

Aus der Klinik für Rheumatologie  
in der HELIOS-Fachklinik Vogelsang-Gommern GmbH

Ärztlicher Direktor und Chefarzt: Prof. Dr. med. habil. J. Kekow

**Untersuchungen zum Wirkmechanismus der Ganzkörper-Kryotherapie (-110°C)  
bei der Behandlung von Patienten mit einem Fibromyalgiesyndrom**

**D i s s e r t a t i o n**

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät  
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von      Oliver Christian Mika

aus                      Braunschweig

Magdeburg            2016

## Bibliographische Beschreibung:

Mika, Oliver Christian

Untersuchungen zum Wirkmechanismus der Ganzkörper-Kryotherapie (-110°C) bei der Behandlung von Patienten mit einem Fibromyalgiesyndrom. - 2016 -  
85 Bl., 17 Abb., 8 Tab., 4 Anl.

### Kurzreferat

Das Fibromyalgiesyndrom (FMS) ist eine chronische, nicht-degenerative Erkrankung, die als nicht-entzündliche Funktionsstörung klassifiziert wird. Es wird charakterisiert von Ganzkörperschmerz, Empfindungsstörungen, Steifheit, Erschöpfung, Schlafstörungen und depressiven Veränderungen. Ausgehend von bereits bekannten und beschriebenen positiven Beeinflussungsmöglichkeiten der FMS-Beschwerden durch den Einsatz der Ganzkörper-Kryotherapie (GKKT), wurde in dieser Arbeit untersucht, inwieweit sich die Anwendung der GKKT bei dieser Patientengruppe einerseits auf das (Schmerz-) Erleben der Studienteilnehmer, andererseits im Genexpressionsverhalten im Patientenblut auswirkt. Es konnte gezeigt werden, dass sich bei einem überwiegenden Teil der Patienten eine Verbesserung der bestehenden Beschwerden von deutlich mehr als 20% innerhalb der ersten drei Behandlungstage erzielen ließ. Die Genexpressionsanalysen in Zellen aus dem peripheren Blut zeigten unterschiedliche Regulationen unter dem Einfluss der Kryotherapie bei exemplarisch untersuchten Genen (CCL4, TGFβR3, CD69, MAP2K3 und IL-8). Für die Mehrheit der untersuchten Gene (4 von 5) konnte keine Korrelation der klinischen Beobachtungen mit Veränderungen der Expressionsspiegel beobachtet werden. Nur die Änderung Genexpression von CD69 korrelierte mit den empfundenen Schmerzen, gemessen mit der visuellen Analogskala (VAS), der Studienteilnehmer.

### **Schlüsselwörter**

Fibromyalgiesyndrom - Ganzkörper-Kryotherapie - Genexpression - Schmerztherapie

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>1-I</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>1-III</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>1-V</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>1-VI</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Schmerz .....	2
1.1.1 Definition .....	2
1.1.2 Medikamentöse Schmerztherapie nach dem WHO-Stufenschema .....	4
1.1.3 Die Ganzkörperkältetherapie als nicht medikamentöse Therapie .....	6
1.2 Das Fibromyalgiesyndrom.....	14
1.2.1 Definition und Klassifikation .....	14
1.2.2 Ätiologische und pathogenetische Gesichtspunkte .....	17
1.2.3 Diagnose FMS .....	18
1.3 Transkriptom / Transkriptomanalysen .....	23
1.4 Fragestellung der Dissertation .....	24
<b>2 Material und Methoden .....</b>	<b>25</b>
2.1 Material .....	25
2.1.1 Patienten.....	25
2.1.2 Dokumentation / Schmerzerfassung .....	26
2.2 Methoden .....	26
2.2.1 Untersuchungsablauf .....	26
2.2.2 Behandlungsablauf in der Kältekammer .....	27
2.2.3 Patientenfragebögen.....	27
2.2.4 Laboranalysen.....	28
2.2.4.1 Gewinnung der RNA.....	28
2.2.4.2 Affymetrix-Untersuchungen mit den 10 Patienten der Pilotstudie....	28
2.2.4.3 Für die Untersuchung ausgewählte Gene .....	29
2.2.4.4 RT-PCR .....	31
2.3 Statistik.....	34
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>35</b>
3.1 Patienten .....	35
3.1.1 Fragebogen-Daten .....	35
3.1.2 Schmerzverlauf .....	39

3.2	Laborergebnisse.....	41
3.2.1	Vergleich Labor / Klinik .....	44
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>56</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>71</b>
<b>8</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>72</b>
<b>9</b>	<b>Ehrenerklärung .....</b>	<b>73</b>
<b>10</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>74</b>

# Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
ASS	Acetylsalicylsäure
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
BMI	Body Mass Index
BWS	Brustwirbelsäule
CCL	CC-Chemokin-Ligand
cDNA	complementary Desoxyribonucleic Acid
CD	Cluster of Differentiation
CWP	Chronic widespread pain
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
FCKW	Fluorchlorkohlenwasserstoff
FMS	Fibromyalgiesyndrom
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GKKT	Ganzkörper-Kryotherapie
HWS	Halswirbelsäule
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
IFN $\gamma$	Gamma-Interferon
IL	Interleukin
ISAP	International Association for the Study of Pain
lb/in $^2$	US-Pfund pro Quadratinch
LWS	Lendenwirbelsäule
MAP2K3	Mitogen-Aktivierte Protein-Kinase-Kinase 3
MST®	Morphium
MW	Mittelwert
NHIS	National Health Interview Survey
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
NTP	Nukleosidtriphosphat
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
p38 MAPK	p38-mitogenaktivierte Proteinkinasen
RAS	Rat sarcoma, G-Protein Ras

RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	real-time Polymerase Kettenreaktion
SD	Standard Deviation = Standardabweichung
S3	Leitlinie mit allen Elementen systematischer Entwicklung
SEM	Standard Error of Mean = Standardfehler des Mittelwertes
SS	Symptomschwere-Score
TGF $\beta$ R3	Transforming growth factor-beta Receptor III
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor Alpha
TTS	Typ III-Sekretionssystem
VAS	Visuelle Analogskala
WBCT	Whole body cryotherapy
WHO	Weltgesundheitsorganisation
WPI	Widespread Pain Index
ZNS	Zentrales Nervensystem

# Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Kältekammer der HELIOS-Fachklinik Vogelsang-Gommern GmbH
- Abbildung 2: Die Ganzkörper-Kryotherapie (GKKT) als Lösungsansatz zur Löschung des Schmerz-Gedächtnisses
- Abbildung 3: FMS-Modell eines Schmerzkontinuums
- Abbildung 4: Algorithmus der FMS-Diagnose
- Abbildung 5: Besserung der körperlichen Beweglichkeit
- Abbildung 6: Zunahme der Lockerheit der Muskulatur
- Abbildung 7: Abnahme des unangenehmen Gefühls der körperlichen Steifheit
- Abbildung 8: Besserung des allgemeinen Wohlbefindens
- Abbildung 9: Linderung des Ganzkörperschmerzes
- Abbildung 10: Reduktion der VAS-Schmerzen
- Abbildung 11: Genexpressionsspiegel von CD69, CCL 4, Map2K3, TGF $\beta$ R3 und IL-8
- Abbildung 12: Genexpressionsspiegel von MAP2K3
- Abbildung 13: Genexpressionsspiegel von CD69
- Abbildung 14: Veränderungen der Genexpressionsspiegel unter der GKKT von CCL4 (A), CD69 (B), IL8 (C), MAP2K3 (D) und TGF $\beta$ R3 (E) bei Respondern im Vergleich zu Non-Respondern
- Abbildung 15: Assoziation der Genexpressionsveränderungen von MAP2K3 mit VAS-Schmerzverbesserung (A) und prozentuale Gesamtverbesserung (B)
- Abbildung 16: Assoziation der Genexpressionsveränderungen von CD69 und IL-8 mit VAS-Schmerzverbesserung (A, C) und prozentuale Gesamtverbesserung (B, D)
- Abbildung 17: Assoziation der Genexpressionsveränderungen von CCL4 und TGF $\beta$ R3 mit VAS-Schmerzverbesserung (A, C) und prozentuale Gesamtverbesserung (B, D)

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anwendungsübersicht der Kälte-/Kryo-Therapie

Tabelle 2: Kriterien für die klinische Diagnose des FMS

Tabelle 3: Patientencharakteristik der in die Studie eingeschlossenen Patienten vor Beginn der GKKT

Tabelle 4: Signifikant regulierte Transkripte

Tabelle 5: Reaktionsmix für die reverse Transkription

Tabelle 6: Verwendete Primer/Probe Assays

Tabelle 7: Zusammensetzung der PCR-Ansätze

Tabelle 8: Befragungsergebnisse der patientenseitigen Einschätzung im Verlauf der ersten drei Behandlungstage



# 1 Einleitung

In Deutschland leiden 12 bis 15 Millionen Menschen unter chronischen Schmerzen. Davon sind Ein Drittel in ihrem täglichen Leben stark beeinträchtigt [125]. Fast 80% der Menschen mit chronischen Schmerzen haben eine Leidensgeschichte, die durchschnittlich sieben Jahre lange andauert, bei ca. 20% dieser Patienten mehr als 20 Jahre lange. Über die Hälfte aller betroffenen Patienten mit chronischen Schmerzen warten zwei Jahre oder länger auf eine ausreichend wirksame Schmerzbehandlung. Nur etwa 10% aller chronischen Schmerzpatienten in Deutschland werden einem professionellen Schmerztherapeuten vorgestellt. Der Dauerschmerz führt bei den Patienten zu zunehmenden körperlichen Einschränkungen im Alltag. Darüber hinaus können chronische Schmerzen mit einer depressiver Stimmungslage, angstvollen Gedanken, Schlafstörungen und verminderter Konzentrationsfähigkeit assoziiert sein. Bei einem Großteil (80%) der Patienten mit chronischen Schmerzen, die nicht mehr an ihren Arbeitsplatz zurückkehren, treten o.g. Stimmungslagen, permanenten Belastungen und Konflikte im beruflichen und privaten Bereich auf [103]. Zu den Erkrankungen, bei denen diese Symptome häufig und therapieresistent auftreten, gehört das Fibromyalgiesyndrom (FMS). Dabei treten unter anderem Myalgien, Arthralgien und Lumbalgie in wechselnden Lokalisationen sowie Druckschmerzempfindlichkeit, Morgensteifigkeit und ein Schwellungsgefühl im Gesicht und an den Extremitäten auf, die es zu behandeln gilt [65].

Im Zuge eines multimodalen Behandlungsansatzes kann als eine Form der physikalischen Therapie die Ganzkörper-Kryotherapie (GKKT) zum Einsatz kommen [107]. Obwohl sie bereits seit vielen Jahren erfolgreich bei der Mitbehandlung des FMS eingesetzt wird, sind deren genaue Wirkungsmechanismen noch nicht vollständig geklärt. Studien bei FMS-Patienten unter Kälteexposition zeigten Veränderungen im Expressionsniveau relevanter Gene und proinflammatorischer Zytokine [14,91,108]. Ob diese Veränderungen mit der subjektiven Schmerzwahrnehmung (gemessen mit visueller Analogskala, VAS) und dem subjektiven Gesamtwohlbefinden von FMS-Patienten unter Einfluss von GKKT in Verbindung stehen, ist ein Ziel der vorliegenden Arbeit.

# 1.1 Schmerz

## 1.1.1 Definition

Die International Association for the Study of Pain, kurz ISAP (Internationale Schmerzgesellschaft) lieferte für Schmerzen bereits 1979 folgende Definition: "Schmerz ist ein unangenehmes Sinnes- und Gefühlserlebnis, das mit aktueller oder potenzieller Gewebeschädigung verknüpft ist oder mit Begriffen einer solchen Schädigung beschrieben wird" [58]. Eine neuere Definition wurde 1999 von Donald D. Price vorgeschlagen: „Schmerz ist eine Wahrnehmung des Körpers, die erstens eine Sinnesempfindung in der Qualität, die bei einer Gewebeverletzung beschrieben wird, zweitens eine erlebte Bedrohung, die mit dieser Sinnesempfindung assoziiert ist und drittens ein unangenehmes oder andersartig negatives Gefühl, das auf der erlebten Bedrohung basiert, umfasst“ [140].

Zur Schmerzeinteilung können verschiedene Kriterien herangezogen werden [45].

Nach Entstehungsort: somatisch oder viszeral

Nach zeitlichem Verlauf: akut oder chronisch (persistierende oder intermittierende Schmerzen länger als sechs Monate

Nach Symptomen: dumpf, bohrend, ziehend, punktförmig stechend, krampfartig, belastungsabhängig

Schmerzen können unter pathogenetischen Gesichtspunkten in folgende Hauptkategorien eingeordnet werden:

- Nozizeptiver Schmerz

Diese Form des Schmerzes ist der klassische akute Schmerz, der z.B. durch thermische, chemische oder sonstige Reize ausgelöst wird. Dabei lösen diese Reize Erregungen primär nozizeptiver Nervenendigungen aus, welche zwar nicht mit einer Nervenschädigung, aber häufig mit einer Gewebsschädigung verbunden ist [35]. Weiterhin unterscheidet man somatische Schmerzen, die sich noch unterteilen lassen in Oberflächen- und Tiefenschmerz, welche zumeist lokal begrenzt sein können, und viszerale Schmerzen, die als übertragene Schmerzen nicht nur am Entstehungsort, sondern als Head-Zone in bestimmten Regionen der Körperoberfläche empfunden werden können [45].

- Neuropathischer Schmerz

Dieser entsteht durch Erkrankungen oder Störungen mit Affektion des somatosensorischen Systems. Diese Schmerzen unterscheiden sich von anderen Schmerzformen, weil sie durch eine Erkrankung des Nervensystems selbst und primär nicht durch eine Erregung von Nozizeptoren ausgelöst werden. Neuropathische Schmerzen sind oft mit neurologischen Ausfallsymptomen und oft mit Par- oder Dysästhesien verbunden [35].

- Schmerzen mit gemischter oder unspezifischer Ätiologie

Diese Schmerzform kommt relativ häufig vor und wird auch als „Mixed Pain“ bezeichnet. Hierbei handelt es sich um Schmerzsyndrome, bei denen sich pathogenetisch nozizeptive Anteile (durch Aktivierung von Nozizeptoren) und / oder neuropathische/neurogene Anteile (durch Irritation oder Schädigung neuronaler Strukturen) finden lassen, wobei zugrunde liegende Mechanismen auch unbekannt sein können [118].

- Somatoforme Schmerzstörung

Hierunter lassen sich Schmerzstörungen zusammenfassen, die bezüglich Schmerzentstehung und –aufrechterhaltung stark synergistisch von körperlichen und psychischen Einflussfaktoren geprägt sind. Hierzu können gezählt werden das allogene Psychosyndrom, welches durch Schmerzreize psychische Reaktionen hervorrufen kann; der somatopsychische Schmerz, der sich bei persistierenden organischen Schmerzen manifestieren kann; weitere psychische Erkrankungen, wie beispielsweise Depressionen, die psychosomatische Beschwerden, wie körperliche Schmerzen als Zeichen einer seelischen Belastung entstehen lassen; und Schmerzverarbeitungsstörungen, bei denen starke quälende Schmerzen bei psychosozialen oder emotionalen Konflikten auftreten können [45].

- Psychogene Schmerzen

Hier sind die Schmerzen nicht an einem ständig vorhandenen organischen Entstehungsort auszumachen. Es ist davon auszugehen, dass die Ursachen im Gehirn selbst zu finden sind. So kann das Gehirn Schmerzen erzeugen und auch erhalten, wenn gar keine Verletzung von Organen oder anderen Geweben vorliegt. Diese Schmerzen neigen zur Chronifizierung [73].

## 1.1.2 Medikamentöse Schmerztherapie nach dem WHO-Stufenschema

Das WHO-Stufenschema ist eine von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) entwickelte, auf drei Stufen fußende Empfehlung zum Einsatz von Analgetika und anderen Arzneimitteln im Rahmen der Schmerztherapie [139].

<u>Stufe</u>	<u>Medikamente</u>
Stufe 1	Nicht-Opioidanalgetika
Stufe 2	Niederpotente Opioidanalgetika und Nicht-Opioidanalgetika
Stufe 3	Hochpotente Opioidanalgetika und Nicht-Opioidanalgetika

Es wird empfohlen, dass in jeder dieser Stufen bedarfsgerechte, unterstützende Maßnahmen wie Physiotherapie, Balneotherapie und weitere physikalische Therapiemaßnahmen eingesetzt werden. Auch sollen Co-Medikationen (s.u.) zur Anwendung gebracht werden [5].

- Nicht-Opioidanalgetika der 1. Stufe:

- Nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR) mit den Untergruppen
  - Salicylate (z.B. ASS)
  - Carbonsäurederivate (z.B. Diclofenac, Ibuprofen, Naproxen)
  - COX2-Inhibitoren (z.B. Celecoxib, Valdecoxib)
  - Pyrazolone (z.B. Metamizol)
  - Aniline (z.B. Paracetamol)

- Niederpotente Opioidanalgetika der 2. Stufe:

- Tramadol, Tilidin + Naloxon (oral), Dihydrocodein

- Hochpotente Opioidanalgetika der 3. Stufe:

- Buprenorphin, Fentanyl, Hydromorphon, Morphin und Oxycodon

Buprenorphin und Fentanyl werden als Basistherapeutika in Transdermalsystemen (TTS), als so genannte "Schmerzpflaster" oder auch orale Applikationsformen in Form von sublingualen Schmelztabletten (Buprenorphin) oder Lutschtabletten (Fentanyl) verwendet. Morphin wird oral in Form von Morphinsulfat (MST), wie auch das Oxycodon eingesetzt. Das Morphinsulfat hat den Vorteil einer schnelleren Ansprechzeit.

### Co-Medikation:

Die so genannte Co-Medikation dient einerseits zur Unterstützung der Analgesie z.B. bei neuropathischem Schmerz, andererseits zur Behandlung der Nebenwirkungen der Analgetika. Eine Co-Medikation kann und sollte in jeder Stufe des WHO-Schemas eingesetzt werden. Nebenwirkungen wie Übelkeit und Obstipation treten überwiegend in den Stufen 2 und 3 als unerwünschte Arzneimittelwirkung durch die Opioidanalgetika auf.

Medikamente, die zur Unterstützung der Analgesie eingesetzt werden, sind:

- Trizyklische Antidepressiva: Imipramin, Clomipramin  
Einsatzgebiet: z.B. neuropathischer Schmerz, bessere Schmerzbewältigung
- Antikonvulsiva: Carbamazepin, Gabapentin  
Einsatzgebiet: neuropathischer lanzierender Schmerz
- Zentral wirkende Muskelrelaxanzien: Baclofen  
Einsatzgebiet: krampfartiger neuropathische Schmerz, Phantomschmerz
- Glukokortikoide: Dexamethason, Prednisolon  
Einsatzgebiet: wirkt antiemetisch, antiphlogistisch und antiödematös

Medikamente, die zur Behandlung der Analgetika-Nebenwirkungen verwendet werden:

- Antiemetika: z.B. Metoclopramid, Ondansetron, Tropisetron
- Antihistaminika: z.B. Dimenhydrinat
- Neuroleptika: Haloperidol
- Glukokortikoide: Dexamethason, Prednisolon
- Laxantien: Macrogol, Lactulose, Natrium-Picosulfat, Bisacodyl [5,118,139]

### **1.1.3 Die Ganzkörperkältetherapie als nicht medikamentöse Therapie**

Kälte gegen Entzündungen, zur Abschwellung und Schmerzlinderung, ist ein altbekanntes Heilmittel, welches bereits bei den alten Griechen und Römern bekannt war. Hierzu setzten sie Eis und Schnee ein, was auch Hippokrates (460-377 v. Chr.) im Corpus Hippocraticum, einer Sammlung medizinischer Schriften der Ärzteschule von Kos, bereits beschrieb [75].

Der persische Arzt Avicenna (980–1070) machte sich die analgetische Wirkung von Kälte durch Eiswasser und Schnee ebenso zunutze, wie Jahrhunderte später der Chirurg Marco Aurelio Severino (1580-1656), der vor Operationsbeginn schneegefüllte Behälter zur Unterkühlung der Haut einsetzte. Dominique Jean Larrey (1766–1862), einer von Napoleon Bonapartes führenden Armee-Chirurgen, entdeckte auf eisigen Schlachtfeldern, dass bei Temperaturen um  $-19^{\circ}\text{C}$  schmerzfreie Amputationen an stark unterkühlten verwundeten Soldaten durchgeführt werden konnten. Ein erstes Kühlsystem, welches einerseits Behandlungen von Entzündungen, andererseits eine lokale Hypothermie vor Operationen unter kontinuierlicher Kühlung ermöglichte, wurde 1847 von dem Engländer James Arnott entwickelt. Es war die Zeit, in der die positiven militärärztlichen Erfahrungen mit Kälteanwendungen zunehmend in den zivilmedizinischen Bereich Einzug hielten. Beispielsweise hatte sich der Kieler Arzt Friedrich von Esmarch (1823-1908) einen Namen gemacht, indem er bei rheumatischen Erkrankungen und Entzündungen trockene Kälte über längere Zeiträume anwandte [114].

Auch kalte Umschläge zur Fiebersenkung in Form von Wadenwickeln oder zur Stirnkühlung werden seit vielen hundert Jahren eingesetzt. Die Kaltwasseranwendungen von Pfarrer Sebastian Kneipp (1821-1897) u. a. zum Zwecke der Entzündungsbekämpfung sind ebenfalls kältetherapeutisch erwähnenswert. Er wendete sowohl kalte Sitz- und Fußbäder, als auch kalte Halb- und Vollbäder, teilweise von nur Sekunden-Dauer, an. Seit den 1960er Jahren wurden Rheumapatienten mit gezielten Eisbeutel-Anwendungen therapiert. So wurden die Effekte von mehrstündiger lokaler Analgesie und Antiphlogistik, im Verlauf dann mehrmals täglich, genutzt [67].

Kryo leitet sich vom altgriechischen κρύος [kryos] „Frost, Eis“ ab. Als Kryotherapie bezeichnet man den gezielten Einsatz von Kälte, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen, nämlich in ihren modernen Formen jene Maßnahmen, die einem Wärmeentzug aus dem Gewebe dienen. Diese werden bei Temperaturen unter 0°C als Kryotherapie bezeichnet und über 0°C als Kältetherapie [78]. Sie ist nicht nur klinisch wirksam, sondern auch nebenwirkungsarm und seit vielen Jahren ein nicht mehr wegzudenkender Bestandteil im therapeutischen Alltag physikalischer Therapieformen. Aktuell stehen für die Durchführung der Kälte- und Kryotherapie folgende Formen der Anwendung zur Verfügung [41]:

- Anwendung von Eis mittels Eisbeutel oder Eiswickeln, sowie Massagen und Abreibungen mit Eis. Wichtig: Aufgrund der raschen Kälteabgabe ist Eis nur für kurzzeitige Applikationen geeignet.
- Kältepackungen, wobei als Medium Substanzen wie Lehm, Moor und auch Silikongele fungieren. Günstig erweist sich hierbei die langsamere Abgabe der Kälte, die somit für längerfristige Anwendungen geeignet sind.
- Bäder mit kaltem Wasser
- Einsatz von Kältesprays, die z.B. Chloräthyl enthalten
- Kaltluft-Behandlungen mit Temperaturen von -30°C, bzw. der Einsatz von Kaltgasen, wie Stickstoff (-100°C)
- Die Kältekammer für die Ganzkörperkältebehandlung

Die folgende Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Art, Temperaturbereiche und Anwendungsdauer der genannten kälte-/kryotherapeutischen Verfahren:

Tabelle 1: Anwendungsübersicht der Kälte-/Kryotherapie, modifiziert nach [43]

	<b>Anwendung</b>	<b>Temperatur</b>	<b>Anwendungsdauer</b>
<b>Kaltwasser</b>	lokal großflächig	ca. +10°C bis +15°C, wenig wechselnd	2-10 Minuten
<b>Schmelzendes Eis</b>	lokal	0°C bis +4°C, konstant	1-60 Minuten
<b>Kryogel-Beutel</b>	lokal	ca. -12°C bis +30°C, wärmer werdend	1-30 Minuten
<b>Kaltluft (Stickstoffgas)</b>	lokal	-30°C bis -20°C, konstant	2-3 Minuten
	lokal großflächig	-180°C bis -140°C, konstant	um 0,5 Minute
	Ganzkörper	-140°C bis -110°C, konstant	1-3 Minuten

Therapeutische Behandlungsansätze mit einer Ganzkörper-Kälteexposition wurden erstmals Ende der 1970er Jahre von dem Japaner Yamauchi eingeführt. Er konstruierte die erste Kältekammer zur Behandlung von Rheuma-Patienten. Hierbei begaben sich die Patienten in eine stickstoffbetriebene Kältekammer bei  $-110^{\circ}\text{C}$  für eine Aufenthaltsdauer von maximal drei Minuten. Dies stellte den Beginn der Ganzkörper-Kryotherapie (GKKT) dar [44,138].

Gegenwärtig wird die Kryotherapie empirisch in einem weitgefassten Bereich des rheumatischen Formenkreises als symptomatische Behandlung eingesetzt. Hierbei werden die gut bekannten analgetischen, antiphlogistischen und muskelrelaxierenden Effekte genutzt [33,29,106]. Diese unterstützende Therapieform ist kostengünstig (besonders bei lokal angewandter Kryotherapie) und wird im Allgemeinen gut toleriert [81,102]. Die technischen Abläufe, wie lokale oder Ganzkörper-Anwendung, Therapiedauer oder Anzahl der Behandlungen [90], sowie die physikalischen Gegebenheiten sind sehr unterschiedlich und bislang noch unzureichend standardisiert [130]. Es gibt Hinweise, dass der kurzzeitige Einsatz der GKKT physiologische Reaktionen des Körpers in Form von Analgesie, Abschwellung und systemische Reaktionen des Hormon-, Immun- und Kreislaufsystems stimuliert. Unterliegt die Dauer der Kälteexposition einer strikten zeitbegrenzten Kontrolle, kann diese Therapieform keine signifikanten Kreislaufsituationen, wie Blutdruckentgleisungen, Arrhythmien, ischämische Ereignisse und negative Beeinflussung der linksventrikulären Ejektionsfraktion einerseits und auch



andererseits keine negativen Auswirkungen auf die Lungenfunktion bei Nichtasthmatikern hervorrufen. Die GKKT gilt als sicher [111].

Die spezielle Form der GKKT wurde in Deutschland von Fricke erstmals ab 1984 eingesetzt [66,138,38,21,62,84].

#### Technisches Prinzip einer dreistufigen Ganzkörper-Kältekammer:

In der Kälte- und climatechnischen Weiterentwicklung der GKKT wird bereits seit Jahren auf den Einsatz von Stickstoff verzichtet, statt dessen wird mit einer FCKW-freien Dreierkaskadenkühlung gearbeitet [67]. Deren Wirkprinzip besteht daraus, dass jede der drei Stufen der Kaskade von einem eigenen Kühlkreis betrieben wird. Wie bei einem Kühlschrank komprimiert ein Kompressor das Kältemittel. Die Wärme, die beim Kompressionsvorgang entsteht, wird durch Austausch- und Kondensationsvorgänge abgeführt. Gesammeltes kondensiertes Kältemittel wird flüssig in einen Verdampfer geleitet, der bei Expansion im Verdampfer wiederum der Kältekammer Wärme entzieht. Letztlich schließt sich der Kühlkreislauf, via Flüssigkeitsabscheider über den Kompressor. Bei allen drei Kammern handelt es sich um geschlossene Kühlsysteme, die aber jeweils andere Kühlmedien verwenden [92,100]. Bei der ersten Schleusenkammer/Kühlstufe (-10°C) wird gasförmiges Propylen eingesetzt. Die zweite Kammer (-60°C) verwendet das Paraffin Äthan, wobei in der dritten Kühlkammer Äthylen eingesetzt wird, um die Ziel-Temperatur von -110°C zu erreichen [92]. Im Selbstversuch auffällig ist die Lufttrockenheit. Diese lässt sich dadurch erklären, dass bei Temperaturen von -110°C eine ca. 80% höhere Luftdichte (2,153kg/m<sup>3</sup>) als unter normalen Raumtemperaturen (1,188kg/m<sup>3</sup>) bei 20°C und 0,1MPa herrscht. Zusätzlich sinkt parallel der maximale Gehalt der Luftfeuchtigkeit auf wenige µg/m<sup>3</sup>, verursacht durch Auskondensation von Feuchte und Kohlendioxid bei -110°C. Für einen gleichmäßigen (laminaren) vertikalen Luftstrom wird die Kältekammer ähnlich wie in einem OP belüftet. Dies dient der Erzielung einer homogenen Temperatur innerhalb der Kältekammer [80,92]. Die folgende Abbildung 1 zeigt die dreistufige Kältekammer, in die sich die Patienten für die vorliegende Studie begaben:



Abbildung 1: Kältekammer der HELIOS-Fachklinik Vogelsang-Gommern GmbH, rechts -10°C, Mitte -60°C und links -110°C mit Notausgangstür.

Inzwischen etablierte Einsatzgebiete der Ganzkörperkältetherapie sind nach [107]:

1. Entzündlich-rheumatische Erkrankungen mit Hauptmanifestationen an den Gelenken (Rheumatoide Arthritis, Spondyloarthropathien)
2. Degenerativ-rheumatische Erkrankungen
3. Hals- und Lendenwirbelsäulen-Syndrome (Diskopathien, Lumbago, Ischiassyndrom), auch prä- und postoperativ
4. Tendopathien
5. Chronische Schmerzzustände einschließlich des Fibromyalgiesyndroms
6. Gestörte Regulation des Muskeltonus (Spastik) bei infantiler Zerebralparese, Multipler Sklerose, Muskelverspannungen, -verhärtungen
7. Stumpfe Traumen der Gelenke und der Muskulatur
8. Schuppenflechte mit und ohne Gelenkbeteiligung
9. Atopische Dermatitis (Neurodermitis), Asthma bronchiale
10. Muskuläre Ermüdungserscheinungen

### Absolute und relative Kontraindikationen der GKKT:

Diese werden in der Literatur teilweise unterschiedlich bewertet. Auch fließen hierbei persönliche Beobachtungen der Quellenautoren ein [107,42,41,100].

Zu den absoluten Kontraindikationen zählen:

1. Unbehandelte arterielle Hypertonie
2. Herzinfarkt, der weniger als sechs Monate zurückliegt
3. Kardio-Pulmonale Dekompensation
4. Instabile Angina pectoris
5. Implantation eines Herzschrittmachers
6. Periphere arterielle Verschlusskrankheit (Stadium III und IV nach Fontaine)
7. Abgelaufene Venenthrombosen
8. Akute respiratorische Erkrankungen
9. Akute Nieren- und Harnwegserkrankungen
10. Schwere Anämie
11. Auftreten von kälteallergischen Symptomen und Kryopathien (kältereaktive Antikörper, paroxysmale Kältehämoglobinurie, Kälteurtikaria)
12. Tumorerkrankungen
13. Anfallsleiden
14. Bakterielle und virale Hautinfektionen
15. Schwere Immunsuppression

Relative Kontraindikationen der GKKT [107]:

1. Herzrhythmusstörungen
2. Herzklappenvitien
3. Zustand nach Herzoperationen
4. Ischämische Herzkrankheit
5. Raynaud-Syndrom
6. Polyneuropathien
7. Schwangerschaft ab dem vierten Monat
8. Vaskulitiden
9. Klaustrophobie

Bei den relativen Kontraindikationen ist darauf hinzuweisen, dass letztlich die vorherige ärztliche Diagnostik für eine mögliche Teilnahme an der GKKT

entscheidend sein sollte. Es gibt auch Einrichtungen, die Hypothyreosen, Hyperhidrosis und ein Patientenalter über 75 Jahren als eine relative Kontraindikation ansehen [107]. Letzteres wird von anderer Seite aber als sicher angesehen [48].

#### Wirkungsweise der GKKT:

Im Gegensatz zur lokalen Kryotherapie wirkt die GKKT nicht über eine Abnahme der Gewebstemperatur, sondern in erster Linie über Veränderungen auf nervös-reflektorischer Ebene, ausgelöst durch einen blitzartig einsetzenden extremen Kältereiz, der ein rasches Absinken der Temperatur der Hautoberfläche binnen Minuten herbeiführt. Hierbei entladen sich Kälterezeptoren die, maximal stimuliert, von Normalfrequenzen um 15 Impulsen/sec. bis auf 130 Impulsen/sec ansteigen. Sie sind, wie auch Wärmerezeptoren, Endungen von Thermorezeptoren und -sensoren von A-Delta-Fasern innerhalb der menschlichen Haut und Teil des peripheren Nervensystems. Sie leiten afferent Temperaturimpulse zum ZNS via Rückenmark [107].

Neben der Behandlung von chronisch entzündlichen Erkrankungen ist auch bei der Therapie von chronischen Schmerzzuständen wie das Fibromyalgiesyndrom im Rahmen der GKKT bedeutsam, wie rasch die Oberflächentemperatur der Haut abgesenkt werden kann. Mit Kältekammern, die  $-110^{\circ}\text{C}$  erreichen, ist die angestrebte Oberflächentemperatur der Haut von  $<5^{\circ}\text{C}$  sicher innerhalb der maximal dreiminütigen Einwirkzeit realisierbar [80].

Die GKKT kann ein bestehendes Schmerzgedächtnis positiv beeinflussen. Die Abbildung 2 zeigt einen Lösungsansatz bei Patienten hierfür:

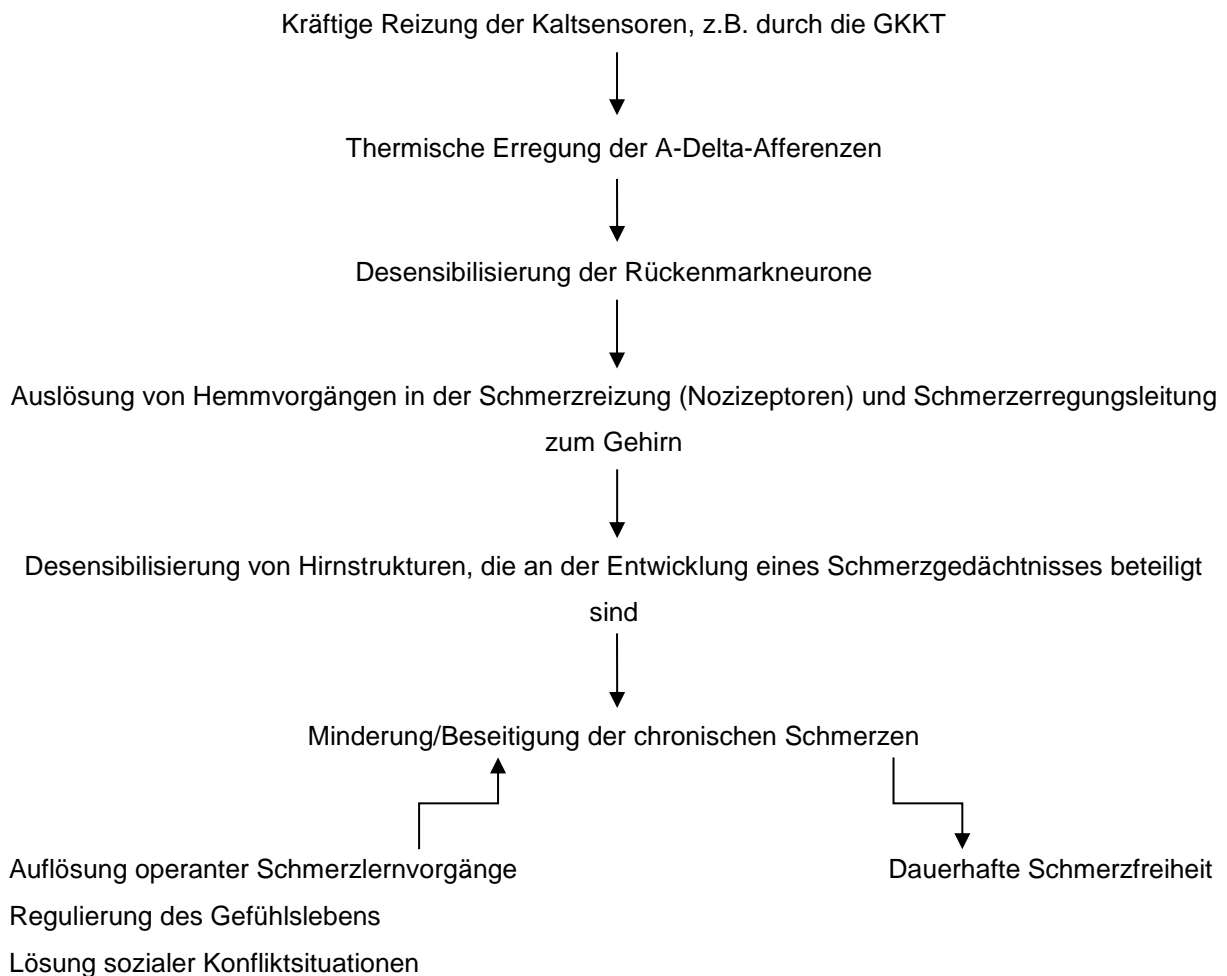


Abbildung 2: Die GSKT als Lösungsansatz zur Löschung des Schmerzgedächtnisses, modifiziert nach [107].

Neben A-Delta-Nervenfasern zählen auch C-Nervenfasern zu den Nozizeptoren/sensoren, also Schmerzrezeptoren, die gleichfalls als freie Nervenendungen in der Haut, aber auch in Gelenken, Muskulatur und inneren Organen vorhanden sind. Diese reagieren sowohl auf thermische, als auch auf mechanische und chemische Reize. Schmerzsignale/Schmerzerregungen gelangen über die A-Delta- und C-Fasern zum Rückenmark, weiter über aufsteigende spinale Bahnen via Thalamus bis zum Kortex. Dort erfolgen Gegenreaktionen auf die eintreffenden Schmerzimpulse in Form von intracerebraler Serotonin- und Endorphin-Freisetzung, welche die Schmerzwahrnehmung, neben im ZNS synthetisierte Gamma-Aminobuttersäure (GABA), hemmen. Leider gelingt es dem Organismus, die Schmerzwahrnehmung und –Verarbeitung nur bis zu einem gewissen Grad zu regulieren und die Schmerzintensität zu reduzieren. Werden die intraindividuellen Grenzen erreicht, gar überschritten, drohen sich die Schmerzwahrnehmungen zu chronifizieren. Neuronale

Sensibilisierungsvorgänge, ausgelöst durch repetitive starke Schmerzreize, führen zu einer verstärkten intraspinalen Glutamatfreisetzung und zur Freisetzung des schmerzmodulierenden Neuropeptids Substanz P. Afferente Signale der A-Delta- und C-Fasern erfahren hierbei eine anhaltende Verstärkung bei den weiterverarbeitenden (Hinterhorn-) Neuronen, so dass auch relativ schwache Schmerzimpulse intensiver bis unangemessen stark wahrgenommen werden. Bei diesen prolongierten Sensibilisierungsprozessen ist die Ausbildung eines Schmerzgedächtnisses die Folge. Diese werden einerseits durch die Hyperstimulation zum Teil ruhender peripherer Synapsen, andererseits durch neuronale, aber auch soziale Lernprozesse beeinflusst [84,107,119].

## **1.2 Das Fibromyalgiesyndrom**

### **1.2.1 Definition und Klassifikation**

Chronische Schmerzen, welche mehrere Körperregionen betreffen (Chronic Widespread Pain, CWP), werden in der allgemeinen Bevölkerung mit einem Anteil von 5-13% Betroffenen und einem Verhältnis von Frauen zu Männern von 2:1 häufig beschrieben. Oft sind diese Schmerzen mit weiteren seelischen und körperlichen Symptomen vergesellschaftet [76]. Das Fibromyalgiesyndrom (FMS) ist charakterisiert durch generalisierte o.g. Schmerzen, welche oft verbunden sind mit starker Erschöpfung (Fatigue), erhöhter Schmerzempfindlichkeit am Körper, Kopfschmerzen, Müdigkeit, körperlicher Steifheit, Schlafstörungen und Stimmungsschwankungen [87,8].

Folgende Begleitsymptome werden des Weiteren beschrieben [85]:

- Vegetative Symptome, wie kalte Akren, trockener Mund, Hyperhidrosis der Hände, Dermographismus, orthostatische Beschwerden, respiratorische Arrhythmie und Tremor
- Funktionelle Störungen, wie die o.g. Schlafstörungen, gastrointestinale und urogenitale Beschwerden, kardiale und respiratorische Beschwerden, sowie Dysästhesien

- Psychopathologische Symptome, zu denen Ängstlichkeit, Nervosität, Reizbarkeit und reaktive Depressionen zählen [17,37]

Das FMS lässt sich somit als stärkste Ausprägungsform im Gesamt-Kontinuum aus Schmerzen, Schmerzausdehnung, Druckschmerzempfindlichkeit und biopsychosozialen Stress (Distress) verstehen [118]. Veranschaulicht wird dies in der folgenden Abbildung 3, einem FMS-Modell eines Schmerzkontinuums:

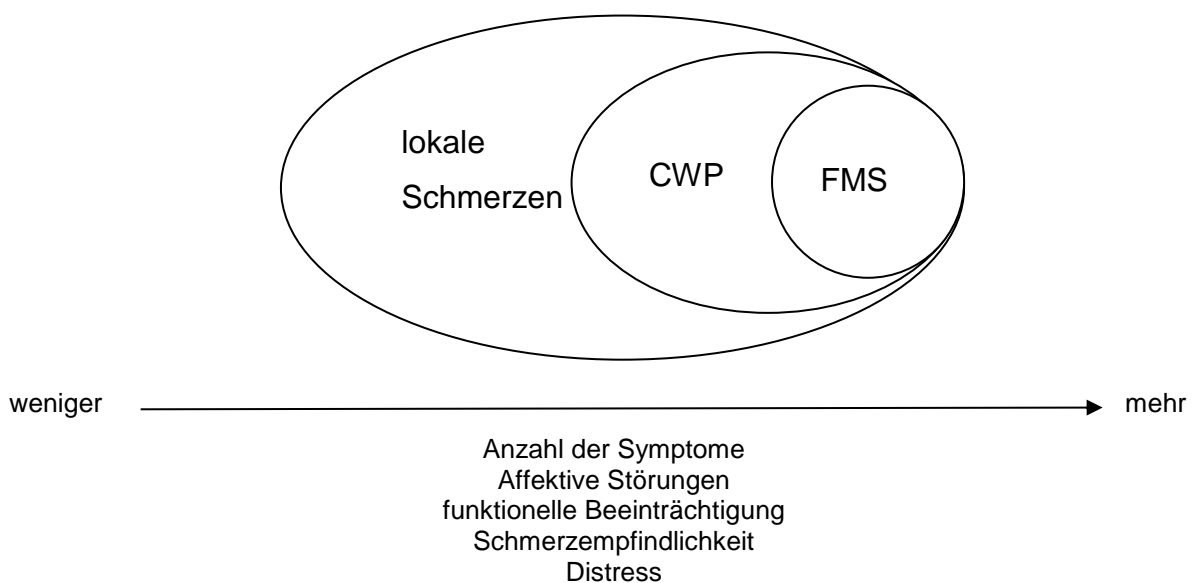


Abbildung 3: FMS - Modell eines Schmerzkontinuums, modifiziert nach [118]

Komplizierend ist der Umstand, dass dieses Beschwerdebild bezüglich seiner Definition, Klassifikation und Diagnose unter den Beteiligten (Fachgesellschaften, Ärzte, Psychologen und Patienten) immer noch umstritten ist [134].

FMS-Patienten hat es offensichtlich schon vor Christi Geburt gegeben, wobei auch spätere bekannte Persönlichkeiten wie Charles Darwin oder Florence Nightingale betroffen gewesen sein sollen [117]. Das FMS wurde zuerst Mitte des 19. Jahrhunderts als „muskulärer Rheumatismus / Weichteilrheumatismus“ und dann mit „Tender Points“ (Druckpunkten) beschrieben [68]. 1904 prägte der Neurologe Sir William Gowers den Begriff „Fibrositis“ in einem Artikel des British Medical Journal. Er wählte diesen Terminus, um eine Definition für die Entzündung von fibrösem Gewebe zu geben [50]. Am Ende des 20. Jahrhunderts erkannten viele Rheumatologen, dass das FMS komplexer zu sehen war und nicht zu der Gruppe von milden und unauffällig erscheinenden Syndromen gehörte, welche mit

diagnostischen Kriterien klassifizierbar, evaluierbar und validierbar waren. Der Begriff Fibromyalgie wurde erstmals 1976 gebraucht [61].

Aktuell besteht ein weitgehender Konsens innerhalb der Fachgesellschaften, wonach das FMS als funktionelles somatisches Syndrom eingestuft und klassifiziert werden kann. In diesem Zusammenhang erscheint auch der Hinweis wichtig, dass das FMS nicht grundsätzlich mit Formen von anhaltenden somatoformen oder chronischen Schmerzstörungen mit und ohne einer psychischen Komponente gleichzusetzen ist [36]. Schlüsselt man den FMS-Beschwerdekomplex in die Bereiche körperliche Beeinträchtigungen, seelische Belastungen, psychosoziale Stressoren, subjektive Ursachenüberzeugungen und die Inanspruchnahme medizinischer Leistungen durch die Betroffenen auf, erscheint diese Betrachtungs- und Herangehensweise an das FMS durchaus sinnvoller, als die bloße Einordnung des FMS in eine der Kategorien der „anhaltenden somatoformen Schmerzstörung“ [53].

#### Triggerpunkte versus Tender points:

Bei Triggerpunkten handelt es sich definitionsgemäß um druckempfindliche Bereiche in den myofaszialen Muskelbauch-Anteilen, welche durch Druck, Dehnung, Wärme und Kälte, aber auch durch andere physische und psychische Einflussfaktoren (Schmerz-) Irritationen ausgelöst werden können. Wenn charakteristische Areale gereizt werden, können also Muskelkontraktionen oder ausstrahlende Schmerzen ausgelöst werden. Bei diesen Arealen spricht man von Referenzzonen. Triggerpunkte verursachen fortgeleitete Schmerzen. Hingegen findet man bei den Tenderpoints (= Druckpunkte) die Schmerzen im Bereich der Ansätze und Ursprünge der Sehnen von vorwiegend tonischer Muskulatur. Bei Palpation kann schon geringer Druck Schmerzen auslösen, wo hingegen benachbarte Weichteilstrukturen häufig druckschmerzfrei sind [85].



## 1.2.2 Ätiologische und pathogenetische Gesichtspunkte

Wie bei den meisten chronischen Erkrankungen ist anzunehmen, dass die Ätiologie des FMS genetische Dispositionen einbeziehen und auch durch Umwelteinflüsse getriggert werden kann. Nicht wenige FMS-Patienten haben in ihrer Kindheit und Jugend häufiger sexuellen Missbrauch [27] und andere Formen von psychischen und physischen Stress erfahren. Verschiedene Studien beschreiben für diesen betroffenen Personenkreis eine höhere Inzidenz für posttraumatische Belastungsstörungen [115] und Stresserkrankungen [16,1,6,7]. Auch erlittene Verletzungen durch (Verkehrs-) Unfälle können als FMS-Auslöser eine Rolle spielen [71]. Weitere Studien haben aufgezeigt, dass Stresseinflüsse für die Induktion proinflammatorischer Zytokine verantwortlich gemacht werden können, die auf neuraler Ebene zu verstärktem Schmerzverhalten und -empfinden oder auch Depressionen führen können [105,93]. Besonders hier, wo das FMS als nichtentzündliche Gesundheitsstörung klassifiziert wird, existieren experimentelle Befunde die ein Ansteigen von inflammatorischen Mediatoren beim Fibromyalgiesyndrom belegen [104,46,13].

Beim Auftreten des FMS wird eine familiäre Häufung beobachtet [22]. Angehörige von FMS-Patienten haben ein achtfach erhöhtes Risiko ebenfalls zu erkranken [7,9]. Hinzu können noch weitere familiäre und berufliche Belastungen kommen, die sich gehäuft in der Vita von FMS-Patienten finden können [22,97].

Auch Virusinfektionen, wie z.B. Hepatitis C [23], HIV-Infektion [25], rheumatische Erkrankungen, wie der systemische Lupus erythematodes [124] oder das Sjögren-Syndrom [30] als auch nachweisbare neuroendokrine Fehlregulationen, die über das autonome Nervensystem für mögliche Interaktionen zwischen FMS und Stress verantwortlich gemacht werden können [2,32,95], sollen sich häufiger in der Anamnese von FMS-Patienten finden lassen. Besonders auf diesen letztgenannten Aspekt stützen sich aktuelle Studien. Es wird vermutet, dass die Stressoren eine Dysfunktion der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) bedingen können [121,99]. Zytokine vermitteln Veränderungen in der HPA-Achse [94,113] und können klinische FMS-Symptome auslösen bzw. beeinflussen. Hierzu zählen Hyperalgesie, Fatigue, Schlaf, Fieber, Schmerzen, Antinozeption, Allodynie,

Adrenalinausschüttung, Stressauslösung, Angst, Myalgie, kognitive Dysfunktionen und auch Analgesie [74,110].

### 1.2.3 Diagnose FMS

Die gebräuchlichsten Diagnosekriterien für das FMS sind die des American College of Rheumatology (ACR) von 1990, basierend auf einer damaligen Untersuchung einer Kohorte von 293 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 44,7 Jahren. Zur Diagnosestellung anhand dieser Leitlinien müssen generalisierte Schmerzen in drei von vier Quadranten des Bewegungssystems vorliegen, das heißt, die Schmerzen bestehen mindestens seit den letzten drei Monaten in Regionen der linken und rechten Körperhälfte sowie der oberen und unteren Körperhälfte und axial am Stammskelett (HWS oder BWS oder vorderer Brustkorb oder LWS). Zusätzlich sollten 11 von 18 definierten Druckpunkten bei einer Palpation mit 4 lb/in<sup>2</sup> (in Deutschland 4 kg/cm<sup>2</sup> [118]) positiv sein (gemessen mit einem Dolorimeter oder abgeschätzt mit Daumendruck) [132].

Folgende 18 Druckpunkte in neun anatomischen Regionen werden bilateral palpiert [128,132]:

- Occipitaler Ansatz des M. trapezius
- Ligg. interspinalia der Querfortsätze von C5-7 der HWS von ventral
- Mitte des Oberrandes des M. trapezius
- Ursprung des M. supraspinatus
- Knorpel – Knochen – Übergang der zweiten Rippe
- Mitte des äußeren oberen Quadranten der Glutealregion
- 2 cm distal des Epicondylus humeri lateralis
- Trochanter major
- Mediales Fettpolster am Kniegelenk proximal des Gelenkspaltes

Unter Verwendung dieser Kriterien betrifft das FMS schätzungsweise 2–4 % der (US-amerikanischen) Bevölkerung [24] mit einem viel höheren Verhältnis von Frauen zu Männern von 9:1 [11], wobei die meisten Patientinnen und Patienten in der Lebensmitte diagnostiziert werden. Alles in Allem rechnet man mit ungefähr

5.000.000 FMS-Betroffenen Amerikanern im Alter von 18 oder älter [86]. Neuere Studien sprechen mittlerweile von geschätzt 11.000.000 betroffenen US-Amerikanern mit einem Frauenanteil bis zu 90% aus [123]. In Deutschland lag die Prävalenz des FMS bei einer Bevölkerungsstichprobe von Frauen im Alter von 35–74 Lebensjahren bei 5,5%, ebenfalls unter Zugrundelegung der ACR-1990-Kriterien [129]. Die Inzidenz steigt mit zunehmendem Alter und bei den weiblichen Patienten im Besonderen nach der Menopause [133].

Im Jahr 2010 gab es einige Veränderungen in den Klassifikations- und Diagnose-Kriterien der ACR. Deren verantwortliche Gremien vertraten die Ansicht, dass die ursprünglichen Kriterien von 1990 von vielen grundversorgenden ärztlichen Kollegen oftmals nicht regelrecht verwendet wurden, nämlich als Klassifikationskriterien, so wie sie konzipiert waren, und sich dadurch die korrekte Diagnosestellung limitierte. Hinzu kam, dass diverse Schlüssel-Komorbiditäten wie Fatigue, kognitive und somatische Symptome, nicht eingeschlossen wurden. Auch Patienten, deren Zustand sich gebessert hatte, wurden von den 1990er Kriterien nicht richtig abgebildet [87].

Werden nun die Diagnostikkriterien von 2010 angewendet, sind folgende drei Kriterien zu erfüllen:

1. Ein Ganzkörperschmerz-Index (WPI) Score von 7 und Symptomschwere-Score (SS) von 5 oder ein WPI-Score von 3-5 und ein SS-Score von 9.
2. Die FMS-Symptome müssen, auch in unterschiedlicher Ausprägung, seit mindestens den letzten drei Monaten vorhanden sein.
3. Der Patient hat keine anderen Erkrankungen, die das vorhandene Krankheitsbild erklären könnte [87].

Die verantwortlichen Gremien des ACR konnten aufzeigen, dass die klinischen Fälle von FMS mit den 2010er Definitionen korrekt 88,1% von den Patienten nach den alten Kriterien einordnen konnten, wobei nun weder körperliche noch eine druckpunkt-gestützte Untersuchungen eingesetzt wurden. Die Symptomschwere-Skala erlaubt eine Beurteilung der FMS-SS von Patienten mit aktiven und auch stattgehabten FMS-Beschwerden. Mit der Anwendung der neuen Kriterien hofft man auch die Langzeitevaluation von den Patienten, die erheblichen Symptomschwankungen unterliegen, zu verbessern [135]. Es bleibt festzuhalten,

dass es nun auf eine Selbsteinschätzung der körperlichen Symptombelastung durch den Patienten mittels eines von ACR-Experten entwickelten Fragebogens ankommt und nicht mehr auf die o.g. Fremdeinschätzung ärztlicherseits [136].

Im Jahre 2008 wurden im Rahmen einer Konsensuskonferenz deutsche S3-Leitlinien zur klinischen Diagnose des FMS entwickelt [56], die so genannten AWMF-Kriterien [57]. Die aktuelle Fassung der S3-Leitlinien von 2012 empfiehlt ein vergleichbares Vorgehen, wie bei den ACR-2010-Kriterien mit Modifikationen [36]. Die Einzelheiten hierzu werden in der folgenden Tabelle 2 erläutert:

Tabelle 2: Kriterien für die klinische Diagnose des FMS, modifiziert nach [55]

	<b>ACR 1990 Klassifikationskriterien</b> [132]	<b>Modifizierte ACR 2010 vorläufige diagnostische Kriterien</b> [135]	<b>AWMF-Leitlinie FMS diagnostische Kriterien</b> [57]
<b>Obligates Haupt-Symptom</b>	CWP nach ACR 1990-Kriterien (siehe *)	Regionaler Schmerzindex $\geq 7/19$ Schmerzorte auf der regionalen Schmerzskala	CWP nach ACR 1990-Kriterien (siehe *)
<b>Obligate weitere Symptome</b>	Keine	Symptomschwere-score $\geq 5$ **	Müdigkeit (körperlich und/ oder geistig) <b>und</b> Schlafstörungen und/oder nicht-erholsamer Schlaf <b>und</b> Schwellungs- und/oder Steifigkeitsgefühl Hände und/oder Füße und/oder Gesicht
<b>Ausschlussdiagnostik</b>	Keine	Ausschluss einer körperlichen Erkrankung, welche das typische Symptommuster <b>ausreichend</b> erklärt	

\* Hierbei führt der Verzicht auf die klinische Tender-points-Diagnostik bei männlichen Patienten mit CWP zu einer häufigeren FMS-Diagnose. Grund hierfür ist die geringere durchschnittliche Druckschmerzhaftigkeit im Vergleich zu entsprechend palperten weiblichen Patienten. Auch haben Männer im Allgemeinen weniger druckempfindliche Tender-Points [132].

\*\* Symptomschwerescore: Summe von Müdigkeit, nichterholsamer Schlaf, kognitive Probleme (jeweils 0=nicht vorhanden bis 3= extrem ausgeprägt); Kopfschmerzen, Bauchschmerzen, Depression (jeweils 0=nicht vorhanden, 1= vorhanden) (Spannweite des Summenscores: 0-12).

Nach den modifizierten ACR 2010 vorläufigen diagnostischen Kriterien kann ein FMS auch bei 3-6 Schmerzorten auf der regionalen Schmerzskala und einem Symptomschwerescore  $\geq 9$  diagnostiziert werden [135]. Bei 3 Schmerzlokalisationen in der regionalen Schmerzskala kann auch ein regionaler Schmerz (z. B. Nacken, Oberarm, Unterarm) vorliegen. Dieses diagnostische Kriterium ist jedoch nicht vereinbar mit dem Hauptsymptom des FMS, nämlich chronische Schmerzen in mehreren Körperregionen. Daher wird die Verwendung dieses diagnostischen Kriteriums in der AWMF-Leitlinie nicht empfohlen.

Viele Rheumatologen unterteilen das FMS in einen primären und einen sekundären Typ. Der Grund für die primäre Form ist immer noch unklar, wobei allerdings vermutet wird, dass Traumata, Infektionen, Stress, Entzündungen, aber auch noch weitere Ursachen für die Symptome verantwortlich gemacht werden können. Sekundäre Fibromyalgie tritt auf, wenn eine Grunderkrankung wie z. B. Hypothyreodismus oder Lupus eine begleitende Fibromyalgie entstehen lässt. Hierbei kann die Therapie der Grunderkrankung das FMS sogar verschwinden lassen. FMS-ähnliche Schmerzsymptomaten können sich auch in einzelnen Körperregionen oder auch nur einem Körperquadranten zeigen. Beispielsweise weisen Patienten lediglich einen isolierten Kiefer- oder Nackenschmerz auf und verneinen Beschwerden in anderen Bereichen des Körpers. Solche regionalen fibromyalgieähnlichen Erscheinungsformen werden als regionales myofaszielles Syndrom oder myofaszielles Schmerzsyndrom bezeichnet [128].

Es gibt aber auch Autoren, die die Einteilung in ein primäres und sekundäres FMS als nicht sinnvoll erachten. Eher wird empfohlen, nach der Behandlung von vorliegenden Begleiterkrankungen zu überprüfen, ob weiterhin die Diagnose FMS aufrecht erhalten werden kann [118].

## Algorithmus FMS-Diagnose

Die folgende Abbildung 4 stellt noch einmal vereinfacht dar, welche möglichen Algorithmen der Diagnosestellung aktuell dienlich sein können und gebräuchlich sind:

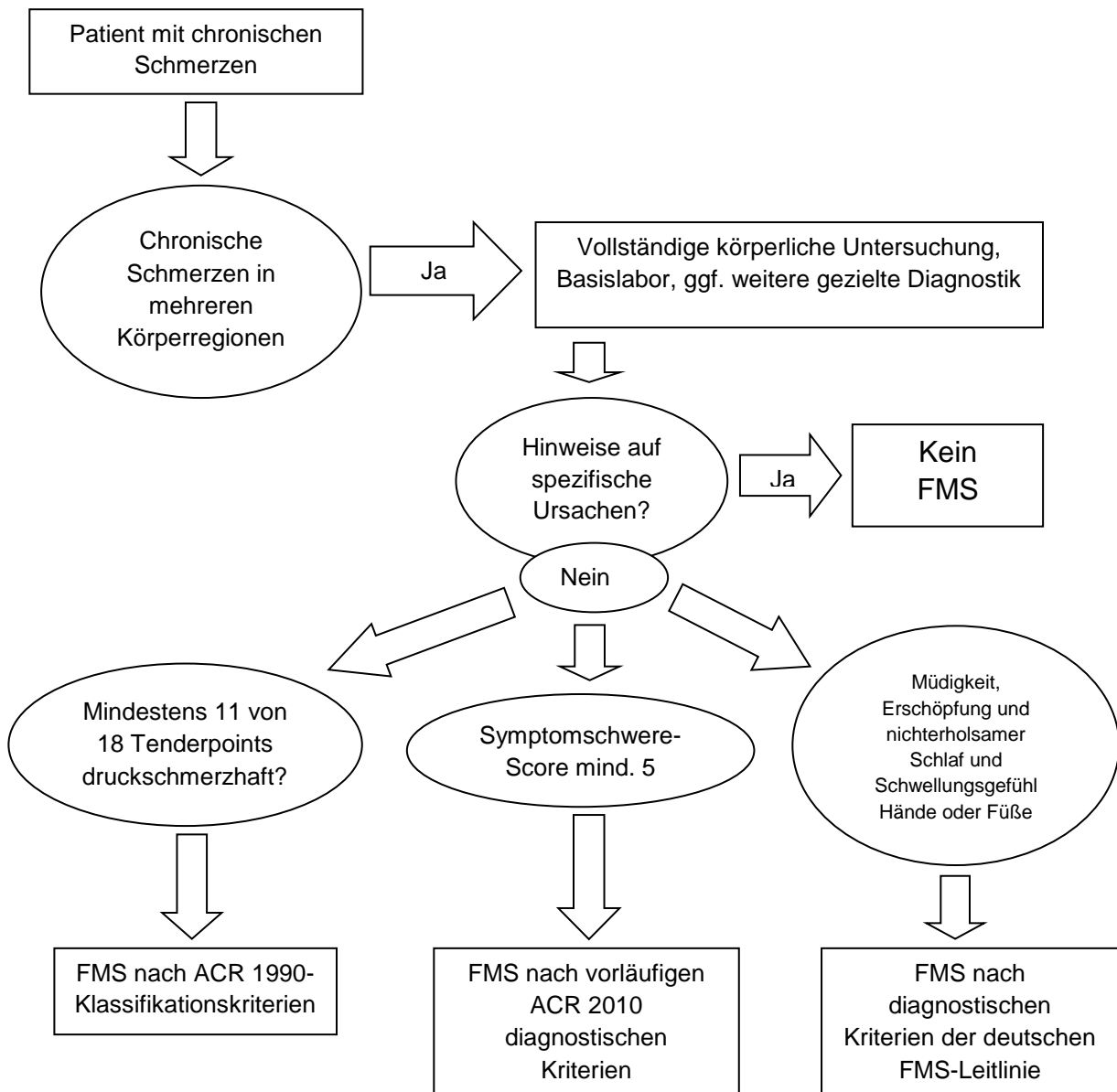


Abbildung 4: Algorithmus FMS-Diagnose, modifiziert nach [55]

Symptomschwerescore: Summe von Müdigkeit, nicht-erholsamer Schlaf, kognitive Probleme (jeweils 0=nicht vorhanden bis 3=extrem ausgeprägt); Kopfschmerzen, Bauchschmerzen, Depressionen (jeweils 0=nicht vorhanden, 1=vorhanden bei einer Spannweite des Summenscores: 0-12)

Eine neuere Studie fand heraus, dass 25% der vom Kliniker diagnostizierten FMS-Patienten die ACR-Kriterien von 1990 nicht erfüllten [135]. In diesem Zusammenhang erwähnenswert ist eine aktuelle US-Amerikanische Studie von 2016 die zeigte, dass 73,5% der Patienten, die die Diagnose eines FMS gestellt bekommen haben, eher eine milden bis moderaten Symptomschweregrad beschrieben. Sie erreichten nicht die nötige Beeinträchtigung und/oder Symptomschwere einer klinischen Diagnose. Trotz der mildereren Symptomatik, beziehen 35% dieser Patientengruppe eine Invalidenrente und 36% sind auf Psychopharmaka eingestellt [127].

### **1.3 Transkriptom/Transkriptomanalysen**

Der Einfluss interner oder externer Stimuli auf den Organismus lässt sich schnell auf der RNA-Ebene nachweisen. Vor den Veränderungen im Proteinmuster lässt sich eine Regulation der Genexpression, der Transkripte, beobachten [60]. Für die Untersuchung der Genexpression bieten sich verschiedene Möglichkeiten an. In Hypothesen-abhängigen Untersuchungen kann die Expression ausgewählter Gene, basierend auf Vorwissen oder einer Hypothese, mit Standard-RT-PCR Verfahren analysiert werden. Bei Hypothesen-unabhängigen Ansätzen kann durch die Anwendung moderner Hochdurchsatzverfahren (z. B. Microarray-Analysen) eine Vielzahl von Transkripten gleichzeitig bestimmt werden. Mit diesen Verfahren kann die Gesamtheit aller Transkripte, das sogenannte Transkriptom, in einer Probe (Zellen oder Gewebe) bestimmt werden. Der Vorteil dieser sehr aufwendigen und teuren Transkriptomanalysen besteht darin, dass, unabhängig vom bestehenden Wissensstand, eine globale Analyse aller Transkripte erfolgt und damit Gene identifiziert werden können, deren Bedeutung in einem bestimmten Zusammenhang bisher nicht bekannt war [28].

Durch den Vergleich des Transkriptoms verschiedener Gruppen können Unterschiede in der Expression bestimmter Gene unter verschiedenen Bedingungen identifiziert werden. Das sind zum Beispiel Unterschiede bei einer Patientengruppe im Vergleich zu Gesunden, zwischen Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsaktivität; im Tumorgewebe eines Patienten im Vergleich zu gesundem Gewebe, aber auch Veränderungen bei Patienten im Verlauf einer Erkrankung oder

einer Therapie. Transkriptomanalysen stellen damit heute oft den ersten Schritt dar, um relevante Gene oder Signalwege zu identifizieren, die in einem bestimmten biologischen Kontext von Bedeutung sind.

Basierend auf Vorwissen oder einer bestimmten Hypothese ist die RT-PCR eine geeignete Methode, um für eine überschaubare Zahl von Genen die Expression zu analysieren. Neben den geringeren Kosten und dem geringeren experimentellen Aufwand der RT-PCR im Vergleich zu Transkriptomanalysen ist die Methode auch im Hinblick auf die Sensitivität dem globalen Ansatz überlegen und ermöglicht die Detektion kleiner Unterschiede in der Genexpression [77].

## **1.4 Fragestellung der Dissertation**

Am Beispiel einer Gruppe von FMS-Patienten sollte in dieser Studie der Effekt einer bis zu dreiminütigen GKKT-Serie bei  $-110^{\circ}\text{C}$  auf klinischer und molekularbiologischer Ebene untersucht werden, um Hinweise zum Wirkmechanismus der Behandlung zu erhalten.

Ausgehend von Erfahrungen positiver Effekte der GKKT bei FMS-Patienten, sollte herausgefunden werden, ob und inwiefern es einerseits im Therapieverlauf zu Änderungen von (subjektivem) Schmerzerleben und –Verarbeitung, andererseits zu bedeutsamen Änderungen in der Genexpression ausgewählter Gene (CCL4, TGF $\beta$ R3, CD69, MAP2K3 und IL-8) mittels Vollblutuntersuchungen bei FMS-Patienten innerhalb der ersten drei aufeinander folgenden GKKT-Tagen kommt.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Patienten

Unter folgenden Kriterien wurden insgesamt 31 Studienteilnehmer der Klinik für Rheumatologie am Fachkrankenhaus Vogelsang-Gommern gescreent, nur 26 Patienten beendeten die Studie und wurden in die Auswertung einbezogen:

- Leitliniengerechte gesicherte Diagnose FMS nach [36].
- Kein Vorhandensein von entzündlich rheumatischen Erkrankungen.
- Gesundheitliche Eignung zur Teilnahme an der Kältekammertherapie.
- Bei vorbestehender Analgetikatherapie sollte diese in den ersten drei Behandlungstagen nicht umgestellt, bzw. keine Analgetika neu angesetzt werden.
- In die Studie eingeschlossen wurden nur Patienten, bei denen eine Kältekammer-Behandlung an drei aufeinander folgenden Tagen sichergestellt werden konnte.
- Ein schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme nach zuvor erfolgter ärztlicher Aufklärung lag vor.

Die Patientencharakteristik der 26 tatsächlich teilnehmenden Patienten vor Beginn der Kältekammerbehandlung ist in Tabelle 3 zusammengefasst:

Tabelle 3: Patientencharakteristik der in die Studie eingeschlossenen Patienten vor Beginn der GKKT

Anzahl der Patienten (weiblich/männlich)	26 (24/2)
Alter (Jahre, MW $\pm$ SEM)	51,8 $\pm$ 1,7
Krankheitsdauer (Jahre, MW $\pm$ SEM)	16,3 $\pm$ 2,8
Tender points (n, MW $\pm$ SEM)	13,2 $\pm$ 0,8
Ärztliche Beurteilung der Krankheitsaktivität (0-10, MW $\pm$ SEM)	5,1 $\pm$ 1,3
VAS Patient, Schmerz (0-10, MW $\pm$ SEM)	6,0 $\pm$ 0,3
Medikamentöse Schmerztherapie (keine/nicht-opioid/opioid)	5/12/9

Die vorliegende Studie wurde von der Ethik-Kommission der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg am 30.03.2010 unter dem Zeichen 18/10 zustimmend bewertet.

## **2.1.2 Dokumentation / Schmerzerfassung**

Bei der Studie wurden folgende Materialien zur Dokumentation verwendet:

1. Ein Patientenaufklärungsbogen zur Studienteilnahme (Anlage A)
2. Eine Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie (Anlage B)
3. Ein Kurzzeitbeobachtungsbogen zur Erstuntersuchung, Erfassung positiver Tender-Points und Anamnese der FMS-Patienten (Anlage C)
4. Patientenfragebögen zur Erfassung der allgemeinen Befindlichkeit und Schmerzsituation, die in den ersten drei Untersuchungstagen jeweils vor (V) und nach (N) der Kältekammerbehandlung auszufüllen waren (Anlage D)

Ein kombinierter allgemeiner Informations- und Aufklärungsbogen zur Teilnahme an der Kältekammer-Behandlung wurde routinemäßig durch die Physiotherapie ausgegeben.

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 Untersuchungsablauf:**

Nach Identifizierung eines geeigneten Patienten für die Studie in den Zugangsvisiten der Klinik erfolgten folgende Schritte:

1. Aufnahmegespräch unter Verwendung der Unterlagen gemäß der Anlagen A bis C.
2. Ausfüllen der Fragebögen laut Anlage D durch den Studienteilnehmer und Blutentnahmen durch den Studienleiter.

## **2.2.2 Behandlungsablauf in der Kältekammer:**

Die Patienten betraten die Kältekammer in Badekleidung mit Mundschutz, Ohrenschutz, Handschuhen, dicken Socken und festen Schuhen, nachdem zuvor Metallteile wie Schmuck und Uhren entfernt wurden. Im ersten Vorraum, in dem  $-10^{\circ}\text{C}$  herrschten, verweilten die Patienten etwa 10 Sekunden, gingen dann für weitere 10 Sekunden in die zweite Kammer mit  $-60^{\circ}\text{C}$  und danach begaben sie sich nach Anweisung in den  $-110^{\circ}\text{C}$  kalten Therapieraum. Die Verweildauer in der Kältekammer betrug standardisiert maximal 3 Minuten.

Die Fragebögen nach Anlage D wurden vor und nach Aufsuchen der Kältekammer ausgehändigt

## **2.2.3 Patientenfragebögen**

Die Bögen, die in den ersten drei Behandlungstagen direkt vor (V) dem Besuch der Kältekammer vom Studienteilnehmer auszufüllen waren, deckten sich inhaltlich mit denen, die ca. eine halbe Stunde nach (N) dem Kältekammerdurchgang zu bearbeiten waren. Hier sollte festgestellt werden, ob sich bereits kurzfristige Veränderungen aus Teilnehmersicht erfassen ließen.

Die teilnehmenden Patienten waren in zwei Studienabschnitte eingeteilt worden. Im ersten Teil erfolgte im Zeitraum 2010-2011 im Rahmen einer Pilotstudie mit 10 Patienten eine genomweite Genexpressionsanalyse mittels Affymetrix®. Es wurde dabei untersucht, ob in der Messenger-RNA von mehr als 20.000 Genen in den Zellen des peripheren Venenblutes Veränderungen durch die Kältekammer-Therapie nachzuweisen sind. Signifikante Veränderungen im Transkriptom der Zellen des untersuchten Patientenblutes in der Affymetrix®-Analyse, wurden mittels RT-PCR für ausgewählte Gene bestätigt. Im zweiten Teil der Studie wurden weitere Teilnehmer eingeschlossen, um an das gesetzte Ziel von 25 Teilnehmern in der Studie zu gelangen. Insgesamt nahmen 26 Patienten teil. Bei diesen Patienten erfolgten dann Expressionsanalysen ausgewählter Gene mittels RT-PCR.

## **2.2.4 Laboranalysen**

### **2.2.4.1 Gewinnung der RNA**

Für die Gewinnung von RNA aus Vollblut wurden die PAXgene® Blood RNA Röhren der Fa. PreAnalytiX/Qiagen verwendet. Bei diesen Röhren handelt es sich um ein System zur Stabilisierung und Aufbewahrung von RNA zur späteren Isolierung, optimiert für die Anwendung im klinischen Alltag. An sechs Zeitpunkten, nämlich jeweils vor und nach der GKKT vom ersten bis dritten Behandlungstag, wurden jeweils 2,5 ml Vollblut entnommen, in die PAXgene Röhren gefüllt und entsprechend den Herstellerangaben prozessiert. Die Gewinnung der RNA erfolgte mit dem PAXgene RNA Kit laut dem Herstellerprotokoll (PAXgene RNA Kit handbook). Die Menge und Qualität der isolierten RNA wurde photometrisch bei 260/280 nm bestimmt. Die RNA Konzentration wurde für die Transkriptomanalyse auf 20 µg/ml eingestellt. Die Analyse erfolgte auf dem Affymetrix GeneChip® Human Gene 1.0ST Array. Für die Datenanalyse wurde die Partek Genomic Suite 6.6 Software verwendet. Beim Vergleich der Genexpressionsspiegel vor der ersten Kältekammerexposition mit den Spiegeln nach der ersten und dritten Exposition wurden die unter 2.2.4.2 aufgeführten Gene signifikant reguliert.

### **2.2.4.2 Affymetrix-Untersuchungen mit den 10 Patienten der Pilotstudie**

Die Analyse des Transkriptoms der peripheren Blutzellen zeigte nach einer wiederholten (dreimaligen) Exposition eine signifikante Veränderung für 90 von ca. 33.000 Transkripten im Vergleich zum Ausgangswert. 18 davon waren aufreguliert, 72 herunterreguliert. Bereits nach einer einzelnen Behandlung in der Kältekammer waren 34 dieser Transkripte signifikant verändert.

Die Mehrheit der herunterregulierten Transkripte gehörte zu der Gruppe der kleinen nukleolären RNA (SNORD), zu den aufregulierten Transkripten gehörten PBX1, SFRP2, MAP2K3 und SLC25A39 (Tabelle 4).

Tabelle 4: Signifikant regulierte Transkripte (Auswahl)

- Klasse der SNORD Moleküle (small nucleolar RNA = non protein coding RNA, beteiligt an Reifung und Modifikation ribosomaler RNA)
- Ribosomale Proteine (z.B. RPL39)
- PDGFD (Platelet-derived growth factor D)
- TARP (T-cell receptor gamma chain constant region)
- CCL4L1
- IL5RA (IL5 receptor alpha)
- MAP2K3 (aktiviert durch Mitogen und Umweltstress)
- SLC25A39 (mitochondriales Transporterprotein)
- Thrombospondin
- CD69

#### 2.2.4.3 Verwendete Gene für die Expressionsanalysen

Für die Bestätigung der Affymetrix-Chip-Ergebnisse wurden folgende fünf Gene mit bekannter Funktion mittels RT-PCR untersucht:

- **CCL4**

CCL4 ist ein Zytokin aus der Familie der CC-Chemokine. Es gehört zu einer Gruppe von kleinen Signalproteinen (Zytokinen), die bei Zellen des Immunsystems eine Chemotaxis auslösen kann. Es existieren vier Unterfamilien von Chemokinen, die sich in der Position und in der Anzahl von Cysteinresten am Ende der Aminosäuresequenz, aus der sie bestehen, unterscheiden. CCL4 gehört zur Unterfamilie der CC-Chemokine, bei der die beiden Cysteine direkt aufeinander folgen. Sie sind durch zwei Disulfidbrücken verbunden und werden nicht durch andere Aminosäuren voneinander getrennt. Diese Gruppe verfügt über 24 Mitglieder und steuert in ihrer Wirkungsweise entsprechende Rezeptoren von Monozyten, baso- und eosinophilen Granulozyten sowie Lymphozyten an. Ergänzt wird die Chemokin-Bezeichnung durch einen weiteren Buchstaben L für Ligand, verbunden mit einer Nummerierung [4,70]. CCL4 wird beispielsweise verstärkt von CD4+ und CD8+ Zellen bei Sarkoidose exprimiert [10], gilt aber auch als ein Mediator für monozytäre Migration im Zusammenhang mit z. B. sportlicher Betätigung, neuromuskulärer Stimulationstherapie oder einer Kaltwasserbehandlung. Ein

sicherer Anstieg der CCL4-Produktion mit verbundener Konzentrationserhöhung im Blut konnte zwar andeutungsweise gerade bei Kaltwasseranwendung nachgewiesen werden, wird aber vermutlich durch die Interaktion mit pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen (TNF- $\alpha$  vs. IL-10) überlagert [69].

- **TGF $\beta$ R3**

Dieser Genort verschlüsselt den Transforming Growth Factor (TGF)-beta Typ III-Rezeptor. Bei diesem Rezeptor handelt es sich um ein Membran-Proteoglykan, welcher häufig als Ko-Rezeptor mit anderen Mitgliedern der großen TGF-beta-Rezeptorfamilie fungiert. Durch die Abspaltung der Ektodomäne entsteht der lösliche TGF $\beta$ R3-Rezeptor, der als decoy-Rezeptor TGF $\beta$  bindet und die Signalweiterleitung in die Zelle inhibiert. Die verminderte Expression dieses Rezeptors konnte bei verschiedenen Krebsarten beobachtet werden [122,72].

- **CD69**

Dieses Gen verschlüsselt ein Mitglied der großen kalziumabhängigen Lektin-Familie von Typ II – Transmembranrezeptoren. Die Expression des verschlüsselten Proteins wird durch die Aktivierung von T-Lymphozyten angeregt und spielt möglicherweise eine Rolle bei deren Proliferation. Des Weiteren spielt dieses Protein u.U. eine Rolle bei der Signalübertragung in natürlichen Killerzellen und Thrombozyten [49,79]. Es ist einer der Aktivierungsmarker für die T-Zell-Expression, der bei FMS-Patienten erniedrigt sein kann. Als Grund wird ein Defekt in der T-Zellaktivierung bei FMS-Patienten vermutet [64].

- **MAP2K3**

Bei dem Protein, welches von diesem Gen verschlüsselt wird, handelt es sich um eine zweifach spezifische Proteinkinase, die zur MAP-Kinase-Familie gehört. Diese Kinase wird von mitogen- und umweltbedingtem Stress aktiviert und nimmt an der MAP-Kinase vermittelten Signalkaskade teil. Sie phosphoryliert und aktiviert MAPK14/p38-MAPK. Zu unterscheiden sind drei verschiedene Signalwege. Neben der schon o.g. Aktivierung über Zytokine, wie TNF oder IL1-Rezeptortyp 1 [83], existiert noch ein zweiter Aktivierungsweg über Schockformen, UV-Licht und ebenfalls Stress [3]. Als dritter Signalweg kommt noch eine Aktivierung über

Mitogene oder Wachstumsfaktoren in Frage, die über Rezeptoren eine Kaskade in Gang setzt. Dieser Signalweg spielt bei 30% der Krebsarten eine Rolle [47]. Die Expression von RAS-Onkogenen wurde als Resultat einer Ansammlung von aktiven Formen dieser Kinase gefunden, wodurch diese zur wesentlichen Aktivierung von MAPK14 führt und onkogenische Umwandlungsvorgänge auf Primärzellen überträgt. Von den drei existierenden MAP-Hauptfamilien ist für diese Arbeit die Familie der p38-Kinasen von Bedeutung. Sie wird aktiviert durch extrazellulären Stress und proinflammatorische Zytokine [15,60].

- **IL-8**

Interleukin-8 ist ein körpereigener Botenstoff, der zu den Zytokinen zählt und unter anderem von Endothelzellen, Monozyten, Epithelzellen und Fibroblasten produziert wird [59]. Es ist ein Mitglied der CXC-Chemokinfamilie. Diese Gene kodieren IL-8 und zehn weitere Mitglieder der CXC-Chemokinfamilie und bilden eine Gruppe in einer Region, die auf dem langen Arm des Chromosoms 4 angesiedelt ist [101]. IL-8 ist auch bekannt als neutrophiler chemotaktischer Faktor und hat zwei Funktionen. Es induziert Chemotaxis in Zielzellen, vor allem bei Neutrophilen, aber auch anderen Granulozyten und sorgt für eine Migration in Richtung Infektionsherd. IL-8 induziert dann auch die Phagozytose am Zielort. IL-8 gilt als Schlüsselmediator, der mit Inflammation in Verbindung gebracht wird und eine entscheidende Rolle sowohl bei neutrophiler Rekrutierung als auch Degranulation [54], spielt die über die Chemokinrezeptoren CXCR1 und CXCR2 vermittelt werden. So gilt IL-8 beispielsweise als proinflammatorischer Mediator bei Psoriasis. Auch bei oxydativem Stress ist ein Anstieg der IL-8-Konzentration zu beobachten [126].

Bei FMS-Patienten wurde auch über höhere IL-8-Konzentrationen im Blut bereits berichtet [98].

#### **2.2.4.4 RT-PCR**

Für die Bestimmung der Genexpression ausgewählter Gene wurde eine RT-PCR (TaqMan®) durchgeführt. Zunächst wurde in einer reversen Transkription RNA in cDNA umgeschrieben. Diese Reaktion erfolgte in 80µl Ansätzen mit jeweils 500ng Gesamt-RNA entsprechend der in Tabelle 5 gezeigten Zusammensetzung:

Tabelle 5: Reaktionsmix für die reverse Transkription, 80µl Ansatz

<b>Komponente</b>	<b>Volumen pro Probe</b>	<b>Endkonzentration</b>
10fach TaqMan® RT-Puffer	8,0µl	1fach
25mM MgCl <sub>2</sub>	17,6µl	5,5mM
dNTP-Mischung (2,5mM pro NTP)	16µl	500µM pro NTP
Random Hexamere (50µM)	4µl	2,5µM
RNAse-Inhibitor (20U/µl)	1,6µl	0,4U/µl
Multiscribe RT 50U/µl	2,0µl	1,25U/µl
RNA 500ng	Entsprechend der RNA-konzentration	-
RNAse freies Wasser	entsprechend der RNA-lösung zum Auffüllen auf 80µl	-

Die cDNA Synthese erfolgte auf einem Eppendorf-Thermocycler (Mastercycler personal) nach folgendem Protokoll: Inkubation 10 Minuten bei 25°C, Transkription 30 Minuten bei 48°C und Inaktivierung der reversen Transkriptase 5 Minuten bei 95°C. Die cDNA Proben wurden bis zur weiteren Verwendung bei -20°C gelagert.

Die real-time PCR erfolgte auf 386-well Platten in 10 µl Ansätzen in Dreifachbestimmung am TaqMan 7900. In Tabelle 6 sind die verwendeten Primer/Probe Assays aufgelistet.

Tabelle 6: Verwendete Primer/Probe Assays ( Hersteller: ABI Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) jeweils 20fach konzentriert

<b>Transkript</b>	<b>Bestell-Nummer</b>
GAPDH	hs9999905_m1
CD69	hs00934033_m1
CCL4	hs9999148_m1
MAP2K3	hs00177127_m1
TGFBR3	hs01114253_m1
IL-8	hs00174103_m1



Die quantitative RT-PCR wurde mit TaqMan® Reagenzien entsprechend Herstellervorschriften an einem ABI PRISM 7900 HT Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) unter Verwendung validierter Primer und Sonden (Tabelle 6) durchgeführt. Die PCR lief in 10 µl Ansätzen jeweils in Triplikaten auf 384-Well Platten bei folgenden Temperaturverläufen: 1. Polymeraseaktivierung 95°C, 10 min, 2. Denaturierung 95°C 15 sec, 3. Anlagerung und Verlängerung der Primer 60°C 1 min. Die Schritte 2 und 3 wurden 39 Mal wiederholt. Das Pipettierschema ist in Tabelle 7 dargestellt:

Tabelle 7: Zusammensetzung der PCR-Ansätze:

Komponente	Volumen pro Probe	Endkonzentration
cDNA	1µl	-
Gene expression Master Mix (2fach)	5µl	1fach
Primer/Probe (20fach)	0,5µl	1fach
RNAse freies Wasser	3,5µ	-

Zur Berechnung der Veränderungen der Genexpression im Verlauf der Kältekammerbehandlung wurde die  $\Delta\Delta CT$  Methode eingesetzt. Entsprechend dieser Methode wird der CT Wert (threshold cycle value) für die spezifische mRNA Expression mit dem CT-Wert der GAPDH mRNA-Expression in der selben Probe normalisiert und ergibt den  $\Delta CT$  Wert. Die Differenz der  $\Delta CT$  Werte nach Behandlung im Vergleich zu den  $\Delta CT$  Werten vor der Behandlung ( $=\Delta\Delta CT$  Wert) entspricht der Änderung der Genexpression und kann wie folgt prozentual berechnet werden:

$$\text{prozentuale Veränderung vs. Ausgangswert} = 2^{-\Delta\Delta CT} * 100\% .$$

## 2.3 Statistik

Für die statistische Auswertung wurde das Programm IBM SPSS Statistics Version 22 verwendet. Wenn nicht anders vermerkt, wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) berechnet. Zum Vergleich der Mittelwerte wurde der T-Test verwendet, die Korrelation metrischer Daten wurde nach Pearson berechnet. Korrelationen wurden auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) als signifikant bewertet.

Bei der Datenauswertung der Patientenfragebögen wurde eine stark modifizierte Form der ACR Response [39] (Response=Therapieantwort) zu Grunde gelegt, um eine aussagekräftige Berechnungsgrundlage für die Einteilung der Studienteilnehmer in Responder und Non-Responder vornehmen zu können.

### **ACR-Responder-Kriterien [39,40]**

Die ACR-Response-Kriterien des American College of Rheumatology (ACR20-ACR70) bewerten, ob es durch die Therapie zu einer Besserung von vordefinierten Parametern gekommen ist. Eine ACR20-Besserung liegt beispielsweise vor, wenn der Patient eine mindestens 20%ige Verbesserung verschiedener Parameter im Vergleich zum Ausgangswert erfahren hat, wobei in dieser Studie nur die Fragebogeninhalte ausgewertet wurden. Für die vorliegende Arbeit wurden dabei die Ergebnisse aus den ersten 11 Fragen der Patientenfragebögen herangezogen. Die Summe der Punktwerte der Antworten zu den 11 Fragen vor erstem Besuch und nach drittem Besuch der Kältekammer wurden berechnet und eine prozentuale Verbesserung oder Verschlechterung errechnet. Teilnehmer, die eine mindestens 20%ige Verbesserung nach den drei Tagen erreicht hatten, wurden als Responder eingestuft.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Patienten

Alle 26 Patienten nahmen bis zum Ende an der Studie teil. Eine Teilnehmerin allerdings war ab dem ersten Besuch der Kältekammer mit dieser Therapieform unzufrieden, absolvierte jedoch die Serie.

Das Durchschnittsalter der 26 Studienteilnehmer betrug 51,8 Jahre. Die durchschnittliche Dauer der Beschwerdesymptomatik lag bei 16,3 Jahren.

#### 3.1.1 Fragebogen-Daten

Ausgewertet wurde der gleiche Fragebogen zu sechs Zeitpunkten und zwar vor und nach jedem der drei GKKT-Durchgänge. Der Fragebogen befindet sich im Anhang als Anlage D.

Aufgeführt sind in der nachfolgenden Tabelle 8 die Befragungsergebnisse hinsichtlich der patientenseitigen Einschätzung im Verlauf der ersten drei Behandlungstage vom Tag 1 zum Tag 3.

Tabelle 8: Die Antwortmöglichkeiten der Patienten für die Befragung vor dem ersten und nach dem dritten Besuch der Kältekammer lagen zwischen 1 (größte Zustimmung) und 5 (geringste Zustimmung). Die negativ gestellten Fragen 4 und 5 wurden zur besseren Auswertung entsprechend umgestellt. Zum Mittelwertvergleich wurde der T-Test für verbundene Stichproben verwendet. Nicht signifikante Ergebnisse wurden mit „n. s.“ abgekürzt.

Fragebogen-Frage	Vor 1. GKKT-Besuch Mittelwert ± Standardabweichung	Nach 3. GKKT-Tag Mittelwert ± Standardabweichung	p-Wert
1. Ich kann mich gut bewegen	3,5 ± 1,1	2,3 ± 0,9	< 0,001
2. Meine Muskeln sind locker	3,6 ± 1,1	2,5 ± 0,8	< 0,001
3. Ich fühle mich nicht steif	3,2 ± 1,3	2,3 ± 0,7	< 0,01
4. Ich habe ein unangenehmes Kältegefühl	3,9 ± 1,2	4,1 ± 1,1	0,56 (n. s.)
5. Ich habe Kopfschmerzen	3,5 ± 1,4	3,8 ± 1,3	0,54 (n. s.)

Fragebogen-Frage	Vor 1. GKKT-Besuch Mittelwert ± Standardabweichung	Nach 3. GKKT-Tag Mittelwert ± Standardabweichung	p-Wert
6. Ich habe keine innere Unruhe	2,8 ± 1,3	2,1 ± 0,8	0,026
7. Im Allgemeinen fühle ich mich wohl	3,2 ± 1,2	2,1 ± 0,7	< 0,001
8. Ich fühle mich körperlich belastbar	3,7 ± 1,1	3,1 ± 1,0	0,061 (n. s.)
9. Ich fühle mich seelisch belastbar	3,2 ± 1,4	2,7 ± 1,0	0,18 (n. s.)
10. Mein Ganzkörperschmerz ist gelindert	4,1 ± 0,8	2,5 ± 1,0	< 0,001
11. Ich kann jetzt besser schlafen	3,6 ± 1,1	3,1 ± 0,9	0,08 (n. s.)

Bei der Auswertung der Fragen nach einem unangenehmen Kältegefühl oder Kopfschmerzen im Verlauf der GKKT konnte festgestellt werden, dass die Patienten im Mittel keine Veränderungen der Kältewahrnehmung oder Kopfschmerz-Beschwerden innerhalb der ersten drei Behandlungstage beschrieben. Auch auf die gefragte Zu- oder Abnahme von Unruhe im Zuge der GKKT gaben die Studienteilnehmer im Mittel keinerlei Gefühle der inneren Unruhe im Laufe des befragten Therapiezeitraumes an. Der Bereich, in dem sich die Antwort der Frage 9 konzentrierte, besserte sich im Verlauf im Bereich von anfänglich 3,2 auf 2,7 nach Tag 3 der GKKT. Was die Besserung der Schlafsituation betraf, so ließen sich im Zuge der Patientenbefragung in dieser kurzen Zeit von drei Tagen keine Änderungen nachweisen (Tabelle 8).

Die Ergebnisse der Fragebogenauswertung lassen darauf schließen, dass die Behandlung in der GKKT einen direkten positiven Einfluss auf die subjektiv empfundene Beweglichkeit hatte. Wie in Abbildung 5 dargestellt, war die Beweglichkeit unmittelbar nach jedem einzelnen Kältekammerbesuch gebessert. Nach einer dreimaligen Behandlung reduzierte sich der Ausgangswert von 3,5 auf 2,3 (Tabelle 8).

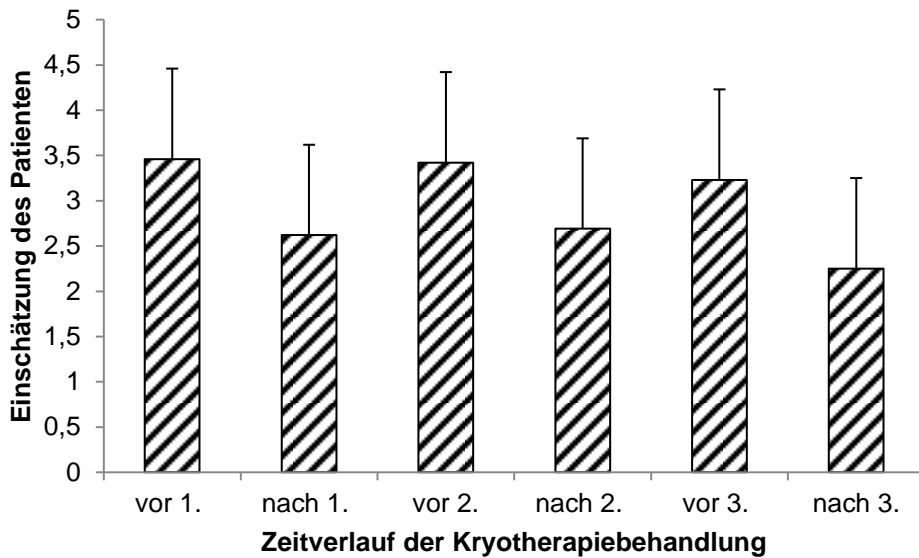


Abbildung 5: Besserung der körperlichen Beweglichkeit im Verlauf der ersten drei Tage bei GKKT

Vor Beginn der Behandlungsserie lag bei den Patienten hinsichtlich der Lockerheit der Muskulatur der Mittelwert bei 3,6, der innerhalb der erfassten drei Behandlungstage nur eine geringe Änderung erfuhr. Wie in der Abbildung 6 zu erkennen ist, war nach jeder einzelnen Behandlung in der Kältekammer eine Zunahme des Gefühls der Lockerheit der Muskeln zu verzeichnen, der jedoch nicht bis zum nächsten Tag anhielt.

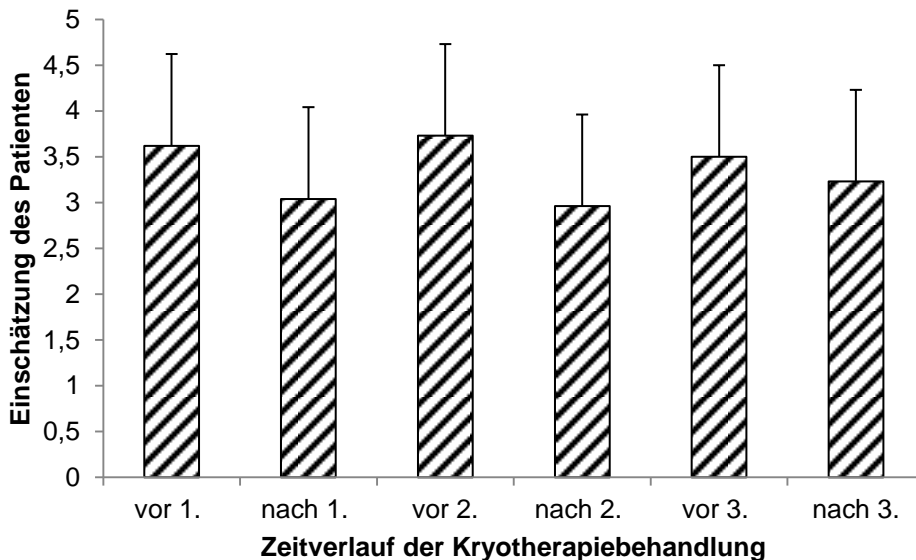


Abbildung 6: Zunahme der Lockerheit der Muskulatur in Verlauf der ersten drei GKKT-Behandlungstage

Die nächste Fragestellung erfolgte indirekt. Hier sollten die Befragten angeben, ob sie sich körperlich nicht steif fühlen. Es zeigten sich nach dem ersten GKKT-Tag

keine positiven Veränderungen. Die weiteren Kryotherapie-Sitzungen am zweiten und dritten Tag wiesen in ihrer Tendenz ein Nachlassen der körperlichen Steifheit der Studienteilnehmer auf, wie in der folgenden Abbildung 7 dargestellt:

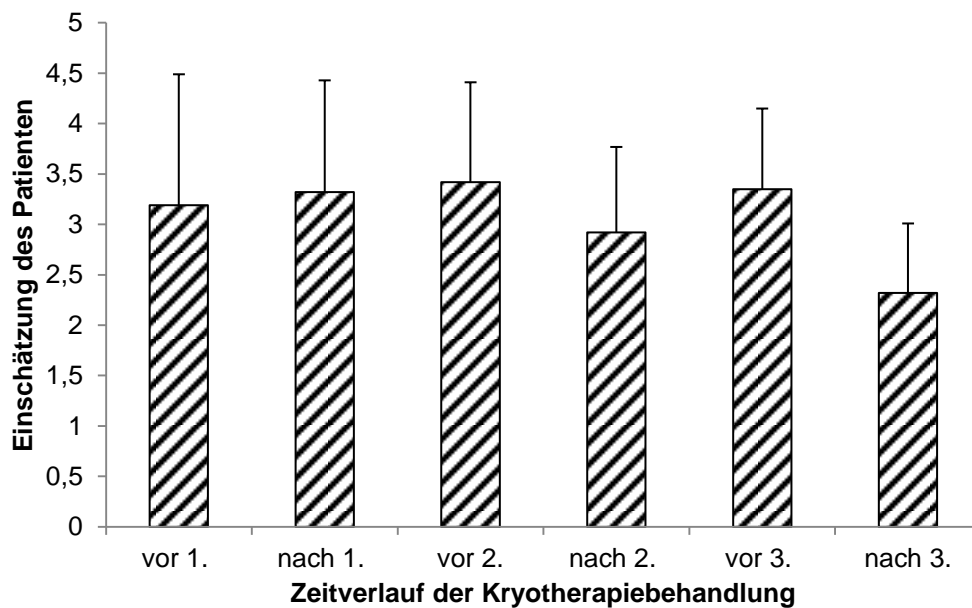


Abbildung 7: Abnahme des unangenehmen Gefühls der körperlichen Steifheit im Verlauf der ersten drei GKKT-Behandlungstage

Bezugnehmend auf die Frage nach dem allgemeinen Wohlbefinden der befragten Studienteilnehmer lässt sich in der Abbildung 8 erkennen, dass sich nach jeder GKKT-Behandlung eine Besserung des Allgemeinbefindens der Studienteilnehmer im Mittel ergab. Auch der Gesamtverlauf der drei Therapietage zeigte eine positive Entwicklung.

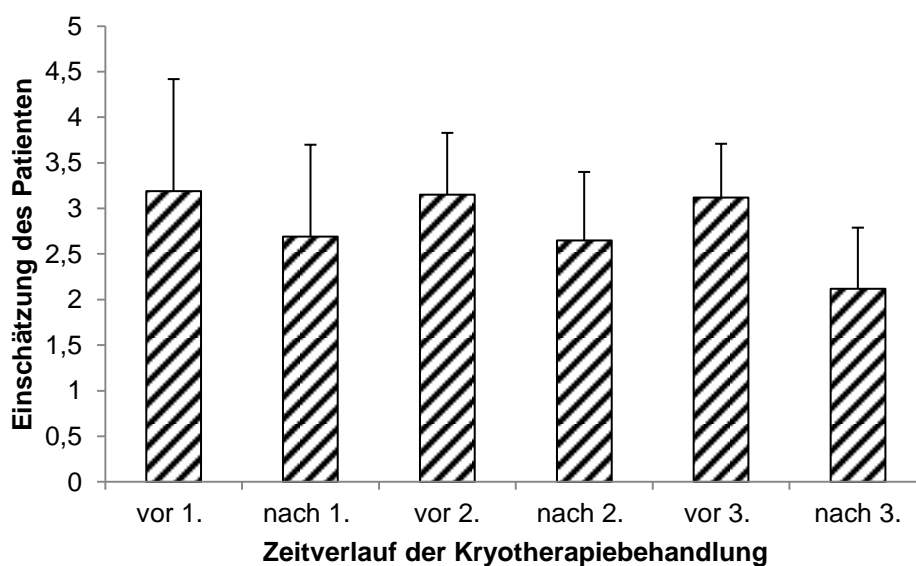


Abbildung 8: Besserung des allgemeinen Wohlbefindens im Verlauf der ersten drei GKKT-Behandlungstage

### 3.1.2 Schmerzverlauf

Alle Studienteilnehmer hatten vor dem Therapiebeginn Schmerzen. Im Verlauf der drei Tage kam es zu einer signifikanten Besserung der Schmerzen, was in der Abbildung 9 dargestellt wird (Tabelle 8). Hier wurde gefragt, ob es zu einer Linderung des Ganzkörperschmerzes gekommen war.

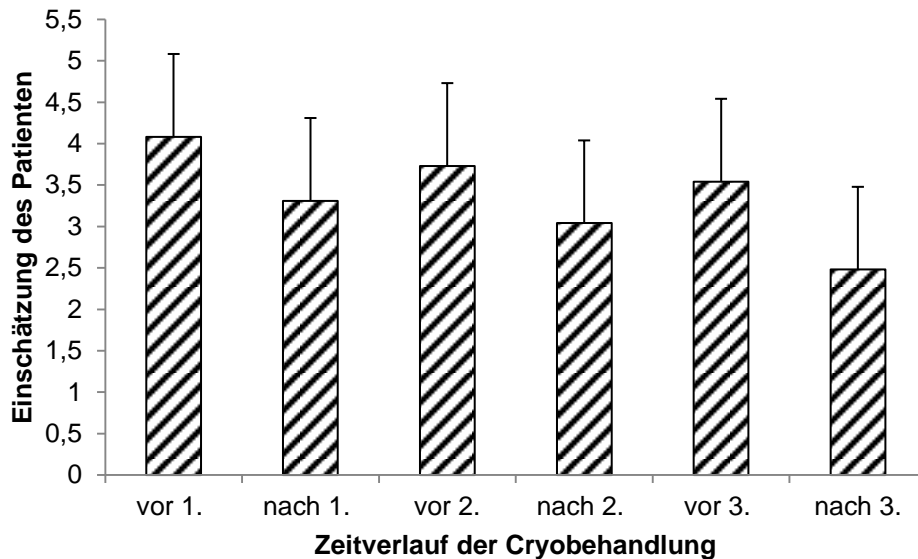


Abbildung 9: Linderung des Ganzkörperschmerzes im Verlauf der ersten drei GKKT-Behandlungstage

Die Auswertung der Veränderungen auf der VAS nach den ersten drei GKKT-Behandlungstagen ergab bei der Abbildung 10 ein ähnliches Bild, wonach die Patienten sich im Mittel mit einem Schmerzempfinden von VAS 6 in die Therapie begaben. Nach den ersten drei Kryotherapie-Tagen ergab sich eine durchschnittliche Schmerzreduktion auf eine VAS 4. Darüber hinaus wird im Diagramm ebenfalls dargestellt, dass es zu einer erneuten Schmerzzunahme zwischen den Behandlungen kam. Eine kontinuierliche Schmerzreduktion im Verlauf der drei Befragungen jeweils nach der GKKT-Sitzung ist erkennbar.

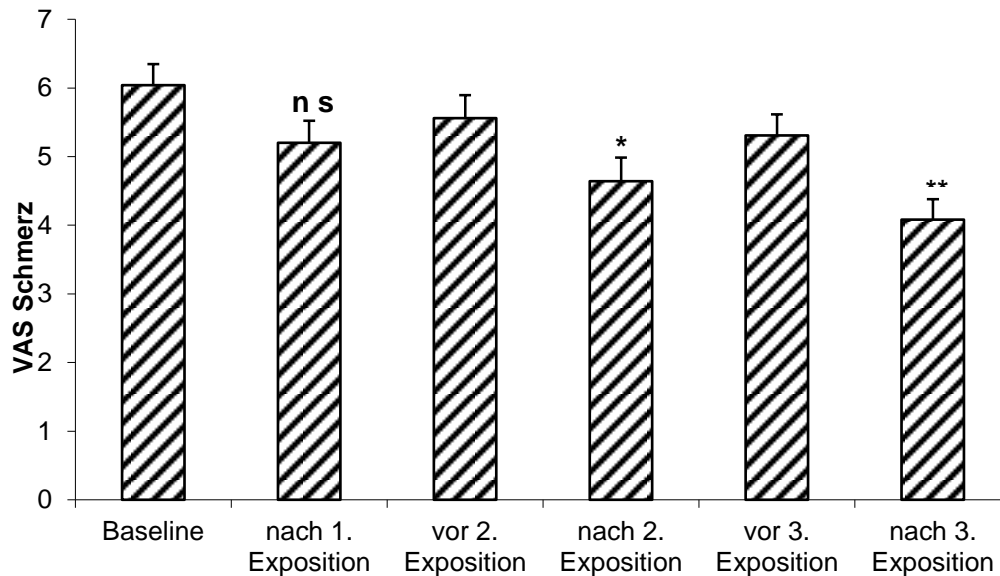


Abbildung 10: Verlauf der Schmerzbeurteilung durch den Patienten anhand der visuellen Analogskala (0 – 10) im Verlauf der ersten drei GKKT-Behandlungstage, die Balken repräsentieren den Mittelwert  $\pm$  SEM, \* $p < 0,01$ , \*\* $p < 0,001$  (T-Test vs. Baseline)

22 der 26 Teilnehmer gaben bei den Befragungen an, von dieser Form der Behandlung in unterschiedlichem Maße profitiert zu haben.

Unter Zugrundelegung der hier modifizierten ACR-20-Kriterien ergaben sich eine Gruppe von 15 Respondern (Baseline  $37,5 \pm 4,9$  Punkte, nach 3. GKKT  $25,1 \pm 4,0$  Punkte) und 11 Non-Respondern (Baseline  $32,0 \pm 4,9$  Punkte, nach 3. GKKT  $30,1 \pm 6,3$  Punkte).

In beiden Gruppen stellten sich weitläufige prozentuale Grade der Verbesserung und zu einem geringen Teil sogar der Verschlechterung dar. Für die Responder-Gruppe ergab sich ein Grad der Verbesserung in einem Bereich von 20,6% bis 46,2% mit einem Mittelwert von 32,9% und einer Standardabweichung von 2,3%. In der Non-Responder-Gruppe betrug der Grad der Verbesserung bei 7 Patienten 10,0% bis 19,4%, wobei es bei zwei weiteren Patienten zu keiner Veränderung/Besserung (=0%) kam und sogar bei zwei der 11 Non-Responder zu einer Verschlechterung im Bereich bis -75%. Daraus ergab sich für die Non-Responder-Gruppe ein Mittelwert von 15% bei einer Standardabweichung von 27,5%.

Zuletzt sollten die Studienteilnehmer selbst einschätzen, ob sie die GKKT im Verlauf für wirksam halten. 23 der 26 Teilnehmer machten hierzu auswertbare Angaben. Nur eine Patientin hielt diese Therapieform für weniger wirksam. Die restlichen 22 Patienten stufen die GKKT bei sich als wirksam, bzw. sehr wirksam ein.



Von den 26 Patienten hatten bereits 16 (61,5%) Erfahrungen mit der Anwendung der Kältekammertherapie, bei 10 (38,5%) Patienten kam diese Therapie erstmalig zur Anwendung.

Die ACR20 Responder-Rate lag in der Gruppe der Patienten mit Vorerfahrungen mit 62,5% (10 von 16 Patienten) deutlich höher als in der Gruppe ohne Vorerfahrung mit 50% (5 von 10 Patienten). Dabei lag die prozentuale Verbesserung mit  $27,1 \pm 3,8$  (MW+SEM) und  $7,4 \pm 9,7$  (MW+SEM) signifikant höher bei Patienten mit Vorerfahrung als ohne ( $p < 0,05$  T-Test für nicht-verbundene Stichproben).

## 3.2 Laborergebnisse

Es wurden RT-PCR-Untersuchungen (TaqMan®) mit dem Material von allen 26 Studienteilnehmern durchgeführt.

Das Expressionsniveau von CCL4 in den peripheren Blutzellen reduzierte sich unter GKKT signifikant ( $p < 0,001$ ) auf im Mittel 80% nach der dritten GKKT-Exposition im Vergleich zu den Ausgangswerten.

Das Niveau der CD69-Expression wurde ebenfalls bei einem Großteil der Patienten signifikant ( $p < 0,01$ ) auf 78,5% im Mittel gesenkt.

Dem gegenüber konnte in der Arbeit bei der Expression von MAP2K3 eine Aufregulation im Mittel auf 146%, im Vergleich zum Wert vor dem ersten Behandlungstag, nachgewiesen werden ( $p < 0,05$ ).

Die bereits nach der ersten Kälteexposition eingetretenen Veränderungen des Genexpressionsniveaus waren allerdings nicht signifikant. ( $p = 0,07$ ).

Die Herunterregulation von TGF $\beta$ R3, die noch bei der kleineren Patientengruppe der Pilotstudie beobachtet werden konnte, wurde bei der größeren Gruppe des zweiten Studienabschnittes nicht mehr nachgewiesen.

Bei IL-8 hingegen kam es zu einer leichten Aufregulation, die statistisch nicht signifikant war ( $p = 0,223$ ). Die folgende Abbildung 11 veranschaulicht die Ergebnisse im Überblick:

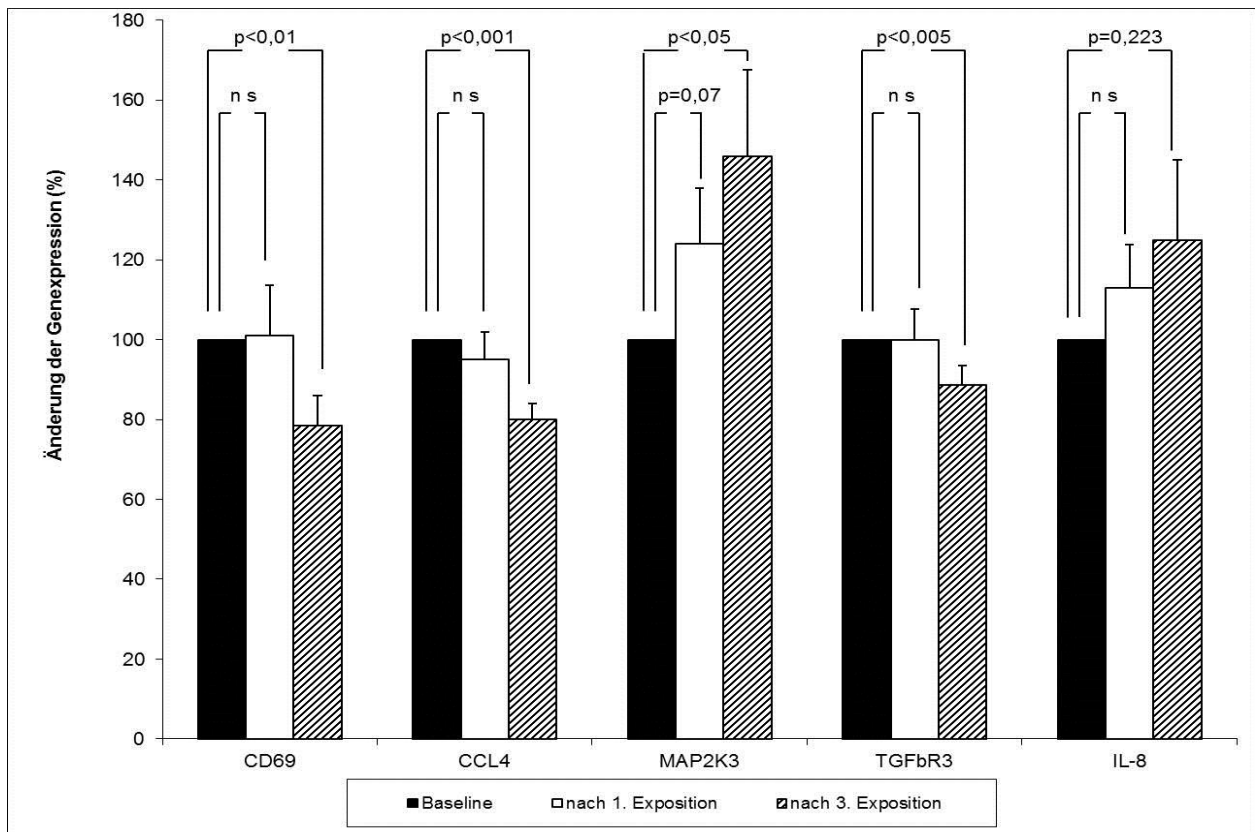


Abbildung 11: Genexpressionsspiegel mittels RT-PCR von CD69, CCL4, MAP2K3, TGFbR3 und IL-8. Angegeben sind relative Werte (Baseline = 100%), die Balken stellen den Mittelwert  $\pm$  SEM dar.

Die Bestimmung der Genexpressionsspiegel von MAP2K3 zu sechs Zeitpunkten wurde nur mit dem Blut der zehn Patienten der Pilotstudie durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 12 dargestellt.

Gleiches gilt auch für die darauffolgende Abbildung 13, wo die Genexpressionsspiegel von CD69 zu ebenfalls sechs Zeitpunkten mit den Teilnehmern der Pilotstudie, eingesehen werden kann.

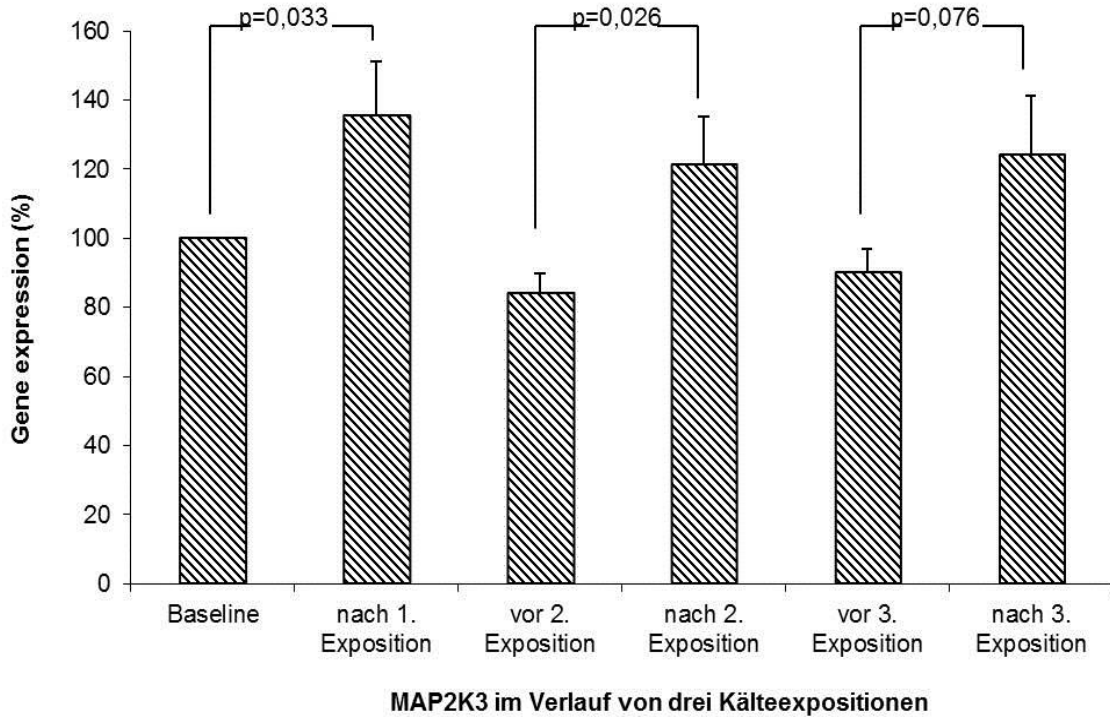


Abbildung 12: Genexpressionsspiegel von MAP2K3 im Verlauf der GKKT bei 10 Patienten bei drei Expositionen jeweils vor und nach GKKT-Anwendung. Angegeben sind relative Werte (Baseline = 100%)

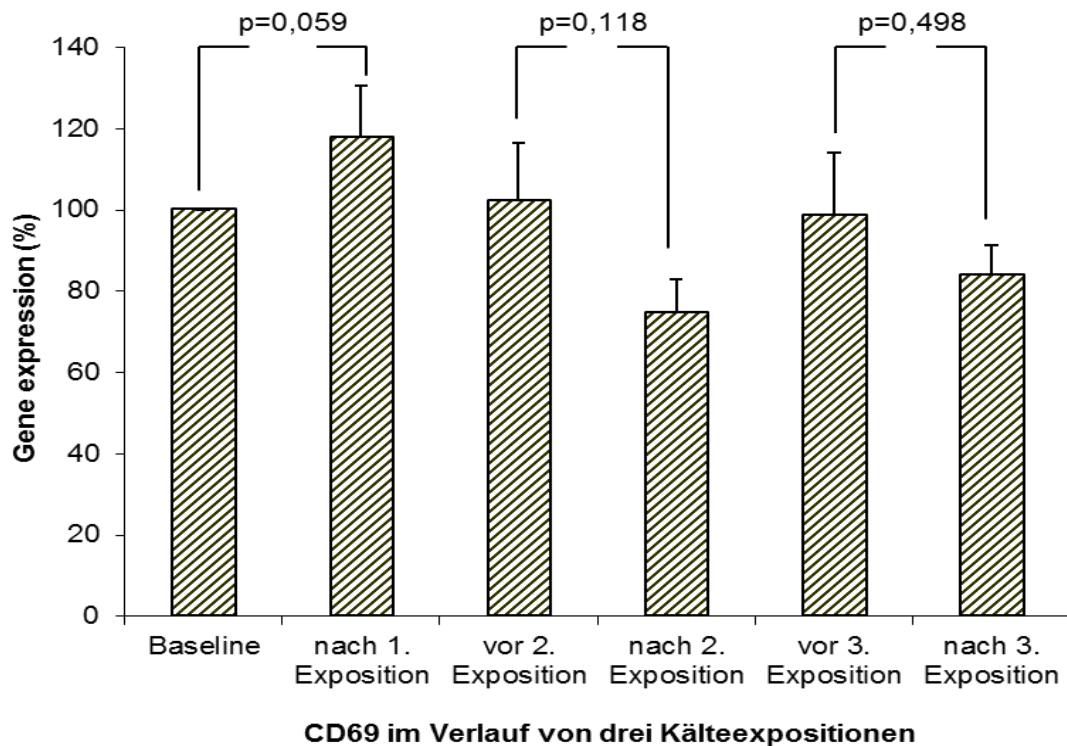


Abbildung 13: Genexpressionsspiegel von CD69 im Verlauf der GKKT bei 10 Patienten bei drei Expositionen jeweils vor und nach GKKT-Anwendung. Angegeben sind relative Werte (Baseline = 100%)

### 3.2.1 Vergleich Labor / Klinik

Untersucht wurden die Veränderung der Genexpression von CCL4, CD69, IL8, MAP2K3 und TGF $\beta$ R3 bei der gesamten Gruppe von 26, Personen, aufgeteilt in Non-Responder und Responder, zu den Zeitpunkten vor und nach der ersten, sowie nach der dritten GKKT-Behandlung. Die Abbildungen 14A-14 E zeigen die Daten für die fünf untersuchten Gene, wobei sich keine signifikanten Unterschiede zum Ausgangswert ergaben.

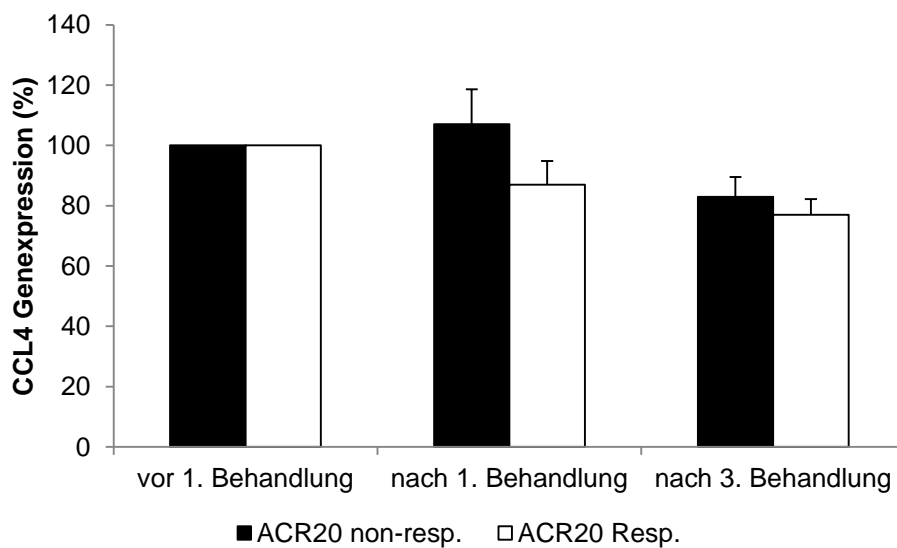


Abbildung 14 A: Darstellung der prozentualen Veränderung der Genexpression von CCL4 an drei Zeitpunkten, unterteilt in die Gruppe Non-Responder und Responder.

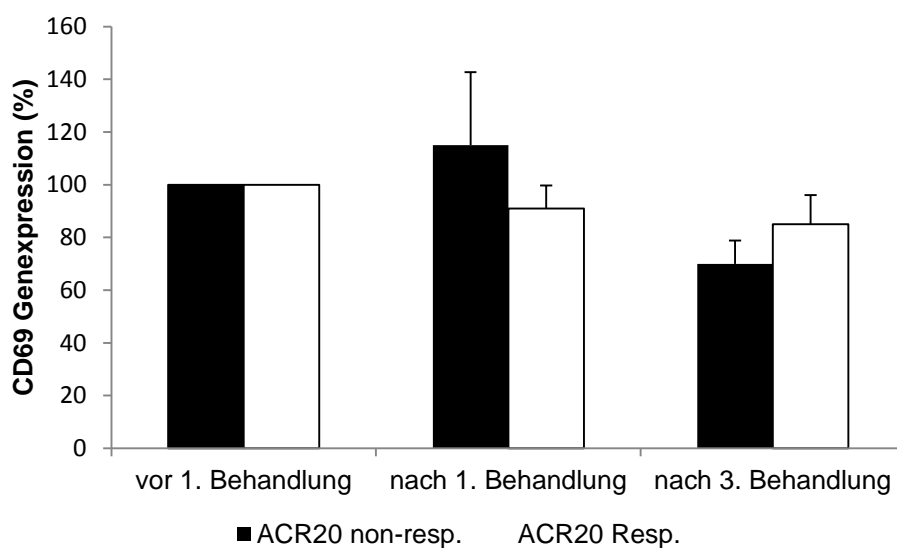


Abbildung 14 B: Darstellung der prozentualen Veränderung der Genexpression von CD69 an drei Zeitpunkten, unterteilt in die Gruppe Non-Responder und Responder.

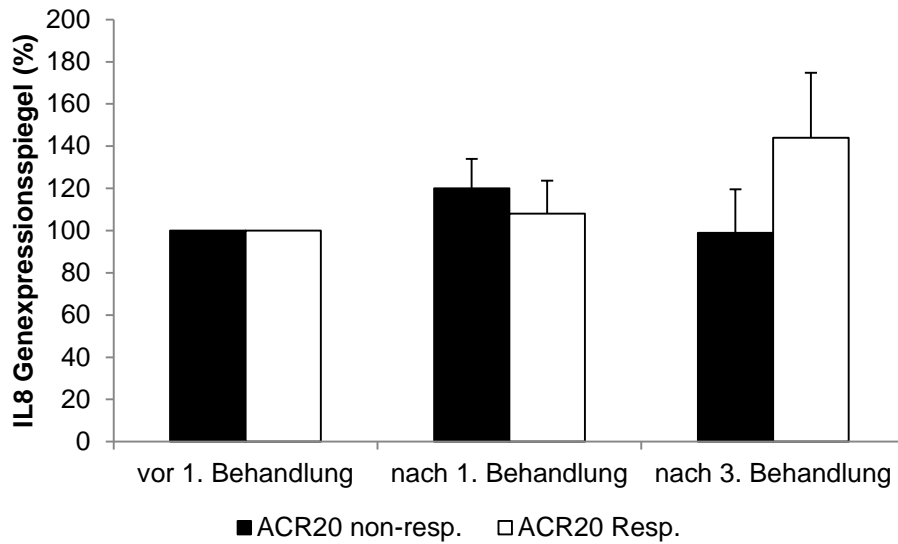


Abbildung 14 C: Darstellung der prozentualen Veränderung der Genexpression von IL8 an drei Zeitpunkten unterteilt in die Gruppe Non-Responder und Responder.

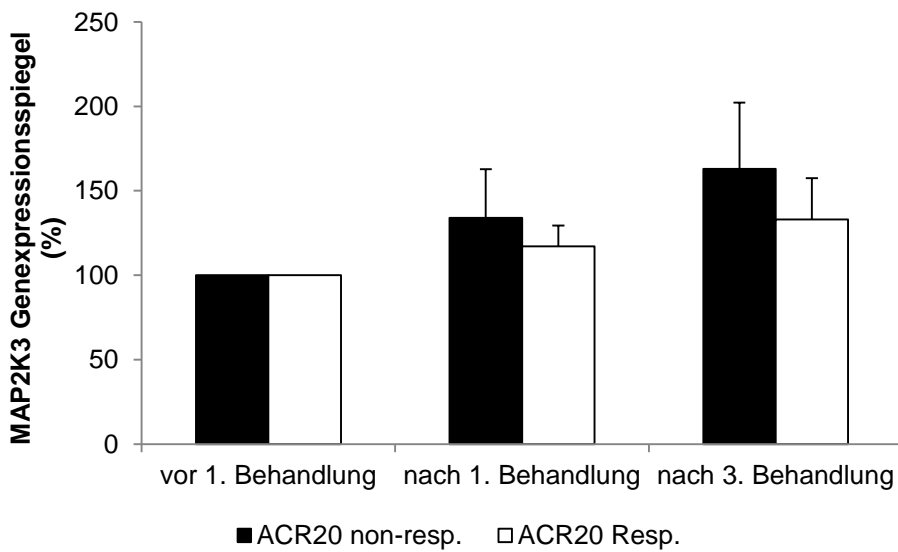


Abbildung 14 D: Darstellung der prozentualen Veränderung der Genexpression von MAP2K3 an drei Zeitpunkten unterteilt in die Gruppe Non-Responder und Responder.

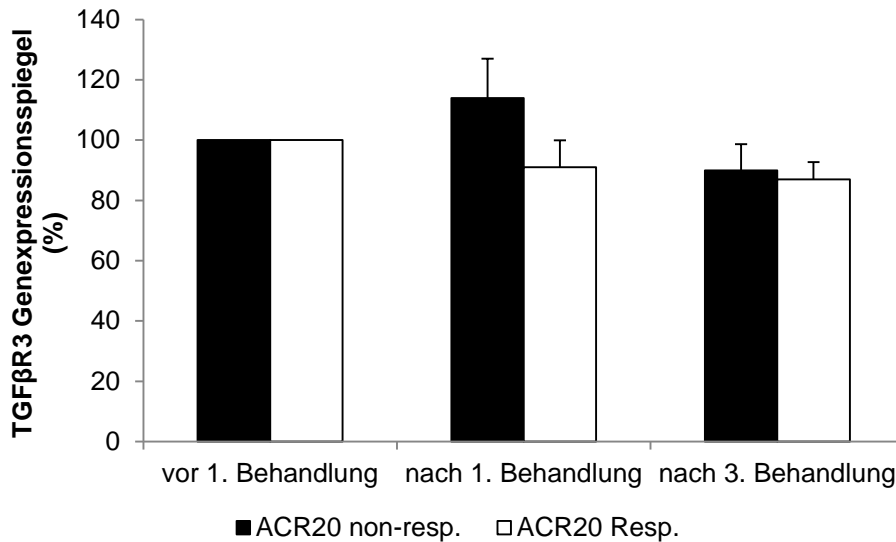


Abbildung 14 E: Darstellung der prozentualen Veränderung der Genexpression von TGFβR3 an drei Zeitpunkten unterteilt in die Gruppe Non-Responder und Responder.

Bei den fünf ausgewählten Genen wurde darüber hinaus untersucht, inwiefern eine Korrelation zwischen den Genexpressionsanalyse-Ergebnissen nach drei Tagen GKKT und einem VAS-Schmerzempfinden einerseits, und andererseits einer prozentualen Verbesserung des Gesamtbefindens (Ergebnis aus der Auswertung der ersten 11 Fragen der Patientenfragebögen) der Studienteilnehmer besteht.

Hierzu wird in den folgenden Diagrammen von Abbildung 15A bis 17D jeweils dargestellt, wieviel Studienteilnehmer eine Auf- oder Herunterregulation der untersuchten Gene aufweisen, ausgehend von relativen Veränderungen bei einem Ausgangswert von 100%, bzw. wie viele Teilnehmer eine als unverändert zu betrachtende Situation vorweisen.

Bei der untersuchten MAP2K3 ist in den Abbildungen 15A und 15 B zu erkennen, dass es innerhalb der drei Behandlungstage bei 14 Patienten zu einer Aufregulation der Genexpression kam. Bei fünf Patienten blieb die Expression auf stabilem Niveau und bei den verbliebenen sieben Patienten kam es zu einer Herunterregulation. Eine Korrelation zwischen der Höhe der Genexpressionsveränderung von MAP2K3 und den beiden anderen Parametern war nicht nachweisbar.

Abbildung 15 A

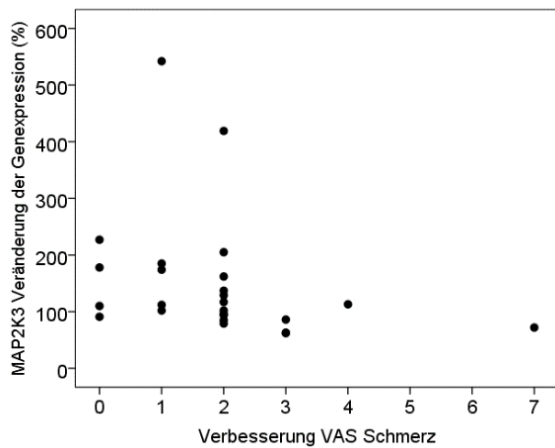


Abbildung 15 B

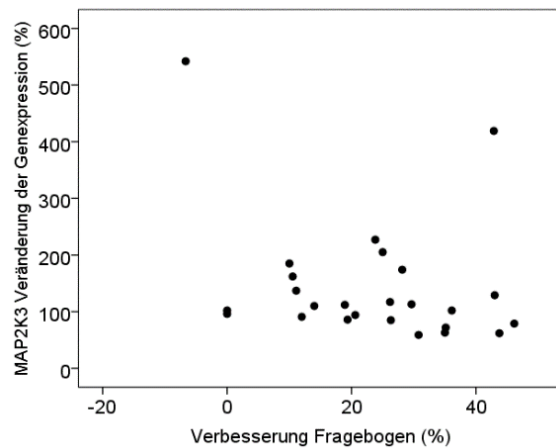


Abbildung 15 A: Assoziation der Genexpressionsveränderung von MAP2K3 mit der VAS-Schmerzverbesserung,  $r^2 = -0,275$ ,  $p = 0,183$

Abbildung 15 B: Assoziation der Genexpressionsveränderung von MAP2K3 mit der prozentualen Gesamtverbesserung,  $r^2 = -0,205$ ,  $p = 0,315$ . Der Patient mit der stärksten Verschlechterung von -75% wurde in der Abbildung nicht berücksichtigt.

Bei den Expressionsanalysen von CD69 stellte sich eine Herunterregulation unter dem Einfluss der GKKT bei 19 Patienten dar, was anhand der Abbildungen 16 A und B zu erkennen ist. Bei drei Teilnehmern blieb die Expression im stabilen Bereich und bei vier Patienten erfolgte unter der Therapie eine Aufregulation.

Bei der Betrachtung der Genexpression von IL-8 (Abbildung 16C und 16 D) konnten Ergebnisse aus der Literatur weder bestätigt noch wiederholt werden. In der hier vorliegenden Studie zeigte sich nach drei Behandlungstagen lediglich eine Herunterregulation bei 15 Patienten, eine Aufregulation von IL-8 bei zehn Teilnehmern und bei einem Patienten blieb die Expression unverändert im Vergleich zum Ausgangswert. Eine Korrelation zwischen den Genexpressionsveränderungen und der Änderung des VAS-Schmerzstärke konnte lediglich für CD69 nachgewiesen werden ( $p=0,035$ ).

Abbildung 16 A

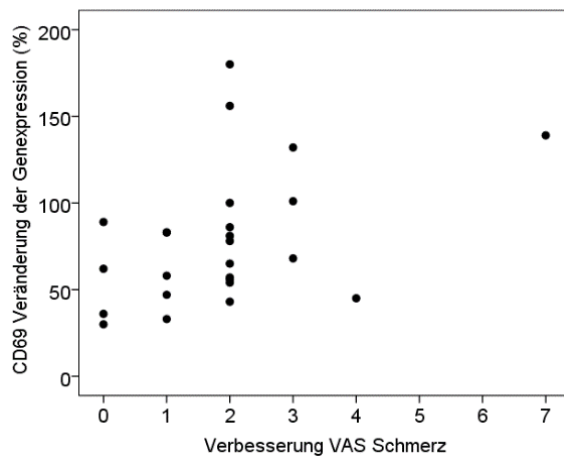


Abbildung 16 B

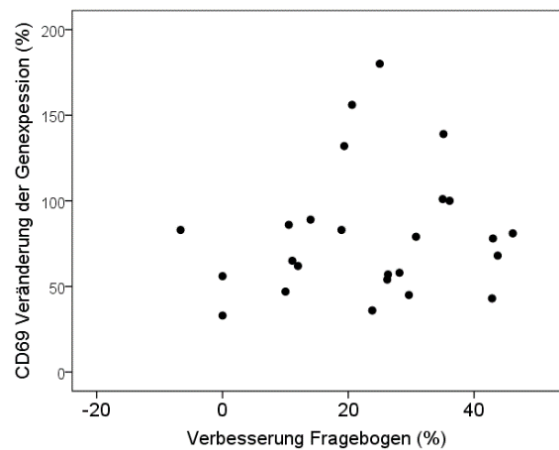


Abbildung 16 C

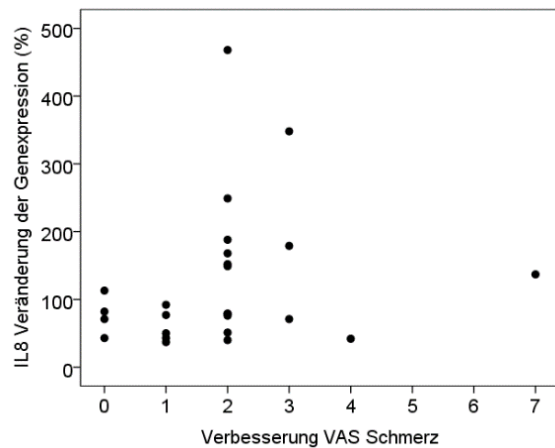


Abbildung 16 D

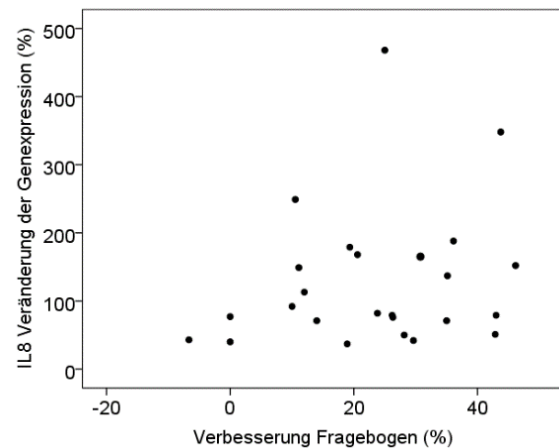


Abbildung 16 A und C: Assoziation der Genexpressionsveränderung von CD 69 (A) und IL-8 (C) mit der VAS-Schmerzverbesserung,  $r^2 = 0,423^*$ ,  $p = 0,035$  (A) und  $r^2 = -0,223$ ,  $p = 0,284$  (C)

Abbildung 16 B und D: Assoziation der Genexpressionsveränderung von CD69 (B) und IL-8 (D) mit der prozentualen Gesamtverbesserung,  $r^2 = 0,284$ ,  $p = 0,160$  (B) und  $r^2 = -0,258$ ,  $p = 0,203$

Es konnte wieder keine Korrelation zwischen der Schmerzstärke und dem Grad der Beschwerdebesserung in Abhängigkeit von den Veränderungen der untersuchten Genexpression von CCL4 und TGF $\beta$ R3 nachgewiesen werden. Anhand der Abbildungen 17A und 17 B ist für CCL4 abzulesen, dass bei 19 Studienteilnehmern eine Herunterregulation und bei zwei eine Aufregulation unter der GKKT stattfand. Fünf der Patienten blieben im stabilen Bereich. Das Expressionsniveau von TGF $\beta$ R3 wurde bei 17 Teilnehmern herunterreguliert und blieb bei einem Teilnehmer stabil. Bei acht Patienten ergab sich eine Aufregulation.



Abbildung 17 A

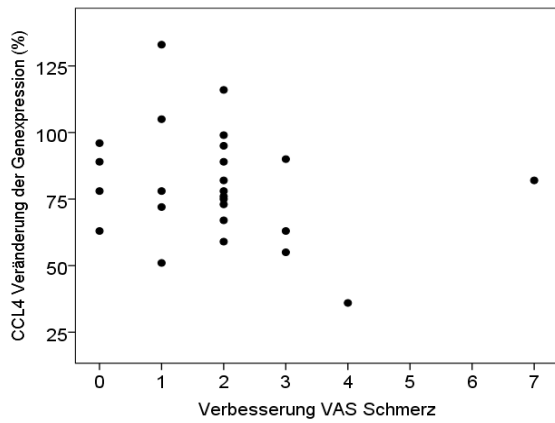


Abbildung 17 B

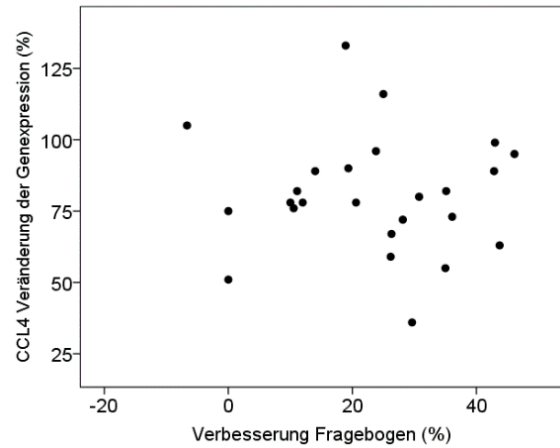


Abbildung 17 C

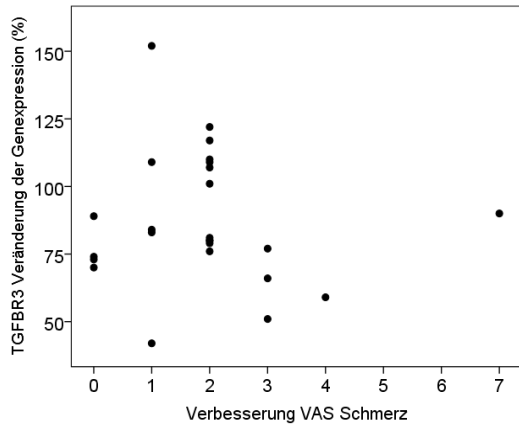


Abbildung 17 D

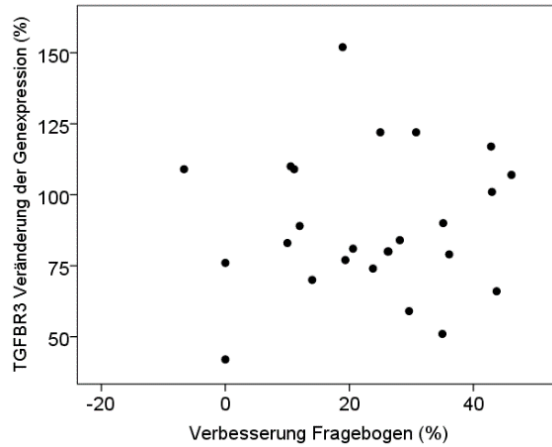


Abbildung 17 A und C: Assoziation der Genexpressionsveränderung von CCL4 (A) und TGFβ3 (C) mit der VAS-Schmerzverbesserung,  $r^2 = -0,216$ ,  $p = 0,301$  (A) und  $r^2 = -0,068$ ,  $p = 0,748$  (C)

Abbildung 17 B und D: Assoziation der Genexpressionsveränderung von TGFβ3 mit der prozentualen Gesamtverbesserung,  $r^2 = -0,104$ ,  $p = 0,614$  (C) und  $r^2 = -0,139$ ,  $p = 0,497$  (D)

## 4 Diskussion

Zielstellung dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob die Behandlung in der Kältekammer Veränderungen der Genexpression im Blut verursacht und ob diese Veränderungen ggf. mit klinischen Veränderungen der Studienteilnehmer assoziiert sind. Es konnte gezeigt werden, dass sich bei einer Mehrheit der Patienten eine messbare Schmerzreduktion durch die GKKT bereits nach den ersten drei dokumentierten Therapietagen einstellte.

Die Resultate dieser Studie zeigen, dass es durch die GKKT zu Änderungen in der Genexpression in Zellen des peripheren Blutes bei allen untersuchten Genen kommt. Im Hinblick auf die durchgeführten Genexpressionsanalysen konnte nachgewiesen werden, dass CD69, IL8, CCL4 und TGF $\beta$ R3 im Zuge der GKKT überwiegend herunterreguliert werden, MAP2K3 eher aufreguliert wird. Die Veränderungen waren nach dem dritten Kältekammer-Durchgang für alle untersuchten Gene mit Ausnahme von IL-8 signifikant. Bei TGF $\beta$ R3 waren die absoluten Unterschiede bei den Expressionsänderungen der Hauptstudie lediglich geringer als in der Pilotstudie. Zwischen klinischen Veränderungen und der Änderung der Genexpressionen konnte nur eine Korrelation zwischen den Expressionsveränderungen von CD69 und den Änderungen der VAS-Schmerzstärke der Patienten gefunden werden.

Bei CD69, einem Marker für die T-Zell-Aktivierung, wurde eine Herunterregulation der Genexpression nach GKKT gemessen. Eine Studie bei 65 FMS-Patienten ohne GKKT zeigte, dass der Serumspiegel von CD69 im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe tendenziell, jedoch nicht signifikant erniedrigt war [64]. Eine weitere Studie mit 19 gesunden Skatern, die submaximale Übungen unter Kälteexposition ( $5\pm 1^\circ\text{C}$ ) durchführten, kam es zu einem Anstieg von CD69 im Serum [79]. In der vorliegenden Arbeit hätte nun angenommen werden können, dass es unter der GKKT zu einer Aufregulation von CD69 kommt. Es wurde jedoch, wie bereits erwähnt, eine Herunterregulation gemessen. Eine Erklärung könnte sein, dass bei FMS-Patienten durch die GKKT die Expression von CD69 weiter supprimiert wird. Die Korrelation der Expressionsänderung von CD69 und Schmerzempfinden der Patienten (VAS) erreichte als einziges Signifikanzniveau. Bei der prozentualen Angabe der Gesamtverbesserung wurde dies nicht beobachtet. Ob CD69 tatsächlich

als Marker für das klinische Ansprechen dienen kann, muss durch weitere Studien mit größeren Stichprobengruppen gezeigt werden.

Es existieren Hinweise, dass Serumspiegel von Zytokinen bei FMS-Patienten im Vergleich zu gesunden Personen erhöht sein können [12,51]. IL-6 kann schmerzhafte Ereignisse, Fatigue und psychische Störungen wie Depressionen und Stress, auslösen [63,110]. IL-8 hingegen wird mit Schmerzen und Schlafstörungen assoziiert [20]. Die Datenlage hinsichtlich IL-6 und IL-8 in Verbindung mit FMS-Patienten ist widersprüchlich. Während Studien von 2013 und 2016 feststellen, dass es keinen Unterschied in der Serumkonzentration von IL-6 und IL-8 bei FMS-Patienten und einer gesunden Kontrollgruppe gibt [137,109], zeigt eine Arbeit von 2015 mit 15 mexikanischen FMS-Patienten und 14 gesunden Teilnehmern, dass die systemischen Konzentrationen von IL-6 und IL-8 bei FMS-Patienten erhöht sind [98]. Die dort gewonnenen Daten legen nahe, dass IL-6 und IL-8 additive und synergistische Effekte bei den anhaltenden Schmerzen von FMS-Patienten haben. Vor einigen Jahren wurde berichtet, dass bei FMS-Patienten, wie oben bereits erwähnt, ein höherer Serumspiegel an IL-8 vorliegt [19,20]. Bei einer Studie mit acht FMS-Patientinnen und einer Kontrollgruppe mit acht gesunden Frauen beobachtet, dass unter moderaten sportlichen Übungen bei den FMS-Patientinnen der IL-8 Serumspiegel abfällt und bei der gesunden Kontrollgruppe ansteigt [20]. Die Autoren vermuten hierfür als Grund entweder eine Überaktivierung der inflammatorischen Antwort, welche sich nachteilig für FMS-Patienten auswirken kann und ihre Symptome verschlimmert, oder, konzeptionell bedingt, wonach die antiinflammatorischen Effekte der Übungen hauptsächlich oder ausschließlich Patienten nützen, die einen ungesund hohen inflammatorischen Status aufweisen, wie beispielsweise FMS-Patienten.

Eine zu erwartende Herunterregulation von IL-8 während der GKKT war in der vorliegenden Arbeit nachweisbar aber nicht signifikant. IL-6 wurde nicht weiter untersucht, weil das Expressionsniveau von IL-6 sehr niedrig war.

Die Herunterregulation des von T-Zellen produzierten Chemokins CCL4 zeigt, dass die GKKT-Exposition eine Reaktion bei peripheren T-Zellen auslöst. Die Veränderungen im Genexpressionsniveau korrelierten nicht im direkten Vergleich bei den Patienten im Hinblick auf das VAS-Schmerzniveau oder das Gesamtbefinden der Teilnehmer. Bei einer Studie mit 30 ausdauertrainierten Probanden wurde die

CCL4-Konzentration in Verbindung mit sportlichen Übungen und darauf folgender Neurostimulation oder Untertauchen in Eiswasser (10-12°C) untersucht [69]. Erwartet wurde durch die Behandlungen eine deutliche Aufregulation in der CCL4-Antwort, was aber, anders als bei anderen Arbeiten, nicht geschah. Ausgehend von dem Wissen, dass die Produktion von CCL4 von proinflammatorischen Zytokinen wie u.a. TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  und IL-1 $\beta$  stimuliert und gleichzeitig durch antiinflammatorische Zytokine wie z. B. IL-10 inhibiert wird [96], vermuten die Autoren, dass die Interaktion zwischen diesen pro- und antiinflammatorischen Faktoren zu der Initiierung konkurrierender Signale führt und es dadurch zu den unklaren Resultaten kommt. Sie regen an den zeitlichen Verlauf der CCL4-Konzentration in weiteren Studien zu untersuchen.

TGF $\beta$ 3 ist ein Rezeptor, vom dem bekannt ist, mRNA von Leukozyten im peripheren Blut aufzuregulieren und somit auf angeborene und adaptive inflammatorische Funktionen von Leukozyten vermittelnd einzuwirken [122]. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass es bei 17 Studienteilnehmern zu einer Herunterregulation dieses Rezeptors durch die GKKT kommt. Dies hat eine Unterdrückung proinflammatorischer Effekte zur Folge. Derzeit gibt es noch keine publizierten Daten zur Regulation von TGF $\beta$ 3 durch Kälte (-Stress), die die Daten der Arbeit bestätigen oder widerlegen.

Die Expression von MAP2K3 ist dafür bekannt, u. a. durch Umweltstress reguliert zu werden und ist innerhalb der p38 MAP-Gruppe auch an der normalen Immunantwort und Inflammationsvorgängen, aktiviert durch beispielsweise Chemokine, Zytokine, bakteriellen Lipopolysaccharide und auch Chemotherapeutika, beteiligt [26]. Eine hier beobachtete übereinstimmende Aufregulation der MAP2K3-Expression bei 14 der 26 Patienten konnte gezeigt werden. Dass allerdings bei den Non-Respondern unter den untersuchten Patienten eine stärkere Aufregulation als bei den Respondern nachzuweisen war, lässt vermuten, dass Non-Responder während der GKKT-Behandlungsintervalle mit mehr Stress (durch diese Therapie) reagierten.

Die positiven klinischen Ergebnisse der vorliegenden Studie widersprechen den AWMF-S3- Leitlinienempfehlungen (EL3B, negative Empfehlung, starker Konsens) von 2012. Demnach sei bei Anwendung der GKKT eine anhaltende Schmerzreduktion bei FMS-Patienten nicht belegt, die Akzeptanz bei dieser

Patientengruppe niedrig und die potentiellen Risiken dieser Behandlungsform als hoch angesehen. Allerdings gäbe es ein Sondervotum von Patientenselbsthilfeorganisationen, wonach die Erfahrungen einzelner Patienten mit der GKKT positiv seien [55].

Aktuelle Daten stehen jedoch auch im Widerspruch zu den Empfehlungen der AWMF Leitlinie, wobei im Rahmen der Literaturrecherche auffiel, dass der Einsatz der GKKT bei der Mitbehandlung des FMS eine europäische Domäne ist [34,52,87,128,31]. So wurde in einer Studie mit 100 FMS-Patienten, aufgeteilt in 50 Patienten mit und 50 Patienten ohne GKKT-Behandlungsserie als Kontrollgruppe, nach erfolgter GKKT berichtet, dass sich der VAS-Score um 58% verbesserte, bei der Kontrollgruppe nur um 22%. Auch das Allgemeinbefinden der 50 Patienten mit GKKT besserte sich, gemessen anhand des Short Form 36-Scores, deutlicher als bei der Kontrollgruppe [14]. Darüber hinaus kann die GKKT Wärmeanwendungen sogar überlegen sein, da beim FMS chronische Schmerzen im Vordergrund stehen [82,112]. Neben erhöhten Ermüdungstendenzen der Muskulatur leiden die Patienten an beträchtlichen Weichteilschmerzen. Mit 20-30 GKKT-Anwendungen können bei diesen Beschwerden deutliche Linderungen mit Erfolgsquoten von 40-80% erzielt werden [107]. Zu den in der Leitlinienempfehlung angeführten hohen potentiellen Risiken einer GKKT ist anzumerken, dass die GKKT die Lungenfunktion nicht nachhaltig beeinflusst. Während plötzliche Kälteexposition verschiedene Effekte auf das respiratorische System, wie gesteigerte Ventilation und Bronchokonstriktion auslösen können, kommen diese Effekte bei wiederholter Kryotherapie nicht zum Tragen. Auch treten keine schädlichen Lokalreaktionen oder Beeinträchtigungen der lokalen Immunbarriere auf [116]. In einer aktuelleren Studie wurde der Einfluss der GKKT auf das Herz-Kreislauf-System der Studienteilnehmer untersucht. Zusammenfassend konnte dabei festgestellt werden, dass GKKT keine negativen Effekte bei Patienten bis zu einem Lebensalter unter 70 Jahren erzielt, sofern eine Überwachung der Kreislauffunktion durchgeführt wird und keine Risikofaktoren für eine GKKT vorliegen [18].

In der vorliegenden Studie profitierten nach Auswertung der Fragebögen 22 der 26 Studienteilnehmer, teilweise allerdings nur geringfügig. Bei 15 der 26 Patienten stellte sich eine Gesamtbesserung von mehr als 20% nach drei Behandlungstagen ein.

Von den ursprünglich 31 ausgewählten Patienten konnten drei nicht teilnehmen. Diese drei Patienten, hatten initiale Blutdruckwerte vor Erstbesuch der Kältekammer von systolisch >160 mmHg. Ausgehend von der Annahme, dass es unter der GKKT zu Blutdrucksteigerungen um 20 mmHg kommen kann, wurden diese Patienten zum Schutz vor kardiozirkulatorischen Komplikationen nicht zur GKKT zugelassen. Eine Studie von 1983 beschrieb systemische Effekte wie das Provozieren von koronaren Spasmen bei kardial Erkrankten bei der Inhalation von kalter Luft [131]. Auch weitere, teilweise ältere Studien belegen den vorsichtigen Umgang mit GKKT-Patienten. Es wurden nach Kältekammerbesuchen systolische Blutdruckanstiege von 20-25 mmHg beschrieben [120,138,89,88].

Von den 28 verbliebenen Studienteilnehmern mussten zwei weitere Patienten die GKKT nach dem ersten Tag abbrechen, da sie die Kryotherapie nicht vertrugen. Sie klagten über ein stundenlanges anhaltendes Kältegefühl, Unwohlsein, Schwitzen und Schmerzzunahme nach Aufenthalt in der Kältekammer. Damit lag die Rate der Abbrecher (zwei von 28 Teilnehmern) bei 7,2% und somit unter der einer anderen Studie, in der die Abbruchrate aufgrund von Unwohlsein, Unverträglichkeit, dekompensierter arterieller Hypertonie, Zunahme der Beschwerden und Infekt-Entwicklung bei 21,7% lag [21]. Bei einer weiteren Arbeit mit einem Patientenkollektiv von 120 Personen, welches zu 56,5% aus rheumatisch Erkrankten und Patienten mit primärer (40,9%) und sekundärer (3,6%) Fibromyalgie bestand, lag die ärztlicherseits induzierte Abbruchquote bei 19,6% aufgrund von Nebenwirkungen, Intoleranz oder fehlender erwarteter Zustandsverbesserung. Von diesen 19,6% der Abbrecher waren bemerkenswerter Weise 67,6% FMS-Patienten [100]. Leider wurde über zugrunde liegende Ursachen nicht diskutiert. Die jetzt beobachtete geringere Abbruchrate von 7,2% kann darauf zurückgeführt werden, dass Patienten mit deutlichen Kreislaufbeschwerden gar nicht erst zugelassen wurden und somit an der Studie nicht teilnahmen, was andernfalls möglicherweise erst während der Studie zu einem Abbruch geführt hätte. Dazu kommt, dass von den 26 Patienten bereits 16 (61,5%) Erfahrungen mit der Anwendung der Kältekammertherapie hatten. Bei 10 (38,5%) Patienten kam diese Therapie erstmalig zur Anwendung. Die ACR20 Responderrate lag in der Gruppe der Patienten mit Vorerfahrungen mit 62,5% (10 von 16 Patienten) deutlich höher als in der Gruppe ohne Vorerfahrung mit 50% (5 von 10 Patienten). So kann davon ausgegangen werden, dass Teilnehmer mit positiven GKKT-

Vorerfahrungen mit einer positiveren Erwartungshaltung in die Studie eingegangen sind. Möglicherweise hätte eine größere Patientengruppe daher zu mehr Abbrechern geführt. Ein Erklärungsansatz für hohe Abbruchraten besonders unter FMS-Patienten in anderen Arbeiten könnte die unterschiedliche Pathogenese der Grunderkrankung sein. Anders als die Studienteilnehmer mit Rheumatoider Arthritis, Spondyloarthropathien, Polyarthrose und Rückenschmerz-Patienten, tolerieren FMS-Patienten unangenehme Nebenwirkungen der GKKT ggf. deshalb weniger, weil die erwähnten vegetativen und psychopathologischen Begleitsymptome der Fibromyalgie [85] dazu führen, die GKKT stärker als andere Patientenkollektive als unangenehm belastend zu empfinden. Daher würden sie u.U. diese Therapie abbrechen oder aber möglicherweise aufgrund einer erworbenen negativen Grundeinstellung sich erst gar nicht versuchen auf die GKKT einzulassen. Hierzu bedürfte es im Rahmen weiterer Studien gezielte Gespräche mit Patienten, die GKKT abbrechen.

Die GKKT ist seit Jahren ein fester Bestandteil bei der physikalischen Mitbehandlung von FMS-Patienten. Durch verschiedene Studien konnten positive Einflüsse auf das Allgemein- und Schmerzbefinden belegt werden [14,100]. Die für die Expressionsanalysen ausgewählten Gene zeigten keine signifikante Korrelation mit den untersuchten klinischen Parametern der FMS-Patienten außer CD69 in Verbindung mit der Verbesserung der VAS-Schmerzen.

Möglicherweise sind die positiven Effekte der Kältekammer-Behandlung, die auch bei den Patienten in der vorliegenden Arbeit nachzuweisen waren, mehr auf neuronaler Ebene, bzw. in anderen Zielstrukturen als dem peripheren Blut zu suchen. Weitere Studien mit höheren Patientenzahlen und modifizierten Studienendpunkten sind erforderlich, um den Effekt der GKKT auf die Genexpression und das klinische Schmerzempfinden genauer zu verifizieren.

## 5 Zusammenfassung

Es ist davon auszugehen, dass 15-20% der bundesdeutschen Bevölkerung unter chronischen, länger andauernden oder wiederkehrenden Schmerzen leidet. Unter ihnen sind zahlreiche Patienten mit Fibromyalgiesyndrom (FMS), wobei deren Inzidenz bei 2-4% der Erwachsenen in Europa liegt. Frauen sind deutlich häufiger betroffen als Männer.

Außer medikamentösen Therapieansätzen, existieren eine Reihe von nicht-pharmakologischen Therapien. Neben einer Reihe von Entspannungsverfahren, kognitiven Verhaltenstherapien und meditativen Übungen kommen auch verstärkt physikalische Therapieverfahren zum Ansatz.

Eine sinnvoll erscheinende Behandlungsmöglichkeit beim FMS ist die Ganzkörper-Kryotherapie (GKKT), die vor über 35 Jahren ursprünglich für die Behandlung von Rheumapatienten entwickelt worden ist. Bereits seit Anfang der 1990er Jahre wird die GKKT auch als unterstützendes Verfahren beim FMS eingesetzt. Auch wenn das gegenwärtige Wissen bislang noch nicht alle Aspekte der Kälteeffekte auf den menschlichen Körper klären konnte, darf davon ausgegangen werden, dass eine Kryostimulation immunologische Reaktionen modifiziert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war der Nachweis des Effektes einer Therapieserie von drei GKKT-Behandlungstagen bei einer Kohorte von 26 FMS-Patienten einerseits auf ihr Allgemein- und Schmerzempfinden (Untersucht durch Fragebögen), andererseits auf das Expressionsverhalten bestimmter Gene/Zytokine aus peripherem Venenblut. Die Ergebnisse zeigen, dass 22 der 26 untersuchten Patienten von der GKKT in unterschiedlicher Weise profitierten. Bei der Einteilung der Teilnehmer in Responder und Non-Responder wurde als Grenze eine >20%ige Verbesserung der Beschwerden zu Grunde gelegt. Im Ergebnis konnten 15 Responder identifiziert werden. Von den 11 Non-Respondern hatten zwei keine positiven und zwei weitere sogar negative GKKT-Gesamteffekte vorzuweisen.

Der empfundene Schmerz der Teilnehmer reduzierte sich nach Messung der VAS im Mittel von  $6,0 \pm 0,3$  in der Baseline auf  $4,1 \pm 0,3$  nach der dritten Kälteexposition signifikant ( $p < 0,001$ ).

Die GKKT induzierte im Verhältnis zur Baseline signifikante Änderungen in der Genexpression von CCL4 (Herunterregulation,  $p < 0,001$ ), CD69 (Herunterregulation,



$p < 0,01$ ), MAP2K3 (Heraufregulation,  $p < 0,05$ ) und TGF $\beta$ R3 (Herunterregulation,  $p < 0,05$ ). Im Gegensatz zur Literatur zeigte IL-8 im Verlauf keine Herunterregulation, sondern eine nicht signifikante Aufregulation ( $p = 0,223$ ). Es wurde, abgesehen von CD69 ( $p = 0,035$ ), keine signifikanten Korrelationen bei den Veränderungen aller untersuchten Transkripte und den Ergebnissen der Patientenbefragungen bezüglich VAS-Schmerzen (CCL4  $p = 0,301$ , MAP2K3  $p = 0,183$ , TGF $\beta$ R3  $p = 0,748$ , IL8  $p = 0,284$ ) und prozentualer Gesamtverbesserung (CCL4  $p = 0,614$ , CD69  $p = 0,16$ , MAP2K  $p = 0,315$ , TGF $\beta$ R3  $p = 0,497$ , IL8  $p = 0,203$ ) der Studienteilnehmer gefunden.

Möglicherweise sind die positiven Effekte der Kältekammer-Behandlung, die auch bei den Patienten in der vorliegenden Arbeit nachzuweisen waren mehr auf neuronaler Ebene, bzw. in anderen Zielstrukturen als dem peripheren Blut zu suchen. Weitere Studien mit höheren Patientenzahlen und modifizierten Studienendpunkten sind erforderlich, um den Effekt der GKKT auf die Genexpression und das klinische Schmerzempfinden und Gesamtbefinden genauer zu verifizieren.

## 6 Literaturverzeichnis

1. **Aaron** L. A.; Bradley, L. A.; Alarcon, G. S.; Triana-Alexander, M.; Alexander, R. W.; Martin, M. Y.; Alberts, K. R.: Perceived physical and emotional trauma as precipitating events in fibromyalgia. Associations with health care seeking and disability status but not pain severity. *Arthritis Rheum.* 40. 453–460 (1997).
2. **Adler** G. K.; Kinsley, B. T.; Hurwitz, S.; Mossey, C. J.; Goldenberg, D. L.: Reduced hypothalamic-pituitary and sympathoadrenal responses to hypoglycemia in women with fibromyalgia syndrome. *Am J Med.* 106. 534–543 (1999).
3. **Alberts** B.: *Molecular biology of the cell.* Garland Science. New York, NY (2002).
4. **Allen** S. J.; Crown, S. E.; Handel, T. M.: Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism. *Annu Rev Immunol.* 25. 787–820 (2007).
5. **Antwerpes F.; Freyer T.; Rogge J.**; Graf v. Westphalen, G., et al.: WHO-Stufenschema. [http://flexikon.doccheck.com/de/Spezial:Artikel\\_Autoren/WHO-Stufenschema](http://flexikon.doccheck.com/de/Spezial:Artikel_Autoren/WHO-Stufenschema) (2014)
6. **Arguelles** L. M.; Afari, N.; Buchwald, D. S.; Clauw, D. J.; Furner, S.; Goldberg, J.: A twin study of posttraumatic stress disorder symptoms and chronic widespread pain. *Pain.* 124. 150–157 (2006).
7. **Arnold** L. M.; Hudson, J. I.; Hess, E. V.; Ware, A. E.; Fritz, D. A.; Auchenbach, M. B.; Starck, L. O.; Keck, P. E. [: Family study of fibromyalgia. *Arthritis Rheum.* 50. 944–952 (2004).
8. **Arnold** L. M.; Clauw, D. J.; McCarberg, B. H.: Improving the recognition and diagnosis of fibromyalgia. *Mayo Clin Proc.* 86. 457–464 (2011).
9. **Arnold** L. M.; Fan, J.; Russell, I. J.; Yunus, M. B.; Khan, M. A.; Kushner, I.; Olson, J. M.; Iyengar, S. K.: The fibromyalgia family study: a genome-wide linkage scan study. *Arthritis Rheum.* 65. 1122–1128 (2013).
10. **Barczyk** A.; Pierzchala, E.; Caramori, G.; Sozanska, E.: Increased expression of CCL4/MIP-1beta in CD8+ cells and CD4+ cells in sarcoidosis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 27. 185–193 (2014).
11. **Bartels** E. M.; Dreyer, L.; Jacobsen, S.; Jespersen, A.; Bliddal, H.; Danneskiold-Samsøe, B.: Fibromyalgi, diagnostik og praevalens. Kan kønsforskellen forklares? *Ugeskr Laeg.* 171. 3588–3592 (2009).

12. **Bazzichi** L.; Rossi, A.; Massimetti, G.; Giannaccini, G.; Giuliano, T.; Feo, F. de; Ciapparelli, A.; Dell'Osso, L.; Bombardieri, S.: Cytokine patterns in fibromyalgia and their correlation with clinical manifestations. *Clin Exp Rheumatol.* 25. 225–230 (2007).
13. **Behm** F. G.; Gavin, I. M.; Karpenko, O.; Lindgren, V.; Gaitonde, S.; Gashkoff, P. A.; Gillis, B. S.: Unique immunologic patterns in fibromyalgia. *BMC Clin Pathol.* 12. 25 (2012).
14. **Bettoni** L.; Bonomi, F. G.; Zani, V.; Manisco, L.; Indelicato, A.; Lanteri, P.; Banfi, G.; Lombardi, G.: Effects of 15 consecutive cryotherapy sessions on the clinical output of fibromyalgic patients. *Clin. Rheumatol.* 32. 1337–1345 (2013).
15. **Bian** L.; Traurig, M.; Hanson, R. L.; Marinelarena, A.; Kobes, S.; Muller, Y. L.; Malhotra, A.; Huang, K.; Perez, J.; Gale, A.; Knowler, W. C.; Bogardus, C.; Baier, L. J.: MAP2K3 is associated with body mass index in American Indians and Caucasians and may mediate hypothalamic inflammation. *Hum Mol Genet.* 22. 4438–4449 (2013).
16. **Boisset-Piolo** M. H.; Esdaile, J. M.; Fitzcharles, M. A.: Sexual and physical abuse in women with fibromyalgia syndrome. *Arthritis Rheum.* 38. 235–241 (1995).
17. **Boissevain** M. D.; McCain, G. A.: Toward an integrated understanding of fibromyalgia syndrome. I. Medical and pathophysiological aspects. *Pain.* 45. 227–238 (1991).
18. **Bonomi** F. G.; Nardi, M. d.; Fappani, A.; Zani, V.; Banfi, G.: Impact of different treatment of whole-body cryotherapy on circulatory parameters. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.).* 60. 145–150 (2012).
19. **Bote** M. E.; Garcia, J. J.; Hinchado, M. D.; Ortega, E.: Inflammatory/stress feedback dysregulation in women with fibromyalgia. *Neuroimmunomodulation.* 19. 343–351 (2012).
20. **Bote** M. E.; Garcia, J. J.; Hinchado, M. D.; Ortega, E.: Fibromyalgia: anti-inflammatory and stress responses after acute moderate exercise. *PLoS ONE.* 8. e74524 (2013).
21. **Braun** K.-P.; Brookman-Amisshah, S.; Geissler, K.; Ast, D.; May, M.; Ernst, H.: Ganzkörperkryotherapie bei Patienten mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen. Eine prospektive Studie. *Med. Klin. (Munich).* 104. 192–196 (2009).
22. **Buskila** D.; Neumann, L.; Hazanov, I.; Carmi, R.: Familial aggregation in the fibromyalgia syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 26. 605–611 (1996).

23. **Buskila** D.; Shnaider, A.; Neumann, L.; Zilberman, D.; Hilzenrat, N.; Sikuler, E.: Fibromyalgia in hepatitis C virus infection. Another infectious disease relationship. *Arch Intern Med.* 157. 2497–2500 (1997).
24. **Buskila** D.; Cohen, H.: Comorbidity of fibromyalgia and psychiatric disorders. *Curr Pain Headache Rep.* 11. 333–338 (2007).
25. **Buskila** D.; Atzeni, F.; Sarzi-Puttini, P.: Etiology of fibromyalgia: the possible role of infection and vaccination. *Autoimmun Rev.* 8. 41–43 (2008).
26. **Cargnello** M.; Roux, P. P.: Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev.* 75. 50–83 (2011).
27. **Castro** I.; Barrantes, F.; Tuna, M.; Cabrera, G.; Garcia, C.; Recinos, M.; Espinoza, L. R.; Garcia-Kutzbach, A.: Prevalence of abuse in fibromyalgia and other rheumatic disorders at a specialized clinic in rheumatic diseases in Guatemala City. *J Clin Rheumatol.* 11. 140–145 (2005).
28. **Celis** J. E.; Kruhoffer, M.; Gromova, I.; Frederiksen, C.; Ostergaard, M.; Thykjaer, T.; Gromov, P.; Yu, J.; Palsdottir, H.; Magnusson, N.; Orntoft, T. F.: Gene expression profiling: monitoring transcription and translation products using DNA microarrays and proteomics. *FEBS Lett.* 480. 2–16 (2000).
29. **Chatap** G.; Sousa, A. de; Giraud, K.; Vincent, J.-P.: Pain in the elderly: Prospective study of hyperbaric CO<sub>2</sub> cryotherapy (neurocryostimulation). *Joint Bone Spine.* 74. 617–621 (2007).
30. **Choi** B. Y.; Oh, H. J.; Lee, Y. J.; Song, Y. W.: Prevalence and clinical impact of fibromyalgia in patients with primary Sjogren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 34. 9–13 (2016).
31. **Clauw** D. J.; Wallace, D. J.: *Fibromyalgia. The essential clinician's guide*, 101. Oxford University Press. Oxford, New York (2009).
32. **Demitrack** M. A.; Crofford, L. J.: Evidence for and pathophysiologic implications of hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation in fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 840. 684–697 (1998).
33. **Demoulin** C.; Vanderthommen, M.: Cryotherapy in rheumatic diseases. *Joint Bone Spine.* 79. 117–118 (2012).
34. **Deodhar** A.; Marcus, D. A.: *Fibromyalgia. A Practical Clinical Guide.* Springer Science+Business Media LLC. New York, NY (2011).

35. **Diener H.-C.**; Maier, C.: Die Schmerztherapie. Interdisziplinäre Diagnose- und Behandlungsstrategien 546. Urban Fischer Verlag - Nachschlagewerke. s.l. (2012).
36. **Eich W.**; Häuser, W.; Arnold, B.; Jäckel, W.; Offenbächer, M.; Petzke, F.; Schiltenswolf, M.; Settan, M.; Sommer, C.; Tölle, T.; Uçeyler, N.; Henningsen, P.: Das Fibromyalgiesyndrom. Definition, Klassifikation, klinische Diagnose und Prognose. Schmerz. 26. 247–258 (2012).
37. **Epstein S. A.**; Kay, G.; Clauw, D.; Heaton, R.; Klein, D.; Krupp, L.; Kuck, J.; Leslie, V.; Masur, D.; Wagner, M.; Waid, R.; Zisook, S.: Psychiatric disorders in patients with fibromyalgia. A multicenter investigation. Psychosomatics. 40. 57–63 (1999).
38. **Ernst E.**; Fialka, V.: Ice freezes pain? A review of the clinical effectiveness of analgesic cold therapy. J Pain Symptom Manage. 9. 56–59 (1994).
39. **Felson D. T.**; Anderson, J. J.: A review of evidence on the discriminant validity of outcome measures in rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 28. 422–426 (2001).
40. **Felson D. T.**; LaValley, M. P.: The ACR20 and defining a threshold for response in rheumatic diseases: too much of a good thing. Arthritis Res Ther. 16. 101 (2014).
41. **Fialka-Moser V** (ed.): Kompendium Physikalische Medizin und Rehabilitation. Springer Vienna. Vienna (2013).
42. **Fricke R.**: Ganzkörperkältetherapie bei -110°C. Hormonelle Auswirkung - Immunmodulation (1985 - 2000).
43. **Fricke R.**: Physikalische Therapie chronisch entzündlicher Gelenkerkrankungen. Therapiewoche 36. 20. 2182–2187 (1986).
44. **Fricke R.**: Ganzkörper-Kältetherapie in einer Kältekammer mit Temperaturen um -110°C. Z Phys Med Balneol Med Klimatol. 18. 1–10 (1989).
45. **Gallacchi G.**; Pilger, B.: Schmerzkompendium 303. Thieme. s.l. (2005).
46. **Garcia J. J.**; Cidoncha, A.; Bote, M. E.; Hinchado, M. D.; Ortega, E.: Altered profile of chemokines in fibromyalgia patients. Ann Clin Biochem. 51. 576–581 (2014).
47. **Garnett M. J.**; Marais, R.: Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. Cancer Cell. 6. 313–319 (2004).

48. **Giemza C.**; Matczak-Giemza, M.; Nardi, M. de; Ostrowska, B.; Czech, P.: Effect of frequent WBC treatments on the back pain therapy in elderly men. *Aging Male*. 1–8 (2014).
49. **Gonzalez-Amaro R.**; Cortes, J. R.; Sanchez-Madrid, F.; Martin, P.: Is CD69 an effective brake to control inflammatory diseases? *Trends Mol Med*. 19. 625–632 (2013).
50. **Gowers W. R.**: A Lecture on Lumbago: Its Lessons and Analogues: Delivered at the National Hospital for the Paralysed and Epileptic. *Br Med J*. 1. 117–121 (1904).
51. **Gur A.**; Karakoc, M.; Nas, K.; Remzi, Cevik; Denli, A.; Sarac, J.: Cytokines and depression in cases with fibromyalgia. *J Rheumatol*. 29. 358–361 (2002).
52. **Hakim A.**; Keer, Rosemary; Grahame, Rodney (eds.): *Hypermobility, fibromyalgia and chronic pain*. Churchill Livingstone. Edinburgh (2010).
53. **Hanel G.**; Henningsen, P.; Herzog, W.; Sauer, N.; Schaefert, R.; Szecsenyi, J.; Löwe, B.: Depression, anxiety, and somatoform disorders: vague or distinct categories in primary care? Results from a large cross-sectional study. *J Psychosom Res*. 67. 189–197 (2009).
54. **Harada A.**; Sekido, N.; Akahoshi, T.; Wada, T.; Mukaida, N.; Matsushima, K.: Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. *J Leukoc Biol*. 56. 559–564 (1994).
55. **Häuser W.**: Themenheft „ Fibromyalgiesyndrom – Eine interdisziplinäre S3-Leitlinie. Hintergründe und Ziele – Methodenreport – Klassifikation Pathophysiologie – Behandlungsgrundsätze und verschiedene Therapieverfahren. (4/2012)
56. **Hauser W.**; Eich, W.; Herrmann, M.; Nutzinger, D. O.; Schiltenswolf, M.; Henningsen, P.: Fibromyalgia syndrome: classification, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 106. 383–391 (2009).
57. **Häuser W.**; Hayo, S.; Biewer, W.; Gesmann, M.; Kühn-Becker, H.; Petzke, F.; Wilmoswky, H. von; Langhorst, J.: Diagnosis of fibromyalgia syndrome—a comparison of Association of the Medical Scientific Societies in Germany, survey, and American College of Rheumatology criteria. *Clin J Pain*. 26. 505–511 (2010).
58. **Heck M.**: Repetitorium Schmerztherapie. Zur Vorbereitung auf die Prüfung "Spezielle Schmerztherapie". Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin, Heidelberg (2012).

59. **Hedges** J. C.; Singer, C. A.; Gerthoffer, W. T.: Mitogen-activated protein kinases regulate cytokine gene expression in human airway myocytes. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 23. 86–94 (2000).
60. **Heinrich** PC; Müller, Matthias; Graeve, Lutz; Löffler, Georg (eds.): *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie.* Vol. 9., vollst. überarb. Aufl. Springer. Berlin (2014).
61. **Hench** P. K.; Mitler, M. M.: Fibromyalgia. 1. Review of a common rheumatologic syndrome. *Postgrad Med.* 80. 47–56 (1986).
62. **Hermann** J.: Kryotherapie. *Z Rheumatol.* 68. 539–541 (2009).
63. **Hernandez** M. E.; Becerril, E.; Perez, M.; Leff, P.; Anton, B.; Estrada, S.; Estrada, I.; Sarasa, M.; Serrano, E.; Pavon, L.: Proinflammatory cytokine levels in fibromyalgia patients are independent of body mass index. *BMC Res Notes.* 3. 156 (2010).
64. **Hernanz** W.; Valenzuela, A.; Quijada, J.; Garcia, A.; de la Iglesia, J L; Gutierrez, A.; Povedano, J.; Moreno, I.; Sanchez, B.: Lymphocyte subpopulations in patients with primary fibromyalgia. *J. Rheumatol.* 21. 2122–2124 (1994).
65. **Hettenkofer** H.-J.; Schneider, M.; Braun, J.: *Rheumatologie. Diagnostik ; Klinik ; Therapie* 560. Georg Thieme Verlag KG. s.l. (2015).
66. **Hirvonen** H. E.; Mikkelsen, M. K.; Kautiainen, H.; Pohjolainen, T. H.; Leirisalo-Repo, M.: Effectiveness of different cryotherapies on pain and disease activity in active rheumatoid arthritis. A randomised single blinded controlled trial. *Clin. Exp. Rheumatol.* 24. 295–301 (2006).
67. **Hollensteiner** B.: Analgetische Wirkung einer Ganzkörperkältetherapie -110°C, 3 min. Inaugural-Dissertation. Weserberglandklinik Bad Seebruch, Vlotho, Westfälische Wilhelms-Universität Münster (2003).
68. **Inanici** F.; Yunus, M. B.: History of fibromyalgia: past to present. *Curr Pain Headache Rep.* 8. 369–378 (2004).
69. **Jajtner** A. R.; Fragala, M. S.; Townsend, J. R.; Gonzalez, A. M.; Wells, A. J.; Fukuda, D. H.; Stout, J. R.; Hoffman, J. R.: Mediators of monocyte migration in response to recovery modalities following resistance exercise. *Mediators Inflamm.* 2014. 145817 (2014).
70. **Janeway** C. A.; Travers, P.: *Immunobiology. The immune system in health and disease ;823.* Garland Science. New York (2005).

71. **Jones** G. T.; Nicholl, B. I.; McBeth, J.; Davies, K. A.; Morriss, R. K.; Dickens, C.; Macfarlane, G. J.: Role of road traffic accidents and other traumatic events in the onset of chronic widespread pain: Results from a population-based prospective study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 63. 696–701 (2011).
72. **Jovanovic** B.; Beeler, J. S.; Pickup, M. W.; Chytil, A.; Gorska, A. E.; Ashby, W. J.; Lehmann, B. D.; Zijlstra, A.; Pietenpol, J. A.; Moses, H. L.: Transforming growth factor beta receptor type III is a tumor promoter in mesenchymal-stem like triple negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 16. R69 (2014).
73. **Junker** U (ed.): *Grundlagen der speziellen Schmerztherapie*. Urban & Vogel. München (2005).
74. **Kadetoff** D.; Lampa, J.; Westman, M.; Andersson, M.; Kosek, E.: Evidence of central inflammation in fibromyalgia-increased cerebrospinal fluid interleukin-8 levels. *J Neuroimmunol*. 242. 33–38 (2012).
75. **Kapferer** R; Hippocrates; Sticker, Georg (eds.): *Die Werke des Hippokrates*. Bd. 1 (VIII/94). Vol. Dreibd. fotomechanischer Neudr. der fünfbd. Orig.-Ausg. Stuttgart, Hippokrates-Verl. Marquardt, 1933/1940. Anger-Verl. Eick. Anger (1995).
76. **Kato** K.; Sullivan, P. F.; Evengård, B.; Pedersen, N. L.: Chronic widespread pain and its comorbidities: a population-based study. *Arch Intern Med*. 166. 1649–1654 (2006).
77. **Kekow** J.; Drynda, S.: Diagnosis and therapy monitoring applying methods of molecular medicine. *Z Rheumatol*. 61 Suppl 2. II/6-9 (2002).
78. **Kerschan-Schindl** K.; Uher, E. M.; Zauner-Dunzl, A.; Fialka-Moser, V.: Kälte- und Kryotherapie. Eine Literaturübersicht über Grundlagen und praktische Anwendungen. *Acta Med Austriaca*. 25. 73–78 (1998).
79. **Kim** K.; Suzuki, K.; Peake, J.; Ahn, N.; Ogawa, K.; Hong, C.; Kim, S.; Lee, I.; Park, J.: Physiological and leukocyte subset responses to exercise and cold exposure in cold-acclimatized skaters. *Biol Sport*. 31. 39–48 (2014).
80. **Köck** R.: Therapieeffekt bei rheumatischen Erkrankungen, Blutdruckverhalten, Herz - frequenz u. Hauttemperatur unter einer Ganzkörperkältetherapie von - 110°C, bzw. - 80°C. Inaugural-Dissertation, Westfälische Wilhelms-Universität Münster (2000).
81. **Korman** P.; Straburzynska-Lupa, A.; Romanowski, W.; Trafarski, A.: Temperature changes in rheumatoid hand treated with nitrogen vapors and cold air. *Rheumatol Int*. 32. 2987–2992 (2012).



82. **Kurzeja R. e. a.:** Primäre Fibromyalgie. Vergleich der Kältekammertherapie mit zwei klassischen Wärmetherapieverfahren. *Akt Rheumatol.* 28. 158–163 (2003).
83. **Kyriakis J. M.; Avruch, J.:** Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10-year update. *Physiol Rev.* 92. 689–737 (2012).
84. **Lange U.; Uhlemann, C.; Müller-Ladner, U.:** Serielle Ganzkörperkältetherapie im Criostream bei entzündlich-rheumatischen Erkrankungen: Eine Pilotstudie. *Med. Klin. (Munich).* 103. 383–388 (2008).
85. **Laser T.:** Fibromyalgie. Muskelverspannungen - Dysbalancen - myofasziale Schmerzen 200 S. Thieme. Stuttgart (2007).
86. **Lawrence R. C.; Felson, D. T.; Helmick, C. G.; Arnold, L. M.; Choi, H.; Deyo, R. A.; Gabriel, S.; Hirsch, R.; Hochberg, M. C.; Hunder, G. G.; Jordan, J. M.; Katz, J. N.; Kremers, H. M.; Wolfe, F.:** Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 58. 26–35 (2008).
87. **Lawson E., Wallace M. (Editors):** Fibromyalgia. Clinical Guidelines and Treatmentsp. Springer Verlag (2015).
88. **Lubkowska A.; Szygula, Z.:** Changes in blood pressure with compensatory heart rate decrease and in the level of aerobic capacity in response to repeated whole-body cryostimulation in normotensive, young and physically active men. *Int J Occup Med Environ Health.* 23. 367–375 (2010).
89. **Lubkowska A.; Suska, M.:** The increase in systolic and diastolic blood pressure after exposure to cryogenic temperatures in normotensive men as a contraindication for whole body cryostimulation. *J. Thermal. Biol.* 36. 264–268 (2011).
90. **Lubkowska A.; Dolegowska, B.; Szygula, Z.:** Whole-body cryostimulation--potential beneficial treatment for improving antioxidant capacity in healthy men--significance of the number of sessions. *PLoS ONE.* 7. e46352 (2012).
91. **Lubowska A, Szygula Z, klimek A J, Masafumi T:** Do sessions of cryostimulation have influence on white blood cell count, level of IL 6 and total oxidative and anti-oxidative status in healthy men? *European J. of Applied Physiology.* 67–72 (2010).
92. **Lura D.:** Einfluss der Ganzkörperkälteanwendung auf die Wärmeregulation des ruhenden, aufrechtstehenden Menschen. Dissertation. Medizinischen Fakultät-Charité-Universitätsmedizin Berlin, Institut für Physiologie (2012).

93. **Maier S. F.;** Watkins, L. R.: Immune-to-central nervous system communication and its role in modulating pain and cognition: Implications for cancer and cancer treatment. *Brain Behav Immun.* 17 Suppl 1. S125-31 (2003).
94. **Malek H.;** Ebadzadeh, M. M.; Safabakhsh, R.; Razavi, A.; Zaringhalam, J.: Dynamics of the HPA axis and inflammatory cytokines: Insights from mathematical modeling. *Comput Biol Med.* 67. 1–12 (2015).
95. **Martinez-Lavin M.;** Hermsillo, A. G.; Rosas, M.; Soto, M. E.: Circadian studies of autonomic nervous balance in patients with fibromyalgia: a heart rate variability analysis. *Arthritis Rheum.* 41. 1966–1971 (1998).
96. **Maurer M.;** Stebut, E. von: Macrophage inflammatory protein-1. *Int J Biochem Cell Biol.* 36. 1882–1886 (2004).
97. **McLean S. A.;** Clauw, D. J.: Predicting chronic symptoms after an acute "stressor"--lessons learned from 3 medical conditions. *Med Hypotheses.* 63. 653–658 (2004).
98. **Mendieta D.;** De la Cruz-Aguilera, Dora Luz; Barrera-Villalpando, M. I.; Becerril-Villanueva, E.; Arreola, R.; Hernandez-Ferreira, E.; Perez-Tapia, S. M.; Perez-Sanchez, G.; Garces-Alvarez, M. E.; Aguirre-Cruz, L.; Velasco-Velazquez, M. A.; Pavon, L.: IL-8 and IL-6 primarily mediate the inflammatory response in fibromyalgia patients. *J Neuroimmunol.* 290. 22–25 (2016).
99. **Menzies V.;** Lyon, D. E.; Elswick, R. K.JR; Montpetit, A. J.; McCain, N. L.: Psychoneuroimmunological relationships in women with fibromyalgia. *Biol Res Nurs.* 15. 219–225 (2013).
100. **Metzger D.;** Zwingmann, C.; Protz, W.; Jäckel, W. H.: Die Bedeutung der Ganzkörperkältetherapie im Rahmen der Rehabilitation bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen.--Ergebnisse einer Pilotstudie. *Rehabilitation (Stuttg).* 39. 93–100 (2000).
101. **Modi W. S.;** Dean, M.; Seuneez, H. N.; Mukaida, N.; Matsushima, K.; O'Brien, S. J.: Monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF/IL-8) resides in a gene cluster along with several other members of the platelet factor 4 gene superfamily. *Hum Genet.* 84. 185–187 (1990).
102. **Nadler S. F.;** Weingand, K.; Kruse, R. J.: The physiologic basis and clinical applications of cryotherapy and thermotherapy for the pain practitioner. *Pain Physician.* 7. 395–399 (2004).
103. **Nobis HG; Rolke R:** Herausforderung Schmerz. [www.dgss.org](http://www.dgss.org)

104. **Nugraha** B.; Korallus, C.; Kielstein, H.; Gutenbrunner, C.: CD3+CD56+natural killer T cells in fibromyalgia syndrome patients: association with the intensity of depression. *Clin. Exp. Rheumatol.* 31. S9-15 (2013).
105. **O'Connor** K. A.; Johnson, J. D.; Hansen, M. K.; Wieseler Frank, J. L.; Maksimova, E.; Watkins, L. R.; Maier, S. F.: Peripheral and central proinflammatory cytokine response to a severe acute stressor. *Brain Res.* 991. 123–132 (2003).
106. **Oosterveld** F. G.; Rasker, J. J.: Treating arthritis with locally applied heat or cold. *Semin Arthritis Rheum.* 24. 82–90 (1994).
107. **Papenfuss** W.: Die Kraft aus der Kälte. Ganzkörperkältetherapie bei -110 °C. Eine physikalische Kurzzeittherapie mit Langzeitwirkung 184 S. edition k. Wolfsegg, Oberpf (2015).
108. **Pournot** H.; Bieuzen, F.; Louis, J.; Mounier, R.; Fillard, J.-R.; Barbiche, E.; Hausswirth, C.: Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise. *PLoS ONE.* 6. e22748 (2011).
109. **Ranzolin** A.; Duarte, Angela Luzia Branco Pinto; Bredemeier, M.; da Costa Neto, Claudio Antonio; Ascoli, B. M.; Wollenhaupt-Aguiar, B.; Kapczinski, F.; Xavier, R. M.: Evaluation of cytokines, oxidative stress markers and brain-derived neurotrophic factor in patients with fibromyalgia - A controlled cross-sectional study. *Cytokine.* 84. 25–28 (2016).
110. **Rodriguez-Pinto** I.; Agmon-Levin, N.; Howard, A.; Shoenfeld, Y.: Fibromyalgia and cytokines. *Immunol Lett.* 161. 200–203 (2014).
111. **Rymaszewska** J.; Ramsey, D.; Chładzińska-Kiejna, S.: Whole-body cryotherapy as adjunct treatment of depressive and anxiety disorders. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.).* 56. 63–68 (2008).
112. **Samborski** W.; Stratz, T.; Sobieska, M.; Mennet, P.; Muller, W.; Schulte-Monting, J.: Intraindividual comparison of whole body cold therapy and warm treatment with hot packs in generalized tendomyopathy. *Z Rheumatol.* 51. 25–30 (1992).
113. **Savino** W.; Mendes-da-Cruz, D. A.; Lepletier, A.; Dardenne, M.: Hormonal control of T-cell development in health and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 12. 77–89 (2016).
114. **Schröder** D.; Anderson, Michael; Geupel, Bernd (eds.): Kryo- und Thermo-therapie. Grundlagen und praktische Anwendung. G. Fischer. Stuttgart (1995).

115. **Sherman** J. J.; Turk, D. C.; Okifuji, A.: Prevalence and impact of posttraumatic stress disorder-like symptoms on patients with fibromyalgia syndrome. *Clin J Pain*. 16. 127–134 (2000).
116. **Smolander** J.; Westerlund, T.; Uusitalo, A.; Dugue, B.; Oksa, J.; Mikkelsen, M.: Lung function after acute and repeated exposures to extremely cold air (-110 degrees C) during whole-body cryotherapy. *Clin Physiol Funct Imaging*. 26. 232–234 (2006).
117. **Smythe** H.: Fibrositis syndrome: a historical perspective. *J Rheumatol Suppl*. 19. 2–6 (1989).
118. **Standl** T.: Schmerztherapie. Akutschmerz, chronischer Schmerz, Palliativmedizin. 700 S. Thieme. Stuttgart [u.a.] (2010).
119. **Stratz** T.; Mennet, P.; Müller, W.: Indikationen zur Ganzkörperkältetherapie in der Rheumatologie. *Therapiewoche Schweiz*. 10. 528–533 (1994).
120. **Taghawinejad** M.; Birwe, G.; Fricke, R. e. a.: Whole-body-cryotherapy - influence on circulatory and metabolic parameters. *Z Phys Med Balneol Med Klimatol*. 18. 23–30 (1989).
121. **Tak** L. M.; Cleare, A. J.; Ormel, J.; Manoharan, A.; Kok, I. C.; Wessely, S.; Rosmalen, J. G. M.: Meta-analysis and meta-regression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in functional somatic disorders. *Biol Psychol*. 87. 183–194 (2011).
122. **Tonevitsky** A. G.; Maltseva, D. V.; Abbasi, A.; Samatov, T. R.; Sakharov, D. A.; Shkurnikov, M. U.; Lebedev, A. E.; Galatenko, V. V.; Grigoriev, A. I.; Northoff, H.: Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. *BMC Physiol*. 13. 9 (2013).
123. **Torggrimson-Ojerio** B.; Ross, R. L.; Dieckmann, N. F.; Avery, S.; Bennett, R. M.; Jones, K. D.; Guarino, A. J.; Wood, L. J.: Preliminary evidence of a blunted anti-inflammatory response to exhaustive exercise in fibromyalgia. *J Neuroimmunol*. 277. 160–167 (2014).
124. **Torrente-Segarra** V.; Salman-Monte, T. C.; Rua-Figueroa, I.; Perez-Vicente, S.; Lopez-Longo, F. J.; Galindo-Izquierdo, M.; Calvo-Alen, J.; Olive-Marques, A.; Ibanez-Ruan, J.; Horcada, L.; Sanchez-Atrio, A.; Montilla, C.; Rodriguez-Gomez, M.; Diez-Alvarez, E.; Martinez-Taboada, V.; Andreu, J. L.; Fernandez-Berrizbeitia, O.; Hernandez-Berriain, J. A.; Gantes, M.; Hernandez-Cruz, B.; Pecondon-Espanol, A.; Marras, C.; Bonilla, G.; Pego-Reigosa, J. M.: Fibromyalgia prevalence and related factors in a large registry of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 34. 40–47 (2016).

125. **Überall** M. A.: Chronischer Schmerz: Daten, Fakten, Hintergründe. Ein Dossier der Deutschen Schmerzliga e.V. Oberursel (2013).
126. **Vlahopoulos** S.; Boldogh, I.; Casola, A.; Brasier, A. R.: Nuclear factor-kappaB-dependent induction of interleukin-8 gene expression by tumor necrosis factor alpha: evidence for an antioxidant sensitive activating pathway distinct from nuclear translocation. *Blood*. 94. 1878–1889 (1999).
127. **Walitt** B.; Katz, R. S.; Bergman, M. J.; Wolfe, F.: Three-Quarters of Persons in the US Population Reporting a Clinical Diagnosis of Fibromyalgia Do Not Satisfy Fibromyalgia Criteria: The 2012 National Health Interview Survey. *PLoS ONE*. 11. e0157235 (2016).
128. **Wallace** D. J.; Wallace, J. B.: Making sense of fibromyalgia 257. Oxford University Press. Oxford (2014).
129. **Weir** P. T.; Harlan, G. A.; Nkoy, F. L.; Jones, S. S.; Hegmann, K. T.; Gren, L. H.; Lyon, J. L.: The incidence of fibromyalgia and its associated comorbidities: a population-based retrospective cohort study based on International Classification of Diseases, 9th Revision codes. *J Clin Rheumatol*. 12. 124–128 (2006).
130. **Welch** V.; Brosseau, L.; Shea, B.; McGowan, J.; Wells, G.; Tugwell, P.: Thermotherapy for treating rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. CD002826 (2001).
131. **Wendt** T.; Schulz, W.; Kaltenbach, M.; Kober, G.: Influence of cold-stimuli on hemodynamics and coronary diameters. Provocation of coronary artery spasm. *Z Kardiol*. 72. 24–31 (1983).
132. **Wolfe** F.; Smythe, H. A.; Yunus, M. B.; Bennett, R. M.; Bombardier, C.; Goldenberg, D. L.; Tugwell, P.; Campbell, S. M.; Abeles, M.; Clark, P.: The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*. 33. 160–172 (1990).
133. **Wolfe** F.; Ross, K.; Anderson, J.; Russell, I. J.; Hebert, L.: The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis Rheum*. 38. 19–28 (1995).
134. **Wolfe** F.: Stop using the American College of Rheumatology criteria in the clinic. *J Rheumatol*. 30. 1671–1672 (2003).
135. **Wolfe** F.; Clauw, D. J.; Fitzcharles, M.-A.; Goldenberg, D. L.; Katz, R. S.; Mease, P.; Russell, A. S.; Russell, I. J.; Winfield, J. B.; Yunus, M. B.: The American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for

Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity. *Arthritis Care Res.* 62. 600–610 (2010).

136. **Wolfe** F.; Clauw, D. J.; Fitzcharles, M.-A.; Goldenberg, D. L.; Hauser, W.; Katz, R. S.; Mease, P.; Russell, A. S.; Russell, I. J.; Winfield, J. B.: Fibromyalgia criteria and severity scales for clinical and epidemiological studies: a modification of the ACR Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia. *J Rheumatol.* 38. 1113–1122 (2011).
137. **Xiao** Y.; Haynes, W. L.; Michalek, J. E.; Russell, I. J.: Elevated serum high-sensitivity C-reactive protein levels in fibromyalgia syndrome patients correlate with body mass index, interleukin-6, interleukin-8, erythrocyte sedimentation rate. *Rheumatol Int.* 33. 1259–1264 (2013).
138. **Yamauchi** T.: Whole body cryotherapy is a methodn of extreme cold -175°C treatment used for rheumatoid arthritis. *Z Phys Med Balneol Med Klimatol.* 15. 311 (1986).
139. **Zenz** M; Jurna, Ilmar; Ahrens, Stephan; Zenz-Jurna (eds.): *Lehrbuch der Schmerztherapie. Grundlagen, Theorie und Praxis für Aus- und Weiterbildung ; mit 249 Tabellen.* Vol. 2., neu bearb. Aufl. Wiss. Verl.-Ges. Stuttgart (2001).
140. **Zernikow** B.: *Schmerztherapie bei Kindern* 490. Springer Berlin Heidelberg. Berlin, Heidelberg, s.l. (2003).

## 7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. J. Kekow für die Überlassung des Themas und die stetige Unterstützung zur Erstellung dieser Arbeit herzlich danken.

Ich danke den Mitarbeitern der HELIOS-Fachklinik Vogelsang-Gommern GmbH und der Universitätsklinik der Otto-von-Guericke-Universität für ihre Hilfe bei der Datenerhebung und Auswertung. Allen Patienten danke ich für ihre freundliche und geduldige Teilnahme.

Ich danke Frau Dr. rer. nat. S. Drynda für viele wichtige Anregungen, die ständige Hilfe und Bereitschaft für Rückfragen, insbesondere die Statistik betreffend, sowie den Mitarbeitern des rheumatologischen Forschungslabors für die Unterstützung bei der Auswertung der Blutproben und die Durchführung der Genexpressionsanalysen.

Besonders danken möchte ich auch Frau A. Stöhr für die freundliche Unterweisung und Hilfestellungen bei der Verwendung des Citavi®-Literaturrecherche-Programmes.

Ein sehr großes Dankeschön geht an meine Familie, ohne deren Geduld und ständige Rücksichtnahme die Erstellung dieser Dissertationsschrift niemals neben meiner täglichen Arbeit möglich gewesen wäre. Meinen Eltern möchte ich danken, mir das Studium der Medizin als Voraussetzung für diese Arbeit ermöglicht zu haben.

## **8 Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.



## 9 Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

*Untersuchungen zum Wirkmechanismus der Ganzkörper-Kryotherapie (-110°C) bei der Behandlung von Patienten mit einem Fibromyalgiesyndrom*

in der Klinik für Rheumatologie an der HELIOS-Fachklinik Vogelsang-Gommern GmbH mit Unterstützung durch Professor Dr. med. habil. J. Kekow und Dr. rer. nat. S. Drynda

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 19.12.2016

# 10 Anhang

## Anlage A

**Fachkrankenhaus für Rheumatologie und Orthopädie Vogelsang**  
**Klinik für Rheumatologie der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg**  
**Sophie-von-Bötticher-Str. 1, 39245 Vogelsang**  
**Chefarzt: Prof. Dr. J. Kekow**  
**Tel.: 039200-67300; Fax: 039200-67311**

### *Patientenaufklärung zum Projekt*

*”Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Ganzkörper-Kryotherapie bei der Behandlung von Fibromyalgie-Patienten“*

Liebe Patientin, lieber Patient,  
zur Schmerztherapie kommt bei Ihnen die Ganzkörper-Kryotherapie (Kältekammer) zum Einsatz. Trotz der bekannten positiven Effekte auf das subjektive Schmerzempfinden der Patienten, sind die molekularen Grundlagen, die für diese Effekte verantwortlich sind, bisher noch nicht vollständig geklärt.

Im Rahmen der Studie versuchen wir zu klären, welche funktionellen Veränderungen im Blut durch die Behandlung in der Kältekammer verursacht werden und ob diese messbaren Veränderungen mit Ihrem Befinden, v.a. dem Schmerzempfinden assoziiert sind.

Eine Teilnahme an der Studie bedeutet für Sie eine zusätzliche Entnahme von 2x5 ml Blut. Wir möchten aus dem Blut Serum und die Erbsubstanz (RNA) gewinnen und einzelne Faktoren untersuchen, die mit Schmerz assoziiert und damit für den Therapieerfolg relevant sind. Weitere Untersuchungen werden nicht durchgeführt, es wird kein Blut an Personen außerhalb des Forschungsprojektes weitergegeben. Nach Abschluss der Studie werden alle Materialien (Serum, RNA einschließlich Zwischenprodukte) vernichtet.

Alle übrigen Untersuchungen werden zur Erkennung und Verlaufsbeurteilung Ihrer Erkrankung durchgeführt und entsprechen den gültigen ”Diagnostik-Standards” in der Rheumatologie. Diese Ergebnisse erfahren Sie wie gewohnt kurzfristig durch den Arzt. Es werden keine zusätzlichen Untersuchungen nur aus wissenschaftlichen Gründen vorgenommen.

Die erhobenen Ergebnisse und die persönlichen Angaben werden im Rahmen des Projektes, anonym gespeichert und ausgewertet, d. h. Ihr Name ist den Experimentatoren nicht bekannt und die Zusammenführung der experimentellen Daten mit den klinischen Befunden/Fragebogen erfolgt nur durch den behandelnden Arzt.

Um Ihre Angaben und Befunde wissenschaftlich auswerten zu können, benötigen wir Ihre Zustimmung mit schriftlicher Einverständniserklärung.

Die Spezialuntersuchungen sind für Sie kostenlos und werden mit öffentlichen Forschungsgeldern bezahlt.

Aus der Teilnahme an der Studie ergeben sich für Sie keine Vorteile. Die Verweigerung der Teilnahme an der Studie, auch im Verlauf, hat keinen Einfluss auf Ihre individuelle Behandlung.

Anlage B

**Fachkrankenhaus für Rheumatologie und Orthopädie Vogelsang  
Klinik für Rheumatologie der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg  
Sophie-von-Bötticher-Str. 1  
39245 Vogelsang  
Chefarzt: Prof. Dr. J. Kekow**

*Einverständniserklärung zum Projekt*

*„Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Ganzkörper-Kryotherapie bei der  
Behandlung von Fibromyalgie-Patienten“*

Ich willige hiermit in die vorgeschlagenen Untersuchungen und anonyme Auswertung meiner Befunde ein.

Herr \_\_\_\_\_ hat mit mir nach Vorlage eine Patientenaufklärungsbogens ein Aufklärungsgespräch geführt.

Alle erhobenen persönlichen Daten unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und den Datenschutzbestimmungen.

Es ist mir freigestellt, jederzeit mein Einverständnis an der Studienteilnahme zu widerrufen.

Ort, Datum \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Patienten

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Arztes

## Anlage C

### Kurzzeitbeobachtungsbogen zur ersten Kontaktaufnahme bei Fibromyalgie-Patienten 20.....

Erhebungsdatum..... Größe.....cm      Gewicht.....kg  
 Geburtsjahr des Pat..... Geschlecht     w     m  
 Beginn typischer Beschwerden / Symptome (M)...../ (J).....

#### Aktuelle Analgetika-Therapie mit

##### Stufe I Nichtopioidanalgetika

Celecoxib    Etoricoxib    Parecoxib    Diclofenac    Ibuprofen    Metamizol  
 Paracetamol

##### Stufe II Schwache Opioide

Tillidin + Naloxon    Tramadol

##### Niedrig dosierte starke Opioide

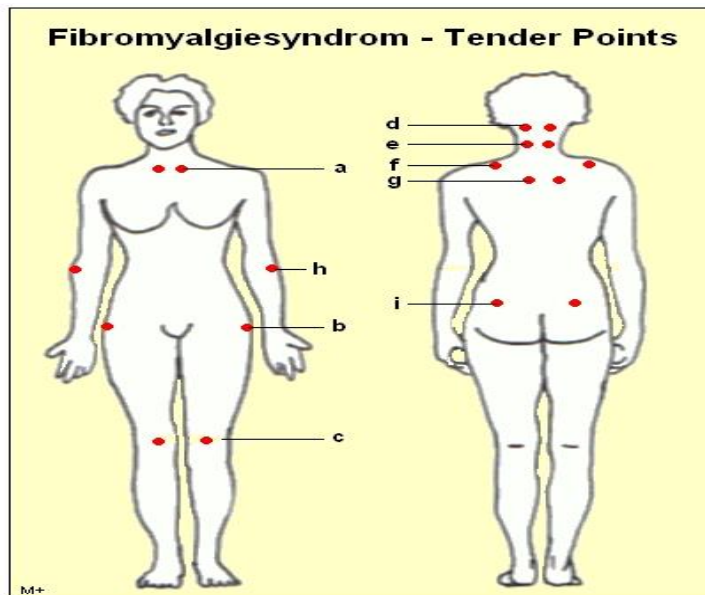
Buprenorphin

##### Stufe III starke Opioide

Buprenorphin    Fentanyl    Hydromorphon    Morphinsulfat    Oxycodon

#### Wie aktiv ist die Krankheit im Augenblick (arztseitig)?

Inaktiv    **1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10**    hoch aktiv



Von diesen 18 Druckpunkten am Übergang von Muskeln zu Sehnen müssen bei mindestens 11 dieser Punkte vom Untersuchten Schmerzen angegeben werden.

a = Knorpel- und Knochengrenze der zweiten Rippe  
 b = Trochanter major  
 c = Fettkörper im Bereich des mittleren Kniegelenkes  
 d = Trapezius-Ansatz am Hinterkopf  
 e = Bänder zwischen den Halswirbeln (C4 - C7)  
 f = Mitte des oberen Randes des Trapezmuskels  
 g = M. supraspinatus am Ursprung oberhalb der Spina scapulae  
 h = Ellenbogen (Epicondylus lateralis)  
 i = oberer, äußerer Quadrant der Glutealmuskulatur

Frühere Gelenkersatz-Operationen?    nein    ja

Komorbidität     nein     ja (bitte angeben, ob an u.g.

Krankheiten leidend u. ob medikamentöse Therapie)

	ja	Ther.		ja	Ther.
essentielle Hypertonie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Chronischer Leberschaden	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
koronare Herzerkrankung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Ulcus duodeni / ventriculi	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Herzinsuffizienz	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	andere chron. Magen-/Darmerkrankungen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
zerebrovask. Erkr. (Apoplex/TIA/PRIND)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	degenerative Wirbelsäulenerkrankungen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hyperlipoproteinämie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	degenerative Gelenkerkrankungen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Diabetes Typ I	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Osteoporose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Diabetes Typ II	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Sjögren_Syndrom	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
maligne Neoplasie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Psoriasis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lymphom / Leukose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	rheumatoide Arthritis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
chron. Obstruktive Atemwegserkrank.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	psychische Erkrankung / Depression	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
sonstige Lungenerkrankung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Alkoholabusus	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
chronischer Nierenschaden	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Medikamentenabusus	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
chron. Virusinfektion (HIV, HBV, HCV)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Drogenabusus	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
latente (inaktive) Tuberculose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	andere: (bitte erfragen)		

.....0 .....0  
 (ja: leidet / litt an angegebener Krankheit, Ther: diese Krankheit wird derzeit medikamentös behandelt)

# Patientenfragebogen

Kältekammer-Therapie 20...

Fachkrankenhaus Vogelsang

-Klinik für Rheumatologie-

Fragedatum:.....20... **V/N**

## BEHANDLUNGSTAG I / II / III

	Stimme total zu	stimme zu	neutral	stimme nicht zu	stimme über- haupt nicht zu
1. Ich kann mich gut bewegen	1	- 2	- 3	- 4	- 5
2. Meine Muskeln sind locker	1	- 2	- 3	- 4	- 5
3. Ich fühle mich nicht steif	1	- 2	- 3	- 4	- 5
4. Ich habe ein unangenehmes Kältegefühl	1	- 2	- 3	- 4	- 5
5. Ich habe Kopfschmerzen	1	- 2	- 3	- 4	- 5
6. Ich habe keine innere Unruhe	1	- 2	- 3	- 4	- 5
7. Im Allgemeinen fühle ich mich wohl	1	- 2	- 3	- 4	- 5
8. Ich fühle mich körperlich belastbar	1	- 2	- 3	- 4	- 5
9. Ich fühle mich seelisch belastbar	1	- 2	- 3	- 4	- 5
10. Mein Ganzkörperschmerz ist gelindert	1	- 2	- 3	- 4	- 5
11. Ich kann jetzt besser schlafen	1	- 2	- 3	- 4	- 5

12. Auf einer Skala von 1-10 (0=keine Schmerzen, 10= die schlimmsten vorstellbaren Schmerzen): Wie stark sind ihre Schmerzen JETZT?

😊 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10 ☹️

13. Wie beurteilen Sie bei Ihnen Wirksamkeit der Kältekammer-Behandlung?

1 - sehr wirksam 2 - wirksam 3 - weniger wirksam 4 - unwirksam.

13. a) Falls bei Frage 13 Antwort 3 oder 4 angegeben: Gründe dafür?

	Stimme total zu	stimme zu	neutral	stimme nicht zu	stimme über- haupt nicht zu
- Angst bezüglich der Kältetherapie	1	- 2	- 3	- 4	- 5
- Das Gefühl, diese Therapie bringt nichts	1	- 2	- 3	- 4	- 5
- Meine Schmerzen nehmen noch zu	1	- 2	- 3	- 4	- 5
- Ich habe keine Lust auf Kältetherapie	1	- 2	- 3	- 4	- 5

**Vielen Dank!**