

Aus der Klinik für Anästhesiologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Bernhard Zwißler

**TH17/Treg-Balance bei Patienten mit chronischen
Rückenschmerzen im Vergleich zu gesunden
Probanden**

**Einfluss eines interdisziplinären, multimodalen
Therapieprogramms**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

Vorgelegt von

Julia Zeitler
aus München

April 2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Shahnaz Christina Azad

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Christof Birkenmaier

Mitbetreuung durch den promovierten

Mitarbeiter: PD Dr. Benjamin Luchting

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 15.04.2021

Eidesstattliche Versicherung

Zeitler, Julia

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

TH17/Treg-Balance bei Patienten mit chronischen Rückenschmerzen im Vergleich zu gesunden Probanden

Einfluss eines interdisziplinären, multimodalen Therapieprogramms

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 16.04.2021

Julia Zeitler

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	- 4 -
Abbildungsverzeichnis	- 7 -
Tabellenverzeichnis	- 9 -
Abkürzungsverzeichnis	- 10 -
1 Einleitung	- 11 -
1.1 Chronischer, nicht-spezifischer Rückenschmerz.....	- 11 -
1.1.1 Definition	- 11 -
1.1.2 Prävalenz von Rückenschmerzen.....	- 11 -
1.1.3 Kosten	- 12 -
1.1.4 Pathogenese und Chronifizierungsprozess.....	- 13 -
1.2 Therapieansätze bei chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen-	15 -
1.2.1 Interdisziplinäre, multimodale Schmerztherapie	- 15 -
1.3 Das Immunsystem - Bedeutung bei der Entstehung von Schmerzen.....	- 20 -
1.3.1 Das angeborene und adaptive Immunsystem.....	- 20 -
1.3.2 T-Zellen – Differenzierung und Funktion.....	- 21 -
1.3.3 TH1-Zellen.....	- 22 -
1.3.4 TH2-Zellen.....	- 23 -
1.3.5 TH17-Zellen.....	- 23 -
1.3.6 Tregs (regulatorische T-Zellen)	- 24 -
1.3.7 T-Zellen und Schmerz.....	- 28 -
2 Fragestellung und Zielsetzung	- 31 -

3	Material und Methoden	- 33 -
3.1	Patientenkollektiv	- 33 -
3.1.1	Einschlusskriterien	- 33 -
3.1.2	Ausschlusskriterien	- 34 -
3.2	Kontrollgruppe	- 35 -
3.3	Messzeitpunkte	- 35 -
3.4	Untersuchungsinstrumente	- 35 -
3.4.1	Befundbogen	- 36 -
3.4.2	Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB)	- 36 -
3.4.3	Aufbereitung der Blutproben	- 37 -
3.4.4	Klinische Chemie	- 37 -
3.4.5	Zytokine	- 37 -
3.4.6	Durchflusszytometrie	- 39 -
3.4.7	Ribnukleinsäure-(RNA)-Isolation und Analyse der komplementären Desoxyribonukleinsäure (cDNA).....	- 42 -
3.4.8	Quantitative Echtzeit-Polymerase-Ketten-Reaktion (qPCR).....	- 43 -
3.5	Statistische Auswertung	- 44 -
4	Ergebnisse	- 45 -
4.1	Auswertung der Befundbögen und des Kurzfragebogens zur aktuellen Beanspruchung (KAB)	- 45 -
4.2	Pro- und antiinflammatorische T-Zell-Subpopulationen	- 45 -
4.2.1	Ergebnisse der FACS-Analyse zur Quantifizierung der T-Zellen..	- 45 -
4.3	mRNA-Expression der T-Zell assoziierten Zytokine.....	- 51 -
4.4	Sekretion T-Zell-assoziiierter Zytokine	- 55 -

4.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	- 57 -
4.6.	Einfluss des multimodalen Therapieprogramms auf die Parameter der Patienten	- 58 -
4.6.1	Veränderung der NRS- und KAB-Werte nach Teilnahme am MRIP	- 58 -
4.6.2	Betrachtung der T-Zell-Subpopulationen vor und nach Therapie ..	- 59 -
5	Diskussion	- 61 -
5.1	Diskussion der Ergebnisse.....	- 61 -
5.2	TH17/Treg Dysbalance bei Schmerzpatienten	- 63 -
5.3	Kritische Bewertung der Methodik und mögliche Fehlerquellen	- 66 -
5.4	Ausblick.....	- 68 -
6	Zusammenfassung	- 70 -
	Literaturverzeichnis	- 72 -
	Anhänge	- 77 -
	Curriculum Vitae	- 88 -
	Danksagung	- 90 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung der TH1-, TH2-, TH17- und Treg-Zellen aus naiven T-Zellen unter dem Einfluss wechselnder Zytokinmilieus. Angelehnt an [33].....	- 22 -
Abbildung 2: Differenzierung der TH17-Zellen und Tregs aus naiven T-Zellen unter dem Einfluss von TGF- β	- 26 -
Abbildung 3: Durchflusszytometrische Gatingstrategie zur Identifikation von TH1- und TH17-Zellen.....	- 41 -
Abbildung 4: Durchflusszytometrische Gatingstrategie zur Identifikation der Tregs	- 46 -
Abbildung 5: Ergebnisse der durchflusszytometrischen Quantifizierung von Tregs und TH17-Zellen in Patienten und Probanden nach statistischer Auswertung	- 59 -
Abbildung 6: Verhältnis von TH17/CD4+CD25high-Zellen (A) und TH17/Tregs (B)	- 55 -
Abbildung 7: Verhältnis von TH1-/TH2-Zellen	- 56 -
Abbildung 8: qPCR-Analyse der mRNA-Expression der T-Zell-assoziierten Zytokins IFN- γ (A) und IL-23 (B).....	- 52 -
Abbildung 9: qPCR-Analyse der mRNA-Expression des Treg assoziierten Zytokins TGF- β (A) und des Treg assoziierten Transkriptionsfaktors FOXP3 (B)	- 53 -

Abbildung 10: qPCR-Analyse der mRNA-Expression des TH17-assoziierten Transkriptionsfaktors ROR γ T- 54 -

Abbildung 11: Analyse der Serumspiegel von IL-6, IL-10 und IL-17 in gesunden Probanden und in Patienten.....- 48 -

Abbildung 12: Analyse der Serumspiegel von IL-23 bei Patienten und Probanden zum Zeitpunkt t0- 49 -

Abbildung 13: Entwicklung der NRS- und KAB-Werte bei den Therapie-Respondern.....- 50 -

Abbildung 14: Entwicklung der T-Zell-Subpopulationen vor und nach MRIP sowie im Follow-up..... - 60 -

Hinweis: Die Abbildungen 3 – 14 wurden mit der Genehmigung des Erstautors aus der gemeinsamen Veröffentlichung „Disrupted TH17/Treg Balance in Patients with chronic low back pain“ von Luchting et al. entnommen [60].

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Allgemeine Risikofaktoren für die Chronifizierung von akuten, nicht-spezifischen Rückenschmerzen. Angelehnt an [16]).....	- 13 -
Tabelle 2: Psychosoziale Risikofaktoren („yellow flags“) für die Chronifizierung von akuten, nicht-spezifischen Rückenschmerzen. Angelehnt an [18]).....	- 15 -
Tabelle 3: Überblick über die TH1-, TH2-, TH17- und Treg-Zellen mit protektiven und immunpathologischen Funktionen. Modifiziert nach [49].....	- 28 -
Tabelle 4: Die unteren Nachweisgrenzen (LLOQ - Lower Limitis of Quantitation) der T-Zell assoziierten Zytokine in pg/ml.....	- 38 -
Tabelle 5: Verwendete Primer Sequenzen und qPCR-Assays.....	- 43 -
Tabelle 6: CD4 ⁺ T-Zell-assoziierte Zytokine und Transkriptionsfaktoren.....	- 51 -
Tabelle 7: Übersicht der Ergebnisse der FACS-Analyse, der qPCR und des Human Cytokine MAP A+B multiplex Immunoassays.....	- 57 -

Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
BMI	Body Mass Index
CD	Cluster of differentiation
cDNA	Komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CLBP	Chronic low back pain
CRP	C-reaktives Protein
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FACS	Fluorescence activated cell scanning
FOXP3	Forkhead Box Protein 3
GM-CSF	Granulocyte colony stimulating factor
IFN-γ	Interferon- γ
iTregs	induzierte regulatorische T-Zellen
KAB	Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung
LLOQ	Lower Limits of Quantitation
MRIP	Münchener Rücken Intensiv Programm
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NRS	Numerische Rating Skala
nTregs	natürliche regulatorische T-Zellen
PBMCs	Peripheral blood mononuclear cells
qPCR	Quantitative Echtzeit Polymerase Kettenreaktion
RNA	Ribonukleinsäure
RORγT	RAR-related orphan receptor gamma subtype T
TGF-β	Tumor growth factor β
TH-Zellen	T-Helferzellen
TNF-α	Tumor necrosis factor α
Tregs	Regulatorische T-Zellen
T-Zellen	T-Lymphozyten

1 Einleitung

1.1 Chronischer, nicht-spezifischer Rückenschmerz

1.1.1 Definition

Schmerzen der Lendenwirbelsäule werden als „Schmerzen oder Muskelverspannungen unterhalb des Rippenbogens und oberhalb der Gesäßfalten, mit oder ohne Ausstrahlung in die Beine“ definiert [1-4]. Bei nicht-spezifischen Rückenschmerzen handelt es sich um einen pathologischen Zustand, der nicht auf nachweisbare Ursachen wie Infektionen, Tumorerkrankungen, Osteoporose, Frakturen, das Cauda-Equina Syndrom, Bandscheibendegenerationen oder Deformitäten zurückzuführen ist. Diese Form von Rückenschmerzen liegt in ca. 85% vor, während bei 15% der Betroffenen eine spezifische Ursache zu eruieren ist [1, 5]. Der chronische Rückenschmerz ist ein Schmerzzustand, der über mindestens 12 Wochen persistiert. Auch bei einer akuten Rückenschmerzsymptomatik kommt es innerhalb eines Jahres häufig zu Rezidiven. Die meisten Patienten mit akuten Rückenschmerzen erholen sich jedoch innerhalb von 6 Wochen, unabhängig davon, ob eine ärztliche oder medikamentöse Intervention stattgefunden hat oder nicht [6].

1.1.2 Prävalenz von Rückenschmerzen

Chronische Rückenschmerzen stellen mit einer Prävalenz von bis zu 30% ein bedeutendes gesundheitliches Problem dar. Rückenschmerzen sind weltweit die häufigste Ursache für einen Aktivitätsverlust infolge von Krankheit [3]. Die Gesamtlebenszeitprävalenz, d.h. die Wahrscheinlichkeit, im Leben einmal an Rückenschmerzen zu erkranken, beträgt bis zu 84%. Bis zu 23% der Betroffenen entwickeln chronische Schmerzen [6]. Studien belegen, dass Rückenschmerzen in allen Altersgruppen auftreten. Bei Kindern und Jugendlichen scheint die Lebensqualität durch die Rückenschmerzen weniger beeinträchtigt und die Chronifizierungsrate im Vergleich zu Erwachsenen erniedrigt zu sein [8]. Laut Hoy et

al. klagen Frauen in allen Altersklassen häufiger über Rückenschmerzen als Männer. Diskutiert wird auch ein Zusammenhang mit dem demographischen Wandel und der steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung [3, 9]. Dieses Erklärungsmodell reicht jedoch möglicherweise nicht aus, da auch Kinder unter Rückenschmerzen leiden und somit degenerative Ursachen wahrscheinlich eine eher untergeordnete Rolle spielen [1]. Laut Dunn et al. scheinen vielmehr langfristige oder wiederholte Schmerzerfahrungen das Risiko für die Entwicklung chronischer Rückenschmerzen zu steigern [10]. Die Prävalenz kann zudem durch Umgebungsfaktoren wie ein gestärktes Gesundheitsbewusstsein und einen verbesserten Informationszugang beeinflusst sein. Durch die ständige Medienpräsenz ist das Volksleiden „Rückenschmerz“ zunehmend in den Fokus der Öffentlichkeit geraten [9]. Freburger et al. berichten von einem deutlichen Anstieg der Inanspruchnahme von Gesundheitsdienstleistungen im Zusammenhang mit chronischen Rückenschmerzen. Unklar bleibt jedoch, ob dieser Anstieg auf eine zunehmende Chronifizierungsrate zurückzuführen ist oder ob die betroffenen Patienten heute öfter ärztliche Hilfe in Anspruch nehmen als noch vor 20 Jahren [11].

1.1.3 Kosten

Epidemiologische Studien und Kosten-Nutzen-Analysen identifizieren Rückenschmerzen als eines der relevantesten Gesundheitsprobleme der Industrieländer [12]. Wenig et al. beziffern die Kosten für Rückenschmerz-assoziierte Gesundheitsleistungen in Deutschland auf 2,2% des Bruttosozialproduktes [12, 13]. Rückenschmerzen verursachen sowohl hohe direkte Kosten für das Gesundheitssystem durch Inanspruchnahme von Arztbehandlungen, Rehabilitationen, physiotherapeutischen Maßnahmen und orthopädischen Hilfsmitteln als auch indirekte volkswirtschaftliche Kosten, bedingt durch Fehlzeiten und Arbeitsunfähigkeit [12].

1.1.4 Pathogenese und Chronifizierungsprozess

Bis heute ist die Pathogenese der chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen weitgehend ungeklärt, vermutet wird jedoch eine multifaktorielle Genese. Als Risikofaktoren gelten sozioökonomische und psychologische Einflüsse, Probleme am Arbeitsplatz und schwere körperliche Arbeit [12, 14]. Darüber hinaus scheinen Übergewicht und Nikotinabusus das Risiko für chronische Rückenschmerzen zu erhöhen [6, 15].

Tabelle 1: Allgemeine Risikofaktoren für die Chronifizierung von akuten, nicht-spezifischen Rückenschmerzen. Angelehnt an [16])

Risikofaktoren	
Berufliche Faktoren	Überwiegend körperliche Schwerarbeit, monotone Körperhaltung, erhöhte Vibrationsexposition Geringe berufliche Qualifikation Berufliche Unzufriedenheit Verlust des Arbeitsplatzes Kränkungsverhältnisse am Arbeitsplatz (Mobbing)
Iatrogene Faktoren	Mangelhafte Beachtung der multifaktoriellen Genese durch den Behandler Überbewertung somatischer und radiologischer Befunde Übertriebener Einsatz diagnostischer Maßnahmen, Förderung passiver Therapiekonzepte Lange Krankschreibung

Sogenannte „Yellow Flags“ sind psychosoziale und somatische Faktoren, die auf ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines chronischen Schmerzsyndroms hinweisen. Dazu zählen eine übertriebene Krankheitsfixierung, mangelhafte Copingstrategien,

eine hohe Erwartungshaltung an den behandelnden Arzt, eine Tendenz zu Katastrophisieren und Somatisieren, das Vermeiden von körperlichen und sozialen Aktivitäten und eine depressive Stimmungslage [1, 6, 9, 16, 17]. Hasenbring et al. evaluierten diverse prospektive Studien, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen verschiedenen psychologischen Variablen und dem Auftreten von akuten und chronischen Rückenschmerzen fanden [16]. Psychosoziale Stressoren modulieren die psychomotorische und psychoendokrine Ebene. Beispielsweise kann dauerhafter oder gehäuft auftretender Distress die Aktivität der lumbalen Rückenstrecker Muskeln erhöhen. Eine depressive Stimmungslage kann zu einer länger anhaltenden Inaktivität und zu sozialem Rückzug führen, wodurch eine Atrophie der Rückenmuskulatur begünstigt wird [16].

Tabelle 2: Psychosoziale Risikofaktoren („Yellow Flags“) für die Chronifizierung von akuten, nicht-spezifischen Rückenschmerzen. Angelehnt an [18])

Evidenzgrad	Psychosoziale Risikofaktoren
Starke Evidenz	Depressivität, Distress Maladaptive schmerzbezogene Kognitionen (z.B. Katastrophisieren, Angst-Vermeidungs-Verhalten, Hilflosigkeit) Ausgeprägtes Schon- und Vermeidungsverhalten
Moderate Evidenz	Gedankenunterdrückung Überaktives Schmerzverhalten, suppressives Schmerzverhalten Neigung zur Somatisierung
Begrenzte Evidenz	Persönlichkeitsmerkmale
Keine Evidenz	Psychopathologische Störungen

1.2 Therapieansätze bei chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen

1.2.1 Interdisziplinäre, multimodale Schmerztherapie

Interdisziplinäre multimodale Therapieprogramme bilden aktuell den wichtigsten Baustein in der Behandlung chronischer, nicht-spezifischer Rückenschmerzen. Die Ad-hoc-Kommission der Deutschen Schmerzgesellschaft e.V. hat die interdisziplinäre, multimodale Schmerztherapie wie folgt definiert: „Als ‚Interdisziplinäre Multimodale Schmerztherapie‘ wird die gleichzeitige, inhaltlich, zeitlich und in der Vorgehensweise aufeinander abgestimmte umfassende Behandlung von Patienten mit chronifizierten Schmerzsyndromen bezeichnet, in die verschiedene somatische, körperlich übende, psychologisch übende und psychotherapeutische

Verfahren nach vorgegebenem Behandlungsplan mit identischem, unter den Therapeuten abgesprochenem Therapieziel eingebunden sind“ [18]. Grundsätzlich richtet sich diese Therapieform an zwei Gruppen von Schmerzpatienten. Patienten, die sich noch am Anfang des Chronifizierungsprozesses befinden und „Yellow Flags“ aufweisen, sollte der Zugang zu multimodalen Schmerzprogrammen gewährt werden. Einige Studien belegen, dass Patienten vor allem zu Beginn einer Schmerzkrankheit von einer intensiven Therapie profitieren. In diesen Fällen zielt die Behandlung darauf ab, eine mögliche Chronifizierungskarriere zu verzögern oder sogar zu vermeiden [18-20]. Dennoch können auch Patienten mit einem fortgeschrittenen Schmerzleiden von der multimodalen Intervention profitieren und Techniken erlernen, um mit dieser Belastung besser umzugehen [21]. Insgesamt gilt es zu berücksichtigen, dass die Teilnehmer verschiedene „Startpunkte“ bezüglich ihrer Schmerzen aufweisen, was bei Evaluationen eine hohe Variabilität der Endergebnisse bedingt [21].

Die multimodale Schmerztherapie wird ambulant, teil- oder vollstationär in Kleingruppen mit maximal 8 Teilnehmern angeboten und erstreckt sich über mindestens 100 Behandlungsstunden. Das Konzept wird von einem interdisziplinären Team, bestehend aus Ärzten unterschiedlicher Fachrichtungen, Psychologen/Psychotherapeuten und Fachkräften aus der Physiotherapie, Ergotherapie und ggf. Kunsttherapie erarbeitet. Zu den Therapiezielen der multimodalen Schmerztherapie zählen eine Erhöhung des Aktivitätsniveaus der Patienten, der Abbau von unerwünschtem Krankheitsverhalten, eine Steigerung des Kontrollerlebens und der Abbau von Ängsten und Depressionen [22]. Im Vordergrund stehen die Wiederherstellung der Arbeitsfähigkeit und Lebensqualität durch Schmerzreduktion und die Minimierung von schmerzbezogenen Beeinträchtigungen. Darüber hinaus sollen Risikofaktoren und Komorbiditäten positiv beeinflusst und die funktionelle Leistungsfähigkeit verbessert werden. Psychosoziale Faktoren, die zur Schmerzentstehung und Chronifizierung beigetragen, sollen durch Stärkung der psychischen und sozialen Kompetenzen moduliert werden [23]. Für eine Teilnahme

an interdisziplinären, multimodalen Schmerzbewältigungsprogrammen sollten die Patienten die Motivation aufweisen, ihr Verhalten aktiv zu ändern. Für einen langfristigen Therapieerfolg muss der Patient für Veränderungen auf psychosozialer und körperlicher Ebene bereit sein [24, 25]. Dauerhaft wird eine Besserung der Beschwerden nur erreicht, wenn die Betroffenen auch nach Ablauf des Programms erlernte Elemente in ihren Alltag integrieren [12, 18].

In der Literatur wird der multimodalen Schmerztherapie gegenüber anderen Therapieformen (z.B. unimodale Behandlungen, rein medikamentöse Interventionen) bei chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen ein signifikanter Vorteil zugesprochen. Durch die aktive Mitarbeit und hohe Motivation der Teilnehmer kann eine klinisch relevante und subjektive Verbesserung der Schmerzintensität und des Schmerzerlebens erzielt werden [12, 22, 26]. Auch schmerzbezogene Ängste und Kontrollüberzeugungen verbessern sich im Rahmen dieser Programme deutlich [18, 26, 27]. Durch den Behandlungsumfang entstehen bei einer multimodalen Schmerztherapie zwar zunächst höhere Kosten als bei Einzelmaßnahmen, langfristig ergibt sich jedoch durch die Wiederherstellung der Arbeits- und Funktionsfähigkeit eine günstigere Kosten-Nutzen-Relation [12, 13, 18].

Das „Münchener-Rücken-Intensiv-Programm“ (MRIP) ist ein multimodales, interdisziplinäres Therapieprogramm des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dieses wurde konzipiert für Patienten, die seit mindestens 6 Monaten an Rückenschmerzen leiden und erfolglos mehrere Behandlungsoptionen in Anspruch genommen haben. Für einen Therapieerfolg sollten die Teilnehmer gruppenfähig und körperlich belastbar sein. Die Patienten werden durch die behandelnden Hausärzte, Orthopäden oder Schmerzmediziner an die interdisziplinäre Schmerztagesklinik des Klinikums München-Großhadern überwiesen. Das MRIP ist ein vierwöchiges, teilstationäres Programm, das in Gruppen von maximal 8 Teilnehmern an 5 Tagen pro Woche 6–8 Stunden täglich durchgeführt wird (siehe Anhang A: MRIP Wochenplan). Die Aufnahme der Patienten in das MRIP erfolgt

nach einem multimodalen Assessment durch ein interdisziplinäres Team aus Ärzten, Psychologen/Psychotherapeuten, Physio- und Ergotherapeuten sowie Therapeuten weiterer übender Verfahren (Yoga, Kunsttherapie etc.). Obligat sind eine gemeinsame Beurteilung des Behandlungsablaufs und die Evaluierung der Teilnehmer in regelmäßigen Teambesprechungen [18]. Die Therapie setzt sich aus verschiedenen Bausteinen zusammen, so dass medizinische, physiotherapeutische, verhaltenstherapeutische und berufsbezogene Elemente in das Konzept integriert werden. Alle Therapieformen werden dabei als gleichberechtigt angesehen [22]. Mit Hilfe des MRIP sollen schmerzbedingte Arztbesuche reduziert und die Tage der Arbeitsunfähigkeit minimiert werden [28]. Das Programm setzt sich aus folgenden Modulen zusammen [29, 30]:

- **Information/Edukation:** Die Patienten erhalten ausführliche Informationen über ihre Erkrankung und über therapeutische Maßnahmen. Zu den behandelten Themen gehören: anatomische Grundlagen, Physiologie des Schmerzes, Schmerzentstehung und -wahrnehmung, Wechselwirkungen zwischen Psychologie und Schmerzverhalten, die Rolle von Stress im Chronifizierungsprozess, Analgetikagebrauch, rückschonendes Verhalten und spezielle Trainings- und Übungsmöglichkeiten.
- **Physiotherapie:** Mehrmals täglich trainieren die Teilnehmer Kraft, Ausdauer und Koordination mittels eines speziell entwickelten Programms. Unter der Anleitung von Physiotherapeuten sollen die Patienten mit Hilfe von medizinischer Trainingstherapie, Aktivitäten in der Natur, Schwimmen und bewegungstherapeutischen Übungen ihren funktionalen Status verbessern. Darüber hinaus werden Selbsthilfemaßnahmen wie Akupressur oder Kneipp-Güsse vermittelt [28].
- **Ergonomie:** In Zusammenarbeit mit Ergotherapeuten werden arbeitsplatzspezifische Rücken- und Körperbelastungen der Teilnehmer

identifiziert und verändert. Dabei werden korrekte Arbeitshaltungen und rückschonende Positionen vermittelt. Die Maßnahmen sollen von den Patienten verinnerlicht werden, um sie selbstständig im Arbeitsalltag anwenden zu können.

- **Psychologische Intervention und Entspannungstraining:** Mittels verhaltenstherapeutischer Ansätze lernen die Patienten mit ihren Schmerzen umzugehen und Bewältigungsstrategien zu finden. Damit werden unangemessenes Schmerz- und Krankheitsverhalten reduziert und die Selbstkontrolle, Motivation und das Selbstbewusstsein gestärkt. Neben Entspannungsübungen (z.B. progressive Muskelentspannung nach Jacobson) erlernen die Teilnehmer beispielsweise mit Qi-Gong auch Elemente und Maßnahmen zur „aktiven Selbsthilfe“.

Neben den Gruppensitzungen sind Einzelgespräche mit den Ärzten und Psychologen ein fester Bestandteil des MRIP, um auf individuelle Bedürfnisse der Teilnehmer besser eingehen zu können. Das Erlernte sollte nach Abschluss des vierwöchigen Programms in den Alltag übernommen werden, um einer erneuten Schmerzzunahme entgegenzuwirken. Frühestens 6 Monate nach Abschluss des MRIP werden die Teilnehmer zu einer „Refresherwoche“ eingeladen. Das Ziel besteht darin, das Erlernte noch einmal aufzufrischen, Fehler bei der Ausführung zu korrigieren und die Patienten darin zu bestärken, die Übungen langfristig durchzuführen (siehe Anhang A: MRIP Wochenplan).

1.3 Das Immunsystem - Bedeutung bei der Entstehung von Schmerzen

1.3.1 *Das angeborene und adaptive Immunsystem*

Das Immunsystem dient nicht nur der Abwehr von körperfremden Substanzen, sondern scheint auch an der Entstehung und Aufrechterhaltung von akuten und chronischen Schmerzen beteiligt zu sein. Man unterscheidet ein angeborenes von einem adaptiven Immunsystem.

Das angeborene Immunsystem reagiert auf das Eindringen von Krankheitserregern in den menschlichen Organismus mit einer komplexen Kettenreaktion, an der zelluläre (Makrophagen, Granulozyten und natürliche Killerzellen) und humorale (Komplementsystem) Faktoren beteiligt sind. Auch physiologische und anatomische Barrieren zählen zum angeborenen Immunsystem [31].

Das adaptive Immunsystem besteht ebenfalls aus zellulären und humoralen Komponenten. Diese sind neben den sogenannten Antigenpräsentierenden Zellen zwei Gruppen von Zellen: die B-Lymphozyten, welche die humorale Immunität vermitteln sowie die T-Lymphozyten mit ihren Untergruppen, welche für die zellvermittelte Immunantwort verantwortlich sind.

In der vorliegenden Arbeit steht die Rolle zweier T-Zell-Subpopulationen – der TH17-Zellen und der regulatorischen T-Zellen (Tregs) – sowie die von diesen Zellen produzierten bzw. auf diese Zellen einwirkenden Zytokine bei der Pathogenese von chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen im Fokus. Zytokine sind eine Gruppe löslicher Glykoproteine, die als diffiziles Netzwerk die Aktivität und Proliferation von Zellen unter physiologischen und pathologischen Bedingungen beeinflussen [31, 32]. Zytokine können inflammatorische Reaktionen, die Wundheilung und die Akute-Phase-Reaktion beeinflussen. Zu den Zytokinen zählen Interleukine, Interferone und Tumornekrosefaktoren. Zytokine werden nach adäquaten Reizen meist nur kurzzeitig ausgeschüttet und bewirken vorrangig lokale Effekte von

begrenzter Dauer. Sie binden an membrangebundene Rezeptoren auf der Oberfläche verschiedener Zielzellen und lösen damit eine intrazelluläre Signalkaskade aus. Viele Zytokine sind in der Lage, die Produktion weiterer Zytokine zu fördern oder zu hemmen [32]. Eine gesteigerte und verlängerte Zytokinproduktion sowie eine Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen spielen eine zentrale Rolle in der Pathogenese einiger chronischer Erkrankungen wie Morbus Crohn, Systemischem Lupus erythematoses, Multiple Sklerose, der Rheumatoiden Arthritis und der Psoriasis [32-34]. Mehrere Studien deuten auf einen Zusammenhang zwischen der vermehrten Ausschüttung von Zytokinen und der Entstehung chronischer Schmerzen hin. Die B-Zellen des erworbenen Immunsystems sind als Produzenten von Antikörpern wichtige Akteure im Rahmen der humoralen Immunantwort. Bei Aktivierung durch körperfremde Antigene können sie sich zu B-Gedächtniszellen oder Antikörper-produzierenden Plasmazellen weiterentwickeln [35].

1.3.2 T-Zellen – Differenzierung und Funktion

T-Zellen können grob in zwei Untergruppen eingeteilt werden, die durch spezifische Oberflächenproteine (CD, cluster of differentiation) charakterisiert sind. Unterschieden werden $CD4^+$ -T-Lymphozyten (TH-Zellen) und $CD8^+$ -T-Lymphozyten (zytotoxische T-Zellen). TH-Zellen werden anhand ihrer unterschiedlichen Zytokinprofile in verschiedene Subgruppen klassifiziert. Das vorherrschende Zytokinmilieu während der Aktivierung ist ausschlaggebend für den weiteren Entwicklungsweg der naiven T-Zellen (siehe Abbildung 1) [34]. Dieses Zytokinmilieu supprimiert gleichzeitig die Entwicklung anderer T-Zell-Subtypen [31, 35].

IL-12 induziert die Differenzierung zu TH1-Zellen, während sich TH2-Zellen unter dem Einfluss von IL-4 entwickeln. Lange gingen Forscher davon aus, dass TH1/TH2-Zellen die zentralen Akteure des zellvermittelten adaptiven Immunsystems sind. Durch die Entdeckung weiterer TH-Zelllinien weiß man heute, dass das System weitaus komplexer ist. Zu den neu entdeckten Subpopulationen zählen TH17, TH22,

TH9 und Treg Zellen, die jeweils durch charakteristische Zytokinprofile gekennzeichnet sind [33, 36, 37].

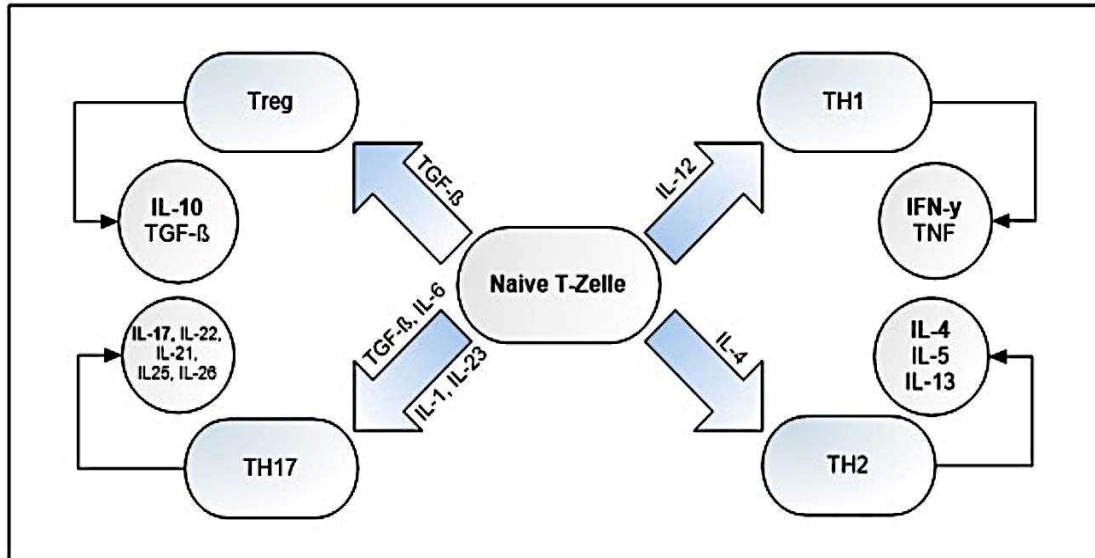


Abbildung 1: Entwicklung der TH1-, TH2-, TH17- und Treg-Zellen aus naiven T-Zellen unter dem Einfluss wechselnder Zytokinmilieus. Angelehnt an [33]

1.3.3 TH1-Zellen

TH1-Zellen spielen durch ihre Interaktion mit Antigen-präsentierenden Makrophagen und weiteren T-Lymphozyten eine wichtige Rolle im Rahmen der zellvermittelten Immunantwort, insbesondere bei der Bekämpfung von intrazellulären Erregern. Überschießende TH1-Reaktionen können zu einer Gewebeschädigung und zu Autoimmunerkrankungen führen. Proinflammatorische TH1-Zellen entstehen aus naiven TH-Zellen unter dem Einfluss von IL-12. Charakteristisch für TH1-Zellen ist die Produktion von IL-2 und IFN- γ , aber auch von TNF- α , TNF- β und GM-CSF. Als proinflammatorisches Zytokin spielt IFN- γ in der Pathogenese der Multiplen Sklerose und Rheumatoiden Arthritis eine wichtige Rolle [33].

1.3.4 TH2-Zellen

TH2-Zellen unterstützen die humorale Immunantwort (Antikörperproduktion von B-Zellen) und schützen den Organismus vor parasitären Infektionen. Eine überschießende TH2-Immunantwort wird mit der Entstehung von Allergien, Atopien und Asthma bronchiale in Zusammenhang gebracht. Antiinflammatorische TH2-Zellen entstehen aus naiven TH-Zellen u.a. in epithelialen Geweben der Lunge und des Verdauungstraktes unter dem Einfluss von IL-4. TH2-Zellen produzieren IL-4, IL-5, IL-13, IL-9 und IL-10.

1.3.5 TH17-Zellen

TH17-Zellen sind wichtige Akteure der zellvermittelten, erworbenen Immunantwort im Rahmen der Abwehr von extrazellulären Bakterien, Pilzen und eukaryoten Pathogenen [33]. Die Differenzierung zu TH17-Zellen wird primär durch IL-23 gefördert, das von aktivierten Makrophagen und dendritischen Zellen sezerniert wird [34]. Für die Rekrutierung und Stabilität der TH17-Zellen ist der Transkriptionsfaktor ROR γ T essenziell.

TH17-Zellen setzen das proinflammatorische IL-17 frei, das zu einer vermehrten Produktion neutrophiler Granulozyten, einer Aktivierung körpereigener Immunzellen und zur Freisetzung weiterer proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α , GM-CSF und IL-1 β führt [33, 38]. Die vermehrt ausgeschütteten Chemokine und Mediatoren wie Prostaglandin E2 tragen zu einer potentiellen Gewebeschädigung bei. Eine übersteigerte IL-17 Sekretion kann ebenso wie IFN- γ zur Manifestation autoimmuner Erkrankungen wie Systemischem Lupus Erythematoses, Rheumatoider Arthritis und Multiple Sklerose beitragen [33]. Durch einen positiven Feedback-Mechanismus werden die TH17-Zellen zur Produktion von immer mehr IL-17 angeregt, was die Antikörperproduktion und die entzündliche Reaktion begünstigt [39]. TH17-Zellen sezernieren außer IL-17 auch IL-21, IL-22, IL-25 und IL-26. Unklar ist, welchen

Stellenwert die Produktion von IL-10 und IFN- γ einnimmt [33, 40]. Verschiedene Studien belegen, dass TH17-Zellen nicht ausschließlich proinflammatorisch wirken, sondern auch antiinflammatorische Mediatoren sezernieren. Diese Eigenschaften deuten auf eine hohe Plastizität innerhalb der TH17-Zellpopulation hin [35].

1.3.6 Tregs (regulatorische T-Zellen)

Mitte der 1990er Jahre definierten Sakaguchi et al. eine weitere T-Zell-Subpopulation, die sich durch regulatorische Funktionen auszeichnet. Tregs sind eine heterogene Subpopulation von Zellen, die die Autoimmuntoleranz und Gewebekomöostase über die Ausschüttung antiinflammatorischer Zytokine, die Ausbildung inhibitorischer Rezeptoren und Zytokinenzug unterstützen [33, 41]. Parallel dazu unterdrücken sie physiologische und pathologische Immunantworten und verringern das Risiko für das Auftreten von Autoimmunreaktionen [34, 37, 42].

Die Treg-Population wird durch den Transkriptionsfaktor FOXP3 aufrechterhalten. Man unterscheidet natürliche (nTregs) von induzierten Tregs (iTregs). Die im Thymus produzierten nTregs stellen mit 10% einen signifikanten Anteil an der gesamten CD4⁺-T-Zell-Population. Dagegen entstehen iTregs in einem bestimmten Zytokinmilieu (in Anwesenheit hoher TGF- β Konzentrationen) und durch Antigen-Aktivierung aus naiven CD4⁺-T-Zellen in peripheren lymphatischen Geweben [34, 43]. Charakteristisch für Tregs sind die Oberflächenmarker CD4 und CD25. Der Oberflächenmarker CD127 dient der weiteren Spezifizierung der Tregs. Niedrige CD127-Werte in Kombination mit erhöhten CD25-Werten sind charakteristisch für FOXP3⁺ nTregs [37, 42, 44].

Die Expression von FOXP3 hemmt den TH17-assoziierten Transkriptionsfaktor ROR γ T, so dass die Entwicklung in Richtung TH17-Zellen stagniert [45]. Eine Balance zwischen FOXP3 und ROR γ T ist essentiell für die Differenzierung der TH17-Zellen und Tregs und damit relevant für die Entscheidung des Organismus, ob eine

pro- oder antiinflammatorische Immunantwort stattfindet [43, 46, 47]. FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺-Tregs beeinflussen über die Ausschüttung antiinflammatorischer Zytokine B-Zellen, Osteoblasten, Makrophagen und dendritische Zellen und greifen so regulierend in Immunprozesse ein [46]. Tregs sezernieren primär IL-10 und TGF- β . Daneben wird TGF- β auch von Makrophagen, dendritischen Zellen, B-Zellen und TH3-Zellen freigesetzt.

Über einen positiven Feedback-Mechanismus induziert das antiinflammatorische TGF- β die Expression des Transkriptionsfaktors FOXP3 und führt so zu einer erhöhten Treg-Rekrutierung. Für diesen Vorgang ist neben einer hohen TGF- β Konzentration auch die Abwesenheit der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-21 erforderlich [34, 45]. TGF- β ist jedoch auch mit proinflammatorischen Effekten assoziiert. Niedrige TGF- β -Konzentrationen erhöhen die IL-23-Sekretion und steigern so die Rekrutierung von TH17-Zellen [33, 45, 46]. Dieser Vorgang wird durch IL-6 und IL-21 potenziert (siehe Abbildung 2).

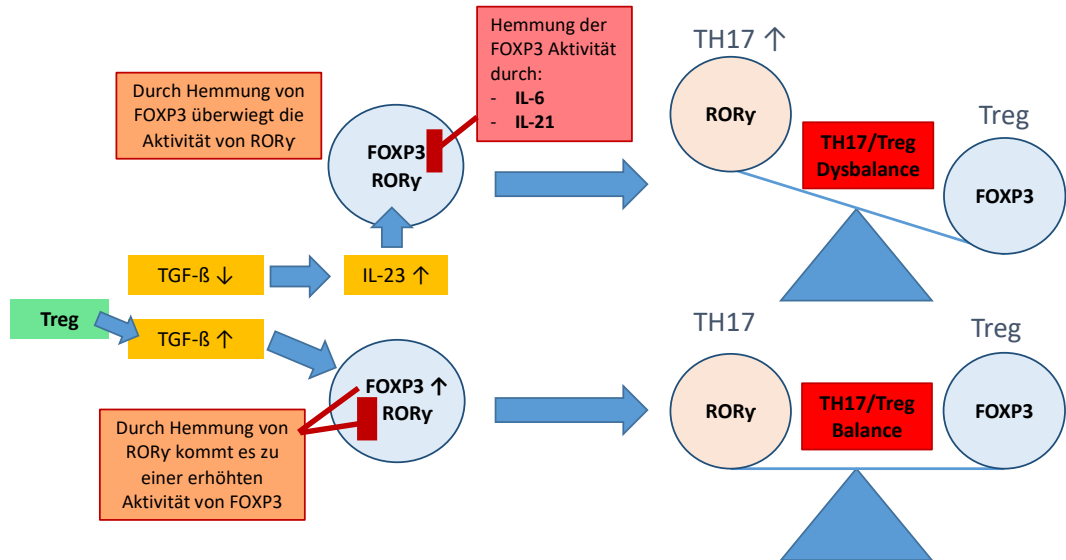


Abbildung 2: Differenzierung der TH17-Zellen und Tregs aus naiven T-Zellen unter dem Einfluss von TGF-β

Hohe TGF-β Konzentrationen induzieren überwiegend die Expression von FOXP3. Niedrige TGF-β Konzentrationen erhöhen die IL-23 Produktion. Die Anwesenheit proinflammatorischer Zytokine (IL-6, IL-21) bewirkt eine vermehrte Expression von RORγ und somit eine höhere Präsenz der TH17-Zellen. Fehlen proinflammatorische Zytokine, aktivieren hohe TGF-β Konzentrationen vermehrt FOXP3. In diesem Szenario steigt dann die regulatorische Aktivität der Tregs. Durch einen positiven Feedback Mechanismus überwiegt die TGF-β Konzentration. Modifiziert nach [48].

Die Plastizität der T-Zellen erschwert die Identifikation der Rolle von TH17-Zellen und Tregs bei pathologischen Prozessen (siehe Tabelle 3). Laut verschiedener Studien sind unterschiedliche T-Zellpopulationen in der Lage, ihren Phänotyp und damit ihre Funktion zu verändern. Für die Umwandlung ausdifferenzierter TH-Zellen ist das Zytokinmilieu verantwortlich. Dies betrifft vor allem TH17-Zellen und Tregs [33-35, 43, 48]. Auch die Eigenschaften der Zytokine sind nicht eindeutig festgelegt.

Prototypische proinflammatorische Zytokine wie IFN- γ , TNF- α oder IL-6 können unter bestimmten Umständen auch antiinflammatorische oder immunregulatorische Eigenschaften entwickeln [35]. Die Bedingungen, die bestimmte CD4⁺-Zellpopulation stabilisieren bzw. deren Transdifferenzierung fördern, sind aufgrund der komplexen Wirkprofile der beteiligten Zytokine nicht vollständig entschlüsselt [35, 46, 49]. Vermutlich erlaubt die Balance zwischen Stabilität und Flexibilität der T-Zellen eine schnelle Reaktion des Immunsystems auf Umweltveränderungen oder auf das Eindringen von körperfremden Erregern [43].

Als Immunregulatoren sind Tregs an der Entwicklung von Typ 1 Diabetes, Asthma bronchiale und Multiple Sklerose beteiligt [33]. Inwiefern Tregs für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen, entzündlichen Prozessen und Malignität von Bedeutung sind, bleibt jedoch weiterhin ungeklärt. Studien deuten auf ein Zusammenspiel numerischer, funktioneller und phänotypischer Eigenschaften hin, so dass bislang nicht eindeutig geklärt ist, ob eine erhöhte oder verminderte Anzahl von Tregs pathologische Prozesse induziert oder hemmt [42]. Unklar bleibt auch, ob Anomalien der Treg-Funktion Auslöser oder Folge von Erkrankungen sind [37].

Tabelle 3: Überblick über die TH1-, TH2-, TH17- und Treg-Zellen mit protektiven und immunpathologischen Funktionen. Modifiziert nach [49]

T-Zell Linie	Protektive Funktion	Immunpathologie
TH1	Bekämpfung intrazellulärer Viren und Bakterien durch Aktivierung von Makrophagen oder Steigerung der Aktivität von Natürlichen Killerzellen und CD8 ⁺ -T-Zellen	Inflammatorische Erkrankungen und Autoimmunerkrankungen wie rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn und Hashimoto Thyreoiditis
TH2	Bekämpfung parasitärer Infektionen durch Ausschüttung von IL-4, IL-5 und IL-13	Allergische Erkrankungen durch Induktion des Immunglobulin-(Ig)-E-Switching, Eosinophilen Aktivierung und vermehrte Schleimproduktion in den Bronchien via IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13
TH17	Bekämpfung extrazellulärer Bakterien und Pilze	Inflammatorische Erkrankungen und Autoimmunerkrankungen wie Multiple Sklerose, rheumatoide Arthritis, Systemischer Lupus Erythematodes und Chronic obstructive pulmonary disease (COPD)
Treg	Autoimmuntoleranz durch Hemmung der peripheren Effektor-T-Zell-Reaktion auf Autoantigene	Krebs, Immunschwäche durch Überaktivität, Autoimmunerkrankungen durch FOXP3-Mutationen

1.3.7 T-Zellen und Schmerz

In der Vergangenheit haben Forschungsarbeiten mehrfach auf einen Zusammenhang zwischen erhöhten Serumkonzentrationen proinflammatorischer Zytokine und der Entstehung von Schmerzen hingewiesen [50]. Wenn Zytokine wie IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α oder IFN- γ über nachgeschaltete Entzündungsmediatoren zu einer peripheren Sensibilisierung von Nozizeptoren führen, können diese Zytokine

entzündungsähnliche Situationen mit chronischen Schmerzen auslösen [32].

Die Sekretion proinflammatorischer Zytokine unterliegt häufig einer Regulation über positive Rückkopplungsmechanismen, was das Ausmaß der Entzündungsreaktion vergrößern kann [32, 51, 52]. Zytokine spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Hyperalgesie, Allodynie, Dysästhesie und bei der Rekrutierung bisher inaktiver Nozizeptoren [32, 53-55]. Damit besteht ein hypothetischer Zusammenhang zwischen einer Dysbalance pro- und antiinflammatorischer Zytokine und der Pathogenese von chronischen Schmerzen.

In Zusammenhang mit der Entstehung und Aufrechterhaltung von chronischen Rückenschmerzen wurden auf Zytokinebene ähnliche Veränderungen zugunsten proinflammatorischer Reaktionen beobachtet [56-58]. Wang et al. fanden erhöhte TNF- α - und IL-8-Serumkonzentrationen bei Patienten mit chronischen Rückenschmerzen, die sich im Laufe einer multimodalen Schmerztherapie normalisierten [59]. De Queiroz et al. detektierten eine Korrelation zwischen erhöhten TNF- α -Werten und der körperlichen Beeinträchtigung älterer Frauen mit akuten Rückenschmerzen [55].

Im Prozess der Schmerzchronifizierung scheint es neben einer Zunahme der Zytokinaktivität auch auf T-Zell Ebene zu Veränderungen zu kommen.

Beim komplexen regionalen Schmerzsyndrom (CRPS) und beim chronischen abakteriellen Schmerzsyndrom des Beckens kommt es zu einer TH1/TH2-Imbalance zugunsten der TH1-Zellen [60-62]. Eine Elevation von IL-17 und damit einhergehend eine Zunahme der TH17-Zellzahl findet sich auch bei Patienten mit degenerativen Erkrankungen der lumbalen Bandscheiben [63, 64]. Laut Astry et al. können Veränderungen der FOXP3-Aktivität zu funktionellen Störungen der Tregs führen und über eine Erhöhung der TH17/Treg-Ratio eine Rolle in der Pathogenese der Rheumatoiden Arthritis spielen [34]. Eine Abnahme der suppressiven Treg-Funktion mit einem Überwiegen der proinflammatorischen TH17-Zellen geht mit einem

schwereren Verlauf der Rheumatoiden Arthritis einher [34, 48, 65-67].

Die Mechanismen, die diese Dysbalance begünstigen, sind jedoch nicht geklärt. Einerseits kann eine verminderte Treg-Funktion die Progression von Erkrankungen begünstigen, andererseits könnten funktionelle Aberrationen erst im Verlauf einer Krankheit durch die Erschöpfung der Abwehrmechanismen entstehen. Diese Zusammenhänge verdeutlichen das komplexe Zusammenspiel zwischen Zytokinen, Transkriptionsfaktoren und T-Zellen in verschiedenen Geweben, so dass die oft beschriebene TH1/TH2-Dichotomie durch eine TH17/Treg-Ratio ergänzt werden sollte, um inflammatorische Prozesse besser zu verstehen.

2 Fragestellung und Zielsetzung

Chronische, nicht-spezifische Rückenschmerzen stellen ein zunehmendes gesundheitliches Problem in unserer Gesellschaft dar. Zahlreiche Studien belegen einen Zusammenhang zwischen chronischen Schmerzen und einer gestörten Balance pro- und antiinflammatorischer Zytokine [32, 50, 52, 55, 56, 59, 68, 69]. Bisher gibt es jedoch zu wenige Daten zu potentiellen Veränderungen der T-Zellsubpopulationen und den dazugehörigen Zytokinen bei chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen, um Rückschlüsse auf die Pathogenese ziehen zu können.

Mehrere Forschergruppen beschrieben eine Dysbalance der TH17/Treg-Ratio zugunsten der TH17-Zellen bei Rheumatoider Arthritis [34, 48, 66]. Laut einer weiteren Studie spielt IL-17 eine signifikante Rolle in der Pathogenese von Bandscheibendegenerationen [64]. Nach einer vierwöchigen multimodalen Schmerztherapie kam es zu einer signifikanten Schmerzreduktion und zu einer Erniedrigung des TNF- α Spiegels bei Patienten mit Fibromyalgiesyndrom [70].

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 37 Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen die Veränderungen der Schmerzintensität, subjektiven Stresserfahrung, T-Zell Subpopulationen, Expression spezifischer Transkriptionsfaktoren und Serum-Zytokinspiegel vor-, nach-, sowie 6 Monate nach Teilnahme am interdisziplinären, multimodalen Münchener Rücken Intensiv Programm (MRIP) erfasst. Als Kontrolle dienten 25 gesunde, schmerzfreie Probanden.

Ziel dieser Studie war es, die Pathogenese der chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen besser zu verstehen, um mögliche Risikofaktoren rechtzeitig zu identifizieren und in Zukunft in Präventionsprogrammen und therapeutischen Ansätzen adressieren zu können.

Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

1. Finden sich in Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen im Vergleich zu gesunden Probanden quantitative Unterschiede in der Präsenz pro- oder antiinflammatorischer Zytokine und der T-Zell Subpopulationen?
2. Findet sich bei den Schmerzpatienten auf T-Zell Ebene ein Shift zugunsten der Inflammation?
3. Wie verändern sich Schmerzintensität und die subjektive Stresserfahrung im Rahmen der vierwöchigen Intervention?
4. Verändern sich die immunologischen Parameter der Patienten im Verlauf des vierwöchigen multimodalen Therapieprogrammes?
5. Persistieren mögliche Veränderungen der erfassten Parameter auch noch nach 6 Monaten?
6. Korrelieren die Höhe der gemessenen Zytokinspiegel und die Expression der Transkriptionsfaktoren mit den im Rahmen der FACS-Analyse detektierten T-Zell Subpopulationen?

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Die Rekrutierung der Patienten für die prospektive klinische Studie erfolgte im Zeitraum von September 2011 bis September 2013. Dabei wurde bei allen Patienten, die sich in der Schmerzambulanz und Tagesklinik der LMU München Großhadern vorstellten, überprüft, ob sie die Einschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie erfüllten und ggf. deren Einwilligung eingeholt. Im Rahmen der klinischen Routine erhielten alle Patienten unabhängig von der Studie ein interdisziplinäres Assessment durch die ärztlichen Mitarbeiter und Psychologen der Schmerztagesklinik [71]. Es konnten insgesamt 37 Patienten eingeschlossen werden, die sowohl an chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen litten, als auch für die Teilnahme am Münchner Rücken Intensiv Programm (MRIP) geeignet waren. Von den 37 Patienten waren 23 weiblich, 14 männlich und das Durchschnittsalter betrug 44,5 Jahre (21–73 Jahre). Alle Patienten nahmen freiwillig und nach schriftlicher Einwilligung an dieser Studie teil. Die klinische Forschungsstudie wurde durch die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt (siehe Anhang D: Probandeninformation und Einverständniserklärung).

3.1.1 Einschlusskriterien

Einschlusskriterien für die Teilnahme am MRIP waren [29, 30]:

- Chronische, nicht-spezifische Rückenschmerzen seit mindestens 6 Monaten
- Lebensalter 18 bis 65 Jahre
- Berufstätigkeit oder bestehende Berentung
- Gute kardiopulmonale und körperliche Belastbarkeit für die Teilnahme an physikalischen und sportlichen Maßnahmen

- Rückenschmerzbedingte Arbeitsunfähigkeit > 4 Wochen innerhalb eines Jahres
- Persönliche oder berufliche Situation, die eine regelmäßige und aktive Teilnahme am MRIP erlaubt
- Die Beschwerden konnten anhand der multiaxialen Schmerzklassifikation (MASK) dem Diagnoseschlüssel „Lendenwirbelsäule“ zugeteilt werden

3.1.2 *Ausschlusskriterien*

Ausschlusskriterien für die Teilnahme am MRIP waren [29, 30]:

- Akute und subakute Rückenschmerzen mit einer Dauer < 6 Monaten
- Spezifische Rückenschmerzen mit einer nachgewiesenen Ursache/Pathologie
- Maligne und entzündliche Grunderkrankungen
- Immundefekte und radikuläre Syndrome
- Angeborene oder erworbene Fehlbildungen
- Psychiatrische Grunderkrankungen
- Schwangerschaft
- Laufendes Rentenverfahren
- Mangelnde Motivation und wenig Bereitschaft zu Verhaltensänderungen
- Längerfristige Einnahme von nicht-Opioid Analgetika oder Opioiden
- Behandlung mit Kortikoiden oder immunmodulatorischen Präparaten
- Substanzmissbrauch in der Vorgeschichte

- CRP-Wert $> 0,5$ mg/dl, eine Leukozytenzahl $> 11,0$ G/l oder eine Körpertemperatur über $38,5$ °C zum Zeitpunkt der Rekrutierung

3.2 Kontrollgruppe

In die Kontrollgruppe wurden 25 gesunde Probanden (13 Frauen, 12 Männer) mit einem durchschnittlichen Alter von 43,0 Jahren (24–54 Jahre) eingeschlossen. Als „gesund“ wurden Probanden definiert, die die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie erfüllten und nicht an chronischen oder akuten Schmerzen litten (NRS-Wert 0 in Ruhe und bei Aktivität).

3.3 Messzeitpunkte

Die Daten für die Studie wurden anhand von Blutentnahmen und durch Befragung mittels Fragebögen zu drei verschiedenen Zeitpunkten erhoben. Die erste Evaluation erfolgte am ersten Tag des vierwöchigen MRIP um ca. 8:00 Uhr morgens (T_0), die zweite am Ende des Programms ebenfalls morgens um ca. 8:00 Uhr (T_1). Alle Patienten wurden für ein „Follow-up“ 6 Monate später um ca. 8:00 Uhr (T_2) in die Schmerzzambulanz Großhadern einbestellt.

3.4 Untersuchungsinstrumente

Neben den Laborwerten wurden subjektive Parameter zur Quantifizierung des Schmerzerlebens der Patienten und zur Bewertung des allgemeinen körperlichen und psychischen Zustands der Patienten und Probanden verwendet. Die Patienten des MRIP wurden ausschließlich durch spezialisierte Fachkräfte der Schmerzzambulanz und Tagesklinik des Klinikums Großhadern betreut. Die Befragung mittels der standardisierten Fragebögen, die Blutentnahmen und Erhebung der Vitalparameter erfolgten ausschließlich durch medizinisches Fachpersonal (Ärztinnen, qualifiziertes Pflegepersonal und Doktorandinnen der Humanmedizin).

3.4.1 Befundbogen

Anhand eines eigens für die Studie erstellten Fragebogens wurden zu den Messzeitpunkten (T₀, T₁ und T₂) die Werte zum körperlichen und psychischen Gesamtzustand des Patienten dokumentiert (siehe Anhang B: Befundbogen). Erfasst wurden das aktuelle Körpergewicht, die Körpergröße, der BMI sowie die Schmerzakzeptanz, Schlafstörungen, Appetit, Schwindel, Müdigkeit, Konzentrationsstörungen und Nüchternheit (Ja/Nein-Antworten). Vor der Blutentnahme erfolgte die Messung des Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Körpertemperatur mittels tympanaler Temperaturmessung.

Die aktuell empfundene Schmerzintensität wurde von den Patienten mit Hilfe einer Numerischen Rating-Skala (Werte zwischen 0 = „kein Schmerz“ und 10 = maximal vorstellbarer Schmerz“) dokumentiert. Dabei sollte die zuletzt erlebte durchschnittliche Schmerzintensität in Ruhe und bei körperlicher Aktivität definiert werden. Anhand des NRS-Wertes und des Ergebnisses des „Kurzfragebogens zur aktuellen Beanspruchung“ - (KAB) - (siehe unten) wurden die Patienten im Anschluss an das MRIP und im Follow-up als Responder (> 50% Reduktion der NRS- und KAB-Werte) oder Non-Responder eingeteilt.

3.4.2 Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB)

Der KAB diente zur Selbsteinschätzung der momentanen psychischen Belastungssituation zu allen Messzeitpunkten. Der Fragebogen ist sensitiv für kurzfristige Veränderungen in der subjektiven Stresserfahrung [72]. Auf einer 6-Punkte-Skala konnten die Patienten ihren aktuellen Gemütszustand durch passende Adjektive beschreiben. Den Adjektiven wurde dann eine Zahl zwischen 1 und 6 zugeordnet, um die Aussagen zu quantifizieren (siehe Anhang C: Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung). Je höher der KAB-Wert ist, umso größer ist die Belastungssituation des Patienten.

Vor der Aushändigung der Bögen wurde den Patienten das Verfahren ausführlich erklärt. Bei Verständnisproblemen erhielten sie Unterstützung durch das medizinische Fachpersonal.

3.4.3 *Aufbereitung der Blutproben*

Den 37 Probanden wurde zu den drei Messzeitpunkten nach vorheriger lokaler Desinfektion venöses Blut mittels einer 20 G Flügelkanüle (*Safety-Multifly®-Set*, Sarstedt, Nürnberg, Deutschland) aus der Ellenbeuge entnommen. Die Punktion erfolgte bei allen Patienten gleichzeitig. Den gesunden Kontrollen wurde nur einmal zum Zeitpunkt T₀ Blut entnommen. Im Anschluss an die Entnahme wurde das Blut umgehend und ungekühlt zur Weiterverarbeitung in das Labor transportiert. Verwendetes Material: 1 x 7,5 ml Serum *Monovette®*, 3 x 4,5 ml Serum *Monovette®*, 3 x 2,7 ml EDTA *Monovette®*, 3 x 7,5 ml Lithium-Heparin *Monovette®*, 2 x 4,5 ml Lithium-Heparin *Monovette®*.

3.4.4 *Klinische Chemie*

Im Institut für Laboratoriumsmedizin des Klinikums Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. Daniel Teupser) wurden diverse Basisparameter der klinischen Chemie bestimmt (siehe Anhang E: Befundbericht eines anonymisierten Studienteilnehmers mit den erhobenen Laborparametern). Von besonderem Interesse waren die Leukozytenzahlen (G/l) sowie das CRP (mg/dl), um Patienten mit potentieller Inflammation von der Studie ausschließen zu können.

3.4.5 *Zytokine*

Das Blut für die Zytokinanalyse wurde in 4,5 ml Serum *Monovetten®* entnommen und nach 30 min bei 20 °C und 3500 rpm für 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen, in Polypropylen-Röhrchen gefüllt und bei -80 °C eingefroren. Zur

weiteren Verarbeitung und Analyse wurden die Proben auf Trockeneis gekühlt per Post an das *Myriad Rules-Based Medicine* Labor in Austin, Texas, USA geschickt. Die Kühlkette wurde zu keinem Zeitpunkt unterbrochen. Dort wurden mit dem *Human Cytokine MAP A+B multiplex Immunoassay* die Spiegel diverser T-Zell-relevanter Zytokine bestimmt. Dieser Immunoassay basiert auf der *Luminex® xMAP® technology* und ist mit einem Sandwich-Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) vergleichbar. Die Sensitivität und Grenzwerte dieser beiden Methoden sind ähnlich [60]. Die „Lower Limits of Quantitation“ (LLOQ) sind die niedrigsten Konzentrationen der jeweiligen Zytokine, die zuverlässig mittels des Immunoassays bestimmt werden können (siehe Tabelle 4). Bei *Myriad Rules-Based Medicine* werden Konzentrationen einer zu analysierenden Probe als ausreichend genau bewertet, bei denen der Variationskoeffizient für Replikations-Standard-Proben bei maximal 30% liegt.

Tabelle 4: Die unteren Nachweisgrenzen (LLOQ - Lower Limitis of Quantitation) der T-Zell assoziierten Zytokine in pg/ml

Diese Grenzwerte wurden durch Myriad Rules-Based Medicine festgelegt.

Zytokin	LLOQ (pg/ml)
TNF-α	23,0
IFN-γ	1,5
IL-4	29,0
IL-6	11,0
IL-10	6,9
IL-17	4,0
IL-23	0,59

3.4.6 Durchflusszytometrie

Für die durchflusszytometrischen Analysen wurde Blut in 2 x 7,5 ml Lithium-Heparin *Monovetten*® entnommen. Jeweils 6 x 3 ml antikoaguliertes Blut wurden auf je 3 ml *Histopaque*®-1077 (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) zur Separation der mononukleären Zellen (engl. peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) von den Granulozyten aufgetragen. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur und 3000 rpm für 15 min zentrifugiert. Nach der ersten Zentrifugation wurden die PBMCs mittels einer Pipette entnommen und mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) 2 x gewaschen. Die Lösung wurde nochmals für 5 min bei 2000 rpm zentrifugiert. Die pelletierten PBMCs wurden in RPMI Zellkulturmedium mit 10% Fetal calf serum (FCS) und 10% Dimethylsulfoxid (DMSO) aufgelöst, in 2 ml Kryocups gefüllt und zügig bei -30 °C für 24 h eingefroren. Danach wurden die Zellen bis zur Messung bei -196 °C eingelagert. Beim Auftauen für die Messung wurden die Kryocups in ein 37°C warmes Wasserbad gelegt und im Anschluss 2 x gewaschen, um das DMSO zu entfernen.

Für die Analyse der TH1-, TH2- und TH17-Zellen wurden die Zellen für 5 h mit dem *Cell Stimulation Cocktail (plus protein transport inhibitors) (500X)* (eBioscience, San Diego, CA, USA) nach Vorgaben des Herstellers stimuliert. Dieser Cocktail enthält Phorbol-12-myristat 13-acetat (PMA), Ionomycin, Brefeldin A and Monensin [60]. Des Weiteren wurden die Oberflächen der Zellen mit einem farblich markierten humanen CD4⁺-Antikörper (AK) angefärbt und im Anschluss mit dem *Fixation & Permeabilization Medium A & B* (Life Technologies, Darmstadt, Deutschland) fixiert und permeabilisiert.

Danach erfolgte die intrazelluläre Anfärbung mit humanen IFN- γ - (zur Bestimmung der TH1-Zellen), IL-4- (zur Bestimmung der TH2-Zellen) und IL-17-AKs (zur Bestimmung der TH17-Zellen) (siehe Abbildung 3) [60]. Alle Antikörper stammten von der Firma Biolegend, San Diego, CA, USA.

Die Tregs wurden nach extrazellulärer Färbung der PBMCs mit humanen CD4-, CD25- und CD127-AKs und der intrazellulären Markierung von FOXP3 durchflusszytometrisch quantifiziert (siehe Abbildung 4). CD127 ist ein spezifischer Oberflächenmarker der FOXP3⁺-Tregs, der Tregs von anderen CD25⁺-Zellen differenziert [42, 44]. Die Anteile dieser T-Zell-Subpopulationen wurde als Prozentsatz der gesamten CD4⁺-T-Zellen angegeben.

Zur Quantifizierung der Tregs wurden zwei unterschiedliche Gating-Strategien verwendet. Neben der klassischen Identifizierung von CD4⁺CD25^{high} Zellen erfolgte eine spezifischere Detektion durch extra- und intrazelluläre Markierungen. Dabei wurden CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}FOXP3⁺ Zellen als Tregs identifiziert und quantifiziert. Die Spezifität der verwendeten AK wurde über eine Isotyp-Kontrolle der Firma Biolegend, San Diego, CA, USA sichergestellt. Die Verteilung der T-Zellen wurde mittels Fluorescence Activated Cell Sorting-(FACS)-Analyse mit dem *Attune*® *Acoustic Focussing Cytometer* (Life Technologies, Carlsbad, USA) bestimmt.

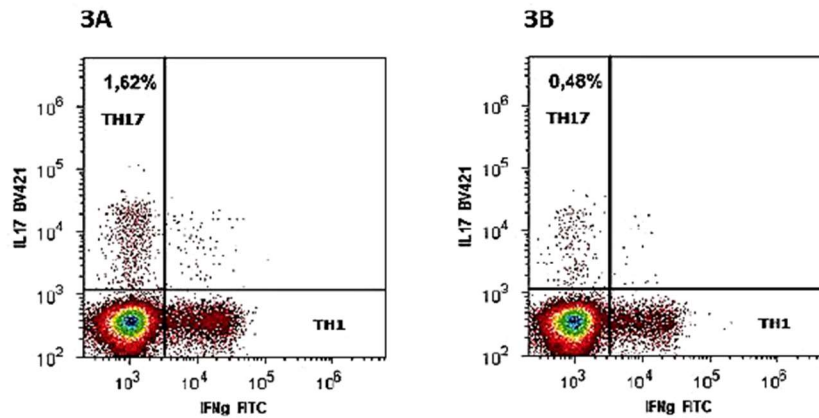


Abbildung 3: Durchflusszytometrische Gatingstrategie zur Identifikation von TH1- und TH17-Zellen

3A: Gesunder Proband (relative TH17-Zellzahl 1,62%)

3B: Patient mit chronischen nicht-spezifischen Rückenschmerzen (relative TH17-Zellzahl 0,48%)

Die Zellen wurden über 5 h mit dem Cell Stimulation Cocktail (plus protein transport inhibitors) (500X) (eBioscience, San Diego, CA, USA) nach Vorgaben des Herstellers stimuliert. Im Anschluss erfolgte die intrazelluläre Anfärbung der TH17-Zellen mit einem Brilliant Violet (BV421) markierten humanen IL-17-AK. Die TH1-Zellen wurden mit einem Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) markierten humanen IFN- γ -AK intrazellulär angefärbt [60].

3.4.7 Ribnukleinsäure-(RNA)-Isolation und Analyse der komplementären Desoxyribonukleinsäure (cDNA)

Das Blut für die RNA-Isolation wurde in einer 2,7 ml EDTA-Monovette® entnommen. Die CD4⁺-Zellen wurden aus den PBMCs mittels magnetischer Trennung gewonnen. Dafür wurden 100 µl MACS® *Whole Blood CD4 Microbeads, human* (MACS Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA) mit 2 ml Vollblut gemischt und für 15 min im Kühlschrank bei 5 °C inkubiert. Danach wurde die Lösung mit Puffer A gewaschen und für 10 min bei Raumtemperatur und 445 g zentrifugiert. Für die Trennung wurde die *MACS®-Whole Blood-LS-Column* (MACS Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA) verwendet. Vor dem Auftragen wurde das Pellet nochmals mit Puffer A gespült. Der *MACS®-Whole Blood-LS-Column* wurde auf ein neues Röhrchen gesetzt. Dann wurden 5 ml *Whole Blood Column Elution Buffer* (MACS Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA) zugegeben. Die Lösung wurde 10 min bei Raumtemperatur und 445 g zentrifugiert. Im Anschluss wurden 300 µl *mirVana Lysis/Binding Buffer* (Life Technologies, Darmstadt, Deutschland) zugegeben, das Gemisch in ein steriles 2 ml Eppendorf-Tube® überführt und bei -80°C eingefroren. Die totale RNA-Menge wurde mit dem *Ambion® mirVana™ miRNA Isolation Kit* (Life Technologies, Darmstadt, Deutschland) und *TURBO DNA-free™ Kit* (Life Technologies, Darmstadt, Deutschland) ermittelt. Die Masse und Reinheit der RNA wurde mit dem *Nanodrop®-ND1000 Spectrophotometer* (Peqlab, Erlangen, Deutschland) gemessen. Die Amplifikation der totalen RNA erfolgte mit dem *TargetAmp™ 1-Round Aminoallyl-aRNA Amplification Kit* (Epicentre Biotechnologies, Madison, WI, USA) und die Reinigung mit dem *RNeasy Mini Kit* (Qiagen, Hilden, Deutschland). Die cDNA wurde mit dem *SuperScript® III First-Strand Synthesis System* und *Random Hexamers* (Beides: *Invitrogen™*, Life Technologies, Darmstadt, Deutschland) synthetisiert.

3.4.8 Quantitative Echtzeit-Polymerase-Ketten-Reaktion (qPCR)

Die qPCR wurde nach Herstellerangaben mit dem *LightCycler 480* (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Dafür wurden *RealTime ready Custom Single Assays*, *LightCycler® 480 Probes Master* und *Universal ProbeLibrary (UPL) Set, Human* (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) verwendet. Initial wurde eine Denaturierung (95°C, 10 min) durchgeführt. Anschließend wurden 45 Zyklen (Denaturierung 95°C für 10 sec, Annealing 60°C für 30 sec, Elongation 72°C für 1 sec) durchlaufen. Die verwendeten Primersequenzen und Assays sind in Tabelle 5 aufgelistet. Die relative mRNA-Expression der Zytokine wurde mit der *LightCycler® Relative Quantification Software* (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) berechnet. Als Referenzgene dienten das TATA-Box-Bindeprotein (TBP) und die Succinat-Dehydrogenase-Komplex-Untereinheit-A (SDHA) [73].

Tabelle 5: Verwendete Primer Sequenzen und qPCR-Assays

Gen	Assay / Primer Sequenz
SDHA	Roche RealTime Ready Single Assay ID 102136
TBP	Roche RealTime Ready Single Assay ID 101145
FoxP3	Roche RealTime Ready Single Assay ID 113503
IL-4	for 5' TGCCTCACATTGTCCTGC 3' rev 5' GCACATGCTAGCAGGAAGAAC 3', UPL Probe#38
IL-6	for 5' GATGAGTACAAAAGTCCTGATCCA 3' rev 5' CTGCAGCCACTGGTTCTGT 3', UPL Probe #40
IL-10	for 5' TGCCTTCAGCAGAGTGAAGA 3' rev 5' GCAACCCAGGTAACCCTTAAA 3', UPL Probe #67
IL-17	for 5' TGGGAAGACCTCATTGGTGT 3' rev 5' GGATTTTCGTGGGATTGTGAT 3', UPL Probe #8

IL-23	for 5' CAGCTTCATGCCTCCCTACT 3' rev 5' GACTGAGGCTTGAATCTGC 3', UPL Probe #14
TGF-β	for 5' ACTACTACGCCAAGGAGGTCAC 3' rev 5' TGCTTGAAGTTGTCATAGATTTTCG3', UPL Probe #31
TNF-α	for 5' CAGCCTCTTCTCCTTCCTGAT 3' rev 5' GCCAGAGGGCTGATTAGAGA 3', UPL Probe #29
IFN-γ	for 5' GGCATTTTGAAGAATTGGAAAG 3' rev 5' TTTGGATGCTCTGGTCATCTT 3', UPL Probe #21
RORγT	for 5' CAGCGCTCCAACATCTTCT 3' rev 5' CCACATCTCCCACATGGAC 3', UPL Probe #69

3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm *SigmaStat 12.0* (Systat Software, Chicago, USA). Der Shapiro-Wilk-Test wurde zur Berechnung der Normalverteilung benutzt. Um bei den normalverteilten Parametern Unterschiede zwischen den Gruppen auszuwerten, fand der T-Test Anwendung (IL-17, IL-23, TGF-β-mRNA und CD4⁺CD25^{high}).

Der nonparametrische Wilcoxon-Mann-Whitney Test wurde bei nicht-normalverteilten Daten verwendet (IL-6, IL-10, IL-23-mRNA, IFN-γ-mRNA, FoxP3-mRNA, RORγT-mRNA, Tregs, TH17-Zellen, TH17/Treg-Ratio, TH1/TH2-Ratio). Die berechneten Werte werden in dieser Arbeit als Mittelwerte ± Standardabweichung dargestellt. P-Werte < 0,05 werden als statistisch signifikant eingestuft [60].

4 Ergebnisse

4.1 Auswertung der Befundbögen und des Kurzfragebogens zur aktuellen Beanspruchung (KAB)

Die durchschnittliche Schmerzdauer bis zum Eintritt in das MRIP betrug bei den Probanden $70,1 \pm 78,3$ Monate. Am ersten Tag des MRIP lag die durchschnittliche Schmerzintensität aller 37 Teilnehmer laut NRS bei $3,37 \pm 2,4$ in Ruhe und bei $4,18 \pm 2,5$ bei Aktivität. Die aktuelle psychische Belastungssituation wurde mit einem KAB-Wert von $3,31 \pm 0,83$ beziffert. Bei den gesunden Probanden lag der NRS-Wert zu den drei Messzeitpunkten bei 0,0 und der KAB-Wert bei durchschnittlich $1,8 (\pm 0,64)$.

4.2 Pro- und antiinflammatorische T-Zell-Subpopulationen

4.2.1. Ergebnisse der FACS-Analyse zur Quantifizierung der T-Zellen

Zur Ermittlung der relativen Anzahl der Tregs wurden spezifische Antikörperkombinationen gegen extrazelluläre Antigene ($CD4^+CD25^{high}$) und gegen extra- und intrazelluläre Antigene ($CD4^+CD25^{high}CD127^{low}FOXP3^+$) verwendet. Der Anteil dieser Subpopulationen an der Gesamtzahl der $CD4^+$ -T-Zellen wird als Prozentsatz angegeben (siehe Abbildung 4).

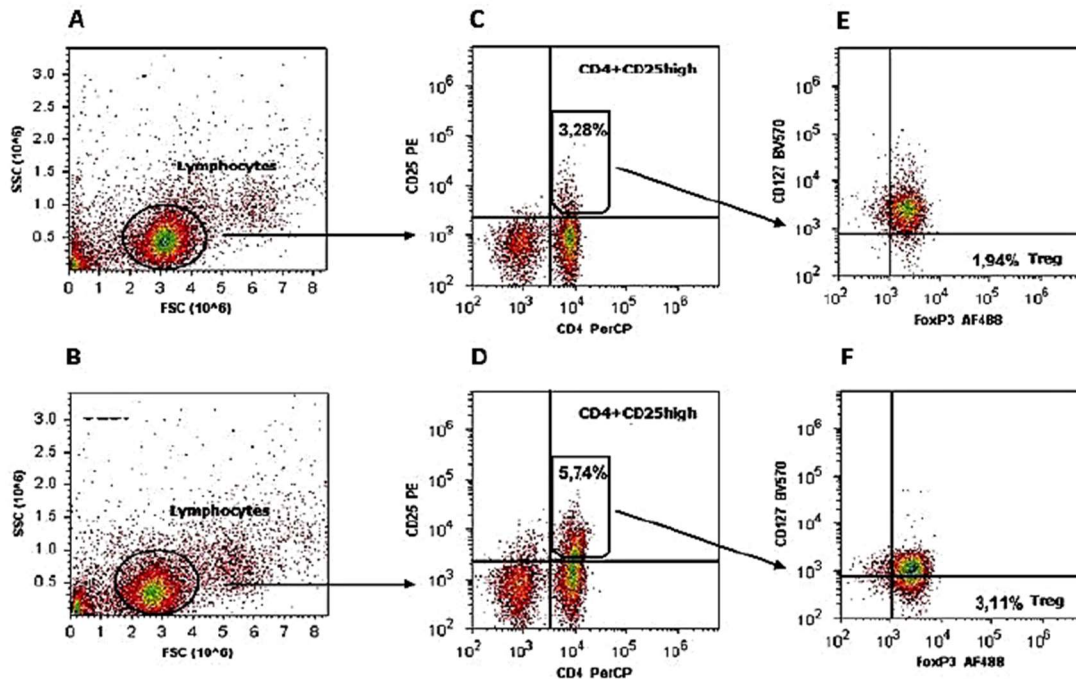


Abbildung 4: Durchflusszytometrische Gatingstrategie zur Identifikation der Tregs

Die mononukleären Zellen (PBMCs) wurden extrazellulär mittels PerCP markierten humanen CD4-AK, PE markierten CD25-AK und Brilliant Violet (BV570) markierten CD127-AK angefärbt. Intrazellulär wurden die PBMCs mit Alexa Fluor (AF488) markierten humanen FOXP3-AK markiert.

Die Lymphozytenpopulation wurde anhand der sogenannten „forward scatter characteristics – FSC“ und der „sideward scatter characteristics – SSC“ detektiert) [60].

A und B: Gesamte Lymphozytenpopulation

C und D: Die T-Lymphozyten wurden weiter als $CD4^+/CD25^{high}$ -T-Zellen identifiziert

E und F: Die T-Lymphozyten wurden als $CD4^+/CD25^{high}CD127^{low}FOXP3^+$ -T-Zellen (nTregs) identifiziert

A, C und E: Gesunde Probanden ($n = 25$) mit einem geringeren Anteil an Tregs als bei den Patienten ($n = 37$)

$CD4^+/CD25^{high}$ -T-Zellen (3,28%) und $CD4^+/CD25^{high}CD127^{low}FOXP3^+$ -T-Zellen (1,94%)

B, D und F: Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen mit einem gegenüber den Probanden erhöhten Anteil an Tregs

$CD4^+/CD25^{high}$ -T-Zellen (5,74%) und $CD4^+/CD25^{high}CD127^{low}FOXP3^+$ -T-Zellen (3,11%)

In der FACS-Analyse war die Zahl der Tregs bei den Patienten signifikant höher als bei den Probanden. Der Anteil der $CD4^+CD25^{high}$ -Zellen lag in der Patientengruppe bei $4,45 \pm 0,88\%$ und bei den Probanden bei $3,49 \pm 0,53\%$ ($p < 0,001$) (siehe Abbildung 5A).

Für die $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}FOXP3^+$ -Zellen betragen die Anteile in der Patientengruppe $2,89 \pm 1,07\%$ und in der Kontrollgruppe $1,93 \pm 0,66\%$ ($p = 0,001$) (siehe Abbildung 5B).

Dagegen war die Häufigkeit der proinflammatorischen TH17-Zellen bei den Schmerzpatienten im Vergleich zu den gesunden Probanden signifikant erniedrigt ($0,46 \pm 0,24\%$ in der Patientengruppe vs. $1,14 \pm 0,73\%$ in der Kontrollgruppe; $p < 0,001$) (siehe Abbildung 5C).

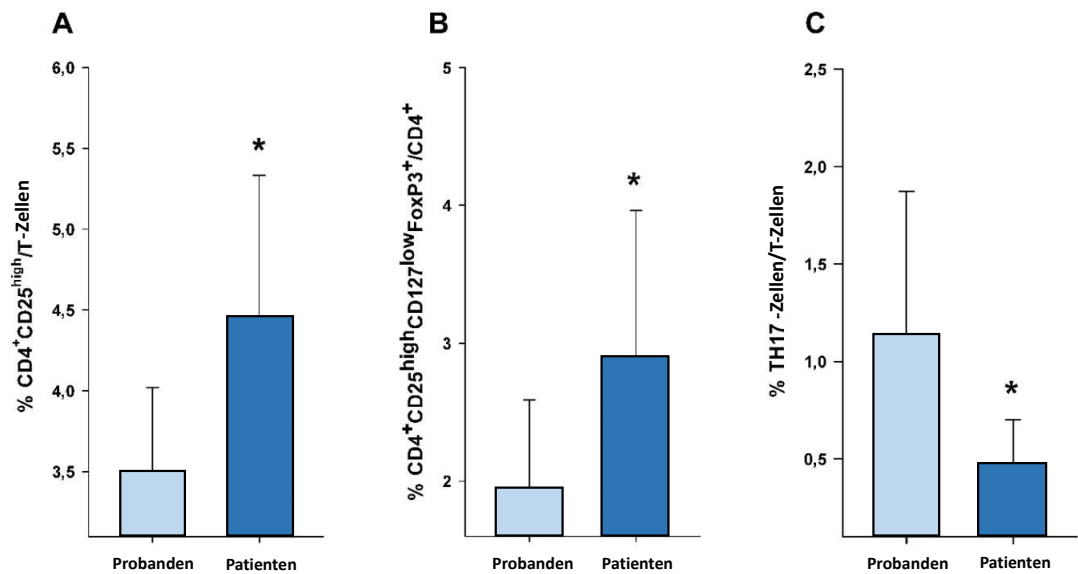


Abbildung 5: Ergebnisse der durchflusszytometrischen Quantifizierung von Tregs und TH17-Zellen in Patienten und Probanden nach statistischer Auswertung [60]

Mit beiden Antikörperkombinationen konnte ein signifikant höherer Anteil der Treg-Zellen bei Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen (n = 37) als bei den gesunden Probanden (n = 25) detektiert werden.

Des Weiteren ergaben die Daten der FACS-Analyse ein signifikant niedrigeres TH17/CD4⁺CD25^{high}-Verhältnis bei den Patienten als bei den Probanden ($0,12 \pm 0,08$ vs. $0,33 \pm 0,23$, $p < 0,001$) (siehe Abbildung 6A).

Zur genaueren Spezifizierung der Tregs wurde nochmals der Marker CD4⁺/CD25^{high}CD127^{low}FOXP3⁺ angewandt.

Das TH17/Treg-Verhältnis war in der Patientengruppe deutlich niedriger als bei den gesunden Probanden ($0,23 \pm 0,17$ vs. $0,64 \pm 0,79$, $p < 0,001$) (siehe Abbildung 6B).

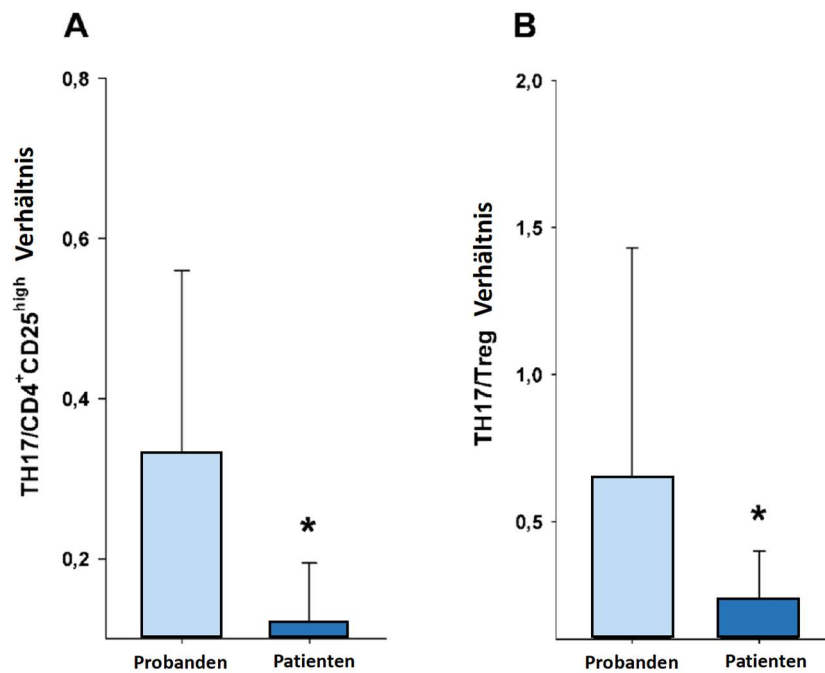


Abbildung 6: Verhältnis von TH17/CD4⁺CD25^{high}-Zellen (A) und TH17/Tregs (B) [60]

Das Verhältnis von TH17-Zellen zu Tregs war in beiden Versuchen bei den Patienten ($n = 37$) mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen im Vergleich zu den Probanden ($n = 25$) signifikant erniedrigt.

Das TH1/TH2-Verhältnis der Schmerzpatienten war im Vergleich zu den Probanden tendenziell geringer, jedoch nicht signifikant unterschiedlich ($9,76 \pm 7,27$ vs. $14,72 \pm 12,81$. $p > 0,05$) (siehe Abbildung 7).

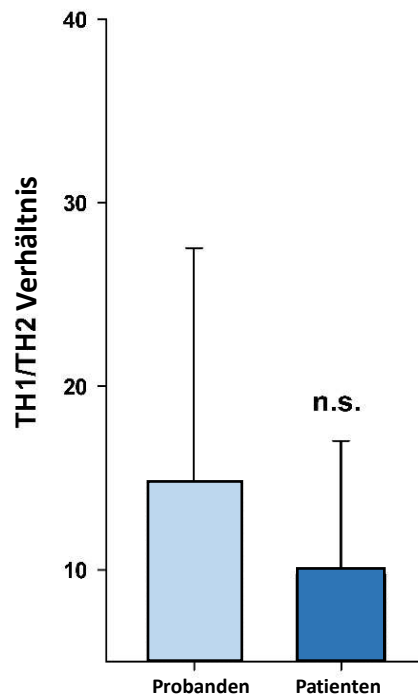


Abbildung 7: Verhältnis von TH1-/TH2-Zellen [60]

Die Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen ($n = 37$) haben im Vergleich zu den gesunden Probanden ($n = 25$) ein geringeres TH1-/TH2-Verhältnis. Der Unterschied erreicht jedoch keine statistische Signifikanz.

4.3 mRNA-Expression der T-Zell assoziierten Zytokine

Neben den Zytokinen im Serum wurde auch die mRNA-Expression verschiedener CD4⁺-T-Zell-assoziiierter Zytokine und Transkriptionsfaktoren mittels qPCR ermittelt (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: CD4⁺-T-Zell-assoziierte Zytokine und Transkriptionsfaktoren

T-Zell Subpopulationen	TH1	TH2	Treg	TH17
Zytokine	TNF- α , IFN- γ	IL-4, IL-10	TGF- β	TGF- β , IL-6, IL-17, IL-23
Transkriptionsfaktoren			FOXP3	ROR γ T

Eine mRNA-Expression von TNF- α , IL-4 und IL-10 war in den CD4⁺-Zellen von Patienten und gesunden Probanden nicht nachweisbar. Hinsichtlich des TH1-assoziierten Zytokins IFN- γ bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($4,19 \pm 3,54$ in der Patientengruppe vs. $3,60 \pm 2,20$ bei den Probanden. $p > 0,05$) (siehe Abbildung 8A).

Die mRNA des TH17-assoziierten Zytokins IL-23 war in den CD4⁺-T-Zellen der Patienten signifikant niedriger als in den CD4⁺-T-Zellen der Probanden ($4,88 \pm 2,44$ in der Patientengruppe vs. $7,73 \pm 3,77$ bei den Probanden. $p = 0,006$) (siehe Abbildung 8B).

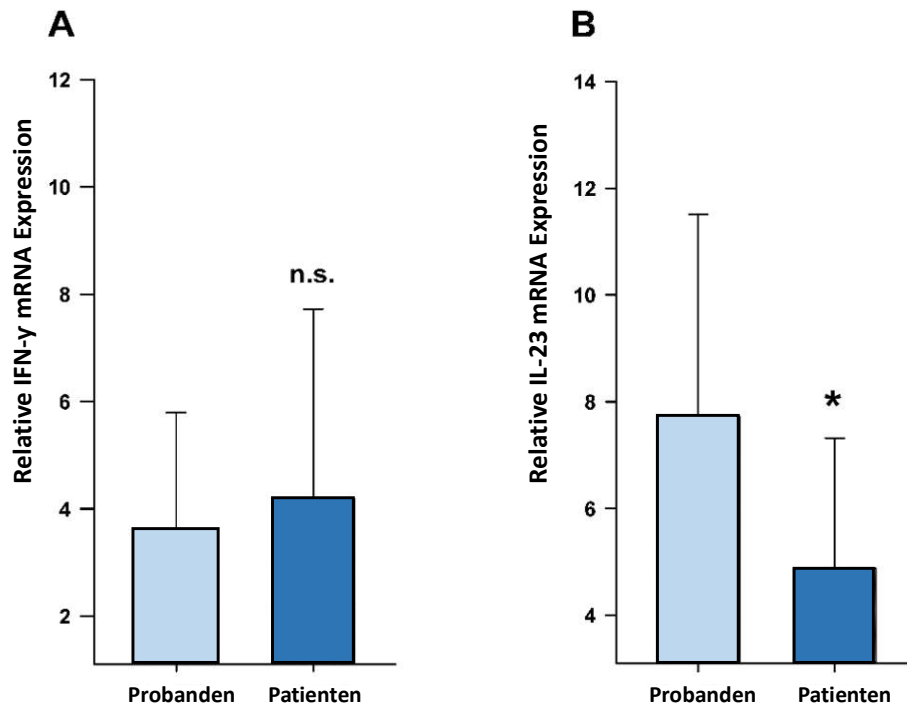


Abbildung 8: qPCR-Analyse der mRNA-Expression der T-Zell-assoziierten Zytokine IFN- γ (A) und IL-23 (B) [60]

Es bestand kein signifikanter Unterschied bei der IFN- γ -mRNA Expression beider Gruppen. Die IL-23-mRNA-Expression war bei den Patienten ($n = 37$) im Vergleich zu den Probanden ($n = 25$) signifikant niedriger.

Sowohl das Zytokin TGF- β ($0,21 \pm 0,07$ bei den Patienten vs. $0,14 \pm 0,05$ bei den Probanden. $p = 0,014$) (siehe Abbildung 9A) als auch der Treg-assoziierte Transkriptionsfaktor FOXP3 ($0,21 \pm 0,14$ bei den Patienten vs. $0,14 \pm 0,06$ bei den Probanden. $p = 0,009$) (siehe Abbildung 9B) waren in der Patientengruppe signifikant erhöht.

Entsprechend den Ergebnissen der Quantifizierung der T-Zell Subpopulationen mittels FACS Analyse, deutet die höhere Präsenz von FOXP3 und TGF- β auf ein vermehrtes Vorkommen von Tregs bei den Patienten hin.

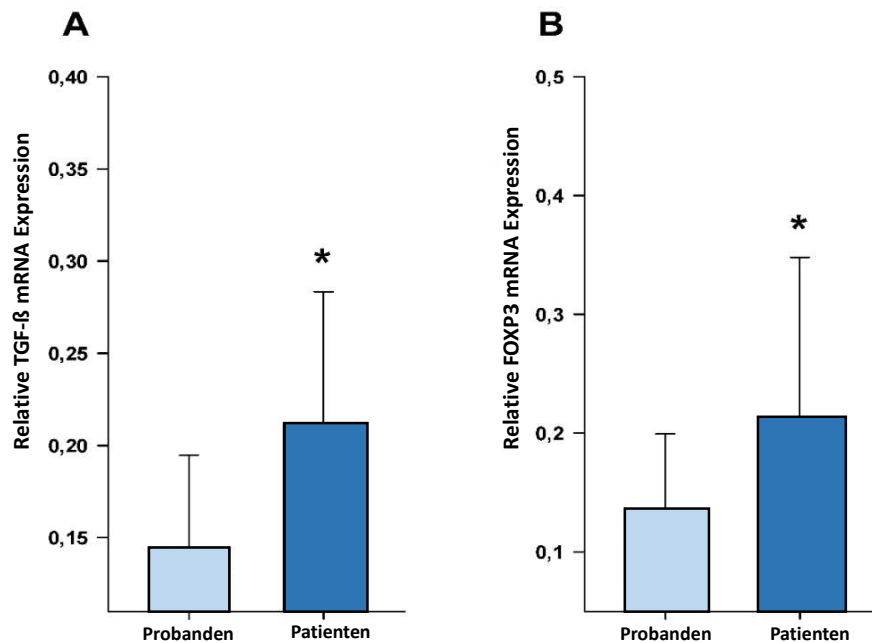


Abbildung 9: qPCR-Analyse der mRNA-Expression des Treg assoziierten Zytokins TGF- β (A) und des Treg assoziierten Transkriptionsfaktors FOXP3 (B) [60]

Die mRNA-Expression des Zytokins und des Transkriptionsfaktors war bei den Patienten ($n = 37$) im Vergleich zu den Probanden ($n = 25$) signifikant erhöht.

Der TH17-assoziierte Transkriptionsfaktor ROR γ T war in beiden Gruppen nachweisbar, jedoch zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($0,028 \pm 0,02$ in der Patientengruppe vs. $0,025 \pm 0,01$ bei den Probanden. $p > 0,05$) (siehe Abbildung 10).

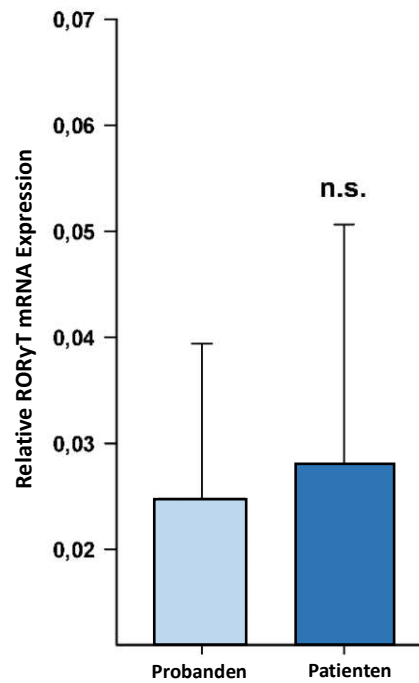


Abbildung 10: qPCR-Analyse der mRNA-Expression des TH17-assoziierten Transkriptionsfaktors ROR γ T [60]

Die ROR γ T-mRNA-Expression war bei den Patienten ($n = 37$) leicht erhöht im Vergleich zu den Probanden ($n = 25$), jedoch ohne Signifikanz.

4.4 Sekretion T-Zell-assoziiierter Zytokine

TNF- α , IFN- γ und IL-4 waren weder bei den Patienten, noch bei den Probanden nachweisbar.

Die Zytokine IL-6, IL-10 und IL-17 wurden in beiden Gruppen detektiert, allerdings bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Serumspiegeln (siehe Abbildung 11).

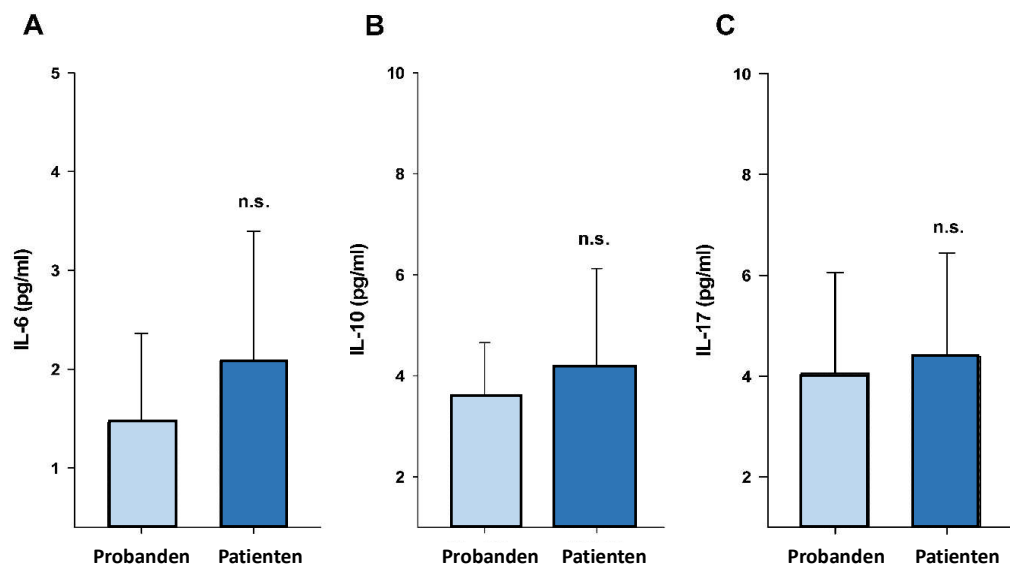


Abbildung 11: Analyse der Serumspiegel von IL-6, IL-10 und IL-17 in gesunden Probanden und in Patienten [60]

Die Ergebnisse deuten auf einen höheren Spiegel der Zytokine IL-6, IL-10 und IL-17 (in pg/ml) im Serum der Patienten ($n = 37$) hin. Der Unterschied ist aber nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$).

Das proinflammatorische IL-23 war das einzige Zytokin, das zum Messzeitpunkt T₀ in der Patientengruppe signifikant erhöht war ($1,21 \pm 0,43$ pg/ml bei den Patienten vs.

0,94 ± 0,29 pg/ml bei den Probanden. p = 0,009) (siehe Abbildung 12).

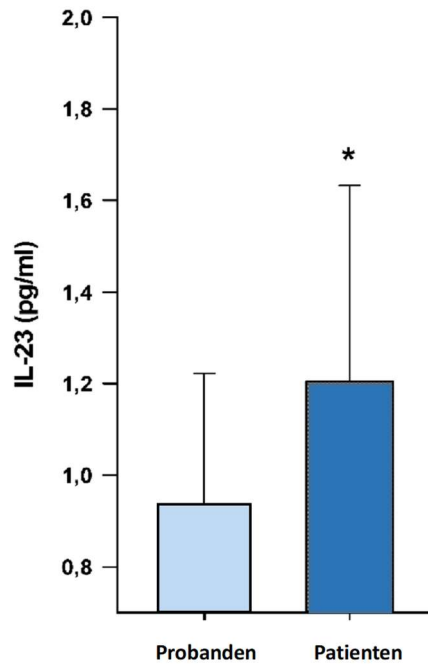


Abbildung 12: Analyse der Serumspiegel von IL-23 bei Patienten und Probanden zum Zeitpunkt T₀ [60]

Das proinflammatorische und TH17-assoziierte IL-23 war in der Patientengruppe (n = 37) im Vergleich zu den Probanden (n = 25) signifikant erhöht.

4.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Tabelle 7 zeigt zusammenfassend die Ergebnisse der durchflusszytometrischen Quantifizierung der T-Zellen mittels FACS-Analyse, der qPCR zur Bestimmung der mRNA Expression und des Human Cytokine MAP A+B multiplex Immunoassays.

Tabelle 7: Übersicht der Ergebnisse der FACS-Analyse, der qPCR und des Human Cytokine MAP A+B multiplex Immunoassays

Nicht nachweisbare mRNA-Expression: IL-6, IL-17.

Nicht nachweisbare Zytokine im Serum (LLOQ): TNF- α , IFN- γ , IL-4.

Parameter	Probanden	Patienten	Signifikanz
Tregs (CD4⁺CD25^{high}) / T-Zellen	3,49 \pm 0,53	4,45 \pm 0,88	p < 0,001
Tregs (CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}FOXP3⁺) / T-Zellen gesamt	1,93 \pm 0,66	2,89 \pm 1,07	p = 0,001
TH17 / Tregs	1,14 \pm 0,73	0,46 \pm 0,24	p < 0,001
TH17 / Tregs (CD4⁺CD25^{high})	0,33 \pm 0,23	0,12 \pm 0,08	p < 0,001
Th17 / Tregs (CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}FOXP3⁺)	0,64 \pm 0,79	0,23 \pm 0,17	p < 0,001
TH1 / TH2	14,72 \pm 12,81	9,76 \pm 7,27	n.s.
TGF-β (mRNA)	0,14 \pm 0,05	0,21 \pm 0,07	p = 0,014
FOXP3 (mRNA)	0,14 \pm 0,06	0,21 \pm 0,14	p = 0,009
IFN-γ (mRNA)	3,60 \pm 2,20	4,19 \pm 3,54	n.s.
IL-23 (mRNA)	7,73 \pm 3,77	4,88 \pm 2,44	p > 0,001
RORγT (mRNA)	0,025 \pm 0,01	0,028 \pm 0,02	n.s.
IL-23 (Serum) (pg/ml)	0,94 \pm 0,29	1,21 \pm 0,43	p > 0,001

4.6. Einfluss des multimodalen Therapieprogramms auf die Parameter der Patienten

4.6.1 Veränderung der NRS- und KAB-Werte nach Teilnahme am MRIP

Anhand der Reduktion der NRS- und KAB-Werte im Vergleich zum Ausgangswert wurden die Patienten im Anschluss an das MRIP als Therapie-Responder ($> 50\%$) oder Non-Responder charakterisiert (siehe Abbildung 13).

13 von 37 Patienten (35%) erlebten durch das vierwöchige MRIP eine signifikante Schmerzreduktion von $\geq 50\%$. Wenn diese positiven Effekte über 6 Monate persistierten, wurden diese Patienten auch beim Follow-Up (Zeitpunkt T_2) als Therapie-Responder gewertet.

	<i>T₀ vs. T₁</i>	<i>T₀ vs. T₂</i>
<i>NRS-Wert in Ruhe</i>	<i>p = 0,025</i>	<i>p = 0,003</i>
<i>NRS-Wert bei Aktivität</i>	<i>p = 0,046</i>	<i>p = 0,012</i>
<i>KAB-Wert</i>	<i>p = 0,024</i>	<i>p = 0,019</i>

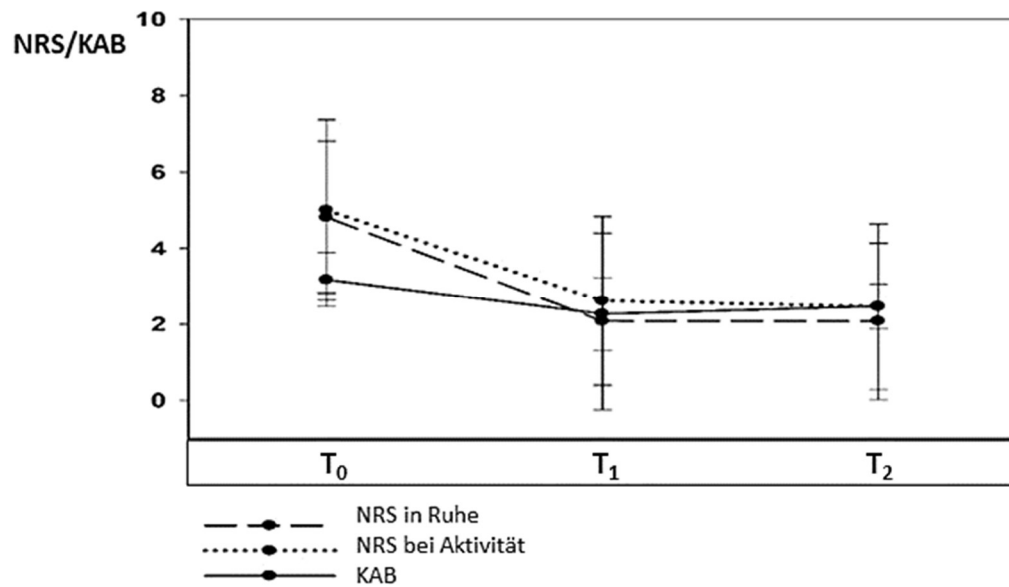


Abbildung 13: Entwicklung der NRS- und KAB-Werte bei den Therapie-Respondern

35% der Patienten ($n=13$) profitierten von der Teilnahme am MRIP hinsichtlich einer signifikanten Reduktion des NRS- und KAB-Wertes [60].

Zeitpunkte:

T₀: direkt vor Beginn des MRIP

T₁: direkt nach dem MRIP (4 Wochen)

T₂: nach 6 Monaten im Follow-Up

4.6.2 Betrachtung der T-Zell-Subpopulationen vor und nach Therapie

Trotz signifikanter und anhaltender Schmerz- und Stressreduktion (NRS, KAB) durch das vierwöchige MRIP zeigte sich bei Betrachtung der drei Messzeitpunkte (T₀, T₁, T₂) in der Gruppe der Responder keine quantitative Veränderung der T-Zell-Subpopulationen im Verlauf (siehe Abbildung 14).

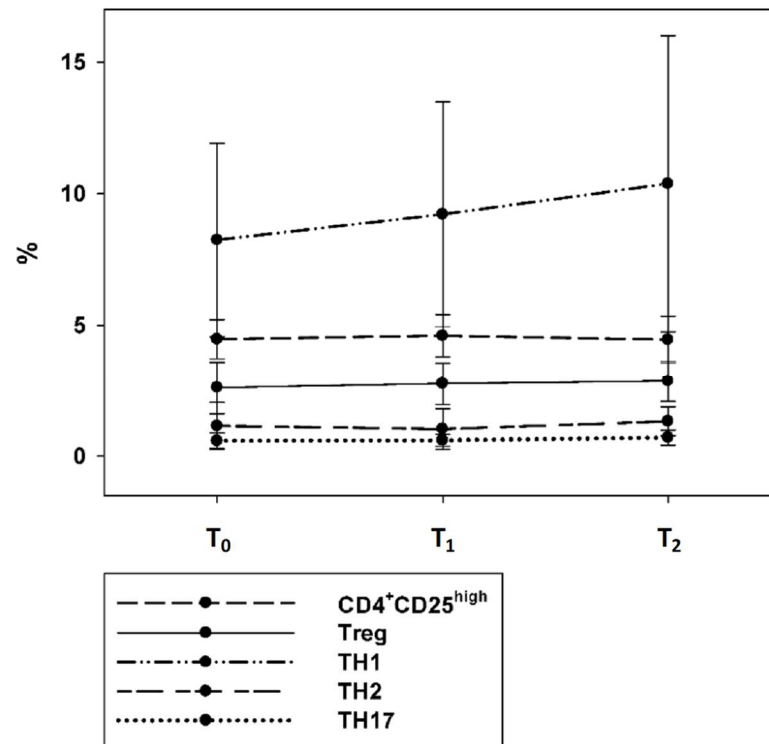


Abbildung 14: Entwicklung der T-Zell-Subpopulationen vor und nach MRIP sowie im Follow-up [60]

35% aller Patienten ($n=13$) profitierten von der Teilnahme am vierwöchigen MRIP in Bezug auf eine Reduktion der Schmerzen und einer subjektiven Besserung der Lebensqualität (siehe Ergebnisse der NRS- und KAB-Werte, Abb. 13). Diese Teilnehmer wurden als Therapie-Responder definiert. Dennoch zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen zu den drei Messzeitpunkten.

Zeitpunkte:

T₀ - direkt vor Beginn des MRIP

T₁ - direkt nach dem MRIP (4 Wochen)

T₂ - nach 6 Monaten im Follow-Up

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Ergebnisse

In vorliegender Studie wurde die Veränderung der Balance zwischen den Treg Zellen und den TH17-Zellen bei Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen im Vergleich zu gesunden Probanden untersucht. Zudem wurde der Einfluss des Münchner Rücken Intensiv Programm (MRIP) auf die Schmerzpatienten evaluiert.

Die 37 Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen hatten bis zum Eintritt in das MRIP über einen längeren Zeitraum Schmerzen von bedeutender Intensität in Ruhe und bei Aktivität, sowie psychische Belastungszeichen. Die 25 gesunden Probanden hatten keinerlei Schmerzen und anhand der KAB-Werte keine psychischen Belastungszeichen, so dass in dieser Gruppe keinerlei Intervention erfolgte.

Anhand der Ein- und Ausschlusskriterien wurden die Patienten in das multimodale Therapieprogramm eingeschlossen (siehe Material und Methoden). Bei 35% der Patienten kam es durch die Therapie zu einer signifikanten Reduktion des NRS- und KAB-Wertes um mindestens 50%, was gleichzusetzen ist mit weniger Schmerzen und einem positiven Effekt auf die aktuelle psychische Belastungssituation. Diese Patienten wurden als Therapie-Responder definiert. Bei ihnen persistierten die positiven Veränderungen auch 6 Monate nach Teilnahme am MRIP.

Während die Anzahl der proinflammatorischen TH-17 Zellen bei den Schmerzpatienten im Vergleich zu den Probanden deutlich niedriger war, war die Anzahl der antiinflammatorischen Tregs signifikant höher. Dieser antiinflammatorische T-Zell Shift blieb sowohl im direkten Anschluss an das MRIP als auch 6 Monate danach bestehen. Obwohl die Patientengruppe der Responder von der Teilnahme an dem multimodalen Therapieprogramm im Hinblick auf das

Schmerzerleben und die psychische Situation deutlich profitierte, zeigten sich keine quantitativen Veränderungen der T-Zell Subpopulationen im Verlauf. In keiner Gruppe konnte eine signifikante Veränderung der TH1/TH2-Ratio detektiert werden. Die TH17/Treg-Balance der Patienten war dagegen signifikant kleiner im Vergleich zu den gesunden Probanden.

Die mRNA Expression der TH1- und TH2-assoziierten Zytokine TNF- α , IL-4 und IL-10 waren in den CD4⁺-Zellen beider Gruppen nicht nachweisbar, so dass eine relevante Abweichung der TH1/TH2-Balance unwahrscheinlich war. Allenfalls das TH1-assoziierte IFN- γ war in der Gruppe der Patienten im Vergleich zu den Probanden leicht erhöht. Die IL-23-mRNA-Expression war bei den Patienten signifikant niedriger.

Die erhöhte FOXP3- und TGF β -mRNA Expression bei Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen untermauern die Ergebnisse der FACS-Analyse und deuten so auch auf eine erhöhte Präsenz der Tregs hin. Der intrazelluläre Transkriptionsfaktor FOXP3 trägt zur Entwicklung, Stabilisierung und Differenzierung der Tregs bei [33]. TGF β induziert die Produktion von FOXP3, das wiederum die Expression des TH17-assoziierten Transkriptionsfaktors ROR γ T inhibiert [34]. Die ROR γ T-mRNA-Expression war zwar bei den Patienten und Probanden nachweisbar, jedoch ohne einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Eine mRNA Expression der TH17-assoziierten Zytokine IL-6 und IL-17 war mittels qPCR in beiden Gruppen nicht nachweisbar. Eine mögliche Erklärung für dieses Resultat ist, dass der Anteil der TH17-Zellen an der Gesamtzahl der CD4⁺-Zellen bei der FACS-Analyse nur ca. 2% beträgt, während der Anteil der Tregs mit 5–10% deutlich höher ist [54].

Aufgrund des postulierten Zusammenhangs zwischen Zytokinen als zentrale

inflammatorische Mediatoren des T-Zell Systems und der Pathogenese von chronischen Rückenschmerzen [32, 56], wurden in der vorliegenden Studie neben den T-Zellen auch sieben T-Zell assoziierte Zytokine (TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 und IL-23) im Serum der Patienten und der Probanden analysiert. Die TNF- α -, IFN- γ - und IL-4-Konzentration lagen in beiden Gruppen unterhalb der Nachweisgrenze. IL-6, IL-10 und IL-17 waren in geringfügigen Konzentrationen detektierbar, jedoch ohne Signifikanz. Das proinflammatorische IL-23 war als einziges Zytokin im Serum der Patienten signifikant höher als bei den Probanden.

5.2 TH17/Treg Dysbalance bei Schmerzpatienten

Das Modell der TH17/Treg-Balance ergänzt die bereits seit langem existierende Theorie zur pathologischen Bedeutung einer gestörten TH1/TH2-Balance im Rahmen der Immunregulation [34, 35].

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse dieser Studie auf eine gesteigerte antiinflammatorische Immunantwort bei Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen schließen, während die Inflammation scheinbar eine eher untergeordnete Rolle spielt. Ein vergleichbarer antiinflammatorischer Shift konnte bei Depressionen, chronischem Stress oder chronischen Erschöpfungszuständen nachgewiesen werden [60, 90-94].

Chronische Schmerzpatienten leiden häufig unter Komorbiditäten wie Depressionen, Schlafstörungen, Stress oder Angststörungen [16, 32, 88, 89]. Chrousos et al. beschrieben 2000 einen signifikanten TH2-Shift zugunsten der antiinflammatorischen Immunreaktion bei gestressten Individuen, der auf einen potentiellen Zusammenhang zwischen Stress, chronischen Schmerzen und der TH1/TH2-Balance hinweist [95]. Andere Studien fanden hingegen einen gegenläufigen Effekt mit einer positiven Korrelation zwischen Stress und der Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine

[32].

Bei Erkrankungen mit hoher Stressbelastung, wie dem Burn-out Syndrom, Fibromyalgiesyndrom, chronischem Erschöpfungssyndrom und chronischen Rückenschmerzen, wird eine Assoziation zwischen Hypokortisolismus, Stress und einer erhöhten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine vermutet [32, 96, 97]. Die Wechselwirkungen zwischen Stress und Schmerz sind jedoch bislang nur unzureichend verstanden.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse muss diskutiert werden, ob die TH17/Treg-Dysbalance bereits vor der Schmerzentstehung und Chronifizierung bestand und die Entwicklung eines chronischen Schmerzsyndroms begünstigt hat [60]. Weitere Studien unserer Arbeitsgruppe deuten darauf hin, dass es auch bei Patienten mit neuropathischen Schmerzen zu einer TH17/Treg-Dysbalance zugunsten der Tregs kommt. Da sich diese beiden Schmerzformen in der Pathogenese deutlich unterscheiden und die Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen in dieser Studie keine neuropathischen Schmerzen hatten, ist eine Assoziation der Dysbalance mit Stress und psychologischen Faktoren denkbar [98]. Obwohl sich bei 35% der Schmerzpatienten durch die multimodale Therapie eine signifikante Schmerz- und Stressreduktion einstellte, blieb die TH17/Treg-Dysbalance auch 6 Monate nach Ende des MRIP im Follow-up bestehen [74].

Denkbar wäre auch die Manifestation einer Stressreaktion im Rahmen des bereits bestehenden Schmerzerlebnisses. Erklärungsmöglichkeiten für diese widersprüchlichen Resultate sind zum einen der Einfluss unterschiedlicher Stressoren auf verschiedene immunologische Prozesse und zum anderen das Zusammenspiel neurochemischer Botenstoffe, die je nach Zielorgan pro- oder antiinflammatorische Reaktionen auslösen [95]. Auch unter Betrachtung möglicher Confounder konnte in der vorliegenden Studie keine Korrelation zwischen der Höhe der pro- und antiinflammatorischen Marker, dem BMI, dem Alter und der Schmerzintensität

identifiziert werden.

Neuere Studien deuten auf eine ausgeprägte Plastizität der T-Zellen hin. Sowohl anti- als auch proinflammatorische Zytokine können unter bestimmten Bedingungen gegensätzliche Wirkungen entfalten [33, 35]. So können beispielsweise proinflammatorische Zytokine wie IFN- γ oder IL-17 im geeigneten Kontext auch entzündungshemmend wirken. Die genauen Mechanismen dieser multiplen Funktionen sind bisher noch nicht abschließend geklärt. Vermutet wird eine Beeinflussung durch lokale Faktoren wie die vorherrschende Zytokinkonzentration und die Anwesenheit weiterer Mediatoren am Zielorgan.

Das proinflammatorische IFN- γ wird bislang vor allem mit Autoimmunerkrankungen wie Diabetes mellitus Typ 1, Multipler Sklerose und Rheumatoider Arthritis in Verbindung gebracht, indem es die Ausschüttung von Chemokinen und Makrophagen fördern soll [33]. Daneben ist es auf zentraler Ebene an der Schmerzsensibilisierung beteiligt [87]. Erhöhte IFN- γ -Konzentrationen konnten auch bei Patienten mit verschiedenen chronischen Schmerzsyndromen nachgewiesen werden [56].

Das primär von TH17-Zellen ausgeschüttete proinflammatorische Zytokin IL-17 spielt eine Rolle in der Pathogenese diverser Autoimmunerkrankungen wie Systemischem Lupus Erythematoses und Rheumatoider Arthritis. Zhang et al. beschreiben eine positive Korrelation zwischen dem Schmerzempfinden (gemessen anhand einer Visuellen Analogskala (VAS)) und der TH17-Zahl bzw. der IL-17-Konzentration bei Patienten mit Bandscheibendegeneration prä- und postoperativ [64]. Die IL-17-Expression wird durch Zytokine wie IFN- γ , Chemokine und andere Entzündungsmediatoren moduliert. Dieser Marker eignet sich daher nicht als spezifischer Parameter zur Charakterisierung der Immunkompetenz eines Individuums [34]. Neuere Studien deuten auch auf antiinflammatorische Effekte von IL-17 durch eine Steigerung der IL-10-Produktion hin [33]. Unter bestimmten Voraussetzungen besitzen sowohl IL-17 als auch TH17-Zellen antiinflammatorische Eigenschaften.

Eine IL-17-Ausschüttung durch FOXP3-positive Tregs wurde ebenfalls beschrieben [34].

Die proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-17 waren im Serum der Patienten im Vergleich zu den Probanden nur leicht erhöht. Die klinische Relevanz dieser nicht-signifikanten Erhöhungen ist dabei fraglich, da IL-6 auch bei Übergewicht, Infektionen oder Bewegungsmangel erhöht sein kann. IL-6 ist ein wichtiger Signalträger bei der Pathogenese von Erkrankungen des Zentralnervensystems (z.B. Morbus Parkinson, Chorea Huntington) und bei Autoimmunerkrankungen (z.B. Rheumatoider Arthritis und Morbus Crohn) [82-84]. Mendieta et al. beschreiben eine signifikante Korrelation der Serummarker IL-6 und IL-8 mit der Schmerzintensität bei Patienten mit Fibromyalgiesyndrom [85]. Queiroz et al. fanden einen Zusammenhang zwischen der Schmerzqualität und der IL-6-Konzentration im Serum von Patientinnen > 65 Jahre mit Rückenschmerzen [86].

Lediglich das proinflammatorische IL-23 war im Serum der Schmerzpatienten signifikant erhöht. IL-23 wird primär von aktivierten Makrophagen und dendritischen Zellen sezerniert und führt zu einer vermehrten Rekrutierung von TH17-Zellen. Als stabilisierender und wachstumsfördernder Faktor für TH17-Zellen spielt es eine Rolle in der Pathogenese chronisch entzündlicher Erkrankungen wie der Rheumatoiden Arthritis [34].

5.3 Kritische Bewertung der Methodik und mögliche Fehlerquellen

Das Schmerzempfinden jedes Patienten beruht auf der eigenen Wahrnehmung, der subjektiven Empfindung und der Schmerzerfahrung, wodurch von einer großen Variabilität der NRS-Werte ausgegangen werden sollte. Dennoch ist die NRS-Skala ein valides Instrument zur Abbildung des Schmerzerlebens [75-77]. Patienten mit chronischen Rückenschmerzen scheinen insgesamt die Schmerzintensität und Veränderung der Schmerzen gut einschätzen zu können, während die affektive und psychologische Komponente eher überschätzt wird [78]. Bei der Interpretation der

NRS-Daten muss aber berücksichtigt werden, dass in die Bewertung des Schmerzerlebens auch psychische und emotionale Faktoren, sowie der Grad der Einschränkung im Alltag mit einfließen [79]. Ebenso ist nicht auszuschließen, dass die vermehrte Zuneigung, die die Patienten im Rahmen der Therapie erfahren, modulierend auf das Schmerzerleben wirkt. Dieser Faktor muss daher bei der Nennung des Schmerzniveaus durch die Patienten berücksichtigt werden, wenngleich er nicht eliminiert werden kann.

Die Zahl der Treg-, TH1-, TH2- und TH17-Zellen wurde mittels standardisierter Anfärbeprotokolle im Rahmen der FACS-Analyse ermittelt. Zur Detektion der anti-inflammatorischen Tregs wurden Antikörper-Kombinationen gegen extrazelluläre ($CD4^+CD25^{high}$ -AK) sowie extra- und intrazelluläre ($CD4^+CD25^{high}CD127^{low}FOXP3^+$ -AK) Antigene verwendet. Die Identifikation der ausgewählten T-Zellen basierte in dieser Arbeit auf der Quantifizierung der Zellen mittels FACS-Analyse und der Bestimmung der relativen mRNA-Expression durch qPCR. Diese Methode gilt für die Bestimmung von Tregs und TH17-Zellen als zuverlässig, vorausgesetzt die Größe der Materialprobe ist ausreichend [42] [100].

Grant et al. führen konträre durchflusszytometrische Ergebnisse bei den Treg-Populationen auf eine uneinheitliche Versuchsdurchführung, unterschiedliche Anfärbeprotokolle und individuelle Gatingstrategien zurück. Für eine bessere Erfassung der Tregs wurden daher in der vorliegenden Studie mehrere Protokolle eingesetzt. Aufgrund der vielfältigen Möglichkeiten die Tregs zu erfassen, können sich die absoluten Zahlen in den unterschiedlichen Studien unterscheiden [42].

Weiter können auch Mutationen im Transkriptionsfaktor FOXP3 den Phänotyp der Tregs beeinflussen. Bisher ist noch nicht ausreichend geklärt, inwieweit die Treg-Zahlen durch lokale oder systemische Faktoren geprägt werden [42]. Anfärbeprotokolle, die Marker wie CD161 oder Chemokinrezeptoren (CCR) einschließen, könnten die Analysen optimieren und Rückschlüsse auf die

Eigenschaften der Tregs zulassen [60].

Die mRNA-Expression der Zytokine in den CD4⁺-Kompartimenten der T-Zellen können mittels qPCR ermittelt werden. Trotz der erhöhten Präsenz von IL-23 im Serum ergab die qPCR eine niedrigere IL-23-mRNA-Expression bei den Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden. Diese Diskrepanz beruht möglicherweise darauf, dass posttranskriptionelle Regulationsprozesse die IL-23-Proteinkonzentration modulieren [80, 81].

Aufgrund zahlreicher externer Einflüsse eignet sich die Bestimmung von Zytokinen im Serum nur eingeschränkt zur Beurteilung der Immunfunktion. Studien deuten darauf hin, dass die Zytokinspiegel in der peripheren Zirkulation deutlichen Schwankungen unterliegen [51]. Fraglich ist somit, inwiefern im Rahmen eines lokalen Schmerzgeschehens zirkulierende Zytokine und die assoziierten T-Zellen ihre Wirkung systemisch entfalten [42]. Das komplexe Zusammenspiel von Makrophagen, Monozyten, Fibroblasten sowie endothelialen/epithelialen und dendritischen Zellen beeinflusst die Serumspiegel verschiedener Zytokine. Trotz der zur Verfügung stehenden Vielfalt an Methoden und Techniken, können nicht alle Zytokine mit den gleichen Assays detektiert werden. Generell scheint eine Quantifizierung von Zytokinen auch eher für Longitudinalstudien geeignet zu sein, bei denen relative Unterschiede gemessen werden und aussagekräftiger sind als absolute Werte [60, 99].

5.4 Ausblick

In der Annahme einer Dysbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen im Rahmen des chronischen Schmerzsyndroms zugunsten der proinflammatorischen Zytokine, wurde in einigen Studien die Möglichkeit einer gezielten therapeutischen Modulation der Zytokinbalance thematisiert [32, 50-52, 56]. Dabei steht die Blockierung der Inflammation zugunsten der antiinflammatorischen Zytokine im Vordergrund [32, 50].

Durch die Ergebnisse dieser Arbeit könnten sich bei Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen in Zukunft neue therapeutische Optionen ergeben. Eine Zytokin-modulierende Therapie wie die anti-TNF α - und anti-IL-6-Therapie bei Morbus Crohn oder Rheumatoider Arthritis ist inzwischen ein fester Bestandteil verschiedener Therapieschemata. In Zukunft könnten auch T-Zellen als Zielzellen für Medikamente dienen oder als Biomarker verwendet werden. Da es bei chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen offenbar zu einem Shift der TH17/Treg-Balance zugunsten antiinflammatorischer Reaktionen kommt, ist eine Veränderung zugunsten proinflammatorischer Effekte nicht erstrebenswert. Dennoch scheint das Immunsystem aufgrund der beschriebenen Veränderungen eine bedeutende Rolle in der Pathogenese chronischer, nicht-spezifischer Rückenschmerzen zu spielen.

Die TH17/Treg-Balance kann über unterschiedliche Mechanismen beeinflusst werden. Dazu zählen sowohl die Hemmung und die Stimulation der Zytokinausschüttung, als auch eine Modulation der assoziierten Rezeptoren [48]. Erste Erfolge mit solchen Ansätzen zur Unterdrückung proinflammatorischer Reaktionen konnten bereits bei der Rheumatoiden Arthritis erzielt werden [34]. Laut Kenefick et al. können folliculäre TH-Zellen (T_{fh}) auch als Zielzellen für die Therapie des Typ 1 Diabetes dienen [101]. Austin et al. fanden nach einer Injektion eines CD28-Superantagonisten eine signifikante Zunahme der Tregs mit einer Reduktion der Schmerzsensitivität nach peripherer Nervenschädigung [54].

Zusammenfassend implizieren die Ergebnisse dieser Studie einen Zusammenhang zwischen der Pathogenese chronischer, nicht-spezifischer Rückenschmerzen und einer gestörten TH17/Treg-Balance. Diese Erkenntnisse könnten in Zukunft als Grundlage für weiterführende Studien dienen um die Entwicklung spezifischerer therapeutischer Ansätze zu fördern.

6 Zusammenfassung

Chronische, nicht-spezifische Rückenschmerzen stellen heutzutage ein zunehmendes gesundheitliches Problem in unserer Gesellschaft dar. Bei 85% der Betroffenen ist die multifaktorielle Pathogenese der Rückenschmerzen unbekannt und in nur ca. 15% auf pathologische Ursachen wie Traumata, Degeneration oder Entzündungen zurückzuführen. Patienten aller Altersgruppen sind von dieser Schmerzproblematik im Bereich der Lendenwirbelsäule betroffen. Zu den Risikofaktoren, die eine Chronifizierung der Rückenschmerzen begünstigen, zählen neben beruflichen Faktoren vor allem auch psychosoziale Risikofaktoren wie Depressivität, Distress und maladaptive schmerzbezogene Kognitionen.

In mehreren Studien konnte ein Zusammenhang zwischen chronischen Schmerzsyndromen und einer gestörten Balance pro- und antiinflammatorischer Zytokine beschrieben werden. Die Ergebnisse der meisten Forschungsarbeiten zeigten eine hohe Präsenz proinflammatorischer Zytokine bei gleichzeitiger Reduktion antiinflammatorischer Zytokine. Bisher gibt es jedoch kaum Daten im Hinblick auf Veränderungen der T-Zell Immunologie.

In der vorliegenden Arbeit wurden diverse T-Zell Subpopulationen, Expressionsmuster der Zytokin mRNA-Expression und T-Zell relevante Zytokinspiegel bei Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen im Vergleich zu gesunden, schmerzfreien Probanden analysiert. Zudem wurde die Auswirkung der Teilnahme an einem 4-wöchigen multimodalen Therapieprogramm auf diese Parameter untersucht. Das Ziel dieser Studie war, die Pathogenese der chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen besser zu verstehen um mögliche Risikofaktoren rechtzeitig zu identifizieren und in Zukunft in Präventionsprogramme und therapeutische Ansätze zu integrieren.

Die genannten Parameter wurden bei 37 Patienten, die am interdisziplinären, multimodalen Therapieprogramm „Münchner Rücken Intensiv Programm“ (MRIP) teilnahmen, zu 3 Messzeitpunkten (direkt vor und nach dem MRIP, sowie 6 Monate später) analysiert und mit 25 gesunden, schmerzfreien Probanden verglichen. Anhand der Reduktion von Schmerz- und Stressintensität um $\geq 50\%$ im Vergleich zum Ausgangswert wurden die Patienten im Anschluss an das MRIP als Therapie-Responder oder Non-Responder charakterisiert.

Zur Erfassung und Quantifizierung der Tregs, TH17-, TH1- und TH2-Zellen diente die Durchflusszytometrie. Die mRNA Expression der Zytokine und spezifischer Transkriptionsfaktoren wurde mit Real-Time PCR analysiert und die Zytokine im Serum mittels Luminex® xMAP® Technology erfasst.

Zusammenfassend zeigte sich bei den Patienten mit chronischen, nicht-spezifischen Rückenschmerzen im Vergleich zu den gesunden Probanden eine deutliche TH17/Treg-Dysbalance bei einer signifikant erhöhten Anzahl antiinflammatorischer Tregs und weniger proinflammatorischen TH17-Zellen. In Korrelation dazu waren auch der Treg-assoziierte Transkriptionsfaktor FOXP3 und die TGF β -mRNA Expression erhöht. Trotz signifikanter und anhaltender Schmerz- und Stressreduktion durch die multimodale Schmerztherapie persistierten die Veränderungen auf T-Zell Niveau auch noch 6 Monate nach Therapieende.

Die Ergebnisse dieser Studie implizieren einen Zusammenhang zwischen der Pathogenese chronischer, nicht-spezifischer Rückenschmerzen und einer gestörten TH17/Treg-Balance. Die Erkenntnisse können als Grundlage für weiterführende Studien und der Entwicklung möglicher neuer therapeutischer Ansätze dienen.

Literaturverzeichnis

1. Violante, F.S., S. Mattioli, and R. Bonfiglioli, *Chapter 21 - Low-back pain*, in *Handbook of Clinical Neurology*, L. Marcello and L.B. Margit, Editors. 2015, Elsevier. p. 397-410.
2. Airaksinen, O., et al., *Chapter 4. European guidelines for the management of chronic nonspecific low back pain*. *Eur Spine J*, 2006. **15 Suppl 2**: p. S192-300.
3. Hoy, D., et al., *The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study*. *Ann Rheum Dis*, 2014. **73**(6): p. 968-74.
4. Marker-Hermann, E., U. Kiltz, and J. Braun, *[Treatment of chronic back pain: current standards]*. *Internist (Berl)*, 2014. **55**(12): p. 1410-4, 1416-8.
5. van Tulder, M., et al., *Chapter 3. European guidelines for the management of acute nonspecific low back pain in primary care*. *Eur Spine J*, 2006. **15 Suppl 2**: p. S169-91.
6. Balagué, F., et al., *Non-specific low back pain*. *The Lancet*. **379**(9814): p. 482-491.
7. Deyo, R.A., et al., *Report of the NIH Task Force on Research Standards for Chronic Low Back Pain*. *International Journal of Therapeutic Massage & Bodywork*, 2015. **8**(3): p. 16-33.
8. Pellise, F., et al., *Prevalence of low back pain and its effect on health-related quality of life in adolescents*. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2009. **163**(1): p. 65-71.
9. Manchikanti, L., et al., *Epidemiology of Low Back Pain in Adults*. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 2014. **17**: p. 3-10.
10. Dunn, K.M., L. Hestbaek, and J.D. Cassidy, *Low back pain across the life course*. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2013. **27**(5): p. 591-600.
11. Freburger, J.K., et al., *The rising prevalence of chronic low back pain*. *Arch Intern Med*, 2009. **169**(3): p. 251-8.
12. Bromme, J., et al., *[Multidisciplinary outpatient care program vs. usual care : Cost-benefit analysis in patients with chronic low back pain]*. *Schmerz*, 2015. **29**(2): p. 195-202.
13. Wenig, C.M., et al., *Costs of back pain in Germany*. *Eur J Pain*, 2009. **13**(3): p. 280-6.
14. Nicholas, M.K., et al., *Early identification and management of psychological risk factors ("yellow flags") in patients with low back pain: a reappraisal*. *Phys Ther*, 2011. **91**(5): p. 737-53.
15. Hauser, W., et al., *The impact of body weight and depression on low back pain in a representative population sample*. *Pain Med*, 2014. **15**(8): p. 1316-27.
16. Hasenbring, M., D. Hallner, and B. Klasen, *[Psychological mechanisms in the transition from acute to chronic pain: over- or underrated?]*. *Schmerz*, 2001. **15**(6): p. 442-7.
17. Chou, R. and P. Shekelle, *Will this patient develop persistent disabling low back pain?* *Jama*, 2010. **303**(13): p. 1295-302.
18. Arnold, B., et al., *[Multimodal pain therapy: principles and indications]*. *Schmerz*, 2009. **23**(2): p. 112-20.
19. Melloh, M., et al., *Low back pain risk factors associated with persistence, recurrence and delayed presentation*. *J Back Musculoskelet Rehabil*, 2014. **27**(3): p. 281-9.
20. Borys, C., et al., *Effectiveness of a Multimodal Therapy for Patients with Chronic Low Back Pain Regarding Pre-Admission Healthcare Utilization*. *PLoS One*, 2015. **10**(11): p. e0143139.

21. Buchner, M., et al., *The influence of the grade of chronicity on the outcome of multidisciplinary therapy for chronic low back pain*. Spine (Phila Pa 1976), 2007. **32**(26): p. 3060-6.
22. Kaiser, U., R. Sabatowski, and S.C. Azad, *Multimodal pain therapy*. Der Schmerz, 2015. **29**(5): p. 550-556.
23. Bundesärztekammer (BÄK), K.B.K., Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF), *Nationale Versorgungsleitlinie Kreuzschmerz – Kurzfassung, 1. Auflage. Version 5.* . 2010.
24. Slade, S.C., et al., *What are patient beliefs and perceptions about exercise for nonspecific chronic low back pain? A systematic review of qualitative studies*. Clin J Pain, 2014. **30**(11): p. 995-1005.
25. Wertli, M.M., et al., *Influence of catastrophizing on treatment outcome in patients with nonspecific low back pain: a systematic review*. Spine (Phila Pa 1976), 2014. **39**(3): p. 263-73.
26. Kamper, S.J., et al., *Multidisciplinary biopsychosocial rehabilitation for chronic low back pain*. Cochrane Database Syst Rev, 2014. **9**: p. Cd000963.
27. Verkerk, K., et al., *Prognosis and course of disability in patients with chronic nonspecific low back pain: a 5- and 12-month follow-up cohort study*. Phys Ther, 2013. **93**(12): p. 1603-14.
28. Morfeld, M., et al., *[A comparison of multimodal programmes of patient education in the rehabilitation of chronic low back pain]*. Rehabilitation (Stuttg), 2010. **49**(2): p. 66-79.
29. Huge, V., et al., *Impact of a functional restoration program on pain and health-related quality of life in patients with chronic low back pain*. Pain Med, 2006. **7**(6): p. 501-8.
30. Schloderer, U.I.E., *Einfluss des Münchner-Rücken-Intensiv-Programms auf Schmerzen und Lebensqualität - Vergleich mit einer Kontrollgruppe*, in *Klinik für Anästhesiologie 2010*, Medizinische Fakultät der Ludwig Maximilians Universität: München. p. 124.
31. Hinnerwisch, C., *Differenzierung der Th17-Zellen im Nabelschnurblut unter Berücksichtigung mütterlicher Atopie*. 2012: p. 16 - 24.
32. Ahrens, C., M. Schiltewolf, and H. Wang, *Cytokines in psychoneuroendocrine immunological context of nonspecific musculoskeletal pain*. Der Schmerz, 2012. **26**(4): p. 383-388.
33. Raphael, I., et al., *T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases*. Cytokine, 2015. **74**(1): p. 5-17.
34. Astry, B., S.H. Venkatesha, and K.D. Moudgil, *Involvement of the IL-23/IL-17 axis and the Th17/Treg balance in the pathogenesis and control of autoimmune arthritis*. Cytokine, 2015. **74**(1): p. 54-61.
35. Moudgil, K.D., *Interplay among cytokines and T cell subsets in the progression and control of immune-mediated diseases*. Cytokine, 2015. **74**(1): p. 1-4.
36. Mosmann, T.R., et al., *Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins*. J Immunol, 1986. **136**(7): p. 2348-57.
37. Miyara, M. and S. Sakaguchi, *Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression*. Trends Mol Med, 2007. **13**(3): p. 108-16.
38. Jovanovic, D.V., et al., *IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages*. J Immunol, 1998. **160**(7): p. 3513-21.
39. Benedetti, G. and P. Miossec, *Interleukin 17 contributes to the chronicity of inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis*. Eur J Immunol, 2014. **44**(2): p. 339-47.

40. Zielinski, C.E., et al., *Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN-gamma or IL-10 and are regulated by IL-1beta*. *Nature*, 2012. **484**(7395): p. 514-8.
41. Jaeckel, E., et al., *Role of regulatory T cells for the treatment of type 1 diabetes mellitus*. *Horm Metab Res*, 2008. **40**(2): p. 126-36.
42. Grant, C.R., et al., *Regulatory T-cells in autoimmune diseases: Challenges, controversies and—yet—unanswered questions*. *Autoimmunity Reviews*, 2015. **14**(2): p. 105-116.
43. Kleinewietfeld, M. and D.A. Hafler, *The plasticity of human Treg and Th17 cells and its role in autoimmunity*. *Seminars in Immunology*, 2013. **25**(4): p. 305-312.
44. Hartigan-O'Connor, D.J., et al., *Human CD4+ regulatory T cells express lower levels of the IL-7 receptor alpha chain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells*. *J Immunol Methods*, 2007. **319**(1-2): p. 41-52.
45. Zhou, L., et al., *TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgammat function*. *Nature*, 2008. **453**(7192): p. 236-40.
46. Chen, Z., et al., *FOXP3 and RORgammat: transcriptional regulation of Treg and Th17*. *Int Immunopharmacol*, 2011. **11**(5): p. 536-42.
47. Ziegler, S.F. and J.H. Buckner, *FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation*. *Microbes and Infection*, 2009. **11**(5): p. 594-598.
48. Noack, M. and P. Miossec, *Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases*. *Autoimmun Rev*, 2014. **13**(6): p. 668-77.
49. Romagnani, S., *Regulation of the T cell response*. *Clin Exp Allergy*, 2006. **36**(11): p. 1357-66.
50. Omoigui, S., *The biochemical origin of pain: the origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 2 of 3 - inflammatory profile of pain syndromes*. *Med Hypotheses*, 2007. **69**(6): p. 1169-78.
51. Backonja, M.M., et al., *Altered cytokine levels in the blood and cerebrospinal fluid of chronic pain patients*. *J Neuroimmunol*, 2008. **195**(1-2): p. 157-63.
52. Uceyler, N., et al., *Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain*. *Arthritis Rheum*, 2006. **54**(8): p. 2656-64.
53. Uceyler, N., et al., *Differential expression of cytokines in painful and painless neuropathies*. *Neurology*, 2007. **69**(1): p. 42-9.
54. Austin, P.J., et al., *Regulatory T cells attenuate neuropathic pain following peripheral nerve injury and experimental autoimmune neuritis*. *PAIN®*, 2012. **153**(9): p. 1916-1931.
55. de Queiroz, B.Z., et al., *Association Between the Plasma Levels of Mediators of Inflammation With Pain and Disability in the Elderly With Acute Low Back Pain: Data From the Back Complaints in the Elders (BACE)-Brazil Study*. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2016. **41**(3): p. 197-203.
56. Koch, A., et al., *Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines correlate with pain intensity in chronic pain patients*. *Inflamm Res*, 2007. **56**(1): p. 32-7.
57. Kraychete, D.C., et al., *Serum cytokine levels in patients with chronic low back pain due to herniated disc: analytical cross-sectional study*. *Sao Paulo Med J*, 2010. **128**(5): p. 259-62.
58. Hasselhorn, H.M., T. Theorell, and E. Vingard, *Endocrine and immunologic parameters indicative of 6-month prognosis after the onset of low back pain or neck/shoulder pain*. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001. **26**(3): p. E24-9.
59. Wang, H., M. Schiltenswolf, and M. Buchner, *The role of TNF-alpha in patients with chronic low back pain-a prospective comparative longitudinal study*. *Clin J Pain*, 2008. **24**(3): p. 273-8.
60. Luchting, B., et al., *Disrupted TH17/Treg balance in patients with chronic low back pain*. *PLoS One*, 2014. **9**(8): p. e104883.

61. Liu, H.H., et al., [Detection of peripheral blood Th1/Th2 cell ratio in patients with chronic abacterial prostatitis/chronic pelvic pain syndrome]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2006. **12**(4): p. 330-2, 336.
62. Schinkel, C., et al., *Inflammatory mediators are altered in the acute phase of posttraumatic complex regional pain syndrome*. *Clin J Pain*, 2006. **22**(3): p. 235-9.
63. Shamji, M.F., et al., *Proinflammatory cytokine expression profile in degenerated and herniated human intervertebral disc tissues*. *Arthritis Rheum*, 2010. **62**(7): p. 1974-82.
64. Zhang, W., et al., *Th17 cell frequency and IL-17 concentration correlate with pre- and postoperative pain sensation in patients with intervertebral disk degeneration*. *Orthopedics*, 2014. **37**(7): p. e685-91.
65. Kennedy, A., et al., *A novel upstream enhancer of FOXP3, sensitive to methylation-induced silencing, exhibits dysregulated methylation in rheumatoid arthritis Treg cells*. *Eur J Immunol*, 2014. **44**(10): p. 2968-78.
66. Wang, W., et al., *The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis*. *Rheumatology International*, 2012. **32**(4): p. 887-893.
67. Buckner, J.H., *Mechanisms of impaired regulation by CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in human autoimmune diseases*. *Nat Rev Immunol*, 2010. **10**(12): p. 849-859.
68. Klyne, D.M., M.F. Barbe, and P.W. Hodges, *Systemic inflammatory profiles and their relationships with demographic, behavioural and clinical features in acute low back pain*. *Brain Behav Immun*, 2017. **60**: p. 84-92.
69. Li, Y., et al., *Inflammation in low back pain may be detected from the peripheral blood: suggestions for biomarker*. *Biosci Rep*, 2016. **36**(4).
70. Wang, H., et al., [Attachment style and cytokine levels in patients with fibromyalgia. A prospective longitudinal study]. *Schmerz*, 2014. **28**(5): p. 504-12.
71. Hüge, V., et al., [Patients with chronic pain syndromes. Impact of an individual outpatient therapy program on pain and health-related quality of life]. *Schmerz*, 2010. **24**(5): p. 459-67.
72. Chouker, A., et al., *Motion sickness, stress and the endocannabinoid system*. *PLoS One*, 2010. **5**(5): p. e10752.
73. Ledderose, C., et al., *Selection of reliable reference genes for quantitative real-time PCR in human T cells and neutrophils*. *BMC Res Notes*, 2011. **4**: p. 427.
74. Rowbotham, M.C., *What is a 'clinically meaningful' reduction in pain?* *PAIN*, 2001. **94**(2): p. 131-132.
75. Farrar, J.T., et al., *Defining the clinically important difference in pain outcome measures*. *PAIN*, 2000. **88**(3): p. 287-294.
76. Farrar, J.T., et al., *Clinical importance of changes in chronic pain intensity measured on an 11-point numerical pain rating scale*. *Pain*, 2001. **94**(2): p. 149-58.
77. Sendlbeck, M., et al., *Psychometric properties of three single-item pain scales in patients with rheumatoid arthritis seen during routine clinical care: a comparative perspective on construct validity, reproducibility and internal responsiveness*. *RMD Open*, 2015. **1**(1): p. e000140.
78. Lauridsen, H.H., et al., *What is an acceptable outcome of treatment before it begins? Methodological considerations and implications for patients with chronic low back pain*. *Eur Spine J*, 2009. **18**(12): p. 1858-66.
79. Williams, A.C.d.C., H.T.O. Davies, and Y. Chadury, *Simple pain rating scales hide complex idiosyncratic meanings*. *Pain*, 2000. **85**(3): p. 457-463.
80. Maier, T., M. Guell, and L. Serrano, *Correlation of mRNA and protein in complex biological samples*. *FEBS Lett*, 2009. **583**(24): p. 3966-73.
81. Vogel, C. and E.M. Marcotte, *Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses*. *Nat Rev Genet*, 2012. **13**(4): p. 227-32.

-
82. Weber, K.T., et al., *Serum levels of the proinflammatory cytokine interleukin-6 vary based on diagnoses in individuals with lumbar intervertebral disc diseases*. *Arthritis Res Ther*, 2016. **18**(1): p. 3.
 83. Erta, M., A. Quintana, and J. Hidalgo, *Interleukin-6, a Major Cytokine in the Central Nervous System*. *International Journal of Biological Sciences*, 2012. **8**(9): p. 1254-1266.
 84. Fischer, C.P., et al., *Plasma levels of interleukin-6 and C-reactive protein are associated with physical inactivity independent of obesity*. *Scand J Med Sci Sports*, 2007. **17**(5): p. 580-7.
 85. Mendieta, D., et al., *IL-8 and IL-6 primarily mediate the inflammatory response in fibromyalgia patients*. *J Neuroimmunol*, 2016. **290**: p. 22-5.
 86. Queiroz, B.Z., et al., *Association between the plasma levels of mediators of inflammation with pain and disability in the elderly with acute low back pain: Data from the Back Complaints in the Elders (BACE)-Brazil study*. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2015.
 87. Vikman, K.S., et al., *Interferon-gamma induces characteristics of central sensitization in spinal dorsal horn neurons in vitro*. *Pain*, 2003. **106**(3): p. 241-51.
 88. Asih, S., et al., *Insomnia in a chronic musculoskeletal pain with disability population is independent of pain and depression*. *Spine J*, 2014. **14**(9): p. 2000-7.
 89. Ramond-Roquin, A., et al., *Interventions focusing on psychosocial risk factors for patients with non-chronic low back pain in primary care--a systematic review*. *Fam Pract*, 2014. **31**(4): p. 379-88.
 90. Hong, M., et al., *Imbalance between Th17 and Treg cells may play an important role in the development of chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice*. *Neuroimmunomodulation*, 2013. **20**(1): p. 39-50.
 91. Torres-Harding, S., et al., *Evidence for T-helper 2 shift and association with illness parameters in chronic fatigue syndrome (CFS)*. *Bull IACFS ME*, 2008. **16**(3): p. 19-33.
 92. Dahl, J., et al., *Ongoing episode of major depressive disorder is not associated with elevated plasma levels of kynurenine pathway markers*. *Psychoneuroendocrinology*, 2015. **56**: p. 12-22.
 93. Raison, C.L. and A.H. Miller, *Is Depression an Inflammatory Disorder?* *Current Psychiatry Reports*, 2011. **13**(6): p. 467-475.
 94. Miller, A.H., *Depression and immunity: a role for T cells?* *Brain Behav Immun*, 2010. **24**(1): p. 1-8.
 95. Chrousos, G.P., *Stress, chronic inflammation, and emotional and physical well-being: concurrent effects and chronic sequelae*. *J Allergy Clin Immunol*, 2000. **106**(5 Suppl): p. S275-91.
 96. Fries, E., et al., *A new view on hypocortisolism*. *Psychoneuroendocrinology*, 2005. **30**(10): p. 1010-6.
 97. Heim, C., U. Ehlert, and D.H. Hellhammer, *The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders*. *Psychoneuroendocrinology*, 2000. **25**(1): p. 1-35.
 98. Luchting, B., et al., *Anti-inflammatory T-cell shift in neuropathic pain*. *J Neuroinflammation*, 2015. **12**: p. 12.
 99. Breen, E.C., et al., *Multisite comparison of high-sensitivity multiplex cytokine assays*. *Clin Vaccine Immunol*, 2011. **18**(8): p. 1229-42.
 100. Brucklacher-Waldert, V., et al., *Phenotypical characterization of human Th17 cells unambiguously identified by surface IL-17A expression*. *J Immunol*, 2009. **183**(9): p. 5494-501.
 101. Kenefeck, R., et al., *Follicular helper T cell signature in type 1 diabetes*. *J Clin Invest*, 2015. **125**(1): p. 292-303.

Anhänge

Anhang A: MRIP Wochenplan

Wochenplan für das 4-wöchige MRIP											
1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		08.09. - 12.09.2014		Datum	
Montag		Dienstag		Mittwoch		Donnerstag		Freitag		Zeit	
Raum		Raum		Raum		Raum		Raum		Raum	
MRIP		MRIP		MRIP		MRIP		MRIP		MPSP	
8:00 - 8:15											
8:15 - 8:30	Aufnahme 8:30-9:00	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
8:30 - 8:45	Begrüßung 9:00-9:30	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
8:45 - 9:00	Physiotherapie 9:30-10:15	TH	TH	TH	TH	TH	TH	TH	TH	TH	TH
9:00 - 9:15	Medizinische Trainingstherapie 10:30-12:00	MTT	MTT	MTT	MTT	MTT	MTT	MTT	MTT	MTT	MTT
9:15 - 9:30	Mittagspause										
9:30 - 9:45	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
9:45 - 10:00	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
10:00 - 10:15	Arztliche Sprechstunde 11:30-12:00	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
10:15 - 10:30	Mittagspause										
10:30 - 10:45	Physiotherapie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
10:45 - 11:00	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
11:00 - 11:15	Arztliche Sprechstunde 11:30-12:00	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
11:15 - 11:30	Mittagspause										
11:30 - 11:45	Physiotherapie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
11:45 - 12:00	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
12:00 - 12:15	Mittagspause										
12:15 - 12:30	Arztliche Sprechstunde 11:30-12:00	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
12:30 - 12:45	Mittagspause										
12:45 - 13:00	Physiotherapie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
13:00 - 13:15	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
13:15 - 13:30	Arztliche Sprechstunde 11:30-12:00	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
13:30 - 13:45	Mittagspause										
13:45 - 14:00	Physiotherapie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
14:00 - 14:15	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
14:15 - 14:30	Arztliche Sprechstunde 11:30-12:00	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
14:30 - 14:45	Mittagspause										
14:45 - 15:00	Physiotherapie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
15:00 - 15:15	Psychologie 13:00-14:00	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA	TKA
15:15 - 15:30	Mittagspause										

Wochenplan für das 4-wöchige MRIP																																																											
Zeit	2. Woche		Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag	Freitag	15.09.-19.09.2014																																																			
	MRIP	X						MSP	Datum	MRIP																																																	
8:00 - 8:15																																																											
8:15 - 8:30			Visite 8:15-8:30	SA	Visite 8:15-8:30	SA	Visite 8:15-8:30	SA	SA																																																		
8:30 - 8:45			Ergotherapie	E	TENS	176	Ergotherapie Ablasttraining	176	E																																																		
8:45 - 9:00			8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	E																																																		
9:00 - 9:15			Physiotherapie	TH	Psychologie	TH	Aktive Selbsthilfe	176	176																																																		
9:15 - 9:30			9:30-10:15	9:30-10:15	9:30-10:30	9:30-10:30	9:30-10:30	9:30-10:30	176																																																		
9:30 - 9:45			Medizinische Trainingstherapie	MTT	Medizinische Trainingstherapie	E	Physiotherapie	TH	176																																																		
9:45 - 10:00			10:30-12:00	10:30-11:30	10:30-12:00	10:30-11:30	Physiotherapie	TH	TH																																																		
10:00 - 10:15			Mittagspause	MTT	Mittagspause	MTT	Mittagspause	TH	TH																																																		
10:15 - 10:30				Arztliche Sprechstunde 11:30-12:00	SA			TH	TH																																																		
10:30 - 10:45									TH																																																		
10:45 - 11:00									TH																																																		
11:00 - 11:15									TH																																																		
11:15 - 11:30									TH																																																		
11:30 - 11:45									TH																																																		
11:45 - 12:00									TH																																																		
12:00 - 12:15									TH																																																		
12:15 - 12:30									TH																																																		
12:30 - 12:45									TH																																																		
12:45 - 13:00									TH																																																		
13:00 - 13:15									TH																																																		
13:15 - 13:30									TH																																																		
13:30 - 13:45									TH																																																		
13:45 - 14:00									TH																																																		
14:00 - 14:15									TH																																																		
14:15 - 14:30									TH																																																		
14:30 - 14:45									TH																																																		
14:45 - 15:00									TH																																																		
15:00 - 15:15									TH																																																		
15:15 - 15:30									TH																																																		
<table border="1"> <tr> <th>RAUMBEZÜHUNGEN</th> <th>TKA</th> <th>TPO1</th> <th>TPO2</th> <th>TKA</th> <th>TPO1</th> <th>TPO2</th> <th>TKA</th> <th>TPO1</th> <th>TPO2</th> </tr> <tr> <td>ABS</td> <td>Adressenraum + Arzt 2</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U2</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> </tr> <tr> <td>SA</td> <td>Anmeldung Schmerzambulanz</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U2</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U2</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U2</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> <td>ZK-U1</td> </tr> </table>										RAUMBEZÜHUNGEN	TKA	TPO1	TPO2	TKA	TPO1	TPO2	TKA	TPO1	TPO2	ABS	Adressenraum + Arzt 2	ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	SA	Anmeldung Schmerzambulanz	ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1			ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1			ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1
RAUMBEZÜHUNGEN	TKA	TPO1	TPO2	TKA	TPO1	TPO2	TKA	TPO1	TPO2																																																		
ABS	Adressenraum + Arzt 2	ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1																																																		
SA	Anmeldung Schmerzambulanz	ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1																																																		
		ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1																																																		
		ZK-U1	ZK-U2	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1	ZK-U1																																																		

Wochenplan für das 4-wöchige MRIP											
Zeit	3. Woche				Datum	22.09.-26.09.2014		MRIP X MPSP			
	Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag		Freitag					
Zeit	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum	Raum
8:00 - 8:15	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
8:15 - 8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-9:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30	Visite 8:15-8:30
8:30 - 8:45	Ergotherapie	Aktive Selbsthilfe	Arzt Vortrag Analgetika (Lichtung)	Ergotherapie	Ergotherapie	Ergotherapie	Ergotherapie	Ergotherapie	Ergotherapie	Ergotherapie	Ergotherapie
8:45 - 9:00	SA	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30	8:30-9:30
9:00 - 9:15	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30	9:15-9:30
9:15 - 9:30	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie
9:30 - 9:45	9:30-10:15	9:30-10:15	9:30-10:15	9:30-10:30	9:30-10:30	9:30-10:30	9:30-10:30	9:30-10:30	9:30-10:45	9:30-9:45	9:30-9:45
9:45 - 10:00	Medizinische Trainingstherapie	Ergotherapie	Medizinische Trainingstherapie	Medizinische Trainingstherapie	Medizinische Trainingstherapie	Medizinische Trainingstherapie	Medizinische Trainingstherapie	Medizinische Trainingstherapie	Physiotherapie	Psychologie	Psychologie
10:00 - 10:15	10:30-12:00	10:30-11:30	10:30-12:00	10:30-12:00	10:30-12:00	10:30-12:00	10:30-12:00	10:30-12:00	11:00-12:00	11:00-12:00	11:00-12:00
10:15 - 10:30	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde
10:30 - 10:45	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00
10:45 - 11:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00
11:00 - 11:15	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00	11:45-12:00
11:15 - 11:30	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause
11:30 - 11:45	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie
11:45 - 12:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	10:30-12:00	10:30-12:00	10:30-12:00
12:00 - 12:15	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde	Arztliche Sprechstunde
12:15 - 12:30	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	Psychologie	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00
12:30 - 12:45	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00
12:45 - 13:00	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00
13:00 - 13:15	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	Physiotherapie	11:30-12:00	11:30-12:00	11:30-12:00
13:15 - 13:30	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00
13:30 - 13:45	Entspannung	Entspannung	Entspannung	Entspannung	Entspannung	Entspannung	Entspannung	Entspannung	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00
13:45 - 14:00	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	13:00-14:00	13:00-14:00	13:00-14:00
14:00 - 14:15	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30
14:15 - 14:30	178	178	178	178	178	178	178	178	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30
14:30 - 14:45	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30
14:45 - 15:00	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	Mittagspause	14:00-15:30	14:00-15:30	14:00-15:30
15:00 - 15:15	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30
15:15 - 15:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30
15:15 - 15:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30	14:00-14:30

Anhang B: Befundbogen

Befundbogen

Patient: # _____

Datum: _____

Zeitpunkt: Vorher Nachher Follow-up

Gewicht: _____ kg

Größe: _____ cm

Blutdruck: _____ / _____ mmHg

Herzfrequenz: _____ / min

Nüchtern: Ja Nein

Temperatur: _____ °C

VAS Ruhe: _____ / 10

VAS Bewegung: _____ / 10

Schmerzakzeptanz: Ja Nein

Schlafstörung: Ja Nein

Appetit: Ja Nein

Schwindel: Ja Nein

Müdigkeit: Ja Nein

Konzentrationsstörung: Ja Nein

Sonstige: _____

Anhang C: Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung

4.1.6 Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung (KAB)

Kurzfragebogen zur aktuellen Beanspruchung **KAB**

Name oder Code-Nr. _____

Alter in Jahren:

Geschlecht: weiblich männlich

Situation _____

Bitte kreuzen Sie jeweils an, wie Sie sich *jetzt* fühlen.
Bitte setzen Sie in jeder Zeile nur ein Kreuz, zum Beispiel:

Jetzt fühle ich mich:

	sehr	ziemlich	eher	eher	ziemlich	sehr	
1. frisch	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input checked="" type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	matt
2. voller Elan	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input checked="" type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	kraftlos

Jetzt fühle ich mich:

	sehr	ziemlich	eher	eher	ziemlich	sehr	
1. angespannt	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	gelassen
2. gelöst	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	bekommen
3. besorgt	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	unbekümmert
4. entspannt	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	unruhig
5. skeptisch	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	vertrauensvoll
6. behaglich	<input type="checkbox"/> a	<input type="checkbox"/> b	<input type="checkbox"/> c	<input type="checkbox"/> d	<input type="checkbox"/> e	<input type="checkbox"/> f	unwohl

Anhang D: Probandeninformation und Einverständniserklärung

Klinikum der Universität München
Klinik für Anaesthesiologie
Großhadern – Innenstadt
Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwißler

_____ **LMU**
Ludwig—
Maximilians—
Universität—
München—

Klinikum der Universität München • Klinik für Anaesthesiologie – Großhadern
Marchioninistraße 15 • D-81377 München

Prüfärzte:

Prof. Dr. med. Shahnaz Christina Azad
Klinik für Anaesthesiologie
Leitung der Interdisziplinären Schmerzambulanz
Tel.: 7095 4467, Fax: 7095 4469
Funk: 123/1150
e-mail: Shahnaz.Azad@med.uni-muenchen.de

**PROBANDENINFORMATION UND EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG ZUR TEILNAHME AN EINER
KLINISCHEN FORSCHUNGSSTUDIE UND GENEHMIGUNG ZUR VERWENDUNG
MEDIZINISCHER DATEN**

Titel der Studie:

**Einfluss von Tiefenentspannung auf Plasma-Endocannabinoidspiegel sowie
inflammatorische und antiinflammatorische humorale Faktoren bei Patienten
mit chronischem Schmerz**

Verantwortliche Prüfärzte:

Prof. Dr. med. Shahnaz Christina Azad
Klinikum der Universität München-Großhadern
Klinik für Anästhesiologie
Marchioninistraße 15
D-81377 München

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

wir wenden uns heute an Sie, weil wir Sie als Teilnehmer an einer klinischen Studie gewinnen möchten. Im Folgenden erhalten Sie Informationen über die Studie und über Ihre Rolle als mögliche/r Teilnehmer/in. Ihr Arzt/Ihre Ärztin wird Ihnen alle Fragen beantworten, die sich nach der Lektüre dieser Informationen möglicherweise noch stellen sollten. Bitte lesen Sie die folgenden Informationen zur Studie sorgfältig durch und zögern Sie nicht, sich bei offenen Fragen an Ihren Arzt/Ihre Ärztin zu wenden. Sie müssen jedes Blatt dieses Dokuments mit Ihren Initialen versehen.

Anschrift Großhadern: D-81377 München • Marchioninistraße 15 • Telefon (0 89) 70 95-0 (Vermittlung)
Verkehrsverbindung: U6, S6, 266, 269 oder N 41 bis Haltestelle Klinikum Großhadern

Anschrift Innenstadt: D-80336 München • Nußbaumstraße 20 • Telefon (0 89) 51 60-0 (Vermittlung)
Verkehrsverb.: U1, U2, U3, U6, U7, U8, 17, 18, 27, N 17, N 27, 52, 152 o. N 40 bis Haltestelle
Sendlinger Tor



ZWECK DIESER STUDIE

Psychische Faktoren wie Stress und Anspannung beeinflussen die Verarbeitung von Schmerzen in einem erheblichen Ausmaß. Seit vielen Jahren ist es daher unumgänglich, Patienten mit chronischen Schmerzen entsprechend des bio-psycho-sozialen Schmerzmodells multimodal zu behandeln, beispielsweise mittels Tiefenentspannung. Darüber hinaus ist auch bekannt, dass psychosozialer Stress und chronische Schmerzen das Immunsystem entscheidend beeinflussen können. Die genauen zellulären Mechanismen, die diesen positiven Effekten zugrunde liegen, sind jedoch trotz der Bedeutung dieser Verfahren in der Schmerztherapie kaum bekannt. Ziel dieser Studie ist es nun zu untersuchen, welchen Einfluss Entspannungsverfahren auf die Verarbeitung von Schmerzen und das Immunsystem haben und welche biologischen Mechanismen dem zugrunde liegen. Im Forschungslabor für Anästhesiologie sollen dafür spezielle Moleküle identifiziert werden, welche maßgeblich an der Regulation der Immunantwort beteiligt sind. Der menschliche Organismus kann durch die Freisetzung einer Vielzahl von körpereigenen Botenstoffen (körpereigene Cannabinoide und Opiode) die Immunantwort entscheidend beeinflussen. Untersucht werden soll dabei vor allem der Einfluss dieser Botenstoffe auf das erworbene Immunsystem. Wesentliche Elemente des erworbenen Immunsystems stellen spezialisierte weiße Blutkörperchen, die sogenannten T-Zellen und Ihre Untergruppen dar. Durch ein besseres Verständnis der Wechselwirkung zwischen körpereigenen Botenstoffen und dem Immunsystem erhoffen wir uns neue wirkungsvolle Therapieansätze zu finden.

STUDIENVERFAHREN

Wenn Sie sich entschließen, an dieser Studie teilzunehmen, führen wir am Behandlungstag zwei Blutuntersuchungen durch. Dabei erfolgt eine Blutentnahme (18 ml, sterile, venöse Punktion in der Armbeuge) vor der Entspannungstherapie und die Zweite 30 Minuten nach Beendigung der Therapie.

RISIKEN UND NEBENWIRKUNGEN

Die venöse Blutabnahme erfolgt bei Ihnen nach vorheriger Hautdesinfektion mittels einer sterilen Kanüle aus der Armbeuge. Eine Punktionen der Haut und von Blutgefäßen ist mit dem sehr geringen Risiko der Bildung von Blutergüssen (Hämatomen) und Infektionen trotz Hautdesinfektion verbunden.

NUTZEN / RISIKOABWÄGUNG

Sie persönlich ziehen keinen Nutzen aus der Teilnahme an dieser Studie, allerdings hilft Ihre Teilnahme bei der Gewinnung von wichtigen neuen Erkenntnissen, die die medizinische Behandlung von Patienten mit starken Schmerzen beeinflussen werden.

KOSTEN

Durch die Labortests im Rahmen dieser Studie entstehen Ihnen keine Kosten.
Für die Teilnahme an dieser Studie erhalten Sie keine Vergütung.

SCHADENERSATZ / PATIENTENVERSICHERUNG

Da keine relevanten Risiken für die Blutentnahme vorliegen, besteht keine Versicherung für die Probanden.

ANSPRECHPARTNER

Wenn Sie Fragen zu dieser Patienteninformation oder zur Studie haben, wenden Sie sich bitte an Ihren Arzt/Ihre Ärztin oder andere Verantwortliche. Sollten während des Studienverlaufs weitere Fragen auftreten, die die Studie selbst oder Ihre Rechte als Prüfungsteilnehmer/in betreffen, können Sie sich gerne an Frau Prof. Dr. med. S. Azad, Herrn Dr. med. B. Luchting und Frau Dr. med. B. Rachinger-Adam.

FREIWILLIGE TEILNAHME

Ihre Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie können es ablehnen, an der Studie teilzunehmen, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile entstehen. Auch nach Einschluss in die Studie können Sie jederzeit Ihre Teilnahme widerrufen.

Sie erhalten eine Kopie dieser unterschriebenen und datierten Patienteninformation.

SPONSORSCHAFT/FINANZIERUNG

Die Finanzierung erfolgt über den Forschungsetat der klinischen Einrichtung.

Datenschutz

Der Umgang mit medizinischen Daten, die im Rahmen klinischer Forschung erfasst werden, unterliegt nationalen und internationalen Datenschutzbestimmungen und der ärztlichen Schweigepflicht. Die während dieser Studie gesammelten medizinischen Daten werden zunächst auf ihre Richtigkeit und Genauigkeit überprüft. Persönliche Daten und Befunde (Blutproben und Fragebögen) werden nur in verschlüsselter (pseudonymisierter) Form verwendet, d.h. weder Ihr Name noch Ihre Initialen oder das exakte Geburtsdatum erscheinen im Verschlüsselungscode. Der Verschlüsselungscode wird ein Buchstabe des Alphabets sein, der dem Probanden zugeteilt wird - unabhängig vom Namen/Vornamen, sowie vom Meßzeitpunkt. Ihre Identität ist ausschließlich den mit der Überprüfung der Studiendaten betrauten Fachleuten bekannt: Frau Prof. Dr. med. S. Azad, Frau PD Dr. Dr. med. S. Kreth, Herrn Dr. med. B. Luchting, Frau Dr. med. B. Rachinger-Adam und Herrn Dr. med. C. Hinske. Die Unterlagen werden 10 Jahre im Klinikum Großhadern der Universität München aufbewahrt. Es kann Einsicht in die Originaldaten durch autorisierte Personen (z.B. Gesundheitsbehörden) genommen werden, vor allem zur Überwachung der Studiensicherheit. Anschließend werden diese Daten in die Studiendatenbank(en) übertragen und verarbeitet, sodass die Ergebnisse der Studie analysiert und für wissenschaftliche Zwecke verwendet bzw. veröffentlicht werden können. Im Falle eines Widerrufs der Einwilligung werden die gespeicherten Daten irreversibel gelöscht. Eine Entschlüsselung der Daten erfolgt lediglich in Fällen, in denen es Ihre eigene Sicherheit erfordert („medizinische Gründe“) oder falls es zu Änderungen in der wissenschaftlichen Fragestellung kommt („wissenschaftliche Gründe“).

In keinem Bericht und keiner Aufzeichnung der Studie werden Ihr Name oder andere Daten, die Ihre Identität enthüllen könnten, erscheinen.

SCHRIFTLICHE EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

Titel der Studie:

Einfluss von Tiefenentspannung auf Plasma-Endocannabinoidspiegel sowie inflammatorische und antiinflammatorische humorale Faktoren bei Patienten mit chronischem Schmerz

Ich habe die schriftliche Patienteninformation erhalten und bin zusätzlich mündlich über die Studie aufgeklärt worden. Ich habe die Patienteninformation und Einverständniserklärung gelesen und ihren Inhalt verstanden. Ich hatte die Gelegenheit, Fragen zu stellen, welche zu meiner Zufriedenheit beantwortet wurden. Ich willige freiwillig ein, an dieser Studie teilzunehmen und genehmige die Verwendung und Bekanntgabe meiner im Rahmen dieser Studie erfassten Daten. Mir ist bekannt, dass mir oder meinem gesetzlichen Vertreter eine unterschriebene Ausfertigung dieser Patienteninformation/Einverständniserklärung ausgehändigt wird.

Genehmigung zur Verwendung medizinischer Daten

Ich bin mit der Erhebung und Verwendung persönlicher Daten und Befunddaten nach Maßgabe der Patienteninformation einverstanden

UNTERSCHRIFTEN

Unterschrift Studienteilnehmer/in

Unterschrift Prüfarzt/ärztin

Datum handschriftlich durch Studienteilnehmer

Datum handschriftlich durch Prüfarzt/ärztin

Name Studienteilnehmer (Druckbuchstaben)

Name Prüfarzt/ärztin (Druckbuchstaben)

Anhang E: Befundbericht eines anonymisierten Studienteilnehmers mit den erhobenen Laborparametern

Befundbericht

Klinikum der Universität München
 Institut für Laboratoriumsmedizin
 Direktor: Prof. Dr. med. Daniel Teupser

Schmerz 63,
9700526164

Geburtsdatum:

Schmerzambulanz-Anästhesie

P 60

Befundausgabe: 13.12.2012 16:27 (1632)

Seite: 1

			Mi 12.12 2012 08:30						
Klinische Chemie (Basis)		Richtwerte Mat. (Therap.B.)							
Natrium	mmol/l	S 135 - 145 ¹⁾	141						
Kalium	mmol/l	S 3.5 - 5.0 ¹⁾	4.3						
Kreatinin	mg/dl	S s.u. ²⁾	0.9						
Harnstoff	mg/dl	S 9 - 50 ¹⁾	26						
Bilirubin ges.	mg/dl	S <= 1.0 ¹⁾	0.8						
Alk. Phosphatase (37°)	U/l	S s.u. ²⁾	50						
gamma-GT (37°)	U/l	S s.u. ²⁾	21						
GPT [ALT] (37°)	U/l	S s.u. ²⁾	17						
GOT [AST] (37°)	U/l	S s.u. ²⁾	23						
GLDH (37°)	U/l	S s.u. ²⁾	1.1						
Cholinesterase (37°)	kU/l	S s.u. ²⁾	4.73						
alpha-Amylase	U/l	S <= 110 ¹⁾	43						
Lipase	U/l	S <= 67 ¹⁾	14						
CK-Gesamt (37°)	U/l	S							
CK-MB-Aktivität (37°)	U/l	S							
CK-MB-Massenkonz.	ng/ml	S							
Troponin I (Tnl Ultra)	ng/ml	S							
Myoglobin	ng/ml	S							
LDH (37°)	U/l	S							
Cholesterin	mg/dl	S							
Triglyzeride	mg/dl	S							
Harnsäure	mg/dl	S s.u. ²⁾	3.9						
Calcium	mmol/l	S 2.10 - 2.60 ¹⁾	2.51						
anorg. Phosphat	mg/dl	S 2.5 - 4.8 ¹⁾	3.5						
Magnesium	mmol/l	S 0.65 - 1.20 ¹⁾	0.87						
Eisen	µg/dl	S s.u. ²⁾	167						
Transferrin	g/l	S 2.0 - 3.6 ¹⁾	2.8						
Ferritin	ng/ml	S s.u. ²⁾	103						
Gesamteiweiss	g/dl	S s.u. ²⁾	7.8						
Albumin	g/dl	S 3.5 - 5.0 ¹⁾	4.7						
CRP (high sens.)	mg/dl	S <= 0.5 ¹⁾	< 0.1						
Procalcitonin	ng/ml	S							
Interleukin-6 (S)	pg/ml	S <= 5.9 ¹⁾	< 1.5						
Glucose (S)	mg/dl	S 60 - 99 ³⁾	89						
Osmolalität Serum	mosm/kg								
Osmolalität Urin	mosm/kg								
Gerinnung (Basis)									
Quick	%	P							
INR		P							
aPTT	sec	P							
aPTT-Ratio		P							
Fibrinogen (abgeleitet)	mg/dl								
Antithrombin	%								
D-Dimer	µg/ml	P							
Kleines Blutbild									
Leukozyten	G/l	B 3.9 - 11.0 ¹⁾	3.5*						
Erythrozyten	T/l	B s.u. ²⁾	4.83						
Hämoglobin	g/dl	B s.u. ²⁾	15.3						
Hämatokrit	B	B s.u. ²⁾	438						
MCV	fl	B 80.0 - 98.0 ¹⁾	90.7						
MCH	pg	B 26.5 - 32.5 ¹⁾	31.7						
MCHC	g/dl	B 32.0 - 36.0 ¹⁾	34.9						
Thrombozyten	G/l	B 150 - 400 ¹⁾	253						
Retikulozyten	Promille								
Medizinische Validierung (verantwort. Arzt)			Cr						

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name: Julia Zeitler
Geboren: am 19.08.1987 in München
Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung

1993 – 2005: Munich International School in Starnberg

Berufsausbildung

2007 - 2009: Ausbildung zur Rettungsassistentin am Medical Rescue College in Wolfratshausen und beim BRK Rettungsdienst in Starnberg

Hochschulstudium

2009 - 2011: Studium der Humanmedizin an der Universität Ulm
2011-2016: Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berufliche Laufbahn

Seit 07/2016: Tätigkeit als Assistenzärztin in der Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie an der München Klinik

Praxisbezogene Tätigkeiten und Berufspraktika

2015 – 2016:	Praktisches Jahr in den Fachbereichen Innere Medizin, Anästhesie und Chirurgie
2012 – 2014:	Famulaturen im Bereich Anästhesie, Kardiologie, Allgemeinmedizin und Geburtshilfe
09/2009 – 11/2009:	Hauptamtliche Tätigkeit als Rettungsassistentin beim BRK Rettungsdienst in Starnberg
09/2008 – 08/2009:	Tätigkeit als Rettungsassistentin im Anerkennungsjahr beim BRK Rettungsdienst in Starnberg
02/2008 – 08/2008:	Verkürzte Ausbildung zur Rettungsassistentin am Medical Rescue College in Wolfratshausen
11/2007 – 12/2007:	Praktikum in der Unfallchirurgie am Klinikum der Universität München-Großhadern
07/2007 - 09/2007:	Hauptamtliche Tätigkeit als Rettungssanitäterin beim BRK Rettungsdienst in Starnberg
01/2007 – 06/2007:	Ausbildung zur Rettungssanitäterin am Medical Rescue College in Wolfratshausen
10/2006 – 01/2007:	Pflegepraktikum in der Pädiatrie und Neonatologie am Klinikum Starnberg

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Shahnaz Christina Azad, Leiterin der Interdisziplinären Schmerzambulanz am Klinikum Großhadern für die Überlassung dieses spannenden Themas und die langjährige, herzliche Betreuung. Die wertvollen Ratschläge, die ich durch die Zusammenarbeit in den letzten Jahren erhalten habe, werden mich auf meinem weiteren beruflichen und persönlichen Werdegang stets begleiten.

Herrn PD Dr. Benjamin Luchting möchte ich ganz herzlich für die Geduld und Hilfestellung während der Erstellung dieser Arbeit danken. Durch seine Unterstützung, die Durchführung der Analysen und die wissenschaftlichen Ratschläge hat er wesentlich zu der Studie und zur Fertigstellung dieser Dissertation beigetragen.

Für die praktische und wissenschaftliche Unterstützung möchte ich mich bei allen mitwirkenden medizinisch-technischen Assistentinnen des Labors an der Klinik für Anästhesiologie am Klinikum Großhadern bedanken. Dem Pflegepersonal der Schmerzambulanz Großhadern, insbesondere Irena, möchte ich ganz besonders für die Hilfsbereitschaft und Kooperation bei der Patientenbetreuung und Organisation der Blutentnahmen danken.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern Ingrid und Hans-Peter Zeitler, die mich auf meinem Weg durch das Studium und die ersten Berufsjahre begleitet haben. Ohne Eure ausdauernde und bedingungslose Unterstützung über all die Jahre wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Meinem Lebensgefährten Peter danke ich für seine Anregungen, das konstante Mut machen und die großartige Hilfe bei den Korrekturen. Zu guter Letzt danke ich meinen Kindern für seine sonnige Art, bedingungslose Liebe und die tägliche Erinnerung an die wichtigen Dinge im Leben.