

Medizinische Fakultät  
der  
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie

**Effekte einer experimentell induzierten, transienten Immunaktivierung  
auf die viszerale und muskuloskeletale Schmerzsensitivität bei  
gesunden Männern und Frauen - Ein Geschlechtervergleich**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

durch die Medizinische Fakultät

der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von

Elisa Marie Engelbrecht

aus Herdecke

2017

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. rer. medic. S. Benson

2. Gutachter: Frau Univ.-Prof. Dr. rer. nat. S. Moebus

Tag der mündlichen Prüfung: 19. März 2018

**Publikation:**

Wegner, A., Elsenbruch, S., Rebernik, L., Roderigo, T., **Engelbrecht, E.**, Jäger, M., Engler, H., Schedlowski, M., Benson, S. (2015): Inflammation-induced pain sensitization in men and women: Does sex matter in experimental endotoxemia? Pain 156(10), 1954-1964.

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	7
1.1 Schmerz .....	7
1.1.1 Chronische Schmerzsyndrome .....	8
1.1.2 Experimenteller Schmerz .....	9
1.2 Geschlechterunterschiede - „Sex matters“ .....	10
1.2.1 Geschlechterunterschiede bei chronischem Schmerz .....	10
1.2.2 Geschlechterunterschiede bei experimentellem Schmerz .....	11
1.3 Entzündung und Schmerz .....	13
1.3.1 Entzündung und chronischer Schmerz .....	19
1.4 Experimentelle Entzündungsmodelle .....	20
1.4.1 Experimentelle Applikation von LPS (Lipopolysaccharid) .....	21
1.4.2 LPS und Schmerz .....	26
1.4.3 LPS im Geschlechtervergleich .....	28
1.4.4 LPS und Schmerz im Geschlechtervergleich .....	30
1.5 Fragestellung und Hypothesen .....	30
2. Material und Methoden .....	33
2.1 Übersicht .....	33
2.2 Studienkollektiv und Probandensicherheit .....	33
2.3 Studienprotokoll .....	36
2.4 Aufbereitung des LPS .....	38
2.5 Viszerales Schmerzmodell (Rektale Distensionen) .....	38
2.6 Muskuloskelettales Schmerzmodell (Algometrie) .....	40
2.7 Blutanalyse .....	42
2.7.1 Großes Blutbild .....	42
2.7.2 Zytokine, Kortisol und CRP .....	42
2.8 Fragebögen .....	42

2.8.1 Screening-Fragebögen.....	42
2.8.2 Messwiederholte Fragebögen .....	44
2.9 Statistische Auswertung .....	45
2.10 Förderung.....	46
3. Ergebnisse .....	47
3.1 Beschreibung der Stichprobe.....	47
3.2 Leukozyten, Plasmazytokine, Kortisol, Vitalparameter, CRP .....	50
3.2.1 Leukozyten.....	50
3.2.2 Plasmazytokine .....	51
3.2.3 Kortisol .....	52
3.2.4 Vitalparameter.....	53
3.2.5 CRP .....	54
3.3 Viszerale Schmerzsensitivität .....	54
3.4 Muskuloskelettale Schmerzsensitivität.....	55
3.5 Zustandsangst (STAI-S), Mehrdimensionaler Befindlichkeits-.....	57
fragebogen (MDBF), Nebenwirkungen (GASE) .....	57
3.5.1 Zustandsangst (STAI-S).....	57
3.5.2 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) .....	58
3.5.3 Nebenwirkungen (GASE) .....	58
3.6 Korrelation zwischen Schmerzschwellen und Zytokinkonzentrationen.....	58
4. Diskussion.....	60
4.1 Einschränkungen der Studie.....	73
5. Ausblick .....	75
6. Zusammenfassung.....	76
7. Literaturverzeichnis .....	77
8. Anhang .....	87

8.1 Abbildungen .....	87
8.2 Tabellen.....	87
8.3 Abkürzungen .....	88
8.4 Fragebögen .....	91
8.4.1 Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden.....	91
8.4.2 Bewertungsskala rektale Dehnungsreize .....	93
8.5 Danksagung .....	94
8.6 Curriculum Vitae .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Schmerz

Das Thema Schmerz ist im medizinischen Alltag allgegenwärtig. Schmerz wird meist zunächst als ein Symptom wahrgenommen, welches gegebenenfalls einer bestimmten Krankheit oder Verletzung zugeordnet werden kann. In der medizinischen Grundversorgung ist es das häufigste Symptom, welches außerdem für den Patienten in besonderem Maße belastend ist und den Alltag sehr schwer einschränken kann (Walker et al., 2014).

Die *International Association for the Study of Pain* definiert Schmerz als ein „unangenehmes Sinnes- und Gefühlserlebnis, das mit einer tatsächlichen oder drohenden Gewebeschädigung verknüpft ist oder mit Begriffen einer solchen Schädigung beschrieben wird“ (Nobis et al., 2012). Akuter Schmerz dient so als Warnfunktion für den Körper, um vor „drohenden Gewebeschädigungen“ zu schützen (Hutchinson 2014; Walker et al., 2014). „Entwicklungsgeschichtlich gehört der Schmerz zu den frühesten, häufigsten und eindrucklichsten Erfahrungen eines jeden Menschen. Schmerz ist überlebenswichtig – trotz allen Leids, das er bewirken kann“ (Nobis et al., 2012).

Chronischer Schmerz wird im Rahmen von chronischen Schmerzsyndromen allerdings als eigenständiges Krankheitsbild betrachtet, bei dem die nützliche Komponente des Schmerzes als Schutzfunktion verloren gegangen ist (Hutchinson 2014; Sandkühler, 2009). Die Pathophysiologie des Schmerzes ist sehr komplex und so müssen viele Aspekte beachtet werden. Ein wichtiger Aspekt, der in dieser Arbeit genauer betrachtet wird, ist der Zusammenhang von Entzündung und Schmerz, insbesondere im Hinblick auf Unterschiede zwischen Männern und Frauen.

### **1.1.1 Chronische Schmerzsyndrome**

Chronische Schmerzen haben einen großen Stellenwert in der heutigen Gesellschaft und beschäftigen fast jede Fachrichtung in der Medizin (Karshikoff et al., 2015). Länger andauernder Schmerz kann sich zu einer chronisch schmerzhaften Funktionsstörung als eigenständiges Krankheitsbild entwickeln, wobei der Schmerz seine Warnfunktion verloren hat. Eine spezifische Ursache von chronischen Schmerzen ist meist nicht erkennbar, vielmehr handelt es sich um einen komplexen und multikausalen Krankheitsprozess (Nicotra et al., 2012). Die zugrundeliegende Pathophysiologie scheint ein komplexes Zusammenspiel aus biologischen und psychologischen Mechanismen zu sein (Nobis et al., 2012). In der wissenschaftlichen Auseinandersetzung gewinnt der Einfluss des Immunsystems auf die Pathophysiologie chronischer Schmerzen immer größere Bedeutung (Benson et al., 2012b; Nicotra et al., 2012). Besonders in der Pathophysiologie von chronisch viszeralen Schmerzsyndromen mehren sich Hinweise, dass Entzündungsprozesse eine wichtige Rolle spielen.

#### **Muskuloskelettaler Schmerz**

„Muskuloskelettale Erkrankungen sind weltweit die führende Ursache von chronischen Schmerzen, körperlichen Funktionseinschränkungen und Verlust an Lebensqualität“ (Studie GEDA, 2013).

Bei der Arthrose, einem Krankheitsbild, welches den muskuloskelettalen Schmerzen zuzuordnen ist, zeigt sich die Relevanz chronischer Schmerzen in der heutigen Gesellschaft. Laut einer Studie des Robert Koch-Instituts liegt die Gesamtprävalenz in Deutschland für Arthrose bei 23,8%.

Auch am Beispiel Rückenschmerz lässt sich erkennen, wie relevant und allgegenwärtig muskuloskelettale Beschwerden in der westlichen Gesellschaft sind. Hier zeigt sich eine Punktprävalenz von 30 bis 40% (Raspe et al., 2007).



## **Viszeraler Schmerz**

Viszeraler Schmerz kommt im klinischen Alltag sehr häufig vor und ist von großer Relevanz (Benson et al., 2012b; Elsenbruch, 2011). Besonders chronische, abdominale Schmerzen, welche sich am häufigsten in Form eines Reizdarmsyndroms zeigen, sind mit einer Inzidenz von 8 - 23% ein häufiges Krankheitsbild (Benson et al., 2012b; Elsenbruch, 2011). Die Grundsätze „Rest and Digest“ und „Fight or Flight“ als Merkhilfe für die Funktionen des Parasympathikus und des Sympathikus sind wohl allgemein bekannt. Bezüglich des Verdauungstraktes bedeutet dies, dass eine bidirektionale Kommunikation zwischen Gehirn und Verdauungssystem stattfinden muss, damit sich die Funktion des Gastrointestinaltrakts an den Zustand des Organismus anpassen kann. Die Relevanz der bidirektionalen Gehirn-Darm-Interaktion („brain-gut interaction“) ist besonders vor dem Hintergrund gastrointestinaler Erkrankungen wie dem Reizdarmsyndrom wichtig. So erhält das Gehirn konstant interoceptive Informationen vom Gastrointestinaltrakt, ordnet diese Informationen mit weiteren interoceptiven Informationen des gesamten Körpers ein und sendet eine integrierte Antwort zu verschiedenen Zellen des Gastrointestinaltraktes (Mayer et al., 2011).

### ***1.1.2 Experimenteller Schmerz***

Die Erforschung von Schmerz mittels experimenteller Schmerzmodelle kann einen aufschlussreichen Einblick in die Dimensionen des Schmerzes geben und individuelle Unterschiede in der Schmerzwahrnehmung herausarbeiten (Lacourt et al., 2012).

In der vorliegenden Studie wurden viszerale und muskuloskelettale Schmerzen mittels etablierter experimenteller Modelle gemessen.

## **1.2 Geschlechterunterschiede - „Sex matters“**

Die Forschung auf dem Gebiet der geschlechterbedingten Unterschiede bei Schmerz hat in den letzten Jahren vermehrt Aufmerksamkeit gewonnen (Fillingim et al., 2009). Trotz der uneindeutigen Studienlage sind Geschlechterunterschiede im Bereich Schmerz und Entzündung eindeutig vorhanden. Es kann allerdings keine einzelne Ursache für Geschlechterunterschiede benannt werden, sodass wohl eine Vielzahl von Faktoren Geschlechterunterschiede in diesem Bereich bedingt (Berkley et al., 2006).

Im klinischen Alltag und auch bei einem Blick auf die verschiedenen Krankheitsinzidenzen zeigt sich, dass Frauen deutlich häufiger an chronischen Schmerzsyndromen aller Art leiden als Männer. Es scheint allerdings ein generelles Problem zu sein, dass hauptsächlich männliche Probanden und männliche Tiere untersucht werden. Bei Schmerzexperimenten zwischen 1996 und 2005 am Tiermodell wurden in 79% der Fälle männliche Versuchstiere gewählt. In den meisten Studien, in welchen beide Geschlechter untersucht wurden, gab es keine Diskussion darüber, ob Geschlechterunterschiede beobachtet wurden. 3% der Studien berichteten nicht mal das Geschlecht der Tiere (Mogil, 2012).

### **1.2.1 Geschlechterunterschiede bei chronischem Schmerz**

Epidemiologische Studien zeigen, dass Frauen ein deutlich höheres Risiko für die Entwicklung einer chronischen Schmerzerkrankung haben als Männer (Bartley, Fillingim, 2013; Fillingim et al., 2009; Mogil, 2012). Besonders bei muskuloskelettalen Schmerzsyndromen sind Frauen überrepräsentiert (Leveille et al., 2008; Mogil, 2012). Bei einer Erhebung an insgesamt 85.000 Erwachsenen in 17 Ländern zeigte sich mit einer Prävalenz von 45% bei Frauen und 31% bei Männern ein deutlicher Geschlechterunterschied (Tsang et al., 2008).

Ein Hauptrisikofaktor für die Entwicklung einer muskuloskelettalen Erkrankung am Beispiel der Arthrose scheint das weibliche Geschlecht zu sein. Die Prävalenz nimmt aber auch mit steigendem Alter deutlich zu. In der Altersgruppe zwischen 45 und 64 Jahren sind knapp ein Drittel der Frauen und ein Viertel der Männer

betroffen. Ab dem 65. Lebensjahr sind dann bereits die Hälfte der Frauen und ein Drittel der Männer von Arthrose betroffen (Robert Koch-Institut, 2014).

In einer Studie zeigten sich für die niederländische Bevölkerung, im Alter von 25 bis 64 Jahren, höhere Prävalenzen bei Frauen für muskuloskelettale Schmerzen, unabhängig von der Lokalisation. 45 % der Frauen und 39 % der Männer berichteten von chronischen Probleme (Wijnhoven et al., 2006).

Auch bezogen auf chronische viszerale Schmerzen, wie beispielsweise das Reizdarmsyndrom, zeigen Frauen eine deutlich höhere Prävalenz als Männer: Zwei Drittel der Reizdarmpatienten sind Frauen (Heitkemper et al., 2008; Kim et al., 2006).

### ***1.2.2 Geschlechterunterschiede bei experimentellem Schmerz***

In der Mehrzahl der Studien mit gesunden Probanden zu Geschlechterunterschieden bei Schmerz zeigte sich, dass Frauen bei experimentellen Schmerzmodellen sensitiver reagieren als Männer, jedoch ist die Befundlage heterogen und es wurden auch gegenläufige Befunde berichtet (Fillingim et al., 2009).

#### **Muskuloskelettaler Schmerz**

Greenspan und Kollegen entwickelten im Jahr 2007 Empfehlungen zur Untersuchung von Geschlechterunterschieden bei Schmerz. Als angemessene Schmerztestung im humanexperimentellen Bereich wurde hier die Druckschmerzmessung vorgeschlagen, da Geschlechterunterschiede hierbei am größten und beständigsten seien (Greenspan et al., 2007).

Bei der Untersuchung von 110 Frauen und 70 Männern bezüglich ihrer Druckschmerzschwellen zeigte sich, dass die Druckschmerzschwellen bei Frauen signifikant geringer waren als bei Männern (Rolke et al., 2006). Frauen waren also sensitiver für Druckschmerz (wobei andere Muskeln als in der hier vorliegenden Studie untersucht wurden).

In einem Review mit 33 eingeschlossenen Studien wurden bei der Mehrheit der Studien niedrigere maximale Schmerzschwellen bei Frauen beobachtet. Frauen tolerierten also geringere Schmerzintensitäten als Männer. Besonders bei Betrachtung der Studien mit ausreichender Power zeigte sich, dass Frauen geringere Schmerzschwellen aufweisen als Männer (Racine et al., 2012).

Diese Ergebnisse decken sich mit denen eines früheren Reviews (Chesterton et al., 2003). Hier wurden verschiedene Studien, die vor dem Jahr 2002 veröffentlicht wurden, bezüglich Geschlechterunterschieden und getesteter Muskeln verglichen (Chesterton et al., 2003). Auch in dieser Arbeit zeigte sich, dass Frauen über alle analysierten Muskelgruppen hinweg sensitiver für Druckschmerz waren als Männer (Chesterton et al., 2003).

### **Viszeraler Schmerz**

Die Ergebnisse bezüglich Geschlechterunterschieden in der viszeralen Schmerzmessung sind „kompliziert“ und uneinheitlich trotz bzw. wegen der eingeschränkten Anzahl von vorliegenden Studien (Greenspan et al., 2007).

In einer Studie unserer Arbeitsgruppe wurden 15 gesunde Frauen und 15 gesunde Männer bezüglich ihrer Druckschmerzschwellen mittels Barostat Ballonkatheter untersucht. Es fanden sich keine Geschlechterunterschiede bei den viszeralen Schmerzschwellen (Benson et al., 2012c). Zum gleichen Ergebnis kamen zwei andere Studien (Sloots et al., 2000; Untersuchung an 28 gesunden Probanden, davon 11 Männer; Soffer et al., 2000; Untersuchung an 18 gesunden Probanden, davon 9 Männer).

Kim und Kollegen (Untersuchung an Reizdarmpatienten und 21 gesunden Probanden, davon 10 Männer) zeigten zwar reduzierte Wahrnehmungsschwellen bei gesunden Frauen, allerdings eine gleiche Schmerzwahrnehmung bei gesunden Frauen und Männern (Kim et al., 2006). Chang und Kollegen (Untersuchung an Reizdarmpatienten und 26 gesunden Probanden, davon 9 Männer) zeigten niedrigere Schmerzschwellen bei gesunden Frauen (Chang et al., 2006).

Insgesamt ist die Befundlage zu Geschlechterunterschieden bei viszeralem Schmerz heterogen, sodass weitere Studien für eine umfassendere Einschätzung notwendig sind.

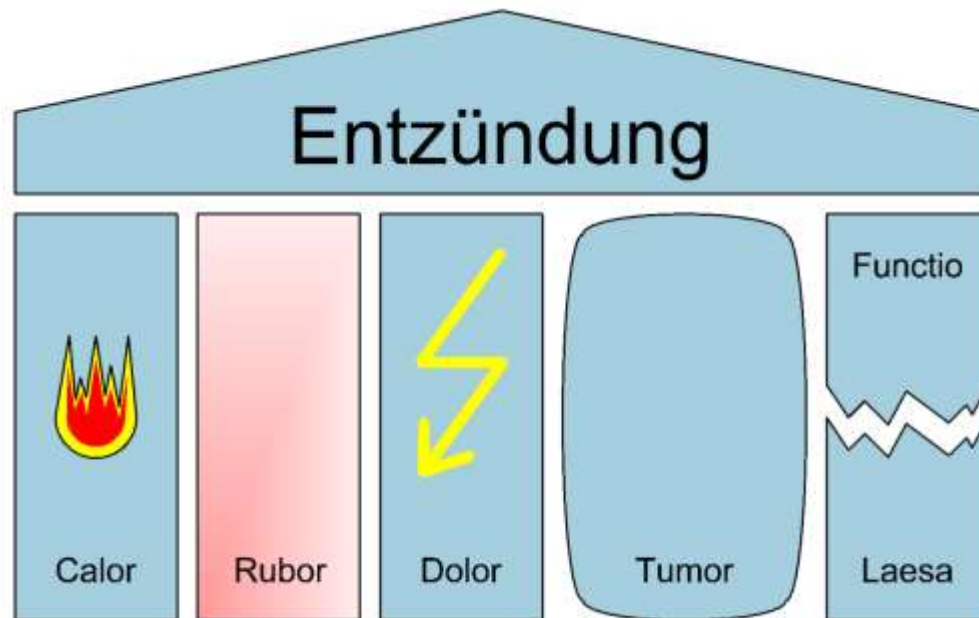
Reizdarmpatienten zeigten in einigen Studien niedrigere viszerale Schmerzschwellen, das heißt sie geben einen Schmerz bereits bei geringeren Distensionsvolumina an als gesunde Probanden (Elsenbruch, 2011). In einer fMRT-Studie unserer Arbeitsgruppe kam es bei wiederholten Distensionen im Scanner zu einer verstärkten Schmerzwahrnehmung bei Reizdarmpatienten im Gegensatz zu den gesunden Kontrollprobanden. In der Schwellenbestimmung am ersten Studientag unterschieden sich beide Gruppen jedoch nicht (Elsenbruch et al., 2009).

### **1.3 Entzündung und Schmerz**

Eine Entzündung ist eine adaptive, körpereigene Reaktion auf schädliche Reize oder Gewebeverletzungen. Diese Reaktion erfordert das angeborene und in manchen Fällen auch das erworbene Immunsystem. Die erste Reaktion geht dabei vom angeborenen Immunsystem aus, welches bei entsprechenden Reizen im weiteren Verlauf das erworbene Immunsystem aktiviert und instruiert (Lawrence et al., 2002; Sternberg, 2006).

Eine Entzündung, hervorgerufen durch beispielsweise Viren, Bakterien oder Verletzungen, wird von fünf Kardinalsymptomen begleitet: Calor (Hitze), Tumor (Schwellung), Dolor (Schmerz), Functio Laesa (Funktionsverlust) und Rubor (Rötung) (siehe Abb. 1; Lawrence et al., 2002). Entzündungsprozesse gehen u.a. mit einer Produktion und Ausschüttung von pro-inflammatorischen Zytokinen einher (Benson et al., 2012a; Grigoleit et al., 2013; Kullmann et al., 2011; Sandkühler, 2009). Pro-inflammatorische Zytokine sind eine Gruppe von Proteinen, zu denen beispielsweise TNF- $\alpha$  und Interleukin 6 gehören (Watkins & Maier, 2005). Ausgeschüttet werden diese Zytokine von Zellen des angeborenen Immunsystems, wie Gewebemakrophagen und Monozyten (Benson et al., 2012a). Diese inflammatorischen Mediatoren vermitteln die Immunantwort auf das Pathogen,

haben dabei aber auch Einfluss auf das zentrale Nervensystem (ZNS) (Benson et al., 2012a; Watkins & Maier, 2005; Wegner et al., 2014).



**Abbildung 1: Kardinalsymptome einer Entzündung.** Dargestellt sind die 5 Kardinalsymptome einer Entzündung: Calor (Hitze), Rubor (Rötung), Dolor (Schmerz), Tumor (Schwellung) und Functio Laesa (Funktionsverlust). *Modifiziert nach Lawrence et al., 2002.*

Entgegen früherer Annahmen arbeiten das Immunsystem und das ZNS also nicht unabhängig voneinander. Es besteht vielmehr eine bidirektionale Kommunikation, wodurch Entzündungsreaktionen ebenfalls Einfluss auf das ZNS haben (Dantzer et al., 2014; Dantzer et al., 2008; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005). Pro-inflammatorische Zytokine scheinen hierbei eine zentrale Rolle zu spielen (Watkins & Maier, 2005).

Zytokine können als relativ große Moleküle nicht die Blut-Hirn-Schranke überwinden. Es existieren jedoch verschiedene humorale und neuronale Signalwege, über die eine Kommunikation zwischen Immunsystem und ZNS stattfindet (zur genauen Übersicht siehe Abbildung 2; Banks et al., 2010; Hopkins, 2007; Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005). Eine entscheidende Entwicklung in diesem Forschungsbereich war die Entdeckung, dass Toll-like-Rezeptoren ebenfalls neuronal exprimiert werden (Nicotra et al., 2012).

Die Kommunikationswege vom Immunsystem zum ZNS umfassen:

- **Zytokintransport über Blut-Hirn-Schranke**

Über einen aktiven Transportmechanismus können Zytokine mittels eines Zytokintransporters in Endothelzellen die Blut-Hirn-Schranke überwinden (Banks et al., 2010; Dantzer et al., 2014; Dantzer et al., 2008; Hopkins 2007; Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005).

- **Barriereverlust der Blut-Hirn-Schranke**

Im Rahmen einer starken Immunaktivierung wie einer Sepsis kann die Blut-Hirn-Schranke durchlässig für Zytokine und periphere Immunzellen (z.B. T-Zellen) werden (Banks et al., 2010; Engelhardt, 2006; Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014). Dieser Mechanismus ist jedoch bei der experimentellen Gabe niedriger Endotoxindosen nicht von Relevanz (Walker et al., 2014).

- **Weiterleitung über afferente Nervenbahnen ins ZNS**

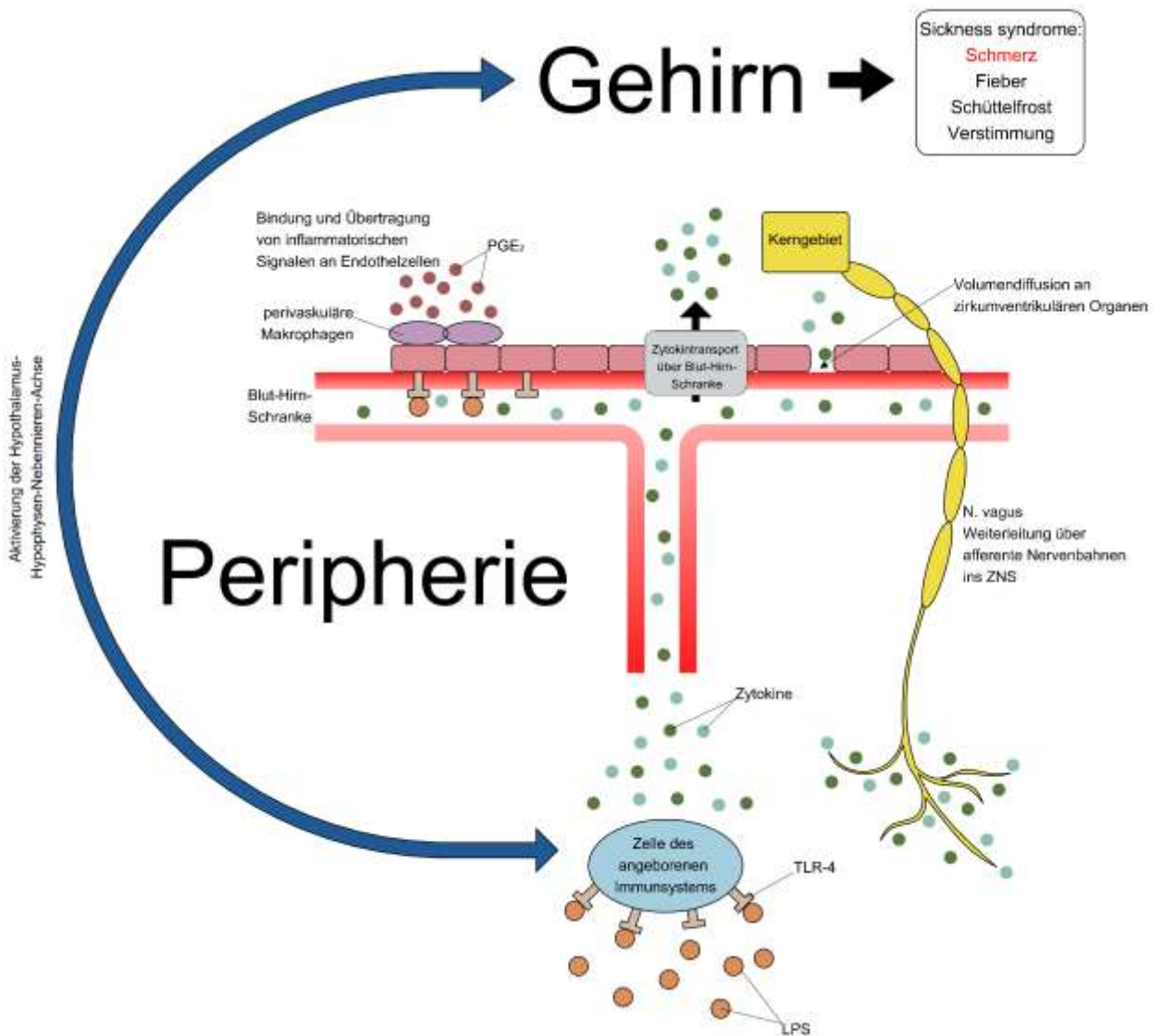
Im Gewebe produzierte Zytokine binden an lokale Zytokinrezeptoren afferenter Nervenbahnen. So werden beispielsweise über den Nervus vagus bei abdominalen Infektionen Informationen über afferente Axone an die entsprechenden Kerngebiete des ZNS weitergeleitet (Banks et al., 2010; Critchley et al., 2013; Dantzer et al., 2014; Dantzer et al., 2008; DellaGioia et al., 2010; Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005).

- **Volumendiffusion an zirkumventrikulären Organen**

Zirkumventrikuläre Organe und der Plexus choroideus sind außerhalb der Blut-Hirn-Schranke lokalisiert. Hier können Zytokine über die Blut-Hirn-Schranke diffundieren (Banks et al., 2010; Dantzer et al., 2008; Hopkins, 2007; Kullmann et al., 2011; Roth et al., 2004; Schedlowski et al., 2014; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005). Weiterhin sind Makrophagen-ähnliche Zellen in zirkumventrikulären Organen ebenfalls mit Toll-like-Rezeptoren ausgestattet und können Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMP) erkennen und pro-inflammatorische Zytokine bilden (Dantzer et al., 2014; Dantzer et al., 2008; Kullmann et al., 2011).

- **Aktivierung Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (HPA)-Achse**  
Eine Immunaktivierung, wie sie durch experimentelle Gabe von Endotoxin hervorgerufen wird, führt zur Ausschüttung von Kortisol über die HPA-Achse. Kortisol hat neben seinen metabolischen und immunologischen Funktionen auch Einfluss auf Hirnfunktionen (DellaGioia et al., 2010; Schedlowski et al., 2014; Sternberg, 2006; Tracey, 2002).
- **Bindung und Übertragung von inflammatorischen Signalen an Endothel-zellen**  
Über eine Bindung inflammatorischer Signale (LPS, Zytokine) an Rezeptoren des Endothels und perivaskulären Makrophagen kommt es zur Ausschüttung von Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), welches Neurone aktiviert, zu Veränderung der Temperaturregulation führt und die HPA-Achse aktiviert (Dantzer et al., 2008; DellaGioia et al., 2010; Hopkins, 2007; Schedlowski et al., 2014; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005)





**Abb. 2: Kommunikationswege vom Immunsystem zum ZNS.** Afferente Kommunikationswege vom peripheren Immunsystem zum Gehirn. Zytokintransport über Blut-Hirn-Schranke, Weiterleitung über afferente Nervenbahnen ins ZNS, Volumendiffusion an zirkumventrikulären Organen, Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (HPA)-Achse, Bindung und Übertragung von inflammatorischen Signalen an Endothelzellen. *Modifiziert nach Schedlowski et al., 2014.*

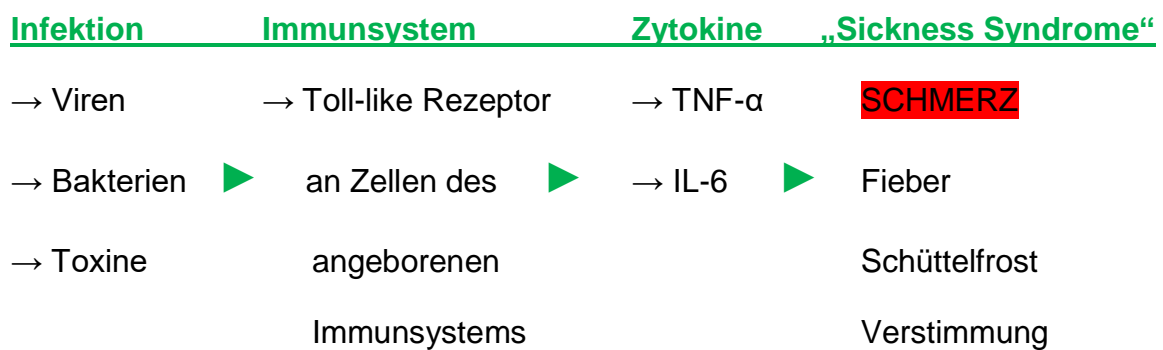
### „Sickness syndrome“

In der Konsequenz führt die Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine während einer systemischen Entzündungsreaktion über die oben dargestellten humoralen und neuronalen Kommunikationswege sowie über die HPA-Achse zum sog. „sickness syndrome“ oder auch „sickness behavior“ (Dantzer et al., 2008) (zur groben Übersicht siehe Abbildung 3).

Beim „sickness syndrome“ handelt es sich um ein unspezifisches Krankheitsverhalten, das gekennzeichnet ist durch charakteristische Verhaltensweisen und Stimmungsänderungen (Benson et al., 2012a; Grace et al., 2014; Hutchinson, 2014; Kullmann et al., 2010). Zu den genannten Verhaltensänderungen beim Menschen zählen unter anderem eine Abnahme der körperlichen Aktivität sowie eine Verschlechterung der Stimmung bzw. eine gesteigerte Ängstlichkeit und depressive Stimmung (Benson et al., 2012a; Dantzer et al., 2008; DellaGioia et al., 2010; Kullmann et al., 2014; Kullmann et al., 2011; Walker et al., 2014). Pro-inflammatorische Zytokine unterstützen die Bekämpfung eines Pathogens über die Induktion physiologischer Veränderungen wie Fieber, Tachykardie und Schüttelfrost, haben aber auch darüber hinaus großen Einfluss auf Verhalten und Stimmung. Neben den oben genannten Verhaltensänderungen ist hier der Einfluss pro-inflammatorischer Zytokine auf die Wahrnehmung und Empfindung von Schmerz von besonderer Wichtigkeit (Hutchinson, 2014). Eine erhöhte Schmerzwahrnehmung wird als ein integraler Bestandteil des „sickness syndromes“ postuliert (Benson et al., 2012a; Grace et al., 2014; Nicotra et al., 2012; Üceyler et al., 2009; Watkins, Maier, 2005). Eine erhöhte Schmerzsensitivität trägt als evolutionär gesteuerte, angeborene Antwort auf Entzündungen zum Schutz des Körpers bei, da so beispielsweise körperliche Aktivität gehemmt wird. Durch das „sickness syndrome“ werden dem Körper somit zusätzliche Ressourcen für die Immunantwort und zur Regeneration gegeben, sodass dieser besser mit einer Infektion umgehen kann (Critchley et al., 2013; Dantzer et al., 2008; Watkins & Maier, 2005).

Veränderungen in der Kommunikation zwischen Immunsystem und ZNS stehen im Verdacht, wesentlichen Einfluss auf die Pathophysiologie chronischer Schmerzsyndrome zu haben (Hutchinson, 2014; Sandkühler, 2009; Watkins & Maier, 2005).

## „Sickness syndrome“



**Abb. 3: Schematische und vereinfachte Darstellung des „sickness syndromes“.** Durch Aktivierung des Immunsystems und der daraus folgenden Freisetzung von Zytokinen kommt es im ZNS zum sog. „sickness syndrome“, welches sich durch unterschiedliche Symptome wie Schmerz äußert und hier sehr vereinfacht dargestellt ist.

### **1.3.1 Entzündung und chronischer Schmerz**

Im Rahmen des „sickness syndromes“ besteht ein Zusammenhang zwischen Entzündung und erhöhter Schmerzsensitivität. Schmerzen können so über die Ausschüttung pro-inflammatorischer Faktoren, welche zu Veränderungen in neuronalen Prozessen führen, verursacht und aufrecht gehalten werden (Hutchinson, 2014). Auch lokal erhöhte Konzentrationen von pro-inflammatorischen Zytokinen können zu einer Sensitivierung von Nozizeptoren führen (Watkins & Maier, 2005). Es ergibt sich die Hypothese, dass solche Prozesse auch zu Chronifizierungsprozessen bei unterschiedlichen Schmerzerkrankungen beitragen können (Watkins & Maier, 2005).

Die Relevanz des Zusammenhangs zwischen Entzündung und Schmerz wird unter anderem beim Reizdarmsyndrom deutlich. Das Reizdarmsyndrom kann beschrieben werden als ein schmerzhafter, chronischer, abdominaler Symptomkomplex, welcher meist mit veränderten Stuhlgewohnheiten einhergeht und für welches nach aktueller Definition keine organische Ursache besteht (Collins et al., 2001; Eisenbruch, 2011; Ouyang et al., 2006). Auch charakteristisch für das Reizdarmsyndrom ist, dass deutlich mehr Frauen darunter leiden als Männer (Eisenbruch, 2011; Heitkemper et al., 2008; Ouyang et al., 2006). Die Ätiologie des Reizdarmsyndroms scheint dabei multifaktoriell zu sein mit biologischen, psychologischen und sozialen Einflussfaktoren (Eisenbruch, 2011).

Für die Entwicklung eines Reizdarmsyndroms nach einer Infektion zeigte sich bei 18 prospektiven Studien eine Inzidenz von 3,7% - 36% (Spiller & Garsed, 2009). Verschiedene Risikofaktoren scheinen das Auftreten eines postinfektiösen Reizdarmsyndroms zu begünstigen, dazu zählen beispielsweise eine prolongierte Dauer der initialen Infektion, Rauchen, weibliches Geschlecht und Depression (Spiller & Garsed, 2009). Es kann diskutiert werden, ob dabei der Erreger eine große Rolle spielt oder eher die Umbauprozesse, die durch eine Entzündung ausgelöst werden, welche gemeinsam mit bestimmten Risikofaktoren letztendlich zu einem Reizdarmsyndrom führen (Collins et al., 2001). Es scheint so ein Zusammenhang zwischen dem Reizdarmsyndrom und Entzündungen bei der Gruppe der Patienten mit postinfektiösem Reizdarmsyndrom zu geben.

Das Immunsystem scheint aber auch bei Reizdarmpatienten, bei denen keine Infektion bestand, eine Rolle zu spielen, da auch bei diesen Patienten erhöhte systemische Entzündungsparameter, wie erhöhte Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine, gemessen werden konnten (Benson et al., 2012b).

In einer kürzlich publizierten Studie wurde der Zusammenhang zwischen einem fehlregulierten Immunsystem und chronischen muskuloskelettalen Schmerzen untersucht. Probanden mit chronischen muskuloskelettalen Schmerzen zeigten höhere Entzündungsmarker als die Kontrollgruppe, wobei nach Anpassung für Lebensgewohnheiten und Krankheitsvariablen keine statistische Signifikanz mehr bestand (Generaal et al., 2014).

#### **1.4 Experimentelle Entzündungsmodelle**

Ziel experimenteller Entzündungsmodelle ist es, eine systemische Entzündungsreaktion hervorzurufen, um die Veränderungen im menschlichen Körper während eines Entzündungsprozesses sowie die Effekte proinflammatorischer Mediatoren auf unterschiedliche Parameter untersuchen zu können. Besonders die Zusammenhänge zwischen Entzündung und Schmerz, aber auch die physiologischen und hämatologischen Auswirkungen einer Aktivierung des Immunsystems werden hier hervorgehoben.

Um dies zu untersuchen, stehen verschiedene Methoden zur Auswahl. Einzelne Zytokine können injiziert werden. Dies kann allerdings kaum das komplexe Zusammenspiel verschiedener Entzündungsmarker während einer Pathogen-induzierten Immunantwort widerspiegeln (Schedlowski et. al., 2014).

Ein etabliertes Modell ist daher die Verabreichung von niedrigen Dosen eines bakteriellen Endotoxins wie Lipopolysaccharid (LPS), wodurch sich im experimentellen Setting unter standardisierten und kontrollierten Bedingungen eine systemische Entzündungsreaktion induzieren lässt.

LPS, das Endotoxin gram-negativer Bakterien, wird seit rund 100 Jahren zu experimentellen Zwecken verabreicht. Ursprünglich wurde es therapeutisch zur Fieber-Induktion verabreicht. Das Fieber sollte beispielsweise bei Infektionskrankheiten wie Neurosyphilis oder Gonorrhö, aber auch bei der Behandlung gegen Krebs zum Einsatz kommen (Bahador et al., 2007).

Heute bildet die Verabreichung von LPS einen etablierten Ansatz, die Auswirkungen einer akuten und transienten Immunaktivierung zu untersuchen (Benson et al., 2012a), weil dieses experimentelle Entzündungsmodell sicher ist und keine andauernden Nebenwirkungen beschrieben wurden (Bahador et al., 2007).

#### **1.4.1 Experimentelle Applikation von LPS (Lipopolysaccharid)**

LPS löst, gleich einem Pathogen, eine transiente Aktivierung des angeborenen Immunsystems über Toll-like-Rezeptor (TLR)-4 abhängige Signalwege aus (Schedlowski et. al., 2014). Toll-like-Rezeptoren sind Teil des angeborenen Immunsystems und kommen hauptsächlich auf Makrophagen und dendritischen Zellen vor (Janeway & Medzhitov, 2002; Majewska et al., 2006). Sie sprechen auf Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMP) an, die im menschlichen Körper nicht vorkommen, allerdings typisch für bestimmte Klassen von Erregern sind (Kullmann et al., 2011; Majewska et al., 2006; Walker et al., 2014).

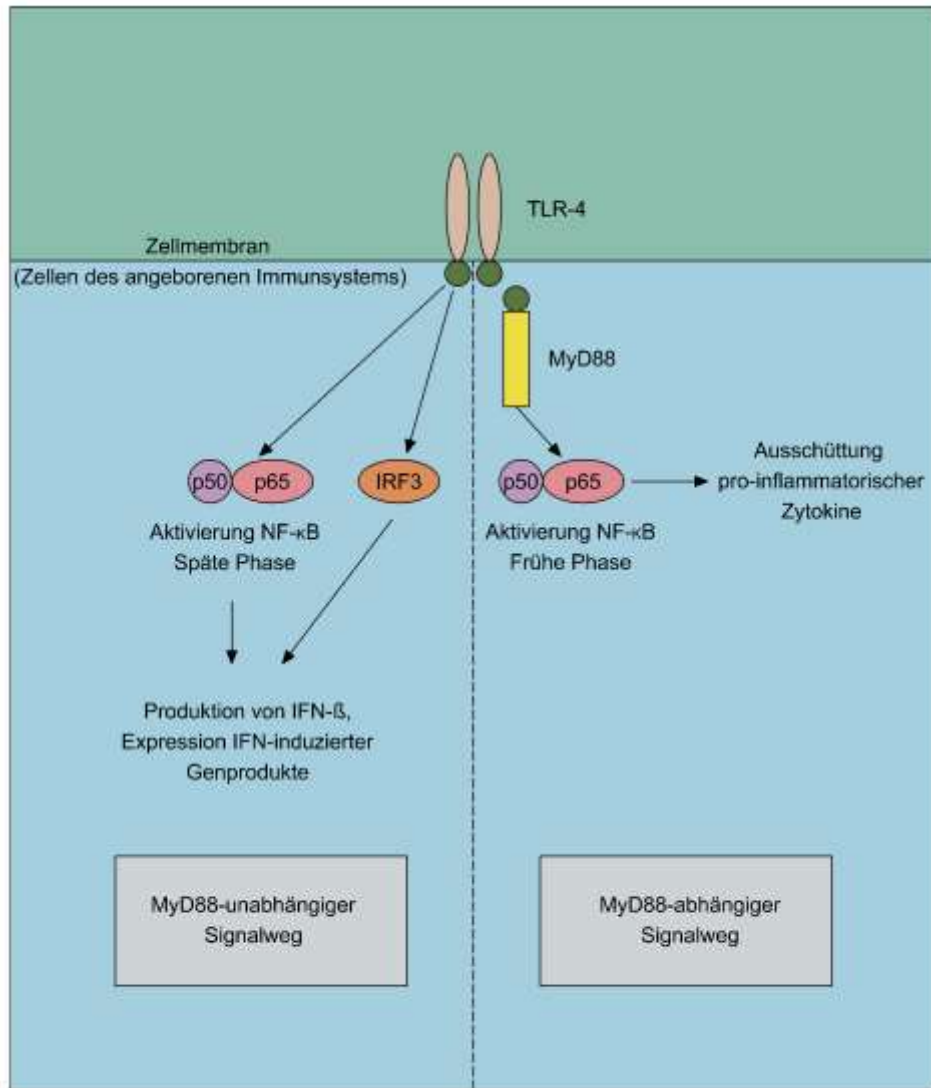
Das in der immunologischen Forschung häufig eingesetzte LPS ist ein komplexes Glykolipid und ein Zellwandbestandteil Gram-negativer Bakterien und so ein Pathogen-assoziiertes molekulares Muster, das die Synthese und Freisetzung von

pro-inflammatorischen Zytokinen durch Gewebsmakrophagen und Monozyten stimuliert (Benson et. al., 2012a; Kullmann et al., 2011; Walker et al., 2014).

Studien an Mäusen ohne Toll-like-Rezeptoren oder ohne spezifische Moleküle, welche Toll-like-Rezeptor-Signale vermitteln, haben die molekularen Mechanismen der Aktivierung des angeborenen Immunsystems durch Toll-like-Rezeptoren generell sowie die spezifische Rolle des TLR-4 für die Erkennung von LPS gezeigt (Akira et al., 2004; Janeway & Medzhitov, 2002). TLR-4 knockout-Mäuse sind im Vergleich zu wildtyp-Mäusen nach Spinalnervverletzungen deutlich weniger sensitiv für Schmerzreize und schütten weniger pro-inflammatorische Zytokine aus. Dies weist darauf hin, dass TLR-4 eine Schlüsselrolle bei der Schmerzregulation im Rahmen einer Entzündungsreaktion darstellt (Walker et al., 2014).

LPS bindet an ein sog. LPS-Bindungsprotein im Serum (LPS-binding protein, LBP) und wird so an CD14-Oberflächenproteine (Cluster of differentiation, CD) übertragen. Zusammen mit MD-2, einem kleinen Protein an der extrazellulären Seite des TLR-4, kommt es so durch einen Komplex aus TLR-4 / MD-2 / CD14 zur zellulären Antwort auf LPS (DellaGioia et al., 2010; Janeway & Medzhitov, 2002; Nicotra et al., 2012).

Die Bindung von LPS kann dann MyD88 (myeloid differentiation primary-response protein 88)- abhängige und -unabhängige Signalwege triggern, wie in Abbildung 4 gezeigt wird (Akira et al., 2004; DellaGioia et al., 2010; Janeway & Medzhitov, 2002; Nicotra et al., 2012).



**Abb. 4: TLR-4.** Die Aktivierung von TLR-4 kann MyD88 abhängige und unabhängige Signalwege triggern. Der MyD88-abhängige Signalweg aktiviert in der frühen Phase den Transkriptionsfaktor NFκB (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells), was zur Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine führt. Der MyD88-unabhängige Signalweg aktiviert IRF (Interferon-regulatory factor) 3 und bedingt die späte Phase der NFκB Aktivierung. Beides führt zur Produktion von Interferon-β (IFN-β) und der Expression von IFN-induzierten Genprodukten (IFN-inducible gene products) (Akira et al., 2004; DellaGioia et al., 2010; Walker et al., 2014). *Abbildung modifiziert nach Akira et al., 2004.*

Um eine überschießende Immunantwort und damit die Gefahr eines septischen Schocks zu minimieren, gibt es weitere komplexe molekulare Mechanismen, welche zu einer negativen Rückkopplung der TLR-vermittelten Immunantwort führen (Akira et al., 2004; Lawrence et al., 2002). Neben pro-inflammatorischen Zytokinen werden bei einer Entzündung ebenfalls anti-inflammatorische Zytokine, wie beispielsweise Il-10, ausgeschüttet (Lawrence et al., 2002).

Die experimentelle Applikation von LPS führt zusammengefasst zur Aktivierung des angeborenen Immunsystems, wodurch es zur Produktion und Freisetzung von Zytokinen, wie beispielsweise Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-6 (IL-6), kommt (Bahador et al., 2007). Dies führt neben den physiologischen Veränderungen zum spezifischen Krankheitsverhalten, dem „sickness behavior“ (siehe Abbildung 3 und 4).

Nach einer LPS-Injektion kommt es im menschlichen Körper zu typischen Veränderungen, die in vielen Studien wiederholt gemessen wurden. So kommt es je nach Dosis zu einem unterschiedlich ausgeprägten monophasischen Temperaturanstieg (Bahador et al., 2007; Hopkins, 2007).

Bei 12 gesunden Männern wurden in einer experimentellen Studie unserer Arbeitsgruppe typische Veränderungen auf zellulärer Ebene beschrieben. Dazu zählt eine Erhöhung der Plasmakonzentrationen von beispielsweise proinflammatorischen Zytokinen, von Cortisol und der Körpertemperatur nach Injektion von 0,4 ng/kg KG LPS (Grigoleit et al., 2010; genaueres siehe Tabelle 1). Ebenfalls kommt es zu einer Erhöhung der Herzfrequenz, der Zustandsangst und der Körpertemperatur (Grigoleit et al., 2013).



Studie	Eisenberger et al., 2009	Eisenberger et al., 2010	Grigoleit et al., 2010	Grigoleit et al., 2011		Grigoleit et al., 2012	Kullmann et al., 2013	Kullmann et al., 2014
<b>LPS-Konzentration</b>	0,8 ng/kg KG LPS oder NaCl	0,8 ng/kg KG LPS oder NaCl	0,4 ng/kg KG LPS und NaCl	0,4 ng/kg KG LPS und NaCl	0,8 ng/kg KG LPS und NaCl	0,4 ng/kg KG LPS und NaCl	0,4 ng/kg KG LPS und NaCl	0,4 ng/kg KG LPS und NaCl
<b>Probanden</b>	16 Männer 20 Frauen	19 Männer 20 Frauen	12 Männer	18 Männer	16 Männer	20 Männer	18 Männer	18 Männer
<b>Zytokinspiegel TNF-<math>\alpha</math></b>	/	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001
<b>Zytokinspiegel IL-6</b>	$\uparrow$ p<0,005	$\uparrow$ p<0,005	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001
<b>Plasmakortisol</b>	$\uparrow$ p<0,01	/	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	/	$\uparrow$ p<0,001	/
<b>Puls</b>	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	/	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	/	/	/
<b>Blutdruck</b>	/	$\rightarrow$ p>0,10	/	/	/	/	/	/
<b>Temperatur</b>	$\uparrow$ p<0,05	$\uparrow$ p<0,05	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001
<b>Stimmung</b>	Depressive Stimmung	$\downarrow$	/	MDBF $\downarrow$	MDBF $\downarrow$	MDBF $\downarrow$ p<0,05	MDBF $\downarrow$	MDBF $\downarrow$
<b>Zustandsangst</b>	/	/	/	STAI-S $\uparrow$ p<0,05	STAI-S $\uparrow$ p<0,01	STAI-S $\uparrow$ p<0,05	STAI-S $\uparrow$ p<0,05	STAI-S $\uparrow$ p<0,05

**Tab. 1: Effekte der experimentellen Applikation von LPS (Lipopolysaccharid).** Auflistung einiger Studien, die typische Veränderungen im menschlichen Körper nach LPS-Applikation zeigen. In dieser Tabelle werden Veränderungen in Zytokinspiegeln für TNF- $\alpha$  und IL-6 sowie Veränderungen in Plasmakortisolspiegeln, Vitalparametern (Puls, Blutdruck, Temperatur) und Stimmungsveränderungen abgebildet (Kullmann et al., 2011). Durch die Injektion von LPS kam es in allen Studien zur Auslösung einer akuten und systemischen Entzündungsreaktion mit typischen Erhöhungen der Zytokinspiegel, des Plasmakortisols, des Pulses und der Temperatur. Erhöhungen des Blutdrucks konnten nicht festgestellt werden. Weiterhin konnte eine Erhöhung der Zustandsangst (gemessen mit STAI-S, siehe Material und Methoden) und eine Verschlechterung der Stimmung (gemessen mit MDBF, siehe Material und Methoden) festgestellt werden. (/ = nicht gemessen).

### **1.4.2 LPS und Schmerz**

Studien zeigen, dass eine experimentell induzierte systemische Entzündungsreaktion die viszerale (Benson et al., 2012a; Benson et al., 2012b) und muskuloskelettale (de Goeij et al., 2013; Wegner et al., 2014) Schmerzsensitivität erhöht (siehe Tabelle 2).

Wie bereits dargestellt beinhaltet das durch die Verabreichung von LPS hervorgerufene „sickness syndrome“ als integralen Bestandteil das Symptom Schmerz (Benson et al., 2012a; Grace et al., 2014; Üceyler et al., 2009; Watkins & Maier, 2005).

Zwei Studien unserer Arbeitsgruppe sollen hier als Beispiel für Veränderungen der viszeralen und muskuloskelettalen Schmerzsensitivität nach LPS-Gabe im Detail beschrieben werden (für einen umfangreichen Überblick über vorliegende Studien siehe Tabelle 2).

Bei 11 gesunden Männern wurde eine akute, systemische und transiente Entzündungsreaktion nach Injektion von 0,4 ng/kg Körpergewicht LPS beschrieben, charakterisiert durch erhöhte TNF- $\alpha$  und IL-6 Plasmakonzentrationen sowie eine erhöhte Körpertemperatur. In dieser Studie wurden erstmals viszerale Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen nach LPS-Gabe mittels rektaler Barostat-Distensionen untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass diese zum Erhebungszeitpunkt 2 Stunden nach LPS Injektion signifikant reduziert waren (Benson et al., 2012b).

In einer weiteren Studie unserer Arbeitsgruppe wurden gesunde männliche Probanden untersucht. Es zeigte sich eine erhöhte Schmerzsensitivität bei muskuloskelettalem Schmerz in Abhängigkeit von der LPS-Konzentration. Sowohl bei niedriger (0,4ng/kg KG) als auch bei moderater (0,8 ng/kg KG) LPS-Injektion zeigte sich eine erhöhte muskuloskelettale Schmerzschwelle für den M. erector spinae. Bei moderater LPS-Konzentration zeigte sich ebenfalls eine erhöhte Schmerzschwelle für den M. gastrocnemicus und den M. deltoideus. Auch in dieser Studie führte die Injektion von LPS zu einer transienten, systemischen Immunaktivierung mit typischen Erhöhungen der Zytokinspiegel (TNF- $\alpha$  und IL-6) sowie der Plasmakortisolspiegel und der Körpertemperatur (Wegner et al., 2014).

Studie	Benson et al., 2012b	de Goeij et al., 2013	Wegner et al., 2014		Benson et al., 2015
<b>LPS-Konzentration</b>	0,4 ng/kg KG LPS oder NaCl	2 ng/kg KG LPS	0,4 ng/kg KG LPS oder NaCl	0,8 ng/kg KG LPS oder NaCl	0,4 ng/kg KG LPS oder NaCl
<b>Probanden</b>	11 Männer	27 Männer	20 Männer	19 Männer	26 Männer
<b>Zytokinspiegel TNF-<math>\alpha</math></b>	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001
<b>Zytokinspiegel IL-6</b>	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001
<b>Plasmakortisol</b>	/	/	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001
<b>Temperatur</b>	$\uparrow$ p<0,002	$\uparrow$	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p<0,001	$\uparrow$ p=0,009
<b>Stimmung</b>	/	/	MDBF $\rightarrow$	MDBF $\downarrow$	MDBF $\downarrow$
<b>Zustandsangst</b>	/	/	STAI-S $\rightarrow$	STAI-S $\uparrow$ p<0,001	/
<b>Viszerale WS</b>	$\downarrow$ p<0,045	/	/	/	$\rightarrow$ p=0,24
<b>Viszerale SS</b>	$\downarrow$ p<0,005	/	/	/	$\downarrow$ p<0,043
<b>Korrelation viszeraler SS mit IL-6 Konzentration</b>	Korrelation gefunden +1h p<0,035 +3h p<0,38	/	/	/	Korrelation gefunden p<0,030
<b>Muskuloskelettale SS</b>	/	$\downarrow$ C5 (Oberarm) p<0,001, T10 (Beckenkamm) p<0,005, L3 (M. vastus lat.) p<0,0001	$\downarrow$ M. erector spinae p<0,05	$\downarrow$ M. erector spinae, gastrocnemicus, deltoideus p<0,05	/
<b>Korrelation Muskuloskelettaler SS mit IL-6 Konzentration</b>	/	Keine Korrelation gefunden	M. erector spinae p<0,038; M. deltoideus p<0,012	M. erector spinae p<0,038; M. deltoideus p<0,012	/

**Tab. 2: Effekte der experimentellen Applikation von LPS auf die Schmerzwahrnehmung.** In dieser Tabelle werden Veränderungen in Zytokinspiegeln für TNF- $\alpha$  und IL-6 sowie Veränderungen in Plasmakortisolspiegeln, Vitalparametern (Temperatur; Blutdruck und Puls wurden in keiner dieser Studien gemessen) und Stimmungsveränderungen nach LPS-Applikation abgebildet. Weiterhin werden Veränderungen in der Schmerzwahrnehmung dargestellt. Viszerale Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen wurden mittels rektaler Barostat-Distensionen ermittelt. Muskuloskelettale Schmerzschwellen wurden mittels Algometrie bestimmt. Die Schmerzschwellenbestimmung für viszerale und muskuloskelettale Schmerzen wurde in den abgebildeten Studien wie in dieser Studie durchgeführt (siehe 2.4 und 2.5). (/ = nicht gemessen; SS = Schmerzschwellen; WS = Wahrnehmungsschwellen). Alle Studien wurden bei gesunden, männlichen Probanden durchgeführt.

### **1.4.3 LPS im Geschlechtervergleich**

Anhand der unterschiedlichen Inzidenzen und Prävalenzen bei Männern und Frauen zeigt sich, dass das Geschlecht einen wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung und den klinischen Verlauf vieler chronischer Erkrankungen hat (Coyle et al., 2006). Dennoch werden Geschlechterunterschiede oftmals nicht systematisch untersucht, etwa im Kontext von Entzündungsprozessen (Coyle et al., 2006). Im klinischen Alltag zeigt sich ein Geschlechterunterschied in Bezug auf Mortalität und Morbidität bei septischen Patienten. Frauen scheinen hier im Vorteil, was auf eine stärkere pro-inflammatorische Immunantwort zurückgeführt wird (van Eijk et al., 2007).

Eine durch LPS hervorgerufene systemische Entzündungsreaktion kann Aufschluss über Geschlechterunterschiede in der Ausprägung des „sickness syndromes“ und in der Antwort des angeborenen Immunsystems geben (Coyle et al., 2006). In Tabelle 3 sind die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse bezogen auf Geschlechterunterschiede in der LPS-induzierten Immunantwort zusammengefasst. Hier zeigt sich kein klares Bild. Bezüglich der Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine zeigen van Eijk und Kollegen einen deutlichen Geschlechterunterschied mit einer erhöhten Freisetzung von TNF- $\alpha$  bei Frauen (van Eijk et al., 2007). Coyle und Kollegen hingegen beschreiben keinen Geschlechterunterschied bezüglich der Zytokinspiegel, allerdings beschreibt sie bezüglich klinischer Symptome (Blutdruck und Temperatur) eine stärkere Reaktion bei Männern auf die Gabe von LPS (Coyle et al., 2006).

Studie	Coyle et al., 2006	van Eijk et al., 2007	Ferguson et al., 2013	Wegner et al., 2017
<b>LPS-Konzentration</b>	2 ng/kg KG LPS	2 ng/kg KG LPS	1 ng/kg KG LPS	0,4 ng/kg KG LPS
<b>Probanden</b>	48 Männer 24 Frauen	15 Männer 15 Frauen	141 Männer 153 Frauen	10 Männer 10 Frauen
<b>Zytokinspiegel TNF-<math>\alpha</math></b>	↑ Kein Geschlechterunterschied	↑ Frauen zeigten einen deutlich stärkeren Anstieg als Männer ( $p < 0,0001$ )	↑ $p < 0,0001$ Kein Geschlechterunterschied	↑ $p < 0,001$ Frauen zeigten einen deutlich stärkeren Anstieg als Männer ( $p < 0,001$ )
<b>Zytokinspiegel IL-6</b>	↑ Kein Geschlechterunterschied	↑ Kein Geschlechterunterschied ( $p < 0,316$ )	↑ $p < 0,0001$ Kein signifikanter Geschlechterunterschied; jedoch höhere Konzentrationen bei Frauen	↑ $p < 0,001$ Frauen zeigten einen deutlich stärkeren Anstieg als Männer ( $p < 0,01$ )
<b>Plasmakortisol</b>	↑ Kein Geschlechterunterschied	/	/	↑ $p < 0,001$ Frauen zeigten einen deutlich stärkeren Anstieg als Männer ( $p < 0,001$ )
<b>Puls</b>	↑ $p =$ nicht signifikant Kein Geschlechterunterschied	↑ $p < 0,0001$ Kein Geschlechterunterschied	↑ $p < 0,0001$ Kein Geschlechterunterschied	/
<b>Blutdruck</b>	↓ $p < 0,02$ Männer zeigten einen stärkeren Abfall als Frauen ( $p < 0,02$ )	↓ $p < 0,0001$ Frauen zeigten einen stärkeren Abfall als Männer ( $p < 0,0001$ )	↑ $p < 0,0001$ Kein Geschlechterunterschied	/
<b>Temperatur</b>	↑ $p < 0,0001$ Männer zeigten einen stärkeren Anstieg als Frauen ( $p < 0,001$ )	↑ $p < 0,031$ Kein Geschlechterunterschied ( $p < 0,938$ )	↑ $p < 0,0001$ Kein Geschlechterunterschied	↑ $p < 0,001$ Frauen zeigten einen stärkeren Anstieg als Männer ( $p < 0,05$ )

**Tab. 3: Effekte der experimentellen Applikation von LPS im Geschlechtervergleich.** Veränderungen in Zytokinspiegeln für TNF- $\alpha$  und IL-6 sowie Veränderungen in Plasmakortisolspiegeln, Vitalparametern (Puls, Blutdruck, Temperatur) und Stimmungsveränderungen. Dargestellt sind Geschlechterunterschiede in den jeweiligen Parametern.

#### **1.4.4 LPS und Schmerz im Geschlechtervergleich**

Zum Zeitpunkt der Studiendurchführung waren keine Studienergebnisse bekannt, die sich mit dem Einfluss einer transitorischen, systemischen LPS-induzierten Entzündungsreaktion auf klinisch relevanten, experimentell induzierten Schmerz im Geschlechtervergleich beschäftigten. Sämtliche Daten wurden an männlichen Probanden erhoben.

Erst 2015 veröffentlichten Karshikoff und Kollegen zeitlich parallel zur vorliegenden Arbeit eine Studie, deren Ziel es war, die Effekte einer experimentellen Endotoxämie auf Unterschiede in der Schmerzsensitivität zwischen Männern und Frauen zu untersuchen (Karshikoff et al., 2015). Hierzu wurden 52 gesunde Probanden (29 Frauen) in einer randomisierten, doppelblinden, Placebo kontrollierten Studie untersucht (Karshikoff et al., 2015; die Ergebnisse werden im Abschnitt 4 im Detail vorgestellt).

#### **1.5 Fragestellung und Hypothesen**

In der vorliegenden Studie sollten zwei Fragestellungen und ein exploratives Studienziel bearbeitet werden.

**Erste Fragestellung:** Frauen scheinen stärkere Immunantworten des angeborenen und erworbenen Immunsystems zu zeigen. Dies kann zu einer schnelleren Elimination von Pathogenen führen, aber auch dazu beitragen, dass Frauen anfälliger für entzündliche, schmerzhafte und autoimmune Erkrankungen im Vergleich zu Männern sind (Klein, 2012).

Im humanexperimentellen Setting ist die Befundlage zu den Effekten einer LPS-induzierten systemischen Immunaktivierung im Hinblick auf Geschlechterunterschiede nicht eindeutig (Suffredini, 2007). Während die Mehrzahl der Studien eine stärkere pro-inflammatorische Antwort bei Frauen im Vergleich zu Männern zeigte (Ferguson et al., 2013; Karshikoff et al., 2015; van Eijk et al., 2007; Wegner et al., 2017), bestehen auch gegensätzliche Befunde (Coyle et al., 2006).

**Hypothese:** Ausgehend von klinischen Befunden zur Sepsis (Klein, 2012; van Eijk et al., 2007) wird erwartet, dass Frauen im Vergleich zu Männern eine stärkere pro-inflammatorische Reaktion im Sinne höherer Plasmazytokinspiegel der pro-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-6 nach der Applikation von LPS zeigen.

**Zweite Fragestellung:** Eine zunehmende Anzahl von humanexperimentellen LPS-Studien zeigte den Einfluss einer systemischen Immunaktivierung auf die Schmerzwahrnehmung im Sinne einer Schmerzsensitivierung. Bezogen auf die Entstehung chronischer Schmerzsyndrome scheinen systemische Entzündungsreaktionen und die zentralnervösen Effekte pro-inflammatorischer Mediatoren daher pathophysiologisch relevant zu sein. Im Hinblick auf erhöhte Krankheitsprävalenzen bei Frauen für chronische Schmerzsyndrome wie dem Reizdarmsyndrom (Heitkemper et al., 2008; Kim et al., 2006; Ouyang et al., 2006) und muskuloskelettalen Schmerzerkrankungen (Fillingim et al., 2009; Leveille et al., 2005; Mogil, 2012; Robert-Koch-Institut, 2014; Wijnhoven et al., 2006) zeigt sich die hohe Relevanz für die Untersuchung der hierfür verantwortlichen Geschlechterunterschiede. Eine Schmerzsensitivierung mit reduzierten Schmerzschwellen und Hyperalgesie ist ein fundamentaler pathophysiologischer Aspekt bei der Entstehung chronischer Schmerzen (Koch et al., 2007). Daher ist es wichtig, sowohl die Schmerzsensitivität als auch die Komponenten einer Immunaktivierung in Bezug auf Unterschiede zwischen Männern und Frauen zu untersuchen.

Frühere Studien unserer und anderer Arbeitsgruppen konnten eine erhöhte Sensitivität gegenüber viszerale (Benson et al., 2012b) und muskuloskelettale (de Goeij et al., 2013; Wegner et al., 2014) Schmerzreize nach LPS-Gabe zeigen. Jedoch sind diese Studien zum Zeitpunkt der vorliegenden Arbeit nur mit männlichen Probanden durchgeführt worden. Daher blieb unklar, ob die vorliegenden Ergebnisse auf Frauen überhaupt übertragbar sind.

**Hypothese:** Ausgehend von den bisherigen Befunden wird erwartet, dass eine systemische Entzündungsreaktion, hervorgerufen durch das Endotoxin LPS, die Schmerzsensitivität für viszerale Schmerzreize im Sinne einer viszerale

Hyperalgesie und für muskuloskelettale Schmerzreize im Sinne einer muskuloskelettalen Hyperalgesie erhöht.

Dabei wird vor dem Hintergrund der angenommenen, stärkeren, pro-inflammatorischen Immunantwort bei Frauen einerseitsa sowie der höheren Prävalenz chronischer Schmerzerkrankungen bei Frauen andererseits erwartet, dass Frauen während der LPS induzierten systemischen Entzündungsreaktion eine stärkere Sensitivierung gegenüber viszeralen und muskuloskelettalen Schmerzreizen zeigen als Männer.

**Exploratives Studienziel:** In früheren Studien konnten statistische Zusammenhänge zwischen einer LPS-induzierten Hyperalgesie und Plasmazytokinkonzentrationen gezeigt werden (Benson et al., 2012b; Wegner et al., 2014). In dieser Studie wurden explorativ mögliche Korrelationen zwischen LPS-induzierten Veränderungen der Schmerzsensitivität für viszerale oder muskuloskelettale Schmerzen sowie der Plasmakonzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine nach LPS-Applikation bei Frauen und Männern vergleichend untersucht.



## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Übersicht**

In dieser randomisierten, doppelblinden Crossover-Studie wurde eine systemische Immunaktivierung mittels einer niedrigen Dosis Lipopolysaccharid induziert (LPS; 0,4 ng/kg Körpergewicht). Jeweils 20 gesunde Frauen und Männer erhielten an zwei Studientagen in randomisierter, balancierter Reihenfolge intravenös entweder LPS oder Placebo. Die viszerale Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen wurden mittels druckkontrollierter, rektaler Barostat-Distensionen objektiviert und muskuloskelettale Druckschmerzschwellen mittels Algometrie für verschiedene Muskelgruppen erfasst. Stündlich wurde Blut zur Bestimmung der Plasmazytokinkonzentrationen abgenommen. Weiterhin wurden stündlich Vitalparameter (Körpertemperatur, Puls und Blutdruck) und die Zustandsangst mittels Fragebogen (State-Trait-Anxiety-Inventory) erfasst.

### **2.2 Studienkollektiv und Probandensicherheit**

Für die Studie wurden gesunde Probandinnen und Probanden (zur besseren Lesbarkeit wird im Weiteren „Probanden“ anstatt „Probandinnen und Probanden“ verwendet) im Alter von 18 bis 45 Jahren rekrutiert. Alle Probanden hatten bereits zuvor an einer Studie teilgenommen, bei der das Schmerzmodell der rektalen Barostat-Distension verwendet wurde. Das Ziel dabei war es, dass die Probanden an beiden Studientagen hinsichtlich der Barostat-Distension das gleiche Vorwissen und ähnliche Erwartungshaltungen hatten. Alle Daten wurden neu erhoben, sodass sie sich nicht mit denen früherer LPS-Studien des Institutes überschneiden (Benson et al., 2012b; Grigoleit et al., 2013; Grigoleit et al., 2012; Grigoleit et al., 2010; Kullmann et al., 2014; Kullmann et al., 2013; Wegner et al., 2014). Die Probanden wurden zunächst in einem telefonischen Vorgespräch über die Studie informiert und bei Interesse wurden die Ausschlusskriterien (s.u.) abgeklärt. Weiterhin fand mindestens eine Woche vor dem Studientag ein ausführliches Aufklärungsgespräch im Institut statt, in dem der Ablauf der Studie und die Wirkung von LPS erklärt wurde.

Zusätzlich wurde eine internistische Voruntersuchung am gleichen Termin durchgeführt. Bei dieser Voruntersuchung wurde eine ausführliche Anamnese mittels eines standardisierten und für diesen Zweck entwickelten Anamnesebogens für LPS-Studienprobanden erhoben. Weiterhin wurden die Probanden körperlich untersucht (inklusive der Erfassung von Blutdruck, Puls und Körpertemperatur). Ebenfalls wurden die Probanden auf anorektale Veränderungen (z.B. Hämorrhoiden), die das Legen eines rektalen Ballonkatheters verhindern oder erschweren könnten, mittels digitaler rektaler Tastung untersucht.

Zudem wurden folgende Laborparameter im Rahmen der Einschlussuntersuchung beurteilt: Kleines Blutbild [Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittlere Hämoglobinkonzentration (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)], Leberenzyme [Alanin-Aminotransferase (ALAT), Aspartat-Aminotransferase (ASAT),  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT), Bilirubin], Nierenretentionsparameter (Kreatinin und Harnstoff im Serum), Serum-Elektrolyte (Natrium, Kalium, Chlorid), Gerinnungsparameter [Thromboplastinzeit (TPZ), International Normalized Ratio (INR), aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)] und C-reaktives Protein (CRP). Außerdem wurde 48 Stunden vor jedem Studientag das CRP als unspezifischer Entzündungsparameter erneut bestimmt.

Ausschlusskriterien waren: Alter unter 18 oder über 45 Jahre, psychiatrische, neurologische, gastrointestinale, kardiovaskuläre, hämatologische, immunologische Erkrankungen, Leber-, Nieren-, Atemwegs- oder Suchterkrankungen (auch Alkoholkonsum mehr als viermal pro Woche und Rauchen), Diabetes mellitus oder andere Stoffwechselstörungen sowie Allergien. Auch führten ein Body Mass Index (BMI)  $< 18$  oder  $\geq 29$  kg/m<sup>2</sup>, die regelmäßige Einnahme von Medikamenten, pathologische Werte bei einem der o.g. Blutwerte, die Teilnahme an einer klinisch-pharmakologischen Studie oder eine Blutentnahme  $>200$  ml in den vergangenen drei Monaten zu einem Ausschluss. Ebenfalls führte eine bestehende Schwangerschaft zum Ausschluss. Um das Risiko einer Schwangerschaft während der Studienzeit zu minimieren, nahmen nur Frauen an der Studie teil, die hormonelle Kontrazeptiva einnahmen. Zusätzlich wurde vor den Versuchstagen ein Urin-Schwangerschaftstest durchgeführt. Die hormonellen

Kontrazeptiva trugen ebenfalls dazu bei, potentielle Einflüsse des Menstruationszyklus und der Ovarialhormone auf beispielsweise die Schmerzmessung zu minimieren (Craft, 2007; Heitkemper et al., 2007; Lacourt et al., 2014). Anzeichen einer funktionellen oder organischen gastrointestinalen Erkrankung aktuell oder in der Vorgeschichte wurden zusätzlich mittels eines halbstrukturierten Interviews und eines standardisierten Fragebogens (siehe Anhang 8.4.1 Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden) ermittelt, da gastrointestinale Symptome, wie in der Studie von Lacourt et al. beschrieben, rektale Schmerzschwellen verändern können (Lacourt et al., 2014).

Um eine akut bestehende klinisch relevante Depression oder Angststörung auszuschließen, beantworteten die Probanden die deutsche Version des validierten Screening-Fragebogens Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS (Hermann-Lingen et al., 2011; Zigmond et al., 1983).

Als zusätzliche Sicherheitsmaßnahme wurden alle Probanden an den Studientagen kontinuierlich für mindestens sechs Stunden nach den Injektionen überwacht. Zudem wurden die Probanden 24 Stunden nach jedem Studientag körperlich untersucht sowie die oben genannten Laborparameter (wie für die Voruntersuchung angegeben) kontrolliert.

Eine Woche nach dem zweiten Studientag kamen die Probanden zu einer Nachuntersuchung, bei der eine kurze körperliche Untersuchung durchgeführt wurde und alle Laborparameter wie in der Voruntersuchung kontrolliert wurden.

Die Probanden wurden angewiesen, 48 Stunden vor den Studientagen und 24 Stunden danach keinen Sport zu treiben und nach den Studientagen nicht Auto zu fahren. Alle Probanden unterschrieben eine Einverständniserklärung und erhielten eine Aufwandsentschädigung für die Teilnahme.

Für die Studie besteht ein positives Votum der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen (Nr.: 09-4271).

### 2.3 Studienprotokoll

In dieser randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Studie im Crossover-Design erhielten 20 gesunde Frauen und 20 gesunde Männer an zwei sonst identischen Studientagen entweder LPS oder Placebo in randomisierter, ausbalancierter Reihenfolge (siehe Abbildung 5). Zwischen beiden Studientagen lag jeweils eine Woche Abstand.

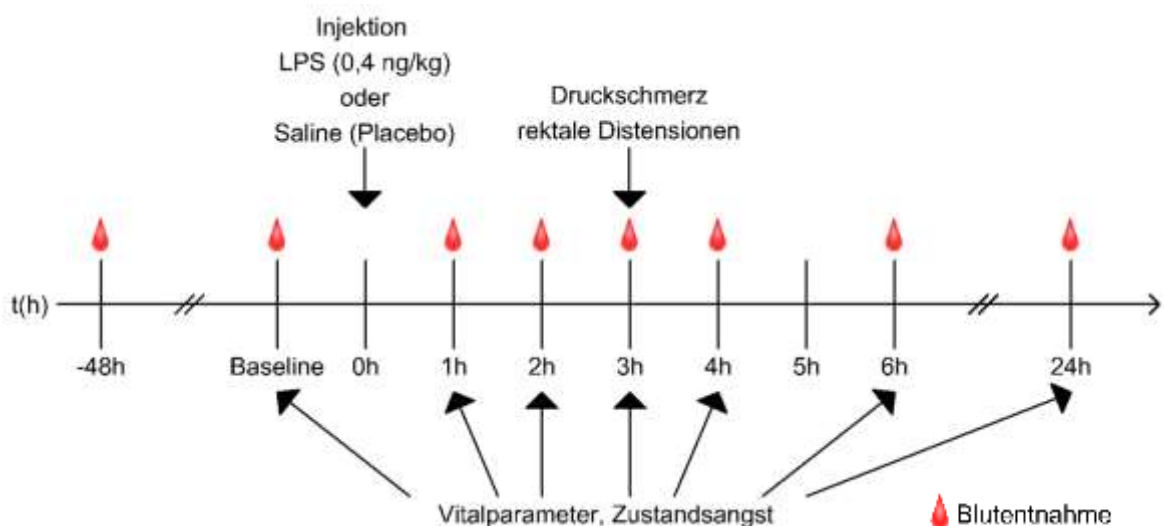
Nach einer kurzen Einführung in den Ablauf des Studientages und der Klärung aufgetretener Fragen wurde den Probanden ein peripherer Venenverweilkatheter (VASOFIX® Braunüle®, 18G, 45 mm) in die antecubitale Unterarmvene gelegt und eine Baselinemessung durchgeführt. Nach einer zehnmütigen Ruhephase wurden Blutdruck, Puls und Körpertemperatur (Vitalparameter) als Baselinemessung (M0) bestimmt. Zudem wurden, nach Verwurf der ersten 5 - 10 ml Blut, EDTA-Röhrchen (Ethylendiamintetraessigsäure) und Serumröhrchen zur Analyse der immunologischen Parameter einschließlich der pro-inflammatorischen Zytokine abgenommen. Blutplasma wurde für 10 Minuten bei 4°Celsius und 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und bis zur Analyse bei -80°C gelagert. Die Körpertemperatur wurde mittels eines Auricularthermometers bestimmt, der Blutdruck mittels Sphygmomanometer gemessen und der Puls an der Arteria radialis palpiert.

Weiterhin beantworteten die Probanden zum Zeitpunkt M0 standardisierte Kurzfragebögen zur Ermittlung der Zustandsangst (State-Trait-Anxiety Inventory - State Version, STAI-S) und der aktuellen Stimmung (Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen, MDBF). Nach der Messung wurde in randomisierter Reihenfolge entweder Lipopolysaccharid (LPS; 0,4 ng Escherichia coli LPS pro Kilogramm Körpergewicht) oder eine identische Menge physiologischer Saline (Placebo) an zwei Studientagen über den peripheren Venenverweilkatheter intravenös injiziert.

Die weiteren Messzeitpunkte des Studientages richteten sich nach dem Zeitpunkt der Injektion, welche zwischen neun und elf Uhr morgens und bei jedem Probanden an beiden Studientagen zur gleichen Zeit erfolgte. Weitere Messungen wurden 1, 2, 3, 4 und 6 Stunden nach Injektion durchgeführt. Zu diesen Messzeitpunkten

wurden die Vitalparameter bestimmt und Blut zur Analyse der Plasmazytokinkonzentrationen sowie zur Bestimmung eines großen Blutbildes abgenommen. Weiterhin beantworteten die Probanden zu allen Zeitpunkten den STAI-S und zu den Zeitpunkten M3 und M6 zusätzlich den MDBF. Nach dem jeweiligen Studientag beantworteten die Probanden den GASE-Fragebogen (Rief et al., 2011).

Nach der Messeinheit zum Zeitpunkt M2 wurde mit weiteren Tests begonnen. Zunächst wurde eine nicht-invasive Messung der kardialen Interzeptionsfähigkeit durchgeführt, welche jedoch nicht Teil der vorliegenden Arbeit ist. 2,5 Stunden nach Injektion wurden viszerale und muskuloskeletale Schmerzschwellen erfasst. Die Reihenfolge der einzelnen Messungen wurde nicht ausbalanciert, um vor dem Hintergrund der sich ändernden Zytokinprofile eine Vergleichbarkeit zwischen den Probanden zu garantieren. Frühere Studien zeigten, dass inflammatorische Mediatoren, wie Zytokine 2 bis 3,5 Stunden nach Injektion erhöht sind, weshalb zu diesem Zeitpunkt die Schmerzmessungen stattfanden (Benson et al., 2012b; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010; Wegner et al., 2014).



**Abb. 5: Studiendesign.** In dieser randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Studie im Crossover-Design erhielten jeweils 20 Männer und Frauen an zwei Studientagen entweder 0,4 ng/kg Körpergewicht LPS oder die gleiche Menge Saline (Placebo). Viszerale und muskuloskeletale Schmerzschwellen wurden 2,5 – 3,5 Stunden nach Injektion erhoben. Blutproben wurden vor (Baseline) sowie 1, 2, 3, 4 und 6h nach der Injektion entnommen. Vitalparameter (Körpertemperatur, Blutdruck und Puls) wurden gemessen und Zustandsangst mittels Fragebogen ermittelt.

Der Proband und der Versuchsleiter bzw. die Versuchsleiterin, welche die Schmerzmessung durchführten, waren verblindet bezüglich der LPS (Verum) bzw. Placebo- (Saline) Bedingung. Um Interaktionseffekte zwischen dem Versuchsleitergeschlecht und dem Probandengeschlecht in Bezug auf die Schmerzschwellen zu vermeiden (Aslaksen et al., 2007), wurden 10 Probandinnen und 10 Probanden von einer weiblichen Versuchsleiterin und die andere Hälfte der insgesamt 40 Probanden von einem männlichen Versuchsleiter untersucht. Die Probanden wurden randomisiert auf den Versuchsleiter oder die Versuchsleiterin aufgeteilt. An beiden Studientagen wurden die Probanden von demselben Versuchsleiter betreut. Die verbalen Instruktionen, die den Probanden bezüglich der einzelnen Messungen vermittelt wurden, waren standardisiert.

## **2.4 Aufbereitung des LPS**

Das verwendete LPS (reference standard LPS, lot H0K354, The United States Pharmacopeia Convention Inc., Rockville, MD) wurde für den humanen Gebrauch hergestellt. Das LPS wurde in sterilem Wasser aufgelöst, durch eine 0,2- $\mu$ m Membran gefiltert und von Mitarbeitern des Bundesinstituts für Impfstoffe und biomedizinische Arzneistoffe (Paul Ehrlich Institut, Langen, Deutschland) einer mikrobiologischen Sicherheitstestroutine unterzogen. Die LPS-Lösung wurde in LPS-freiem Borosilikatglas bei -20°C gelagert (Grigoleit et al., 2010).

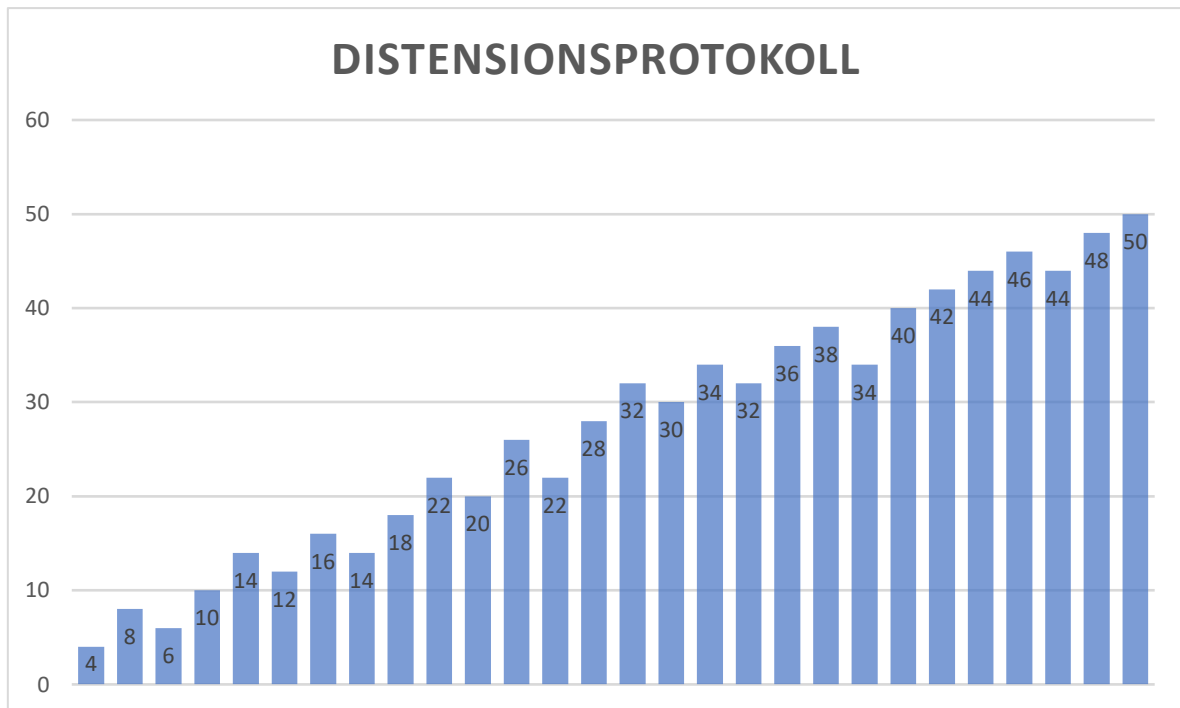
## **2.5 Viszerales Schmerzmodell (Rektale Distensionen)**

Das Paradigma der rektalen Barostat-Distensionen ist eine etablierte Methode, um die viszerale Schmerzsensitivität bei gesunden Probanden sowie Patienten mit funktionellen oder chronisch-entzündlichen Magendarmerkrankungen im experimentellen Setting zu bestimmen. Eine viszerale Hyperalgesie ist ein häufig beobachtetes Phänomen bei Reizdarmpatienten, auch wenn es nicht bei allen Patienten auftritt. Die rektale Distension mittels Barostat ist ein valides Modell, um viszerale Schmerz und Veränderungen in der Schmerzwahrnehmung zu

detektieren (Keszthelyi et al., 2012). Die Probanden wurden angewiesen, zwei Stunden vor Beginn der Studie ein Klistier (Freka-Clyss®, 120 ml, Fresenius Kabi, Sevres, France) anzuwenden, welches ihnen während des Aufklärungsgespräches, in dem auch die Anwendung genau erklärt wurde, ausgehändigt worden war.

Zunächst wurden Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen ermittelt. Druckkontrollierte aszendierende Inflationen des rektalen Ballonkatheters wurden mit Hilfe des Barostat-Systems (modifiziertes ISOBAR 3 device, G & J Electronics, Ontario, Kanada) durchgeführt. Der Ballonkatheter wurde kurz vor Beginn der Schmerzmessung ins Rektum, 5 cm hinter die Analöffnung, eingeführt. Er besteht aus einer Polyethylentüte (Folie), die an einem Darmrohr befestigt wird. Der Ballon ist zylinderförmig und hat eine Länge von 10 cm, er kann ein maximales Volumen von 500 ml aufnehmen, was einem Durchmesser von 8 cm entspricht (Lacourt et al., 2014). Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen wurden mittels einer Rampe bestimmt, bei welcher sich der Druck in pseudorandomisierter Abfolge um 2 - 8 mmHg pro Distension erhöhte, teilweise aber auch verringerte (siehe Abbildung 6). Diese Reize sollten von den Probanden auf einer Ratingskala mit den Abstufungen 1 = keine Wahrnehmung, 2 = fragliche Wahrnehmung, 3 = sichere Wahrnehmung, 4 = deutlicher Dehnungsreiz / unangenehm, 5 = sehr unangenehm und 6 = schmerzhaft / Abbruch bewertet werden. Der Druck, bei dem sich die Bewertung von 2 auf 3 veränderte, wurde als Wahrnehmungsschwelle definiert und der Druck, an dem sich die Bewertung von 5 auf 6 änderte, als Schmerzschwelle. Die Probanden bewerteten mündlich die einzelnen Reize auf dem Druckplateau, also während der Inflation des Ballons. Der maximale Distensionsdruck betrug 50 mmHg (Benson et al., 2014; Benson et al., 2012b; Elsenbruch et al., 2012; Elsenbruch et al., 2010; Lacourt et al., 2014).

Nach Bestimmung der Wahrnehmungs- und Schmerzschwelle bewerteten die Probanden acht Einzelreize verschiedener Intensitäten, die alle mindestens 2 mmHg unterhalb der individuellen Schmerzschwelle lagen. Diese Einzelreize bewerteten die Probanden auf zwei visuellen Analogskalen (VAS) von „gar nicht“ bis „sehr“ für a) „schmerzhaft“ und b) „hat Stuhldrang ausgelöst“ (siehe Anhang 8.4.2 Bewertung rektaler Dehnungsreize; Benson et al., 2012b).



**Abbildung 6: Distensionsprotokoll.** Zur Bestimmung der Wahrnehmungsschwelle (Änderung der Bewertung auf einer sechsstufigen Ratingsskala von 2 auf 3, siehe Text zu Details) und der Schmerzschwelle (Änderung der Bewertung von 5 auf 6). Die Zahlen geben den jeweilig applizierten Druck im mmHg an.

## 2.6 Muskuloskelettales Schmerzmodell (Algometrie)

Die Algometrie ist eine häufig eingesetzte Messmethode zur Erfassung der muskuloskelettalen Schmerzsensitivität in der experimentellen und klinischen Schmerzforschung (Lacourt et al., 2012; Rolke et al., 2006; Wegner et al., 2014). In einer experimentellen Studie wurden 66 gesunde Frauen mittels Algometrie untersucht, um darzustellen, wie valide und reliabel diese Art der Schmerzmessung ist (Lacourt et al., 2012). Auch wurde der Zusammenhang zwischen mehreren Messungen untersucht. Hier zeigte sich eine gute Test-Retest Reliabilität, besonders unter der Berücksichtigung der vorgeschlagenen Durchführung, welche in der vorliegenden Studie genau beachtet wurde (Lacourt et al., 2012).

Bei der Algometrie handelt es sich um ein nicht-invasives Verfahren, bei dem Druckschmerzschwellen ermittelt werden. Druckschmerzschwellen messen die Sensitivität der tiefen Muskulatur, am ehesten vermittelt über C-Fasern und A $\delta$ -Fasern (Rolke et al., 2006; Wegner et al., 2014). Mit Hilfe eines digitalen Algometers



(FDX 50; Wagner Instruments, Greenwich, CT, USA) wurden ansteigende Drücke manuell an vier verschiedenen Muskelgruppen appliziert. Eine 1 cm<sup>2</sup> große stumpfe Gummispitze wurde auf die Haut aufgelegt und der Druck wurde in Kilopond pro Quadratcentimeter (kp/cm<sup>2</sup>) gemessen. Pro Sekunde wurde der Druck um 1 kp/cm<sup>2</sup> erhöht, wobei das Algometer Abstufungen von 0,02 kp/cm<sup>2</sup> messen kann (Wegner et al., 2014). Jede Muskelgruppe wurde bilateral viermal getestet. Zur Gewöhnung wurde die Bestimmung zunächst zentral an der rechten Handflächeninnenseite durchgeführt. Dann wurden die Druckschmerzschwellen in der folgenden Reihenfolge rechts und links an den folgenden Punkten bestimmt: Unterer Rücken (ca. 5 cm lateral des Processus spinosus von L3), Wade (Innenseite, oberes Drittel des M. gastrocnemius), Ansatz des M. deltoideus und zentraler Punkt des M. trapezius. Zur Bestimmung der Druckschmerzschwellen der ersten beiden Muskelgruppen lagen die Probanden auf einer Liege in Bauchlage, bei den letzten beiden Muskelgruppen saßen die Probanden aufrecht. Die Probanden wurden angewiesen, bei beginnender Schmerzwahrnehmung „Stopp“ zu sagen, wonach der Druck sofort abgesetzt wurde. Der entsprechende Druck wurde als Druckschmerzschwelle definiert. Dabei war der entsprechende Wert weder auf dem Display des Algometers noch in den Unterlagen für die Probanden einsehbar (Wegner et al., 2014). Um ein möglichst genaues Ergebnis zu erhalten, wurden Druckschmerzschwellen über 20 kg/cm<sup>2</sup> nicht berücksichtigt (Lacourt et al., 2012). Die Untersuchung dauerte insgesamt ca. 20 Minuten.

Für die statistische Auswertung wurde der erste Messwert ausgeschlossen und die Werte der zweiten bis vierten Messung gemittelt, um ein reliables Ergebnis zu erzielen (Lacourt et al., 2012).

Um eine hohe Ergebnisübereinstimmung zwischen dem männlichen Versuchsleiter und der weiblichen Versuchsleiterin zu gewährleisten, wurde der Umgang mit dem Gerät vor der Studie zunächst eingeübt und in einer Vortestung an 10 Testprobanden mit guter Interraterreliabilität für die ermittelten Schmerzschwellen ( $r_{tt}=0,86$ ) etabliert.

## **2.7 Blutanalyse**

### **2.7.1 Großes Blutbild**

Ein großes Blutbild mit differenzierter Zählung von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten wurde aus EDTA-Blut (2,7ml EDTA-Monovette, Sarstedt AG, Nürnberg, Deutschland) von einem automatischen Zellzählgerät (Sysmex KX-21N, Norderstedt, Deutschland) durchgeführt.

### **2.7.2 Zytokine, Kortisol und CRP**

Mit Hilfe eines antikörperbasierten Nachweisverfahrens (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) wurden Plasmakonzentrationen von TNF- $\alpha$  und IL-6 gemäß der Herstellerangaben (Quantikine® IL-6 und high-sensitive TNF- $\alpha$  ELISA, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) analysiert. Die minimal nachweisbare Konzentration von Zytokinen des Assays betrug 0,11 pg/ml für TNF- $\alpha$  und 0,70 pg/ml für IL-6.

Auch die Plasmakortisolkonzentrationen wurden mittels antikörperbasierten Nachweisverfahrens (ELISA) gemäß der Herstellerangaben analysiert (Cortisol ELISA, IBL International, Hamburg, Deutschland). Die minimal nachweisbare Plasmakortisolkonzentration betrug 0,138nmol/l.

C-reaktives Protein wurde mittels Polyglykol angereichertem Immunoturbidimetric Assay vom Zentrallabor des Universitätsklinikum Essen analysiert.

## **2.8 Fragebögen**

### **2.8.1 Screening-Fragebögen**

Vor der Studie füllten die Probanden verschiedene Fragebögen aus, die sie zum ersten Studientag mitbrachten. Für diese Arbeit ausgewertet wurden der

soziodemographische Fragebogen, der mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) und die deutsche Version des Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS-D). Im Rahmen der Voruntersuchung füllten die Probanden eine Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden aus (siehe Anhang).

### **Soziodemographischer Fragebogen**

Mittels des soziodemographischen Fragebogens wurden allgemeine demographische Variablen wie Alter, Familienstand und Bildungsniveau sowie Größe und Gewicht ermittelt, außerdem wurde um subjektive Beurteilung des Gesundheitszustands gebeten.

### **Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden**

Die Probanden gaben mit Hilfe der Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden die Häufigkeit des Auftretens verschiedener relevanter, gastrointestinaler Symptome, wie z.B. Durchfall, Verstopfung, Übelkeit, Bauchschmerzen, Appetitverlust und Sodbrennen in den letzten drei Monaten auf einer Likert-Skala von 0 bis 3 (0 = nie; 1 = 1 bis 2 mal pro Monat; 2 = 1 bis 2 mal pro Woche; 3 = mehr als 2 mal pro Woche) an. Probanden mit einem Summenwert > 10 wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen (Lacourt et al., 2014).

### **Hospital Anxiety and Depression Scale – deutsche Version (HADS-D)**

Zur Detektion einer akut bestehenden klinisch relevanten Depression oder Angststörung beantworteten die Probanden vor Studienbeginn die deutsche Version des validierten Screening-Fragebogens Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS-D). Der Fragebogen erfasst die Ausprägung ängstlicher und depressiver Symptome in der vergangenen Woche mittels 14 Items (Herrmann-Lingen, 2005). Die publizierten Cutoff-Werte (Werte  $\geq 11$ ) wurden als Ausschlusskriterien verwendet (Herrmann-Lingen et al., 2011; Zigmond et al., 1983).

### **2.8.2 Messwiederholte Fragebögen**

Während der Studientage füllten die Probanden wiederholt mehrere validierte Fragebögen zur Erfassung der aktuellen Stimmung und der körperlichen Symptome aus.

#### **State-Trait-Anxiety Inventory (STAI)**

Mittels der deutschen Version des State-Trait-Anxiety Inventory (Laux et al., 1981) wurde die Zustandsangst (State Version: STAI-S) ermittelt (Spielberger et al., 1970).

Der hier eingesetzte **STAI-S** zur Beurteilung der Zustandsangst erfasst emotionale Zustände, wie innere Anspannung, Besorgtheit, Unruhe, Zukunftsangst und eine erhöhte Aktivität des autonomen Nervensystems. Er besteht aus 20 Items, die jeweils auf einer vierstufigen Likert-Skala („Überhaupt nicht“, „Ein wenig“, „Ziemlich“, „Sehr“) beantwortet werden. Die 20 Items sind kurze Aussagen über den augenblicklichen Gefühlszustand (z.B. „Ich fühle mich ruhig“ oder „Ich bin aufgeregt“). Es werden Werte zwischen 20 und 80 erreicht. Höhere Gesamtwerte deuten auf eine höhere Zustandsangst. Die Zustandsangst wurde zur Baselinemessung und 1, 2, 3, 4, 6 und 24 Stunden nach Injektion erfasst. Die Durchführung dauerte etwa 3 bis 6 Minuten.

#### **Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)**

Mittels des mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogens (Version A) wurde zur Baselinemessung sowie zu den Zeitpunkten M3 und M6 die momentane Stimmung erfasst (Steyer et al., 1997). Der Fragebogen beinhaltet 12 Items aus drei Subskalen zur Beurteilung der aktuellen Stimmung (gute versus schlechte Stimmung), Wachheit (versus Müdigkeit) und Ruhe (versus Unruhe), die auf einer fünfstufigen Likertskala von 1 („überhaupt nicht“) bis 5 („sehr“) bewertet werden. Für die drei Subskalen werden die Itemwerte jeweils aufsummiert, wobei inverse Items entsprechend umkodiert wurden. Hohe Werte kennzeichnen positive Befindlichkeitszustände (positive Stimmung, Wachheit bzw. Ruhe). Das Ausfüllen des Fragebogens nahm ungefähr 3 bis 6 Minuten in Anspruch.

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

Mittels einer adaptierten Version des validierten Fragebogens GASE (Rief et al., 2011) wurden retrospektiv, nach Injektion von LPS oder Placebo, Nebenwirkungen abgefragt. Die Probanden bewerteten die Intensität 30 verschiedener Beschwerden, die im Zusammenhang mit LPS stehen (z.B.: Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwitzen) von 0 („nicht aufgetreten“) bis 3 („schwer“). Sie gaben weiterhin an, ob sie die Beschwerden auf das eventuell verabreichte LPS zurückführen, wobei die Probanden zu diesem Zeitpunkt weiterhin verblindet waren. Die Einzelwerte wurden addiert.

## **2.9 Statistische Auswertung**

Alle Daten wurden mittels IBM SPSS Statistics 23 (IBM Corporation, Armonk, NY, US) und GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, US) berechnet. Mit einem Kolmogorov-Smirnov-Test wurde eine Testung auf Normalverteilung durchgeführt. Vor der Analyse wurden alle nicht-normalverteilten Daten log-transformiert, um eine normale Verteilung zu erreichen. Soziodemographische und psychologische Daten von weiblichen und männlichen Probanden wurden mittels unabhängiger T-Tests oder  $\chi^2$ -Tests verglichen. Die Bewertungen einzelner im Zusammenhang mit LPS stehender Nebenwirkungen (abgefragt im GASE-Fragebogen) wurden mittels Bonferroni-korrigiertem Mann-Whitney U-Test verglichen. Alle messwiederholten Variablen wurden mittels messwiederholter Varianzanalyse (ANOVA) für die messwiederholten Faktoren Bedingung (LPS oder Placebo) und Messzeitpunkt (M0 bis M6) sowie dem Zwischensubjektfaktor Geschlecht (Männer, Frauen) berechnet. Bei signifikanten Interaktionseffekten für Geschlecht x Messzeitpunkt oder Geschlecht x Bedingung (LPS oder Placebo) wurden post-hoc unabhängige T-Tests berechnet, um Frauen und Männer in der LPS-Bedingung zu vergleichen. Weiterhin wurden post-hoc abhängige T-Tests für Männer und Frauen einzeln zu bestimmten Messzeitpunkten berechnet, wenn signifikante Ergebnisse in der Varianzanalyse für die Bedingung oder die Bedingung x Messzeitpunkt ermittelt wurden. Post-hoc wurden außerdem abhängige T-Tests berechnet, um den Effekt von LPS auf die

Schmerzwahrnehmung für Frauen und Männer einzeln zu bestimmen. Korrelationsanalysen wurden mittels Spearmans Rangkorrelationskoeffizienten  $\rho$  (Spearmans Rho) berechnet. Der Alpha-Fehler wurde auf 0,05 festgelegt. Sofern nicht anders gekennzeichnet, werden die gezeigten Daten als Mittelwerte und Standardfehler beschrieben.

## **2.10 Förderung**

Die Studie wurde gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, BE 5173/2-1) und das IFORES-Programm der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen für Dr. Alexander Wegner, Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie, Universitätsklinikum Essen.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Beschreibung der Stichprobe

An der Studie nahmen insgesamt 40 gesunde Freiwillige teil, 20 Frauen und 20 Männer. Während der laufenden Studie mussten keine Probanden ausgeschlossen werden.

Die Probanden hatten ein durchschnittliches Alter von  $26,8 \pm 0,7$  Jahren (Range 22-41) und waren im Range normalgewichtig mit einem BMI von durchschnittlich  $23,2 \pm 0,4$  (Range 18,7 – 28,7). Männer und Frauen unterschieden sich nicht signifikant bezüglich Alter, Body Mass Index, Bildung oder Partnerschaftsstatus (siehe Tabelle 4). Aufgrund der Ausschlusskriterien waren alle Probanden Nichtraucher, nahmen nicht regelmäßig Medikamente ein (außer der Kontrazeptiva) und litten unter keiner der abgefragten Erkrankungen.

Ängstlichkeits- und Depressionsscores (HADS) sowie die Häufigkeit und Intensität gastrointestinaler Beschwerden während der vergangenen 3 Monate (Summenwerte des Screeningbogens für Magen-Darm-Symptome) waren den Ausschlusskriterien entsprechend bei allen Probanden niedrig und im Normbereich. Für keines der Parameter ergaben sich Hinweise auf Geschlechterunterschiede, lediglich für die HADS-Angstskala zeigten Frauen statistisch höhere Werte als Männer (siehe Tabelle 4).

Tabelle 5 zeigt viszerale und muskuloskelettale Schmerzschwellen sowie viszerale Wahrnehmungsschwellen zur Baseline, also Ergebnisse die in der Placebo-Bedingung bestimmt wurden (siehe 3.3 und 3.4).

**Tab.4: Soziodemographische und psychologische Eigenschaften zur Baseline:**

	Frauen (N=20)	Männer (N=20)	p
Alter (Jahre)	27,5 ± 1,2	26,2 ± 0,7	0,35
Body Mass Index (BMI), kg/m <sup>2</sup>	22,6 ± 0,6	23,8 ± 0,6	0,15
Bildung, Abitur % (N)	85 (17)	100 (20)	0,23
In einer Partnerschaft lebend % (N)	55 (11)	75 (15)	0,32
HADS Depressionsscore	0,8 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,29
HADS Angstscore	3,0 ± 0,5	1,8 ± 0,4	0,08
Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,5	0,99
Hormonelle Verhütung	100 (20)		
• Einphasen-Pille % der Frauen (N)	65 (13)		
• Zweiphasen-Pille % der Frauen (N)	5 (1)		
• Dreiphasen-Pille % der Frauen (N)	10 (2)		
• Vaginalring % der Frauen (N)	15 (3)		
• Minipille % der Frauen (N)	5,0 (1)		



**Tab.5: Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen zur Baseline:**

	Frauen (N=20)	Männer (N=20)	p
Rektale Wahrnehmungsschwelle (mmHg), Placebobedingung*	17,3 ± 1,0	15,6 ± 0,9	0,23
Rektale Schmerzschwelle (mmHg), Placebobedingung*	37,8 ± 2,3	37,4 ± 2,1	0,90
Druckschmerzschwelle M. erector spinae (L3), kg/m <sup>2</sup> , Placebobedingung*	5,8 ± 0,5	9,2 ± 1,1	0,009
Druckschmerzschwelle M. gastrocnemius, kg/m <sup>2</sup> , Placebobedingung*	3,1 ± 0,3	4,3 ± 0,4	0,022
Druckschmerzschwelle M. deltoideus, kg/m <sup>2</sup> , Placebobedingung*	3,4 ± 0,4	5,4 ± 0,5	0,004
Druckschmerzschwelle M. trapezius, kg/m <sup>2</sup> , Placebobedingung*	2,8 ± 0,3	3,5 ± 0,4	0,13

Alle Ergebnisse sind als Mittelwert ± Standardfehler dargestellt, wenn nicht anders gekennzeichnet; N=40

\*gemessen während Placebo- /Kontrollbedingung

HADS, Hospital Anxiety and Depression Scale; p, p-Wert für Ergebnisse des T-Tests bei unabhängigen Stichproben oder x<sup>2</sup>-Tests bei dichotomen Merkmalen.

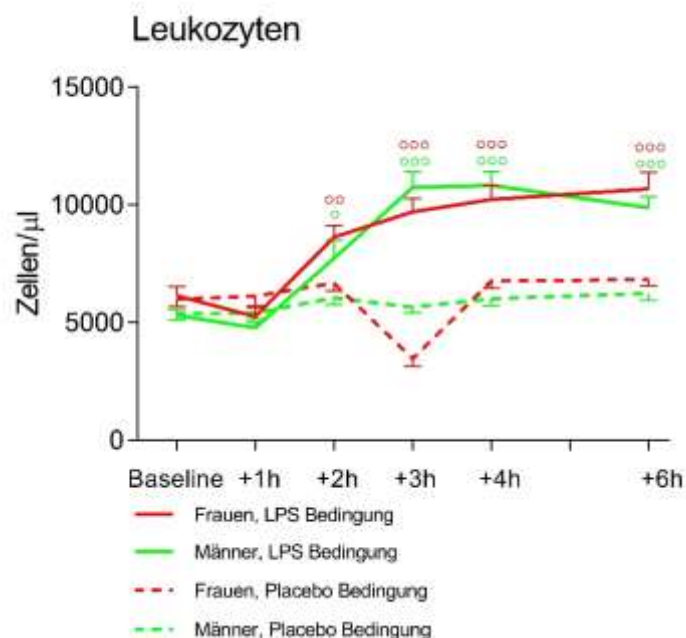
### 3.2 Leukozyten, Plasmaprozytokine, Kortisol, Vitalparameter, CRP

Die LPS-Gabe induzierte eine akute, transiente systemische Immunaktivierung, welche anhand von Erhöhungen der verschiedenen Labor- und Vitalparameter (z.B. Körpertemperatur) nachweisbar wurde.

#### 3.2.1 Leukozyten

In Reaktion auf die Injektion des LPS zeigte sich eine signifikant erhöhte Zahl der zirkulierenden Leukozyten ( $F = 69,4$ ,  $p < 0,001$ ) (ANOVA Interaktionseffekt Bedingung x Messzeitpunkt).

Bei Frauen war der Anstieg zu einem späteren Messzeitpunkt als bei Männern ersichtlich, was sich in einem signifikanten ANOVA Interaktionseffekt von Geschlecht x Bedingung x Messzeitpunkt widerspiegelt ( $F = 3,1$ ,  $p = 0,01$ ; für die Ergebnisse der post-hoc Tests, siehe Abbildung 7).



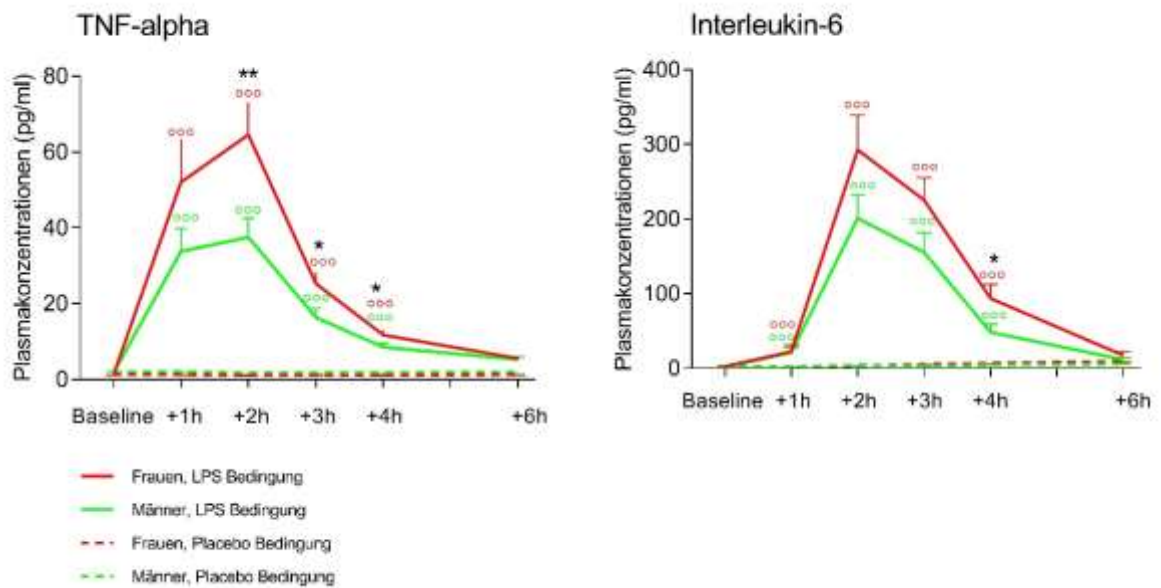
**Abb. 7: Leukozyten nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.** Die Anzahl der zirkulierenden Leukozyten waren nach LPS-Injektion bei beiden Geschlechtern erhöht.

○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Frauen)

○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Männern)

### 3.2.2 Plasmazytokine

Im Vergleich zur Placebobedingung waren die Plasmazytokinkonzentrationen von TNF- $\alpha$  ( $F = 208,4$ ,  $p < 0,001$ ) und IL-6 ( $F = 122,5$ ,  $p < 0,001$ ) in der LPS-Bedingung signifikant erhöht (ANOVA Interaktionseffekt Bedingung x Messzeitpunkt). Frauen zeigten einen stärkeren Anstieg von TNF- $\alpha$  ( $F = 6,4$ ,  $p = 0,016$ ; ANOVA Interaktionseffekt Geschlecht x Bedingung) nach LPS-Gabe. Zudem waren die Konzentrationen von IL-6 in der LPS-Bedingung bei den Frauen während aller Messzeitpunkte höher als bei den Männern ( $F = 4,9$ ,  $p = 0,034$ ; ANOVA Haupteffekt Geschlecht, für die Ergebnisse der post-hoc Tests siehe Abbildung 8).



**Abb. 8: Zytokine nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.** TNF- $\alpha$  und Interleukin-6 waren nach LPS Injektion bei beiden Geschlechtern erhöht, wobei die Plasmazytokinkonzentrationen von TNF-alpha und IL-6 bei Frauen signifikant stärkere Anstiege zeigten.

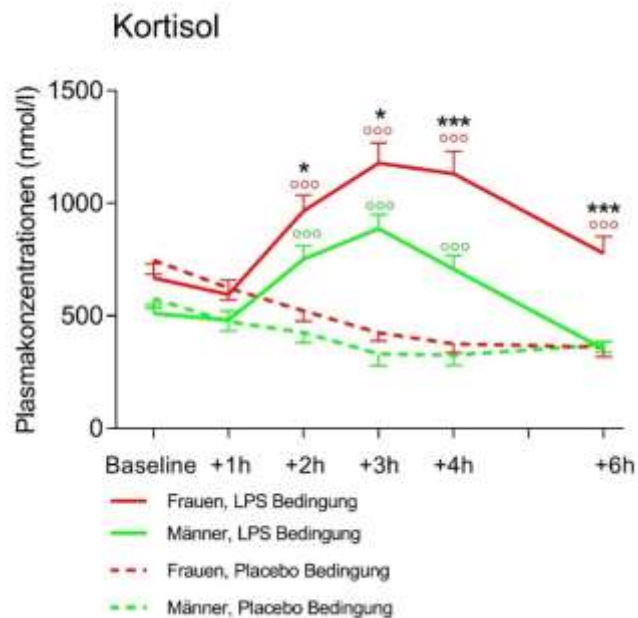
\*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Frauen)

\*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Männern)

\*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , Männer vs. Frauen (Ergebnisse der post-hoc T-Test für Männer vs. Frauen innerhalb der LPS Bedingung)

### 3.2.3 Kortisol

Die Plasmakortisolkonzentrationen stiegen nach der LPS-Injektion im Vergleich zur Placebo-Bedingung signifikant an ( $F = 38,1$ ,  $p < 0,001$ ; ANOVA Interaktion von Bedingung x Zeit). Frauen reagierten dabei mit einem signifikant höheren und verlängerten Anstieg ( $F = 5,2$ ,  $p = 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt Geschlecht x Bedingung x Messzeitpunkt).

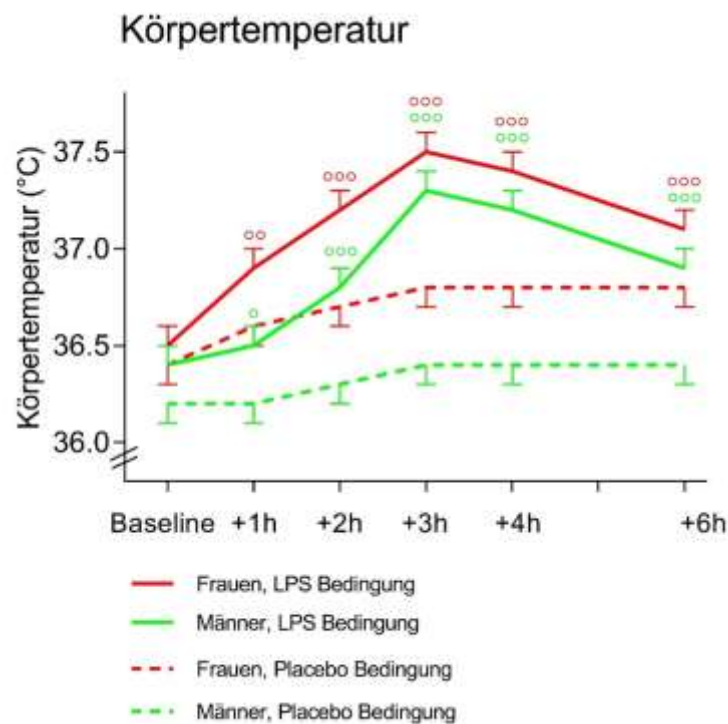


**Abb. 9: Kortisol nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.** Plasmakonzentrationen von Kortisol waren nach LPS Injektion bei beiden Geschlechtern erhöht.  
 ○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Frauen)  
 ○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Männern)  
 \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ , Männer vs. Frauen (Ergebnisse der post-hoc T-Test für das Geschlecht Männer vs. Frauen in der LPS Bedingung)

### 3.2.4 Vitalparameter

#### Körpertemperatur

Die Körpertemperatur zeigte nach der LPS-Gabe im Vergleich zur Placebo-Gabe einen leichten, aber statistisch signifikanten Anstieg mit einem Maximum von  $37,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$  bei Frauen und  $37,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$  bei Männern jeweils 3 Stunden nach Injektion ( $F = 11,9$ ,  $p < 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt Bedingung x Zeit), wobei sich keine Hinweise auf einen Geschlechterunterschied ergaben (siehe Abbildung 10).



**Abb. 10: Körpertemperatur nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.** Die Körpertemperatur war nach LPS Injektion bei beiden Geschlechtern erhöht.

○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Frauen)

○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Männern)

## **Puls und Blutdruck**

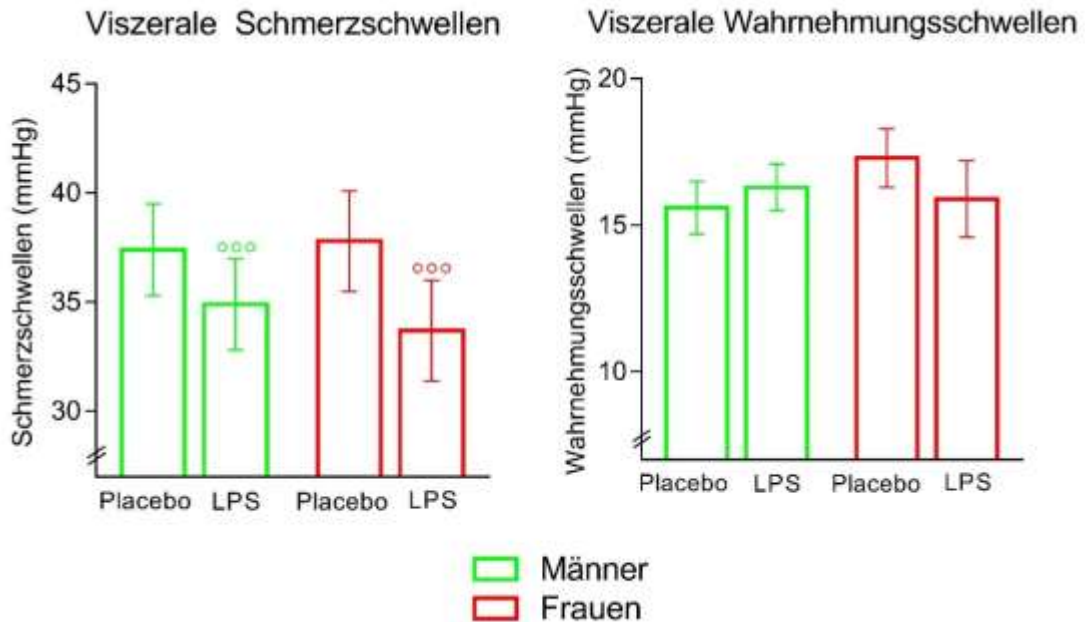
Sowohl der Puls ( $F = 11,5$ ,  $p < 0,001$ ) als auch der systolische ( $F = 5,1$ ,  $p < 0,001$ ) und der diastolische Blutdruck ( $F = 2,7$ ,  $p < 0,039$ ) (alle ANOVA Interaktionseffekte Bedingung x Messzeitpunkt) stiegen während der LPS-Bedingung signifikant an, jedoch ohne Hinweise auf Geschlechterunterschiede (Daten nicht gezeigt).

### **3.2.5 CRP**

24 Stunden nach LPS Injektion waren die CRP-Konzentrationen bei den Frauen leicht höher ( $2,32 \pm 0,2$  mg/dl) als bei den Männern ( $1,86 \pm 0,1$  mg/dl), allerdings erreichte dieser Unterschied keine statistische Signifikanz ( $t = 2,0$ ,  $p = 0,056$ ). Bei allen Probanden waren die CRP-Konzentrationen 48 Stunden vor der Studie und 7 Tage nach Beendigung der Studie unterhalb der Nachweisgrenze von 0,5 mg/dl.

## **3.3 Viszerale Schmerzsensitivität**

Frauen und Männer zeigten keine signifikanten Unterschiede bei der Wahrnehmungs- ( $t = 1,2$ ;  $p = 0,23$ ) oder Schmerzschwelle ( $t = 0,1$ ;  $p = 0,90$ ) in der Placebobedingung (siehe Tabelle 5). Im Vergleich zur Placebo-Gabe führte die LPS Injektion bei den Probanden zu einer signifikanten Abnahme der rektalen Schmerzschwellen ( $F = 24,8$ ,  $p < 0,001$ ; Bedingungseffekt). Hierbei ergaben sich keine Hinweise auf Geschlechterunterschiede im Ausmaß der LPS-induzierten Reduktion ( $F = 1,5$ ,  $p = 0,24$ ; Geschlecht x Bedingungseffekt; siehe Abbildung 11). Separat für Frauen und Männer berechnete Analysen ergaben, dass sowohl Männer ( $t = -3,2$ ,  $p = 0,002$ ) als auch Frauen ( $t = -3,8$ ,  $p < 0,001$ ) nach LPS-Gabe signifikant niedrigere Schmerzschwellen aufwiesen als in der Placebo-Bedingung. Rektale Wahrnehmungsschwellen unterschieden sich bei Männern und Frauen weder vor, noch nach der Injektion von LPS (Abbildung 11).



**Abb. 11: Viszerale Schmerzsensitivität.** Nach LPS Injektion waren die viszerale Schmerzschwellen im Vergleich zur Placebobedingung signifikant reduziert, während es bei viszerale Wahrnehmungsschwellen keine LPS-induzierten Veränderungen gab. Die Reduktion der Schmerzschwellen war bei Männern und Frauen vergleichbar.

○ ○ ○  $p < 0.001$ , ○ ○  $p < 0.01$ , ○  $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Frauen)

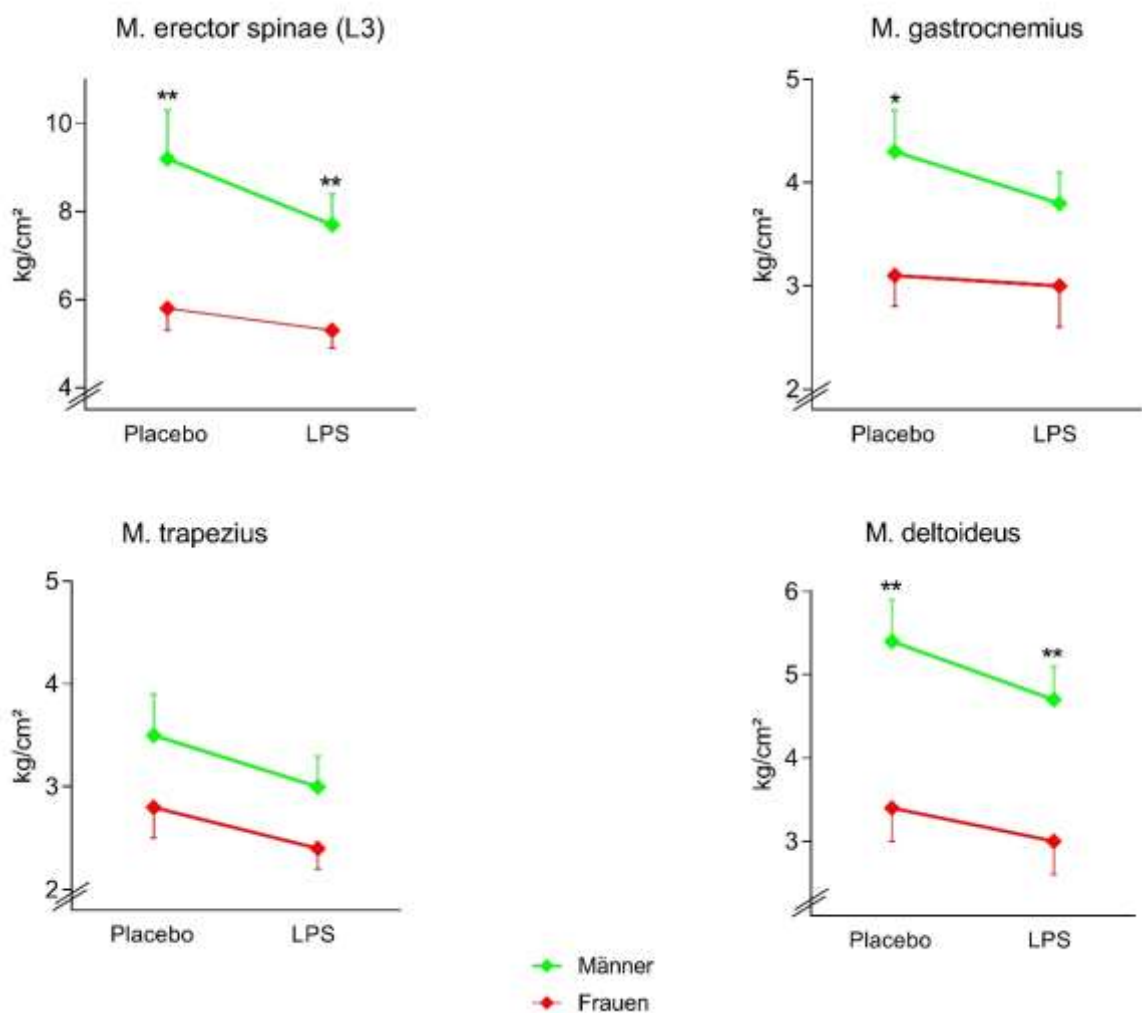
○ ○ ○  $p < 0.001$ , ○ ○  $p < 0.01$ , ○  $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Männern)

### 3.4 Muskuloskeletale Schmerzsensitivität

Während beider Studienbedingungen (LPS, Placebo) zeigten Frauen niedrigere Schmerzschwellen beim M. erector spinae (L3) ( $F = 8,7$ ,  $p = 0,005$ ), M. deltoideus ( $F = 11,0$ ;  $p = 0,002$ ) und M. gastrocnemius ( $F = 4,5$ ,  $p = 0,041$ ) (alle ANOVA Haupteffekt Geschlecht; die post-hoc Tests sind in Abbildung 12 wiedergegeben).

Die Druckschmerzschwellen waren nach LPS-Gabe signifikant niedriger als in der Placebo-Bedingung für den unteren Rücken (M. erector spinae (L3):  $F = 6,0$ ,  $p = 0,019$ ), die Schulterregion (M. deltoideus:  $F = 18,8$ ,  $p < 0,01$ ; M. trapezius:  $F = 14,8$ ,  $p < 0,001$ ) und für den Unterschenkel / die Wade (M. gastrocnemius:  $F = 5,8$ ,  $p = 0,021$ ) (alle ANOVA Bedingungseffekte), ohne dass sich Hinweise auf Geschlechterunterschiede ergaben (für alle Muskelgruppen:  $p > 0,1$ , ANOVA Interaktion Geschlecht x Bedingungseffekt, Abbildung 12).

In explorativen Analysen wurde der Effekt von LPS auf die muskuloskelettalen Schmerzschwellen getrennt für Frauen und Männer erfasst. Bei den Männern waren die Schmerzschwellen nach LPS Injektion im Vergleich zur Placebo-Gabe bei allen Muskelgruppen signifikant reduziert (M. erector spinae (L3):  $t = -2,0$ ,  $p = 0,029$ ; M. gastrocnemius:  $t = -3,0$ ,  $p = 0,003$ ; M. deltoideus:  $t = -4,1$ ,  $p < 0,001$ ; M. trapezius:  $t = -3,8$ ,  $p < 0,001$ ). Bei Frauen wurden signifikante LPS-induzierte Reduktionen in den Schmerzschwellen nur für den M. deltoideus ( $t = -2,3$ ,  $p = 0,016$ ) und den M. trapezius ( $t = -2,0$ ,  $p = 0,03$ ) beobachtet, nicht jedoch für den M. erector spinae (L3) ( $t = -1,5$ ,  $p = 0,07$ ) und den M. gastrocnemius ( $t = -0,7$ ,  $p = 0,26$ ).



**Abb. 12: Muskuloskelettale Schmerzsensitivität.** Nach LPS Injektion waren die muskuloskelettalen Druckschmerzschwellen im Vergleich zur Placebobedingung signifikant reduziert, wobei die LPS-induzierten Veränderungen zwischen den Geschlechtern vergleichbar waren. Frauen zeigten unabhängig von der Versuchsbedingung signifikant geringere muskuloskelettale Schmerzschwellen.

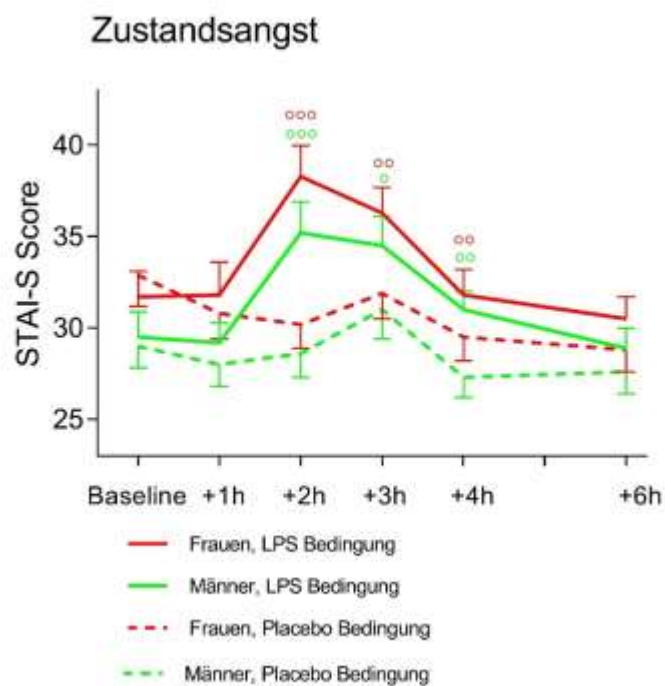
\*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , Männer vs. Frauen (Ergebnisse aus unabhängigen post-hoc T-Tests)



### 3.5 Zustandsangst (STAI-S), Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF), Nebenwirkungen (GASE)

#### 3.5.1 Zustandsangst (STAI-S)

Nach der LPS-Injektion war die Zustandsangst (STAI-S Scores) signifikant erhöht ( $F = 10,2, p < 0,001$ ; ANOVA Interaktionseffekt Bedingung x Messzeitpunkt), jedoch ohne Hinweise auf Geschlechterunterschiede oder Geschlecht x Bedingungsinteraktionseffekte (siehe Abbildung 13).



**Abb. 13: Zustandsangst nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.** Zustandsangst war nach LPS-Injektion bei beiden Geschlechtern erhöht.

○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Frauen)

○○○ $p < 0.001$ , ○○ $p < 0.01$ , ○ $p < 0.05$ , LPS vs. Placebo (Ergebnisse der abhängigen post-hoc T-Tests der Bedingung LPS vs Placebo bei Männern)

### **3.5.2 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)**

Die einzelnen Scores des MDBF geben Auskunft über die aktuelle Stimmung (gute versus schlechte Stimmung), Wachheit (versus Müdigkeit) und Ruhe (versus Unruhe). Alle Subskalen zeigten signifikant niedrigere Werte drei Stunden nach Injektion von LPS, was auf negativere Befindlichkeitszustände hinweist (GS:  $F = 17,1$ ,  $p < 0,001$ ; WM:  $F = 14,1$ ,  $p < 0,001$ ; RU:  $F = 4,0$ ;  $p = 0,028$ ; alle ANOVA Interaktionseffekte Bedingung x Messzeitpunkt). Sechs Stunden nach Injektion näherten sich die Angaben zum Befindungsstatus wieder der Baselinemessung. Es ergaben sich keine Unterschiede zwischen Männern und Frauen.

### **3.5.3 Nebenwirkungen (GASE)**

Retrospektiv berichtete körperliche Symptome bzw. Nebenwirkungen nach LPS-Gabe waren insgesamt vergleichbar bei Männern (Summe des GASE:  $9,2 \pm 2,0$ ) und Frauen (Summe des GASE:  $11,3 \pm 2,1$ ;  $t = 0,7$ ;  $p = 0,43$ ).

### **3.6 Korrelation zwischen Schmerzschwellen und Zytokinkonzentrationen**

Explorativ wurden Zusammenhänge zwischen Zustandsangst, Plasmazytokin- und Kortisolkonzentrationen zum Zeitpunkt zwei Stunden nach LPS Injektion (M2) und den viszeralen und muskuloskelettalen Schmerzen berechnet. Bei männlichen Probanden korrelierten höhere TNF- $\alpha$  Konzentrationen mit niedrigeren Schmerzschwellen für alle Muskelgruppen in der Algometrie. Bei Frauen waren die entsprechenden Korrelationen nicht signifikant. Frauen zeigten hingegen signifikante Korrelationen zwischen TNF- $\alpha$  Konzentrationen und viszeralen Schmerzschwellen. Zudem zeigten sich bei Frauen Korrelationen zwischen der Zustandsangst (STAI-S) und den viszeralen Schmerzschwellen sowie den muskuloskelettalen Schmerzschwellen für einzelne Muskelgruppen (siehe Tabelle 6).

	Schmerzschwellen									
	Viszeraler Schmerz (Rektale Distensionen)		M. erector spinae (L3)		M. gastrocnemius		M. deltoideus		M. trapezius	
	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer
<b>Zustandsangst (2h p.i.)</b>										
<b>r</b>	<b>-0,55</b>	-0,35	-0,11	-0,35	-0,33	-0,08	<b>-0,48</b>	-0,31	<b>-0,40</b>	0,03
<b>P</b>	<b>0,012</b>	0,134	0,635	0,127	0,160	0,749	<b>0,033</b>	0,190	<b>0,084</b>	0,926
<b>Interleukin-6 (2h p.i.)</b>										
<b>r</b>	0,28	-0,28	0,24	<b>-0,49</b>	0,12	-0,25	0,25	-0,27	0,28	-0,06
<b>P</b>	0,235	0,235	0,301	<b>0,029</b>	0,613	0,281	0,281	0,263	0,230	0,808
<b>TNF-<math>\alpha</math> (2h p.i.)</b>										
<b>r</b>	<b>0,45</b>	-0,32	0,20	<b>-0,54</b>	0,04	<b>-0,59</b>	0,23	<b>-0,55</b>	0,33	<b>-0,48</b>
<b>P</b>	<b>0,045</b>	0,186	0,409	<b>0,014</b>	0,880	<b>0,006</b>	0,327	<b>0,014</b>	0,150	<b>0,037</b>
<b>Kortisol (2h p.i.)</b>										
<b>r</b>	0,10	-0,20	0,03	0,40	0,14	0,12	0,12	0,04	0,09	0,27
<b>P</b>	0,672	0,394	0,915	0,081	0,552	0,629	0,602	0,881	0,696	0,270

**Tabelle 6: Korrelationen zwischen Schmerzschwellen (viszerale und muskuloskelettale Schmerzen) und Zustandsangst, Plasmazytokin- und Kortisolkonzentrationen für Männer und Frauen zwei Stunden nach der Injektion von 0,4 ng/kg LPS.** Korrelationen zwischen viszeralen Schmerzschwellen (rektale Barostat-Distensionen), muskuloskelettalen Schmerzschwellen (Druckschmerz mittels Algometer) und Plasmazytokinkonzentrationen, Kortisolkonzentrationen und Zustandsangst. Die Korrelationen wurden mittels Spearman's  $\rho$  für Männer und Frauen in der LPS Bedingung separat berechnet (2h p.i. = 2 Stunden nach iv.-Injektion von LPS, Lipopolysaccharid)

## 4. Diskussion

### Entzündungsreaktionen im Geschlechtervergleich

Das angeborene Immunsystem bei Frauen und bei Männern reagiert unterschiedlich auf Herausforderungen. Typischerweise zeigen Frauen eine stärkere Immunantwort als Männer (Klein, 2012). Protektiv erscheint dies im Hinblick auf die Mortalität und Morbidität bei Sepsis, jedoch als Risikofaktor im Hinblick auf die Krankheitsinzidenzen von beispielsweise chronisch schmerzhaften oder autoimmunen Erkrankungen (Klein, 2012; van Eijk et al., 2007).

Im humanexperimentellen Bereich ist die Befundlage zu den Effekten einer LPS-induzierten systemischen Immunaktivierung im Hinblick auf Geschlechterunterschiede lückenhaft und nicht eindeutig (Coyle et al., 2006; Ferguson et al., 2013; Suffredini, 2007; van Eijk et al., 2007; Wegner et al., 2017).

Grundsätzlich bietet die intravenöse Injektion von LPS ein sicheres und etabliertes Modell, um akute systemische Entzündungsreaktionen sowie entzündungsinduzierte Schmerzsensitivierung zuverlässig zu untersuchen (Bahador und Cross, 2007, Hutchinson et al., 2013; Schedlowski et al., 2014). Studien bezüglich Geschlechterunterschieden sind allerdings immer noch rar. Mit einer Ausnahme (Karshikoff et al., 2015), welche zum Zeitpunkt der Studiendurchführung noch nicht publiziert war, gibt es keine Studie, welche die Entstehung einer Hyperalgesie im Rahmen einer Endotoxin-induzierten systemischen Entzündungsreaktion im Geschlechtervergleich untersucht. Dies unterstreicht den Bedarf humanexperimenteller Studien, in denen Männer und Frauen verglichen werden.

In der vorliegenden randomisierten, doppelblinden Crossover-Studie wurde eine systemische Immunaktivierung mittels einer niedrigen Dosis Lipopolysaccharid induziert. Jeweils 20 gesunde Frauen und Männer erhielten an zwei Studientagen randomisiert intravenös LPS oder Placebo. Die Injektion von 0,4 ng/kg Körpergewicht LPS führte zu einer akuten, transienten und systemischen Immunaktivierung, welche anhand von Erhöhungen der verschiedenen

Laborparameter (z.B. Leukozyten, pro-inflammatorische Zytokine) und der Vitalparameter (z.B. Körpertemperatur) messbar wurde.

Es kam zu einem signifikanten, transienten Anstieg der pro-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-6 im Blutplasma der Probanden. Dies deckt sich mit diversen Studien unserer und anderer Arbeitsgruppen, in welchen die Injektion von LPS zu einer zuverlässigen Auslösung einer Entzündungsreaktion mit signifikanten Erhöhungen von TNF- $\alpha$  und IL-6 führte (Benson et al., 2017; Benson et al., 2015; Benson et al., 2012b; Eisenberger et al., 2010; Ferguson et al., 2013; Grigoleit et al., 2012; Grigoleit et al., 2011; Grigoleit et al., 2010; Hutchinson et al., 2013; Kullmann et al., 2014; Kullmann et al., 2013; Wegner et al., 2017; Wegner et al., 2014).

Es wurde erwartet, dass Frauen im Vergleich zu Männern eine stärkere pro-inflammatorische Reaktion im Sinne höherer Plasmazytokinspiegel der pro-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-6 nach der Applikation von LPS zeigen. Tatsächlich war die Immunaktivierung bei Frauen stärker ausgeprägt als bei Männern. Im Hinblick auf die Unterschiede zwischen den Geschlechtern zeigten sich ein stärkerer Anstieg von TNF- $\alpha$  bei Frauen nach LPS-Injektion sowie höhere IL-6 Konzentrationen bei Frauen während aller Messzeitpunkte. Diese stärkere inflammatorische Antwort zeigte sich ebenfalls in den Kortisolspiegeln, die bei Frauen stärker als bei Männern anstiegen. Zu diesem Ergebnis kommt insgesamt auch die Mehrzahl der Studien (Ferguson et al., 2013; Karshikoff et al., 2015; van Eijk et al., 2007; Wegner et al., 2017). In den genannten Studien wurden jeweils unterschiedliche Konzentrationen von LPS injiziert, meist deutlich höhere als in der vorliegenden Studie (siehe Tab. 3). Bei einer Konzentration von 0,6 ng/kg Körpergewicht LPS konnten zwar keine signifikant höheren TNF- $\alpha$  und IL-6 Konzentrationen bei Frauen gezeigt werden, allerdings war ein Trend zu beobachten (Karshikoff et al., 2015). Zudem waren die Konzentrationen des pro-inflammatorischen IL-8 bei Frauen signifikant höher (Karshikoff et al., 2015). In einer weiteren Studie zeigte sich nach Injektion von 2 ng/kg KG LPS ein signifikant höherer Anstieg der TNF- $\alpha$  Konzentrationen und ein stärkerer Abfall des Blutdrucks bei Frauen im Vergleich zu Männern (van Eijk et al., 2007). Zusätzlich wurde in dieser Studie IL-10 als anti-inflammatorisches Zytokin gemessen, welches bei

Frauen niedriger war als bei Männern (van Eijk et al., 2007), ein Befund, der auch nach niedrig dosierter LPS-Gabe von 0,4 ng/kg berichtet wurde (Engler et al., 2016). Dies könnte auf eine Dysbalance zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen bei Frauen hinweisen, was besonders interessant ist, da eine Dysbalance als pathophysiologisch relevant für die Entwicklung chronischer Schmerzsyndrome diskutiert wird (Üceyler et al., 2009).

In einer experimentellen Studie unserer Arbeitsgruppe wurde ein signifikant höherer Anstieg pro-inflammatorischer Zytokine (TNF- $\alpha$  und IL-6), der Körpertemperatur und der Kortisolkonzentrationen bei Frauen beschrieben (Wegner et al., 2017). In dieser Studie wurde außerdem die in vivo und ex vivo LPS-Reaktion verglichen, wobei sich zeigte, dass die oben genannten Geschlechterunterschiede nur in vivo beobachtet werden konnten. Dies weist darauf hin, dass die beobachteten Geschlechterunterschiede in vivo eher auf systemische als auf zelluläre Antworten zurückzuführen sind (Wegner et al., 2017).

Allerdings liegen auch gegensätzliche Befunde vor (Coyle et al., 2006; Eisenberger et al., 2010; Eisenberger et al., 2009; Ferguson et al., 2013). Bei einer Injektion von 2 ng/kg LPS und typischen Veränderungen bezüglich der Zytokine und Vitalparameter zeigten sich keine Geschlechterunterschiede (Coyle et al., 2006).

Aufgrund der unklaren Studienlage sind weitere Forschungsprojekte nötig, um vermutete Geschlechterunterschiede in der Immunantwort auf die experimentelle Applikation von LPS zu erarbeiten. Auch wenn der größte Teil der Studien bezüglich der Auslösung einer Immunantwort durch die Verabreichung von LPS an männlichen Probanden erhoben wurde, zeigen die bestehenden Studien doch, dass die Injektion von LPS zu einer verlässlichen Immunaktivierung sowohl bei Frauen als auch bei Männern führt und so zur Untersuchung von akuten, transienten und systemischen Entzündungsreaktionen bei beiden Geschlechtern geeignet ist.

Trotz der verstärkten inflammatorischen Antwort auf LPS bei Frauen gab es keine Geschlechterunterschiede in den erfassten Vitalparametern sowie in Befindlichkeit und körperlichen Symptomen. Bezüglich der Erhöhung der Körpertemperatur, des Pulses, des Blutdrucks und der Zustandsangst unterschieden sich Frauen und

Männer demnach nicht, obwohl sich die genannten Vitalparameter und die Zustandsangst signifikant nach LPS-Injektion erhöhten.

Dies legt nahe, dass kompensatorische Mechanismen bei Frauen existieren, welche der stärkeren pro-inflammatorischen Antwort entgegenwirken und Frauen so trotz einer stärkeren pro-inflammatorischen Antwort keine verstärkten physiologischen Reaktionen zeigen (Engler et al., 2016).

Die Aktivierung des Immunsystems durch die Injektion von LPS erfolgt zuverlässig bereits bei niedriger Dosierung (0,4 ng/kg Körpergewicht LPS) (Wegner et al., 2014). Die Injektion von niedrigen Dosen LPS scheint somit ausreichend, um eine Immunaktivierung genauer zu untersuchen.

In einer Studie unserer Arbeitsgruppe wurden bei einer Stichprobe von 128 gesunden Probanden beobachtet, dass Krankheitssymptome noch 6 - 24 Stunden nach Applikation von LPS signifikant erhöht waren, obwohl sich die Zytokinspiegel bereits 6 Stunden nach Applikation wieder normalisiert hatten. Höhere IL-6 Spiegel während der Entzündungsreaktion prognostizierten das Auftreten von späten Krankheitssymptomen, obwohl auch IL-6 Spiegel 6 Stunden nach Endotoxin Applikation wieder im Normbereich lagen. Die Kommunikationswege vom Immunsystem zum ZNS (siehe Abb. 2) scheinen also sowohl einen unmittelbaren als auch einen verzögerten Einfluss auf zentralnervöse Prozesse zu haben (Benson et al., 2017).

Das angeborene Immunsystem spielt nicht nur eine wesentliche Rolle bei der Bekämpfung von Pathogenen, sondern hat auch erheblichen Einfluss auf unterschiedlichste Körperfunktionen und das Gehirn (Dantzer et al., 2008). Das „sickness syndrome“, welches über eine Aktivierung des angeborenen Immunsystems und die Freisetzung von Zytokinen ausgelöst wird, beeinflusst neben immunologischen und metabolischen Veränderungen auch die neurokognitive Ebene und dadurch die Stimmung, das Verhalten und die Schmerzwahrnehmung (Benson et al., 2012a; Benson et al., 2012b; de Goeij et al., 2013; Grace et al., 2014; Hutchinson et al., 2013; Schedlowski et al., 2014; Walker et al., 2014). Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-6 gelten sowohl im humanexperimentellen als auch im tierexperimentellen Setting als schmerzfördernd (Grace et al., 2014; Tracey, 2002; Watkins et al., 2005). Auch in unterschiedlichen Patientengruppen

wurden Korrelationen zwischen den Plasmakonzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine und einer erhöhten Schmerzsymptomatik beobachtet (Koch et al., 2007).

In der vorliegenden Arbeit wurden zur Erfassung von Geschlechterunterschieden neben viszeralen und muskuloskelettalen Schmerzschwellen auch weitere Parameter wie Zustandsangst, aktuelle Stimmung, Wachheit und Ruhe nach der Injektion von LPS bzw. Placebo untersucht.

Dabei kam es zu einer signifikanten Zunahme der Zustandsangst nach Injektion von 0,4 ng/kg KG LPS, zusätzlich reduzierten sich auch die aktuelle Stimmung, die Wachheit und die Ruhe der Probanden nach drei Stunden signifikant. Diese Veränderungen traten bei männlichen und weiblichen Probanden gleichermaßen auf und geben somit keinen Hinweis auf Geschlechterunterschiede in dieser Studie. Allgemein wurden Stimmungsveränderungen in Studien, in welchen die Aktivierung von TLR-4 untersucht wird, wiederholt bestätigt (DellaGioia et al., 2010; Kullmann et al., 2011; Schedlowski et al., 2014). In einer experimentellen Arbeit wurde beobachtet, dass die Abnahme der positiven Stimmung und die Zunahme der Zustandsangst mit der Konzentration der zirkulierenden TNF- $\alpha$  Spiegel korrelierte (Reichenberg et al., 2001). Zusammenhänge zwischen pro-inflammatorischen Zytokinen wie IL-6 und TNF- $\alpha$  und Stimmungsveränderungen wurden auch in einer Übersichtsarbeit berichtet (Walker et al., 2014).

Diese diversen Veränderungen werden, wie unter 1.3 beschrieben, als „sickness syndrome“ zusammengefasst. Schmerz als integraler Bestandteil des „sickness syndromes“ wurde in dieser Studie als zentrale Variable untersucht (Grace et al., 2014; Walker et al., 2014; Watkins & Maier, 2005).



## **Hyperalgesie durch Entzündungsreaktion**

In der vorliegenden Arbeit sollte die Hypothese untersucht werden, dass nach LPS-Gabe reduzierte viszerale und muskuloskelettale Schmerzschwellen zu beobachten sind, wobei erwartet wurde, dass die LPS-induzierte Abnahme der Schmerzschwellen bei Frauen signifikant stärker als bei Männern ausfällt.

Zusammenfassend zeigten sich in dieser Studie bei Männern und Frauen reduzierte Schmerzschwellen, also eine erhöhte Schmerzsensitivität für viszerale und muskuloskelettale Schmerzen während der durch LPS ausgelösten systemischen Entzündungsreaktion. Es ergaben sich jedoch keine Hinweise auf Geschlechterunterschiede. Die Befunde werden im Folgenden für viszerale und muskuloskelettale Schmerzen diskutiert.

## **Viszeraler Schmerz (Geschlechtervergleich und Korrelationen)**

Zentrales Symptom des Reizdarmsyndroms ist die viszerale Hyperalgesie (Benson et al., 2012a; Elsenbruch, 2011). Inzwischen mehren sich Hinweise, dass nicht nur bei Patienten mit postinfektiösem Reizdarmsyndrom, sondern generell bei Reizdarmpatienten eine lokale und möglicherweise auch systemische Immunaktivierung besteht, weshalb bei diesen Erkrankungen potentiell auch ein Zusammenhang zwischen Entzündung und Schmerz zu bestehen scheint (Benson et al., 2012a; Elsenbruch, 2011). Eine Aktivierung des Immunsystems, welche zu Erhöhungen der Zytokinkonzentrationen führt und somit zu einer viszeralen Hyperalgesie, scheint also ein potentieller Baustein in der Pathophysiologie des Reizdarmsyndroms zu sein.

In der vorliegenden Studie wurden erstmals Geschlechterunterschiede nach LPS-Gabe untersucht. In der Placebo-Bedingung zeigten sich zunächst keine Geschlechterunterschiede (siehe Tab. 5). Frauen und Männer tolerierten demnach ähnliche Schmerzschwellen, wenn keine Immunaktivierung vorlag. Dies deckt sich mit der Mehrzahl früherer Untersuchungen unserer und anderer Arbeitsgruppen (Benson et al., 2012c; Sloots et al., 2000; Soffer et al., 2000). Eindeutig ist die Studienlage hierbei allerdings nicht (Chang et al., 2006; Kim et al., 2006).

Nach LPS-Injektion zeigten sich in der vorliegenden Studie signifikant erniedrigte viszerale Schmerzschwellen sowohl bei Frauen als auch bei Männern. Dabei fanden sich keine Geschlechterunterschiede, da es zu einer ähnlichen Reduktion viszeraler Schmerzschwellen bei Frauen und Männern kam. Eine Reduktion viszeraler Schmerzschwellen nach LPS-Gabe zeigte sich vergleichbar bereits in anderen Studien unserer Arbeitsgruppe (Benson et al., 2015; Benson et al., 2012b). Diese Daten wurden allerdings nur an männlichen Probanden erhoben. So ist dies die erste Studie, welche viszerale Schmerzschwellen bei Frauen und Männern im Rahmen einer Immunaktivierung bestimmt.

Um Hinweise auf mögliche pathophysiologische Mechanismen zu gewinnen, wurden Korrelationsanalysen innerhalb der Geschlechtergruppen durchgeführt. Im Rahmen dieses explorativen Studienziels fanden wir nur bei Frauen sowohl eine Korrelation zwischen TNF- $\alpha$  Konzentrationen und viszeralen Schmerzschwellen als auch eine Korrelation zwischen der Zustandsangst (STAI-S) und viszeralen Schmerzschwellen. Bei den Männern korrelierten weder Zytokinspiegel (TNF- $\alpha$ , IL-6), noch Zustandsangst oder Kortisolspiegel mit viszeralen Schmerzschwellen. Jedoch sind die Ergebnisse dahingehend uneindeutig, als dass in einer früheren Studie eine Korrelation zwischen viszeralen Schmerzschwellen und IL-6 Konzentrationen beschrieben wurde (Benson et al., 2012b).

In einer experimentellen Studie wurden gesunde Frauen untersucht, ohne eine systemische Entzündungsreaktion auszulösen, wobei sich einige relevante Zusammenhänge zeigten: Probanden mit mehr täglichen gastrointestinalen Symptomen und größerer Zustandsangst hatten niedrigere Schmerzschwellen, waren also sensitiver. Höhere IL-6 Plasmaspiegel gingen zusätzlich mit mehr täglichen gastrointestinalen Beschwerden einher (Lacourt et al., 2014).

Eine Reihe von klinischen Beobachtungsstudien dokumentierte, dass Reizdarmpatienten auch ohne vorausgegangenen Infekt eine unterschwellige Immunaktivierung mit systemisch erhöhten Entzündungsparametern wie TNF- $\alpha$  und IL-6 aufweisen (Benson et al., 2012a).

Zusammenfassend unterstützen diese Befunde, dass der Zusammenhang zwischen den Erhöhungen der systemischen Zytokinkonzentrationen und einer Hyperalgesie im Sinne eines „sickness syndromes“ von pathophysiologischer

Relevanz für das Reizdarmsyndrom sein kann (Benson et al., 2012a). Wenn bei gesunden Frauen und Männern erhöhte Zytokinspiegel mit einer viszeralen Hyperalgesie einhergehen und es bei Reizdarmpatienten zu einer Immunaktivierung kommt, scheint in dieser Immunaktivierung zumindest teilweise die Ursache für die viszerale Hyperalgesie zu liegen. Es liegt also nahe, dass das Immunsystem eine Relevanz bei der Entstehung und / oder Aufrechterhaltung eines Reizdarmsyndroms hat. In weiterführenden Studien sollte untersucht werden, in wie weit die Hemmung des Immunsystems und insbesondere die Hemmung von Zytokinen über Medikamente einen Therapieansatz darstellen könnte, besonders im Hinblick darauf, dass keine zufriedenstellende Therapie für die meisten chronischen Schmerzsyndrome existiert (Hutchinson et al., 2013; Karshikoff et al., 2015). Die Blockade des pro-inflammatorischen Zytokin IL-6 bei Patienten mit Morbus Crohn, führte 20% der Patienten in Remission (Ito, 2005). Im Tiermodell zeigte sich weiterhin, dass die Behandlung mit anti-inflammatorischen Zytokinen oder Inhibitoren pro-inflammatorischer Zytokine Schmerzen lindern können (Üceyler et al., 2009). Bei gesunden Probandinnen wurde ein Zusammenhang zwischen erhöhten Kortisolkonzentrationen im Serum und geringerer Schmerzsensitivität beschrieben (Lacourt et al., 2014), was ebenfalls auf einen Therapieerfolg durch Hemmung des Immunsystems hinweist.

Auch die Korrelation zwischen der Zustandsangst und den viszeralen Schmerzschwellen ist hierbei von Interesse, da möglicherweise bei Frauen eine Beziehung zwischen negativen Emotionen wie Angst bzw. Stress und Schmerz besteht. In einer Studie unserer Arbeitsgruppe wurden neuroendokrine (Cortisol und ACTH), kardiovaskuläre (Blutdruck und Puls) und emotionale (Zustandsangst, STAI-S) Auswirkungen rektaler Distensionen bei gesunden Probanden untersucht und es wurde beobachtet, dass rektale Distensionen eine Stressreaktion auslösen. Bei dem Vergleich von Probanden mit geringeren und höheren Schmerzschwellen zeigten Probanden mit geringeren Schmerzschwellen eine ausgeprägtere Stressreaktion. Dies deutet darauf hin, dass neuroendokrine Antworten eine Relevanz für die Pathophysiologie viszeraler Hyperalgesie haben (Elsenbruch et al., 2007).

In der hier vorliegenden Studie wurde im Unterschied zu der genannten Studie von Eisenbruch und Kollegen in erster Linie die efferente Seite untersucht, also die Effekte einer LPS-induzierten Stressreaktion auf die Schmerzsensitivität. Die Applikation von LPS führte zu einer Erhöhung neuroendokriner Parameter wie Kortisol und zu einer Erhöhung von Puls, Blutdruck und der Zustandsangst. Während dieser Erhöhungen wurden viszerale Schmerzschwellen bestimmt. Bei der durchgeführten Korrelationsanalyse zeigten sich zwar keine Korrelationen zwischen Kortisolkonzentrationen und viszeralen oder muskuloskelettalen Schmerzen, jedoch zeigten sich bei Frauen Korrelationen zwischen Erhöhungen der Zustandsangst und viszeraler und muskuloskelettaler Schmerzen. Eisenbruch und Kollegen untersuchten gesunde Frauen, sodass die Vermutung nahe liegt, dass zumindest bei Frauen ein enger Zusammenhang zwischen Schmerz und neuroendokrinen, kardiovaskulären und emotionalen Auswirkungen besteht. Vor dem Hintergrund der multifaktoriellen Pathophysiologie des Reizdarmsyndroms ist zu vermuten, dass bei Patienten, insbesondere bei psychischer Komorbidität, der Einfluss von negativen Emotionen und Stress auf die Schmerzsensitivität stärker ausfallen könnte.

Bei beiden Geschlechtern zeigten sich zwar Veränderungen der viszeralen Schmerz-, nicht jedoch der viszeralen Wahrnehmungsschwellen nach Injektion von LPS. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen einer fMRT-Studie aus unserer Arbeitsgruppe, in der gesunde männliche Probanden untersucht wurden (Benson et al., 2015), jedoch im Gegensatz zu früheren Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe (Benson et al., 2012b). Bei den viszeralen Wahrnehmungsschwellen geht es vor allem um sensorische Qualitäten, viszerale Reize wahrzunehmen, bevor sie als unangenehm eingestuft werden.

Als klinischer Ausblick über die Pathogenese des Reizdarmsyndroms lässt sich festhalten, dass Entzündungsprozesse und immunologische Veränderungen zur Entwicklung von viszeralen Symptomen beitragen können. Eine erhöhte Aktivität des angeborenen Immunsystems in der Darmschleimhaut und im Blut wurde in dieser Patientengruppe identifiziert, zusätzlich zu funktionellen und anatomischen Erkenntnissen über eine veränderte neuroimmune Kommunikation (Ohman et al., 2010). Die Erkenntnis, dass eine Entzündung mit der Hyperalgesie in

Zusammenhang steht und dass anti-inflammatorische Behandlung positive Wirkung zeigt, macht die Dringlichkeit weiterer Forschung im Hinblick auf eine wirkungsvolle Therapie deutlich (Benson et al., 2015; Ohman et al., 2010).

### **Muskuloskelettaler Schmerz (Geschlechtervergleich und Korrelationen)**

Zusätzlich zu den viszeralen Schmerzschwellen wurden muskuloskelettale Schmerzschwellen bestimmt. Auch hier wurde erwartet, dass bei beiden Geschlechtern die Schmerzschwellen nach LPS-Gabe signifikant niedriger sind als nach Placebo-Applikation sowie dass dieser Effekt bei Frauen stärker ausgeprägt ist als bei Männern.

Bereits in der Placebo-Bedingung zeigten Frauen – anders als bei den viszeralen Schmerzschwellen – signifikant niedrigere Schmerzschwellen für den M. erector spinae, den M. deltoideus und den M. gastrocnemicus, was auf eine höhere Sensitivität gegenüber muskuloskelettalen Schmerzreizen bei Frauen im Vergleich zu Männern deutet. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit acht von neun Studien, die in einem Review zum Thema Druckschmerzschwellen berücksichtigt wurden (Fillingim et al., 2009).

In posthoc berechneten, explorativen Tests zeigten sich nach der Injektion von LPS bei Frauen allerdings nur für den M. deltoideus und den M. trapezius signifikante Reduktionen der Schmerzschwellen. Männer hingegen zeigten signifikante Reduktionen in allen getesteten Muskelgruppen (M. erector spinae, M. deltoideus, M. trapezius, M. gastrocnemius) nach LPS-Injektion. Die Hypothese, dass Frauen aufgrund der stärkeren Immunaktivierung und der höheren Prävalenz chronischer Schmerzsyndrome eine stärkere Sensitivierung gegenüber muskuloskelettalen Schmerzreizen zeigen, wird also auch durch diese explorativen Analysen nicht gestützt. Es bleibt zu untersuchen, ob dies auf die in der Placebo-Bedingung gemessenen niedrigeren Schmerzschwellen bei Frauen im Sinne von „Bodeneffekten“ zurückzuführen ist oder ob sich tatsächlich nicht in jeder Muskelgruppen im weiblichen Körper eine Hyperalgesie nach LPS-Applikation entwickelt.

Interessanterweise fanden sich keine signifikanten Korrelationen zwischen Zytokinen und den LPS-induzierten Veränderungen in der Schmerzsensitivität bei Frauen. Bei Männern waren hingegen Korrelationen zwischen TNF- $\alpha$  und Schmerzreduktionen aller untersuchten Muskelgruppen zu dokumentieren. Für Frauen konnte hingegen ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zustandsangst und den Schmerzschwellen für den M. deltoideus gezeigt werden, was – wie bei den Befunden zu den viszeralen Schmerzschwellen – noch einmal auf die besondere Relevanz negativer Emotionen für die Schmerzsensitivität bei Frauen hinweisen könnte.

Die Auswirkungen einer Injektion von 0,4 ng/kg und 0,8 ng/kg KG LPS bei Männern wurden in einer Studie unserer Arbeitsgruppe verglichen, wobei sich eine signifikante Reduktion der Schmerzschwellen des M. erector spinae für beide Injektionskonzentrationen zeigte. Bei einer Injektionskonzentration von 0,8 ng/kg KG LPS fand sich weiterhin eine signifikante Reduktion der Druckschmerzschwellen des M. gastrocnemius und M. deltoideus. Bei den untersuchten Männern fanden sich Korrelationen zwischen IL-6 und reduzierten Schmerzschwellen des M. erector spinae und M. deltoideus (Wegner et al., 2014). Bei einer Untersuchung der Effekte einer Applikation von 2 ng/kg KG LPS auf Druckschmerzschwellen bei Männern fanden sich Reduktionen der Schmerzschwellen am Oberarm (C5), am Beckenkamm (T10) und am M. vastus lateralis (L3). Korrelationen fanden sich nicht (de Goeij et al., 2013).

Zusammenfassend zeigen diese Befunde, dass die Effekte einer LPS-induzierten, systemischen Immunaktivierung auf die Schmerzsensitivität sowohl für viszerale als auch für muskuloskelettale Schmerzen relevant sein kann (Karshikoff et al., 2015; Walker et al., 2014).

Entzündungsreaktionen verändern über Kommunikationswege zwischen Immunsystem und ZNS (siehe 1.3) das Verhalten und fördern Schmerzprozesse (Grace et al., 2014; Hutchinson et al., 2014). Das legt die Hypothese nahe, dass neuroimmune Mechanismen pathophysiologisch relevant für die Entstehung chronischer Schmerzsyndrome sind (Benson et al., 2012a; Elsenbruch, 2011; Grace et al., 2014; Hutchinson et al., 2014; Hutchinson et al., 2013; Nicotra et al.,

2012). Das in der vorliegenden Studie verwendete Modell der experimentellen Injektion von LPS konnte in den letzten Jahren als geeignetes Modell etabliert werden, um den Einfluss der neuroimmunen Kommunikation für die Schmerzentscheidung humanexperimentell zu untersuchen (Benson et al., 2012a; Hutchinson, 2014), auch im Hinblick auf potentielle, zukünftige Therapieansätze mit dem Zielpunkt neuroimmuner Kommunikationswege (Hutchinson et al., 2014; Hutchinson et al., 2013).

Unklar bleibt, warum sich in der vorliegenden Studie keine Hinweise auf Geschlechterunterschiede in den Schmerzschwellen zeigten, zumal diese in tierexperimentellen Studien wiederholt gezeigt wurden. So dokumentierten Page und Kollegen, dass weibliche Ratten anfälliger für die Entwicklung chronischer, entzündungsinduzierter, mechanischer Hypersensitivität sind als männliche Ratten. Dies ging einher mit höherer Schmerzsensitivität und stärkerer Aktivierung zentraler Schmerzverarbeitung (Page et al., 2014). Ebenfalls im Tiermodell zeigten Sorge und Kollegen, dass intrathekal appliziertes LPS TLR-4 im Rückenmark aktiviert, was zu einer mechanischen Allodynie nur bei männlichen Mäusen führte. Diese unterschiedliche Reaktion auf intrathekal appliziertes LPS zeigte sich allerdings nur in Bezug auf das Schmerzverhalten. Das Schmerzverhalten scheint so TLR-4 abhängig in männlichen und TLR-4 unabhängig in weiblichen Tieren vermittelt zu werden. Das TLR-4-abhängige Schmerzverhalten scheint dabei wiederum abhängig von Testosteron zu sein und kann bei Testosteron-Injektion bei weiblichen Tieren ebenfalls ausgelöst werden. Hier liegt also nahe, dass weibliche Tiere einen TLR-4 unabhängigen, jedoch von den Autoren nicht näher benannten Aktivierungsweg haben (Sorge et al., 2011).

Die tierexperimentellen Daten legen nahe, dass die Schmerzsensitivierung während einer systemischen Entzündungsreaktion bei Frauen und Männern möglicherweise über unterschiedliche Prozesse verläuft, welche zentralnervöse Mechanismen einschließen könnten.

In der Tat konnten in einer kürzlich publizierten, zum Zeitpunkt unserer Studiendurchführung jedoch noch nicht veröffentlichten, Studie zum Einfluss von Entzündungsreaktionen auf die Schmerzsensitivität, geschlechtsabhängige Unterschiede in der zentralen Schmerzmodulation von Druckschmerzreizen gezeigt

werden (Karshikoff et al., 2015). Nach Applikation von 0,6 ng/kg Körpergewicht LPS konnte eine vergleichbare, signifikante Reduktion der Druckschmerzschwellen bei beiden Geschlechtern, wie in der vorliegenden Studie, beobachtet werden. Weiterhin konnte ein Einfluss der systemischen Entzündungsreaktion auf die „conditioned pain modulation“ (CPM) gezeigt werden (Karshikoff et al., 2015). CPM beschreibt eine Form der zentral vermittelten, deszendierenden, endogenen Schmerzhemmung. Hierzu wurden Druckschmerzschwellen erhoben, während die Probanden ihren Arm in Eiswasser hielten. Bei dieser Messung zeigten Männer eine deutliche endogene Schmerzhemmung während des Eiswasser-Stimulus, was bedeutet, dass Männer während des Stimulus höhere Druckschmerzschwellen tolerierten, also weniger sensitiv für Druckschmerz waren. Diese endogene Schmerzhemmung war bei Männern gleichermaßen in der Placebo-Bedingung als auch nach Injektion von LPS beobachtbar. Interessanterweise zeigten Frauen zwar eine endogene Schmerzmodulation wie Männer in der Placebo-Bedingung, nicht jedoch nach der LPS-Applikation (Karshikoff et al., 2015). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass bei Frauen die endogene Schmerzhemmung während einer systemischen Immunaktivierung gestört ist, was besonders vor dem Hintergrund interessant ist, dass Störungen im CPM ebenfalls als pathophysiologische Komponente bei der Entstehung chronischer Schmerzen angesehen werden (Karshikoff et al., 2015; Lewis et al., 2012; Stubhaug et al., 2013).

Die möglichen Ursachen der beobachteten Geschlechterunterschiede in der Prävalenz chronischer Schmerzsyndrome scheinen demnach vielschichtig. Neben körperlichen Unterschieden wie Zytokinspiegeln und Vitalparametern kommen auch verhaltensspezifische Unterschiede sowie Störungen der Schmerzhemmung und der neuroimmunen Kommunikation in Betracht, die in dieser Studie nicht umfassend berücksichtigt werden konnten. So besteht auch die Hypothese, dass Frauen offener über ihre Schmerzen sprechen und medizinischen Rat häufiger und schneller in Anspruch nehmen (Mogil, 2012). Auch das Geschlecht des Versuchsleiters scheint eine Rolle zu spielen. So berichten Männer weiblichen Versuchsleiterinnen gegenüber weniger Schmerzen als gleichgeschlechtlichen Versuchsleitern (Aslaksen et al., 2007). Dieser potentielle Einfluss wurde in der vorliegenden Studie berücksichtigt, indem die Hälfte der Probanden von einer



weiblichen Versuchsleiterin und die andere Hälfte von einem männlichen Versuchsleiter untersucht wurden. Hierbei wurden jedoch keine differenziellen Effekte beobachtet.

#### **4.1 Einschränkungen der Studie**

Die Untersuchung viszeraler Schmerzschwellen während einer experimentell induzierten Endotoxämie im Geschlechtervergleich ist in dieser Studie erstmalig untersucht worden. Auch für muskuloskelettale Schmerzschwellen gibt es lediglich eine andere Arbeit, die Geschlechterunterschiede untersucht (Karshikoff et al., 2015). Viele Studien scheinen sich nach wie vor nur auf männliche Probanden oder männliche Versuchstiere zu konzentrieren.

Diese Arbeit soll darauf aufmerksam machen, wie essenziell die Untersuchung beider Geschlechter ist. Nur so können auch im klinischen Alltag Prävention, Diagnostik und Therapie für beide Geschlechter erfolgreich sein.

Jedoch sind bei der Interpretation der Ergebnisse einige Limitationen zu beachten: Die Ergebnisse dieser Studie basieren auf einer kleinen Gruppe von Probanden, woraus sich das Problem eingeschränkter statistischer Power ergibt. Da diese Studie, mit einer Ausnahme, das erste Mal den Zusammenhang von Entzündung und Schmerz im Geschlechtervergleich untersucht, sind die vorliegenden Ergebnisse noch als explorativ zu betrachten, sodass weitere Studien benötigt werden, um die Ergebnisse zu bestätigen.

Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass die Entzündungsreaktion, ausgelöst durch die Verabreichung von LPS, transient ist und sich die Zytokinspiegel nach einigen Stunden wieder normalisierten. Die Übertragung der Erkenntnisse aus diesem Modell auf chronische Entzündungsprozesse sollte daher mit Einschränkungen vollzogen werden, da kurze Expositionen mit Zytokinen im Vergleich zu chronischen Prozessen zu anderen neurobiologischen Antworten und Verhaltensänderungen führen können (Schedlowski et al., 2014).

Es ist aufgrund des Crossover Designs nicht auszuschließen, dass einzelne Probanden aufgrund körperlicher Symptome und Veränderungen der

Vitalparameter auf die LPS-Gabe „entblindet“ wurden und einschätzen konnten, an welchem Tag LPS oder Placebo appliziert wurde. Um diese Effekte zu minimieren, wurde die Studie doppelblind durchgeführt, sodass die in die Schmerzmessung involvierten Versuchsleiter keinen Einblick in Vitalparameter und andere Werte hatten. Zudem wurde die Reihenfolge der Versuchstage (LPS, Placebo) randomisiert und ausbalanciert, sodass sich keine systemischen Effekte der Reihenfolge ergeben konnten. Um Effekte von antizipatorischer Ängstlichkeit am ersten der beiden Versuchstage zu minimieren, wurden nur Probanden eingeschlossen, die bereits an einer Studie der Arbeitsgruppe teilgenommen hatten und so mit der viszeralen Schmerzmessung durch die Barostat-Distensionen vertraut waren.

Da alle gesunden Probandinnen hormonelle Kontrazeptiva einnahmen, muss geprüft werden, inwieweit die Ergebnisse auf Frauen mit normalem Menstruationszyklus oder auf postmenopausale Frauen übertragen werden können. Die Einnahme hormoneller Kontrazeptiva gehörte aus Sicherheitsgründen zu den Einschlusskriterien. Jedoch scheint der Gebrauch hormoneller Kontrazeptiva mit Erhöhungen inflammatorischer Marker und einem pro-inflammatorischen Zustand assoziiert zu sein (Pirkola et al., 2010).

## 5. Ausblick

Die durch das LPS-Modell bei gesunden Probanden hervorgerufene systemische Entzündungsreaktion bietet gute Bedingungen, das Immunsystem und Auswirkungen einer Immunaktivierung zu untersuchen. So kann unter standardisierten und kontrollierten Bedingungen der Zusammenhang zwischen Entzündung und Schmerz und die Rolle der Kommunikationswege zwischen Immunsystem und ZNS untersucht werden.

Die intravenöse Gabe des E. coli LPSs führte zu der zuverlässigen Auslösung einer systemischen Entzündungsreaktion, einhergehend mit typischen Veränderungen der Zytokin-, Kortisol- und Leukozytenspiegel sowie der Vitalparameter und weiteren Parametern wie aktueller Stimmung, Wachheit, Ruhe und Zustandsangst. Aufgrund der aktuellen Studienlage und der hier vorliegenden Ergebnisse scheint das LPS-Modell daher ein geeignetes präklinisches Modell zur Untersuchung entzündungsinduzierter Hyperalgesie sowohl bei Frauen als auch bei Männern zu sein (Hutchinson, 2014).

Für die Pathophysiologie chronischer Schmerzsyndrome ist besonders relevant, dass die hervorgerufene Immunaktivierung unabhängig vom Geschlecht zu einer Hyperalgesie bei viszeralen und muskuloskelettalen Schmerzen führte, allerdings bei Frauen nicht für alle getesteten Muskelgruppen. Dies unterstützt die Rolle systemischer Entzündungsprozesse in der Pathophysiologie chronischer Schmerzen. Trotz der großen Bedeutung des Geschlechts als Einflussfaktor ist die Studienlage bezüglich Geschlechterunterschieden, Entzündungsprozessen und Schmerz dünn und nicht eindeutig.

Die genaue Untersuchung der Ursache der Hyperalgesie, ausgelöst durch eine Immunaktivierung im Kontext des „sickness syndrome“, scheint noch nicht abgeschlossen, besonders nicht im Hinblick auf Geschlechterunterschiede. Humanexperimentelle Studien sind in Ergänzung tierexperimenteller Ansätze von Bedeutung, um pathophysiologische Mechanismen chronischer Schmerzsyndrome besser zu verstehen und so Prävention und Therapie so effektiv wie möglich im klinischen Alltag betreiben zu können.

## 6. Zusammenfassung

Die Relevanz immunologischer Prozesse und einer veränderten Immunsystem-Gehirn-Kommunikation in der Pathophysiologie chronischer Schmerzsyndrome wird zunehmend anerkannt. Studien unserer Arbeitsgruppe zeigten, dass eine experimentell induzierte systemische Entzündungsreaktion die viszerale und muskuloskelettale Schmerzsensitivität erhöht. Jedoch wurden bisher nur Daten bei männlichen Probanden erhoben, obwohl Frauen häufiger von chronischen Schmerzen betroffen sind. In dieser randomisierten, doppelblinden Crossover-Studie sollte daher die Hypothese untersucht werden, dass Frauen während einer experimentell induzierten Immunaktivierung eine stärkere pro-inflammatorische Reaktion und eine stärkere Sensitivierung gegenüber viszeralen und muskuloskelettalen Schmerzreizen zeigen als Männer. Die Immunaktivierung wurde mittels einer niedrigen Dosis Lipopolysaccharid induziert (LPS; 0,4 ng/kg Körpergewicht). Bei jeweils 20 gesunden Frauen und Männern wurden die viszeralen Schmerzschwellen mittels druckkontrollierter rektaler Barostatdistensionen objektiviert und muskuloskelettale Druckschmerzschwellen mittels Algometrie für unterschiedliche Muskelgruppen erfasst. Die LPS-Injektion führte zu einem signifikanten, transienten Anstieg von pro-inflammatorischen Zytokinen im Plasma, wobei Frauen mit einer stärkeren Freisetzung von Tumornekrosefaktor- $\alpha$  und Interleukin-6 reagierten. Während der systemischen Entzündungsreaktion zeigten beide Geschlechter eine signifikante, jedoch vergleichbare Reduktion der viszeralen und muskuloskelettalen Druckschmerzschwellen. Frauen zeigten niedrigere muskuloskelettale Druckschmerzschwellen unabhängig von der LPS-Injektion. Die durch eine systemische Entzündungsreaktion hervorgerufene viszerale und muskuloskelettale Hyperalgesie tritt also bei Frauen und Männern in ähnlicher Ausprägung auf, wobei Frauen mit einer stärkeren Immunaktivierung als Männer reagieren. Diese Befunde unterstützen die pathophysiologische Relevanz von Immunaktivierung und des „sickness syndromes“ im Kontext chronischer Schmerzsyndrome. Die experimentelle Gabe von LPS scheint ein geeignetes Modell zu sein, um entzündungsinduzierte Hyperalgesie bei Frauen und Männern zu untersuchen.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Akira, S., Takeda, K. (2004): Toll-Like Receptor Signalling Nat. Rev. Immunol. 4(7), 499-511.
2. Aslaksen, P.M., Myrbakk, I.N., Hoifodt, R.S., Flaten, M.A. (2007): The effect of experimenter gender on autonomic and subjective responses to pain stimuli. Pain 129(3), 260-268.
3. Bahador, M., Cross, A.S. (2007): From therapy to experimental model: a hundred years of LPS administration to human subjects. J. Endotoxin Res. 13(5), 251-279.
4. Banks, W.A., Erickson, M.A. (2010): The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. Neurobiol. Dis. 37(1), 26-32.
5. Bartley, E.J., Fillingim, R.B. (2013): Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. Br. J. Anaesthesia 111(1), 52-58.
6. Benson, S., Engler, H., Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2012a): Experimental endotoxemia as a model to study neuroimmune mechanisms in human visceral pain. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1262, 108-117.
7. Benson, S., Engler, H., Wegner, A., Rebernik, L., Spreitzer, I., Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2017): What makes you feel sick after inflammation? Predictors of acute and persisting physical sickness symptoms induced by experimental endotoxemia. Clin. Pharmacol. Ther. 102(1), 141-151.
8. Benson, S., Kattoor, J., Kullmann, J.S., Hofmann, S., Engler, H., Forsting, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S. (2014): Towards understanding sex differences in visceral pain: Enhanced reactivation of classically-conditioned fear in healthy women. Neurobiol. Learn. Mem. 109, 113-121.
9. Benson, S., Kattoor, J., Wegner, A., Hammes, F., Reidick, D., Grigoleit, J.S., Engler, H., Oberbeck, R.; Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2012b): Acute experimental endotoxemia induces visceral hypersensitivity and altered pain evaluation in healthy humans. Pain 153(4), 794-799.
10. Benson, S., Kotsis, V., Rosenberger, C., Bingel, U., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S. (2012c): Behavioural and neural correlates of visceral pain sensitivity in healthy men and women: Does sex matter?. Eur. J. Pain 16, 349-358.

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. Berkley, K.J., Zalcman, S.S. Simon, V.R. (2006): Sex and gender differences in pain and inflammation: a rapidly maturing field. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol* 291, R241-R244.
13. Chang, L., Mayer, E.A., Labus, J.S., Schmulson, M., Lee, O.Y., Olivas, T.I., Stains, J., Naliboff, B.D. (2006): Effect of sex on perception of rectosigmoid stimuli in irritable bowel syndrome. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 291, R277-R284.
14. Chesterton, L.S., Barlas, P., Foster, N.E., Baxter, G.D., Wright, C.C. (2003): Gender differences in pressure pain threshold in healthy humans. *Pain* 101, 259-266.
15. Collins, S.M., Piche, T., Rampal, P. (2001): The putative role of inflammation in the irritable bowel syndrome. *Gut* 49, 743-745.
16. Coyle, S.M., Calvano, S.E., Lowry, S.F. (2006): Gender Influences in vivo Human Responses to LPS. *Shock*. 26(6), 538-543.
17. Craft, R.M. (2007): Modulation of pain by estrogens. *Pain* 132, S3-12.
18. Critchley, H.D., Harrison, N.A. (2013): Visceral influences on brain and behavior. *Neuron*. 77, 624-638.
19. Dantzer, R., Heijnen, C.J., Kavelaars, A., Laye, S., Capuron, L. (2014): The neuroimmune basis of fatigue. *Trends Neurosci.* 37(1), 39-46.
20. 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(1). 46-56.
21. de Goeij, M., van Eijk, L.T., Vanelderen, P., Wilder-Smith, O.H., Vissers, K.C., van der Hoeven, J.G., Kox, M., Scheffer, GJ., Pickkers, P. (2013): Systemic Inflammation Decreases Pain Threshold in Humans In Vivo. *PloS one* 8(12).
22. DellaGioia, N., Hannestad, M.S., Hannestad, J. (2010): A critical review of human LPS administration as an experimental paradigm of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 34(1), 130-143.

23. Eisenberger, N.I., Inagaki, T.K., Mashal, N.M., Irwin, M.R. (2010): Inflammation and social experience: An inflammatory challenge induces feelings of social disconnection in addition to depressed mood. *Brain, Behav. Immun.* 24, 558-563.
24. Eisenberger, N.I., Inagaki, T.K., Rameson, L.T., Mashal, N.M., Irwin, M.R. (2009): An fMRI Study of Cytokine-Induced Depressed Mood and Social Pain: The Role of Sex Differences. *Neuroimage.* 47(3), 881-890.
25. Elsenbruch, S. (2011): Abdominal pain in Irritable Bowel Syndrome: A review of putative psychological, neural and neuro-immune mechanisms. *Brain Behav. Immun.* 25, 386-394.
26. Elsenbruch, S., Haag, S., Lucas, A., Riemenschneider, N., Pietsch, A., Gerken, G., Heijnen, C.J., Schedlowski, M., Holtmann, G. (2007): Neuroendocrine and blood pressure responses to rectal distensions in individuals with high and low visceral pain sensitivity. *Psychoneuroendocrinology* 32, 580-585.
27. Elsenbruch, S., Rosenberger, C., Enck, P., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R. (2010): Affective disturbances modulate the neural processing of visceral pain stimuli in irritable bowel syndrome: an fMRI study. *Gut* 59, 489-495.
28. Elsenbruch, S., Schmid, J., Bäslar, M., Cesko, E., Schedlowski, M., Benson, S. (2012): How positive and negative expectations shape the experience of visceral pain: an experimental pilot study in healthy women. *Neurogastroenterol. Motil.* 24, 914-e460.
29. Engelhardt, B. (2006): Molecular mechanisms involved in T cell migration across the blood-brain barrier. *J. Neural Transm.* 113(4), 477-485.
30. Engler, H., Benson, S., Wegner, A., Spreitzer, I., Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2016): Men and women differ in inflammatory and neuroendocrine responses to LPS but not in the severity of sickness symptoms. *Brain Behav. Immun.* 52, 18-26.
31. Ferguson, J.F., Patel, P.N., Shah, R.Y., Mulvey, C.K., Gadi, R., Nijjar, P.S., Usman, H.M., Mehta, N.N., Shah, R., Master, S.R., Propert, K.J., Reilly, M.P. (2013): Race and gender variation in response to evoked inflammation. *J. Translational Med.* 11:63.

32. Fillingim, R.B., King, C.D., Ribeiro-Dasilva, M.C., Rahim-Williams, B., Riley, J.L. (2009): Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. *J. Pain* 10(5), 447-485.
33. Generaal, E., Vogelzangs, N., Macfarlane, G.J., Geenen, R., Smit, J.H., Dekker, J., Penninx, B.W.J.H. (2014): Basal inflammation and innate immune response in chronic multisite musculoskeletal pain. *Pain* 155, 1605-1612.
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. Greenspan, J.D., Craft, R.M., LeResche, L., Arendt-Nielsen, L., Berkley, K.J., Fillingim, R.B., Gold, M.S., Holdcroft, A., Lautenbacher, S., Mayer, E.A., Mogil, J.S., Murphy, A.Z., Traub, R.J. (2007): Studying sex and gender differences in pain and analgesia: a consensus report. *Pain* 132(suppl 1), 26-45.
36. Grigoleit, J.S., Kullmann, J.S., Oberbeck, R., Schedlowski, M., Engler, H. (2013): Salivary alpha-amylase response to LPS administration in humans. *Psychoneuroendocrinology* 38(9), 1819-1823.
37. Grigoleit, J.S., Kullmann, J.S., Winkelhaus, A., Engler, H., Wegner, A., Hammes, F., Oberbeck, J.R., Schedlowski, M. (2012): Single-trial conditioning in a human taste-LPS paradigm induces conditioned odor aversion but not cytokine responses. *Brain Behav. Immun.* 26(2), 234-238.
38. 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 LPS on Neurobehavioral Functions in Humans. *PLoS one* 6(12).
39. 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(4), 561-567.
40. Heitkemper, M., Jarrett, M. (2008): Irritable bowel syndrome: Does gender matter? *J. Psychosom. Res.* 64, 583-587.



41. Heitkemper, M.M., Chang, L. (2007): Do fluctuations in ovarian hormones affect gastrointestinal symptoms in women with irritable bowel syndrome?. *Gend. Med.* 6, 152-167.
42. Herrmann-Lingen, C., Buss, U., Snaith, R.P. (2011): Hospital Anxiety and Depression Scale - Deutsche Version (HADS-D) (3. Auflage). Bern: Hans Huber.
43. Hopkins, S.J. (2007): Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. *Acta Biomed.* 78(1), 231-247.
44. Hutchinson, M.R. (2014): Want more pain? Just add a dash of LPS to enhance your clinical pain model. *Brain, Behav. Immun.* 41, 44-45.
45. Hutchinson, M.R., Buijs, M., Tuke, J., Kwok, Y.H., Gentgall, M., Williams, D., Rolan, P. (2013): Low-dose LPS potentiates capsaicin-induced pain in man: Evidence for a pain neuroimmune connection. *Brain Behav. Immun.* 30, 3-11.
46. Ito, H. (2005): Treatment of Chron's disease with anti-IL-6 receptor antibody. *J. Gastroenterol.* 40(XVI), 32-34.
47. Janeway, C. A., Medzhitov, R. (2002): Innate Immune Recognition. *Ann. Rev. Immunol.* 20, 197-216.
48. Karshikoff, B., Lekander, M., Soop, A., Lindstedt, F., Ingvar, M., Kosek, E., Olgart Höglund, C., Axelsson, J. (2015): Modality and sex differences in pain sensitivity during human endotoxemia. *Brain, Behav. Immun.* 46, 35-43.
49. Keszthelyi, D., Troost, F.J., Simren, M., Ludidi, S., Kruimel, J.W., Conchillo, J.M., Masclee, A.A. (2012): Revisiting concepts of visceral nociception in irritable bowel syndrome. *Eur. J. Pain* 16, 1444-1454.
50. Kim, H.S., Rhee, P.L., Park, J., Lee, J.H., Kim, Y.H., Kim, J.J., Rhee, J.C. (2006): Gender-related differences in visceral perception in health and irritable bowel syndrome. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 21(2), 468-473.
51. Klein, S.L. (2012): Immune cells have sex and so should journal articles. *Endocrinology.* 153, 2544-2550.
52. Koch, A., Zacharowski, K., Boehm, O., Stevens, M., Lipfert, P., von Giesen, H.J. Wolf, A., Freynhagen, R. (2007): Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines correlate with pain intensity in chronic pain patients. *Inflamm. Res.* 56, 32-37.

53. Kullmann, J.S., Grigoleit, J.S., Lichte, P., Kobbe, P., Rosenberger, C., Banner, C., Wolf, O.T., Engler, H., Oberbeck, R., Elsenbruch, S., Bingel, U., Forsting, M., Gizewski, E.R., Schedlowski, M. (2013): Neural response to emotional stimuli during experimental human endotoxemia. *Hum. Brain. Mapp.* 34(9), 2217-2227.
54. Kullmann, J.S., Grigoleit, J.S., Schedlowski, M. (2011): Effekte Akuter Entzündungsreaktionen auf Gedächtnisleistungen, Befindlichkeiten und Neuronale Aktivität. *Z. Med. Psychol.* 20, 108-117.
55. Kullmann, J.S., Grigoleit, J.S., Wolf, O.T., Engler, H., Oberbeck, R., Elsenbruch, S., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R. (2014): Experimental human endotoxemia enhances brain activity during social cognition. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* 9(6), 786-793.
56. Lacourt, T.E., Houtveen, J.H., van Doornen, L.J.P., Benson, S., Grigoleit, J.S., Cesko, E., Elsenbruch, S. (2014): Biological and psychological predictors of visceral pain sensitivity in healthy premenopausal women. *Eur. J. Pain.* 18(4), 567-574.
57. Lacourt, T.E., Houtveen, J.H., van Doornen, L.J.P. (2012): Experimental pressure-pain assessments: Test-retest reliability, convergence and dimensionality. *Scan. J. Pain* 3,21-37.
58. Laux, L., Glanzmann, P., Schaffner, P., Spielberger, C.D. (1981): Das State-Trait Angstinventar. Theoretische Grundlagen und Handanweisungen. Göttingen: Beltz Test.
59. Lawrence, T., Willoughby, D.A., Gilroy, D.W. (2002): Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2(10), 787-95.
60. Leveille, S.G., Zhang, Y., McMullen, W., Kelly-Hayes, M., Felson, D.T. (2005): Sex differences in musculoskeletal pain in older adults. *Pain.* 116, 338-338.
61. Lewis, G.N., Rice, D.A., McNair, P.J. (2012): Conditioned pain modulation in populations with chronic pain: a systematic review and meta-analysis. *J. Pain.* 13(10), 936-944.

62. Majewska, M., Szczepanik, M. (2006): The role of toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immune response regulation. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* 60, 52-63.
63. Mayer, E.A., Tillisch, K. (2011): The brain-gut axis in abdominal pain syndromes. *Annu. Rev. Med.* 62, 381-396.
64. Mogil, J.S. (2012): Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 859-866.
65. Nicotra, L., Loram, L.C., Watkins, L.R.; Hutchinson, M.R. (2012): Toll-Like Receptors in Chronic Pain. *Exp. Neurol.* 234(2), 316-329.
66. Nobis, H.G., Rolke, R.: Was ist Schmerz? Deutsche Schmerzgesellschaft e.V., Sektion der International Association for the Study of Pain (IASP) 2012, Online-Publikation: [www.dgss.org/patienteninformationen/herausforderung-schmerz/was-ist-schmerz/](http://www.dgss.org/patienteninformationen/herausforderung-schmerz/was-ist-schmerz/)
67. Ohman, L., Simrén, M. (2010): Pathogenesis of IBS: role of inflammation, immunity and neuroimmune interactions. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 7(3), 163-73.
68. Ouyang, A., Wrzos, H.F. (2006): Contribution of gender to pathophysiology and clinical presentation of IBS: should management be different in women? *Am. J. Gastroenterol.* 101, 602-609.
69. Page, G.G., Opp, M.R., Kozachik, S.L. (2014): Reduced sleep, stress responsivity, and female sex contribute to persistent inflammation-induced mechanical hypersensitivity in rats. *Brain Behav. Immun.* 40, 244-251.
70. Pirkola, J., Vääräsmäki, M., Ala-Korpela, M., Bloigu, A., Canoy, D., Hartikainen, A.L., Leinonen, M., Miettola, S., Paldanius, M., Tammelin, T.H., Järvelin, M.R., Pouta, A. (2010): Low-grade, systemic inflammation in adolescents: association with early-life factors, gender and lifestyle. *Am. J. Epidemiol.* 171, 72-82.
71. Racine, M., Tousignant-Laflamme, Y., Kloda, L.A., Dion, D., Dupuis, G., Choiniere, M. (2012): A systemic literature review of 10 years of research on sex/gender and experimental pain perception – Part 1: Are there really differences between women and men? *Pain.* 153, 602-618.

72. Raspe, H., Hueppe, A., Neuhauser, H. (2008): Back pain, a communicable disease?. *Int. J. Epidemiology* 37, 69-74.
73. Reichenberg, A., Yirmiya, R., Schuld, A., Kraus, T., Haack, M., Morag, A., Pollmächer, T. (2001): Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch. Gen. Psychiatry* 58, 445-452.
74. Rief, W., Barsky, A.J., Glombiewski, J.A., Nestoriuc, Y., Glaesmer, H., Braehler, E. (2011): Assessing general side effects in clinical trials: reference data from the general population. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 20(4), 405-415.
75. Robert-Koch-Institut: Arthrose. Faktenblatt zu GEDA 2012: Ergebnisse der Studie „Gesundheit in Deutschland aktuell 2012“. RKI, Berlin 2014, Online-Publikation: [www.rki.de/geda](http://www.rki.de/geda)
76. Rolke, R., Baron, R., Maier, C., Tölle, T.R., Treede, R.D., Beyer, A., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., Bötefür, I.C., Braune, S., Flor, H., Häge, V., Klug, R., Landwehrmeyer, G.B., Magerl, W., Maihöfner, 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.
77. Roth, J., Harre, E.M., Rummel, C., Gerstberger, R., Hubschle, T. (2004): Signaling the brain in systemic inflammation: role of sensory circumventricular organs. *Front. Biosci.* 9, 290-300.
78. Sandkühler, J. (2009): Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol. Rev.* 89, 707-758.
79. Schedlowski, M., Engler, H., Grigoleit, J.S. (2014): LPS-induced experimental systemic inflammation in humans: A model to disentangle immune-to-brain communication. *Brain Behav. Immun.* 35, 1-8.
80. Sloots, C.E.J., Felt-Bersma, R.J.F., Cuesta, M.A., Meuwissen, S.G.M. (2000): Rectal visceral sensitivity in healthy volunteers: influences of gender, age and methods. *Neurogastroenterol. Mot.* 12, 361-368.
81. Soffer, E.E., Kongara, K., Achkar, J.P., Gannon, J. (2000): Colonic motor function in humans is not affected by gender. *Dig. Dis. Sci.* 45(7), 1281-1284.

82. Sorge, R.E., LaCroix-Fralish, M.L., Tuttle, A.H., Sotocinal, S.G., Austin, J.S., Ritchie, J., Chanda, M.L., Graham, A.C., Topham, L., Beggs, S., Salter, M.W., Mogil, J.S. (2011): Spinal cord Toll-like receptor 4 mediates inflammatory and neuropathic hypersensitivity in male but not in female mice. *J. Neurosci.* 31(43), 15450-15454.
83. Spielberger, C.D., Gorsuch, R.L., Lushene, R.E. (1970): Manual for the state-trait anxiety inventory. Palo Alto, CA: Consulting Psychology Press.
84. Spiller, R., Garsed, K. (2009): Postinfectious Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology* 136, 1979-1988.
85. Sternberg, E.M. (2006): Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 6(4), 318-328.
86. Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P., Eid, M. (1997): Der mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (mdbf) Göttingen: Hogrefe-Verlag.
87. Stubhaug, A., Breivik, H. (2013): Conditioned pain modulation: A useful test paradigm in research and in clinical practice. *Scand. J. Pain.* 4, 101-102.
88. Studie GEDA: Muskuloskelettale Erkrankungen. Robert Koch-Institut 2013, Online-Publikation:  
[www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Themen/Chronische\\_Erkrankungen/Muskel\\_Skelett\\_System/Muskel\\_Skelett\\_System\\_node.html](http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Themen/Chronische_Erkrankungen/Muskel_Skelett_System/Muskel_Skelett_System_node.html)
89. Suffredini, A.F. (2007): Systemic inflammation and sexual dimorphism: more than meets the eye. *Crit. Care Med.* 35(6), 1610-1612.
90. Tracey, K.J. (2002): The inflammatory reflex. *Nature.* 420, 853-859.
91. Üceyler, N., Schäfers, M., Sommer, C. (2009): Mode of action of cytokines on nociceptive neurons. *Exp. Brain Res.* 196, 67-78.
92. Tsang, A., Korff, M.V., Lee, S., Alonso, J., Karam, E., Angermeyer, M.C., Borges, G.L.G., Bromet, E.J., de Girolamo, G., de Graaf, R., Gureje, O., Lepine, J.P., Haro, J.M., Levinson, D., Oakley Browne, M.A., Posada-Villa, J., Seedat, S., Watanabe, M. (2008): Common chronic pain conditions in developed and developing countries: gender and age differences and comorbidity with depression-anxiety disorders. *J Pain.* 9(10), 883-891.
93. van Eijk, L.T., Dorresteyn, M.J., Smits, P., van der Hoeven, J.G., Netea, M.G., Pickkers, P. (2007): Gender differences in the innate immune response and

- vascular reactivity following the administration of LPS to human volunteers. *Crit. Care Med.* 35(6), 1464-1469.
94. Walker, A.K., Kavelaars, A., Heijnen, C.J., Dantzer, R. (2014): Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression. *Pharmacol. Rev.* 66, 80-101.
95. Watkins, L.R., Maier, SF. (2005): Immune regulation of central nervous system functions: from sickness responses to pathological pain. *J. Intern. Med.* 257 (2), 139-155.
96. Wegner, A., Benson, S., Rebernik, L., Spreitzer, I., Jäger, M., Schedlowski, M., Elsenbruch, S., Engler, H. (2017): Sex differences in the pro-inflammatory cytokine response to LPS unfold in vivo but not ex vivo in healthy humans. *Innate Immun.* 23(5), 432-439.
97. Wegner, A., Elsenbruch, S., Maluck, J., Grigoleit, JS., 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.
98. Wijnhoven, H.A.H., de Vet, H.C.W., Picavet, H.S.J. (2006): Prevalence of Musculoskeletal Disorders Is Systemically Higher in Women Than in Men. *Clin. J. Pain.* 22(8), 717-724.
99. Zigmond, A. S., Snaith, R. P. (1983). The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr. Scand.* 67, 361-370.

## 8. Anhang

### 8.1 Abbildungen

Abbildung 1	Kardinalsymptome einer Entzündung.....	14
Abbildung 2	Kommunikationswege vom Immunsystem zum ZNS.....	17
Abbildung 3	Schematische und vereinfachte Darstellung des „sickness syndromes“ .....	19
Abbildung 4	TLR-4.....	23
Abbildung 5	Studiendesign.....	37
Abbildung 6	Distensionsprotokoll.....	40
Abbildung 7	Leukozyten nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.....	50
Abbildung 8	Zytokine nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.....	51
Abbildung 9	Kortisol nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.....	52
Abbildung 10	Körpertemperatur nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.....	53
Abbildung 11	Viszerale Schmerzsensitivität.....	55
Abbildung 12	Muskuloskelettale Schmerzsensitivität.....	56
Abbildung 13	Zustandsangst nach Injektion von 0.4 ng/kg LPS vs. Placebo.....	57

### 8.2 Tabellen

Tabelle 1	Effekte der experimentellen Applikation von LPS (Lipopolysaccharid).....	25
-----------	---	----

Tabelle 2	Effekte der experimentellen Applikation von LPS auf die Schmerzwahrnehmung.....	27
Tabelle 3	Effekte der experimentellen Applikation von LPS im Geschlechtervergleich.....	29
Tabelle 4	Soziodemographische und psychologische Eigenschaften zur Baseline.....	48
Tabelle 5	Wahrnehmungs- und Schmerzschwellen zur Baseline.....	49
Tabelle 6	Korrelationen zwischen Schmerzschwellen (viszerale und muskuloskelettale Schmerzen) und Zustandsangst, Plasmazytokin- und Kortisolkonzentrationen für Männer und Frauen zwei Stunden nach der Injektion von 0,4 ng/kg LPS.....	59

### 8.3 Abkürzungen

ALAT	Alanin-Aminotransferase
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
aPTT	Partielle Thromboplastinzeit
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body mass index
°C	Grad Celsius°
C	Cervical spine, Halswirbelsäule
CD	Cluster of differentiation (Unterscheidungsgruppe immunphänotypischer Oberflächenmerkmale)
CPM	Conditioned pain modulation
CRP	C-reaktives Protein



E.coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
GASE	Generic Assessment of Side Effects
HADS-D	Hospital Anxiety and Depression Scale
HPA-Achse	Hypothalamic-pituitary-adrenal- / (Hypothalamus- Hypophysen-Nebennieren-) Achse
IFN- $\beta$	Interferon- $\beta$
IL	Interleukin
INR	International Normalized Ration
IRF 3	Interferon-regulatory factor 3
KG	Körpergewicht
L	Lumbar vertebra, Lendenwirbelsäule
LBP	LPS-binding protein
LPS	Lipopolysaccharide
M	Musculus
MCH	Mittlere Hämoglobinkonzentration
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen
MDBF	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
MW	Mittelwert
MyD88	Myeloid differentiation primary-response protein 88
N.	Nervus
N	Zahl der Probanden (40)
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells

PAMPs	Pathogen-assoziierte molekulare Muster
SD	Standardabweichung
SS	Schmerzschwellen
STAI-S	State-Trait-Anxiety Inventory (State Version)
t[h]	Time[hours]
TLR	Toll-like receptor
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TPZ	Thromboplastinzeit
VAS	Visuellen Analogskalen
WS	Wahrnehmungsschwellen
$\gamma$ -GT	$\gamma$ -Glutamyltransferase
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 8.4 Fragebögen

### 8.4.1 Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden

Datum:

VPN:

## Symptomcheckliste für Magen- und Darmbeschwerden

Wie oft haben Sie in den letzten 3 Monaten unter folgenden Magen-Darm-Problemen gelitten?

Bitte tragen Sie ein:

0 = nie

1 = 1 bis 2 mal pro Monat

2 = 1 bis 2 mal pro Woche

3 = mehr als 2 mal pro Woche

Datum von heute: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Durchfall

\_\_\_\_\_ Verstopfung

\_\_\_\_\_ Übelkeit

\_\_\_\_\_ Unterbauchschmerzen (unterhalb des Nabels)

\_\_\_\_\_ Oberbauchschmerzen (oberhalb des Nabels)

Datum:

\_\_\_ Sodbrennen

\_\_\_ Gefühl der unvollständigen Entleerung nach dem Stuhlgang

\_\_\_ Starkes Völlegefühl nach dem Essen oder langsame Verdauung

\_\_\_ Erbrechen

\_\_\_ Starkes Aufstoßen, Rülpsen

\_\_\_ Starke Blähungen / Gefühl der abdominellen Aufblähung

\_\_\_ Appetitverlust

VPN:

\_\_\_ Schmerzen im Brustraum (Brennen im Brustraum)

#### 8.4.2 Bewertungsskala rektale Dehnungsreize

VpnNR.:	Tag:	Messzeitpunkt:

### Wahrnehmung und Bewertung der rektalen Dehnungsreize

Es wurden in der vorangehenden Messung wiederholt rektale Dehnungen durchgeführt.

Wir möchten Sie in den folgenden Fragen um Ihre subjektive Einschätzung und Bewertung bitten. Bitte antworten Sie ehrlich, es gibt keine „richtigen“ oder „falschen“ Antworten.

1. Die Dehnungsreize, die ich gespürt habe, waren:

**a. schmerzhaft**

gar nicht \_\_\_\_\_ sehr

haben **Stuhldrang** ausgelöst:

**d.** gar nicht \_\_\_\_\_ sehr

## 8.5 Danksagung

Ich möchte mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Sven Benson für die Möglichkeit der Dissertation in einem äußerst spannenden Gebiet bedanken. Die hervorragende und engagierte Unterstützung war immer motivierend, positiv und konstruktiv. Ich bedanke mich für viele wissenschaftliche und persönliche Ratschläge und eine tolle, unvergessliche Zeit am Institut.

Ein besonderer Dank geht an Frau Prof. Sigrid Elsenbruch für die Möglichkeit der Mitarbeit in der Forschungsgruppe und für ihre freundliche Hilfe und Unterstützung.

Ich bin froh, in einem so tollen Team Probanden betreut zu haben. Besonders danken möchte ich daher Dr. Laura Rebernik, Dr. Till Roderigo und Dr. Alexander Wegner für viele unvergessliche Stunden und eine hervorragende, kooperative und freundschaftliche Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt dem gesamten Team des Instituts für medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie für die freundliche und hilfsbereite Unterstützung und eine schöne, erfahrungsreiche Zeit, in der ich sehr viel gelernt habe.

Nicht zuletzt möchte ich Freunden und Familie für die motivierende und hilfsbereite Unterstützung danken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Besonders möchte ich mich bei meinen Eltern und Schwiegereltern bedanken, insbesondere bei meiner Mutter Rita Engelbrecht für ihr ausgezeichnetes, wiederholtes Lektorat. Mein größter Dank gilt meinem Mann Julian Engelbrecht für die uneingeschränkte Unterstützung und den stetigen Rückhalt während meiner gesamten Ausbildung und in allen sonstigen Lebenslagen. Danke, dass du immer an mich glaubst.