilung und Dichte ihrer Ionenkanäle, welche im Rahmen von Nervenschädigungen oder peripheren Gewebsverletzungen auftreten kann und durch eine lokale Entzündungsreaktion mit Produktion von pro-inflammatorischen Mediatoren wie Zytokinen und Prostaglandinen bedingt wird (Basbaum et al., 2009; Dubin et al., 2010; Gold et al., 2010; Uceyler et al., 2008). Im Gegensatz dazu versteht man unter dem Begriff zentrale Sensitivierung eine verstärkte Signalübertragung vom ersten auf das zweite nozizeptive Neuron im spinalen Hinterhorn (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011). Basierend auf dem Konzept neuronaler Plastizität wird davon ausgegangen, dass repetitive schädliche Stimuli, ebenso wie periphere Entzündungen und Nervenverletzungen, die Signalstärke im zweiten nozizeptiven Neuron über die Dauer des ursprünglichen Reizes hinaus steigern können (Latremoliere et al., 2009). Diese verstärkte synaptische Verbindung kann durch eine erhöhte präsynaptische Transmitterfreisetzung, durch Hemmung inhibitorischer Bahnen sowie auch durch eine erhöhte postsynaptische Rezeptorexpression oder -erregbarkeit hervorgerufen werden (Woolf, 2011). Ein bekannter Mechanismus zentraler Sensitivierung basiert auf der Rekrutierung postsynaptischer NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat-) Rezeptoren für Glutamat und ist vergleichbar mit der Langzeitpotenzierung wie sie von Lernprozessen aus dem Hippocampus bekannt ist (Basbaum et al., 2009; Woolf, 2011). Dabei kann anhaltender nozizeptiver Input über die hohe Ausschüttung von Glutamat, Substanz P und CGRP postsynaptische NMDA-Rezeptoren entkoppeln und somit die synaptische Übertragung im Hinterhorn verstärken (Basbaum et al., 2009; Latremoliere et al., 2009).

Neuere Studien deuten außerdem darauf hin, dass spinale Glia (Astrozyten und Microglia) eine entscheidende Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung einer zentralen Sensitivierung spielen (Basbaum et al., 2009; Latremoliere et al., 2009; Wieseler-Frank et al., 2005). Inflammatorische Mediatoren, die bei peripheren Entzündungen oder Nervenverletzungen produziert werden, können zu einer Aktivierung der Gliazellen im zugehörigen Hinterhorn führen (Basbaum et al., 2009; Grace et al., 2014; Watkins et al., 2000, 2005). Außerdem können Gliazellen auch über absteigende Bahnen aus dem NRM aktiviert werden (siehe Kapitel 1.3.4 „Schmerz als Komponente des Sickness Behavior“).

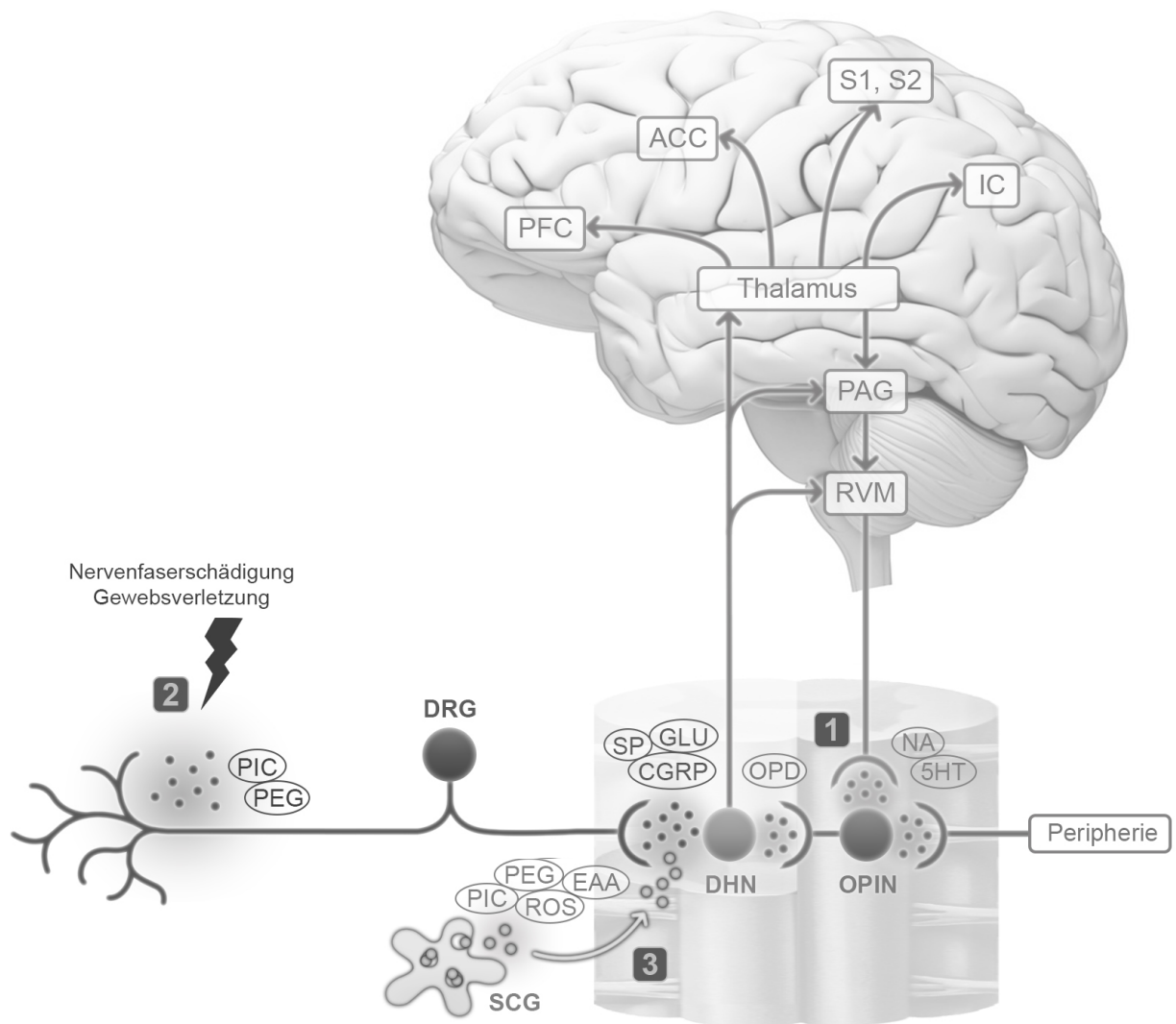
Nach ihrer Aktivierung können die spinalen Gliazellen unter anderem Mediatoren wie proinflammatorische Zytokine (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), Prostaglandine, exzitatorische Aminosäuren und reaktive Sauerstoffspezies freisetzen (Grace et al., 2014; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). Über vielfältige Mechanismen sind diese Mediatoren in der Lage, die postsynaptische Erregbarkeit von Neuronen im Hinterhorn zu steigern und damit zu einer zentralen Sensitivierung zu führen: Dazu zählt unter anderem die Hochregulation von AMPA- ( $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure-) Rezeptoren, die erleichterte Aktivierung von NMDA-Rezeptoren, die Hemmung inhibitorischer GABAerger ( $\gamma$ -Aminobuttersäure) und glycinerger Afferenzen sowie die Erhöhung der Glutamatmenge im synaptischen Spalt durch gesteigerte Ausschüttung bei gleichzeitig gehemmter Wiederaufnahme (Grace et al., 2014; Kawasaki et al., 2008; Watkins et al., 2005).

Physiologischerweise wird ein Überschießen der inflammatorischen Antwort sowie der daraus resultierenden Hyperalgesie durch die Produktion anti-inflammatorischer Zytokine reguliert, wobei periphere Makrophagen im Spinalganglion die Zytokinproduktion spinaler Microglia im Hinterhorn durch die Ausschüttung von IL-10 hemmen können (Willemsen et al., 2014). Fehlregulationen dieser Regelkreise können somit zur Entstehung pathologischer Schmerzen beitragen (Grace et al., 2014; Willemsen et al., 2014). Für eine schematische Übersicht der Schmerzwahrnehmung und Modulation siehe Abbildung 2, Seite 19.

#### **1.3.4 Schmerz als Komponente des Sickness Behavior**

Ursprünglich wurde Schmerz nicht zu den adaptiven Verhaltensänderungen während einer Krankheit gezählt, welche dem Rückzug und Schutz des Individuums dienen sollen (Hart, 1988). Erst im weiteren Verlauf der Forschung entstand das Konzept, die während systemischen Entzündungen oder Infektionen beobachtete Hyperalgesie als weiteren Schutzmechanismus im Rahmen des Sickness Behavior anzusehen (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994).

Bei der Entstehung des Sickness Behavior wird pro-inflammatorischen Zytokinen eine entscheidende Rolle für das Auftreten der damit assoziierten Verhaltensänderungen zugeschrieben (Dantzer et al., 2000; Dantzer et al., 2008; Larson et al., 2001; Rothwell et al., 1995). Wie bereits erwähnt sind Zytokine außerdem in der Lage, nach systemischer oder



**Abbildung 2: Schematische Übersicht der Schmerzwahrnehmung und Schmerzmodulation.** Die Abbildung zeigt eine Übersicht über die neuronale Verschaltung bei der Schmerzwahrnehmung. Weiterhin dargestellt sind ausgewählte Mechanismen der Schmerzhemmung und Schmerzverstärkung. Für Details siehe Text.

Ziffern: Ziffer 1 = Absteigende Schmerzhemmung; Ziffer 2 = Periphere Sensitivierung; Ziffer 3 = Zentrale Sensitivierung. Abkürzungen: PIC = pro-inflammatorische Cytokine; PEG = Prostaglandine; DRG: dorsal root ganglia; SCG = spinal cord glia; ROS = reaktive oxygen species; EAA = excitatory amino acids; DHN = dorsal horn neuron; SP = Substanz P; CGRP = calcitonin gene-related peptide; GLU = Glutamat; OPIN = Opioid- Interneuron; OPD = endogenes Opioid; NA = Noradrenalin; 5-HT = 5-Hydroxytryptamin (Serotonin); RVM = rostrale ventromediale Medulla oblongata; PAG = periaquäduktales Grau; PFC = prefrontal cortex, ACC = anterior cingulate cortex; S1, S2 = primär und sekundär sensorischer Kortex; IC = insular cortex.

Anmerkung: Aus Gründen der Übersichtlichkeit können Einzelheiten der Darstellung von der anatomischen Richtigkeit abweichen.

zentraler Gabe eine Hyperalgesie auszulösen (Ferreira et al., 1988; Kawasaki et al., 2008; Maier et al., 1993; Reeve et al., 2000). In diesem Sinne scheinen pro-inflammatorische Zytokine neben anderen Verhaltensänderungen auch für die Entstehung der Hyperalgesie im Rahmen des Sickness Behavior verantwortlich zu sein (Maier et al., 1993; Watkins et al., 2000, 2005; Watkins et al., 1997; Wieseler-Frank et al., 2005).

Eine entzündliche Hyperalgesie wird häufig nach initial schmerzhaften Ereignissen wie Nerven- oder Gewebsverletzungen beobachtet (siehe Kapitel 1.3.3 „Einfluss des Immunsystems auf die Schmerzwahrnehmung“). Tritt diese nun im Zuge einer systemischen Infektion ohne direkte Aktivierung nozizeptiver Fasern auf, stellt sich die Frage, wie diese Hyperalgesie vermittelt wird. Analog zu anderen Komponenten des Sickness Behavior (Bluthe et al., 1994) scheint der N. vagus auch bei der Vermittlung der Hyperalgesie eine Funktion zu übernehmen (Watkins et al., 1994). Während einer systemischen Entzündung kann der N. vagus über peripher freigesetztes IL-1 aktiviert werden und so das Signal an das ZNS weiterleiten (Maier et al., 1993). In ihren tierexperimentellen Studien zu diesem Thema konnten Watkins et al. sowohl für eine peripher (1997) als auch eine viszeral induzierte Entzündung (1994) einen „Peripherie-zu-Gehirn-zu-Rückenmark“-Schaltkreis aufzeigen, welcher auf supraspinaler Ebene den NRM als Teil der RVM beinhaltet. Weiterführende Studien konnten zeigen, dass in diesem Schaltkreis auch spinale Glia eine entscheidende Rolle spielen, welche über absteigende Bahnen aus dem NRM durch Transmitter wie Substanz P und Glutamat aktiviert werden können (Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2000, 2005; Watkins et al., 1997). Nach ihrer Aktivierung können spinale Glia im Hinterhorn eine zentrale Sensitivierung und somit eine Hyperalgesie induzieren (Basbaum et al., 2009; Latremoliere et al., 2009; Wieseler-Frank et al., 2005).

Die Hyperalgesie während einer Krankheit wird als vorübergehender Schutzmechanismus angesehen (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994). Dabei wird vermutet, dass ein längerfristiges Fortdauern dieser entzündlichen Hyperalgesie Ursache chronischer Schmerzen sein kann (Gold et al., 2010; Watkins et al., 2005). Ein Zusammenhang zwischen chronischen Schmerzen und einer erhöhten Immunaktivierung wird auch durch Beobachtungen gestützt, dass chronischer Schmerz häufig mit anderen Komponenten des klassischen Sickness Behavior wie Antriebslosigkeit, depressiver Stimmung und Angst einhergeht (Grace et al., 2014). Somit kommt dem Immunsystem und pro-inflammatorischen

Mediatoren eine wichtige Bedeutung für die Untersuchung der zugrundeliegenden Mechanismen bei der Entstehung chronischer Schmerzen zu (Bjurstrom et al., 2014; Uceyler et al., 2008).

### **1.3.5 Chronische Schmerzsyndrome**

Die wichtige Rolle entzündlicher Prozesse bei der Schmerzentstehung wird vor allem mit Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis in Verbindung gebracht (Brennan et al., 2008; Uceyler et al., 2008). Seit einigen Jahren existieren zusätzliche Studien, die Veränderungen des Immunsystems in Form eines Ungleichgewichts pro- und anti-inflammatorischer Zytokine bei verschiedenen chronischen Schmerzsyndromen untersucht haben, welche klassischerweise nicht als entzündlich bedingt angesehen werden (Bjurstrom et al., 2014; Uceyler et al., 2008).

Erste Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Zytokinen und chronischen Schmerzen ergaben sich aus Untersuchungen von Patienten mit Erythema nodosum leprosum (einer schmerzhaften Unterform der Lepra), bei denen erhöhte Serumspiegel von Zytokinen nachweisbar waren und die erfolgreich mit einer anti-TNF-Therapie in Form von Thalidomid behandelt werden konnten (Sampaio et al., 1993).

Nervenverletzungen und -entzündungen sind als gut untersuchte Ursachen einer immunvermittelten Hyperalgesie bekannt und finden tierexperimentell Anwendung als Modell für neuropathischen Schmerz (Basbaum et al., 2009; Gold et al., 2010; Latremoliere et al., 2009; Uceyler et al., 2008; Watkins et al., 2005). Klinische Studien konnten jetzt auch bei Patienten mit Neuropathien ein Ungleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen in Nervenbiopsien und im Serum aufweisen, welches bei schmerzhaften gegenüber nicht-schmerzhaften Neuropathien stärker ausgeprägt war (Lindenlaub et al., 2003; Uceyler, Rogausch, et al., 2007). Dabei waren die Ergebnisse unabhängig vom Vorliegen einer entzündlichen Ätiologie (Uceyler, Rogausch, et al., 2007). Eine weitere Erkrankung mit neuropathischen Schmerzen stellt das komplexe regionale Schmerzsyndrom (complex regional pain syndrome, CRPS) dar, welches häufig nach einem Trauma entsteht und die klassischen Kardinalsymptome einer Entzündung aufweist (Uceyler, Eberle, et al., 2007; Uceyler et al., 2008). Bei Patienten mit CRPS konnte analog zu Untersuchungen von Patienten mit Neuropathien ein überwiegend pro-inflammatorisches Zytokinprofil

nachgewiesen werden (Uceyler, Eberle, et al., 2007). Ischialgien nach Bandscheibenvorfall repräsentieren eine weitere häufige Ursache von chronischem Schmerz. Neben der direkten Nervenkompression wird eine Beteiligung pro-inflammatorischer Zytokine als mögliche Ursache diskutiert, da der Nucleus pulposus inflammatorische Mediatoren enthält, die nach seinem Prolaps freigesetzt werden (Brisby et al., 2002).

Sowohl das Reizdarmsyndrom als auch das Fibromyalgiesyndrom gehören zu einer Gruppe von Krankheiten, bei denen sich mittels herkömmlicher Diagnostik bislang keine objektivierbaren Befunde erheben lassen, die jedoch durch Schmerzen als eines der Hauptcharakteristika gekennzeichnet sind. Beim Fibromyalgiesyndrom wurde häufig ein Zusammenhang mit entzündlichen Prozessen diskutiert und klinische Studien haben einen Trend zu einem Ungleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen gezeigt (Uceyler et al., 2011). Auch beim Reizdarmsyndrom mehren sich Hinweise, dass Veränderungen des Immunsystems wie lokale Entzündungsprozesse und erhöhte systemische Zytokinspiegel zur Krankheitsentstehung beitragen (Elsenbruch, 2011).

Insgesamt kommt Immunprozessen eine entscheidende Rolle bei der Generierung einer verstärkten Schmerzwahrnehmung zu (siehe Kapitel 1.3.3. „Einfluss des Immunsystems auf die Schmerzwahrnehmung“). Daher befinden sich verschiedene Ansätze, die im Bereich der Immunregulation ansetzen, in der Erprobung zur Behandlung von Patienten mit chronischen Schmerzen (Bjurstrom et al., 2014; Grace et al., 2014; Wieseler-Frank et al., 2005). Obwohl bereits in vielen Studien Veränderungen des Immunsystems bei diesen Patienten gezeigt werden konnten, bleibt es jedoch bislang ungeklärt, ob dieser Zusammenhang ursächlich ist. Pathologischer Schmerz kann durch Fehlregulationen aller an der Schmerzwahrnehmung beteiligten Systeme verursacht werden, wobei Veränderungen von Transmittersystemen sowie Mechanismen der peripheren und zentralen Sensitivierung wesentlich zur Entstehung chronischer Schmerzen beitragen können (Kwon et al., 2013; Woolf, 2011). Bei chronischen Schmerzpatienten konnten außerdem veränderte Hirnaktivitäten sowie auch strukturelle Veränderungen in schmerzverarbeitenden Zentren beobachtet werden (Apkarian et al., 2005; Schweinhardt et al., 2010). Darüber hinaus wird dem Einfluss negativer Emotionen auf die Wahrnehmung und Bewertung von Schmerzreizen in der Pathophysiologie chronischer Schmerzen eine bedeutende Rolle zugeschrieben (Eccleston, 2001; Elsenbruch, 2011; Wiech et al., 2009).

## 1.4 Endotoxämie als experimentelles Krankheitsmodell

Aus der medizinischen Behandlung mit Zytokinen ist bekannt, dass deren Applikation Verhaltensänderungen bei Patienten induzieren kann (Capuron et al., 2001; Udina et al., 2012). Im Gegensatz zur Applikation eines einzelnen Zytokins kann die Gabe von Endotoxin (Lipopolysaccharid, LPS) eine komplexe Immunreaktion auslösen, wie sie natürlicherweise bei einer systemischen bakteriellen Infektion auftritt. Zur Auslösung dieser sogenannten Endotoxämie haben sich zwei verschiedene Modelle etabliert: die intravenöse (i.v.) Applikation von aufgereinigtem Endotoxin aus *Escherichia (E.) coli* oder *Salmonella abortus equi* sowie die intramuskuläre (i.m.) Gabe einer Typhus-Vakzine, die Endotoxin aus *Salmonella typhi* enthält (Bahador et al., 2007).

Lipopolysaccharide bestehen aus einem hydrophilen Lipid (Lipid A), einem Kern-Polysaccharid sowie einem O-Polysaccharid (O-Antigen) und sind typischer Bestandteil der äußeren Membran der Zellwand gramnegativer Bakterien (Wang et al., 2010). Lipopolysaccharid oder Endotoxin ist ein potenter Stimulus des Immunsystems über die Bindung an TLR-4 (Akira et al., 2001; Beutler, 2000; Janeway, 1992). Die Aktivierung von TLR-4 führt über einen MyD88-abhängigen Signalweg zur Aktivierung von NF- $\kappa$ b und somit zur Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$ , welche die weitere Immunantwort stimulieren (Akira et al., 2001; Beutler, 2000). Diese Immunantwort umfasst typischerweise einen Anstieg der Körpertemperatur, die Aktivierung der HPA-Achse sowie die Rekrutierung weiterer Zellen des Immunsystems (Bahador et al., 2007; Besedovsky et al., 1996). Kommt es im Rahmen einer Bakteriämie zu sehr hohen systemischen Konzentrationen, kann Endotoxin eine überschießende Immunantwort auslösen und so zu einer Sepsis bis hin zum septischen Schock führen (J. Cohen, 2002).

Inzwischen hat sich die Gabe von Endotoxin in niedriger Dosierung als ein experimentelles Krankheitsmodell zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Immunaktivierung und Änderungen von sozialem Verhalten und neurokognitiven Funktionen beim Menschen etabliert (Bahador et al., 2007; Schedlowski et al., 2014). Die i.v.-Applikation von LPS induziert eine systemische Entzündungsreaktion mit einem signifikanten Anstieg pro- und anti-inflammatorischer Zytokine, der Leukozytenzahl, der Körpertemperatur sowie des Plasmacortisols, wobei die stärkste Reaktion 1,5 bis 4 Stunden nach Applikation auftritt und dosisabhängige Unterschiede nachweisbar sind (Bahador et al., 2007; Grigoleit et al., 2011).

#### **1.4.1 Effekte auf Kognition und Verhalten**

Bisherige Studien zeigen, dass eine LPS-induzierte Entzündungsreaktion akute Auswirkungen auf Stimmung, neurokognitive Funktionen und neuronale Aktivitäten beim Menschen hat (Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014). Nach Impfung einer Typhoid-Vakzine kommt es zu einer signifikanten Verschlechterung der Stimmung, für die eine negative Korrelation zur systemischen IL-6 Konzentration dokumentiert wurde (Wright et al., 2005). Weitere Studien haben gezeigt, dass auch die i.v.-Gabe von Endotoxin in Abhängigkeit von Zytokin- und Cortisol-Spiegeln zu einer negativen Stimmung und zusätzlich zu einer erhöhten Zustandsangst führt (Grigoleit et al., 2011; Reichenberg et al., 2001).

Bezüglich der Wirkungen von Endotoxin auf neurokognitive Funktionen erbrachten Studien bislang inkonsistente Ergebnisse. So konnten nach i.v.-Gabe von LPS Verschlechterungen der Gedächtnisleistung (Reichenberg et al., 2001), teilweise auch Verbesserungen (O. Cohen et al., 2003), keine Veränderungen (Grigoleit et al., 2010) oder dosisabhängig in unterschiedlichen Teilbereichen Veränderungen festgestellt werden (Grigoleit et al., 2011). Einige dieser Studien konnten außerdem eine gesteigerte Aufmerksamkeit (van den Boogaard et al., 2010) bzw. schnellere Reaktionszeit (Grigoleit et al., 2011) unter höheren Dosierungen nachweisen, während andere Studien keine Veränderung der Aufmerksamkeit gezeigt haben (O. Cohen et al., 2003; Grigoleit et al., 2010; Reichenberg et al., 2001). Weitere Untersuchungen konnten dagegen übereinstimmend keinen signifikanten Effekt von Endotoxin auf exekutive Funktionen zeigen (Grigoleit et al., 2010; Reichenberg et al., 2001; van den Boogaard et al., 2010). Die gegensätzlichen Resultate bezüglich neurokognitiver Funktionen könnten durch die unterschiedliche Art und Dosis des verabreichten Endotoxins sowie durch die unterschiedlichen Testverfahren und Messzeitpunkte bedingt sein. Außerdem fehlen bislang weiterführende Untersuchungen zur Dosisabhängigkeit der gemessenen Effekte.

Funktionelle Magnetresonanztomographie- (functional magnetic resonance imaging, fMRI-) Untersuchungen konnten darüber hinaus zeigen, dass die klinischen Veränderungen nach Gabe von Endotoxin auch von messbaren Veränderungen neuronaler Aktivitäten in damit assoziierten Hirnregionen begleitet werden (Benson et al., 2015; Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014).



Zusätzlich zu einer Verschlechterung der Stimmung und Beeinflussung neurokognitiver Funktionen ruft Endotoxin beim Menschen auch weitere depressionsähnliche Symptome hervor, die Freudlosigkeit, geminderten Appetit, Erschöpfung und Müdigkeit umfassen (DellaGioia et al., 2010). Wie in Kapitel 1.1.2 „Physiologie und Pathologie“ bereits dargelegt stützen Studien die Hypothese, dass eine Immunaktivierung Bedeutung für die Pathophysiologie depressiver Störungen hat (Capuron et al., 2001; Dantzer et al., 2008; Pollak et al., 2002; Udina et al., 2012). Somit könnte die Gabe von Endotoxin zukünftig auch als experimentelles Modell zur besseren Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Immunsystem und depressiven Störungen dienen (DellaGioia et al., 2010).

#### **1.4.2 Effekte auf Schmerz Wahrnehmung**

Schmerz wird ebenfalls als eine Komponente des Sickness Behavior angesehen (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994). Die Auslösung einer systemischen Entzündungsreaktion durch Gabe von LPS könnte somit auch als Modell zur Untersuchung krankheitsinduzierter Schmerzen zur Anwendung kommen. Erste tierexperimentelle Studien konnten nach Gabe von LPS tatsächlich eine verstärkte Schmerz Wahrnehmung in verschiedenen Schmerzmodellen feststellen (Maier et al., 1993; Reeve et al., 2000; Wiertelak et al., 1994). Hierfür scheint die periphere Produktion pro-inflammatorischer Zytokine als erster Schritt innerhalb eines komplexen Schaltkreises verantwortlich zu sein (Watkins et al., 1994). Dieser Schaltkreis umfasst im Weiteren zentrale Mechanismen auf Ebene des Rückenmarks sowie höherer Zentren (Watkins et al., 1997; Watkins et al., 1994; Wiertelak et al., 1994). Siehe dazu auch Kapitel 1.3.4 „Schmerz als Komponente des Sickness Behavior“.

Während tierexperimentelle Studien zum besagten Thema schon relativ früh durchgeführt wurden, existierten unseren Wissens nach zum Zeitpunkt unserer Experimente nur zwei veröffentlichte Studien, die den Einfluss von LPS auf die Schmerz Wahrnehmung beim Menschen untersucht haben. Benson et al. (2012) führten eine doppelblinde, randomisierte cross-over Studie durch, in der sie bei gesunden männlichen Probanden die viszerale Schmerz sensitivität unter LPS- und Placebo-Bedingungen untersuchten. Dabei konnten sie nach LPS-Gabe in einer Dosierung von 0,4 Nanogramm pro Kilogramm Körpergewicht (ng/kg KG) reduzierte Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen für rektale Distensionen beobachten. Darüber hinaus wurden definierte rektale Distensionen niedriger Intensität nach Gabe von LPS als signifikant unangenehmer von den Probanden eingestuft. Die gemessenen Effekte

auf die Schmerzwahrnehmung waren dabei unabhängig von möglichen, zusätzlich hervorgerufenen Auswirkungen auf Stress und Angst. Weiterhin konnte für die erhobenen Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen eine Korrelation zu Plasmazytokinspiegeln nachgewiesen werden. Damit konnten Benson et al. (2012) erstmalig in einer humanen Studie einen Zusammenhang zwischen einer LPS-induzierten systemischen Immunaktivierung und einer erhöhten Schmerzempfindlichkeit für viszerale Schmerzreize zeigen.

Eine zweite Studie stammt von Hutchinson et al. (2013), die den Einfluss von LPS auf die Schmerzwahrnehmung nach einer intradermalen Injektion mit Capsaicin untersucht haben. Diese Studie wurde ebenfalls in einem kontrollierten, doppelblinden, randomisierten cross-over Design mit gesunden, männlichen Probanden durchgeführt, welche LPS in einer Dosierung von 0,4 ng/kg KG bzw. Placebo erhielten. Capsaicin ruft nach intradermaler Injektion eine umschriebene Hyperalgesie und Allodynie hervor. Nach vorheriger Gabe von LPS konnte eine signifikant verstärkte Hyperalgesie und Allodynie durch die intradermale Injektion von Capsaicin gegenüber Placebo gezeigt werden. Der stärkste Effekt zeigte sich 3,5 Stunden nach Injektion von LPS und auch hier konnte eine positive Korrelation mit gemessenen Werten von IL-6 festgestellt werden.

Insgesamt wiesen diese zwei Studien erstmalig auf einen Zusammenhang zwischen einer systemischen Immunreaktion und einer verstärkten Schmerzwahrnehmung beim Menschen hin. Jedoch bleiben die beobachteten Effekte vorläufig auf eine kleine Fallzahl untersuchter Probanden und lediglich auf zwei Modelle zur Erfassung der Schmerzwahrnehmung beim Menschen beschränkt, womit weiterführende Studien mit größeren Teilnehmerzahlen und der Untersuchung weiterer Schmerzmodalitäten erforderlich sind.

## **1.5 Herleitung der Fragestellung und Hypothesen**

Schmerz stellt ein häufiges Beschwerdebild im medizinischen Alltag dar (Breivik et al., 2006). Akuter Schmerz wird als physiologisch angesehen und dient dem Schutz des Organismus (Maier et al., 1992; Watkins et al., 2000; Woolf, 2010). Chronischer Schmerz hingegen tritt ohne adäquaten Stimulus auf und erfüllt keine Schutzfunktion mehr (Woolf, 2010). Als eine Ursache werden hierbei Fehlregulationen des Immunsystems diskutiert,

welche Einfluss auf die neuronale Verarbeitung von Schmerzreizen nehmen können (Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012; Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2005; Willemen et al., 2014). Im Rahmen von Krankheiten und der damit einhergehenden Immunaktivierung kommt es zu einem vorübergehenden Auftreten von Verhaltensänderungen, welche dem Schutz des Organismus dienen sollen und als Sickness Behavior bezeichnet werden (Hart, 1988; Kent et al., 1992). Als eine dieser adaptiven Verhaltensänderungen wird auch eine verstärkte Schmerzwahrnehmung angesehen (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994). Da das Immunsystem sowohl für die Entstehung akuter als auch chronischer Schmerzen eine Rolle zu spielen scheint, war es das Ziel unserer Studie, diesen Zusammenhang in einem experimentellen Modell beim Menschen näher zu untersuchen. Bisher existieren nur wenige Humanstudien in diesem Bereich, jedoch konnten diese auf eine erhöhte Schmerzwahrnehmung während einer akuten Immunaktivierung hinweisen (Benson et al., 2012; Hutchinson et al., 2013). Da Benson et al. (2012) in einer früheren Studie bereits eine erhöhte viszerale Schmerzempfindlichkeit nach Gabe von LPS nachweisen konnten, war es das Ziel unserer Folgestudie diesen Zusammenhang für somatosensorische Schmerzreize zu untersuchen. Dabei kamen zwei unterschiedliche, klinisch relevante Schmerzmodelle zum Einsatz: Zum einen wurden die Druckschmerzschwellen für unterschiedliche Muskelgruppen mittels Algometrie erfasst, welche in der klinischen und experimentellen Untersuchung muskuloskelettaler Schmerzen Anwendung findet (Graven-Nielsen et al., 2002; Lacourt et al., 2012; Rolke et al., 2006). Zum anderen wurde die Empfindlichkeit für kutane Reize mittels Pin Prick Stimulatoren und Pinsel getestet, welche der Erfassung mechanischer Hyperalgesie und Allodynie dienen (Baumgartner et al., 2002; Rolke et al., 2006). Im Einzelnen sollten folgende Hypothesen durch die vorliegende Studie überprüft werden:

1. Die Gabe von Endotoxin stellt beim Menschen ein etabliertes Modell zur Induktion einer systemischen Entzündungsreaktion dar (Bahador et al., 2007; Schedlowski et al., 2014). Diese geht mit Verhaltensänderungen im Sinne eines Sickness Behavior einher (DellaGioia et al., 2010; Grigoleit et al., 2011; Kullmann et al., 2011; Reichenberg et al., 2001; Schedlowski et al., 2014). Da Schmerz ebenfalls als eine Komponente des Sickness Behavior angesehen wird (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994),

entschieden wir uns, die Schmerzwahrnehmung beim Menschen in einem experimentellen Krankheitsmodell durch die Gabe von Endotoxin zu untersuchen.

Dabei lautete die Hypothese, dass eine systemische Entzündungsreaktion, ausgelöst durch die Applikation von Endotoxin, die somatosensorische Schmerzwahrnehmung beim Menschen verstärkt. Im Einzelnen erwarteten wir eine signifikante Reduktion der Druckschmerzschwellen für die untersuchten Muskelgruppen in der Algometrie sowie eine verstärkt schmerzhaftes Wahrnehmung der mechanischen Reize durch die Pin Prick Stimulatoren und den Pinsel.

2. In früheren Studien kam es nach Gabe von Endotoxin zu einer vorübergehenden systemischen Entzündungsreaktion charakterisiert durch einen Anstieg von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen, der Leukozyten und des Plasmacortisols (Bahador et al., 2007; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010; Reichenberg et al., 2001; Schedlowski et al., 2014; van den Boogaard et al., 2010). Dabei ließen sich im zeitlichen Verlauf Höchstwerte zwischen 1,5 und 4 Stunden und eine Normalisierung der Werte innerhalb von 5 bis 6 Stunden nach Injektion beobachten. Vor diesem Hintergrund untersuchten wir in der vorliegenden Studie die somatosensorische Schmerzwahrnehmung zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Injektion von Endotoxin. Dabei lautete die Hypothese, dass die Effekte von Endotoxin auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung eine Zeitabhängigkeit aufweisen.
3. In früheren Studien wurden bereits Dosisunterschiede in der Wirkung von Endotoxin auf Befindlichkeit und neurokognitive Funktionen beschrieben (Grigoleit et al., 2011). Somit entschieden wir uns, die Effekte von LPS auf die Schmerzwahrnehmung in einem dreiarmligen Studienmodell in einer niedrigen (0,4 ng/kg KG) und einer höheren Dosis (0,8 ng/kg KG) LPS im Vergleich zu Placebo zu untersuchen. Dabei lautete die Hypothese, dass die Effekte von Endotoxin auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung eine Dosisabhängigkeit aufweisen und höhere Konzentrationen eine größere Zunahme der Schmerzwahrnehmung hervorrufen.

4. Aus klinischen und experimentellen Untersuchungen ist bekannt, dass negative Emotionen auch zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung führen können (Eccleston, 2001; Wiech et al., 2009). Bisherige Studien haben gezeigt, dass es nach Gabe von Endotoxin zu einer signifikanten Zunahme der Zustandsangst sowie zu einer Verschlechterung der Stimmung kommt (Grigoleit et al., 2011; Kullmann et al., 2011; Reichenberg et al., 2001; Schedlowski et al., 2014). Um einen potenziellen Effekt negativer Emotionen auf die Schmerzwahrnehmung nach Gabe von Endotoxin zu erfassen, haben wir in unserer Studie zeitgleich zu den Schmerztestungen psychologische Parameter mittels etablierter Fragebögen erfasst.

Dabei lautete die Hypothese, dass es nach Gabe von Endotoxin zu einer signifikanten Verschlechterung der Stimmung und einer Zunahme der Zustandsangst kommt. Explorativ sollte in Korrelationsanalysen untersucht werden, ob eine veränderte somatosensorische Schmerzsensitivität nach LPS-Gabe im Zusammenhang mit LPS-induzierten Veränderungen der Stimmung oder Zustandsangst steht. Hierbei wurde erwartet, dass eine Veränderung der Schmerzsensitivität nach LPS-Gabe sowohl im Zusammenhang mit den Konzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine als auch im Zusammenhang mit negativen Emotionen steht.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Ethikvotum**

Für die Durchführung der Studie lag ein positives Ethikvotum (Nummer 09-4271) der Ethikkommission des Universitätsklinikums Essen vor. Darüber hinaus wurde eine Probandenversicherung abgeschlossen. Vor Beginn der Studie erfolgte in einem persönlichen Gespräch die Aufklärung über die Studie und die damit verbundenen Risiken sowie die Aushändigung einer schriftlichen Information an alle Probanden. Die Aufnahme in die Studie erfolgte nach schriftlichem Einverständnis. Für die Teilnahme an der Studie erhielten die Probanden eine Aufwandsentschädigung in Höhe von 200 Euro. Die Studie wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, BE 5173/2-1) und ein Stipendium der internen Forschungsförderung Essen (IFORES) für Herrn Dr. med. A. Wegner gefördert.

### **2.2 Probanden**

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über öffentliche Aushänge durch das Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie der Universität Duisburg-Essen. In die Studie wurden 59 gesunde, männliche Probanden zwischen 18 und 45 Jahren (Mittleres Alter:  $27,6 \pm 4,0$  Jahre) eingeschlossen, welche in eine der Wirkstoffgruppen (0,4 oder 0,8 ng/kg KG LPS) oder in die Kontrollgruppe (Kochsalzlösung, NaCl) randomisiert wurden.

Vor dem Einschluss in die Studie wurden alle Probanden einer ärztlichen Untersuchung unterzogen, um wesentliche physische oder psychische Vorerkrankungen auszuschließen. Das Auswahlverfahren erfolgte wie bereits in mehreren Vorstudien beschrieben (Benson et al., 2012; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010). Dieses umfasste ein persönliches Gespräch, die Beantwortung mehrerer standardisierter Fragebögen, eine körperliche Untersuchung sowie eine Blutuntersuchung (Blutbild, C-reaktives Protein [CRP], Gerinnungsparameter, Nierenretentionswerte, Serumelektrolyte, Leberenzyme). Der Gesundheitszustand der Probanden wurde mittels eines strukturierten Interviews erfasst.

Zum Ausschluss klinisch relevanter Angst- und Depressionssymptome wurde die deutsche Version der Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS, s.u.) eingesetzt.

Als Ausschlusskriterien galten eine regelmäßige Einnahme von Medikamenten, Rauchen, regelmäßiger Alkoholkonsum ( $> 4$  Getränke/Woche), BMI (body mass index)  $< 18$  oder  $\geq 29$  kg/m<sup>2</sup>, pathologische Befunde in der oben genannten Blutuntersuchung sowie Vorerkrankungen oder Anzeichen auf Erkrankungen des kardiovaskulären Systems, des gastrointestinalen Systems einschließlich Lebererkrankungen, des Immunsystems, des Endokrinsystems, der Nieren oder des Bluts sowie obstruktive Atemwegserkrankungen oder Schmerzerkrankungen. Weiterhin ausgeschlossen wurden Probanden mit psychiatrischer Vorerkrankung oder Suchterkrankung, auffälligen Werten in der HADS (Summenwert  $\geq 11$  Punkte) und Probanden nach Teilnahme an einer Blutspende oder einer klinischen Studie mit einer Abnahme von mehr als 200 ml Blut in den letzten 3 Monaten. Alle Probanden wurden angehalten, 48 Stunden vor Versuchsbeginn keine anstrengenden körperlichen Aktivitäten durchzuführen oder Medikamente, insbesondere Analgetika, einzunehmen. Bei Probanden, die anamnestisch einen Infekt in den letzten 3 Wochen angaben, wurde ein Zeitabstand von 3 Wochen nach Abklingen der Symptome bis zum Versuchsbeginn eingehalten. Zur Kontrolle eines entzündlichen Prozesses zum Versuchszeitpunkt erfolgte 48 Stunden vor Versuchsbeginn bei allen Probanden eine erneute Kontrolle des CRP-Wertes.

Als Sicherheitsmaßnahme erfolgte 6 Stunden nach Injektion eine erneute klinische Untersuchung. Die Probanden wurden erst nach Normalisierung des Blutbilds und bei unauffälligem Untersuchungsbefund entlassen. Vorab wurde die Anweisung erteilt, am Versuchstag kein Kraftfahrzeug zu führen. Alle Probanden wurden 24 Stunden nach der Injektion erneut einer Laboruntersuchung (Parameter s.o.) unterzogen. Bei Probanden, die LPS erhalten hatten, wurden 7 Tage nach der Studie eine weitere Kontrolle der beim Studieneinschluss erfassten Laborparameter (s.o.) sowie eine ärztliche Untersuchung durchgeführt. Die Kontrolluntersuchungen waren bei allen Probanden unauffällig.

Nach Voruntersuchung und Randomisierung unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant hinsichtlich soziodemographischer und psychologischer Daten (siehe Tabelle 1, Kapitel 3.1 „Probanden“). Die Mittelwerte der HADS-Subskalen Angst ( $2,9 \pm 0,3$ ) und Depression ( $1,7 \pm 0,2$ ) lagen niedrig und innerhalb des Normbereichs. Aufgrund abnormer Zytokinwerte bzw. -antworten mussten 2 Probanden nachträglich aus der Studie

ausgeschlossen werden. Somit ergaben sich Gruppengrößen von  $N = 19$  für die höhere LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG LPS),  $N = 20$  für die niedrige Dosis (0,4 ng/kg KG LPS) und  $N = 18$  für die Placebo-Gruppe (NaCl).

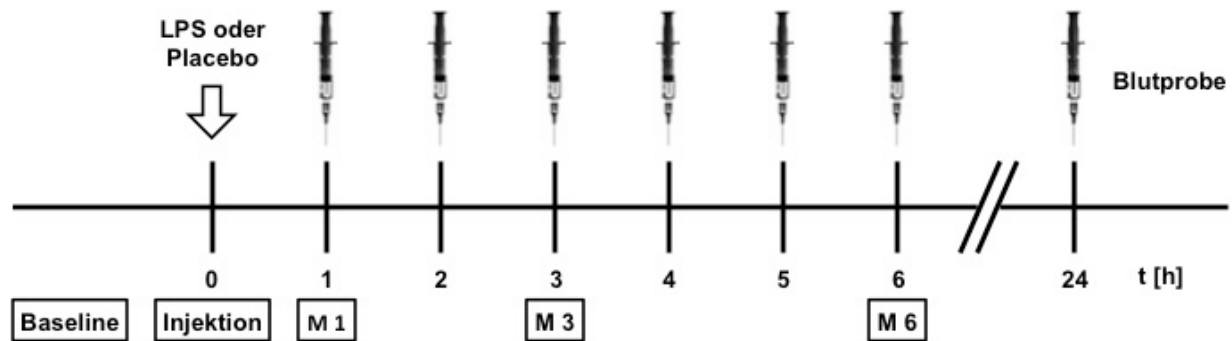
### 2.3 Studiendesign

Bei der durchgeführten Studie handelt es sich um eine dreiarmlige, randomisierte, Placebo- und Basalwert-kontrollierte, doppelblinde Studie. Zur experimentellen Induktion einer systemischen Immunreaktion in den Verum-Gruppen wurde aus E.coli-Stämmen aufgereinigtes Lipopolysaccharid (Referenz Standard Endotoxin, Charge G3E069, United States Pharmacopeia, Rockville, Maryland, USA) intravenös appliziert. Die Aufbereitung erfolgte wie bereits in Vorstudien beschrieben (Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010). Vor Anwendung erfolgte eine Sicherheitsüberprüfung auf Konzentration und Reinheit durch die Sektion 1.3 „Bakteriologische Sicherheit“ des Bundesinstituts für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel (Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Deutschland).

Zu Beginn des Versuchs erfolgte zunächst eine Basalwert-Erfassung von Vitalparametern (Temperatur, Blutdruck und Herzfrequenz), Blutwerten (Blutbild, Cortisol, Zytokine), psychologischen Parametern und der somatosensorischen Schmerzempfindung mittels zweier etablierter Testverfahren (Algometrie und Pin Prick, s.u.). Erst im Anschluss an die Erfassung dieser Basalwerte erfolgte die Randomisierung der Probanden in einen der drei Studienarme. Es gab eine Placebo-Gruppe ( $N = 18$ ) sowie zwei Verum-Gruppen mit einer Dosierung von 0,4 ng/kg KG ( $N = 20$ ) bzw. 0,8 ng/kg KG LPS ( $N = 19$ ). Die Placebo-Gruppe erhielt eine Injektion von NaCl mit vergleichbarem Volumen.

Im Laufe des Versuchstages erfolgten insgesamt 7 Blutentnahmen zu verschiedenen Zeitpunkten mit anschließender Messung der Vitalparameter. Zusätzlich erhielten die Probanden zu diesen 7 Zeitpunkten Fragebögen zur Erfassung der Zustandsangst (State-Trait-Angstinventar, State Version [STAI-S], s.u.) An 3 Zeitpunkten wurde außerdem die aktuelle Befindlichkeit mithilfe des Mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogens (MDBF, s.u.) erfasst. Die somatosensorische Schmerzempfindlichkeit wurde basal sowie 1, 3 und 6 Stunden (h) post injectionem (p.i.) mittels der weiter unten im Detail beschriebenen Testverfahren (Algometrie und Pin Prick) untersucht.





**Abbildung 3: Studiendesign.** In dieser Placebo- und Basalwert-kontrollierten, doppelblinden Studie wurden 59 gesunde männliche Probanden in 3 Gruppen randomisiert: N = 18 Placebo (Kochsalzlösung), N = 20 niedrige LPS-Dosis (0,4 ng/kg KG) und N = 19 höhere LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG). Vor Injektion erfolgte eine Basalwertmessung („Baseline“) von Vitalparametern, Blutwerten, psychologischen Parametern (STAI-S, MDBF) und der somatosensorischen Schmerzempfindlichkeit (Algometrie, Pin Prick). Zum Zeitpunkt  $t = 0$  erfolgte die Injektion („Injektion“) von entweder Placebo (NaCl) oder LPS (0,4 bzw. 0,8 ng/kg KG). Zu den Zeitpunkten  $t = 1, 2, 3, 4, 6$  und 24 h p.i. erfolgten weitere Messungen von Vitalparametern, Blutwerten und Zustandsangst (STAI-S). Zu den Zeitpunkten  $t = 1, 3$  und 6 h p.i. wurde die aktuelle Befindlichkeit mittels MDBF erfasst. Die Messung der somatosensorischen Schmerzempfindlichkeit wurde 1, 3, und 6 h p.i. wiederholt („M1, M3 und M6“).

## 2.4 Studienablauf

Nach erfolgter Voruntersuchung und Erfüllung der Einschlusskriterien wurde die Studie an einem Versuchstag von 7,5 Stunden durchgeführt. Die Versuche fanden in den Räumen des Instituts für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie der Universität Duisburg-Essen statt. Die Probanden wurden jeweils eine Stunde vor der geplanten Injektion einbestellt. Vor Versuchsbeginn erfolgte das Legen einer peripheren Venenverweilkanüle im Bereich der Ellenbeuge oder des Handrückens, über welche die Applikation von Endotoxin bzw. Placebo sowie die wiederholten Blutentnahmen durchgeführt wurden. Nach einer 10-minütigen Ruhepause erfolgten dann im Rahmen der Basalwert-Messung die erste Blutentnahme und Messung der Vitalparameter sowie die Erfassung der Zustandsangst mittels STAI-S und der psychischen Befindlichkeit mittels MDBF. Im Anschluss wurden die Basalwerte für die somatosensorische Schmerzempfindlichkeit erhoben. Hierfür kamen in einer randomisierten Reihenfolge die Algometrie zur Erfassung der muskuloskelettalen

Schmerzsensitivität über Druckschmerzschwellen sowie Pin Prick Nadeln und Pinsel zur Erfassung der mechanischen Schmerzsensitivität zum Einsatz. Die Anwendung erfolgte dabei wie im Abschnitt 2.5 (s.u.) detailliert beschrieben.

Nach der Basalwert-Messung erfolgte die Randomisierung in eine der drei Gruppen und im Anschluss die Injektion von Placebo (NaCl) oder LPS (0,4 ng /kg KG bzw. 0,8 ng/kg KG). Die Probanden waren bis zum Abschluss der Studie für die Untersuchungsbedingung (LPS vs. Placebo) verblindet. Die Injektion fand jeweils zwischen 09:00 und 11:00 Uhr statt. Im Verlauf des Versuchstages wurde zu den Zeitpunkten 1, 2, 3, 4 und 6 h p.i. Blut entnommen und die Vitalparameter erfasst. Zu jeder Blutentnahme wurden die Probanden gebeten, einen STAI-S-Fragebogen auszufüllen. Zu den Zeitpunkten 3 und 6 h p.i. erhielten die Probanden zusätzlich einen MDBF-Fragebogen. Zum Zeitpunkt 6 h p.i. wurden somatische Symptome nach Gabe von LPS mithilfe einer modifizierten Version eines validierten Fragebogens (Generic Assessment of Side Effects, GASE, s.u.) erfragt. Die Messungen der somatosensorischen Schmerzempfindlichkeit erfolgten mittels Algometrie und Pin Prick zu den Zeitpunkten 1, 3 und 6 h p.i.. Die Untersucherin, welche die Schmerzexperimente durchführte, war während des gesamten Versuchs für die Untersuchungsbedingung (LPS vs. Placebo) verblindet sowie nicht in die Messung der Vitalparameter involviert.

Nach der letzten Messung (6 h p.i.) konnten die Probanden nach Normalisierung des Blutbilds und bei unauffälligem Untersuchungsbefund nach Hause entlassen werden. 24 Stunden nach Versuchsbeginn stellten sich die Probanden zur erneuten Untersuchung und Blutentnahme vor. Zusätzlich erfolgte eine erneute Messung der Vitalparameter und die Durchführung eines STAI-S- und GASE-Fragebogens. Im Anschluss wurden die Probanden entblindet und ihnen ihre Untersuchungsbedingung mitgeteilt. Bei Probanden, die LPS erhalten hatten, wurden 7 Tage nach Injektion zur Sicherheit eine erneute Laborkontrolle sowie eine klinische Untersuchung durchgeführt. Diese war bei allen Probanden unauffällig.

## **2.5 Messparameter**

### **2.5.1 Schmerzwahrnehmung**

Zur experimentellen Erfassung der somatosensorischen Schmerzwahrnehmung kamen verschiedene Modelle zum Einsatz. Hierfür wurden modifizierte Untertests aus der

sensorischen quantitativen Testung (QST-Protokoll) ausgewählt, einer standardisierten Testbatterie, welche Rolke et al. (2006) ursprünglich zur klinischen Erfassung neuropathischer Schmerzen entwickelten. Als Stimuli wurden Druckschmerz mittels Algometer (zur Objektivierung einer muskuloskelettalen Hyperalgesie), kutaner Schmerz mittels Pin Prick Nadeln (zur Objektivierung einer mechanischen Hyperalgesie) und leichte Berührung mittels Pinsel (zur Objektivierung einer mechanischen Allodynie) eingesetzt. Auf weitere Testungen aus dem QST-Protokoll musste aus Zeitgründen verzichtet werden, um so wiederholte Messungen im Verlauf des Versuchstages zu ermöglichen. Am Versuchstag wurden insgesamt 4 Messdurchgänge der somatosensorischen Schmerzwahrnehmung durchgeführt. Dabei erfolgte die erste Messung vor Injektion (Baseline), die weiteren zu den Zeitpunkten 1, 3 und 6 Stunden nach Injektion (M 1, M 3 und M 6). Zu jedem der Messzeitpunkte erfolgten die Schmerztestungen in einer balancierten Reihenfolge, um Reihenfolgeeffekte bei den Messungen auszuschließen. Die Messzeitpunkte selbst wurden anhand des aus Vorstudien bekannten Verlaufs der Immunantwort festgelegt (Benson et al., 2012; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010). Die Messzeitpunkte M 1 und M 3 fallen dabei in den Zeitraum der stärksten Immunantwort (für TNF- $\alpha$  1-2 h p.i., für IL-6 und IL-10 2-3 h p.i.). Der Messzeitpunkt M 6 entspricht hingegen der zu erwartenden Normalisierung der Zytokinwerte.

#### Druckschmerzschwellen (Algometrie)

Zur Erfassung der muskuloskelettalen Schmerzwahrnehmung wurden die Druckschmerzschwellen verschiedener Muskelgruppen zu wiederholten Messzeitpunkten gemessen. Druckschmerzschwellen stellen ein etabliertes Verfahren in der klinischen und experimentellen Untersuchung muskuloskelettaler Schmerzen dar (Graven-Nielsen et al., 2002; Lacourt et al., 2012; Rolke et al., 2006). Sie spiegeln die Tiefensensibilität für somatosensorischen Schmerz wider und werden sowohl über nozizeptive A $\delta$ - als auch C-Fasern geleitet (Beissner et al., 2010; Graven-Nielsen et al., 2002; Rolke et al., 2006). Zur Erfassung der Druckschmerzschwellen wurde in dieser Studie ein Algometer (Modell FPX, Wagner Instruments, Greenwich, USA) verwendet. Das Algometer verfügt über eine Gummispitze von 1 cm<sup>2</sup> Fläche, welche direkt auf die Haut aufgesetzt wird. Hierüber wird zunehmend Druck appliziert und der geringste Wert erfasst, der im Muskelgewebe als schmerzhaft empfunden wird. In unserer Studie wurde dieser Druck in *kilogram force* pro

Quadratcentimeter ( $\text{kgf}/\text{cm}^2$ ) gemessen. Es erfolgten Messungen am Musculus (M.) erector spinae (Höhe Lendenwirbelkörper [LWK] 3), am M. gastrocnemius (Caput mediale), am M. deltoideus und am M. supraspinatus. Diese Punkte hatten in einer nicht publizierten Pilotstudie eine erhöhte Schmerzsensitivität infolge einer LPS-induzierten Immunreaktion gezeigt. Gemessen wurde jeweils am Punkt der kräftigsten Ausbildung des Muskelbauches und am partiell entkleideten Probanden. Alle Messungen führte eine geübte Untersucherin durch, die für die Untersuchungsbedingung (LPS vs. Placebo) verblindet war. Für die Erfassung der Druckschmerzschwellen übte die Untersucherin mit dem Algometer zunehmenden Druck auf die oben genannten Muskelpartien aus. Die Druckzunahme erfolgte mit  $1 \text{ kgf}/\text{cm}^2$  pro Sekunde, wobei das Gerät Druckänderungen  $> 0,02 \text{ kgf}/\text{cm}^2$  erfassen kann. Bei der Druckausübung wurde darauf geachtet, dass die Kraftausübung senkrecht zum Muskel erfolgte und der entsprechende Muskel während der Untersuchung entspannt war. Die Druckschmerzschwelle wurde als der Druck (in  $\text{kgf}/\text{cm}^2$ ) definiert, bei dem der Proband erstmalig eine schmerzhafte Empfindung angab. Während der Messung war die Druckanzeige jederzeit abgewandt und der Proband erhielt keine Auskunft über die erhobenen Werte.

Vor der ersten Erfassung der Basalwerte erfolgte eine Reihe von 4 Messungen an der Handinnenfläche, um den Probanden eine Gewöhnung an das Verfahren zu ermöglichen. Bei den weiteren Durchgängen im Verlauf des Tages wurde auf die Messung an der Handinnenfläche verzichtet, da den Probanden zu diesem Zeitpunkt das Verfahren hinreichend bekannt war. Vor der ersten Durchführung erfolgte an sämtlichen Muskelgruppen eine Markierung, um sicherzustellen, dass im Verlauf des Versuchstages jeweils an gleichen Punkten gemessen wird. Die Messung an Rücken und Wade erfolgte in Bauchlage auf einer Untersuchungsfläche. Um die Entspannung der zu messenden Muskelgruppen zu gewährleisten, wurden die Arme nach oben und die Füße über das Ende der Liege hinaus gelagert. Das Aufsuchen des Messpunktes am M. erector spinae erfolgte zunächst durch Aufsuchen des Dornfortsatzes von LWK 4 auf gleicher Höhe mit den tastbaren Beckenkämmen. Im Anschluss wurde der nächsthöherliegende Dornfortsatz von LWK 3 ertastet und seitlich der Wirbelsäule die kräftigste Ausdehnung der paravertebralen Muskulatur markiert. Am M. gastrocnemius wurde der Punkt für die Druckmessung am medialen Kopf des Muskels anderthalb Handbreiten unter dem Kniegelenkspalt markiert. Die Messung an Schulter und Nacken erfolgte im Sitzen auf einem stabilen Stuhl mit seitlich

herabhängenden Armen. Zum Auffinden des Messpunktes am M. deltoideus wurde der Proband gebeten, den Arm zu abduzieren, um so die Stelle der kräftigsten Ausbildung markieren zu können. Für den M. supraspinatus wurde dorsalseitig die Spina scapulae getastet und ausgehend von ihrer Mitte ein Punkt 1-1,5 cm kranial davon markiert.

Zu jedem Messzeitpunkt wurden die Druckschmerzschwellen der vier ausgewählten Muskelgruppen bilateral und in einer festgelegten Reihenfolge erfasst: Jeweils links und rechts am unteren Rücken (M. erector spinae), an der Wade (M. gastrocnemius), an der Schulter (M. deltoideus) und am Nacken (M. supraspinatus). Pro Muskel und Seite erfolgten je 4 Messungen in einem Zeitabstand von etwa 40 s zwischen den Messungen. Der erste Messwert wurde jeweils für die statistische Auswertung nicht berücksichtigt, da sich in der ersten Messung gemäß Lacourt et al. (2012) einheitlich höhere Werte für die Druckschmerzschwellen als in den nachfolgenden Messungen ergeben. Werte über  $20 \text{ kgf/cm}^2$  wurden aus der Statistik ausgeschlossen, da es hierüber hinaus zu ungenauen Messwerten kommt (Rolke et al., 2006). Aus den Werten der zweiten bis vierten Messung beider Seiten wurde, den Empfehlungen von Lacourt et al. (2012) folgend, ein Gesamt-Mittelwert für die jeweilige Muskelgruppe errechnet, welcher für die weiteren statistischen Analysen verwendet wurde.

#### Mechanische Schmerzsensitivität (Pin Prick, Pinsel)

Zur Testung der mechanischen Schmerzsensitivität wurden punktuelle mechanische Reize einer definierten Intensität auf dem Handrücken appliziert. Die Testung erfolgte in einer balancierten Reihenfolge vor oder nach der Algometrie. Als Instrument wurden Pin Prick Stimulatoren verwendet (MRC Systems, Heidelberg, Deutschland), welche ein aus der Erforschung neuropathischer Schmerzen bekanntes Modell zur klinischen Schmerzerfassung darstellen (Baumgartner et al., 2002; Rolke et al., 2006). Die Pin Prick Stimulatoren besitzen eine stumpfe Nadel ( $0,2 \text{ mm}^2$ ), welche über ein federndes Gewicht definierten Druck auf die Haut ausübt. Über diesen punktuellen Reiz wird die mechanische Schmerzsensitivität erfasst, welche überwiegend durch nozizeptive A $\delta$ -Fasern vermittelt wird (Baumgartner et al., 2002; Beissner et al., 2010; Rolke et al., 2006). Für die Studie wurden Stimulatoren der Stärken 64, 128, 256 und 512 mN verwendet. Wie bei Rolke et al. (2006) und Baumgartner et al. (2002) beschrieben kam zusätzlich ein leichtes Bestreichen der Haut (circa 1-2 cm) mit einem Pinsel (200–400 mN) zum Einsatz, was als Modell zur Erfassung mechanischer Allodynie

dient. Diese Art der Schmerzwahrnehmung wird im Gegensatz zur Hyperalgesie über mechanische A $\beta$ -Fasern vermittelt (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011).

Alle Messungen mit dem Pin Prick führte dieselbe Untersucherin wie bei der Algometrie durch. Für die Messung wurde der Proband gebeten, bei abgewandten Oberkörper die dominante Hand flach auf einen Tisch zu legen. Für die Testung wurde ein Areal von etwa 1 cm<sup>2</sup> auf dem Handrücken zwischen den Mittelhandknochen I und II ausgewählt. Mit den Stimulatoren wurde im definierten Areal jeweils ein Reiz von etwa 2 s Dauer appliziert und der Proband im Anschluss gebeten, den Reiz anhand einer Numerischen Rating-Skala (NRS) von 0-10 zu bewerten. Dabei wurde ein nicht schmerzhafter Reiz als 0 definiert. Für jeden als schmerzhaft empfundenen Reiz sollte ein Wert zwischen 1 und 10 vergeben werden, wobei 1 als minimaler Schmerz und 10 als maximal unerträglicher Schmerz definiert wurden. Zusätzlich wurde durch Bestreichen mit dem Pinsel eine leichte Berührung der Haut erzeugt, welche der Proband ebenfalls auf der Schmerzskala von 0-10 bewerten sollte.

Zur Durchführung der Messung wurde ein Protokoll erstellt, in dem jeder der Stimulatoren und der Pinsel in einer pseudo-randomisierten Reihenfolge jeweils 5mal zum Einsatz kamen. Die Reize wurden mit einem Zwischenintervall von jeweils 10 s appliziert, in dem die Schmerzbewertung stattfand. Um eine Normalverteilung zu erhalten, erfolgte eine logarithmische Transformation der erhobenen Werte wie zuvor durch Baumgartner et al. (2002) beschrieben, wobei zu jedem Messwert eine Konstante von 0,1 addiert wurde, um das Verlorengelien von Nullwerten beim Logarithmieren zu vermeiden (Baumgartner et al., 2002). Für die statistische Berechnung wurde gemäß Rolke et al. (2006) das geometrische Mittel aus allen numerischen Bewertungen der einzelnen Pin Prick Reize gebildet.

### **2.5.2 Fragebögen**

Im Rahmen der Studie kamen verschiedene Fragebögen sowohl in der Voruntersuchung als auch während des Versuchstages zum Einsatz. Vor Einschluss in die Studie erhielten alle Probanden die deutsche Version der HADS (s.u.), welche als Screening-Test für depressive und ängstliche Symptome etabliert ist (Herrmann-Lingen et al., 2011). Weiterhin wurden soziodemographische Variablen anhand eines selbst-konstruierten Fragenbogens erfasst.

Während des Versuchstages erhielten die Probanden wiederholt Fragebögen zur Erfassung aktueller psychologischer Parameter. Als Maß für die Zustandsangst wurden die

Probanden gebeten, direkt im Anschluss an jede Blutentnahme einen STAI-S Fragebogen (s.u.) auszufüllen. Zu drei Messzeitpunkten erhielten die Probanden zusätzlich einen MDBF-Fragebogen (s.u.) zur Erfassung der aktuellen Befindlichkeit. Dieser wurde nach dem STAI-S und vor der Schmerztestung ausgehändigt. Zum Zeitpunkt 6 Stunden nach Injektion erhielten alle Probanden einen GASE-Fragenbogen (s.u.) zur Erfassung möglicher somatischer Symptome nach stattgehabter Injektion (LPS oder Placebo). Zusammen mit der Blutentnahme 24 Stunden nach Injektion wurden erneut ein STAI-S und ein GASE durchgeführt.

#### Hospital anxiety depression scale (HADS)

Zur Erfassung klinisch relevanter Angst und Depression wurde die deutsche Version der HADS (Herrmann-Lingen et al., 2011) im Rahmen der Voruntersuchung eingesetzt. Der Test wurde ursprünglich zur Beurteilung von ängstlichen und depressiven Symptomen bei somatischen Krankheitsbildern entwickelt, kann aber auch als Screeningverfahren eingesetzt werden. Der Test besteht aus zwei Subskalen für Angst und Depression mit je 7 Items. Erfragt werden Symptome der letzten 7 Tage anhand von thematischen Aussagen. Dabei soll jede der Aussagen auf einer vierstufigen Likert-Skala von 0-3 in Bezug auf ihr Zutreffen bewertet werden, wobei jedem Nominalwert eine verbale Aussage zugeordnet ist. Der Test kann somit für jede Subskala Werte zwischen 0 und 21 annehmen, wobei höhere Werte eine größere Ausprägung von Angst bzw. Depression abbilden. Die Auswertung der beiden Subskalen erfolgt separat voneinander. Gesamtwerte von 0-7 je Subskala werden als unauffällig betrachtet; Werte zwischen 8-10 bedeuten milde, Werte größer 10 klinisch relevante ängstliche bzw. depressive Symptome. Ein Wert größer 10 in einer der beiden Subskalen galt als Ausschlusskriterium für die Teilnahme an der Studie.

#### State-Trait Angstinventar (STAI)

Beim State-Trait Angstinventar handelt es sich um einen etablierten Fragebogen zur Abbildung von Angstsymptomen (Laux et al., 1981). Der Test besteht aus zwei Unterformen zur Erfassung der Zustandsangst „STAI-S“ (State) und der habituellen Angst „STAI-T“ (Trait), welche unabhängig voneinander geprüft werden können. Während des Versuchstages erhielten die Probanden die deutsche Version des STAI-S (Laux et al., 1981) zu verschiedenen Zeitpunkten. Beim STAI-S werden 20 Items, bezogen auf den aktuellen

Angstzustand, auf einer vierstufigen Likertskala mit den Abstufungen „überhaupt nicht“ (1), „ein wenig“ (2), „ziemlich“ (3) und „sehr“ (4) bewertet. Von den 20 Items sind jeweils 10 negativ und 10 positiv formuliert. Zur Auswertung des Tests wird die Gesamtsumme aus den Zahlenwerten der einzelnen Abstufungen gebildet. Dabei werden die positiv formulierten Items invers gewertet. Der Test kann somit Punktwerte zwischen 20 und 80 annehmen, wobei höhere Werte eine größere Zustandsangst abbilden.

#### Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)

Der mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen dient der Erfassung des momentanen Stimmungszustandes (Steyer et al., 1997). Dabei unterteilt der Test in die drei bipolaren Dimensionen „gute/schlechte Stimmung“, „Wachheit/Müdigkeit“ und „Ruhe/Unruhe“. Die Langform des Tests enthält 24 Items und kann in zwei Kurzformen zu je 12 Items unterteilt werden. Im Rahmen unserer Studie erhielten die Probanden die Kurzform A. Diese Version enthält je 4 Items pro Dimension, von denen jeweils 2 positiv und 2 negativ formuliert sind. Die Bewertung der Items erfolgt anhand einer fünfstufigen Skala mit Werten von 1 („überhaupt nicht“) bis 5 („sehr“), wobei den Werten 2 bis 4 keine verbale Beschreibung zugeordnet ist. Die Auswertung des Tests erfolgt gesondert für die drei Dimensionen. Für jede Dimension wird eine Gesamtsumme aus der Bewertung der zugehörigen Items erstellt. Dabei werden die negativ formulierten Items invers gewertet. Der Test kann somit für jede Dimension Punktwerte zwischen 4 und 20 annehmen. Dabei stehen hohe Werte für eine stärkere Ausprägung der positiven Ausrichtung der jeweiligen Dimension (gute Stimmung, Wachheit und Ruhe).

#### Generic Assessment of Side Effects (GASE)

Zu den Zeitpunkten 6 und 24 Stunden nach Injektion von Placebo bzw. LPS erhielten alle Probanden eine modifizierte Version des validierten GASE-Fragebogens (Generic Assessment of Side Effects) zur retrospektiven Erfassung somatischer Krankheitssymptome. Hierbei sollten 30 verschiedene mögliche LPS-bezogene Symptome (z.B. Kopfschmerzen, Übelkeit oder Schwitzen) auf einer Skala von 0 („gar nicht“) bis 3 („schwer“) bewertet werden. Aus allen Bewertungen wurde ein Summenwert gebildet, wobei höhere Werte stärker ausgeprägten Symptomen entsprechen.



### **2.5.3 Vitalparameter**

Am Versuchstag wurden die Vitalparameter Körpertemperatur, Blutdruck und Herzfrequenz nach jeder Blutentnahme und jeweils vor Ausfüllen der Fragebögen erfasst. Die Bestimmung der Körpertemperatur erfolgte mit einem Infrarot-Fieberthermometer (GENIUS™ 2, Covidien, Mansfield, Massachusetts, USA) im äußeren Gehörgang des Probanden. Zur Messung des Blutdrucks kam die Methode nach Riva Rocci mit einer Oberarmblutdruckmanschette zum Einsatz. Die Herzfrequenz wurde manuell durch Palpation des Pulses der A. radialis am Handgelenk erfasst. Die Messwerte erhob ein separater Untersucher, um die Verblindung der in die Schmerztestung involvierten Untersucherin nicht zu gefährden.

### **2.5.4 Laborwerte**

Für die Messung von Plasmazytokinen und -cortisol erfolgten eine basale Blutentnahme vor Injektion (Placebo oder LPS) sowie weitere Blutentnahmen zu den Zeitpunkten 1, 2, 3, 4 und 6 Stunden nach Injektion. Das Blut wurde in Ethylendiamintetraessigsäure- (EDTA-) Monovetten über die zu Versuchsbeginn gelegte Venenverweilkanüle entnommen, direkt im Anschluss zentrifugiert und die Überstände bei -80° C gelagert. Die Analyse sämtlicher Proben fand zeitgleich nach Abschluss der Datenakquise statt.

Für die Studie wurden die Plasmakonzentrationen der pro-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-8 sowie des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 und des Cortisols bestimmt. Die Analyse verlief dabei analog zu der in Vorstudien beschriebenen Methodik (Benson et al., 2012; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010). Die Messung der Zytokinkonzentrationen erfolgte über multi-plexed bead-based assays (Bio-Plex Cytokine Assays, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). Die Proben wurden gemäß den Herstellerangaben vorbereitet. Für die Analyse kam ein triple-laser Durchflusszytometer (FACSCanto II) mit FACSDiva software (BD Immunocytometry Systems, Heidelberg, Deutschland) zum Einsatz. Die Kalkulation der Absolutwerte für die einzelnen Zytokinkonzentrationen erfolgte anhand der mittleren Fluoreszenz-Intensität von Zytokin-Standardlösungen mithilfe eines 4-Parameters-Logistic-Kurvenmodells unter Verwendung von GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Incorporated, La Jolla, California, USA). Die Nachweisgrenze der verwendeten Assays lag bei 1,9 pg/ml für TNF- $\alpha$ , 0,18 pg/ml für IL-6,

1,4 pg/ml für IL-8 und 0,17 pg/ml für IL-10. Für die Bestimmung der Cortisolkonzentration wurden enzyme-linked immunosorbent assays (Cortisol ELISA, IBL International, Hamburg, Deutschland) verwendet. Die Analyse erfolgte gemäß den Herstellerangaben. Die Nachweisgrenze des verwendeten Assays lag bei 0,138 mmol/l. Die Analysen von Zytokinen und Cortisol fanden im Labor des Instituts für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie, Universitätsklinikum Essen, statt.

## **2.6 Statistische Auswertung**

Die Analyse der erhobenen Daten wurde unter Einsatz von SPSS 21 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, Illinois, USA) und GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Incorporated, La Jolla, California, USA) durchgeführt. Vor der Analyse wurden alle Daten mithilfe des Kolmogorow-Smirnow-Tests auf ihre Normalverteilung hin überprüft. Nicht normalverteilte Daten wurden anschließend logarithmisch transformiert, um die Annahme einer Normalverteilung zu gewährleisten.

Zur Untersuchung basaler Unterschiede im Hinblick auf soziodemographische und psychologische Variablen der Gruppen (Placebo; 0,4 ng/kg KG LPS; 0,8 ng/kg KG LPS) wurden einfaktorielle Varianzanalysen (analysis of variance, ANOVA) durchgeführt. Messwiederholte Daten (z.B. Schmerztestungen, Immunantwort, psychologische Antwort) wurden mithilfe messwiederholter ANOVAs mit den Faktoren Zeit und Gruppe analysiert. Soweit nicht anders angegeben, sind nur signifikante Interaktionen (Zeit x Gruppe) dargestellt. Posthoc wurden T-Tests für unabhängige Variablen nach Bonferroni zur Unterscheidung der Gruppen zu verschiedenen Messzeitpunkten berechnet. Um einen möglichen Einfluss negativer Emotionen auf die Schmerzwahrnehmung zu untersuchen, wurden im Falle signifikanter Unterschiede bei den Schmerztestungen zusätzlich Kovarianzanalysen (analysis of covariance, ANCOVA) mit den Faktoren Zeit und Gruppe und den Kovariaten Zustandsangst (STAI-S) und Stimmung (MDBF, Subskala „gute/schlechte Stimmung“) durchgeführt.

Zur Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen herabgesetzten Druckschmerzschwellen (prozentuelle Abweichung der maximalen Schmerzhaftigkeit vom Ausgangswert) und der Höhe von Zytokinspiegeln, Zustandsangst im STAI-S und schlechter

Stimmung im MDBF (prozentuelle Abweichung des Maximalwerts vom Ausgangswert) nach Injektion von LPS wurde der Korrelationskoeffizient  $r$  nach Pearson für beide Dosisgruppen berechnet. Zeigte sich dabei eine Korrelation der Schmerzsensitivität mit mehreren möglichen Einflussfaktoren, wurde anschließend zusätzlich eine schrittweise multiple Regressionsanalyse durchgeführt.

Das Alphafehler-Niveau wurde für alle Berechnungen auf  $\alpha = 0,05$  festgelegt. Alle Daten im Text sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (Standard deviation, SD) angegeben. In den Abbildungen sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardfehler dargestellt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Probanden

An der Studie nahmen 59 gesunde männliche Probanden (Mittleres Alter:  $27,6 \pm 4,0$  Jahre, mittlerer BMI:  $24,0 \pm 3,1 \text{ kg/m}^2$ ) teil. Die Mehrzahl der Probanden (93,2%, N=55) hatte einen Schulabschluss (z.B. Abitur) und etwa die Hälfte (52,5%, N=31) gab an, in einer Partnerschaft zu leben. Mittlere Werte in der HADS für Angst ( $2,9 \pm 2,2$ ) und Depression ( $1,7 \pm 1,7$ ) lagen allesamt im Normbereich. Die Gruppen unterschieden sich nicht signifikant im Hinblick auf soziodemographische oder psychologische Charakteristika (ANOVA Interaktionseffekt, s. Tabelle 1). Zwei Probanden wurden von allen weiteren Analysen aufgrund von abweichenden Zytokinspiegeln ausgeschlossen: Ein in die Kontrollgruppe randomisierter Proband wies erhöhte Basalwerte von pro-inflammatorischen Zytokinen auf ( $> 3 \text{ SD}$  über Gruppenmittelwert für IL-6 und TNF- $\alpha$ ); ein in die höhere LPS-Dosis Gruppe (0,8 ng/kg KG) randomisierter Proband zeigte erhöhte Basalwerte und keinen Anstieg der gemessenen Zytokine nach LPS-Gabe.

**Tabelle 1:**

Soziodemographische und psychologische Daten

	Placebo	0,4 LPS	0,8 LPS	F-Wert	p-Wert
<i>Alter</i>	$28,6 \pm 5,5$	$26,8 \pm 2,6$	$27,4 \pm 3,5$	1,0	0,36
<i>BMI</i>	$24,1 \pm 3,7$	$23,9 \pm 2,9$	$24,0 \pm 2,8$	0,0	0,98
<i>HADS - Angst</i>	$1,9 \pm 1,4$	$3,5 \pm 2,1$	$3,3 \pm 2,6$	3,2	0,05
<i>HADS - Depression</i>	$1,9 \pm 1,6$	$1,6 \pm 1,7$	$1,7 \pm 1,9$	0,3	0,77

BMI = Body-Mass-Index; HADS = hospital anxiety and depression scale, Subskalen Angst (HADS - Angst) und Depression (HADS - Depression); 0,4 LPS = Dosis 0,4 ng/kg KG LPS; 0,8 LPS = Dosis 0,8 ng/kg KG LPS. Dargestellt sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung sowie die Ergebnisse der einfaktoriellen ANOVA.

## **3.2 Immunantwort**

### **3.2.1 Zytokine**

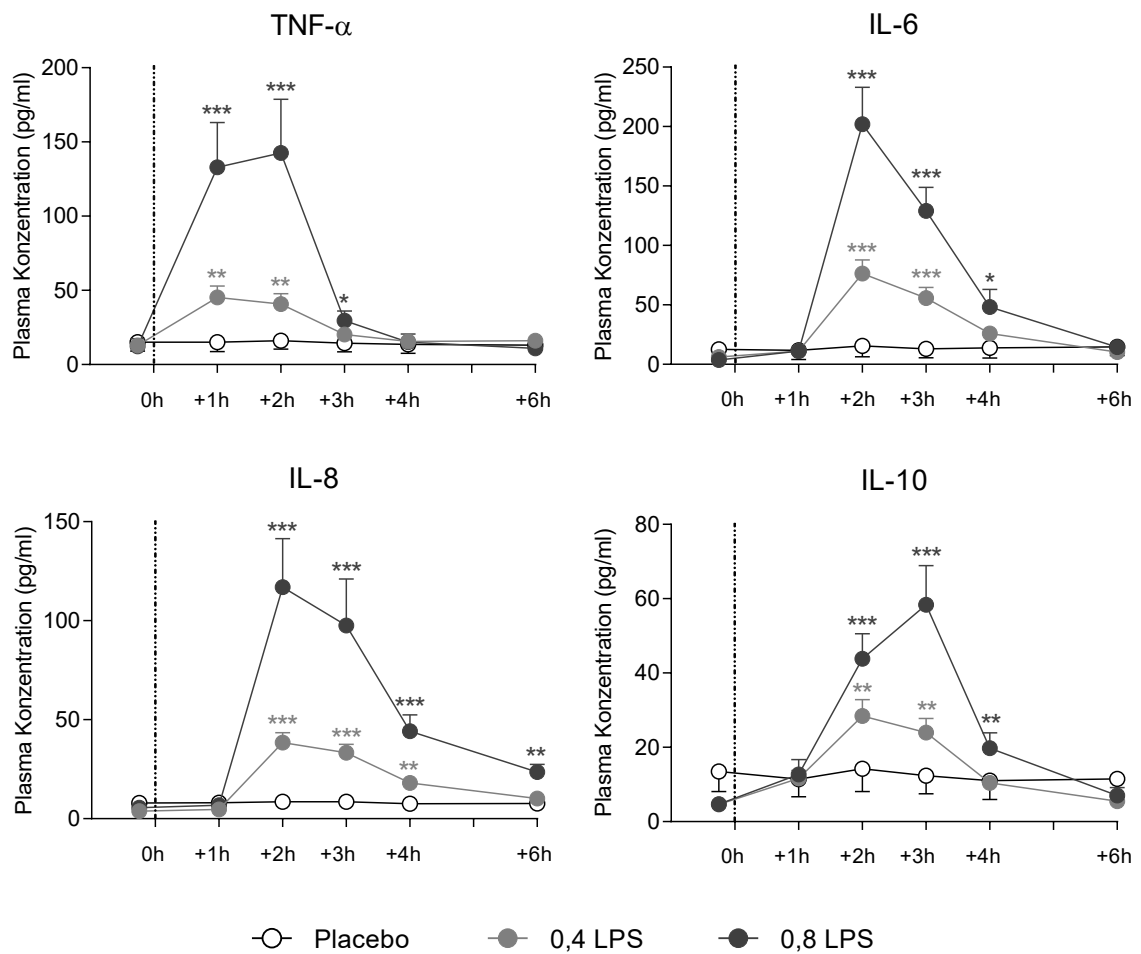
Als Reaktion auf die Gabe von LPS konnte für beide Dosierungen ein transienter Anstieg der Plasmakonzentrationen pro- und anti-inflammatorischer Zytokine im Sinne einer systemischen Immunaktivierung beobachtet werden. Die gemessenen Werte für TNF- $\alpha$  ( $F = 27,8$ ;  $p < 0,001$ ), IL-6 ( $F = 29,4$ ;  $p < 0,001$ ), IL-8 ( $F = 43,8$ ;  $p < 0,001$ ) und IL-10 ( $F = 19,9$ ;  $p < 0,001$ ) zeigten einen signifikanten Anstieg in beiden LPS-Gruppen gegenüber der Placebo-Gruppe (alle ANOVA Interaktionseffekte). Dabei ergaben sich stärkere Effekte in der höheren Dosis (0,8 ng/kg KG LPS) im Vergleich zur niedrigen Dosis (0,4 ng/kg KG LPS). Die maximalen Konzentrationen von TNF- $\alpha$  wurden 1 bis 2 Stunden nach Injektion, von IL-6 sowie IL-8 jeweils 2 Stunden nach Injektion und von IL-10 2 bis 3 Stunden nach Injektion beobachtet. Abbildung 4 zeigt die Ergebnisse der post hoc Analysen.

### **3.2.2 Cortisol**

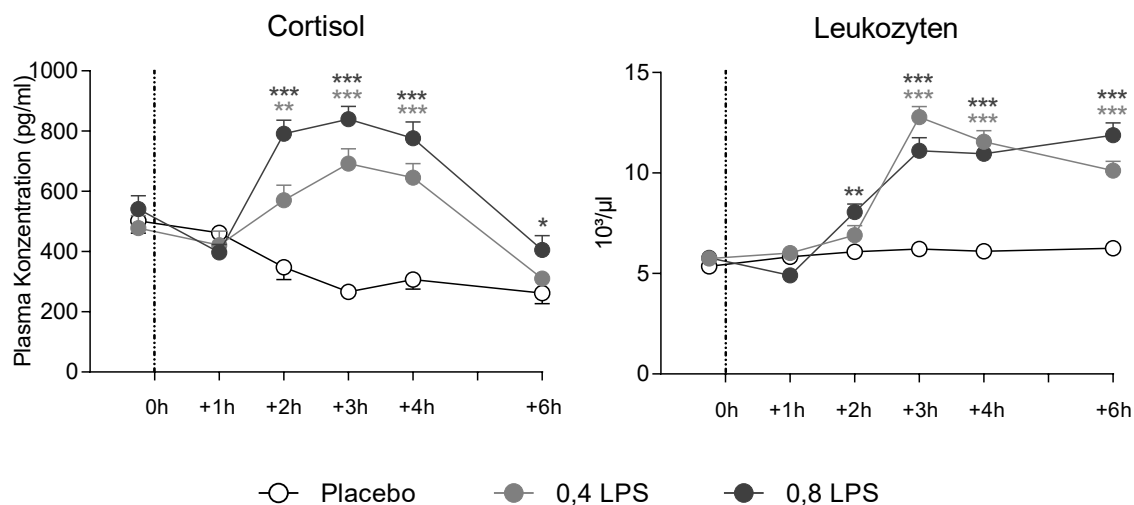
Nach Gabe von LPS konnte auch ein Anstieg des Plasmacortisols im Sinne einer Aktivierung der HPA-Achse beobachtet werden. Für beide LPS-Dosierungen zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Plasmacortisols ( $F = 13,0$ ;  $p < 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt) gegenüber Placebo mit stärkerer Ausprägung in der höheren LPS-Dosierung gegenüber der niedrigen LPS-Dosierung. Dabei zeigte sich der maximale Anstieg jeweils 3 Stunden nach Injektion für die niedrige (0,4 ng/kg KG) und die höhere LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG) im Vergleich zu Placebo. Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse der post hoc Analysen.

### **3.2.3 Leukozyten**

Im Rahmen der systemischen Immunaktivierung kam es neben erhöhten Zytokin- und Cortisolspiegeln auch zu einem signifikanten Anstieg der Leukozyten nach Gabe von LPS ( $F = 32,1$ ;  $p < 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt). Dabei zeigte sich ein signifikanter Anstieg sowohl in der niedrigen LPS-Dosierung ( $12.785 \pm 2.348/\mu\text{l}$  3 h p.i.) als auch in der höheren LPS-Dosierung ( $11.112 \pm 2.684/\mu\text{l}$  3 h p.i.) gegenüber Placebo ( $6.216 \pm 1.224/\mu\text{l}$  3 h p.i.) mit einem Maximalwert jeweils drei Stunden nach Injektion. Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse der post hoc Analysen.



**Abbildung 4: Zytokine.** Die Plasmakonzentrationen der pro- und anti-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 und IL-10 wurden vor sowie 1, 2, 3, 4 und 6 h p.i. gemessen. Sowohl für die niedrige (0,4 ng/kg KG) als auch die höhere (0,8 ng/kg KG) LPS-Dosis zeigten sich signifikante dosisabhängige Anstiege aller gemessenen Zytokine im Sinne einer systemischen Immunaktivierung mit der stärksten Reaktion 2 bzw. 3 Stunden nach Injektion. Dargestellt sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardfehler. \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001 niedrige Dosis vs. Placebo. \* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001 höhere Dosis vs. Placebo. Gezeigt sind die Ergebnisse der post hoc Analysen, für die Ergebnisse der ANOVA siehe Text. Die gestrichelte Linie markiert jeweils den Zeitpunkt der Injektion.

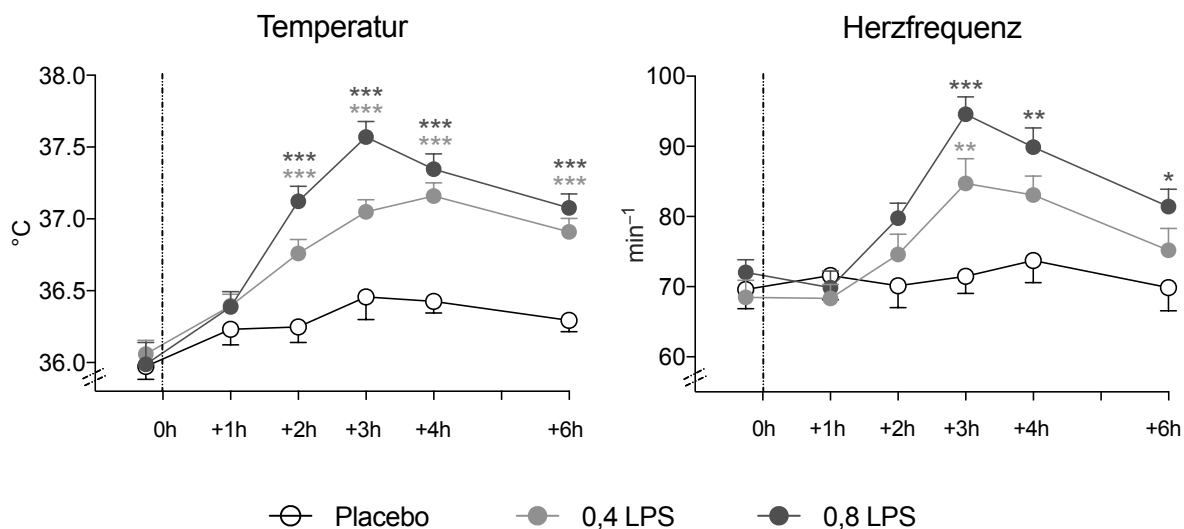


**Abbildung 5: Plasmacortisol und Leukozyten.** Die Messungen der Plasmakonzentration von Cortisol und der Leukozytenzahl wurden vor sowie 1, 2, 3, 4 und 6 h p.i. durchgeführt. Die Werte für Plasma-Cortisol zeigten einen signifikanten Anstieg sowohl in der niedrigen (0,4 ng/kg KG) als auch der höheren (0,8 ng/kg KG) LPS-Dosierung im Sinne einer Aktivierung der HPA-Achse. Für die Leukozytenzahl ergaben die Messungen ebenfalls signifikant erhöhte Werte nach Gabe von LPS in beiden Dosierungen. Dargestellt sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardfehler. \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  niedrige Dosis vs. Placebo. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  höhere Dosis vs. Placebo. Gezeigt sind die Ergebnisse der post hoc Analysen, für die Ergebnisse der ANOVA siehe Text. Die gestrichelte Linie markiert jeweils den Zeitpunkt der Injektion.

### 3.2.3 Vitalparameter

Im Rahmen der Immunantwort kam es nach Gabe von LPS in beiden Dosierungen zu einem signifikanten Anstieg der Körpertemperatur ( $F = 10,3$ ;  $p < 0,001$ ) sowie der Herzfrequenz ( $F = 4,1$ ;  $p < 0,001$ ) gegenüber Placebo (ANOVA Interaktionseffekte). Für die erfassten Werte von systolischem ( $F = 0,9$ ;  $p = 0,51$ ) und diastolischem Blutdruck ( $F = 1,3$ ;  $p = 0,24$ ) konnte jeweils keine signifikante Interaktion festgestellt werden (ANOVA Interaktionseffekt, Daten nicht gezeigt). Die Körpertemperatur erreichte in der niedrigen LPS-Dosierung 4 Stunden nach Injektion einen Maximalwert ( $37,1 \pm 0,4^\circ\text{C}$  4 h p.i.) im Vergleich zu Placebo ( $36,4 \pm 0,3^\circ\text{C}$  4 h p.i.), in der höheren LPS-Dosierung 3 Stunden nach Injektion ( $37,6 \pm 0,4^\circ\text{C}$  3 h p.i.) im Vergleich zu Placebo ( $36,4 \pm 0,4^\circ\text{C}$  3 h p.i.). Für die Herzfrequenz

ergaben sich Höchstwerte sowohl für die niedrige ( $85 \pm 15/\text{min}$  3 h p.i.) als auch die höhere LPS-Dosis ( $95 \pm 10/\text{min}$  3 h p.i.) 3 Stunden nach Injektion gegenüber Placebo ( $71 \pm 9/\text{min}$  3 h p.i.). Abbildung 6 zeigt die Ergebnisse der post hoc Analysen für die Körpertemperatur und die Herzfrequenz.



**Abbildung 6: Körpertemperatur und Herzfrequenz.** Die Messungen der Körpertemperatur und Herzfrequenz wurden vor sowie 1, 2, 3, 4 und 6 h p.i. durchgeführt. Im Rahmen der systemischen Immunaktivierung kam es nach Gabe von LPS in beiden Dosierungen (0,4 bzw. 0,8 ng/kg KG) zu einem signifikanten Anstieg der Körpertemperatur sowie der Herzfrequenz gegenüber Placebo. Dargestellt sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardfehler. \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  niedrige Dosis vs. Placebo. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  höhere Dosis vs. Placebo. Gezeigt sind die Ergebnisse der post hoc Analysen, für die Ergebnisse der ANOVA siehe Text. Die gestrichelte Linie markiert jeweils den Zeitpunkt der Injektion.

### 3.3 Zustandsangst und Befindlichkeit

Sowohl Zustandsangst als auch aktuelle Befindlichkeit wurden während des Versuchstages mittels testpsychologischer Verfahren (STAI-S und MDBF) erfasst. Die Summenwerte für Zustandsangst (STAI-S) nahmen nach Gabe von LPS signifikant gegenüber Placebo zu ( $F = 4,7$ ;  $p < 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt), wobei die höchsten Werte 2 Stunden nach Injektion erreicht wurden. Die post hoc durchgeführten T-Tests

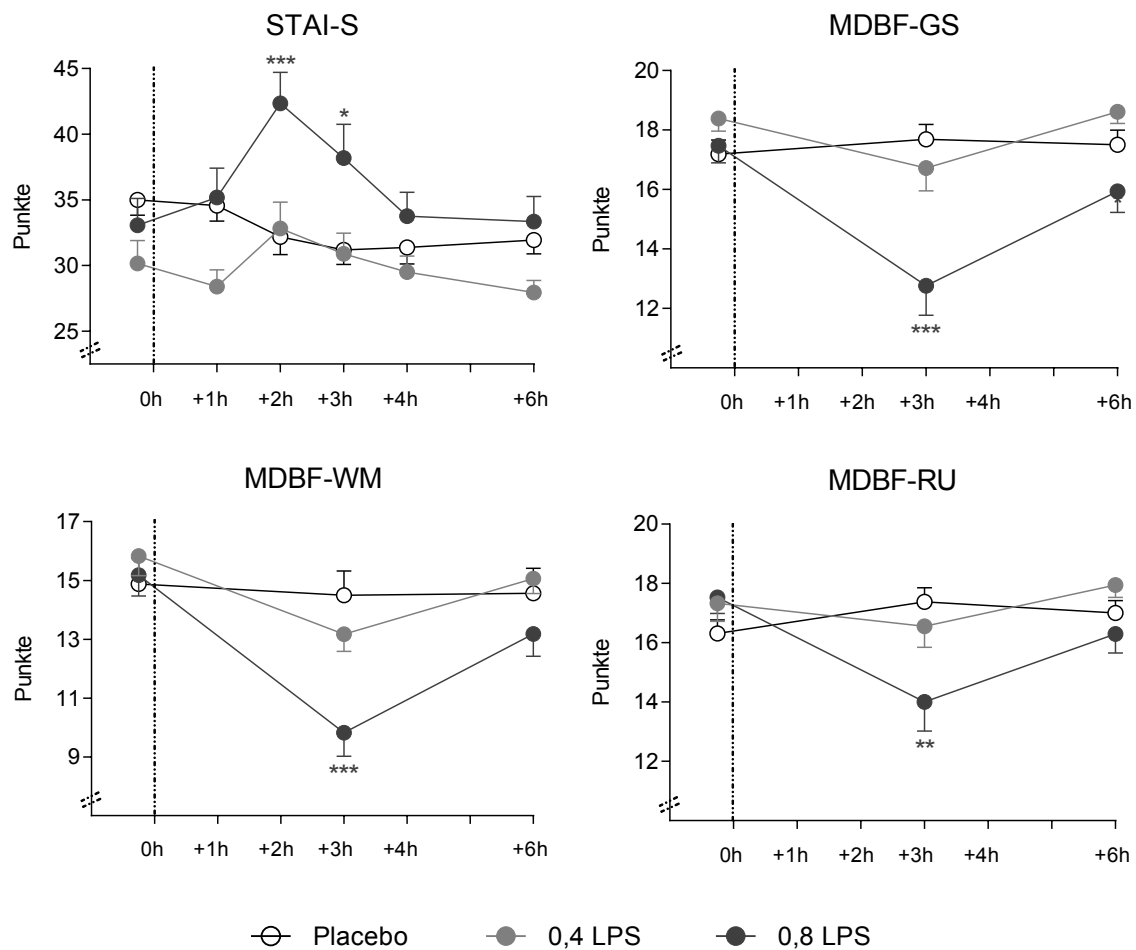


ergaben dabei nur für die höhere LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG) signifikante Unterschiede gegenüber Placebo (dargestellt in Abbildung 7).

In den einzelnen Subskalen des MDBF zeigte sich analog 3 Stunden nach LPS-Gabe ein signifikanter Abfall der Werte für gute/schlechte Stimmung ( $F = 9,3$ ;  $p < 0,001$ ), Wachheit/Müdigkeit ( $F = 5,2$ ;  $p < 0,001$ ) und Ruhe/Unruhe ( $F = 6,9$ ;  $p < 0,001$ ) im Sinne einer Verschlechterung der aktuellen Befindlichkeit gegenüber Placebo (ANOVA Interaktionseffekte). Die Berechnungen der post hoc Analysen ergaben erneut nur für die höhere LPS-Dosierung (0,8 ng/kg KG) signifikante Unterschiede gegenüber Placebo (dargestellt in Abbildung 7), nicht jedoch für die niedrige Dosierung (0,4 ng/kg KG).

### **3.4 Krankheitssymptome**

Mögliche LPS-bezogene Symptome (z.B. Kopfschmerzen, Übelkeit oder Schwitzen) wurden retrospektiv zu den Zeitpunkten 6 und 24 Stunden nach Injektion mithilfe einer modifizierten Version eines validierten Symptomfragebogens (Generic Assessment of Side Effects, GASE) erfragt. Zum Zeitpunkt 6 Stunden nach LPS-Gabe kam es zu einem signifikanten Anstieg somatischer Krankheitssymptome gegenüber Placebo ( $F = 12,372$ ;  $p < 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt), wobei die post hoc Analysen nur für die höhere LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG) einen signifikanten Unterschied gegenüber Placebo ( $p < 0,001$ ) ergaben. Durchschnittliche Summenwerte im GASE lagen bei  $13,25 \pm 9,61$  (6 h p.i.) für die höhere LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG) bzw. bei  $7,00 \pm 7,22$  (6 h p.i.) für die niedrige LPS-Dosis (0,4 ng/kg KG) gegenüber Placebo ( $2,00 \pm 1,89$  6 h p.i.). Nach 24 Stunden ließ sich kein signifikanter Gruppenunterschied mehr beobachten ( $F = 1,93$ ;  $p = 0,155$ , ANOVA Interaktionseffekt).



**Abbildung 7: Zustandsangst und Befindlichkeit.** Die Zustandsangst wurde vor sowie 1, 2, 3, 4 und 6 h p.i. mittels STAI-S erfasst. Parallel wurde die aktuelle Befindlichkeit vor sowie 3 und 6 h p.i. mittels MDBF in den Subskalen gute/schlechte Stimmung (GS), Wachheit/Müdigkeit (WM) und Ruhe/Unruhe (RU) ermittelt. Die im STAI-S gemessenen Werte zeigten einen signifikanten Anstieg nach Gabe von LPS in der höheren Dosierung (0,8 ng/kg KG) als Maß einer erhöhten Zustandsangst mit den höchsten Werten 2 Stunden nach Injektion. Analog zeigten sich signifikant erniedrigte Werte für alle Subskalen des MDBF 3 Stunden nach Gabe der höheren LPS-Dosis im Sinne einer Verschlechterung der aktuellen Befindlichkeit. Dargestellt sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardfehler. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  höhere Dosis vs. Placebo. Für die niedrige Dosis LPS (0,4 ng/kg KG) ergaben sich weder bei der Untersuchung der Zustandsangst noch der Befindlichkeit signifikante Unterschiede gegenüber Placebo. Gezeigt sind die Ergebnisse der post hoc Analysen, für die Ergebnisse der ANOVA siehe Text. Die gestrichelte Linie markiert jeweils den Zeitpunkt der Injektion.

## **3.5 Schmerzwahrnehmung**

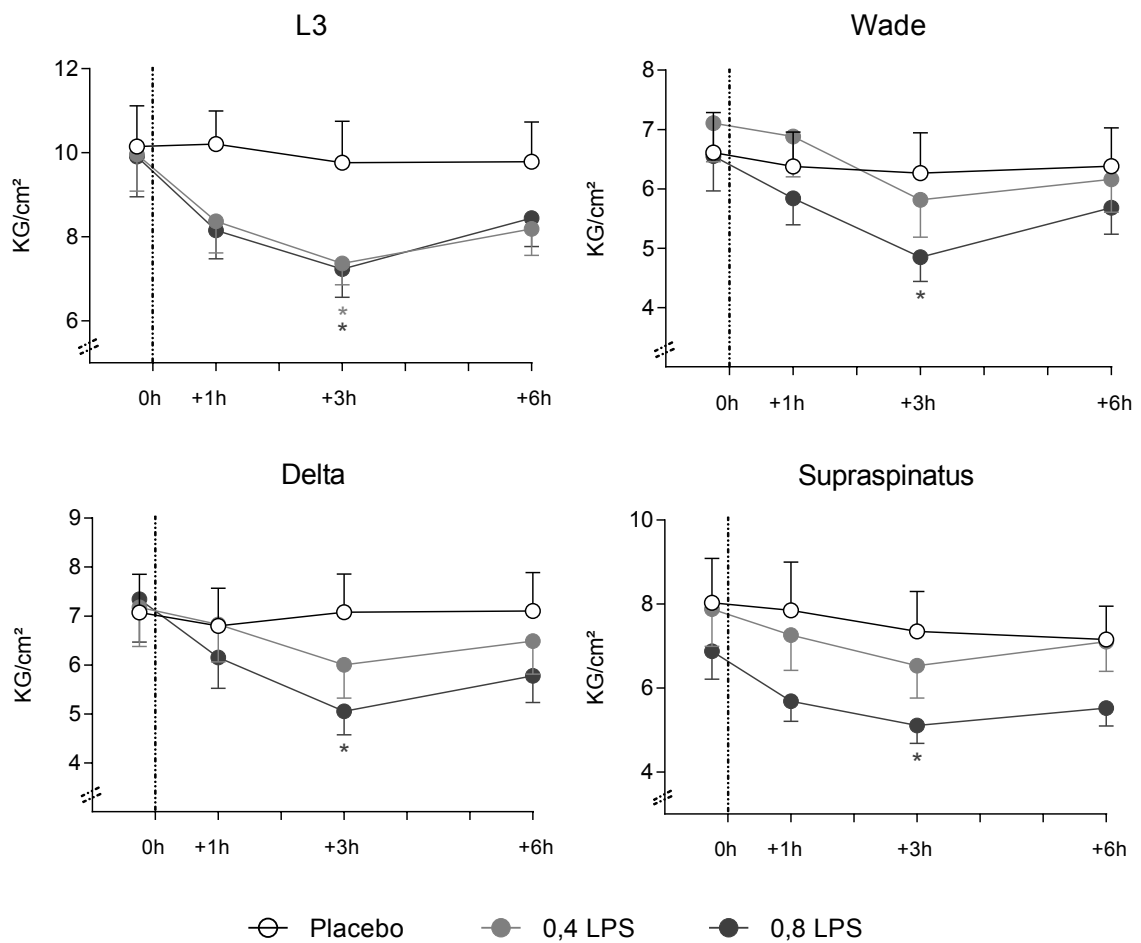
### **3.5.1 Druckschmerzschwellen (Algometrie)**

Zur Untersuchung der muskuloskelettalen Schmerzsensitivität wurden vor sowie 1, 3 und 6 h p.i. die Druckschmerzschwellen verschiedener Muskeln mittels Algometrie erfasst. Analysen der gemessenen Werte mittels messwiederholter ANOVA ergaben eine signifikante Abnahme der Druckschmerzschwellen nach Gabe von LPS für den unteren Rücken (M. erector spinae, Höhe LWK 3;  $F = 2,7$ ;  $p < 0,05$ ) und für die Schulter (M. deltoideus;  $F = 3,5$ ;  $p < 0,05$ ), jedoch nur einen Trend für die Wade (M. gastrocnemius;  $F = 2,0$ ;  $p = 0,08$ ) und keine signifikante Abnahme für den M. supraspinatus ( $F = 1,0$ ;  $p = 0,43$ ). Post hoc explorativ durchgeführte einseitige T-Tests zeigten signifikante Abnahmen der Druckschmerzschwellen überwiegend 3 Stunden nach Injektion von LPS. Dabei ergaben sich in der niedrigen Dosisgruppe (0,4 ng/kg KG) nur für den unteren Rücken signifikante Unterschiede. Für die höhere Dosis (0,8 ng/kg KG) konnten hingegen signifikant reduzierte Druckschmerzschwellen in allen gemessenen Muskelgruppen festgestellt werden (dargestellt in Abbildung 8).

Zusätzlich wurden Kovarianzanalysen (ANCOVAs) mit den Faktoren Zeit und Gruppe und den Kovariaten Zustandsangst (STAI-S) bzw. Stimmung (MDBF, Subskala gute/schlechte Stimmung) durchgeführt, um einen möglichen Einfluss negativer Emotionen auf die Schmerzwahrnehmung zu untersuchen. Dabei konnte in der Kovarianzanalyse weder für eine erhöhte Zustandsangst noch für eine Abnahme guter Stimmung ein Zusammenhang mit der gemessenen erhöhten Schmerzsensitivität festgestellt werden. Somit konnte keine der beiden Variablen als signifikante Kovariate identifiziert werden.

### **3.5.2 Mechanische Schmerzsensitivität (Pin Prick, Pinsel)**

Die mechanische Hyperalgesie und Allodynie wurden mithilfe von Pin Prick Stimulatoren und Pinsel (leichte Berührung) in einer balancierten Reihenfolge vor oder nach Erfassung der Algometrie durchgeführt. Die Probanden wurden gebeten, jeden Reiz auf einer Nominalen Rating-Skala zwischen 0 („kein Schmerz“) und 10 („maximal erträglicher Schmerz“) zu bewerten. Die ANOVA der durchschnittlichen NRS-Punktwerte ergab weder für die Pin Prick Reize ( $F = 0,6$ ;  $p = 0,76$ ) noch für die leichte Berührung mit dem Pinsel ( $F = 0,0$ ;  $p = 0,99$ )



**Abbildung 8: Druckschmerzschwellen.** Die Druckschmerzschwellen für unterschiedliche Muskelgruppen wurden mittels Algometrie vor sowie 1, 3 und 6 h p.i. gemessen. Dabei zeigten sich signifikant erniedrigte Druckschmerzschwellen im Bereich des unteren Rückens (M. erector spinae, Höhe L3) sowohl für die niedrige (0,4 ng/kg KG) als auch die höhere Dosis (0,8 ng/kg KG) LPS. Im Schulter-Nackenbereich (M. deltoideus und M. supraspinatus) sowie an der Wade (M. gastrocnemius) konnten nur für die moderate LPS-Dosis (0,8 ng/kg KG) signifikante Unterschiede festgestellt werden. Dabei wurden die gemessenen Effekte auf die Schmerzsensitivität hauptsächlich 3 Stunden nach Injektion beobachtet. Dargestellt sind jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardfehler. \*  $p < 0,05$  niedrige Dosis vs. Placebo. \*  $p < 0,05$  höhere Dosis vs. Placebo. Gezeigt sind die Ergebnisse der post hoc Analysen, für die Ergebnisse der ANOVA siehe Text. Die gestrichelte Linie markiert jeweils den Zeitpunkt der Injektion.

signifikante Gruppenunterschiede zwischen LPS (0,4 bzw. 0,8 ng/kg KG) und Placebo (ANOVA Interaktionseffekte). Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass die Gabe von LPS im Gegensatz zur muskuloskelettalen Schmerzempfindung keinen Einfluss auf die mechanische Schmerzempfindung nimmt. Für einzelne Daten siehe Tabelle 2.

### 3.6 Korrelationsanalyse

Um die Zusammenhänge zwischen den LPS-induzierten Anstiegen von Plasmazytokinen, Zustandsangst und negativer Stimmung mit den LPS-induzierten Veränderungen der Druckschmerzschwellen zu untersuchen, wurden Korrelationsanalysen zwischen den jeweils gemessenen Höchstwerten durchgeführt (maximale prozentuale Abweichung vom Ausgangswert zum Zeitpunkt 3 h p.i. für Druckschmerzschwellen; 2 h p.i. für TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-8; 3 h p.i. für IL-10; 2 h p.i. für STAI-S sowie 3 h p.i. für MDBF-GS). Dabei ergab sich eine signifikante Korrelation von IL-6 mit den Druckschmerzschwellen für den unteren Rücken (M. erector spinae;  $r = -0,29$ ;  $p = 0,038$ ) und die Schulter (M. deltoideus;  $r = -0,36$ ;  $p = 0,012$ ). Weiterhin zeigte sich eine Assoziation von IL-6 mit der Zustandsangst (STAI-S;  $r = 0,44$ ;  $p = 0,004$ ) und der aktuellen negativen Stimmung (MDBF-GS;  $r = -0,33$ ;  $p = 0,028$ ). Erhöhte Werte von IL-10 wiesen ebenfalls einen Zusammenhang mit erhöhten Werten für Zustandsangst (STAI-S,  $r = 0,29$ ;  $p = 0,048$ ) auf. Zusätzlich ergaben die Analysen eine Korrelation zwischen negativer Stimmung (MDBF-GS) und Druckschmerzschwellen im Bereich der Schulter (M. deltoideus;  $r = 0,39$ ;  $p = 0,011$ ). Die Ergebnisse der gesamten Korrelationsanalyse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Da die Druckschmerzschwellen für den M. deltoideus sowohl eine Korrelation mit erhöhten Zytokinpiegeln (IL-6;  $r = -0,36$ ;  $p = 0,012$ ) als auch mit der negativen Stimmung (MDBF-GS;  $r = 0,39$ ;  $p = 0,011$ ) aufwiesen, wurde im Anschluss eine multiple Regressionsanalyse mit beiden Variablen als Prädiktoren durchgeführt. Die Berechnungen ( $F = 5,73$ ;  $p = 0,023$ ; korrigiertes  $R^2 = 0,122$ ) ergaben nur für die aktuelle negative Stimmung (MDBF-GS) einen signifikanten Zusammenhang mit den Druckschmerzschwellen des Schultermuskels (M. deltoideus;  $\beta = 0,39$ ;  $p = 0,023$ ).

**Tabelle 2:**

## Mechanische Schmerzsensitivität

Stimulus Intensität	Zeitpunkt	Geometrisches Mittel NRS Schmerzskala		
		<i>Placebo</i>	<i>0,4 ng/kg KG LPS</i>	<i>0,8 ng/kg KG LPS</i>
<i>Pinsel</i>	Baseline	0,2 ± 0,05	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,01
	1 h p.i.	0,2 ± 0,05	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,01
	3 h p.i.	0,2 ± 0,05	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,01
	6 h p.i.	0,2 ± 0,05	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,01
<i>64 mN</i>	Baseline	0,3 ± 0,10	0,3 ± 0,07	0,2 ± 0,06
	1 h p.i.	0,4 ± 0,10	0,2 ± 0,05	0,3 ± 0,10
	3 h p.i.	0,4 ± 0,12	0,3 ± 0,07	0,3 ± 0,10
	6 h p.i.	0,5 ± 0,14	0,3 ± 0,08	0,3 ± 0,07
<i>128 mN</i>	Baseline	0,7 ± 0,19	0,5 ± 0,12	0,5 ± 0,13
	1 h p.i.	0,8 ± 0,20	0,5 ± 0,10	0,6 ± 0,16
	3 h p.i.	0,8 ± 0,19	0,6 ± 0,13	0,8 ± 0,21
	6 h p.i.	0,9 ± 0,27	0,5 ± 0,10	0,6 ± 0,15
<i>256 mN</i>	Baseline	1,4 ± 0,31	1,1 ± 0,23	1,0 ± 0,25
	1 h p.i.	1,5 ± 0,35	1,2 ± 0,24	1,2 ± 0,24
	3 h p.i.	1,7 ± 0,30	1,4 ± 0,20	1,3 ± 0,27
	6 h p.i.	1,7 ± 0,40	1,1 ± 0,20	1,2 ± 0,28
<i>512 mN</i>	Baseline	2,5 ± 0,50	2,0 ± 0,31	2,1 ± 0,31
	1 h p.i.	2,8 ± 0,51	2,5 ± 0,40	2,4 ± 0,38
	3 h p.i.	3,1 ± 0,52	2,6 ± 0,41	2,6 ± 0,40
	6 h p.i.	3,0 ± 0,58	2,6 ± 0,41	2,3 ± 0,38

Die mechanische Hyperalgesie (Pin Prick) und Allodynie (Pinsel) wurden vor sowie 1, 3 und 6 h p.i. gemessen. Applizierte mechanische Reize wurden auf einer Numerischen Rating-Skala (NRS) mit Werten zwischen 0 („kein Schmerz“) und 10 („maximal unerträglicher Schmerz“) bewertet. Nach Injektion von 0,4 bzw. 0,8 ng / kg KG LPS oder Placebo konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden. Die Daten sind als geometrischer Mittelwert ± Standardfehler angegeben. Für die Ergebnisse der ANOVA siehe Text.

**Tabelle 3:**

## Korrelationsanalyse

Prozentuale Abweichung		Druckschmerzschwellen				Fragebögen	
		<i>Rücken</i>	<i>Wade</i>	<i>Schulter</i>	<i>Nacken</i>	<i>STAI-S</i>	<i>MDBF-GS</i>
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	r	-0,13	-0,20	-0,20	-0,16	0,19	-0,14
(2 h p.i. vs. basal)	p	0,251	0,109	0,106	0,165	0,142	0,212
<i>IL-6</i>	r	<b>-0,29</b>	-0,21	<b>-0,36</b>	-0,18	<b>0,44</b>	<b>-0,33</b>
(2 h p.i. vs. basal)	p	<b>0,038</b>	0,104	<b>0,012</b>	0,138	<b>0,004</b>	<b>0,028</b>
<i>IL-8</i>	r	0,05	-0,13	-0,17	-0,02	0,19	-0,17
(2 h p.i. vs. basal)	p	0,393	0,224	0,155	0,445	0,141	0,170
<i>IL-10</i>	r	-0,22	-0,04	-0,14	-0,11	<b>0,29</b>	-0,24
(3 h p.i. vs. basal)	p	0,101	0,406	0,205	0,252	<b>0,048</b>	0,081
<i>STAI-S</i>	r	0,03	0,21	-0,04	0,01		
(2 h p.i. vs. basal)	p	0,426	0,119	0,416	0,490		
<i>MDBF-GS</i>	r	-0,01	0,17	<b>0,39</b>	0,13		
(3 h p.i. vs. basal)	p	0,479	0,171	<b>0,011</b>	0,231		

Bei der Korrelationsanalyse wurden Zusammenhänge zwischen Druckschmerzschwellen, Zytokinen, Zustandsangst (STAI-S) und Stimmung (MDBF-GS) untersucht. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r nach Pearson wurde für beide Dosisgruppen (0,4 bzw. 0,8 ng/kg KG LPS) durchgeführt. Als Rechengröße wurde jeweils die prozentuale Abweichung des Maximalwertes (2 h p.i. für TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 und STAI-S; 3 h p.i. für IL-10, MDBF-GS und Druckschmerzschwellen) vom Ausgangswert (basal) verwendet. Signifikante Ergebnisse (einseitig  $p < 0,05$ ) sind fett gedruckt.

## 4. Diskussion

Schmerz stellt ein häufiges Problem im medizinischen Alltag dar und chronische Schmerzen bleiben bislang nur ungenügend behandelbar (Breivik et al., 2006). Aus der Schmerzforschung ist bekannt, dass das Immunsystem über verschiedene Wege mit der Schmerzwahrnehmung interagiert und insbesondere auch an der Entstehung pathologischer Schmerzen beteiligt ist (Basbaum et al., 2009; Grace et al., 2014; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). Vor diesem Hintergrund war es das Ziel unserer Studie, die zeit- und dosisabhängigen Effekte einer systemischen Entzündungsreaktion auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung beim Menschen zu untersuchen. Die Gabe von LPS hat sich als experimentelles Modell zur Induktion einer transienten Immunaktivierung beim Menschen etabliert (Bahador et al., 2007; Schedlowski et al., 2014). In einem randomisierten, kontrollierten und doppelblinden Studiendesign konnten wir eine erhöhte muskuloskelettale Schmerzsensitivität bei gesunden männlichen Probanden nach der Gabe von LPS zeigen. Bei unserer Studie handelt es sich um eine der ersten experimentellen Studien, die einen Effekt einer Endotoxin-induzierten systemischen Immunaktivierung auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung beim Menschen zeigt. Unsere Studie erweitert damit die Erkenntnisse vorheriger Studien, in denen andere Schmerzmodalitäten untersucht wurden (Benson et al., 2012; Hutchinson et al., 2013).

### Systemische Immunaktivierung

Zur Induktion einer systemischen Immunaktivierung verwendeten wir in unserer Studie die intravenöse Gabe von LPS als etabliertes experimentelles Krankheitsmodell (Bahador et al., 2007; Schedlowski et al., 2014). Nach Gabe von LPS kam es erwartungsgemäß zu einem transienten, signifikanten Anstieg pro- und anti-inflammatorischer Zytokine sowie des Plasmacortisols und der Körpertemperatur im Sinne einer systemischen Immunaktivierung. Dabei ließen sich die stärksten Effekte im Zeitraum zwischen 1 bis 4 Stunden nach Injektion und eine Normalisierung nach 6 Stunden beobachten. In früheren Studien wurden bereits dosisabhängige Effekte von LPS auf die Zytokinantwort sowie auf neurokognitive Funktionen beschrieben (Grigoleit et al., 2011). Daher entschieden wir uns zur Applikation sowohl einer niedrigen (0,4 ng/kg KG) als auch einer höheren Dosis (0,8 ng/kg KG) LPS, welche sich in



Vorstudien unserer Arbeitsgruppe beide als wirksam und sicher erwiesen hatten (Benson et al., 2012; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010). Entsprechend unserer Erwartungen ließ sich in der höheren Dosierung eine stärkere Aktivierung des Immunsystems im Sinne erhöhter Plasmazytokinspiegel und einer höheren Körpertemperatur beobachten.

### Muskuloskelettale Schmerzwahrnehmung

Ziel unserer Studie war es, die Effekte einer systemischen Entzündungsreaktion auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung zu untersuchen. Hierbei erwarteten wir eine zeit- und dosisabhängige Zunahme der somatosensorischen Schmerzsensitivität nach Gabe von LPS. Zum Nachweis einer verstärkten Schmerzwahrnehmung untersuchten wir die Druckschmerzschwellen verschiedener Muskelgruppen sowie die mechanische Hyperalgesie und Allodynie zu wiederholten Messzeitpunkten. Die Erhebung von Druckschmerzschwellen mittels Algometrie ist eine etablierte Methode zur Beurteilung der muskuloskelettalen Schmerzempfindung (Graven-Nielsen et al., 2002; Lacourt et al., 2012; Rolke et al., 2006). Durch die Messung der Druckschmerzschwellen werden hauptsächlich C- und A $\delta$ -Fasern im Muskel erregt und die Tiefensensibilität für Schmerz erfasst (Beissner et al., 2010; Graven-Nielsen et al., 2002; Rolke et al., 2006). Drei Stunden nach der Applikation von LPS zeigten sich signifikant erniedrigte Druckschmerzschwellen für alle getesteten Muskelgruppen entsprechend einer ausgedehnten Sensitivierung für muskuloskelettale Schmerzreize. Dabei konnten wir im Bereich des unteren Rückens für beide Dosierungen und in den restlichen Muskelgruppen nur für die höhere Dosierung signifikante Effekte feststellen. Diese Beobachtungen weisen auf einen möglichen orts- und auch dosisabhängigen Effekt hin. In diesem Sinne könnte die Muskulatur im Bereich des unteren Rückens sensibler auf eine Immunaktivierung reagieren und somit für beide Dosierungen signifikant erniedrigte Schmerzschwellen aufweisen, während in den anderen Muskelgruppen nur die höhere Dosierung ausreichend war, um den beobachteten Effekt auszulösen. Dies erscheint besonders interessant, da gerade der untere Rücken eine der häufigsten Lokalisationen chronischer Schmerzen darstellt (Breivik et al., 2006). Darüber hinaus ergaben unsere Messungen, im Einklang mit unserer Hypothese, einen zeitabhängigen Verlauf mit den stärksten Effekten 3 Stunden nach Injektion und einem Rückgang 6 Stunden nach Injektion.

In einer etwa zeitgleich zur vorliegenden Arbeit durchgeführten Studie konnten de Goeij et al. (2013) ebenfalls signifikant erniedrigte Druckschmerzschwellen für verschiedene

Muskelgruppen 2 Stunden nach der Applikation von LPS nachweisen. Im Gegensatz zu unserer Studie verwendeten de Goeij et al. (2013) eine wesentlich höhere Dosierung von LPS (2 ng/kg KG), welche starke Krankheitssymptome hervorruft und eher eine Sepsis-ähnliche Situation widerspiegelt. Aufgrund der fehlenden Randomisierung und Verblindung sind die Ergebnisse der genannten Studie nur eingeschränkt interpretierbar, unterstützen aber insgesamt die Resultate unserer eigenen Studie.

In einer Folgestudie zur vorliegenden Arbeit haben Wegner et al. (2015) die Schmerzsensitivität nach Gabe einer niedrigen Dosis LPS (0,4 ng/kg KG) in einer vergleichenden cross-over Studie bei Männern und Frauen untersucht. Dabei konnten sie unter Verwendung des gleichen Schmerzmodells wie in unserer Studie signifikant reduzierte Druckschmerzschwellen für alle getesteten Muskelgruppen zum Zeitpunkt 3 Stunden nach Injektion zeigen, ohne dass sich Hinweise auf Geschlechtsunterschiede ergaben. Diese Ergebnisse stimmen mit einer weiteren Studie von Karshikoff et al. (2015) überein. In dieser randomisierten, kontrollierten Studie wurden zum Zeitpunkt 1,5 Stunden nach Gabe von LPS (0,6 ng/kg KG) gleichermaßen für Männer und Frauen signifikant reduzierte Druckschmerzschwellen für verschiedene Muskelgruppen dokumentiert.

Insgesamt stützen unsere und nachfolgende Studien somit die Annahme, dass eine systemische Immunaktivierung durch Gabe von LPS Einfluss auf die muskuloskeletale Schmerzsensitivität beim Menschen hat. Insbesondere scheint dabei auch schon eine milde, subklinische Aktivierung des Immunsystems durch niedrige Dosen LPS ausreichend zu sein. Darüber hinaus weist unsere Studie auch erstmalig auf einen dosisabhängigen Effekt von LPS auf die somatosensorische Schmerzsensitivität hin. Eine signifikante Abnahme der Druckschmerzschwellen ließ sich hauptsächlich für die höhere Dosierung nachweisen. Für die Effekte von LPS auf Immunaktivierung, Befindlichkeit und neurokognitive Funktionen wurde bereits früher eine Dosisabhängigkeit beim Menschen beschrieben (Grigoleit et al., 2011). Weitere Studien, die einen dosisabhängigen Effekt von Endotoxin auch auf die Schmerzwahrnehmung untersucht haben, fehlen aber bislang.

### Mechanische Schmerzwahrnehmung

Zur weiteren Untersuchung der Schmerzwahrnehmung haben wir die mechanische Hyperalgesie und Allodynie mithilfe von Pin Prick Stimulatoren und einem Pinsel getestet, welche als geeignetes Modell zur Erfassung der mechanischen Schmerzsensitivität

anerkannt sind (Baumgartner et al., 2002; Rolke et al., 2006). Über Pin Prick Nadeln wird ein punktueller mechanischer Reiz appliziert, welcher in der Haut hauptsächlich nozizeptive A $\delta$ -Fasern erregt (Basbaum et al., 2009; Baumgartner et al., 2002; Rolke et al., 2006). Das leichte Bestreichen der Haut mit einem Pinsel stellt hingegen ein Modell zur Erfassung mechanischer Allodynie dar (Baumgartner et al., 2002; Rolke et al., 2006), welche über mechanische A $\beta$ -Fasern vermittelt wird (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011). Nach der Applikation von LPS ließ sich im Gegensatz zu den gemessenen Effekten auf die muskuloskelettale Schmerzsensitivität kein signifikanter Unterschied bei der Wahrnehmung von mechanischen Reizen durch die Pin Prick Nadeln oder den Pinsel nachweisen. Unabhängig von der applizierten Menge LPS wurden schmerzhaft mechanische Reize nicht als signifikant stärker empfunden. Ebenso wurden zuvor nicht-schmerzhaft Reize nach LPS-Gabe nicht als schmerzhaft im Sinne einer Allodynie bewertet.

Diese Ergebnisse werden durch die Befunde von Hutchinson et al. (2013) unterstützt. Mittels von Frey Haaren haben Hutchinson et al. (2013) in ihrer Studie den Effekt von LPS (0,4 ng/kg KG) auf die mechanische Hyperalgesie und Allodynie getestet. Mit von Frey Haaren können ähnlich der von uns verwendeten Pin Prick Nadeln punktuelle mechanische Reize gesetzt werden, welche zur Erregung kutaner A $\delta$ - und A $\beta$ -Fasern führen (Basbaum et al., 2009; Beissner et al., 2010). In der genannten Studie konnte gezeigt werden, dass Hyperalgesie und Allodynie nach einer intradermalen Injektion von Capsaicin durch eine vorherige Applikation von LPS signifikant verstärkt wurden. Hyperalgesie und Allodynie waren jedoch nach alleiniger LPS-Gabe (ohne nachfolgende Capsaicin-Injektion) nicht nachweisbar. In einer zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführten fMRI-Studie konnten Benson et al. (2015) ebenfalls keinen Effekt von LPS auf die Wahrnehmung mechanischer kutaner Reize finden. In dieser Studie wurde bei gesunden männlichen Probanden LPS in einer Dosis von 0,4 ng/kg KG (vs. Placebo) in einem Zwischengruppendesign appliziert. Mittels fMRI wurden Veränderungen der neuronalen Verarbeitung viszeraler und somatischer Schmerzreize untersucht. Als somatische Schmerzstimuli wurden repetitive Reize mit Pin Prick Nadeln verwendet. Dabei ließen sich keine LPS-Effekte auf die Bewertung der Schmerzreize oder die Pin Prick-induzierte neuronale Aktivität beobachten.

Dahingegen konnten de Goeij et al. (2013) in ihrer Studie unter der Verwendung einer wesentlich höheren Dosis von LPS (2,0 ng/kg KG) signifikant reduzierte Schmerzschwellen

für elektrische Reize messen. Höherfrequente elektrische Reize erregen ebenfalls hauptsächlich A $\delta$ -Nozizeptoren und bieten somit ein vergleichbares Schmerzmodell zu den punktuellen mechanischen Reizen durch die Verwendung von Pin Prick Nadeln oder von Frey Haaren (Beissner et al., 2010). Die von de Goeij et al. (2013) applizierte Dosis LPS ruft starke Krankheitssymptome hervor und damit einhergehend ist auch eine deutliche Verschlechterung der Befindlichkeit zu erwarten (Grigoleit et al., 2011; Reichenberg et al., 2001; Wright et al., 2005). Negative Emotionen können Einfluss auf die Schmerzwahrnehmung nehmen und diese verstärken (Eccleston, 2001; Wiech et al., 2009). Da in der Studie von de Goeij et al. (2013) keine Stimmungsparameter untersucht wurden, kann nicht sicher angenommen werden, dass der gemessene Effekt ursächlich auf einer durch LPS induzierten Immunreaktion beruht und nicht auch mit einer LPS-induzierten Beeinträchtigung der Befindlichkeit bzw. Stimmung im Zusammenhang steht. Insbesondere konnten de Goeij et al. (2013) in ihrer Studie keine Korrelation zwischen den gemessenen Zytokinspiegeln und Veränderungen der Schmerzwahrnehmung feststellen.

Zusammenfassend ist es denkbar, dass die in unserer und anderen Studien applizierte Dosis LPS nicht ausreichend war, um eine mechanische Hyperalgesie durch punktuelle kutane Reize auszulösen und diese nur durch hohe LPS-Dosen wie in der Studie von de Goeij et al. (2013) induzierbar ist. Dabei sollte jedoch auch einschränkend beachtet werden, dass die applizierten Reize mit Pin Prick Nadeln in unserer Studie überwiegend als nicht-schmerzhaft empfunden wurden und dass unerschwellige mechanische Reize hauptsächlich über mechanosensitive A $\beta$ -Fasern geleitet werden (Basbaum et al., 2009; Rolke et al., 2006). Die Applikation stärkerer mechanischer Reize könnte somit zu anderen Ergebnissen führen. Darüber hinaus muss auch die Möglichkeit diskutiert werden, dass verschiedene schmerzleitende Nervenfasern unterschiedlich sensibel auf die Applikation von LPS reagieren. Kutane Schärferreize, wie wir sie mit den Pin Prick Nadeln appliziert haben, werden überwiegend über A $\delta$ -Fasern geleitet (Basbaum et al., 2009; Baumgartner et al., 2002; Rolke et al., 2006), wohingegen Druckschmerzreize zusätzlich auch nozizeptive C-Fasern erregen (Beissner et al., 2010; Graven-Nielsen et al., 2002; Rolke et al., 2006). Tierexperimentell werden neben vagalen Afferenzen auch C-Fasern für die Auslösung einer Hyperalgesie verantwortlich gemacht (Sandkuhler, 2009). In diesem Zusammenhang wäre es denkbar, dass eher nozizeptive C-Fasern und weniger A $\delta$ -Fasern für die durch LPS induzierte Hyperalgesie verantwortlich sind, welche sich dann hauptsächlich in einer

verstärkten muskuloskelettalen Schmerzwahrnehmung widerspiegeln würde. Diese Hypothese wird auch durch die weiteren Untersuchungen von Karshikoff et al. (2015) unterstützt. In ihrer Studie erfassten sie neben den Druckschmerzschwellen für verschiedene Muskelgruppen auch die Schmerzschwellen für kutane Hitze- und Kältereize. Im Gegensatz zu erniedrigten Druckschmerzschwellen konnten sie nach Gabe von LPS keine signifikanten Unterschiede bei den Schmerzschwellen für thermische Reize finden. Allerdings stellten sie Veränderungen in der Empfindung überschwelliger thermischer Hitzeschmerzreize bei Frauen fest, während bei Männern und bei Kälteschmerzreizen keine signifikanten Unterschiede auftraten. Bisläng fehlen weitere Studien zur Untersuchung thermischer Schmerzreize beim Menschen. Allerdings konnte tierexperimentell ebenfalls eine immunvermittelte Sensitivierung für Hitzeschmerzreize nachgewiesen werden, nicht jedoch für Kälteschmerzreize (Sandkuhler, 2009). Die Verarbeitung schmerzhafter Hitzereize unterscheidet sich von der von Kältereizen darin, dass sie auch die Erregung von nozizeptiven C-Fasern beinhaltet (Basbaum et al., 2009; Baumgartner et al., 2002; Beissner et al., 2010; Rolke et al., 2006). Hierdurch findet die Hypothese Unterstützung, dass die durch LPS hervorgerufene Immunaktivierung verschiedene nozizeptive Nervenfasern unterschiedlich stark beeinflusst.

Darüber hinaus konnten wir in unserer Studie nach Gabe von LPS keine Schmerzen durch Bestreichen der Haut mit einem Pinsel im Sinne einer mechanischen Allodynie feststellen. In Übereinstimmung damit konnten Hutchinson et al. (2013) in ihrer Studie nur in Kombination mit Capsaicin eine verstärkte Allodynie auslösen, wohingegen dieser Effekt nach Gabe von LPS alleine nicht auftrat. Allodynie wird über die Erregung mechanosensitiver A $\beta$ -Fasern vermittelt und auch in Tiermodellen konnte durch die Gabe von LPS keine mechanische Allodynie induziert werden (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011).

Zusammengefasst unterstützen die vorliegenden Ergebnisse somit die Annahme, dass verschiedene Modalitäten somatosensorischer Schmerzen unterschiedlich sensibel auf die Applikation von LPS reagieren. Für niedrige Dosen LPS lässt sich ein stärkerer Einfluss auf die Wahrnehmung von tiefen als von kutanen Schmerzreizen beobachten und dieser Effekt scheint eher über nozizeptive C-Fasern als über nozizeptive A $\delta$ -Fasern oder mechanische A $\beta$ -Fasern vermittelt zu werden. Unsere und andere Studien (Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015) konnten nach Auslösung einer systemischen Immunaktivierung durch die

Applikation niedriger Dosen LPS bei gesunden Probanden hauptsächlich eine verstärkte muskuloskelettale Schmerzsensitivität zeigen. Nach momentanem Wissensstand kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass höhere Dosierungen von LPS, wie von de Goeij et al. (2013) verwendet, auch andere somatosensorische Schmerzmodalitäten beeinflussen. Insgesamt liegen bislang immer noch nur wenige Studien zur Untersuchung der Schmerzwahrnehmung nach Gabe von LPS beim Menschen vor. In unserer Studie haben wir in einem explorativen Ansatz die Auswirkungen von zwei verschiedenen Dosierungen LPS auf zwei verschiedene somatosensorische Schmerzmodelle zu unterschiedlichen Zeitpunkten getestet. Weitere Studien könnten mehr Informationen zur Dosis- und Zeitabhängigkeit beitragen. In Kenntnis optimaler Dosierungen und Messzeitpunkte könnten auch feinere Testverfahren wie das QST-Protokoll von Rolke et al. (2006) zum Einsatz kommen. Jedoch wird auch in Zukunft das aufgrund der sich verändernden Plasmazytokinspiegel eingeschränkte Zeitfenster bei den Untersuchungen ein limitierender Faktor für die Auswahl der Testverfahren bleiben.

#### Psychologische Parameter

Frühere Studien zeigten bereits, dass LPS beim Menschen die aktuelle Befindlichkeit beeinflussen kann (Grigoleit et al., 2011; Reichenberg et al., 2001; Wright et al., 2005) sowie auch, dass negative Emotionen in Zusammenhang mit einer erhöhten Schmerzwahrnehmung stehen (Eccleston, 2001; Wiech et al., 2009). Vor diesem Hintergrund haben wir in unserer Studie zusätzlich psychologische Parameter mittels etablierter Fragebögen zu wiederholten Messzeitpunkten erfasst. Hierbei nahmen wir an, dass die Gabe von LPS zu einer Zunahme negativer Emotionen führt. Entsprechend unserer Hypothese konnten wir nach Gabe von LPS eine signifikante Zunahme der Zustandsangst beobachten. Begleitend zeigte sich eine signifikante Abnahme von positiver Stimmung, Wachheit und Ruhe. Dabei konnten wir die Auswirkungen abermals nur für die höhere Dosierung LPS (0,8 ng/kg KG) feststellen. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen haben weitere Studien, welche die Schmerzwahrnehmung nach Gabe von LPS untersucht haben, ebenfalls eine signifikante Zunahme negativer Emotionen gezeigt (Benson et al., 2015; Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015). Im Gegensatz dazu konnten andere Studien in diesem Bereich keine signifikanten Auswirkungen von LPS auf psychologische Parameter feststellen (Benson et al., 2012).

### Korrelationsanalysen: Steht eine erhöhte Schmerzsensitivität nach Gabe von LPS im Zusammenhang mit Veränderungen von Zytokinspiegeln oder negativen Emotionen?

Ein weiteres Ziel unserer Studie war es, mögliche Zusammenhänge zwischen den durch LPS hervorgerufenen Veränderungen von Zytokinspiegeln, negativen Emotionen und der somatosensorischen Schmerzsensitivität zu untersuchen. Nach Gabe von LPS konnten wir in unserer Studie neben einer erhöhten Schmerzsensitivität einen Anstieg pro- und anti-inflammatorischer Zytokine sowie eine Zunahme negativer Emotionen entsprechend einer Zunahme der Zustandsangst und einer Verschlechterung der Stimmung beobachten. Auch wenn sich durch Korrelationen keine Kausalzusammenhänge darstellen lassen, sollte mithilfe von Korrelationsanalysen explorativ untersucht werden, ob die beobachtete Zunahme der Schmerzsensitivität nach Gabe von LPS mit einer Erhöhung von Zytokinspiegeln oder negativen Emotionen assoziiert ist. Dabei wurde erwartet, dass sich für die Schmerzsensitivität sowohl ein Zusammenhang mit den Konzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine als auch ein Zusammenhang mit negativen Emotionen ergibt. Den Haupteffekt von LPS auf die Schmerzwahrnehmung konnten wir 3 Stunden nach Injektion in Form reduzierter Druckschmerzschwellen und folglich einer Zunahme der muskuloskelettalen Schmerzsensitivität beobachten. Für diesen Zeitpunkt ergab sich im Einklang mit unserer Hypothese eine signifikante Korrelation zwischen dem maximalen Anstieg von IL-6 und der Abnahme der Druckschmerzschwellen für die Muskulatur des unteren Rückens und der Schulter.

In Übereinstimmung mit unseren Resultaten konnten Wegner et al. (2015) in einer späteren Studie eine signifikante Korrelation von TNF- $\alpha$ -Konzentrationen mit erniedrigten Druckschmerzschwellen für alle getesteten Muskelgruppen zeigen. Auch Karshikoff et al. (2015) konnten in ihrer Studie sowohl für die erniedrigten Druckschmerzschwellen als auch für die Bewertung überschwelliger Hitzeschmerzreize eine signifikante Korrelation mit den Plasmakonzentrationen des pro-inflammatorischen Zytokins IL-8 feststellen. In weiteren Studien konnte auch für eine erhöhte viszerale Schmerzsensitivität ein Zusammenhang mit den gemessenen Plasmakonzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine gezeigt werden (Benson et al., 2012; Benson et al., 2015). Darüber hinaus korrelierten in einer fMRI-Studie erhöhte Zytokinspiegel mit Veränderungen der neuronalen Aktivität in Antwort auf viszerale Schmerzreize nach Gabe von LPS (Benson et al., 2015). Insgesamt weisen diese Ergebnisse

auf einen Zusammenhang zwischen der LPS-induzierten Immunantwort im Sinne erhöhter Zytokinspiegel und einer erhöhten Schmerzsensitivität hin. Diese korrelativen Befunde decken sich auch mit den Ergebnissen unserer Studie. Eine signifikant erhöhte muskuloskelettale Schmerzsensitivität ließ sich bei der Mehrzahl der getesteten Muskelgruppen nur in Zusammenhang mit der höheren Dosis LPS und den damit verbundenen höheren Zytokinspiegeln beobachten.

In den Korrelationsanalysen ergab sich weiterhin ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem maximalen Anstieg von IL-6 und der Zunahme von Zustandsangst und negativer Stimmung, was in Übereinstimmung mit früheren Befunden steht (Grigoleit et al., 2011; Reichenberg et al., 2001; Wright et al., 2005). Darüber hinaus bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen der LPS-induzierten Verschlechterung der Stimmung und den reduzierten Druckschmerzschwellen im Bereich der Schulter, was auf einen potentiellen Einfluss von LPS-induzierten Stimmungsveränderungen auf die Schmerzsensitivität hindeuten könnte. Dies bestätigte sich beispielhaft auch in der multiplen Regressionsanalyse für den M. deltoideus, in der die LPS-induzierte Stimmungsveränderung einen größeren Beitrag zur Varianzaufklärung leistete als der LPS-induzierte Anstieg pro-inflammatorischer Zytokine. Dennoch zeigte sich in einer Kovarianzanalyse, in welcher der Einfluss der Stimmung statistisch kontrolliert wurde, dass auch unabhängig von der Stimmung ein signifikanter Effekt von LPS auf die Druckschmerzschwellen besteht. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnten andere Studien zwar eine signifikante Zunahme der Zustandsangst nach Gabe von LPS beobachten, jedoch keine Korrelation zu einer erhöhten Schmerzsensitivität finden (Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015), während andere Studien keinen signifikanten Effekt von LPS auf die Stimmung feststellen konnten (Benson et al., 2012). Wenngleich die Befundlage noch heterogen ist, legen die bisherigen Daten die Schlussfolgerung nahe, dass eine Zunahme der Schmerzsensitivität nach Gabe von LPS nicht ausschließlich auf einer LPS-induzierten Verschlechterung der Stimmung und einer daraus resultierenden Verzerrung der Symptomwahrnehmung oder -darstellung beruht.

### Signalwege

Davon ausgehend, dass LPS eine systemische Immunaktivierung hervorruft und damit eine verstärkte Schmerzsensitivität einhergeht, stellt sich die Frage nach den zugrundeliegenden Mechanismen. Aus verschiedenen Studien ist bekannt, dass die



experimentelle Gabe von Zytokinen zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung führen kann (Ferreira et al., 1988; Kawasaki et al., 2008; Maier et al., 1993; Reeve et al., 2000). Im peripheren Gewebe können Zytokine die Erregbarkeit von primären nozizeptiven Afferenzen erhöhen, was als periphere Sensitivierung bezeichnet wird und unabhängig von zentralnervösen Veränderungen auftritt (Basbaum et al., 2009; Dubin et al., 2010; Gold et al., 2010; Uceyler et al., 2008). Systemisch appliziertes LPS bindet über TLR-4 an Makrophagen und andere Immunzellen, die daraufhin pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  produzieren (Akira et al., 2001; Beutler, 2000). Sowohl in unserer als auch in anderen Studien konnte ein signifikanter Anstieg von Zytokinen jedoch schon einige Zeit vor einer erhöhten Schmerzwahrnehmung gemessen werden, was die Vermutung nahe legt, dass die durch LPS induzierte Hyperalgesie eher auf zentralen als auf peripheren Mechanismen beruht. In tierexperimentellen Studien konnte bereits eine zentrale Komponente für die verstärkte Schmerzwahrnehmung nach Gabe von LPS gezeigt werden (Watkins et al., 1997; Watkins et al., 1994; Wiertelak et al., 1994). Neuere Studien deuten nun auch auf einen zentral vermittelten Mechanismus beim Menschen hin.

Hutchinson et al. (2013) erbrachten als Erste einen möglichen Hinweis auf die zentrale Vermittlung der Effekte von LPS auf die Schmerzwahrnehmung beim Menschen. In ihrer Studie konnten sie zeigen, dass Allodynie und Hyperalgesie nach intradermaler Injektion von Capsaicin durch vorherige Gabe von LPS verstärkt werden konnten. Da Allodynie auf zentralen Mechanismen beruht (Basbaum et al., 2009; Latremoliere et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011), erscheint es wahrscheinlich, dass die schmerzverstärkende Wirkung von LPS ebenfalls zentral vermittelt wird. Allerdings konnten Hutchinson et al. (2013) nach Gabe von LPS alleine keine Allodynie oder Hyperalgesie beobachten, nach alleiniger Injektion von Capsaicin jedoch schon. Weitere Hinweise auf die zentrale Wirkung von LPS auf die Schmerzwahrnehmung erbrachten schließlich Benson et al. (2015) mit einer fMRI-Studie. Sie konnten zeigen, dass es nach Gabe von LPS zu einer veränderten Verarbeitung von Schmerzreizen im Gehirn kommt. In einer randomisierten Studie applizierten sie männlichen Probanden 0,4 ng/kg KG LPS oder Placebo und erfassten die neuronale Aktivität in Reaktion auf viszerale und somatische Schmerzreize mittels funktioneller Magnetresonanztomographie. Zwei Stunden nach Gabe von LPS zeigte sich eine signifikant erhöhte neuronale Aktivität in den durch rektale Distensionen aktivierten Hirnregionen als Hinweis auf eine zentral modifizierte Wahrnehmung viszeraler Schmerzreize. Im Gegensatz dazu ließ sich

kein Effekt auf die somatische Schmerzwahrnehmung beobachten. Allerdings verwendeten Benson et al. (2015) als somatischen Schmerzreiz auch die Applikation repetitiver punktueller Reize mittels Pin Prick Stimulatoren auf dem Fußrücken. Analog zu unserer Studie konnten sie nach Gabe von LPS keine verstärkte Schmerzwahrnehmung der kutanen Pin Prick Reize feststellen. Auch andere Studien haben einen schmerzverstärkenden Effekt von LPS hauptsächlich auf die Wahrnehmung tiefer, jedoch nicht kutaner Schmerzreize gezeigt (Hutchinson et al., 2013; Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015). Die Testung muskulärer Druckschmerzschwellen mittels Algometrie wird als etabliertes Verfahren zur Untersuchung der tiefen Schmerzwahrnehmung angesehen (Basbaum et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Woolf, 2011). Allerdings ist das Algometer nur eingeschränkt für Untersuchungen im MRI geeignet und weiterführende Studien mit anderen somatischen Schmerzmodellen fehlen bislang. Zusammengefasst konnten Benson et al. (2015) somit zeigen, dass es durch die Gabe von LPS zu einer veränderten zentralen Verarbeitung viszeraler Schmerzreize kommt, was eine mögliche ursächliche Komponente bei der Entstehung einer verstärkten Schmerzsensitivität nach Gabe von LPS darstellt. In der genannten Studie konnten allerdings keine vergleichbaren Effekte für die Verarbeitung somatischer Schmerzreize beobachtet werden. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich jedoch ein vergleichbarer zentraler Mechanismus, wie für viszerale Schmerzreize beobachtet, nicht ausschließen, da das von Benson et al. (2015) verwendete somatische Schmerzmodell (Pin Prick) keine Empfindlichkeit gegenüber der Gabe von LPS aufwies.

Weitere Unterstützung erfährt die Hypothese eines zentral vermittelten Effektes durch die Ergebnisse von Karshikoff et al. (2015). Zusätzlich zu thermischen und mechanischen Schmerzreizen testeten sie in ihrer Studie auch die Effekte von LPS auf die endogene Schmerzhemmung (Conditioned Pain Modulation). Zur Auslösung dieser zentralen Schmerzhemmung durch absteigende Bahnen nutzten sie Eiswasser als starken nozizeptiven Reiz. Während die Probanden ihre Hand in Eiswasser hielten, wurden die Druckschmerzschwellen des M. trapezius wiederholt mittels Algometrie erfasst. Während sich in der Männer- und Placebo-Gruppe eine intakte endogene Schmerzhemmung zeigte, war diese bei Frauen nach Gabe von LPS verändert. Somit ergeben sich durch diese Studie zumindest für Frauen weitere Hinweise auf eine zentrale Wirkung von LPS auf die Schmerzwahrnehmung. Allerdings müssen diese Hinweise mit Vorsicht interpretiert werden, da in der vorliegenden Studie kein Vergleich der Gruppen vor Gabe von LPS stattfand und

somit nicht eindeutig ist, ob die Geschlechtsunterschiede in der endogenen Schmerzhemmung möglicherweise nicht unabhängig von LPS-Effekten bestanden.

Insgesamt verdichten sich damit jedoch die Hinweise, dass die schmerzverstärkende Wirkung von LPS auch beim Menschen auf einer Beteiligung zentraler Mechanismen beruht. Zum aktuellen Zeitpunkt werden jedoch noch weiterführende Studien benötigt, um diesen Zusammenhang näher zu untersuchen. Insbesondere bleibt es bislang nur unvollständig untersucht, über welche Prozesse im Einzelnen die Wirkung von LPS auf die Schmerzwahrnehmung im zentralen Nervensystem vermittelt wird.

Vor diesem Hintergrund bieten Studien zur Untersuchung des Sickness Behavior weitere Erkenntnisse. Unter dem Begriff Sickness Behavior werden Verhaltensänderungen, welche im Rahmen von systemischen Entzündungsreaktionen auftreten, zusammengefasst (Dantzer et al., 2000; Hart, 1988; Kent et al., 1992). Eine verstärkte Schmerzwahrnehmung wird als eine Komponente dieser adaptiven Verhaltensänderungen verstanden (Maier et al., 1992; Wiertelak et al., 1994). Die Gabe von Endotoxin als etabliertes experimentelles Krankheitsmodell ruft beim Menschen Verhaltensänderungen im Sinne eines Sickness Behavior hervor (Bahador et al., 2007; DellaGioia et al., 2010; Grigoleit et al., 2011; Kullmann et al., 2011; Reichenberg et al., 2001; Schedlowski et al., 2014). In tierexperimentellen Studien wurden die Signalwege eingehend untersucht, über welche das Immunsystem mit dem ZNS im Rahmen des Sickness Behavior kommuniziert. Endotoxin induziert über die Bindung an TLR-4 in der Peripherie die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine (Akira et al., 2001; Beutler, 2000). Neben einer möglichen lokalen Wirkung können diese Zytokine verschiedene humorale und neuronale Signalwege aktivieren. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass LPS bzw. die durch LPS produzierten Zytokine sensorische Nervenfasern im Gewebe erregen können, welche das Signal an das ZNS weiterleiten (Bluthe et al., 1994; Romeo et al., 2001; Roth et al., 2001). Eine solche Aktivierung neuronaler Wege konnte für die beobachtete Hyperalgesie nach intraperitonealer Gabe von LPS aufgezeigt werden (Watkins et al., 1994). Darüber hinaus können periphere Zytokine die Produktion zentraler Zytokine und Prostaglandine über Zellen in der Blut-Hirn-Schranke und den zirkumventrikulären Organen induzieren (Konsman et al., 2004; Quan et al., 1998). Im ZNS kommt es dann zu einer Signalausbreitung, indem die Zytokine ihre weitere Produktion durch ortsansässige Glia induzieren (Dantzer et al., 2000; Rothwell et al., 1995). Bei der Entstehung der Verhaltensänderungen im Rahmen des Sickness Behavior wird dieser

zentralen Produktion von Zytokinen eine Schlüsselrolle zugeschrieben (Dantzer et al., 2000; Dantzer et al., 2008; Larson et al., 2001; Rothwell et al., 1995). Für das Auftreten der Hyperalgesie scheinen zudem maßgeblich spinale Glia verantwortlich zu sein, die nach ihrer Aktivierung im Hinterhorn des Rückenmarks Zytokine und andere Mediatoren freisetzen (Maier et al., 1993; Watkins et al., 2000, 2005; Watkins et al., 1997; Wieseler-Frank et al., 2005). Spinale Glia können sowohl humoral durch Immunmediatoren als auch neuronal durch absteigende Bahnen aktiviert werden (Basbaum et al., 2009; Grace et al., 2014; Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2000, 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). Die Aktivierung spinaler Glia im Hinterhorn kann zu einer zentralen Sensitivierung und damit zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung führen (Basbaum et al., 2009; Latremoliere et al., 2009; Wieseler-Frank et al., 2005).

Bislang stammen sämtliche Erkenntnisse über die genaueren Schaltkreise bei der Entstehung der durch LPS induzierten Hyperalgesie ausschließlich aus tierexperimentellen Studien, wodurch die Übertragbarkeit auf den Menschen eingeschränkt bleibt. Neuere Studien haben jedoch Hinweise darauf gegeben, dass die verstärkte Schmerzwahrnehmung nach Gabe von LPS auch beim Menschen auf zentralen Mechanismen beruht (Benson et al., 2015; Hutchinson et al., 2013). Zur Klärung der Frage, ob für diesen Effekt beim Menschen dieselben oder ähnliche zentrale Mechanismen wie in Tierstudien ursächlich sind, bedarf es zum aktuellen Zeitpunkt jedoch noch weiterer Forschung.

### Klinische Implikationen

Da wir in unserer Studie zeigen konnten, dass eine experimentelle systemische Immunaktivierung bei gesunden, männlichen Probanden zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung führt, stellt sich die Frage, ob sich unsere Ergebnisse auch auf chronische Krankheitsprozesse übertragen lassen. Bereits seit einigen Jahren wird eine Verbindung von chronischen Schmerzen mit Veränderungen der Kommunikation zwischen Immun- und Nervensystem angenommen (Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012; Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2005; Willemsen et al., 2014). In diesem Kontext haben viele Studien ein Ungleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen bei chronischen Schmerzpatienten untersucht (Bjurstrom et al., 2014; Uceyler et al., 2008). Erste Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen erhöhten Zytokinen und chronischen Schmerzen stammen aus Untersuchungen von Patienten mit Erythema nodosum leprosum,

einer schmerzhaften Unterform der Lepra (Sampaio et al., 1993). Weitere Studien haben Veränderungen der Plasmazytokinkonzentrationen auch bei anderen chronischen Schmerzerkrankungen wie Neuropathien (Lindenlaub et al., 2003; Uceyler, Rogausch, et al., 2007), CRPS (Uceyler, Eberle, et al., 2007), Ischialgien nach Bandscheibenvorfall (Brisby et al., 2002), Fibromyalgiesyndrom (Uceyler et al., 2011) oder Reizdarmsyndrom (Elsenbruch, 2011) beschrieben. Die entscheidende Schaltstelle für die Entstehung chronischer Schmerzen könnten dabei spinale Glia sein (Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). Spinale Glia bewirken nach ihrer Aktivierung eine zentrale Sensitivierung und damit eine verstärkte Schmerzwahrnehmung (Basbaum et al., 2009; Latremoliere et al., 2009; Wieseler-Frank et al., 2005). Der Mechanismus der zentralen Sensitivierung scheint mit einer Reihe von chronischen Schmerzsyndromen (Baumgartner et al., 2002; Milligan et al., 2009; Woolf, 2011) und insbesondere auch mit chronischen muskuloskelettalen Schmerzen (Graven-Nielsen et al., 2002) in Verbindung zu stehen. Die Aktivierung spinaler Glia kann sowohl durch inflammatorische Mediatoren als auch durch Neurotransmitter ausgelöst werden (Basbaum et al., 2009; Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2000, 2005; Watkins et al., 1997). Ferner haben Studien gezeigt, dass Glia als immunkompetente Zellen auch TLR exprimieren, welche nicht nur infektiöse Pathogene erkennen, sondern auch endogene Signalstoffe wie Hitzeschockproteine (HSP) binden (Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012; Sandkuhler, 2009). Die Bindung an TLR-4 induziert die Produktion von Zytokinen (Akira et al., 2001; Beutler, 2000), welche im Hinterhorn zu einer zentralen Sensitivierung führen können (Grace et al., 2014; Kawasaki et al., 2008; Milligan et al., 2009; Watkins et al., 2005). Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass sowohl TLR-4 als auch andere TLRs an der Entstehung chronischer Schmerzen beteiligt sind und für diesen Effekt eine Sensitivierung von Glia und TLRs verantwortlich sein könnte (Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012).

Beim Menschen konnten bereits mehrere Studien ein gemeinsames Vorhandensein von chronischen Schmerzen und immunologischen Veränderungen nachweisen. Jedoch lässt sich dadurch alleine noch nicht auf einen kausalen Zusammenhang schließen. Ein möglicherweise ursächlicher Zusammenhang wird durch die Tatsache unterstützt, dass verschiedene chronische Schmerzerkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis in der Praxis bereits erfolgreich mit immunmodulierenden Therapien behandelt werden (Bjurstrom

et al., 2014; Brennan et al., 2008; Uceyler et al., 2008). Aktuell wird die Wirksamkeit immunmodulierender Therapien auch für weitere chronische Schmerzerkrankungen erforscht (Bjurstrom et al., 2014; Uceyler, Eberle, et al., 2007; Uceyler et al., 2008). Unsere Studie bietet damit einen neuartigen experimentellen Ansatz, um diesen Zusammenhang unter kontrollierten Bedingungen bei Gesunden zu untersuchen. Dabei konnten wir in unserer Studie eine klare Zeitabfolge für die Induktion einer systemischen Immunreaktion und das Auftreten einer verstärkten Schmerzwahrnehmung zeigen. Diese zeitliche Abfolge unterstützt die Hypothese eines kausalen Zusammenhangs. Jedoch konnten bisherige Studien noch keinen sicheren Beweis für diese Verbindung erbringen und über die genauen Signalwege kann aktuell nur auf der Grundlage von Tierstudien gemutmaßt werden. Nach aktuellem Kenntnisstand wird für die immunvermittelte Hyperalgesie nach Gabe von LPS die Aktivierung spinaler Glia und die damit einhergehende zentrale Sensitivierung im Hinterhorn verantwortlich gemacht (Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2000, 2005; Watkins et al., 1997). Da die Aktivierung spinaler Glia auch als zentraler Bestandteil bei der Entstehung chronischer Schmerzen angesehen wird (Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005), könnte die Gabe von LPS somit zukünftig auch als ein geeignetes Modell zur experimentellen Untersuchung der neuroimmunologischen Mechanismen bei chronischen Schmerzen dienen.

### Limitationen

Die Ergebnisse unserer Studie sollten unter Berücksichtigung einiger Limitationen diskutiert werden. So haben wir die Auswirkungen einer systemischen Immunreaktion auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung nur anhand von zwei Schmerzmodellen getestet. Weitere Studien sollten auch andere Schmerzmodalitäten und weitere Schmerzmodelle einbeziehen. An dieser Stelle könnten unter Kenntnis optimaler Dosierungen und Messzeitpunkte auch feinere Testverfahren wie das QST-Protokoll von Rolke et al. (2006) zum Einsatz kommen, wobei auch in Zukunft der zeitliche Aufwand ein einschränkender Faktor bleiben wird. Weiterführende Studien könnten somit dazu beitragen, die Wirkung von LPS auf verschiedene Schmerzformen und auch die zugrundeliegenden Mechanismen besser zu verstehen.

Weiterhin induziert die Gabe von LPS nur eine vorübergehende Immunaktivierung, so dass nicht schlüssig beantwortet werden kann, welcher Stellenwert diesem Modell bei

Zuständen mit chronischer Immunaktivierung zukommt. Der Großteil der Untersuchungen, welche die Bedeutung spinaler Glia bei der Entstehung akuter und chronischer Schmerzen belegen, stammt aus tierexperimentellen Studien. Somit bleibt unklar, in wie weit die zugrundeliegenden Mechanismen bei der Entstehung chronischer Schmerzen und der durch LPS vermittelten Hyperalgesie beim Menschen Gemeinsamkeiten aufweisen. Darüber hinaus haben wir in unserer Studie nur junge, gesunde Probanden untersucht. Chronische Schmerzen weisen jedoch eine höhere Prävalenz im Alter auf (Breivik et al., 2006), wobei es Hinweise für eine erhöhte Aktivität des angeborenen Immunsystems mit zunehmendem Alter gibt (Dantzer et al., 2008). Bei chronischen Schmerzpatienten besteht zudem eine erhöhte Komorbidität mit depressiven Störungen und zunehmend werden gemeinsame Ursachen bei der Entstehung dieser beiden Krankheitsbilder vermutet (Dantzer et al., 2008; Walker et al., 2014). In diesem Zusammenhang erscheint es von besonderem Interesse, dass wir in unserer Studie auch bei jungen, gesunden Probanden einen messbaren Effekt der Stimmung auf die muskuloskelettale Schmerzwahrnehmung finden konnten. In der Pathophysiologie chronischer Schmerzen wird dem Einfluss negativer Emotionen bei der Wahrnehmung und Bewertung von Schmerzreizen eine besonders bedeutende Rolle zugeschrieben (Eccleston, 2001; Elsenbruch, 2011; Wiech et al., 2009). Darüber hinaus konnten bei chronischen Schmerzpatienten veränderte neuronale Aktivitäten bei der Verarbeitung von Schmerzen sowie auch strukturelle Veränderungen in schmerzverarbeitenden Netzwerken gefunden werden (Apkarian et al., 2005; Schweinhardt et al., 2010). Insbesondere scheint es zu einer Störung der Schmerzmodulation und zu einer vermehrten Aktivierung von emotionalen und kognitiven schmerzverarbeitenden Hirnarealen zu kommen (Apkarian et al., 2005; Schweinhardt et al., 2010; Wiech et al., 2009). Bei Patienten mit depressiven Störungen sowie chronischen Schmerzerkrankungen konnten auch Veränderungen in Neurotransmittersystemen nachgewiesen werden (Schweinhardt et al., 2010; Walker et al., 2014). Zusätzlich gibt es Hinweise für Veränderungen neuroendokriner Feedback-Schleifen wie eine erhöhte Aktivität der HPA-Achse (Dantzer et al., 2008). Außerdem können Glukokortikoide und Sexualhormone Einfluss auf die Signaleigenschaften von TLR nehmen, welche im Zusammenhang mit der Entstehung chronischer Schmerzen gesehen werden (Nicotra et al., 2012).

Zusammenfassend können alle der oben genannten Veränderungen entscheidend zur Entstehung chronischer Schmerzen beitragen, wobei die Bedeutung einzelner Faktoren

bislang ungeklärt bleibt. Einer Hypothese zufolge können sowohl depressive Störungen als auch chronische Schmerzen als „fehlreguliertes“ Sickness Behavior infolge einer Immunaktivierung angesehen werden (Dantzer et al., 2008; Gold et al., 2010; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). In diesem Sinne stellen Veränderungen der oben genannten Systeme Risikofaktoren für eine derartige Fehlregulation dar und begünstigen damit die Entstehung eines maladaptiven Zustandes mit Fortbestehen immunvermittelter Verhaltensänderungen (Dantzer et al., 2008). Auf der anderen Seite ist aber auch bekannt, dass chronischer Stress zu einer unterschweligen systemischen Entzündungsreaktion führen kann (Kiecolt-Glaser et al., 2003). Somit könnte die beobachtete erhöhte Aktivität des Immunsystems bei chronischen Schmerzpatienten auch als Folge einer chronischen Stresssituation auftreten. Ebenfalls wäre es denkbar, dass sich chronischer Schmerz und chronische Immunaktivierung in einem Kreislauf gegenseitig begünstigen. Nach heutigem Wissensstand bedarf es daher weiterer Studien, um die komplexen Zusammenhänge zwischen Schmerzwahrnehmung, Aktivität des Immunsystems, Veränderungen endokriner und neuronaler Systeme sowie Emotion und Kognition weiter zu untersuchen.

Eine weitere Einschränkung unserer Studie besteht darin, dass wir nur männliche Probanden untersucht haben. Epidemiologische Studien belegen allerdings eine höhere Prävalenz von chronischen Schmerzen bei Frauen (Bartley et al., 2013), was auf Unterschiede in der Schmerzmodulation bei Männern und Frauen hinweisen könnte. In diesem Kontext haben zwei neuere Studien die Schmerzwahrnehmung nach Gabe von LPS auch bei Frauen untersucht (Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015). In einer randomisierten, doppelblinden cross-over Studie applizierten Wegner et al. (2015) LPS in einer Dosis von 0,4 ng/kg KG und untersuchten die viszerale und somatische Schmerzsensitivität bei Frauen und Männern. Dabei konnten sie zeigen, dass die Gabe von LPS bei Männern und Frauen zu einer signifikanten Abnahme der Schmerzschwellen für rektale Distensionen sowie auch der Druckschmerzschwellen verschiedener Muskelgruppen führte. In Übereinstimmung mit Untersuchungen von Rolke et al. (2006) konnten Wegner et al. (2015) in ihrer Studie bei Frauen insgesamt signifikant niedrigere Druckschmerzschwellen als bei Männern feststellen. Jedoch ergaben sich weder für die viszerale noch für die somatische Schmerzsensitivität signifikante Geschlechtsunterschiede in der Reaktion auf LPS. Ähnliche Ergebnisse ergab die Studie von Karshikoff et al. (2015). Sie applizierten Männern und Frauen 0,6 ng/kg KG LPS in einer randomisierten, doppelblinden, kontrollierten



Studie. In Übereinstimmung mit Wegner et al. (2015) konnten sie nach Gabe von LPS für beide Geschlechter signifikant erniedrigte Druckschmerzschwellen feststellen. Dabei fanden Karshikoff et al. (2015) ebenfalls keine Gruppenunterschiede zwischen Männern und Frauen. In ihren weiteren Untersuchungen konnten Karshikoff et al. (2015) jedoch in der Frauengruppe einen signifikanten Effekt von LPS auf die Wahrnehmung überschwelliger Hitzereize und die endogene Schmerzhemmung feststellen, welcher sich in der Männergruppe nicht nachweisen ließ. Einschränkend muss dabei festgestellt werden, dass in der Studie von Karshikoff et al. (2015) bei der Messung der endogenen Schmerzhemmung kein Vergleich der Gruppen vor Gabe von LPS stattfand und somit die Gruppengleichheit nicht sicher angenommen werden kann. Zudem waren die Effekte auf die Wahrnehmung der Hitzeschmerzreize in der Frauengruppe zwar signifikant, aber relativ gesehen auch nur schwach ausgeprägt.

Sowohl Karshikoff et al. (2015) als auch Wegner et al. (2015) fanden stärkere Zytokinantworten bei Frauen gegenüber Männern. Dies erscheint überraschend vor dem Hintergrund, dass sich keine Unterschiede bei der Messung der Druckschmerzschwellen feststellen ließen. Jedoch konnten Wegner et al. (2015) eine lineare Korrelation zwischen Zytokinen und erniedrigten Druckschmerzschwellen nur bei Männern feststellen und es könnte sein, dass dieser Zusammenhang bei Frauen nicht linear verläuft. Karshikoff et al. (2015) fanden ebenfalls eine solche Korrelation für die gesamte LPS-Gruppe, berechneten diese aber nicht getrennt für Männer und Frauen. Somit könnte die stärkere Immunantwort nach Stimulation mit niedrigen Dosen LPS auf eine mögliche Ursache für die höhere Prävalenz chronischer Schmerzen bei Frauen hinweisen. Neben erhöhten Zytokinwerten stellen Sexualhormone eine weitere mögliche Ursache für die erhöhte Prävalenz chronischer Schmerzen bei Frauen dar. Sexualhormone scheinen Einfluss sowohl auf die experimentelle als auch die klinische Schmerzwahrnehmung zu nehmen (Bartley et al., 2013). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Sexualhormone auch mit den Signaleigenschaften von TLR interagieren, welche mit der Entstehung chronischer Schmerzen in Verbindung gebracht werden (Nicotra et al., 2012).

Somit kann gesagt werden, dass die Gabe von LPS sowohl bei Männern als auch Frauen ein geeignetes Modell für die Untersuchung der Zusammenhänge einer Immunaktivierung und der Schmerzsensitivität darstellt. Anhand der vorliegenden Studien konnte zumindest für die Wirkungen von LPS auf die somatischen und viszerale Druckschmerzschwellen kein

Geschlechtsunterschied nachgewiesen werden. Somit lassen die Ergebnisse unserer Studie, welche zeit- und dosisabhängige Effekte von LPS auf die muskuloskelettale Schmerzwahrnehmung bei gesunden, männlichen Probanden zeigen konnte, wahrscheinlich auch auf Frauen übertragen.

### Schlussfolgerung und Ausblick

Chronische Schmerzen treten als häufiges Problem in der medizinischen Behandlung auf. Viele Studien deuten darauf hin, dass Störungen des Immunsystems eine Rolle bei der Entstehung pathologischer Schmerzen spielen. Vor diesem Hintergrund war es das Ziel unserer Studie, diesen Zusammenhang experimentell an gesunden, männlichen Probanden zu erforschen. Hierfür untersuchten wir in einem experimentellen Krankheitsmodell die somatosensorische Schmerzwahrnehmung anhand verschiedener Schmerzmodelle zu wiederholten Messzeitpunkten. Durch Applikation von LPS konnten wir eine akute systemische Immunreaktion mit einer Erhöhung von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen, des Plasmacortisols sowie der Körpertemperatur induzieren. Nach LPS-induzierter Immunaktivierung konnten wir signifikant reduzierte Druckschmerzschwellen in allen untersuchten Muskelgruppen feststellen, was auf eine ausgedehnte, erhöhte muskuloskelettale Schmerzsensitivität hinweist. Diese Ergebnisse werden durch unabhängige und zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführte Studien bestätigt (de Goeij et al., 2013; Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015). Gemäß unserer Hypothese konnten wir in einen zeitabhängigen Verlauf die stärkste Reaktion 3 Stunden nach Injektion und eine Normalisierung 6 Stunden nach Injektion beobachten. Zusätzlich bestanden dosisabhängige Unterschiede mit den hauptsächlichsten Veränderungen nach Gabe der höheren Dosierung (0,8 ng/kg KG LPS). In der niedrigen Dosierung (0,4 ng/kg KG LPS) zeigten sich hingegen nur im Bereich des unteren Rückens signifikant reduzierte Druckschmerzschwellen. An dieser Stelle kann neben einem dosisabhängigen auch ein ortsabhängiger Effekt diskutiert werden. In diesem Sinne wäre es möglich, dass der untere Rücken empfindlicher auf eine immunvermittelte Hyperalgesie reagiert als andere Muskelpartien. Diese Beobachtung erscheint besonders interessant, wenn man beachtet, dass der untere Rücken eine der häufigsten Lokalisationen chronischer Schmerzen ausmacht (Breivik et al., 2006).

Im Gegensatz zu den Effekten auf die Druckschmerzschwellen konnten wir nach Gabe von LPS keine signifikante Veränderung der mechanischen Hyperalgesie oder Allodynie

beobachten, wobei andere Studien vergleichbare Ergebnisse ergeben haben (Benson et al., 2015; Hutchinson et al., 2013). Lediglich in einer Studie von de Goeij et al. (2013) konnten in einem dem Pin Prick vergleichbaren Schmerzmodell signifikante Unterschiede nach Gabe von LPS festgestellt werden, wobei de Goeij et al. (2013) im Gegensatz zu unserer und anderen Studien eine wesentliche höhere Dosis LPS applizierten (2 ng/kg KG). Folglich könnte LPS in verschiedenen Dosierungen unterschiedliche Schmerzmodalitäten beeinflussen. Möglicherweise reagieren aber auch verschiedene nozizeptive Fasern unterschiedlich sensibel auf die Gabe von LPS. Hier sind vor allem C-Fasern bedeutsam, da sie tierexperimentell bereits im Zusammenhang mit einer immunvermittelten Hyperalgesie beschrieben wurden (Sandkuhler, 2009). Mechanische kutane Schmerzreize erregen überwiegend A $\delta$ -Fasern, während tiefe muskuläre Schmerzreize auch über C-Fasern geleitet werden, was eine mögliche Erklärung für die beobachteten Unterschiede in den getesteten Schmerzmodellen bietet.

In den durchgeführten Korrelationsanalysen zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen den Plasmakonzentrationen von IL-6 und der Abnahme der Druckschmerzschwellen, was unsere Hypothese eines dosisabhängigen Effektes weiter stützt. Dieser Zusammenhang konnte auch in anderen Studien sowohl für somatosensorische Schmerzen (Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015) als auch für viszerale Schmerzen (Benson et al., 2012; Benson et al., 2015; Wegner et al., 2015) bestätigt werden. Aus Studien ist bekannt, dass psychologische Parameter ebenfalls Einfluss auf die Schmerzwahrnehmung nehmen können (Eccleston, 2001; Wiech et al., 2009). In unserer Studie konnten wir nach Gabe von LPS auch eine Zunahme der Zustandsangst und eine Abnahme der aktuellen Befindlichkeit feststellen, was in Übereinstimmung zu anderen Studien steht (Benson et al., 2015; Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015). Dabei zeigte sich eine Korrelation der Abnahme der Druckschmerzschwellen mit den Werten für Zustandsangst und für schlechte Stimmung. Insgesamt weisen die Befunde der Kovarianzanalyse jedoch darauf hin, dass die verstärkte Schmerzwahrnehmung nach Gabe von LPS nicht ausschließlich durch eine LPS-induzierte Verschlechterung der Stimmung zu erklären ist.

Die klare Zeitabfolge der Intervention und der gemessenen Effekte in unserer Studie legt die Annahme eines kausalen Zusammenhanges nahe, jedoch bleiben der genaue Wirkmechanismus sowie die zugrundeliegenden Signalwege weiterhin nur unvollständig erforscht. Anhand der aktuellen Studienlage erscheint es wahrscheinlich, dass LPS seine

Effekte im Nervensystem zentral und nicht peripher vermittelt, was tierexperimentell bereits bestätigt werden konnte (Watkins et al., 1997; Watkins et al., 1994; Wiertelak et al., 1994). Auch beim Menschen weisen inzwischen mehrere aktuelle Studien auf einen solchen zentral vermittelten Effekt hin (Benson et al., 2015; Hutchinson et al., 2013; Karshikoff et al., 2015). Als einer der Schlüsselmechanismen wird hierbei die Aktivierung spinaler Glia und die damit einhergehende zentrale Sensitivierung angesehen (Sandkuhler, 2009; Watkins et al., 2000, 2005; Watkins et al., 1997).

Fehlregulationen des Immunsystems scheinen mit der Entstehung chronischer Schmerzen in Verbindung zu stehen und mehrere klinische Studien konnten veränderte Plasmakonzentrationen pro- und anti-inflammatorischer Zytokine bei chronischen Schmerzpatienten zeigen (Bjurstrom et al., 2014; Uceyler et al., 2008). Als mögliche Ursache wird auch bei chronischen Schmerzen die Aktivierung spinaler Glia angesehen (Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012; Watkins et al., 2005; Wieseler-Frank et al., 2005). In diesem Sinne könnten chronischen Schmerzen und experimenteller, immunvermittelter Hyperalgesie dieselben Mechanismen zugrunde liegen.

Einschränkungen unserer Studie bestehen darin, dass wir die Auswirkungen einer systemischen Immunreaktion auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung nur anhand von zwei Schmerzmodellen getestet haben. Die Untersuchung weiterer Schmerzmodalitäten könnte dazu beitragen, die Wirkung von LPS auf verschiedene Schmerzformen und auch die zugrundeliegenden Schaltkreise besser zu verstehen. Welche Bedeutung die vorliegenden Ergebnisse auf Basis einer vorübergehenden Immunaktivierung für Zustände chronischer Immunaktivierung haben, bleibt bislang unklar. Bei chronischen Schmerzpatienten können neben Störungen des Immunsystems auch andere Faktoren wie psychische, neuroendokrine und strukturelle zentralnervöse Veränderungen Einfluss auf die Schmerzwahrnehmung nehmen (Apkarian et al., 2005; Dantzer et al., 2008; Eccleston, 2001; Schweinhardt et al., 2010; Walker et al., 2014; Wiech et al., 2009). Zudem haben wir in unserer Studie nur junge männliche Probanden untersucht, wohingegen chronische Schmerzen eine höhere Prävalenz bei Frauen und im Alter aufweisen (Bartley et al., 2013; Breivik et al., 2006). Bisherige Studien konnten überwiegend keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in den Auswirkungen von LPS auf die Schmerzwahrnehmung feststellen (Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015), womit unsere Ergebnisse wahrscheinlich auch Gültigkeit für Frauen haben.

Während die Gabe von LPS als experimentelles Modell zur Auslösung einer systemischen Immunreaktion beim Menschen bereits langjährig etabliert ist (Bahador et al., 2007; Schedlowski et al., 2014), konnten unsere und weitere Studien (Benson et al., 2012; Benson et al., 2015; de Goeij et al., 2013; Hutchinson et al., 2013; Karshikoff et al., 2015; Wegner et al., 2015) zeigen, dass sich LPS auch als experimentelles Modell zur Untersuchung der Zusammenhänge von Immunsystem und Schmerzwahrnehmung eignet. Weitere Studien könnten mehr Einblick in die zugrundeliegenden Mechanismen bei der Kommunikation zwischen diesen beiden Systemen geben. Um die unterschiedlichen Ergebnisse für verschiedene Schmerzmodelle besser zu verstehen, sollten zukünftige Studien den Schwerpunkt auf weitere Schmerzmodalitäten sowie auch die Dosisabhängigkeit der LPS-vermittelten Effekte legen. Außerdem bedarf es weiterführender Studien, um die Frage nach geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Schmerzwahrnehmung zu klären. Nach Erweiterung der Kenntnisse über die verantwortlichen Schaltkreise bei der Kommunikation zwischen Immun- und Schmerzsystem und auch die ursächlichen Mechanismen chronischer Schmerzen, könnte unser Modell möglicherweise zukünftig auch als experimentelles Modell für chronische Schmerzen und deren Behandlungsmöglichkeiten eingesetzt werden. Aktuell befassen sich bereits verschiedene Studien mit der Erforschung neuer Therapiemöglichkeiten chronischer Schmerzen durch Blockade der Aktivierung spinaler Glia oder der Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen (Grace et al., 2014; Milligan et al., 2009; Nicotra et al., 2012). Darüber hinaus kommen immunmodulierende Medikamente teilweise auch schon in der Praxis erfolgreich als Schmerztherapie zum Einsatz (Bjurstrom et al., 2014; Brennan et al., 2008; Sampaio et al., 1993; Uceyler et al., 2008). Weiterführende Studien könnten somit zukünftig die Entwicklung alternativer Therapieformen auf Basis neugewonnener Erkenntnisse ermöglichen.

## 5. Zusammenfassung

In der Erforschung akuter und chronischer Schmerzen wird vielfach der Einfluss des Immunsystems auf die Schmerzwahrnehmung diskutiert. Im Rahmen systemischer Entzündungsreaktionen kommt es zu adaptiven Verhaltensänderungen, die als Sickness Behavior bezeichnet werden und auch eine erhöhte Schmerzsensitivität umfassen. Beim Menschen bietet die Gabe von Endotoxin (Lipopolysaccharid, LPS) ein etabliertes experimentelles Modell, um eine transiente systemische Entzündungsreaktion zu induzieren.

Ziel unserer Studie war es, zeit- und dosisabhängige Effekte von LPS auf die somatosensorische Schmerzwahrnehmung sowie die Zusammenhänge zwischen Immunaktivierung, Schmerzsensitivität und negativen Emotionen zu untersuchen. Hierfür applizierten wir in einer randomisierten, kontrollierten und doppelblinden Studie N=59 gesunden, männlichen Probanden LPS in einer Dosis von 0,4 oder 0,8 ng/kg Körpergewicht oder Placebo. Die somatische Schmerzsensitivität wurde mittels Algometrie und Pin Prick vor (Baseline) sowie 1, 3 und 6 Stunden nach Injektion erhoben. Zytokine, Cortisol und Körpertemperatur wurden vor (Baseline) sowie 1, 2, 3, 4 und 6 Stunden nach Injektion gemessen. Parallel wurden psychologische Parameter mittels etablierter Fragebögen erfasst.

Die Injektion von LPS führte zu einer akuten systemischen Entzündungsreaktion, charakterisiert durch einen signifikanten Anstieg pro- und anti-inflammatorischer Zytokine mit stärkerer Ausprägung in der höheren Dosierung. Im Rahmen der Immunaktivierung wurden in den Schmerztestungen signifikant reduzierte Druckschmerzschwellen in allen untersuchten Muskelgruppen 3 Stunden nach Injektion beobachtet, wobei der Effekt unabhängig von erhobenen psychologischen Parametern und überwiegend in der höheren Dosierung auftrat. Eine Zunahme der mechanischen Schmerzsensitivität ließ sich hingegen nicht feststellen.

Unsere Studie konnte als eine der ersten beim Menschen eine erhöhte muskuloskeletale Schmerzsensitivität im Rahmen einer systemischen Immunaktivierung nach Gabe von LPS zeigen, wobei wir im untersuchten Dosisbereich Hinweise auf einen konzentrationsabhängigen Effekt gefunden haben. Unsere Ergebnisse erweitern den aktuellen Kenntnisstand über immunvermittelte Mechanismen bei der Schmerzwahrnehmung und bieten somit einen potentiellen Beitrag zum besseren Verständnis der Pathophysiologie chronischer Schmerzen und ihrer Therapiemöglichkeiten.

## 6. Literatur

1. Akira, S., Takeda, K., Kaisho, T. (2001). Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2, 675-680.
2. Apkarian, A. V., Bushnell, M. C., Treede, R. D., Zubieta, J. K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain* 9, 463-484.
3. Bahador, M., Cross, A. S. (2007). From therapy to experimental model: a hundred years of endotoxin administration to human subjects. *J Endotoxin Res* 13, 251-279.
4. Banks, W. A. (2005). Blood-brain barrier transport of cytokines: a mechanism for neuropathology. *Curr Pharm Des* 11, 973-984.
5. Bartley, E. J., Fillingim, R. B. (2013). Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *Br J Anaesth* 111, 52-58.
6. Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 139, 267-284.
7. Basbaum, A. I., Fields, H. L. (1984). Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annu Rev Neurosci* 7, 309-338.
8. Baumgartner, 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, 141-151.
9. Beissner, F., Brandau, A., Henke, C., Felden, L., Baumgartner, U., Treede, R. D., Oertel, B. G., Lotsch, J. (2010). Quick discrimination of A(delta) and C fiber mediated pain based on three verbal descriptors. *PLoS One* 5, e12944.
10. Benson, S., Kattoor, J., Wegner, A., Hammes, F., Reidick, D., Grigoleit, J. S., Engler, H., Oberbeck, R., Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2012). Acute experimental endotoxemia induces visceral hypersensitivity and altered pain evaluation in healthy humans. *Pain* 153, 794-799.
11. Benson, S., Rebernik, L., Wegner, A., Kleine-Borgmann, J., Engler, H., Schlamann, M., Forsting, M., Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2015). Neural circuitry mediating inflammation-induced central pain amplification in human experimental endotoxemia. *Brain Behav Immun* 48, 222-231.

12. Besedovsky, H. O., del Rey, A. (1996). Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 17, 64-102.
13. Besson, J. M., Chaouch, A. (1987). Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol Rev* 67, 67-186.
14. Beutler, B. (2000). Tlr4: central component of the sole mammalian LPS sensor. *Curr Opin Immunol* 12, 20-26.
15. Bjurstrom, M. F., Giron, S. E., Griffis, C. A. (2014). Cerebrospinal Fluid Cytokines and Neurotrophic Factors in Human Chronic Pain Populations: A Comprehensive Review. *Pain Pract*
16. Bluthé, R. M., Walter, V., Parnet, P., Laye, S., Lestage, J., Verrier, D., Poole, S., Stenning, B. E., Kelley, K. W., Dantzer, R. (1994). Lipopolysaccharide induces sickness behaviour in rats by a vagal mediated mechanism. *C R Acad Sci III* 317, 499-503.
17. Breivik, H., Collett, B., Ventafridda, V., Cohen, R., Gallacher, D. (2006). Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain* 10, 287-333.
18. Brennan, F. M., McInnes, I. B. (2008). Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 118, 3537-3545.
19. Brisby, H., Olmarker, K., Larsson, K., Nutu, M., Rydevik, B. (2002). Proinflammatory cytokines in cerebrospinal fluid and serum in patients with disc herniation and sciatica. *Eur Spine J* 11, 62-66.
20. Capuron, L., Ravaut, A., Gualde, N., Bosmans, E., Dantzer, R., Maes, M., Neveu, P. J. (2001). Association between immune activation and early depressive symptoms in cancer patients treated with interleukin-2-based therapy. *Psychoneuroendocrinology* 26, 797-808.
21. Cohen, J. (2002). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420, 885-891.
22. Cohen, O., Reichenberg, A., Perry, C., Ginzberg, D., Pollmacher, T., Soreq, H., Yirmiya, R. (2003). Endotoxin-induced changes in human working and declarative memory associate with cleavage of plasma "readthrough" acetylcholinesterase. *J Mol Neurosci* 21, 199-212.



23. Dantzer, R.,Kelley, K. W. (2007). Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun* 21, 153-160.
24. Dantzer, R., Konsman, J. P., Bluthé, R. M.,Kelley, K. W. (2000). Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? *Auton Neurosci* 85, 60-65.
25. Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W.,Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 9, 46-56.
26. de Goeij, M., van Eijk, L. T., Vanelderen, P., Wilder-Smith, O. H., Vissers, K. C., van der Hoeven, J. G., Kox, M., Scheffer, G. J.,Pickkers, P. (2013). Systemic inflammation decreases pain threshold in humans in vivo. *PLoS One* 8, e84159.
27. DellaGioia, N.,Hannestad, J. (2010). A critical review of human endotoxin administration as an experimental paradigm of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 34, 130-143.
28. Dubin, A. E.,Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest* 120, 3760-3772.
29. Eccleston, C. (2001). Role of psychology in pain management. *Br J Anaesth* 87, 144-152.
30. Eisenbruch, S. (2011). Abdominal pain in Irritable Bowel Syndrome: a review of putative psychological, neural and neuro-immune mechanisms. *Brain Behav Immun* 25, 386-394.
31. Ferreira, S. H., Lorenzetti, B. B., Bristow, A. F.,Poole, S. (1988). Interleukin-1 beta as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. *Nature* 334, 698-700.
32. Fields, H. L., Heinricher, M. M.,Mason, P. (1991). Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annu Rev Neurosci* 14, 219-245.
33. Gold, M. S.,Gebhart, G. F. (2010). Nociceptor sensitization in pain pathogenesis. *Nat Med* 16, 1248-1257.
34. Grace, P. M., Hutchinson, M. R., Maier, S. F.,Watkins, L. R. (2014). Pathological pain and the neuroimmune interface. *Nat Rev Immunol* 14, 217-231.
35. Graven-Nielsen, T.,Arendt-Nielsen, L. (2002). Peripheral and central sensitization in musculoskeletal pain disorders: an experimental approach. *Curr Rheumatol Rep* 4, 313-321.

36. Grigoleit, J. S., Kullmann, J. S., Wolf, O. T., Hammes, F., Wegner, A., Jablonowski, S., Engler, H., Gizewski, E., Oberbeck, R., Schedlowski, M. (2011). Dose-dependent effects of endotoxin on neurobehavioral functions in humans. *PLoS One* 6, e28330.
37. Grigoleit, J. S., Oberbeck, J. R., Lichte, P., Kobbe, P., Wolf, O. T., Montag, T., del Rey, A., Gizewski, E. R., Engler, H., Schedlowski, M. (2010). Lipopolysaccharide-induced experimental immune activation does not impair memory functions in humans. *Neurobiol Learn Mem* 94, 561-567.
38. Hart, B. L. (1988). Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev* 12, 123-137.
39. Heinricher, M. M., Tavares, I., Leith, J. L., Lumb, B. M. (2009). Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res Rev* 60, 214-225.
40. Herrmann-Lingen, C., Buss, U., Snaith, R. P. (2011): Hospital Anxiety and Depression Scale - Deutsche Version (HADS-D) (3., aktualisierte und neu normierte Auflage). Manual. Bern: Hans Huber.
41. Hopkins, S. J. (2007). Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. *Acta Biomed* 78 Suppl 1, 231-247.
42. Hutchinson, M. R., Buijs, M., Tuke, J., Kwok, Y. H., Gentgall, M., Williams, D., Rolan, P. (2013). Low-dose endotoxin potentiates capsaicin-induced pain in man: evidence for a pain neuroimmune connection. *Brain Behav Immun* 30, 3-11.
43. Janeway, C. A., Jr. (1992). The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. *Immunol Today* 13, 11-16.
44. Karshikoff, B., Lekander, M., Soop, A., Lindstedt, F., Ingvar, M., Kosek, E., Olgart Hoglund, C., Axelsson, J. (2015). Modality and sex differences in pain sensitivity during human endotoxemia. *Brain Behav Immun* 46, 35-43.
45. Kawasaki, Y., Zhang, L., Cheng, J. K., Ji, R. R. (2008). Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J Neurosci* 28, 5189-5194.
46. Kent, S., Bluthé, R. M., Kelley, K. W., Dantzer, R. (1992). Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci* 13, 24-28.

47. Kiecolt-Glaser, J. K., Preacher, K. J., MacCallum, R. C., Atkinson, C., Malarkey, W. B., Glaser, R. (2003). Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 9090-9095.
48. Konsman, J. P., Vignes, S., Mackerlova, L., Bristow, A., Blomqvist, A. (2004). Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. *J Comp Neurol* 472, 113-129.
49. Kullmann, J. S., Grigoleit, J. S., Schedlowski, M. (2011). Effekte Akuter Entzündungsreaktionen auf Gedächtnisleistungen, Befindlichkeiten und Neurale Aktivitäten. *Z Med Psychol* 20, 108-117.
50. Kwon, M., Altin, M., Duenas, H., Alev, L. (2013). The Role of Descending Inhibitory Pathways on Chronic Pain Modulation and Clinical Implications. *Pain Pract*
51. Lacourt, T. E., Houtveen, J. H., van Doornen, L. J. P. (2012). Experimental pressure-pain assessments: Test-retest reliability, convergence and dimensionality. *Scandinavian Journal of Pain* 3, 31-37.
52. Laflamme, N., Rivest, S. (2001). Toll-like receptor 4: the missing link of the cerebral innate immune response triggered by circulating gram-negative bacterial cell wall components. *FASEB J* 15, 155-163.
53. Larson, S. J., Dunn, A. J. (2001). Behavioral effects of cytokines. *Brain Behav Immun* 15, 371-387.
54. Latremoliere, A., Woolf, C. J. (2009). Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 10, 895-926.
55. Laux, L., Glanzmann, P., Schaffner, P., Spielberger, C. D. (1981): *Das State-Trait-Angstinventar. Theoretische Grundlagen und Handanweisung*. Weinheim: Beltz Testgesellschaft.
56. Lindenlaub, T., Sommer, C. (2003). Cytokines in sural nerve biopsies from inflammatory and non-inflammatory neuropathies. *Acta Neuropathol* 105, 593-602.
57. Maier, S. F., Wiertelak, E. P., Martin, D., Watkins, L. R. (1993). Interleukin-1 mediates the behavioral hyperalgesia produced by lithium chloride and endotoxin. *Brain Res* 623, 321-324.
58. Maier, S. F., Wiertelak, E. P., Watkins, L. R. (1992). Endogenous pain facilitory systems Antianalgesia and Hyperalgesia. *APS Journal* 1, 191-198.

59. Milligan, E. D.,Watkins, L. R. (2009). Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 10, 23-36.
60. Moon, M. L., McNeil, L. K.,Freund, G. G. (2011). Macrophages make me sick: how macrophage activation states influence sickness behavior. *Psychoneuroendocrinology* 36, 1431-1440.
61. Munkholm, K., Vinberg, M.,Vedel Kessing, L. (2013). Cytokines in bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord* 144, 16-27.
62. Nicotra, L., Loram, L. C., Watkins, L. R.,Hutchinson, M. R. (2012). Toll-like receptors in chronic pain. *Exp Neurol* 234, 316-329.
63. Pollak, Y.,Yirmiya, R. (2002). Cytokine-induced changes in mood and behaviour: implications for 'depression due to a general medical condition', immunotherapy and antidepressive treatment. *Int J Neuropsychopharmacol* 5, 389-399.
64. Potvin, S., Stip, E., Sepehry, A. A., Gendron, A., Bah, R.,Kouassi, E. (2008). Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry* 63, 801-808.
65. Quan, N., Whiteside, M.,Herkenham, M. (1998). Time course and localization patterns of interleukin-1beta messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. *Neuroscience* 83, 281-293.
66. Reeve, A. J., Patel, S., Fox, A., Walker, K.,Urban, L. (2000). Intrathecally administered endotoxin or cytokines produce allodynia, hyperalgesia and changes in spinal cord neuronal responses to nociceptive stimuli in the rat. *Eur J Pain* 4, 247-257.
67. Reichenberg, A., Yirmiya, R., Schuld, A., Kraus, T., Haack, M., Morag, A.,Pollmacher, T. (2001). Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch Gen Psychiatry* 58, 445-452.
68. Rolke, R., Baron, R., Maier, C., Tolle, T. R., Treede, R. D., Beyer, A., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., Botefur, I. C., Braune, S., Flor, H., Huge, V., Klug, R., Landwehrmeyer, G. B., Magerl, W., Maihofner, C., Rolko, C., Schaub, C., Scherens, A., Sprenger, T., Valet, M.,Wasserka, B. (2006). Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain* 123, 231-243.
69. Romeo, H. E., Tio, D. L., Rahman, S. U., Chiappelli, F.,Taylor, A. N. (2001). The glossopharyngeal nerve as a novel pathway in immune-to-brain communication: relevance to neuroimmune surveillance of the oral cavity. *J Neuroimmunol* 115, 91-100.

70. Roth, J., De Souza, G. E. (2001). Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation. *Braz J Med Biol Res* 34, 301-314.
71. Rothwell, N. J., Hopkins, S. J. (1995). Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci* 18, 130-136.
72. Sampaio, E. P., Kaplan, G., Miranda, A., Nery, J. A., Miguel, C. P., Viana, S. M., Sarno, E. N. (1993). The influence of thalidomide on the clinical and immunologic manifestation of erythema nodosum leprosum. *J Infect Dis* 168, 408-414.
73. Sandkuhler, J. (2009). Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol Rev* 89, 707-758.
74. Schedlowski, M., Engler, H., Grigoleit, J. S. (2014). Endotoxin-induced experimental systemic inflammation in humans: a model to disentangle immune-to-brain communication. *Brain Behav Immun* 35, 1-8.
75. Schweinhardt, P., Bushnell, M. C. (2010). Pain imaging in health and disease--how far have we come? *J Clin Invest* 120, 3788-3797.
76. Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P., Eid, M. (1997): Der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). Handanweisung. Göttingen: Hogrefe.
77. Tracey, K. J. (2010). Understanding immunity requires more than immunology. *Nat Immunol* 11, 561-564.
78. Uceyler, N., Eberle, T., Rolke, R., Birklein, F., Sommer, C. (2007). Differential expression patterns of cytokines in complex regional pain syndrome. *Pain* 132, 195-205.
79. Uceyler, N., Hauser, W., Sommer, C. (2011). Systematic review with meta-analysis: cytokines in fibromyalgia syndrome. *BMC Musculoskelet Disord* 12, 245.
80. Uceyler, N., Rogausch, J. P., Toyka, K. V., Sommer, C. (2007). Differential expression of cytokines in painful and painless neuropathies. *Neurology* 69, 42-49.
81. Uceyler, N., Sommer, C. (2008). Cytokine regulation in animal models of neuropathic pain and in human diseases. *Neurosci Lett* 437, 194-198.
82. Udina, M., Castellvi, P., Moreno-Espana, J., Navines, R., Valdes, M., Forns, X., Langohr, K., Sola, R., Vieta, E., Martin-Santos, R. (2012). Interferon-induced depression in chronic hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry* 73, 1128-1138.

83. van den Boogaard, M., Ramakers, B. P., van Alfen, N., van der Werf, S. P., Fick, W. F., Hoedemaekers, C. W., Verbeek, M. M., Schoonhoven, L., van der Hoeven, J. G., Pickkers, P. (2010). Endotoxemia-induced inflammation and the effect on the human brain. *Crit Care* 14, R81.
84. Walker, A. K., Kavelaars, A., Heijnen, C. J., Dantzer, R. (2014). Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression. *Pharmacol Rev* 66, 80-101.
85. Wan, W., Janz, L., Vriend, C. Y., Sorensen, C. M., Greenberg, A. H., Nance, D. M. (1993). Differential induction of c-Fos immunoreactivity in hypothalamus and brain stem nuclei following central and peripheral administration of endotoxin. *Brain Res Bull* 32, 581-587.
86. Wang, X., Quinn, P. J. (2010). Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Prog Lipid Res* 49, 97-107.
87. Watkins, L. R., Maier, S. F. (2000). The pain of being sick: implications of immune-to-brain communication for understanding pain. *Annu Rev Psychol* 51, 29-57.
88. Watkins, L. R., Maier, S. F. (2005). Immune regulation of central nervous system functions: from sickness responses to pathological pain. *J Intern Med* 257, 139-155.
89. Watkins, L. R., Martin, D., Ulrich, P., Tracey, K. J., Maier, S. F. (1997). Evidence for the involvement of spinal cord glia in subcutaneous formalin induced hyperalgesia in the rat. *Pain* 71, 225-235.
90. Watkins, L. R., Wiertelak, E. P., Goehler, L. E., Mooney-Heiberger, K., Martinez, J., Furness, L., Smith, K. P., Maier, S. F. (1994). Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia. *Brain Res* 639, 283-299.
91. Wegner, A., Elsenbruch, S., Rebernik, L., Roderigo, T., Engelbrecht, E., Jager, M., Engler, H., Schedlowski, M., Benson, S. (2015). Inflammation-induced pain sensitization in men and women: Does sex matter in experimental endotoxemia? *Pain* 156, 1954-1964.
92. Wiech, K., Tracey, I. (2009). The influence of negative emotions on pain: behavioral effects and neural mechanisms. *Neuroimage* 47, 987-994.
93. Wiertelak, E. P., Smith, K. P., Furness, L., Mooney-Heiberger, K., Mayr, T., Maier, S. F., Watkins, L. R. (1994). Acute and conditioned hyperalgesic responses to illness. *Pain* 56, 227-234.

94. Wieseler-Frank, J., Maier, S. F., Watkins, L. R. (2005). Central proinflammatory cytokines and pain enhancement. *Neurosignals* 14, 166-174.
95. Willemen, H. L., Eijkelkamp, N., Garza Carbajal, A., Wang, H., Mack, M., Zijlstra, J., Heijnen, C. J., Kavelaars, A. (2014). Monocytes/Macrophages control resolution of transient inflammatory pain. *J Pain* 15, 496-506.
96. Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain? *J Clin Invest* 120, 3742-3744.
97. Woolf, C. J. (2011). Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152, S2-15.
98. Wright, C. E., Strike, P. C., Brydon, L., Steptoe, A. (2005). Acute inflammation and negative mood: mediation by cytokine activation. *Brain Behav Immun* 19, 345-350.
99. Young, A. H. (2004). Cortisol in mood disorders. *Stress* 7, 205-208.
100. Zamponi, G. W., Lewis, R. J., Todorovic, S. M., Arneric, S. P., Snutch, T. P. (2009). Role of voltage-gated calcium channels in ascending pain pathways. *Brain Res Rev* 60, 84-89.

## 7. Anhang

### 7.1 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Schematische Übersicht der Signalwege zwischen Immunsystem und zentralem Nervensystem
- Abbildung 2: Schematische Übersicht der Schmerzwahrnehmung und Schmerzmodulation
- Abbildung 3: Studiendesign
- Abbildung 4: Zytokine
- Abbildung 5: Plasmacortisol und Leukozyten
- Abbildung 6: Körpertemperatur und Herzfrequenz
- Abbildung 7: Zustandsangst und Befindlichkeit
- Abbildung 8: Druckschmerzschwellen

### 7.2 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Soziodemographische und psychologische Daten
- Tabelle 2: Mechanische Schmerzsensitivität
- Tabelle 3: Korrelationsanalyse

### 7.3 Abkürzungsverzeichnis

- AMPA  $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure
- ANCOVA Kovarianzanalyse  
(Analysis of covariance)



ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of variance)
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	Body mass index
CD	Cluster of differentiation
CGRP	Calcitonin gene-related peptide
CRPS	Komplexes regionales Schmerzsyndrom (complex regional pain syndrome)
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
E.coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
fMRI	Funktionelle Magnetresonanztomographie (functional magnetic resonance tomography)
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GASE	Generic Assessment of Side Effects
h p.i.	Stunde nach Injektion (hora post injectionem)
HADS	Klinische Angst- und Depressionsskala (Hospital anxiety and depression scale)
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (Hypothalamic-pituitary-adrenal-axis)
HSP	Hitzeschockproteine
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös

IFN	Interferon
IFORES	Interne Forschungsförderung Essen
IL	Interleukin
IL-1ra	Interleukin-1 Rezeptorantagonist
kgf/cm <sup>2</sup>	Kilogram force pro Quadratcentimeter
LPS	Lipopolysaccharid
LWK	Lendenwirbelkörper
M.	Musculus
MDBF	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
MDBF-GS	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen Subskala gute/schlechte Stimmung
MDBF-RU	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen Subskala Ruhe/Unruhe
MDBF-WM	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen Subskala Wachheit/Müdigkeit
MHC	Major histocompatibility complex
MyD88	Myeloid differentiation primary response 88
N.	Nervus
NaCl	Kochsalzlösung (Natriumchlorid)
Ncl.	Nucleus
NF- $\kappa$ b	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
ng/kg KG	Nanogramm pro Kilogramm Körpergewicht
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NRM	Nucleus raphe magnus

NRS	Numerische Rating-Skala
PAG	Periaquäduktales Grau
PAMPs	Pathogen-assoziierte molekulare Muster (Pathogen associated molecular patterns)
PG	Prostaglandin
PRRs	Muster-Erkennungsrezeptoren (Pattern recognition receptors)
QST	Quantitative sensorische Testung
RVM	Rostrale ventromediale Medulla oblongata
SPSS	Statistical package for the social sciences
STAI-S	State-Trait-Angstinventar – State Version
SD	Standardabweichung (Standard deviation)
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumornekrosefaktor
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZVO	Zirkumventrikuläre Organe

## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Sven Benson für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Durch seine kompetente Anleitung und Supervision habe ich mich stets sehr gut betreut gefühlt. Insbesondere möchte ich mich für die vielen konstruktiven Gespräche und seine wertvollen Anregungen bedanken.

Herrn Dr. Alexander Wegner danke ich herzlich für die tolle Zusammenarbeit sowie seine wertvolle Hilfe bei der Rekrutierung und der ärztlichen Betreuung der Probanden. Ohne seine Unterstützung bei der Durchführung der Experimente wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Bei Frau Prof. Dr. Sigrid Elsenbruch möchte ich mich dafür bedanken, dass ich diese Arbeit in ihrer Arbeitsgruppe am Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie durchführen durfte.

Mein weiterer Dank gilt dem Paul-Ehrlich-Institut und insbesondere Herrn Ingo Spreitzer. Die reibungslose Zusammenarbeit bei der Herstellung und Verwendung von Lipolysaccharid hat die Grundlage zur Durchführung dieser Arbeit gebildet.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau Alexandra Kornowski, Frau Magdalene Vogelsang, Frau Bettina Löschner und Herrn Jan-Sebastian Grigoleit für die freundliche Aufnahme im Institut und die technische Unterstützung durch ihre Arbeit im Labor bedanken.

Frau Iris Köster danke ich für ihre zeitaufwendige und geduldige Hilfe bei der Korrektur meiner Sprache und Rechtschreibung.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Mutter. Sie hat mir in allen Phasen mit Verständnis, unaufhörlicher Geduld und dem Glauben an mich beigestanden. Vielen Dank für diese bedingungslose Unterstützung.

## **Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.