

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Ist Stress ein Risikofaktor für persistierendes Schmerzverhalten nach Fraktur?
Ein Mausmodell zum Zusammenhang von PTBS und chronischem Schmerz bei
CRPS.

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Eva Carolin Altmeier
aus Saarlouis

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

Tag der Promotion: 27.02.2025

Inhaltsverzeichnis

I Abkürzungsverzeichnis	1
II Tabellenverzeichnis	2
III Abbildungsverzeichnis	3
1 Einleitung und Zielsetzung meiner Arbeit	4
2 Wissenschaftlicher Hintergrund	7
2.1 Chronischer Schmerz und CRPS	7
2.2 Prädisponierende Faktoren in Persönlichkeit und Psyche als Determinanten in der Pathogenese chronischer Schmerzen	9
2.3 Posttraumatische Belastungsstörung	10
2.4 Komorbidität zwischen PTBS und chronischem Schmerz	11
2.4.1 Das Modell der <i>Mutual Maintenance</i>	12
2.4.2 Das Modell der <i>Shared Vulnerability</i>	13
2.4.3 Das Modell der <i>Perpetual Avoidance</i>	14
2.4.4 Kausalität im komorbiden Auftreten	16
2.5 Klassische Konditionierung und Extinktion	17
2.5.1 Theorie der klassischen Konditionierung nach Pawlow	18
2.5.2 Theorie der Extinktion einer konditionierten Reaktion	19
2.5.2.1 Extinktion als Löschvorgang	20
2.5.2.2 Extinktion als Lernvorgang	21
2.5.2.3 Ursachen mangelhafter Extinktion	22
2.6 Mangelhafte Extinktion als Faktor in der Pathogenese der PTBS	23
2.7 Mangelhafte Extinktion als Faktor in der Pathogenese chronischer Schmerzkrankheiten	27
3 Material und Methoden	31
3.1 Tiere und Tierhaltung	31
3.2 Stressinduktion in der Versuchsgruppe	31
3.2.1 Soziale Isolation	31
3.2.2 <i>Tail Suspension</i>	32
3.2.3 <i>Restraint Stress</i>	32
3.3 <i>Fear Conditioning</i> und Extinktionstraining	33
3.3.1 Konditionierung	33
3.3.2 <i>Retrieval</i>	34
3.3.3 <i>Reinstatement</i>	35

3.3.4 Extinktionstraining	36
3.3.5 Reizgeneralisierung	37
3.3.6 <i>Renewal</i>	38
3.4 Fraktur und postoperative Versorgung	39
3.5 Sensibilitätstestungen	41
3.5.1 Von Frey Haar Test	41
3.5.2 <i>Cold Water Test</i>	42
3.6 Gewicht, Temperatur und Fußdicke	43
3.6.1 Gewicht	43
3.6.2 Temperaturmessung	43
3.6.3 Fußdicke	44
3.7 Stressevaluation	44
3.7.1 <i>Social Interaction Test</i>	44
3.7.2 <i>Hole Board Test</i>	45
3.7.3 <i>Sucrose Preference Test</i>	46
3.7.4 <i>Forced Swim Test</i>	48
3.8 Zeitlicher Ablauf der Experimente	49
3.9 Statistische Auswertung	50
4 Ergebnisse	52
Hauptfragestellung: Extinktion einer <i>Fear Conditioned Response</i>	52
Nebenfragestellungen	54
4.1 Reizgeneralisierung	54
4.2 <i>Renewal</i>	55
4.3 Sekundärer Endpunkt: Sensibilitätslevel	56
4.4 Sekundärer Endpunkt: Stressauswirkung	58
4.5 Temperatur, Pfotendicke, Gewicht	59
5 Diskussion	61
5.1 Stressexposition vor <i>Fear Conditioning</i> als Distinktionsmerkmal und entscheidende Gruppierungsgröße	61
5.2 <i>Fear Conditioning</i> und Vorbereitung für das Extinktionstraining	62
5.3 <i>Freezing</i> als Zielgröße nach <i>Fear Conditioning</i>	63
5.4 Gruppenunterschiede in der Extinktionsleistung	64
5.4.1 Einfluss der Zeit	65
5.4.2 Einfluss von Stress vor Konditionierung	66
5.5 Reizgeneralisierung	68

5.6 <i>Renewal</i>	69
5.7 Sensibilitätslevel	71
5.8 Stresssymptome	73
5.9 Klinische Relevanz und Aussagekraft für den medizinischen Alltag	75
6 Zusammenfassung	78
7 Literaturverzeichnis	79
IV Anhang	86
Lebenslauf	86

I Abkürzungsverzeichnis

CGRP: *Calcitonin Gene Related Peptide*

CR: konditionierte Reaktion

CRPS: *Complex Regional Pain Syndrome*

CS: konditionierter Stimulus

CWT = *Cold Water Test*

Ext: Extinktion

FC = *Fear Conditioning*

FST: *Forced Swim Test*

ICD-10-GM: *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, german modification, 10. Version*

KI = Konfidenzintervall

PDS: *Post-traumatic Stress Diagnostic Scale*

PTBS: posttraumatische Belastungsstörung

SEM = *standard error of the mean* (Standardfehler)

SPT = *sucrose preference test*

QST: Quantitative Sensorische Testung

UR: unkonditionierte Reaktion

US: unkonditionierter Stimulus

II Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Schematische Übersicht über den Ablauf des <i>fear conditioning</i>	34
Tab. 2: Schematische Übersicht über den Testablauf zum <i>reinstatement</i>	36
Tab. 3: Schematischer Ablauf des Tests auf <i>renewal</i>	39
Tab. 4: Übersicht über den Versuchsaufbau des <i>sucrose preference test</i>	47
Tab. 5: Übersicht über den Zeitplan der Experimente.....	49

III Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Modell der <i>mutual maintenance</i>	12
Abb. 2: Modell der <i>Shared Vulnerability</i>	14
Abb. 3: Das <i>perpetual avoidance model</i> von Liedl und Knaevelsrud.....	16
Abb. 4: <i>freezing</i> nach <i>fear conditioning</i>	52
Abb. 5: <i>freezing</i> im Test auf Reizgeneralisierung.....	54
Abb. 6: <i>freezing</i> im Test auf <i>renewal</i>	55
Abb. 7: Sensorische Testungen im Gruppen- und Seitenvergleich.....	56-57
Abb. 8: Stressauswirkung	58
Abb. 9: Zeitlicher Verlauf der Temperatur und Dicke der Pfoten im Seiten- und Gruppenvergleich, Gewichtsentwicklung im Gruppenvergleich.....	59

1 Einleitung und Zielsetzung meiner Arbeit

Chronische Schmerzerkrankungen zeigen weltweit eine enorme Prävalenz und bedeuten für die betroffenen Patienten einen oft langen und kräftezehrenden Leidensweg (1). Sie stellen auch das Gesundheitssystem kontinuierlich vor neue und teils wachsende Herausforderungen, in finanzieller wie auch logistischer Hinsicht. Laut der *International Association for the study of pain* (IASP) ist Schmerz definiert als eine unangenehme sensorische Erfahrung, der sich aber auch durch eine starke emotionale Komponente charakterisieren lässt (2). Bei der Erforschung von Schmerzerkrankungen müssen also auch psychogene Einflussfaktoren berücksichtigt werden (2). Während akuter Schmerz eine essentielle Warnfunktion im Organismus übernimmt, d.h. potentielle Gefahr signalisiert und den Menschen zum Ergreifen protektiv wirksamer Maßnahmen anregen soll, so verliert dieses Signal bei chronischem Andauern seine an sich zunächst positive Bedeutung für den Körper und erfordert von Betroffenen die Umsetzung geeigneter Strategien zur effektiven Schmerzbewältigung. Von chronischem Schmerz spricht man dann, wenn er die Dauer von 6 Monaten überschreitet (2, 3). Während die häufigsten Arten von chronischem Schmerz vor allem muskuloskelettaler Natur sind (z.B. tiefsitzende Rückenschmerzen, engl.: *low back pain*), so stellt das komplexe regionale Schmerzsyndrom (engl.: *complex regional pain syndrom*, CRPS) nur eine kleine Entität dieser großen Gruppe chronischer Schmerzsyndrome dar (2). Die Krankheit gehört zu den neuropathischen Schmerzerkrankungen, bei denen nicht die sensible Endigung der Schmerzfasern gereizt wird, wie es z.B. häufig durch einen lokalen Gewebeschaden im Rahmen einer Entzündung der Fall ist. Vielmehr liegt hier die Schädigung im Verlauf des Nerven, und es sind die neuronalen oder axonalen Strukturen, die unmittelbar von der Schädigung betroffen sind (4, 5). Das CRPS tritt gehäuft auf nach einer Fraktur des distalen Radius und zeigt in ihrer klinischen Symptomatik sensible, motorische, trophische und autonome Veränderungen, welche die Patienten in ihrer Lebensqualität stark einschränken (4, 6, 7). Bemerkenswert und Gegenstand der aktuellen Forschung ist die Frage nach kausalen Risikofaktoren, die ein gewisses Kollektiv nach einer „banalen“ Verletzung, wie z. B. einer einfachen Knochenfraktur, anfällig für die Entwicklung eines solchen CRPS machen, während sich die große Mehrheit nach der Fraktur vollständig erholt (8). Theorien über die Existenz einer „Schmerzpersönlichkeit“ wurden schnell verworfen, länger diskutiert

wurde über Erkrankungen des depressiven Formenkreises als mögliche kausale Trigger der Erkrankung (9). Nach heutigem Stand der Forschung gelten auch Depressionen als Auslöser in Kausalität und Chronologie als weitestgehend widerlegt und werden eher als Folge oder sich parallel manifestierende Erkrankung betrachtet (10, 11). Die Forschung steht also vor der Aufgabe der fortwährenden Ursachensuche. Vielversprechend sind neue Ansätze, welche die hohe Komorbidität von chronischen Schmerzen und der posttraumatischen Belastungsstörung (PTBS) berücksichtigt (12, 13). Eine PTBS ist ein psychiatrisches Krankheitsbild, welches sich als eine chronisch verlaufende Stressreaktion in Folge eines oder mehrerer traumatischer Erlebnisse (z.B. körperliche Gewalt, Krieg, Naturkatastrophen, etc.) manifestiert, wobei diese an der eigenen Person oder bei einem Mitmenschen erlebt werden können (14, 15). Die betroffenen Personen empfinden regelhaft ein Gefühl der Hilflosigkeit und fühlen sich in ihrem bisherigen Selbst- und Weltbild nachhaltig erschüttert. Typische Symptome sind wiederkehrende belastende Gedanken und Bilder, Symptome der Übererregbarkeit (z.B. Schlaflosigkeit, ständige Anspannung, etc.) aber auch Negativsymptome wie emotionale Taubheit und Vermeidungsverhalten (14-16). Das Auftreten dieser Krankheit steht in einem eindeutigen kausalen Zusammenhang mit dem durchgemachten Trauma und kann unmittelbar, aber auch mit zeitlicher Verzögerung manifest werden (14). Das gehäufte Auftreten von chronischem Schmerz mit einer PTBS ist in der Literatur viel untersucht und im Konsens anerkannt. Probleme bereiten nach wie vor die Kausalität, also auch der zeitliche Zusammenhang, mit denen sich die beiden Krankheitsbilder (gegenseitig) bedingen. Es gibt verschiedene Modelle, die sich an einer Erklärung versuchen, von denen das *mutual maintenance model* nach Harvey und Sharp, welches von einer gegenseitigen Bedingung und Unterhaltung der Schmerz- sowie der psychischen Symptome ausgeht, wohl jenes ist, das zurzeit am meisten Akzeptanz und Zuspruch findet (17). Dennoch gibt es auch Studien, die auf eine zeitlich dem chronischen Schmerz vorangehende PTBS hinweisen, und so Raum für weitere Forschung geben. Dazu passen auch die Ergebnisse einer jüngeren Studie unserer Arbeitsgruppe, wonach 38% der Patienten einer CRPS-Gruppe (im Vergleich zu 10 % in der Gruppe von Patienten mit reinen Gliederschmerzen und 4% in der gesunden Kontrollgruppe) die Kriterien für die Diagnose einer PTBS erfüllten, bei der das auslösende belastende Ereignis zeitlich vor der CRPS-Erkrankung lag (18). Der Natur der beiden Erkrankungen sei es geschuldet, dass die meisten Studienmodelle zur Komorbidität eine retrospektive Datenerhebung nötig machen, sodass die Angaben der Patienten eventuell einem

sogenannten *recall bias* unterliegen, d.h. Erinnerunglich verzerrt werden könnten. Für meine Untersuchungen wählte ich daher ein prospektives Setting, um das Nebeneinander einer PTBS (als chronische Stressreaktion) und eines CRPS (als Vertreter einer chronischen Schmerzerkrankung) in seinem zeitlichen Zusammenhang zu untersuchen, und so die hohe Komorbidität beider Krankheiten besser verstehen zu können. Dazu habe ich ein kontrolliert-randomisiertes Mausmodell verwendet und zwei Gruppen gebildet: Der Versuchsgruppe wurde distal, als häufigste Lokalisation eines CRPS, die Tibia frakturiert. Zusätzlich wurde diesen Mäusen vor der Fraktur Stress induziert. In der Kontrollgruppe wurde lediglich die Tibia frakturiert, die Tiere blieben ungestresst vor Fraktur. Der Kernaspekt meiner Arbeit lag in der Untersuchung von Gelingen oder Misslingen der Extinktion (in etwa: „Umlernen“) einer zuvor konditionierten Reaktion im Gruppenvergleich. Mangelhaftes „Umlernen“ liefert Hinweise auf eine eher zu Konservation neigenden Verhaltensstruktur, welche potentiell mitursächlich für ein persistierendes Schmerzverhalten ist. Eine unzureichende Extinktion könnte Erklärungsansätze liefern für eine gesteigerte Anfälligkeit, auch in Zukunft auf Schmerzereignisse (wie z.B. einer Fraktur) mit einer Chronifizierung der durch sie hervorgerufenen Symptome zu reagieren. Vor dem Hintergrund dieser Überlegungen formulierte ich meine Fragestellungen:

1. Hauptfragestellung:

Führt Stress vor einem Schmerzereignis im Vergleich mit einer ungestressten Kontrollgruppe zu einer verminderten Extinktion einer konditionierten Schmerzreaktion?

2. Nebenfragestellungen:

- a) Führt Stress vor einem Schmerzereignis zu einer Herabsenkung der Sensibilitätsschwelle im Sinne dem Vorliegen einer Allodynie?
- b) Führt Stress vor einem Schmerzereignis zu einer Persistenz der Stress-assoziierten Symptome (wie z.B. im Rahmen einer posttraumatischen Belastungsstörung)?

2 Wissenschaftlicher Hintergrund

2.1 Chronischer Schmerz und CRPS

Das komplexe regionale Schmerzsyndrom (*complex regional pain syndrome*, CRPS) ist eine multifaktoriell bedingte und chronisch verlaufende neuropathische Schmerzerkrankung, deren Erstbeschreibung bis ins 19. Jahrhundert zurückreicht und die bis heute Untersuchungsgegenstand zahlreicher Studien zum Thema Schmerz ist (4, 5). Die Krankheit tritt gehäuft auf nach Traumen, Operationen und anderen medizinischen Manipulationen, sowie anhaltender Immobilisation der Extremitäten (5, 8, 19, 20). Betroffen ist zumeist nur eine Gliedmaße, am häufigsten als Zustand nach distaler Radiusfraktur, wobei nach derzeitigem Wissensstand der Befall großer Gelenke, Gesicht oder Rumpf als unwahrscheinlich gilt (5, 19, 20). Zu unterscheiden sind weiterhin zwei Subtypen: CRPS Typ I, früher „sympathische Reflexdystrophie“, bei dem keine Nervenschädigung identifizierbar ist, sowie CRPS Typ II, bei dem die Nervenläsion verifiziert ist, und welcher früher auch als „Kausalgie“ bezeichnet wurde (5, 10, 21, 22). Besondere Faszination verursacht seit jeher der Fakt, dass bereits leichte bis moderate Traumata die Entstehung des CRPS triggern können. In den aktuellen Entstehungsmodellen finden sich Trauma-assoziierte, neurokognitive, psychologische und immunologische Erklärungsansätze wieder (20). Dabei scheinen folgende drei Mechanismen zu den grundsätzlichen pathologischen Prozessen zu zählen: Inflammation, veränderte Vasomotorik, sowie maladaptive Neuroplastizität (4). So kommt es im Verlauf der Erkrankung initial zu einer akuten Entzündungsreaktion mit ihren Kardinalsymptomen *rubor*, *calor*, *dolor*, *tumor* und *functio laesa* (19). Hieran beteiligt ist wohl vor allem das angeborene Immunsystem: Keratinozyten schütten vermehrt Entzündungsmediatoren wie Zytokine und Wachstumsfaktoren aus, welche die nozizeptiven Endigungen im betroffenen Areal sensibilisieren (19, 20). Die Schmerzfasern reagieren darauf im Sinne eines Reflexes (sog. „Axonreflex“) mit der Ausschüttung von CGRP und Neuropeptid Y. Diese beiden vasoaktiven Substanzen führen nun zu Alterationen des regionalen Gefäßtonus. Es kommt zu Vasodilatation und Extravasation weiterer entzündlicher Proteine (4, 19, 23). Aktuell liegen außerdem immer mehr Hinweise auf die Mitbeteiligung auch des adaptiven Immunsystems vor. So wird über eine autoimmune Komponente diskutiert, bei welcher adrenerge und cholinerge Rezeptoren Zielstrukturen für Antikörper darstellen könnten (8, 19, 20, 23). Im späteren Verlauf der Krankheit kommt es dann – insbesondere ohne rechtzeitige

und adäquate Behandlung – zwar zu einem Rückgang der akuten Entzündungsreaktion, in den Vordergrund treten nun jedoch Vorgänge der neuronalen Plastizität, also zur langfristigen Umorganisation neuronaler Strukturen und Prozesse (19). Es manifestieren sich eine zentrale Sensibilisierung von Nozizeptoren, zentrale Reorganisation und fehlgeleitete Lernprozesse (z.B. schmerzbedingte Schonung der Extremität, etc.). Hieraus resultieren möglicherweise eine Chronifizierung der Schmerzen, sowie ein Hinzutreten von Allodynie (primär schmerzlose Reize werden als schmerzhaft empfunden) als Folge der spinalen Sensibilisierung (4, 8, 19). Die klinische Symptomatik, die betroffene Patienten nun präsentieren, ist vielgestaltig und in ihrer Gänge sowie Intensität äußerst variabel, was die Diagnose häufig erschwert und verzögert (5). Wesentlich ist das gesteigerte Schmerzempfinden, welches nicht mehr erklärbar ist durch den ursprünglichen Auslöser, und welches sich regelhaft bei Bewegung und Temperaturveränderung weiter intensiviert (5, 8, 19). Insbesondere mechanische und thermische Reize scheinen die Hyperalgesie auszulösen (8). Darüber hinaus kommt es meist zu einem Sensibilitätsverlust der Extremität (z.B. zunächst handschuhförmig), einem gestörten Temperaturempfinden (gegebenenfalls seitendifferent) und Motorik (z.B. Schonhaltung der Extremität). Weiterhin werden trophische Störungen beschrieben, wie etwa ein verändertes Wachstum von Haaren und Nägeln. Häufig zeigt sich auch eine gestörte Sudomotorik, meist im Sinne einer Hyperhidrosis (7, 19, 20, 24). Die Krankheit ist demnach also zu beschreiben anhand der typischen klinischen Konstellation von Hyperalgesie mit sensiblen, motorischen, trophischen und autonomen Veränderungen (6, 7). Die Symptome können dabei nach einiger Zeit das Areal, in dem sich die Krankheit erstmanifestierte, überschreiten oder gar auf die kontralaterale Seite übergreifen (4, 8, 10). Problematisch ist, dass die Symptome jedoch nicht spezifisch für ein CRPS sind und damit nicht automatisch zur Diagnosestellung führen dürfen, sondern auch viele andere neuropathische Schmerzerkrankungen zutreffen. Daher ist und bleibt die Diagnose des CRPS schwierig. Sie wird primär klinisch gestellt und kann durch geeignete medizinische Tests erhärtet werden (23, 25). Derzeit gelten hierfür die Budapest-Kriterien als valide, die auf 4 charakteristischen Krankheitsmerkmalen fußen und bei Diagnosestellung alle erfüllt sein müssen: anhaltender, nicht durch das Anfangstrauma erklärbarer Schmerz; der klinische Symptomkomplex von Schmerz, autonomer und vegetativer Dysregulation sowie motorischen Defiziten; auffällige klinische Untersuchung; Ausschluss konkurrierender Ursachen (26). Die Deutsche Gesellschaft für Neurologie schlägt – unter Voraussetzung der erfüllten Budapest-Kriterien – in Zweifelsfragen

noch apparative Zusatzdiagnostik vor, um die Diagnose zu sichern und um weitere Subtypen (z.B. positiver oder fehlender Nachweis einer Nervenläsion) zu unterscheiden (27).

2.2 Prädisponierende Faktoren in Persönlichkeit und Psyche als Determinanten in der Pathogenese chronischer Schmerzen

Viele Menschen erleiden einen Knochenbruch, wie beispielsweise eine distale Radiusfraktur. Dennoch entwickelt nur ein sehr kleiner Bruchteil von ihnen im Anschluss ein CRPS, zumal die Schwere des Auslösers nicht zwingend in Relation zur Entwicklung der Erkrankung steht (8). Gibt es also eine persönliche Suszeptibilität, eine über die Norm gesteigerte Reaktion auf nozizeptive Reizungen zu erzeugen oder aufrecht zu erhalten? Eine solche übermäßige Reaktion kann zum Beispiel in Angst, Neurotizismus oder depressiver Stimmung ihren Ausdruck finden. (9). Als Risikofaktoren galten bisher vor allem 1. weibliches Geschlecht, 2. höheres Alter und 3. ein initial starker Schmerz. Das Geschlecht als Risikofaktor wird mittlerweile kontrovers diskutiert: so könnte es lediglich ein Confounder sein, da Frauen per se viel häufiger eine distale Radiusfraktur erleiden als Männer (8, 19, 21). Derzeitige Theorien zielen vor allem auf die Ebene des Individuums und dort auf etwaige psychosoziale Belastungsfaktoren, welche im Zusammenhang mit der Entwicklung eines CRPS stehen könnten. Das früher viel diskutierte und in älterer Literatur noch anzutreffende Modell eines sogenannten „Schmerzcharakters“ ist sicher nicht mehr zeitgemäß (9). Dennoch konzentrieren sich aktuell viele Studien auf die Identifizierung von psychischen Faktoren und bestimmten Charakterzügen, die unter CRPS-Patienten akkumulieren, insbesondere deshalb, da ein erhöhtes generelles Angstlevel, sowie auch explizit schmerzbezogene Angst als negative Prädiktoren bezüglich des Therapieergebnisses als gesichert gelten (19, 28). Die momentane Studienlage ist nicht eindeutig, teilweise auch widersprüchlich, dennoch haben große Studien bis dato nicht beweisen können, dass etwa Depressionen oder Angsterkrankungen Personen suszeptibel für die Entwicklung eines CRPS machen (9, 29-31). Ein rein linearer Zusammenhang zwischen Psyche und CRPS gilt allerdings als widerlegt (9, 21, 30). Symptome wie Angst, Depression oder Neurotizismus werden heute eher als Konsequenz statt Auslöser des chronifizierten Schmerzes aufgefasst (10, 11, 32). Folglich können aber wohl „psychologische [...] Faktoren den Schmerz und die

Dysfunktionalität assoziiert mit CRPS zur Exazerbation bringen und die Aufrechterhaltung ihres Zustandes bei manchen Patienten fördern“ (33). Essenziell ist die möglichst klare Abgrenzung des CRPS gegen andere somatoforme Störungsbilder (32, 34). In einem multikonditionalen Modell für das CRPS wären die durchlebten „belastenden Lebensereignisse neben Trauma oder Operation weitere Risikofaktoren, nicht Ursachen“ (34).

2.3 Posttraumatische Belastungsstörung

Insbesondere auch mit der posttraumatischen Belastungsstörung (PTBS) zeigt das CRPS eine signifikant gehäufte und viel beschriebene Komorbidität (12, 13, 35). Im Klassifikationssystem nach ICD-10-GM wird die PTBS derzeit im F43-Katalog geführt, welcher Reaktionen auf schwere Belastungen und Anpassungsstörungen listet. Dort wird die PTBS als F43.1 codiert und als chronische Krankheit unter anderem gegen die akute Belastungsreaktion (F43.0) und weitere Anpassungsstörungen (F43.2) abgegrenzt (15). Zwar wirken schwerwiegende psychosoziale Belastungen zahlreich auf die Art unserer körperlichen und psychischen Bewältigungsreaktion ein, sie sind aber nicht notwendige Voraussetzung oder ausreichende Erklärung für die Entwicklung eines CRPS. Demgegenüber sind in der Pathogenese einer Anpassungsstörungen wie der PTBS, die zu Grunde liegenden belastenden Ereignisse aber „primäre und ausschlaggebende Kausalfaktoren, und die Störung wäre ohne ihre Einwirkung nicht entstanden“ (15). Das heißt, die PTBS entsteht als direkte Antwort des Menschen auf ein akutes Trauma (sog. Typ-1-Trauma) oder mehrere traumatisierende Ereignisse (sog. Typ-2-Trauma), die ursächliche Beziehung ist also nachvollziehbar (15, 16). Traumata werden definiert als Ereignisse, die „durch ihre Plötzlichkeit, ihre Heftigkeit und ihre Ausweglosigkeit charakterisiert werden können“ (16). Das auslösende Trauma kann hierbei am eigenen Leib erfahren, oder aber als primär Außenstehender miterlebt werden. Für das erlebte Trauma ist bezeichnend, dass es von katastrophalem Ausmaß ist und so beinahe in jedem Menschen eine tiefe Verzweiflung und Hilflosigkeit auslösen, und die bisherigen Annahmen eines Jeden über das Selbst und die Umgebung erschüttern würde (14, 15). Solche belastenden Ereignisse können körperliche oder sexualisierte Übergriffe, Entführung, Unfälle, schwere Krankheit oder auch Naturkatastrophen sein (14). Je nach Art des Auslösers variiert auch die Prävalenz der PTBS (nach Vergewaltigung oder Kriegserfahrung am höchsten, circa 50%). Außerdem wird die Diagnose bei

Frauen mit einer Lebenszeitprävalenz von 10-12% häufiger gestellt als bei Männern mit 5-6%, während die Lebenszeitprävalenz für das Erleben eines Traumas generell bei bis zu 60-70% liegt (14, 16, 17, 36). Nach eventuell zunächst protrahiertem Verlauf stellen sich klinische Symptome ein, welche in ihrer Zahl und Konstellation die Diagnosestellung einer PTBS erlauben. Zu ihnen gehören Intrusionen (also gedankliches Wiedererleben des Geschehenen im Schlaf oder Wachzustand von sich aufdrängendem Charakter), Vermeidungsverhalten (insbesondere Vermeiden von Kontexten, die an das Trauma erinnern), Negativsymptome (charakteristisch mit emotionaler Taubheit, sozialem Rückzug, sowie Hinzutreten von depressiver oder ängstlicher Symptomatik) und Positivsymptomatik (dazu zählen vegetative Erregungszustände wie Schlaflosigkeit, Schreckhaftigkeit und ständige Wachsamkeit) (14-16, 36). Laut ICD-10-GM führen folgende Kriterien zur Diagnosestellung: 1. Traumatisches Ereignis von außergewöhnlicher Schwere, 2. Auftreten der Symptome innerhalb von 6 Monaten nach dem Trauma, 3. Intrusive Gedanken, 4. Symptome der Vermeidung und der emotionalen Gleichgültigkeit und 5. Symptome der Hypervigilanz (15, 36). Die Symptome treten meist derart in den Vordergrund des Erlebens, dass sich Patienten außer Stande fühlen, effektive Bewältigungsstrategien zu entwickeln oder praktisch anzuwenden (16). Obwohl Heilung möglich ist, verläuft die Störung meist chronisch und führt zu Dauerstress im menschlichen Organismus, welcher körperliche Erkrankungen mitauslösen oder in ihrer Dynamik auf negative Art beeinflussen kann (14, 16).

2.4 Komorbidität zwischen PTBS und chronischem Schmerz

Zunächst gilt es zu verdeutlichen, dass die Prävalenz der Komorbidität in verschiedenen Stichproben variiert. Die Raten unter Kriegsveteranen liegen besonders hoch, je nach Studie bei 66% oder gar bis zu 80%, während die Doppeldiagnose in einer Stichprobe unter ambulant geführten allgemeinpsychiatrischen Patienten mit 24% angegeben wird (37, 38). Die Prävalenz von chronischen Schmerzen in PTBS-Patienten liegt mit 34-80% deutlich höher als umgekehrt die von posttraumatischen Stresssymptomen in Patienten mit chronischen Schmerzen mit 10-50% (39). Diese Diskrepanz könnte allerdings bedingt sein durch die Tatsache, dass „traumatische Erlebnisse häufig auch mit physischen Schmerzen verbunden sind und diese somit eine Art posttraumatische Störung darstellen“ (1). In beiden Erkrankungen scheint es ähnliche pathologisch veränderte Reaktionsmuster in

den Bereichen Kognition, Psyche und Verhalten zu geben, was schließlich zu ähnlicher Präsentation der klinischen Symptome in Betroffenen führt. Die Überlappung kann mit den Symptomen Ängstlichkeit, Übererregbarkeit, Vermeidungsverhalten, emotionale Labilität und übersteigertes Körperbewusstsein beschrieben werden. Weiterhin geht man davon aus, dass die Stressantwort, sowie die Schmerzmodulation in beiden Patientengruppen fehlreguliert ist (35). Für das gehäufte gemeinsame Auftreten gelten folgende Zusammenhänge als mögliche Erklärungen: 1. Die Krankheiten treten gemeinsam auf, sind aber voneinander unabhängig, 2. Eine der beiden Krankheiten verursacht die jeweils andere, 3. Eine der beiden Krankheiten nimmt wenigstens Einfluss auf die jeweils andere und 4. Es gibt einen noch unbekanntem dritten Faktor, welcher beide Krankheiten auslöst (35). Im Folgenden möchte ich auf die derzeit bekanntesten dieser Entstehungsmodelle eingehen.

2.4.1 Das Modell der *Mutual Maintenance*

Derzeit wohl am meisten Zuspruch findet das Modell der *mutual maintenance* (etwa: gegenseitige Aufrechterhaltung) von Sharp und Harvey, welches davon ausgeht, dass beide Krankheiten sich in ihrem zeitlichen Fortbestehen gegenseitig unterhalten (17). In ihrem Modell gehen die Autoren davon aus, dass Komponenten in Verhalten, Kognition und Affekt der Patienten zur gegenseitigen Aufrechterhaltung und Exazerbation der Symptome führen kann.

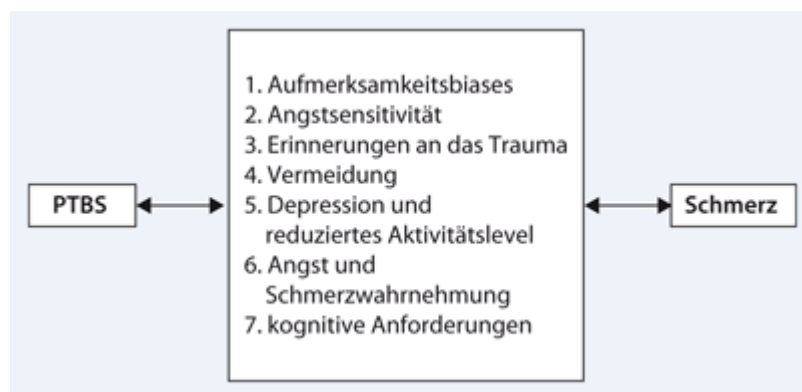


Abb. 1: Modell der *mutual maintenance* (1)

Mit dem Modell der *mutual maintenance* wäre zu erklären, dass ein intrusives Schmerzgedächtnis im Rahmen der PTBS schmerzhafte Muskelverspannung provoziert, sowie auch umgekehrt, dass eine Schmerzempfindung die Erinnerung an das entsetzliche Ereignis triggert (40, 41). In beiden Fällen käme es zu einer ständigen

Abfolge aus Hypervigilanz („Jede Bewegung kann schmerzhaft sein“ oder „Alles erinnert mich an das Trauma“), und resultierendem Vermeidungsverhalten („Ich muss Bewegung meiden“ oder „Ich darf mich nicht mehr mit dem Trauma konfrontieren“), wobei die Patienten in einer Art Teufelskreis zwischen Übererregung und Vermeidung gefangen wären (41). Weitere Autoren halten es außerdem für möglich, dass die gesteigerte Vigilanz die Patienten zu einer übermäßigen Beachtung ihrer Schmerzen verleitet, was zum einen ihre Stresssymptome verschlechtern, und zum anderen die Wahrnehmung ihrer Schmerzen negativ beeinflussen könnte (41). Einige Autoren spinnen einen ganz ähnlichen Gedanken weiter und postulieren, dass falls Schmerz als Erinnerungsreiz an das Trauma dient, Patienten mit PTBS und komorbidem Schmerz voreingenommen sein müssten gegenüber sowohl Trauma-assoziierten als auch Schmerz-verwandten Stimuli (17, 35). Besonders ausgeprägt fiele dieser Bias in dem Falle aus, wenn der Auslöser von Trauma und Schmerz ein und derselbe ist, wie es z.B. bei einem Unfall denkbar wäre (35). Befürworter des Modells der *mutual maintenance* sehen dessen Gültigkeit häufig als bewiesen mit dem Argument, dass schmerzbezogene Angst und Vermeidungsreaktionen beide als zentrale Faktoren im Prozess der Chronifizierung von Schmerz gelten – und beide (Angst und Vermeiden) sind auch definierende Symptome der PTBS (41). Wieso nun aber findet dieses Modell nicht universal anerkannte Geltung in der Klärung des gemeinsamen Auftretens? Hauptsächlicher Kritikpunkt ist die Tatsache, dass das Modell keine Antwort bietet auf die Frage nach dem komorbiden (also parallelen) Entstehen der Störungsbilder.

2.4.2 Das Modell der *Shared Vulnerability*

Als Alternative zum Modell von Sharp und Harvey ist das Modell der *shared vulnerability* (etwa: gemeinsame Vulnerabilität), entwickelt von den Autoren Asmundson et al., bekannt. Es bietet eine gemeinsame Verwundbarkeit in Personen als Risikofaktor für die Entstehung beider Krankheitsbilder als Vorschlag (35). So wird die Eigenschaft „Angstsensitivität“ (engl.: *anxiety sensitivity*) als ein gemeinsamer Schwachpunkt diskutiert, welcher Patienten zur Entwicklung von Symptomen sowohl der PTBS als auch von chronischem Schmerz prädisponiert. Unter Angstsensitivität soll hier allerdings nicht Ängstlichkeit im Allgemeinen verstanden werden. Der Ausdruck meint eher eine übersteigerte Anfälligkeit für die Entwicklung von Angst, welche in der Folge katastrophisierende Gedanken und körperliche Symptome

auslösen kann, die dann wiederum ängstlich wahrgenommen werden. Treffend kann formuliert werden: Angstsensitivität ist die „Angst vor der Angst“ (1).

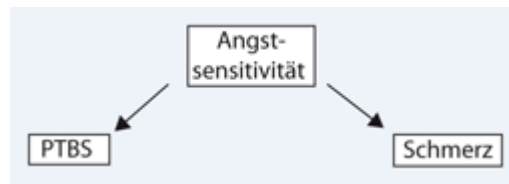


Abb. 2: Modell der *shared vulnerability* (1)

Das Modell fußt auf der Grundannahme, dass „falls der traumatische Stressor und das Schmerz-verursachende Ereignis gleich sind, oder in kurzem zeitlichen Abstand auftreten, dann kann Angstsensitivität beider maßen die Reaktion vervielfachen und womöglich die Vulnerabilität für die Entwicklung beider Krankheitszustände steigern“ (35). Obwohl der gemeinsame Vulnerabilitätsfaktor „Angstsensitivität“ als Brücke zwischen PTBS und chronischem Schmerz vielversprechende Erklärungsansätze ermöglicht, so scheint es einigen Autoren doch zu einseitig, das Zusammenspiel zwischen zwei derart komplexen Krankheitsentitäten auf nur einen gemeinsamen prädisponierenden Faktor zurückzuführen (1).

2.4.3 Das Modell der *Perpetual Avoidance*

Das *perpetual avoidance model* (etwa: Modell der fortwährenden Vermeidung) (1) beruht auf der Annahme, dass Schmerzpatienten mit zwei grundsätzlich verschiedenen Bewältigungsstrategien auf ihre schmerzbezogene Angst reagieren können: Konfrontation versus Vermeidung (42). Während die erste Strategie mit Zunahme von physischer Aktivität und sozialer Interaktion assoziiert ist und so als positiver Einflussfaktor auf den Heilungsprozess aufgefasst wird, wird die Strategie des Vermeidens mitursächlich erachtet für mangelnde physische und psychische Rehabilitation und folglich zunehmender Invalidität und gesteigerter Schmerzperzeption (42, 43). Das Modell der *fear avoidance* versucht zu erklären, „wieso und wie manche Patienten mit akuten Schmerzen einen substanziellen psychologischen [Symptom-] Überhang entwickeln, während andere dies nicht tun“ (42). Das Modell postuliert, dass schmerzbezogene Furcht zur Vermeidung von Aktivitäten und Bewegungen führt, die der Patient mit Schmerzen in Verbindung bringt. Dabei entwickelt er unter anhaltender Dauer dieses Vermeidungsverhaltens fälschlich

katastrophisierende Annahmen über den Schmerz, welche die Angst noch weiter verstärken (1, 42). Auf diese Art integriert das Modell zweierlei Komponenten des Schmerzes: Schmerzwahrnehmung und emotionale Schmerzreaktion. Das *fear avoidance* Modell kann unter der Annahme erweitert werden, dass zusätzlich zu Kognition (Angst) und Verhalten (Vermeiden) des Erkrankten auch die Physiologie der körperlichen Reaktion einen maßgeblichen Einfluss ausübt (43). So ist die physiologische Antwort auf die Angst vor Schmerzen eine muskuläre Anspannung, sodass nicht nur Inaktivität im Sinne von Vermeidung die Folge ist, sondern auch direkter Schmerzanstieg durch die Verspannung – quasi eine positive Rückkopplung. Ein Schmerzkreislauf schließt sich (43). Als eine letzte Erweiterung zum ursprünglichen *fear avoidance model* wird in Analogie zum Schmerzkreislauf ein PTBS-Kreislauf hinzugefügt: Das Modell der *perpetual avoidance* entsteht (1). Der PTBS-Kreislauf berücksichtigt den dysfunktionalen Kognitionsstil von Betroffenen nach einem Trauma und die daraus folgende Hypervigilanz und Anspannung. Das hohe Erregungslevel kann nun ebenfalls zu den PTBS-Symptomen Vermeidung (z.B. von Situationen, welche an das traumatische Ereignis erinnern), aber auch zu körperlichen Symptomen (z.B. Schlaflosigkeit, ständige Wachsamkeit) führen, die wiederum das Schmerzempfinden negativ beeinflussen können. Es laufen also ständig zwei Kreisläufe parallel ab, wobei es bei beiden einem Trauma als Auslöser bedarf, und welche über die Komponenten Vermeidung und Inaktivität, sowie Übererregung und Anspannung auch miteinander zirkulieren können (1). Diese Erweiterung um den PTBS-Kreislauf als Modell zur Komorbidität zwischen chronischem Schmerz und PTBS veranschaulicht übersichtlich, wie Patienten direkt in zwei „Teufelskreisen“ gefangen sind und wie der jeweils eine in den anderen Kreislauf übergreifen kann. In der Literatur ist dieses eines der aktuellsten Modelle, dessen Gültigkeit daher jedoch in anderen Studien noch diskutiert werden muss.

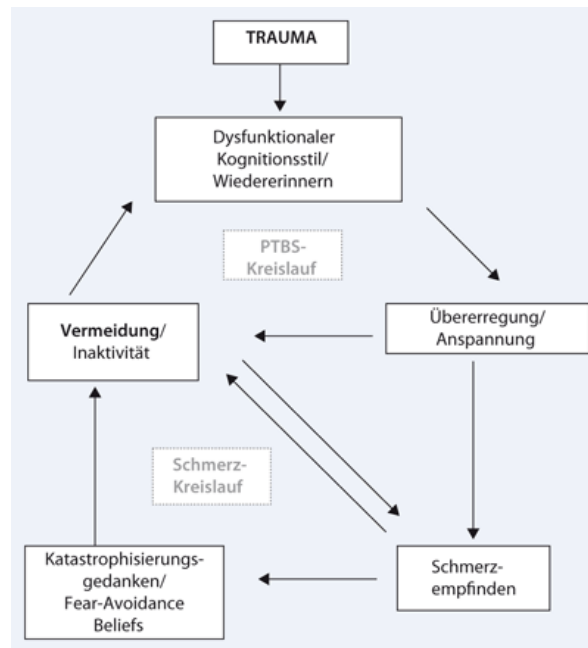


Abb. 3: Das *perpetual avoidance model* (1)

2.4.4 Kausalität im komorbiden Auftreten

Trotz der aktuell anerkannten und viel untersuchten Komorbidität, sowie der zahlreichen Erklärungsansätze und theoretischen Modelle, bleibt es immer noch ungeklärt, ob eine zeitlich determinierte Abfolge (also Stress vor Schmerz oder vice versa) die Prävalenz des komorbiden Auftretens beeinflusst. Wenn es solch einen Zusammenhang gäbe, dann würde der Gedanke an ein Konstrukt aus Risikofaktor und einer durch ihn (zumindest teilweise) getriggerten körperlichen Erkrankung naheliegen. Die Identifizierung eines spezifischen Risikofaktors als Determinante in der Pathogenese einer Erkrankung mit hoher Prävalenz und Inzidenz in der Allgemeinbevölkerung würde die Chance eröffnen, nach Präventionsmöglichkeiten zu suchen und diese den Kollektiven mit erhöhtem Risiko zugänglich zu machen. Daher ist die Frage nach einem zeitlich geordneten kausalen Zusammenhang zwischen PTBS und den verschiedenen Subgruppen innerhalb der chronischen Schmerzerkrankungen von großer Relevanz. Auch die Autoren Speck et al. unserer Arbeitsgruppe haben im Zuge ihrer Forschungen versucht, auf die PTBS als möglichen prädisponierenden Faktor für die Entwicklung des CRPS als Vertreter der chronischen Schmerzerkrankungen zu screenen (18). In ihrer Studie wurden Patienten in drei Gruppen aufgeteilt: Eine Gruppe bestand aus CRPS-Patienten, eine weitere Gruppe aus Patienten mit nicht-CRPS Gliederschmerz, und eine dritte aus Kontrollen. Die typischen PTBS-Symptome wurden mit standardisierten diagnostischen Instrumenten,

wie z.B. dem PDS-Fragebogen, erfasst. Die Autoren fanden eine signifikant höhere Prävalenz von PTBS in CRPS-Patienten (38%), als in der Gruppe mit Gliederschmerz (10%) und der gesunden Kontrollgruppe (4%). Die Mehrheit der Patienten gab außerdem an, dass sie bereits deutlich vor dem CRPS-auslösenden Trauma unter PTBS-Symptomen gelitten habe. Diese Beobachtung gibt Hinweise darauf, dass die erhöhte Prävalenz von PTBS-Erkrankungen in CRPS-Patienten nicht ausreichend mit einem Modell der simultanen und gegenseitigen Unterhaltung der Symptome, wie es das *mutual maintenance model* postuliert, erklärt werden kann. Stattdessen geben diese Zahlen Anlass zur Vermutung, dass eine bereits diagnostizierte PTBS Patienten in ihrem weiteren Lebensverlauf einer erhöhten Vulnerabilität gegenüber chronischen Schmerzkrankheiten aussetzt (17, 18). Unter Annahme dieser Hypothese würde also eine vorbestehende PTBS die Funktion eines kausalen Risikofaktors in der Entwicklung eines CRPS darstellen. Dennoch liegt ein großes Problem in der Tatsache, dass Schmerzpatienten bezüglich psychischer Auffälligkeiten häufig retrospektiv, d.h. erst nach Schmerzmanifestation, evaluiert werden. Aufgrund der sich meist im Erkrankungsverlauf durch die chronischen Schmerzen manifestierenden psychischen Belastungssymptome, könnte die Erinnerung beziehungsweise die Wiedergabe der Befindlichkeit und Stimmung vor der chronischen Schmerzerkrankung einer größeren Verzerrung unterliegen (sog. *recall bias*). Gerade in einem Fragebogen wie dem PDS, welcher von den Patienten selbst nach deren subjektiver Einschätzung ausgefüllt wird, würde ein solcher Bias das Ergebnis womöglich sehr stark verfälschen. Daher wollte ich die Hypothese, eine PTBS sei ein Risikofaktor für die Entwicklung eines CRPS, in einem prospektiven Setting untersuchen. Als Schlüsselhinweis auf eine übersteigerte Verhaltenspersistenz (übertragbar auf die Persistenz der Schmerz- und Stresssymptome) habe ich das Extinktionsverhalten der Tiere untersucht.

2.5 Klassische Konditionierung und Extinktion

Extinktion ist ein Lernprozess, der mithilfe des Modells der klassischen Konditionierung nach dem russischen Mediziner und Physiologen Iwan Petrowitsch Pawlow Erklärung findet (44). Extinktion beschreibt, wie zuvor erlerntes Verhalten in seinem Auftreten abgeschwächt wird, wenn der antizipierte und das Verhalten verstärkende Stimulus ausbleibt. Sie ist Grundlage für Expositionstherapien z.B. von Angst- oder Panikstörungen (45, 46). Eben dieser Vorgang des „Ausbleibens“, oder besser des

„Verlernens“ einer zuvor akquirierten und nun maladaptiven Verhaltensantwort auf einen Reiz, scheint bei PTBS- und auch Schmerz-Patienten massiv eingeschränkt zu sein (47). Um die Bedeutung und Mechanismen hinter Extinktionslernen zu verstehen, ist ein Grundwissen über das Modell der klassischen Konditionierung von Pawlow als ein Vertreter des assoziativen Lernens unerlässlich (44).

2.5.1 Theorie der klassischen Konditionierung nach Pawlow

Allgemein muss zunächst unterscheiden werden zwischen assoziativem und nicht-assoziativem Lernen. Das nicht-assoziative Lernen tritt in Form von entweder Habituation oder Sensitivierung als Reaktion auf die repetitive Darbietung eines einzelnen Reizes auf. Assoziatives Lernen beschreibt die veränderte Antwort auf einen Reiz aufgrund seines gepaarten Auftretens mit einem weiteren Stimulus (3). In seiner Arbeit schildert Pawlow das Erlernen einer Verknüpfung zwischen zwei Stimuli und der aus dieser Verknüpfung resultierenden Reaktion, was somit als eine Form von assoziativem Lernen anzusehen ist. Pawlow nennt diesen Vorgang „klassische Konditionierung“. Die Verknüpfung zwischen den beiden Stimuli wird in unserem Gedächtnis dauerhaft hinterlegt. Sie erfüllt dann ihre Funktion in der Vorhersage des Auftretens eines Stimulus, wobei dieser meist von aversivem Charakter ist (3). Der Vorgang der Konditionierung läuft folgendermaßen ab (44): Ein salienter Reiz, also natürlicherweise von hoher biologischer Relevanz und Potenz (unkonditionierter Stimulus, US), löst in einem Individuum in der Regel eine ebenso natürliche Reizantwort (unkonditionierte Reaktion, UR) aus. Pawlow wählte zur Veranschaulichung einen Hund, dem man den salienten Reiz Fleisch (US) präsentierte, und welcher natürlicherweise mit einer gesteigerten Salivation (UR) reagierte. Paart man einen solchen salienten Reiz nun mit einem neutralen Stimulus (z.B. mit einem Licht, mit einem Ton, etc.), dann wird die bis dahin unkonditionierte Reaktion (UR) im Gedächtnis mit diesem neutralen Reiz verknüpft abgespeichert. Pawlow präsentierte in seinem Modell das Fleisch (US) zusammen mit einem Glockenton, woraufhin der Hund in Erwartung von Fressen wieder mit gesteigerter Speichelproduktion reagierte. Wird der neutrale Stimulus häufig genug mit dem US gepaart präsentiert, so wird auch die alleinige Präsentation des neutralen Reizes nun das bislang unkonditionierte Verhalten (UR) hervorrufen. Das heißt, der ehemals neutrale Reiz hat nun seine eindeutige Aufgabe in der Ankündigung des US, man nennt ihn von nun an in dieser Funktion konditionierten Stimulus (CS). Da er

mittlerweile auch allein die natürliche Reaktion hervorrufen kann, wird diese Reaktion jetzt als konditionierte Reaktion (CR) bezeichnet. Im Hunde-Modell von Pawlow war der Glockenton also der konditionierte Stimulus (CS), welcher fortan auch ohne das Fleisch (US) ein vermehrtes Speicheln (nun CR) auslöste. Das Modell der klassischen Konditionierung wird auch heute in der Medizin als Erklärungsmodell für die Entstehung verschiedener Krankheiten verwendet, vorwiegend für Erkrankungen aus dem psychiatrischen Formenkreis, wie der PTBS, sowie Angst- und Panikstörungen (45). Daher haben sich in der Forschung verschiedene Paradigma besonders für das sogenannte *fear conditioning* (also der Konditionierung von Angst als Reaktion auf einen konditionierten Stimulus) durchgesetzt, um so z.B. in Tiermodellen verschiedene Angsterkrankungen des Menschen abbilden zu können. In diesen Modellen ist der „unkonditionierte Stimulus normalerweise schmerzhaft oder unangenehm und die konditionierte Reaktion nimmt die Gestalt von Abwehrverhalten oder emotionalen Reaktionen an [...]“ (45). Die CR könnte sich also in einem Anstieg der Herzfrequenz oder des Blutdrucks, einem vermehrten Schwitzen, Fluchtverhalten, aber auch in der Zunahme von defensivem Verhalten (z.B. Verharren in einer Position, dem sog. *freezing*) äußern.

2.5.2 Theorie der Extinktion einer konditionierten Reaktion

Die Abschwächung der CR, wenn der CS fortwährend nur noch ohne den US präsentiert wird, findet ihr zugrundeliegendes Korrelat im Prozess der Extinktion. Im Beispiel von Pawlow würde also der Hund irgendwann merken, dass die Glocke nicht mehr im Zusammenhang mit der Präsentation von Fleisch ertönt, und sein Speicheln würde fortan kontinuierlich nachlassen (44). Das Verständnis von diesen Vorgängen ist insbesondere in der Behandlung der bereits oben genannten psychischen Erkrankungen von besonderem Interesse, da Extinktion aktiv als Strategie Anwendung finden kann, um einen Rückfall in maladaptive Verhaltensmuster zu verhindern. Einschränkend ist allerdings anzumerken, dass die Lernprozesse der Extinktion hoch kontextualisiert sind und daher schlecht auf andere Situationen, andere Orte oder nach einer großen zeitlichen Pause angewandt werden können. Die CR hingegen neigt zu Kontext-unabhängiger Generalisierung (46, 48). Daraus ergeben sich folgende weitere charakteristische Merkmale von Extinktion: 1. Das Wiedereinsetzen der CR im Lernkontext (*retrieval*), wenn noch keine ausreichende Extinktion der CR stattgefunden hat, 2. Ein Wiedereinsetzen der CR (*reinstatement*) nach erfolgter

Extinktion, wenn ein Erinnerungsreiz (*reminder*) in Form vom US dargeboten wird, 3. Ein Auftreten der CR in einem anderen, also dem Extinktionslernen unterschiedlichen Kontext bezogen auf Situation, Umgebung oder Zeit (*renewal*), 4. Ein spontanes Wiederauftreten der CR nach einer gewissen Zeitspanne, und zwar ohne Verstärkung der CR durch eine erneute Darbietung des US (*spontaneous recovery*) (45, 46, 49-51). Diese Charakteristika deuten somit bereits an, dass die CR im Rahmen der Extinktion nicht völlig ausgelöscht wird, sondern in irgendeiner Form und Stärke im Gedächtnis bewahrt wird. In der Literatur zum Thema wird die Vermutung geäußert, dass ein Individuum aufgrund unterschiedlicher Annahmen über den Zusammenhang zwischen CS und US verschieden erfolgreich extingiert. Damit ist beispielsweise die Annahme gemeint, dass der CS nicht mehr länger überhaupt den US ankündigt, oder dass diese Ankündigungsfunktion zumindest weniger verlässlich geworden ist, oder aber, dass nicht zuletzt ein völlig anderer Vorgang das Auftreten der CR verhindert. Je nach Überzeugung des Individuums über die zu Grunde liegende Ursache, wird sich laut der Autoren eher das Extinktionsgedächtnis (*extinction memory*) oder aber das Angstgedächtnis (*fear memory*) durchsetzen (45, 50). Übertragen auf die PTBS und das CRPS existiert in den Patienten also ein Traumagedächtnis bzw. analog ein Schmerzgedächtnis, und um ein abgespeichertes Verhalten oder eine emotionale Reaktion abzuschwächen (CR), das von traumaassoziierten beziehungsweise schmerzbezogenen Stimuli ausgelöst wird, ist Extinktion notwendig. Aktuell herrscht in der Literatur der Konsensus, dass erfolgreiche Extinktion ein neuer Lernvorgang ist, welcher mit der alten Verknüpfung von CS und US interferiert bzw. diese inhibiert, und nicht etwa den alten Lernprozess der Konditionierung völlig auslöscht (45). Dennoch lohnt ein Blick zurück in ältere Literatur, da dort die Ursprünge wichtiger Konzepte der Extinktion einer CR liegen, welche zumindest teilweise als theoretische Grundlagen im aktuellen Diskurs noch immer angeführt werden.

2.5.2.1 Extinktion als Löschvorgang

Lange Zeit wurde von vielen Autoren postuliert, dass Extinktionslernen aus einem begangenen Fehler heraus initiiert wird (*error correcting-learning*). Solch ein Fehler wird z.B. begangen, wenn auf die Präsentation eines CS hin das Erscheinen des verknüpften US antizipiert wird, letztendlich aber ausbleibt (*negative prediction error*) (52). Laut ihrer Erklärung gibt es nur einen Gedächtnispfad für den Zusammenhang zwischen CS und CR. Wird also die Assoziation zwischen US und CS durch

ausbleibende Paarung der beiden Stimuli gemindert und so im Prozess der Extinktion die CR abgeschwächt, dann wird eben dieser eine Gedächtnispfad für den zuvor konditionierten Zusammenhang im Sinne eines Verlernens (und nicht etwa Vergessens), gelöscht. Zwar lassen sich viele Aspekte der Extinktion anhand dieser ursprünglichen Theorie erklären, dennoch wird an ihr heftige Kritik geübt: In der Annahme, dass Konditionierung und Extinktion denselben Gedächtnispfad benutzen, und dass dieser nach erfolgreicher Extinktion gelöscht wird, können die charakteristischen Phänomene *retrieval*, *reinstatement* oder *spontaneous recovery*, des im Rahmen des Extinktionslernens nicht erklärt werden.

2.5.2.2 Extinktion als Lernvorgang

Eine Erklärung für o.g. Phänomene bietet ein anderes Konzept der während der Extinktion ablaufenden Prozesse. Dieser in der Forschung diskutierte Ansatz besagt, dass zusätzlich zu einem CS + US-Pfad im Falle von Extinktion ein zweiter Gedächtnispfad angelegt wird, im Sinne einer CS – nicht US-Verknüpfung. Das heißt, es gibt eine zweite Gedächtnisspur, die beschränkt wird, wenn ein beliebiger Hinweis das Individuum ein Ausbleiben des US nach Präsentation des CS erahnen lässt. Je nachdem, welche Assoziation im Vordergrund steht (CS + US oder CS – nicht US), wird eine CR gezeigt werden oder eben nicht (53). Beide Gedächtnispuren bestehen also nebeneinander und werden prinzipiell auf dieselbe Weise akquiriert und es wird nicht prinzipiell zwischen exzitatorischem Lernen (CS+US → CR) und inhibitorischem Lernen (CS–nicht US → nicht–CR) unterschieden. Stattdessen ist in ihren Augen Extinktion nur eine neue Form der Konditionierung. Gleichzeitig bedeutet diese Erklärung aber für den CS eine mindestens zweideutige Funktion, nämlich der Auslösung der CR oder eben ihrem Ausbleiben. Das Individuum wird so vor die ständig erneut zu treffende Entscheidung gestellt, welcher Pfad in welcher Situation nun der richtige ist (46, 49). Diese Tatsache generiert somit eine „unkomfortable Situation für Individuen, die eine Abneigung gegenüber Mehrdeutigkeit oder Ungewissheit besitzen“, was sich in Experimenten auch in einem vermehrten Wiederauftreten der CR nach Extinktionslernen belegen ließ. Das Phänomen des Rückfalls in das ursprüngliche konditionierte Verhalten generell wird mit dem Unvermögen erklärt, die inhibitorische Assoziation von CS ohne nachfolgenden US abzurufen. Als wahrscheinliche Erklärung hierfür wird die fälschlicherweise bedrohliche Interpretation von Stimuli, die eigentlich Sicherheit signalisieren sollen, gegeben.

2.5.2.3 Ursachen mangelhafter Extinktion

Das Unvermögen im Abruf der Inhibition der CR ist bis zu einem gewissen Grad eine physiologische Reaktion unseres Organismus auf die Tatsache, dass es einfacher (und vielleicht auch besser) ist, eher Sicherheitshinweise statt Hinweise auf Bedrohung zu „verlernen“. Eine dauerhafte Persistenz der CR kann in extremer Ausprägung allerdings pathologische Formen annehmen („*always prepare for the worst*“) (46, 49). Hinzu kommt, dass der Mensch besonders bei angstbesetzten oder schmerzauslösenden Erfahrungen, als auch bei solchen, die mit einer Bedrohung assoziiert sind, zu Generalisierung über die Details des CS hinaus neigt (54). In manchen Situationen dies auch dies sicherlich noch sinnvoll. Beispielsweise ist es nach einem Bienenstich durchaus lohnend, auch den Stich einer Wespe zu meiden. In anderen Situationen ist solch eine Übertragung allerdings als maladaptiv anzusehen. So skizzieren Autoren die Situation, dass ein schlimmer Autounfall dazu führen kann, dass Autofahren im Allgemeinen oder die Orte in Unfallnähe, ja sogar Verfolgungsjagden in Fernsehsendungen gemieden werden (54). Immer weitere Reize, die den bereits konditionierten Stimuli in irgendeiner Art ähnlich sind, werden rekrutiert, was man als „Reizgeneralisierung“ bezeichnet (54, 55). Außerdem wird das Phänomen beobachtet, dass der nun angstausslösende CS in der Folge mit weiteren neutralen Stimuli verbunden wird, welche auf diese Weise ebenfalls aversiven Charakter erlangen. So ist es denkbar, dass weitere Gegenstände, Sinnesreize, auch Worte oder Gedanken die Potenz erlangen, Angst auszulösen. Dieses Phänomen wird auch als Konditionierung höherer Ordnung beschrieben (54-56). Möglicherweise kommt es auch direkt zur Konditionierung gleich mehrerer Stimuli, da ein Traumakontext als ein Ganzes von zahlreichen bedrohlichen Stimuli aufgefasst werden kann. Angst als äußerst unangenehme Emotion provoziert nun Verhaltensstrategien, um das Aufkommen dieses Gefühls zu verhindern, welche häufig als CR im Vermeiden von oder Flucht vor dem CS resultieren. Die Flucht aus der Situation reduziert die Angst und wird von den Betroffenen als befreiend empfunden, was als positiver Verstärker und wird nun das Vermeidungsverhalten als CR weiter forcieren. Je umfangreicher die Summe der Angst-induzierenden Stimuli allerdings ist, desto problematischer wird es für die Betroffenen, sie erfolgreich zu umgehen (55). Auch eine übersteigerte Erwartung des US trägt zur Aufrechterhaltung der konditionierten Angst vor erneutem Schmerz oder Traumatisierung bei (47, 57).

2.6 Mangelhafte Extinktion als Faktor in der Pathogenese der PTBS

Um die Brücke zur PTBS zu schlagen, wird in der Literatur häufig von einem „Angstnetzwerk“ im menschlichen Gedächtnis gesprochen, welches beispielsweise nach einem traumatischen Ereignis mit bedrohlichen Informationen und nur scheinbar angemessenen Flucht- und Vermeidungsstrategien gespeist wird (56). Neben den Negativsymptomen erklären viele Autoren anhand klassischer Konditionierung auch die Hypervigilanz und Schreckhaftigkeit (55, 56). Viele PTBS-auslösende Traumata sind von unvorhersehbarer und völlig überraschender Natur. Dementsprechend reagieren die Patienten auch in der Zeit danach mit ständiger Wachsamkeit und erhöhter Schreckhaftigkeit auf verschiedene Stimuli (56). Eine anerkannte Erklärung hierfür ist, dass „Symptome des Wiedererlebens als CR verstanden werden können, die selbst lange Zeit nach dem Trauma noch persistent verbleiben“ (58). Allerdings stellt sich folgende Frage: Wieso führt das ständige Wiederdurchleben des Traumas im Rahmen von Intrusionen, Flashbacks oder Alpträumen, ohne dass sich dabei aber der eigentliche US wiederholt, nicht zu erfolgreicher Extinktion? Eine eindeutige Antwort auf diese Frage kann zurzeit nicht gegeben werden. Mögliche Gründe hierfür sind zahlreich, die populärsten sollen im Folgenden vorgestellt werden. Eine Erklärung bestünde beispielsweise darin, dass während einer Intrusion die Situation nicht in aller Gänze ihrer Details durchlebt wird und so manche CS nicht auftauchen. Des Weiteren könnten die Flashbacks von zu kurzer Dauer sein, um Extinktion zu lernen (55, 56). Um Expositionstraining, das sich Extinktionsvorgänge zu Nutzen macht, im Rahmen einer Verhaltenstherapie intensiver und erfolgreicher zu gestalten, schlagen einige Autoren vor, so lange wie möglich in Exposition zu bleiben und den Expositionskontext mit so vielen CS wie nur möglich auszugestalten, damit möglichst viele einer Extinktion zugänglich gemacht werden können. Die Anwesenheit einer Vielzahl an Stimuli steigert in ihren Augen zusätzlich das generelle Erregungslevel, sodass sich die Person auch emotional noch lebhafter im damaligen Traumakontext befindet. Dies sei außerordentlich relevant, da die Abrufbarkeit der Erinnerung maßgeblich vom Befinden bzw. von der emotionalen Aktivierung der Person beeinflusst wird, und der Abruf am besten gelingt, wenn die Person sich im selben kognitiven und affektiven Zustand befindet, wie zum Zeitpunkt der damaligen Exposition. Man spricht in diesem Zusammenhang von „*state dependent memory retention*“, also einer vom emotionalen Zustand abhängigen Retention der Erinnerung (55). Ein Nichtbeachten dieses Zusammenhangs könnte erklären, warum das willentliche und aktive Erinnern im

Rahmen von therapeutischen Ansätzen häufig missglückt, oder zumindest nicht vollständig gelingt, und so einige Details im Unterbewusstsein verbleiben und nicht im Extinktionstraining angewandt werden können. Gleichzeitig könnten Konditionierung höherer Ordnung und Reizübergeneralisierung Gründe sein, warum Patienten daran scheitern, bedrohliche Stimuli von sicherheitssignalisierenden Stimuli zu unterscheiden. Für viele PTBS-Patienten kann es kaum noch eine sichere Umgebung geben, da zu viele Stimuli mittlerweile angstbesetzt sind (59). Wie oben beschrieben, ist Extinktion ein Lernprozess, der zunächst die eindeutige Identifizierung einer nicht – US-Umgebung voraussetzt, die dann als sicher interpretiert wird. Wenn also die Diskriminierung zwischen Sicherheit (CS – nicht US) und Bedrohung (CS + US) wieder erlernt werden soll, dann muss dies in einem sicheren Umfeld stattfinden, das heißt es muss eine klare CS – nicht US-Atmosphäre herrschen. Dies ist für viele PTBS-Patienten unmöglich. Kann aber keine Reizdiskriminierung erfolgen und der Patient sich somit keine sichere Umgebung schaffen, dann kann von vornherein auch kein Extinktionslernen stattfinden (48). Eine weitere Theorie, laut der die inhibitorische CS – nicht US-Verknüpfung zwar erlernt wird, in der angstbesetzten Situation vom Patienten aber dann nicht angewandt werden kann, hat sich im Tierexperiment als sekundär erwiesen: Primär erfolgte im Versuch keine Diskriminierung zwischen Angst- und Sicherheitsstimuli und somit in der Konsequenz kein inhibitorischer Lernvorgang, sodass eine Inhibition der CR logischerweise nicht stattfinden konnte (55, 60). Dennoch konnte gezeigt werden, dass das sekundär beeinträchtigte inhibitorische Lernen eine stärkere Effektgröße in PTBS-Patienten zu sein scheint, als die mangelhafte Reizdiskriminierung: Eines der Kernprobleme der PTBS-Patienten ist die unzureichende Fähigkeit, Angst unter sicheren Bedingungen zu unterdrücken (60). Trifft diese Mutmaßung zu, so müssten wohl zumindest einige Individuen erfolgreich zwischen den Stimuli diskriminiert haben, dann aber am Extinktionslernen gescheitert sein, oder aber die unzureichende praktische Anwendbarkeit auf die einzelne Situation ist der robustere Faktor im Rahmen der Angstpersistenz (48, 60). Eine weitere spannende – und noch nicht abschließend geklärte – Frage ist jene, ob sich das Unvermögen, eine ausreichende Inhibition der CR zu erlernen erst nach einem Trauma einstellt, oder ob es bereits vor dem Trauma (ggf. unbemerkt) bestand und damit ein Vulnerabilitätsfaktor für die Erkrankung an einer PTBS darstellt. Hierzu gibt es zum Teil widersprüchliche Studien (55, 60). Die Theorie, dass zwar der Zusammenhang CS – nicht US gelernt wird, aber nicht dann angewandt werden kann, bzw. von der ursprünglichen CS + US-Verknüpfung überlagert wird, findet weiteren

Zuspruch im Konstrukt der sog. „Konditionierbarkeit“: Es beschreibt, dass insbesondere eine traumatische Erinnerung einer enorm starken Konditionierung unterliegt, was sie besonders robust gegenüber Extinktionslernen macht. Die schwieriger erlernbare CS – nicht US-Verknüpfung wird so durch die „einfachere“ CS – CR-Erinnerung blockiert (50). Bestätigung für diese Hypothese wurde in einer Studie gefunden, in der PTBS-Patienten mit gesunden Kontrollen verglichen wurden und festgestellt werden konnte, dass sowohl während der Konditionierung als auch während der Extinktion, die PTBS-Gruppe eine höhere Herzfrequenz und Hautleitfähigkeit zeigte als die Kontrollgruppe. Aus diesen Beobachtungen wurde gefolgert, dass PTBS-Patienten leichter „konditionierbar“ und gleichzeitig resistenter gegenüber Extinktion sind, als Gesunde (61). „Hyperkonditionierung“ ist ein Begriff, der manchmal in diesem Zusammenhang gebraucht wird. Es ist offensichtlich, dass in der Literatur beide Möglichkeiten – Nicht-Erlernen vs. Nicht-Anwenden – sowohl Zu- als auch Widerspruch finden. Um zu untersuchen, ob die mangelhafte Extinktion des Angstverhaltens in unzureichender Reizdiskriminierung oder in unzureichender Anwendbarkeit des Erlernten begründet liegt wurden Untersuchungen durchgeführt, in denen zunächst zwischen Patienten, die erfolgreiche Diskriminierung von Angst- und Sicherheitsreizen zeigten, und solchen, die dies nicht taten, unterschieden (59). Nach 2 und 9 Monaten wurden die Patienten bezüglich ihres Verhaltens reevaluiert. Es zeigte sich, dass schlechtes Inhibitionslernen mit dem Auftreten von PTBS-Symptomen nach 2 und 9 Monaten assoziiert war, nicht jedoch eine ungenügende Reizdiskriminierung. Allerdings wichen die Ergebnisse bezüglich der Angst als kognitive Reaktion davon ab: Hier war die PTBS-Symptomatik nur noch dann mit mangelhaftem Extinktionslernen assoziiert, wenn man auch die Nicht-Diskriminierenden inkludierte. Es scheint also einen wichtigen Unterschied zu geben zwischen kognitiver Bewertung einer Situation und der gezeigten Verhaltensantwort. So kann zwar gedanklich die Erwartung CS – nicht US geleistet werden, aber gleichzeitig die ängstliche Verhaltensreaktion trotzdem nicht unterdrückt werden (48, 59, 60). Solch eine mögliche Inkongruenz zwischen Kognition und Verhalten sollte bei der klinischen Evaluation von Extinktion berücksichtigt werden, beispielsweise mit Fragebögen oder Ratingskalen zur Selbsteinschätzung (48). Erwähnenswert ist außerdem eine Studie, die auch Patienten mit einer Depression auf reduzierte Angstinhibition untersuchte. Neben chronischen Schmerzen lässt sich bei PTBS-Patienten häufig auch eine komorbide depressive Störung diagnostizieren, sicher mitbedingt durch die Ähnlichkeit der Symptome beider Erkrankungen.

Interessanterweise konnte in dieser Studie ein vermindertes inhibitorisches Lernen nur in PTBS-Patienten nachgewiesen werden, nicht aber in der Gruppe der depressiven Patienten. Diese Beobachtung lässt eine verminderte Angstinhibition als spezifisch für die PTBS erscheinen, was zusätzlich bestärkt wird durch die von der Arbeitsgruppe festgestellte positive Korrelation zwischen verminderter Angstinhibition und Symptomen der Übererregbarkeit in PTBS-Patienten (60). Abschließend zu dieser Thematik möchte ich eine weitere Studie erwähnen, welche eine a priori erhöhte und überschätzte Erwartung des US als pathogenen Faktor in der Persistenz der Angst diskutiert (47). Im Zustand der ständigen Antizipation (auch bei Nicht-Eintreffen) des US kann natürlicherweise keine CS – nicht US-Verknüpfung erlernt werden. Eine Grundannahme ist hierbei, dass nicht alle Stimuli gleich erfolgreich konditioniert werden können: Neutrale Stimuli, welche bereits häufiger im Umfeld des sich später ereignenden Traumas auftauchten und die bis dahin regelhaft nicht in Zusammenhang mit dem späteren US gebracht wurden, sind schlechter konditionierbar als solche, die bis zum traumatischen Erlebnis nicht oder nur selten im Traumakontext präsent waren. Ein Beispiel hierfür wäre ein Soldat, welcher zuvor regelhaft im Rahmen eines Einsatzes Fluglärm ausgesetzt war, ohne dass ihm je zuvor ein US folgte: Ist solcher Fluglärm nun auch im Traumakontext präsent, dann wird dieser Soldat den Lärm in der Regel eher seltener als CS mit dem aversiven Ereignis (US) verbinden, als ein anderer Soldat, für den der Fluglärm direkt zum ersten Mal mit dem traumatischen Ereignis zusammenfällt. Untersucht wurde die Ausprägung der US-Erwartung in einem Kollektiv an Soldaten vor und nach einem militärischen Einsatz im Irak. Man stellte fest, dass die PTBS-Betroffenen unter den Soldaten sowohl auf Trauma-relevante, als auch auf Trauma-irrelevante Stimuli mit einer übersteigerten US-Erwartung reagierten. Aber nur die Höhe der Erwartungshaltung gegenüber traumaassoziierten Stimuli war hierbei prädiktiv für die spätere PTBS-Symptomatik und stärker ausgeprägt, je geringer die Einsatzerfahrung der Soldaten zuvor war, sprich, je seltener sie bis zu diesem Zeitpunkt mit dem konditionierten Stimulus im traumatischen Kontext konfrontiert wurden (47). Die ständige Antizipation des US spiegelt sich in den typischen Symptomen der Hypervigilanz, ständigen Wachsamkeit und Schreckhaftigkeit.

2.7 Mangelhafte Extinktion als Faktor in der Pathogenese chronischer Schmerzkrankheiten

Während klassische Konditionierung und Extinktion als wesentliche lerntheoretische Modelle in der Manifestation und Aufrechterhaltung von zahlreichen psychiatrischen Erkrankungen bereits anerkannt sind, ist ihre Rolle bei der Entstehung von chronischen Schmerzerkrankungen aktuell noch nicht abschließend geklärt. Dennoch lassen sich auf ihnen basierend schon jetzt wichtige Erklärungsansätze mit Relevanz für Pathogenese und Therapiekonzepte ableiten (62). Bis heute wird mit dem oben vorgestellten *fear avoidance model* die Entwicklung von schmerzbezogener Angst und chronischer Körperbehinderung beschrieben (63). Die intensive Emotion „Angst“ wird dabei als eine essentielle Komponente von Schmerz aufgefasst (64). Erneut wurde mithilfe der etablierten assoziativen Lerntheorien die Ursache erklärt, warum Angst in Menschen den Drang zu *fear avoidance*, also Angst-Vermeidungsverhalten (und nicht etwa zugewandtes, lösungsorientiertes Verhalten), auslöst (3, 57, 65, 66). Erste Therapieversuche auf Basis von Extinktionslernen (z.B. Expositionstraining in vivo) haben sich als durchaus erfolgreich erwiesen und bekräftigen so die Rolle des assoziativen Lernens als relevanten (mit-)ursächlichen Faktor im Pathomechanismus (3, 65). Die Angst entspricht im Modell der klassischen Konditionierung nun der CR auf einen im Verlauf konditionierten (und vormals harmlosen) Schmerzreiz (CS). Das vom Patienten entwickelte Vermeidungsverhalten entspricht einer Defensivstrategie, um sich diesem unangenehmen Gefühl nicht dauerhaft aussetzen zu müssen und ist eine physiologische (und damit unkonditionierte) Reaktion, die von Angstgefühlen natürlicherweise hervorgerufen wird (3). Zusätzlich gibt es Anhalt zur Annahme, dass auch operante Konditionierung (als eine weitere Unterform des assoziativen Lernens neben der klassischen Konditionierung) eine wichtige Rolle innerhalb der Krankheitsentstehung spielt (64, 67, 68). Operantes Konditionieren führt über positive (z.B. Lob) oder negative (z.B. Ausbleiben von Tadel) Verstärkung zu einer Konsolidierung einer gezeigten Reaktion oder eines adaptiven Verhaltens. Bezogen auf chronische Schmerzerkrankungen und deren Bewältigungsmöglichkeiten wird in Studien zum Thema Folgendes postuliert: „Führt das Verhalten zu einer Reduzierung von Schmerz, Angst und/oder Gefühlen der Überforderung, wird es auf dem Weg der negativen Verstärkung zu einer Stabilisierung desselben kommen.“ (67). Unabhängig von der Art der Konditionierung der schmerzbezogenen Angst – klassisch oder operant – werden Betroffene zur Anwendung von Bewältigungsstrategien motiviert, die

dem primären Ziel der baldmöglichsten Angstaufhebung dienen (3). Je nach persönlichen und situativen Möglichkeiten, besteht eine solche Strategie zunächst meist in Vermeidungsverhalten. Alternativ stellt z.B. die baldmöglichste Flucht aus der Situation eine Option dar (66). Häufig ist es aber auf beide Arten nicht möglich, die Schmerzexposition gänzlich abzuwenden bzw. zu beenden. Nichtsdestotrotz lassen sich interessanterweise Veränderungen in Bewegungsabläufen der Betroffenen nachweisen, durch die ein schnelles Entkommen aus der Situation zumindest wahrscheinlicher wird. In einer prospektiven Studie zu konditionierter schmerzbezogener Angst gelangte man zu dem Ergebnis, dass Probanden schmerzassoziierte Bewegungen schneller, zielgerichteter und akkurater ausführten, auch wenn diese eindeutig nicht vermieden werden konnten. Diese Beobachtung betont, dass selbst bei unausweichlicher Konfrontation mit dem aversiven Stimulus ein Vermeidungsbestreben ausgelöst wird, um die Exposition gegenüber dem CS so gering wie möglich zu halten (66). Es wird deutlich, dass solche Strategien als Antwort auf die konditionierte Angst nur eine kurzzeitige Linderung verschaffen. In ihrer chronischen Anwendung aber sind sie maladaptiv und führen über längere Zeit nicht zum primären Ziel der Erholung, sondern vielmehr zu einem zusätzlichen oder verlängerten Leiden (3, 63). Um eine vollständige Regeneration zu erlangen, ist also das erfolgreiche Extinguieren der ursächlichen CS – CR-Verknüpfung unabkömmlich. Es erscheint intuitiv richtig, das Vermeidungsverhalten im Anschluss an die Phase des akuten Schmerzes abzulegen, da die schmerzadaptierte Reaktion nun prinzipiell in Abwesenheit weiterer unmittelbarer Bedrohung nicht mehr notwendig ist. Wenn an dieser Stelle die Extinktion der konditionierten Angst allerdings nicht gelingt und die im Verlauf zunehmend maladaptive Reaktion persistiert, steigt das Risiko einer Schmerzchronifizierung stark an. Um Ursachen misslungener Extinktion zu verstehen, bedarf es dem Verständnis einiger grundlegender Eigenschaften von Schmerz als potentiell CS. Nozizeptive Stimuli werden interozeptiv (z.B. viszeral, olfaktorisch), propriozeptiv (z.B. je nach Position im Raum, Lage, etc.) und exterozeptiv (z.B. taktil, visuell, auditorisch) wahrgenommen, wobei hier die exterozeptive Wahrnehmung bemerkenswerterweise der schlechteste Prädiktor für eine Schmerzmanifestation ist (3, 63). Weiterhin kann man Stimulus-abhängige von Stimulus-unabhängigen Schmerzen unterscheiden. Bei Stimulus-abhängigen Schmerzen kann ein Auslöser klar identifiziert werden, so kann bspw. ein taktiler Reiz allodynisches Schmerz verursachen. Stimulus-unabhängige Schmerzen erscheinen dem Betroffenen naturgemäß unvorhersehbar und werden nicht auf einen bestimmten Auslöser hin,

sondern abhängig vom Kontext konditioniert. Der auf diese Art ausgelöste Schmerz wird häufig als kontinuierlich oder als andere Wahrnehmungen überlagernd erlebt und ist oftmals von brennendem oder stechendem Charakter (65). Bemerkenswert ist der Link zwischen den beiden Formen: So tritt Angst vor Berührung nicht nur dann auf, wenn durch die Berührung an sich unmittelbar Schmerzen befürchtet werden (z.B. Schmerz bei der Venenpunktion zur Blutentnahme). Sie kann auch ohne eine als direkt schmerzhaft antizipierte Handlung auftreten, bspw. allein ausgelöst durch eine Umgebung, die mit Schmerzen assoziiert wird (z.B. ein Arztzimmer, in dem aber nur ein Gespräch stattfinden wird). Diese beiden Merkmale – Art der Empfindung (interozeptiv, propriozeptiv, exterozeptiv) und Stimulus-Abhängigkeit – sollen im Folgenden berücksichtigt werden. Eine Forschungsgruppe schreibt über Extinktion, sie sei „langsam, fragil und kontextabhängig“ und drückt damit den Kontrast zum im Gegensatz geradezu einfach erscheinenden Erwerb der Konditionierung aus (3). Einige mögliche Ursachen mangelhafter Extinktion von Angst in Schmerzpatienten, wie Reizgeneralisierung, Konditionierung höherer Ordnung oder die fehlende Diskriminierung zwischen sicheren und bedrohlichen Stimuli, decken sich mit denen in PTBS-Patienten (3, 57, 64). Weitere sind jedoch neu und schmerzspezifisch. Einige Autoren teilen die Auffassung einer durch die Angst gesunkenen Schmerzschwelle bzw. einer verminderten Toleranz gegenüber Schmerzen (3, 64). Wie bereits deutlich gemacht wurde, ist Angst ein Kernelement von Schmerz. Wirkt sich Angst aber negativ auf die individuellen Möglichkeiten der Schmerzbewältigung aus (z.B. den Schmerz aushalten, ihn akzeptieren, etc.), kann sie katastrophisierende Annahmen über den Schmerz hervorrufen und ihn so subjektiv verstärken. Angst kann sich auf diese Weise sekundär derart verstärken, dass sie sich letztlich scheinbar allen Möglichkeiten der erfolgreichen Extinktion entzieht. Sie ist außerdem ein bekannter Trigger des sympathischen Nervensystems: Im Zusammenhang mit einer Stressreaktion kann sie unter anderem zu einer gesteigerten muskulären Aktivität (z.B. muskuläre Anspannung, Muskelkrampf) führen (3). Eine schmerzhafte muskuläre Überaktivität kann also dazu führen, dass die CS – CR-Verknüpfung nicht extinguiert werden kann. Es ist denkbar, dass hieraus eine verlängerte Schmerzsymptomatik resultiert. Eine weitere Studie kam zu der Erkenntnis, dass starke Angst vor Schmerzen und Angstgeneralisierung prädiktiv sind für eine Schmerzausbreitung jenseits des ursprünglich betroffenen Areals. So wird durch die konditionierte Angst der US in seiner Auswirkung noch weiter ausgedehnt und gestärkt (3). Ein Problem für die Extinktion stellt vor allem auch der Stimulus-unabhängige Schmerz dar: Hier existieren

weder Hinweise auf Schmerzlosigkeit, noch auf Schmerzhaftigkeit von bestimmten Reizen (63, 65). Stattdessen übernimmt das Umfeld die Rolle des CS und wird vorhersagekräftig für das Auftreten von Schmerz. Es entsteht kontextualisierte Angst, sodass auch schmerzlose Berührungen in diesem Kontext Angst auslösen können. Extinktion verlangt aber nach einem oder mehreren klar erfassbaren Stimuli, die spezifisch für die Vorhersage von Schmerzen sind. (69). Die Schmerzerwartung kann also nicht extinguiert werden, denn „kontext-abhängige Angst inhibiert das Erlernen von Gefahrlosigkeit“ (65). Tauchen neue Reize im angstbesetzten Kontext auf, so können auch diese leicht konditioniert werden, die Bedrohung nimmt sozusagen immer mehr Raum für sich ein. Daran lässt sich erneut die Neigung zur Generalisierung von Angst erkennen – leider aber funktioniert diese Generalisierung nicht auch vice versa: Extinktion bleibt in ihrem Erfolg extrem vom Lernkontext abhängig und lässt sich nicht ohne erneuten Lernaufwand auf andere Kontexte übertragen. Schon kleine Veränderungen in der Umgebung hemmen den Abruf der Inhibition. Es lässt sich feststellen, dass der Vergleich von Konditionierung und Extinktion der konditionierten Reaktion im Hinblick auf das jeweilige Mühsal nachhaltig hinkt. Und selbst im Falle erfolgreicher Extinktion werden Individuen unvermeidlich immer wieder mit schmerzhaften Situationen konfrontiert und das erneute Anwenden der in Extinktion erlernten Nicht-Schmerzreaktion (CS – nicht-CR) stellt immer wieder eine Herausforderung dar. Nicht selten kommt es zum Wiederauftreten des Schmerzverhaltens, das als CR ein ausgeprägtes *reinstatement* oder *renewal* aufweist (70). Eine Arbeitsgruppe untersuchte die Extinktion und das *reinstatement* einer CR bei einer mit charakteristischen Schmerzen einhergehenden Erkrankung des Magen-Darm-Traktes (IBS, engl. für *irritable bowel syndrome*) und fand heraus, dass Erkrankte auf einen rektal gesetzten Schmerzreiz mit erhöhtem *reinstatement* der zuvor extinguierten CR reagierten als gesunde Kontrollpersonen (70). Daraus schlussfolgerte sie, dass „Erinnerungs“-US (*reminder*) also vorrangig für „vorbelastete“ Schmerzpatienten ein großes Risiko darstellen, wieder in maladaptive Verhaltensmuster zurückzufallen. Diese Erkenntnis gilt es bei Schmerzpatienten in besonderem Maße zu berücksichtigen, da die im weiteren Lebensverlauf eines Jeden unweigerlich auftretenden Schmerzexpositionen insbesondere für sie die stete Gefahr des Rückfalls in die CR und damit der Schmerzchronifizierung bergen.

3 Material und Methoden

3.1 Tiere und Tierhaltung

Es wurden 40 Weibchen eines Inzuchtstamms von C57BL/6-Mäusen verwendet. 20 Tiere wurden jeweils der Versuchsgruppe mit Stressexposition (S+) vor Fraktur zugeordnet, die andere Hälfte der Kontrollgruppe ohne Stress (S-). Die Mäuse waren zu Beginn der Tests 34 Wochen alt und ihr Durchschnittsgewicht betrug 26,3 g (\pm 2,5 g). In jedem Käfig befanden sich Streu, Cellulose-Papier und graue Plastiktunnel als Versteck. Alle Mäuse hatten Zugang zu Futter und Wasser ad libitum. Im Anschluss an die Fraktur wurden Tunnel und Cellulose-Papier entfernt, um die Dislokationsgefahr des angebrachten Gipses zu reduzieren. Es wurde außerdem angefeuchtetes Futter im Käfig platziert und die Trinkflaschen wurden mit einem langen Halm bestückt, sodass den Tieren Zugang zu Nahrungs- und Wasseraufnahme erleichtert war. Nach der Gipsentfernung wurde die ursprüngliche Käfigausstattung wie vor Fraktur wiederhergestellt. Die Mäuse wurden bei einem Tag/Nacht-Rhythmus von je 12 Stunden und bei konstanter Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit gehalten. Die Tiere der beiden Gruppen unterschieden sich somit nur durch den Stress vor *fear conditioning* (siehe 3.3), dem die Versuchsgruppe ausgesetzt wurde. Die Tiere wurden ansonsten zu exakt gleichen Konditionen gehalten. Sie wurden allen anderen Tests zum jeweils exakt gleichen Zeitpunkt und unter denselben standardisierten Bedingungen zugeführt. Alle Experimente erfüllten die Richtlinien zur Forschung an Tieren des *German Animal Welfare Act 2006* und hielten die Vorgaben des *Committee for Research and Ethical Issues of the International Association for the Study of Pain 1983* ein. Sie wurden von der zuständigen Behörde genehmigt und vom institutseigenen Veterinärmediziner überwacht.

3.2 Stressinduktion in der Versuchsgruppe

3.2.1 Soziale Isolation

Mäuse gelten als soziale Wesen und bevorzugen es, den Käfig mit ihren Artgenossen zu teilen (*group housing*). Daher setzt soziale Isolation, wie die Vereinzelung im Käfig (*single housing*), die Tiere unter Stress. Die Methode ist etabliert, um kontextkonditionierte Angst zu verstärken und kontextabhängige Extinktion zu beeinflussen. In Kombination mit weiteren Stressoren, vor allem mit elektrischen

Fußschocks, eignet sich die soziale Isolation zur Implementierung von chronischem Stress und gilt als Risikofaktor für die Entwicklung einer PTBS in Tiermodellen (74-76). Zu diesem Zweck wurden die Tiere der Versuchsgruppe S+ direkt bei Ankunft in ihre Käfige vereinzelt.

3.2.2 *Tail Suspension*

Im Rahmen der *tail suspension* werden die Tiere über einen gewissen Zeitraum frei hängend an ihrem Schwanz fixiert. Der Versuchsaufbau erfolgt in der Regel so, dass der Untergrund für die Tiere zwar sichtbar, aber unerreichbar bleibt. Diese Anordnung löst in den Mäusen einen Fluchtinstinkt aus. Der Unmöglichkeit des Entkommens geschuldet, erzeugt dies Stress in den Tieren, auf den sie entweder mit aktiven Fluchtversuchen (z.B. Emporklettern am eigenen Schwanz) oder aber (häufig nach mehrfachen frustrierten Fluchtversuchen) mit passiver Immobilität reagieren (77). Die Methode kam innerhalb der Versuchsgruppe zur Anwendung, um eine Stressreaktion zu schüren. Hierzu wurden die 20 Tiere für 6 Minuten mit dem Schwanz an einem Brett in einer Höhe von 50 cm über dem Boden fixiert. Während der sechsminütigen Suspension wurde der Zeitanteil in Sekunden dokumentiert, während dem die Maus unbeweglich an der Vorrichtung hing (*immobility*) (77-79). Die 20 Versuchstiere wurden diesem Experiment an Tag 3 unterzogen.

3.2.3 *Restraint Stress*

Als ein weiterer psychologischer Stressor und Risikofaktor für die Auslösung einer PTBS-Symptomatik hat sich die Methode des sogenannten *restraint stress* etabliert, bei der die Tiere durch räumliche Enge (z.B. in einem Röhrchen) gestresst werden (75, 80, 81). In meinem Experimentaufbau wurden die Versuchstiere (S+) in ein durchsichtiges Cellstar® Zentrifugenröhrchen von 50 ml Volumen (3 cm Durchmesser, 11,5 cm Höhe; Greiner Bio-One Frickenhausen) gepfercht, das mit einem Schraubverschluss verschlossen wurde. Über kleine Löcher, die am Deckel und am spitz zulaufenden Ende der Röhrchen gefräst wurden, erhielten die Tiere genügend Frischluftzufuhr, gleichsam wurde auf diese Weise der Urinabfluss gewährt. Um die Mäuse über einen Griff am Schwanz besser in das Röhrchen manövrieren zu können, wurde ein entsprechend der Höhe des Röhrchens 11,5 cm langer Schlitz gefräst. Dieser wurde mit einem Klebstreifen verschlossen, sobald sich das Tier in der Röhre befand. In dieser beengten Position mussten die Tiere nun für 2 Stunden verharren

(75, 81). Dieses Experiment fand unmittelbar im Anschluss an die *tail suspension* an Tag 3 statt.

3.3 *Fear Conditioning* und Extinktionstraining

3.3.1 Konditionierung

Ein elektrischer Fußschock eignet sich als Stressor (US) zur Auslösung kontextbezogener Angst (*fear conditioning*). Die konditionierte Angst (CR) durch den Schock wird anhand des von den Tieren gezeigten *freezing* (etwa: Bewegungsstarre) messbar, und der Anteil an *freezing* im Beobachtungszeitraum wird zur Quantifizierung zeitlich dokumentiert (50, 82, 83). Hierbei wird der Kontext selbst, wie z.B. die Box, in der der Schock abgegeben wird, zum CS und kann in späteren Versuchen – nachdem die Güte der Konditionierung überprüft wurde – für ein Extinktionstraining verwendet werden (50, 83). Die in diesem Fall verwendete Schockbox der Ausführung TSE Multi Conditioning System (Artikelnummer: 256060-S) des Herstellers TSE Systems (Sitz in Bad Homburg) bestand aus einem 20 x 20 cm großen Gitterboden mit 38 cm hohen Wänden aus durchsichtigem Plexiglas. Der Durchmesser der Gitterstäbe betrug je 4 mm und der Abstand der Stäbe untereinander je 1 cm. Der Gitterboden konnte unter Strom gesetzt werden. Die Schockbox wurde mit 995 Lux beleuchtet. Es wurde kein akustisches Warnsignal oder Hintergrundgeräusch verwendet. Alle Tiere beider Gruppen wurden nacheinander einzeln in die Schockbox gesetzt und konditioniert. Das Konditionsparadigma wurde computerunterstützt mit der Software TSE Fear Conditioning System V9.03 umgesetzt und applizierte der Maus nach 2 Minuten freier Erkundung 3 Stromstöße mit einer Stärke von je 0,3 mA, 1 s und je 20 Sekunden Pause zwischen den einzelnen Schocks. Nach dem letzten Stromschlag verblieb die Maus für weitere 2 Minuten in der Versuchsvorrichtung, während derer die Bewegungsstarre der Maus dokumentiert wurde. *Freezing* wurde definiert als eine völlige Reglosigkeit des Tiers mit Ausnahme von Atemexkursionen. Die Maus befand sich also insgesamt für 5 Minuten in der Schockbox. Während des freien Erkundens innerhalb der ersten beiden Minuten wurde der natürliche Phänotyp (*baseline*) der Tiere bestimmt – also das Ausmaß an Bewegung vor der Angstkonditionierung. Dabei wurde für eine Bewegungsstarre (*freezing*) eine 1 vergeben und eine 0, wenn die Maus sich bewegte. Insgesamt wurden während der 120 Sekunden 20 Werte (x_i) dokumentiert, also nach jeweils 6 Sekunden ein Wert erhoben (1 oder 0). Nach den

Stromschlägen wurde das (veränderte) Bewegungsverhalten in der Schockbox für weitere 2 Minuten protokolliert, auch hier wurden wieder die beiden Werte 1 beziehungsweise 0 und insgesamt 20 Werte innerhalb der 120 Sekunden protokolliert. Aus den Werten wurde je der Mittelwert für das Bewegungsmuster vor und unmittelbar nach Konditionierung der Tiere beider Gruppen gebildet und das *freezing* als Prozentanteil im beobachteten Zeitraum mit der Formel $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ berechnet. Das hier verwendete Protokoll inklusive Zeiten und Schockintensität wurde nach Zusammenschau der etablierten Literatur zum Thema gewählt (84-89). Alle 40 Tiere wurden dem Schockparadigma an Tag 1 der Testreihe zugeführt. Nach jedem Durchlauf wurde die Box mit 70% Ethanol gereinigt.

Tab. 1: Schematische Übersicht über den Ablauf des *fear conditioning*

120 Sekunden	Habituation, Bestimmung der <i>baseline</i> (20 Werte; 0 oder 1)
Schock 1	0,3 mA
20 Sekunden	Pause
Schock 2	0,3 mA
20 Sekunden	Pause
Schock 3	0,3 mA
120 Sekunden	<i>Delay</i> , Bestimmung des <i>freezing</i> (20 Werte; 0 oder 1)

3.3.2 Retrieval

Bevor sich ein Extinktionstraining an das *fear conditioning* anschließen kann, ist es essenziell, die Güte der Konditionierung zu überprüfen. Dies geschieht anhand der Beobachtung der unterstellten Verhaltensänderung der Tiere im Schockkontext, nun jedoch ohne erneute Präsentation des US. Bei Re-Exposition können nun also zwei – eventuell miteinander in Konkurrenz stehende – Prozesse aktiviert werden:

Konsolidierung oder Extinktion der CR (83). Zeigen die Tiere nun vermehrt das ängstliche Verhalten, wie hier z.B. in Form von *freezing*, so rufen sie „erfolgreich“ das Angstgedächtnis vom Vortag ab (sog. *memory retrieval*) (74, 90, 91). Lediglich nach erfolgreicher Konditionierung kann das nach dem Schock gezeigte *freezing* als Referenz zur Beurteilung der Extinktion im Verlauf herangezogen werden. Dabei gilt es darauf zu achten, dass die Ausstattung der Box, als auch sämtliche relevante Umweltfaktoren (bspw. Uhrzeit, Lichtverhältnisse, Geruch, etc.) exakt jenen zum Zeitpunkt der Konditionierung entsprechen, um die maßgebliche Kontextabhängigkeit des CS zu berücksichtigen (84, 92). Im Falle einer erfolgreichen Angstkonditionierung ist anzunehmen, dass sich der Anteil der Tiere in Bewegung, hier wieder objektivierbar durch die Vergabe der beiden Werte 1 für *freezing* und 0 für Bewegung, deutlich von jenem vor Schock unterscheidet (90). Zur Überprüfung dieser Annahme wurde an Tag 2, genau 24 Stunden nach Konditionierung, das Verhalten der Tiere in der Box erneut beobachtet und dokumentiert, jedoch ohne weitere Schockabgabe. Dazu wurden alle Mäuse für 5 Minuten einzeln in die Schockbox gesetzt. Während dieser 300 Sekunden wurden pro Maus in Abständen von je circa 7,5 Sekunden insgesamt 40 Werte (x_i) erhoben. In ihrem Mittel, berechnet über $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$, bildeten diese Werte die beiden Verhaltensausrprägungen Bewegung versus Verharren ab. So konnte im Vergleich zur am Vortag gemessenen *baseline* eine Aussage über den Erfolg oder Misserfolg der Konditionierung getroffen werden. Das *freezing* wurde wieder als Prozentanteil am gesamten beobachteten Zeitraum angegeben. Nach jeder Maus wurde die Schockbox wie bei Konditionierung mit 70% Ethanol gereinigt.

3.3.3 *Reinstatement*

Charakteristisch für die klassische Konditionierung ist ein Wiedereinsetzen der CR im bekannten Schockkontext nach (zumindest teilweise) erfolgter Extinktion, wenn zuvor der CS in abgeschwächter Intensität als Erinnerungsreiz präsentiert wird (sog. *reminder*) (46, 93-95). Dieses erneute Auftreten der CR wird als *reinstatement* bezeichnet. Um das *reinstatement* der CR – hier also des *freezing* der Tiere – zu quantifizieren, wurden alle Mäuse einzeln an Tag 29, also genau 4 Wochen nach Konditionierung, abermals in die Schockbox gesetzt, um ihr Verhalten zu dokumentieren. Auch diesmal wurde der Kontext der Konditionierung an Tag 1 genau abgebildet (Box in gleicher Ausstattung, selbe Uhrzeit, Licht- und Geräuschverhältnisse, etc.). Eine zumindest partiell erfolgte Extinktion der CR musste

allein aufgrund der Zeitspanne von 28 Tagen zwischen Konditionierung und erneuter Exposition als natürlicherweise erfolgt angenommen werden (84, 95). Zunächst wurde während der ersten beiden Minuten in Exposition im Schockkontext das Verhalten dokumentiert, erst danach wurde der *reminder* präsentiert. So konnte im Vergleich zum Bewegungsmuster an Tag 2 (*retrieval*) das Ausmaß an zwischenzeitlich zumindest teilweise erfolgter Extinktion in Form von weniger gezeigtem *freezing* beurteilt werden. Während dieser ersten beiden Minuten wurden im Abstand von je 6 Sekunden 20 Werte (x_i) notiert. Für eine Bewegung der Maus wurde wieder der Wert 0 vergeben, für ein regungsloses Verharren eine 1. Anschließend erfolgte die Applikation des *reminders*, hier ein abgeschwächter Fußschock von 0,2 mA. Danach wurden für 2 Minuten ohne erneute Schockpräsentation weitere 20 Werte (x_i) in selber Art und Weise wie oben beschrieben protokolliert. Das *freezing* wurde wieder als Prozentanteil am gesamten beobachteten Zeitraum angegeben über $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$. Es wurde eine deutliche Zunahme von *freezing* nach dem *reminder* erwartet (93, 95). Nach jeder Maus wurde die Box mit 70% Ethanol gereinigt.

Tab. 2: Schematische Übersicht über den Testablauf zum *reinstatement*

120 Sekunden	<i>Delay</i> ; Quantifizierung der erfolgten Extinktion anhand von <i>freezing</i> im Vergleich zum <i>retrieval</i> an Tag 2 (20 Werte; 0 oder 1)
Schock (<i>reminder</i>)	0,2 mA
120 Sekunden	<i>Delay</i> , Bestimmung des <i>reinstatement</i> der CR (20 Werte; 0 oder 1)

3.3.4 Extinktionstraining

Extinktion beschreibt die Fähigkeit, zusätzlich zu einer vormals akquirierten CS – CR-Verknüpfung eine CS – nicht CR-Verknüpfung zu erlernen und unter bestimmten Bedingungen (vor allem in Abwesenheit des US oder in Anwesenheit von sog. *safety cues*) anzuwenden. Die Inhibition der CS – CR-Verknüpfung steht hierbei unter beträchtlicher kontextueller Kontrolle (83, 96). Der Lernvorgang ist von multiplen und

in ihrer Gänze nicht vollständig verstandenen Faktoren abhängig und gelingt daher unterschiedlich gut bzw. schlecht. Das Ausmaß an Extinktion kann als Ansatz dienen, um eine Neigung zu Resilienz versus Chronizität (wie zum Beispiel Chronifizierung von Schmerzen oder von Angst) zu erklären. Das Extinktionstraining und die Messung von dessen Erfolg bzw. Misserfolg nach mehrtägiger Durchführung bilden die Hauptfragestellung dieser Promotionsarbeit. Um Extinktionslernen zu testen, werden die Tiere mehrmals dem exakt gleichen Kontext wie zum Konditionierungszeitpunkt ausgesetzt, wobei zu keinem Zeitpunkt der konditionierte Reiz erneut dargeboten wird (49, 82, 83, 89). Für das Extinktionstraining wurden also alle Tiere nacheinander an insgesamt 5 aufeinanderfolgenden Tagen in der Schockbox einem CS – nicht US-Setting exponiert. An jedem dieser 5 Tage wurden die Mäuse einzeln zum selben Zeitpunkt und unter gleichen Kontextfaktoren in die Box gesetzt, welche immer dieselbe Ausstattung aufwies wie zu Tag 1 bei Konditionierung. Zu keinem Zeitpunkt erfolgte ein elektrischer Fußschock. An jedem der Tage wurden die Mäuse für 5 Minuten in die Box gesetzt und ihr Verhalten dokumentiert (74, 82). Wie zuvor und unter Anwendung derselben Kriterien wurden die Werte 0 für Bewegung und 1 für *freezing* vergeben. Circa alle 7,5 Sekunden wurden so 40 Werte (x_i) innerhalb der 5 Minuten erhoben. Das *freezing* wurde wieder als Prozentanteil am gesamten beobachteten Zeitraum angegeben und über die Formel $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ berechnet. Nach jedem Tier wurde die Schockbox mit 70% Ethanol gereinigt.

3.3.5 Reizgeneralisierung

Insbesondere bei aversiven Eigenschaften neigt der Mensch - und auch das Tier – dazu, nicht nur auf den CS in seinem ursprünglichen und detailgetreu abgebildeten Kontext mit der CR zu reagieren, sondern auch in einer Umgebung, die diesem lediglich ähnlich ist (88). Die potentielle Reizgeneralisierung kann z.B. im Rahmen von kontextualisierter Angst über kleinere Veränderungen der Raumausstattung untersucht werden (97, 98). In diesem Fall wurde die den Tieren bekannte Ausstattung der Schockbox verändert. Der Gitterboden wurde mit einer weißen Kunststoffplatte bedeckt und anstelle des rechteckigen Aufsatzes mit den durchsichtigen Plexiglasscheiben wurde ein runder Aufsatz (Durchmesser 20 cm) mit einer Wand (Höhe 38cm) aus durchsichtigem Plexiglas angebracht. Außerdem wurde das Licht in der Box ausgeschaltet. Auf diese Art wurde ein neutralerer Kontext geschaffen. Alle Tiere der Versuchs- und Kontrollgruppe wurden zusätzlich im Anschluss an das dritte

Extinktionstraining an Tag 32 einem Test auf Reizgeneralisierung unterzogen. Dazu wurden sie einzeln für je 5 Minuten in die auf oben beschriebene Weise veränderte Schockbox gesetzt. Während dieser Zeit wurden wie auch beim Extinktionstraining circa alle 7,5 Sekunden insgesamt 40 Werte (x_i) protokolliert, wobei wie bekannt die Werte 0 für Bewegung und 1 für *freezing* der Mäuse vergeben wurden. Der Mittelwert an Bewegung wurde erneut mit der Formel $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ berechnet, sowie das *freezing* wieder als Prozentanteil am gesamten beobachteten Zeitraum angegeben. Nach jedem Durchgang wurde die Box mit 70% Ethanol gereinigt.

3.3.6 *Renewal*

Als *renewal* wird das Wiederauftreten der CR in einem anderen, also dem Extinktionslernen unterschiedlichen Kontext, bezogen auf Situation, Umgebung oder Zeit, verstanden (89, 99). Das *renewal* der CR nach Präsentation eines abgeschwächten *reminder*-US in einem anderen (hier: zeitlichen) Kontext wie dem des Extinktionstrainings liefert wichtige Hinweise darauf, dass Extinktion nicht zu einer Auslöschung der CS – CR-Verknüpfung führt (96). Da in hiesigem Fall das *renewal* an Tag 48, also 47 Tage nach *fear conditioning* getestet wurde, konnte von einem anderen zeitlichen Kontext ausgegangen werden (100). Der Test erstreckte sich über 2 Tage, wobei am ersten Tag erneut ein *reminder* präsentiert wurde und erst am zweiten Tag die eigentlichen Werte für das *renewal* der CR ermittelt wurden. Am ersten der beiden Tage wurden alle Tiere einzeln in die Schockbox gesetzt, die in ihrer Ausstattung und ihren Kontextfaktoren (Licht, Geräuschpegel, Uhrzeit) nun wieder denen zum Zeitpunkt der Konditionierung an Tag 1 entsprach. Während der ersten 2 Minuten wurden auf bekannte Art wieder in etwa sechssekündlichem Abstand insgesamt 20 Werte (x_i) erhoben, um das Verhalten der Maus (nach mittlerweile abgeschlossenem Extinktionstraining) zu erfassen (0 = Bewegung; 1 = *freezing*). Im Anschluss an diese 120 Sekunden erfolgte die Applikation des *reminder*-Fußschocks mit einer Intensität von 0,2 mA, 1 s. Die Tiere verblieben im Anschluss für weitere 30 Sekunden in der Schockbox, wobei kein weiterer Schock erfolgte und keine weiteren Werte protokolliert wurden. Nach jedem Tier wurde die Box mit 70% Ethanol gereinigt. An Tag 2 des Tests wurden nun die Werte für das *renewal* der CR aufgezeichnet. Dazu wurden alle Mäuse nacheinander einzeln für 5 Minuten in der Schockbox mit gleicher Ausstattung und unter gleichen Kontextfaktoren wie am Tag zuvor platziert. Es erfolgte zu keiner Zeit ein erneuter Fußschock. Während der 5 Minuten wurde circa alle 7,5

Sekunden ein Wert (0 = Bewegung, 1 = freezing) für das Verhalten der Mäuse notiert, sodass sich pro Maus insgesamt 40 Werte (x_i) summieren, aus denen sich das *freezing*-Verhalten über $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ berechnen ließ und als Prozentanteil am gesamten beobachteten Zeitraum angegeben wurde. Wie auch zuvor wurde nach jedem Tier die Schockbox mit 70% Ethanol gereinigt.

Tab. 3: Schematischer Ablauf des Tests auf *renewal*

Tag 1	120 Sekunden <i>Delay</i> , Dokumentation Verhalten (20 Werte; 0 oder 1)
	Schock (<i>reminder</i>) mit 0,2 mA
	30 Sekunden <i>Delay</i> (keine Werte)
Tag 2	300 Sekunden <i>Delay</i> , kein erneuter Schock Bestimmung des <i>renewal</i> der CR (40 Werte; 0 oder 1)

3.4 Fraktur und postoperative Versorgung

Allen Tieren beider Gruppen wurde an Tag 4 die rechte Tibia geschlossen frakturiert, um so Frakturschmerzen, sowie die sich üblicherweise an das Trauma anschließenden Heilungsprozesse auszulösen (101-103). Eine Tibiafraktur ist ein etabliertes Modell zur Auslösung eines CRPS im Tier und angelehnt an die distale Radiusfraktur als häufigsten Auslöser beim Menschen (102-105). Ziel der Fraktur war also die Auslösung von chronischen Schmerzen, vergleichbar mit denen im Rahmen eines CRPS. Zunächst wurden die Tiere in eine durchsichtige Box gesetzt, in die dann langsam ein Narkotikum über einen Verdampfer (Modell Vapor® 19.1 der Firma Dräger, Sitz in Lübeck) einfließt. Hier verwendet wurde ungefähr 2% Isofluran, die exakte Dosierung erfolgte körperrgewichtsadaptiert (102-104, 107). Sobald das Tier eingeschlafen war, wurde es auf einem beheizten stereotaktischen Tisch platziert und die Box nach jedem Tier mit 70% Ethanol gereinigt. Über die Vorderzähne wurde die Maus mit ihrer Schnauze in einen vom Vapor abführenden Schlauch eingespannt. Mithilfe eines Dreiwegehahns konnte der Zufluss des Narkotikums von der Box auf

diesen Schlauch umgeschaltet werden, sodass zielgerichtet das Isofluran und auch Sauerstoff anfluten konnte. Der Sauerstoff wurde mit einem Flow von circa 5 l/min zugeführt. Die Atmung der Tiere (z.B. Frequenz, Tiefe der Atemzüge, etc.) wurde während der Operation kontinuierlich überwacht und – falls nötig – der Zufluss des Isoflurans angepasst. Vor Beginn des Eingriffs wurde über Testung von Reflexantworten sichergestellt, dass bei der betreffenden Maus eine adäquate Sedierung vorlag. Sobald die Reflexe nicht mehr auslösbar waren, konnte eine ausreichende Narkotisierung angenommen und der Eingriff begonnen werden. Zunächst wurden bei jeder Maus Dicke und Temperatur beider Hinterpfoten auf unter 3.7.3 und 3.7.4 näher beschriebene Art und Weise gemessen (103, 104). Vor Fraktursetzung wurde zuerst die rechte Tibia mit einem Tuch umwickelt, mit dem Ziel, einen offenen Bruch zu vermeiden (102). Anschließend wurde durch Ansetzen einer kleinen Zange in der Mitte der Diaphyse der rechten Tibia und mit einer leichten Hebelbewegung der Knochen der Maus frakturiert (102-104, 108). Nach erfolgreich erzeugtem Bruch wurden Bein und auch Fuß in einem Gips versorgt. Dabei wurden Oberschenkel, Unterschenkel und Fuß in je 90° gewinkelter Stellung zueinander durch Anlegen und Verbinden einzelner manuell zurecht geschnittener Gipsschlingen fixiert. Es wurde insbesondere darauf geachtet, den Gips trotz ausreichend enger Fixierung am Fuß nicht zu fest anzulegen, um Verwachsungen zwischen Haut und Gips bei postoperativer ödematöser Anschwellung der Extremität zu vermeiden. Der Gips wurde zum Schluss mit einer Schlinge um das Abdomen des Tieres fixiert, um so einen festen und längerfristigen Sitz sicherzustellen (102-104). Zur unmittelbaren Frakturachsorge wurden noch während des Eingriffs das Analgetikum Buprenorphin (Dosierung 0,05 mg pro kg Körpergewicht), das Antibiotikum Enrofloxacin (Dosierung 5 mg pro kg Körpergewicht), sowie 0,5ml einer 0,9% Kochsalzlösung jeweils subkutan appliziert (102-104, 110). Zur Narkoseausleitung wurde unter fortgeführter Sauerstoffzufuhr der Zufluss des Isoflurans reduziert und schließlich gänzlich beendet. Hiernach wurden die Mäuse jeweils einzeln in ihre Käfige zurückgesetzt. Ab diesem Zeitpunkt saßen also auch alle Tiere der Kontrollgruppe vereinzelt. Aus den Käfigen waren zuvor das Tunnelröhrchen und das Cellulose-Papier entfernt worden, damit sich die Maus bei Fortbewegung im Käfig nicht hieran akzidentell den Gips dislozieren oder gar abstreifen konnte. Die Trinkflaschen wurden mit einem längeren Trinkhahn versehen und angefeuchtetes Futter direkt im Käfig platziert, um Flüssigkeits- und Nahrungsaufnahme postoperativ zu erleichtern. Der Käfig wurde direkt nach der Prozedur auf einer Heizplatte platziert, wo das Tier noch für circa 30 min

nachbeobachtet wurde (107). Anschließend wurden die Käfige wieder in ihr Gestell geschoben. 12 und 24 Stunden nach der Operation wurde jeder Maus erneut das Opioid Buprenorphin in oben genannter Konzentration verabreicht (104, 109). Die Tiere verweilten insgesamt 21 Tage (Tag 4 bis Tag 25) im Gips und wurden während dieser Zeit keinerlei weiterer Experimente unterzogen. Im Falle einer Gipsdislokation während der ersten beiden Wochen nach Fraktur, wurde dieser unter Narkose (Ablauf wie bei Frakturierung) neu angelegt; bei Gipsdislokation nach Ablauf dieser zwei Wochen wurde auf eine Neuanlage verzichtet. Dennoch wurden alle Tiere – ob mit noch anliegendem oder ohne Gips - an Tag 25, also genau 21 Tage nach Fraktur, erneut narkotisiert (Ablauf wie bei Frakturierung), um gegebenenfalls den Gips zu entfernen und um bei allen Mäusen erneut Dicke und Temperatur an beiden Hinterpfoten zu messen (102-104, 110). Auch die Narkoseausleitung und Platzierung auf der Heizplatte erfolgten wie bei Frakturierung. Es wurden jedoch keine Medikamente mehr verabreicht. Der Käfig wurde als Vorsichtsmaßnahme noch im Zustand wie nach Fraktur belassen (also ohne Cellulose-Papier und Tunnel), um das Verletzungsrisiko zu senken. Zwei Mäuse (ein Versuchstier sowie ein Kontrolltier) verstarben zwischen Tag 4 und Tag 25.

3.5 Sensibilitätstestungen

3.5.1 Von Frey Haar Test

Mithilfe von Nylonfilamenten, sog. von Frey Haaren, kann die mechanisch-taktile Wahrnehmungsschwelle getestet werden und anhand von Mehrfachmessungen zu verschiedenen Zeitpunkten ein Verlauf dargestellt werden (102, 111, 112). Bei Menschen, welche an einer chronisch-neuropathischen Schmerzerkrankung wie dem CRPS leiden, wird dieser Test häufig im Rahmen einer sog. quantitativen sensorischen Testung (QST) angewandt und dient der Untersuchung mechanischer Allodynie (schmerzhaft empfundene Wahrnehmung eines üblicherweise schmerzlosen Reizes) (111). In diesem Experiment wurden die Ästhesiometer des Herstellers DanMic Global, LLC (Sitz in San Jose, Kalifornien, USA), Modell Aesthesio® (Artikelnummer 514000-20C), Evaluator Size 1.65-6.65, verwendet. Die einzelnen Haare wurden dabei allen Mäusen je zu drei verschiedenen Zeitpunkten (Tag 0 zur Ermittlung einer Ausgangssensibilität, Tag 28 zur Ermittlung der Schwelle nach Fraktur und Tag 90 zur Ermittlung eines Abschlusswertes und Verlaufsdarstellung) auf beide Hinterpfoten aufgesetzt, bis sich das Filament unter dem Druck leicht bog. Die Reaktion der Tiere

auf diesen Druck wurde dokumentiert (102, 103). Hierzu wurden die Mäuse in durchsichtige Kunststoffboxen mit den Maßen 10 x 10 cm Grundfläche und 13,5 cm Wandhöhe gesetzt, die mit einem luftdurchlässigen Deckel verschlossen wurden. Die Kunststoffboxen waren auf einem Gittergestell (Modell 37000-003 Base Platform, Ugo Basile, Sitz in Varese, Italien) angebracht. Durch ausgestanzte Quadrate im Gitterboden (Größe der Löcher: 0,25 cm²) wurden die von Frey Haare für je 5 Sekunden auf die Hinterpfoten gedrückt (102, 104). Zielgröße war nur eine gezielte Abwehrreaktion des Tiers auf den Reiz, ungerichtete Bewegungen der Mäuse innerhalb der Box wurden nicht gewertet. Als Sensibilitätsschwelle wurde diejenige Stärke eines von Frey Haars notiert, bei der die Maus dreimal eine Reaktion in Form von Wegziehen oder Lecken der Pfote zeigte (102, 103). Um die entsprechende Schwelle sicher zu identifizieren, wurden die Haare in aufsteigenden Kraftabstufungen verwendet, sowie bei jeder positiven Reaktion wieder die nächst niedrigere Stufe getestet, um eine inzidentell bei dieser Stärke übersehene Reaktion auszuschließen (sog. *up-down* Methode nach Dixon) (104, 112, 113). Nach Verschwinden der Reaktion wurde das nächst stärkere von Frey-Haar wieder appliziert bis eine Reaktion detektiert wurde und so die Schwelle dreimal angenähert. Der auf diese Weise ermittelte Schwellenwert wurde notiert. Im Gruppen- und Seitenvergleich, sowie im zeitlichen Verlauf konnten so die Auswirkungen von Fraktur und Stress auf die Empfindlichkeit gegenüber mechanischer Stimulation beurteilt werden (114). Nach jedem Tier wurden Box und Gitterboden mit 70% Ethanol gereinigt.

3.5.2 *Cold Water Test*

Mit dem *cold water test* kann die die Unbehaglichkeitsschwelle für Kältereize getestet werden (115). Wie der von Frey Haar Test, ist die Untersuchung der Temperaturempfindlichkeit standardmäßig Teil der QST (111). Auch hier wurden alle Mäuse in die durchsichtigen Kunststoffboxen auf dem Gitterboden gesetzt. Die einzelnen Versuche fanden ebenfalls dreimal an denselben Tagen (Tag 0, Tag 28, Tag 90) und jeweils im Anschluss an den von Frey Haar Test statt. Es wurden in ein Becherglas Leitungswasser und Eiswürfel eingefüllt und das kalte Wasser daraus in einer Spritze aufgezogen. Durch die ausgestanzten Quadrate des Metallbodens wurde mithilfe der Spritze je dreimal nacheinander ein Tropfen eiskaltes Wasser auf beide Hinterpfoten des jeweiligen Tiers appliziert (115, 116). Anhand der Stärke der gezielten Abwehrreaktion der Maus, wurde zwischen den Werten 0, 1 und 2 unterschieden.

Dabei wurde eine 0 bei fehlender Reaktion, eine 1 bei gezieltem Wegziehen der Pfote, und eine 2 bei einer besonders starken Reaktion, wie etwa dem Lecken oder Schütteln der Pfote, vergeben. Auf diese Art wurden 3 Werte (x_i) erhoben und ihr Mittelwert als $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ berechnet. Nach jedem Tier wurden Box und Gitterboden mit 70% Ethanol gereinigt. An den Tagen 28 und 90 wurde der *cold water test* um die Applikation von Wasser mit Raumtemperatur erweitert, um auf eine schmerzhaft Perzeption eines neutralen Reizes hin zu untersuchen, welchen die Maus eigentlich nicht als unangenehm empfinden sollte. So konnte die Ausprägung einer Allodynie beurteilt werden. Um das Ergebnis nicht zu verfälschen, wurde dieser Test an den entsprechenden beiden Tagen vor der dreimaligen Applikation des Eiswassers untersucht, damit die Tiere nicht bereits zuvor durch das kalte Wasser sensibilisiert waren. Bei einer gezielten Reaktion der Maus auf das Wasser, wurde der Wert 1 vergeben und eine inadäquate Abwehrreaktion – hinweisend auf eine Allodynie - angenommen. Erfolgte keine Reaktion auf die Applikation, so wurde der Wert 0 notiert und das Vorliegen einer Allodynie als unwahrscheinlich betrachtet. Nach jeder Maus wurden Box und Gitterboden mit 70% Ethanol gereinigt.

3.6 Gewicht, Temperatur und Fußdicke

3.6.1 Gewicht

Um eine Übersicht über die Auswirkungen der einzelnen Experimente auf den Gewichtsverlauf der Tiere zu erhalten, wurden alle Tiere zu mehreren Zeitpunkten der Testreihe gewogen. Dazu wurde eine Laborwaage, Typ Sartorius Extend, Modell ED153-CW des Herstellers Sartorius (Sitz in Göttingen) verwendet. Die Ablesbarkeit dieser Waage betrug 1 mg. Messzeitpunkte waren jeweils zu Versuchsbeginn (Tag 0), bei Entfernung des Gipses (Tag 25), sowie vor und nach dem *sucrose preference test* (Tag 50 und Tag 53).

3.6.2 Temperaturmessung

Unmittelbar vor Fraktur an Tag 4, sowie an Tag 25 bei Entfernung des Gipses, wurde jeweils unter Narkose die Temperatur beider Hinterpfoten aller Mäuse gemessen. Dabei wurden mit einem Thermometer des Herstellers Physitemp Instruments Inc. (Modell physitemp BAT-12, Sitz in Clifton, New Jersey, USA), pro Seite 6 Temperaturwerte (x_i) im Zwischenzehenraum der Mäuse gemessen, um einen

aussagekräftigen Mittelwert zu erhalten und so den Verlauf der Frakturheilung einschätzen zu können (103, 104). Der Mittelwert wurde je errechnet über $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$. Insbesondere weil sich die Temperaturmessung bei manueller Fixierung der Tiere oft als schwierig erweist, wurde die Temperatur am soeben narkotisierten Tier gemessen. Dabei erfolgten die Messungen stets als erste Maßnahme vor weiterer Manipulation (Frakturierung bzw. Gipsentfernung), damit ein relevantes Abkühlen der Tiere vor Messstart vermieden werden konnte. Außerdem wurde je abwechselnd an der linken bzw. rechten Hinterpfote im selben Zwischenzehenraum gemessen, um einen relevanten systematischen Fehler durch den Seitenvergleich zu vermeiden (103).

3.6.3 Fußdicke

In Analogie zur Temperatur, wurde die antero-posteriore Fußdicke jeweils vor Fraktur an Tag 4 und bei Gipsentfernung an Tag 25 an beiden Hinterpfoten mittels eines Messschiebers (Hersteller Mauser, Sitz in Isny) manuell gemessen. Der entsprechende Wert wurde auf einer Nonius-Skala abgelesen und in Millimetern notiert. So konnte die Auswirkung der Fraktur z.B. im Rahmen einer Schwellung der Extremität im Seitenvergleich beurteilt werden (117). Aus denselben Gründen wie bei Messung der Temperatur, wurde auch die Pfootendicke am narkotisierten und dadurch immobilisierten Tier gemessen.

3.7 Stressevaluation

3.7.1 *Social Interaction Test*

Der *social interaction test* untersucht, inwiefern ein Tier in einer neuen, neutralen Umgebung in soziale Interaktion mit einem Fremdtier tritt (86, 118). Er soll die menschlichen Verhaltensweisen soziales Interesse versus sozialen Rückzug abbilden. In den meisten Fällen ist das fremde Tier ein Junges, in der Annahme, dass sich die adulte Maus von einem Jungtier weniger bedroht fühlt und ihm daher weniger ängstlich begegnet als einer anderen, ebenfalls adulten Maus (118). Um Revierverhalten weitestgehend zu unterbinden, wird eine für beide Tiere neue Umgebung gewählt (*novel cage*) (118). In meinem Testaufbau wurden nacheinander alle Mäuse beider Gruppen je mit einem fremden Jungtier in einen neuen Käfig gesetzt und ihre Interaktion für 3 Minuten beobachtet und dokumentiert. Im Käfig befanden sich lediglich die den Tieren bekannte Streu, jegliche andere Ausstattung (Trinkflasche,

Futter, Tunnel, Cellulose-Papier) war im Vorfeld entfernt worden. In der Auswertung des Experiments wurde zwischen aktivem und passivem Interagieren unterschieden (119, 120). Als *interaction* wurde nur das aktive Beschnüffeln des Jungtiers durch das Versuchs- beziehungsweise Kontrolltier gewertet. Umgekehrt wurde das Beschnüffeln der adulten Maus durch das Jungtier jedoch nicht als *interaction* gewertet. Es wurde in beiden Gruppen während des dreiminütigen Experiments die Zeit der Interaktion in Sekunden gestoppt (86). Scharaktivitäten der Tiere wurden ebenfalls berücksichtigt.

3.7.2 Hole Board Test

Der *hole board test* ist ein Verhaltensexperiment und dient der Analyse des Explorationsverhaltens von Testtieren in einer unbekanntem Umgebung (121). Das *hole board* ist ein in genauem Aufbau und Maßen variierbares Brett, in welches vier bis sechzehn Löcher eingelassen sind, die vom Tier erkundet werden können (122). Der Versuch kann aufgrund der zusätzlich angebrachten Löcher als Modifikation des *open field test* angesehen werden (120). Das *hole board* bietet den Vorteil, dass die Exploration der unbekanntem Umgebung als tatsächliche Zielgröße besser objektivierbar ist, da zwischen Explorationsverhalten und Lokomotion unterschieden werden kann (122). Lokomotion als Voraussetzung für Erkundungsverhalten wie beim *open field test* kann unter bestimmten Umständen (wie hier bei Zustand nach Fraktur) die eigentliche Zielgröße „Exploration“ konfundieren. In diesem Fall war das *hole board* ein 40 x 40 cm großes, quadratisches weißes Brett mit weißen, 30 cm hohen Wänden zu allen Seiten. In den Boden waren 4, jeweils 2 cm durchmessende Löcher eingebracht, die in den Ecken des Bretts angeordnet und von den Wänden je 11,5 cm entfernt waren. Da die Mäuse aufgrund des frakturierten Beins in ihrer Fortbewegung im Zweifel eher eingeschränkt waren, galt es als anzunehmen, dass sie das Bein schonen und in einem Versuchsaufbau wie dem *open field test* eher nicht die Mitte des Bretts aufsuchen würden. Durch die Anordnung der Löcher in den Ecken des *hole board* war es nicht nötig, dass die Mäuse die gesamte Strecke in das Zentrum des Bretts zurücklegen, d.h. die eingeschränkte Lokomotion wurde als Störfaktor weitestgehend ausgeschaltet. Alle Mäuse wurden nacheinander einzeln in das Zentrum des *hole board* gesetzt, von wo aus die Exploration der Löcher zu bewerkstelligen war (123, 124). Anschließend wurden während eines Zeitraums von 5 Minuten das Verhalten beobachtet, sowie die Messgrößen *latency to first head-dip* und *total number of head-dips* bestimmt (123, 124). Es wurde also zum einen die Latenz

in Sekunden gemessen, nach der die Maus ihren Kopf zum ersten Mal in eines der Löcher gesteckt (*head-dip*) und dieses erkundet hat (wobei nicht zwischen den einzelnen Löchern unterschieden wurde), sowie die Gesamtanzahl der *head-dips* während der 5 Minuten gezählt (wobei nicht zwischen den einzelnen Löchern unterschieden wurde). Als *head-dip* wurde das Verschwinden des Kopfes inklusive der Ohren im Loch gewertet (123). Ziel war es, festzustellen, ob sich die Versuchs- und Kontrollgruppe in ihrem Explorationsverhalten unterscheiden, und so den induzierten Stress vor Fraktur objektivierbar machen zu können. Nach jedem Durchgang wurde das *hole board* mit 70% Ethanol gereinigt.

3.7.3 *Sucrose Preference Test*

Mit dem *sucrose preference test* kann das Vorliegen von Anhedonie (in etwa: Unfähigkeit, Freude oder Lust zu verspüren) untersucht werden. Anhedonie ist ein häufiges Symptom in PTBS-Patienten (125, 126). Hierbei wird das Tier mit zwei unterschiedlichen Optionen (Zuckerwasser versus Leitungswasser) konfrontiert, von denen eine normalerweise deutlich attraktiver ist, und im Anschluss untersucht, ob sich das Tier wie anzunehmen tatsächlich für den salienten Reiz entscheidet (in der Regel das Zuckerwasser). Zur Einordnung der Volumina liegen Daten vor, nach denen der Anteil der konsumierten Zuckerlösung am Gesamtvolumen der aufgenommenen Flüssigkeit im Normalfall um etwa 80-90% liegt (79, 126). Fällt diese Entscheidung nicht eindeutig zugunsten einer der beiden Optionen aus, so kann ein anhedonischer Gemütszustand diskutiert werden. Der zeitliche Rahmen dieses Experimentes erstreckte sich hier über 3 Tage. Während dem Test waren zu jeder Zeit 2 identisch aussehende Trinkflaschen A und B am Käfig der Mäuse angebracht, mit Zugang *ad libitum*. Die eine Flasche enthielt gewöhnliches Leitungswasser, so wie es die Tiere kannten. Die andere Flasche enthielt eine 2% Zuckerlösung (79, 126). An den ersten beiden Tagen wurden keine Daten über das Trinkverhalten der Mäuse erhoben und beide angebrachten Flaschen enthielten nur normales Leitungswasser. Sie dienten lediglich zur Habituation der Tiere an die neue Ausstattung des Käfigs mit zwei Trinkflaschen (125, 126). An Tag 3 des Experiments wurde eine der beiden Flaschen gegen die Zuckerlösung ausgetauscht und die Phase der Datenerhebung begonnen. Es wurden jeweils die Flasche mit Leitungswasser und die Flasche mit der Zuckerlösung gewogen, um von beiden Flüssigkeiten einen Ausgangswert zu erhalten. Zwei Mal am Tag wurden die beiden Flaschen in ihrer Position getauscht, um zu verhindern, dass die Mäuse systematisch eine bestimmte Seite bevorzugen (*position*

bias), und sicher zu gehen, dass sie die eine Flüssigkeit der anderen aus tatsächlicher Geschmackspräferenz vorziehen (79, 125, 126). Nach 12 Stunden also wurden die Flaschen wie oben beschrieben in ihrer Position vertauscht und nach weiteren 12 Stunden, insgesamt also 24 Stunden nach Messbeginn, wurden jeweils beide Flaschen wieder gewogen und so die Gesamtmenge an getrunkenen Flüssigkeit (Wasser und Zuckerlösung) pro Maus, sowie die Menge der konsumierten Zuckerlösung separat ermittelt. Anhand dieser beiden Werte wurde der Anteil an Zuckerlösung an der gesamten Flüssigkeitsaufnahme berechnet als $100 \times Vol_A \div (Vol_A + Vol_B)$, was die Präferenz der Mäuse für die jeweilige Flüssigkeit abbildet (*sucrose preference*) (79). Im Zuge der Auswertung wurde insbesondere auf Unterschiede zwischen der gestressten Versuchsgruppe und der ungestressten Kontrollgruppe geachtet. Auch das Gewicht der Mäuse wurde vor und nach dem Experiment gemessen (125, 126).

Tab. 4: Versuchsaufbau des *sucrose preference test*

Tag 1	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Stunde 0: Anbringen der Flaschen 1 und 2 (beide mit Leitungswasser) ➤ Nach Stunde 12: Tausch der Flaschen
Tag 2	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nach Stunde 24: Tausch der Flaschen ➤ Nach Stunde 36: erneuter Tausch
Tag 3	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nach Stunde 48: Beginn der Datenerhebung <ul style="list-style-type: none"> ○ Flasche 1 mit Leitungswasser, Flasche 2 nun mit Zuckerlösung ○ Wiegen der Flaschen ○ Tausch der Flaschen ➤ Nach Stunde 60: erneuter Tausch ➤ Nach Stunde 72: Ende der Datenerhebung <ul style="list-style-type: none"> ○ Wiegen der Flaschen

3.7.4 *Forced Swim Test*

Im Rahmen des *forced swim test* wird das zu untersuchende Tier in ein Behältnis mit Wasser gesetzt wird, welches es nicht (z.B. über die seitliche Begrenzung) verlassen kann (127, 128). Während der Testzeit muss sich das Tier also zumindest mithilfe minimaler Schwimmbemühungen über Wasser halten. Mit dem *forced swim test* kann auf Vorhandensein depressiver Symptomatik, wie sie beispielsweise im Rahmen einer PTBS häufig begleitend vorkommt, getestet werden (120, 125, 127). Das hier als Behältnis verwendete durchsichtige Becherglas hatte einen Durchmesser von 18 cm bei einer Höhe von 24,5 cm. Es wurde mit 4,5 l Leitungswasser bis 5 cm unter den Rand befüllt, sodass sichergestellt war, dass die Maus den Boden nicht mit ihren Pfoten berühren und auch nicht über den Rand klettern konnte (127, 128). Das Wasser wurde zunächst eine Stunde im Becherglas stehen gelassen, sodass sich eine konstante Temperatur einstellen konnte. Bei vier Kontrollmessungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten ergab sich eine mittlere Wassertemperatur von 29,3 °C ($\pm 0,81$ °C) während des Experiments. Die Tiere beider Gruppen wurden nacheinander in das Wasser gesetzt, wobei sie zunächst 30 Sekunden zur Akklimatisation an das Wasser erhielten, während derer keine Daten erhoben wurden (127). Im Anschluss an die Gewöhnungsphase wurde für 5 Minuten das Verhalten der Tiere protokolliert, wobei verschiedene Bewältigungsstrategien (Coping) der Mäuse erfasst wurden (129). Unterschieden wurde zwischen aktivem Coping, bspw. in Form von *swimming* und *struggling*, sowie im Gegensatz dazu passivem Treiben im Wasser (*floating*) (129). Es wurden während der Versuchsdauer von 5 Minuten jeweils zwei Zeitwerte gemessen: Die Latenz bis zum ersten Treiben im Wasser (*latency to first floating*), sowie die Gesamtzeit, in der sich das Tier im Wasser treiben ließ (*floating time*) (127, 128). Die Mäuse befanden sich also für 5,5 Minuten im Wasser, wobei nur während der letzten 5 Minuten ihre Aktivität protokolliert und ausgewertet wurde. Dabei wurde *floating* als jener Zustand definiert, bei dem die Maus näherungsweise reglos im Wasser trieb mit Ausnahme von Bewegungen, um den „Körper zu balancieren und den Kopf über Wasser zu halten“ (127). Dieser passive Zustand wurde als Hinweis auf eine depressive Symptomatik interpretiert. Der Test diente der Beurteilung der Bewältigungsstrategien im Gruppenvergleich, um so die Folgen der Stressinduktion vor Fraktur in der Versuchsgruppe zu objektivieren.

3.8 Zeitlicher Ablauf der Experimente

Tab. 5: Zeitplan der Experimente

Zeitplan; Tage in Klammern gezählt nach Fraktur	Procedere
Tag 0	Gewicht 1, Von Frey Haar Test 1, <i>cold water test</i> 1
Tag 1	<i>fear conditioning</i>
Tag 2	<i>retrieval</i>
Tag 3	In der Versuchsgruppe: <i>tail suspension, restraint stress</i>
Tag 4	Temperatur 1, Fußdicke 1, Fraktur
Tag 5 (1)	Frakturachsorge mit Analgetikum
...	
Tag 25 (21)	Gipsentfernung, Temperatur 2, Fußdicke 2, Gewicht 2
Tag 28 (24)	Von Frey Haar Test 2, <i>cold water test</i> 2 + Erweiterung 1
Tag 29 (25)	<i>reminder</i> 1, <i>reinstatement</i>
Tag 30 (26)	Extinktionstraining 1
Tag 31 (27)	Extinktionstraining 2
Tag 32 (28)	Extinktionstraining 3, Reizgeneralisierung

Tag 33 (29)	Extinktionstraining 4
Tag 34 (30)	Extinktionstraining 5
...	
Tag 47 (43)	<i>reminder 2</i>
Tag 48 (44)	<i>renewal</i>
Tag 49 (45)	<i>hole board test</i>
Tag 50 (46)	<i>social interaction test, Gewicht 3, Beginn sucrose preference test</i>
Tag 51 (47)	Beginn Datenerhebung <i>sucrose preference test</i>
Tag 52 (48)	Ende Datenerhebung <i>sucrose preference test</i> , Gewicht 4
Tag 53 (49)	<i>forced swim test</i>
...	
Tag 90 (86)	Von Frey Haar Test 3, <i>cold water test 3 + Erweiterung 2</i>

3.9 Statistische Auswertung

Alle Daten wurden mit der Software IBM® SPSS® Statistics 23 V5 ausgewertet. Es wurde für alle Tests ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ zu Grunde gelegt. Tests auf Normalverteilung wurden mit dem Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Bei $p > 0,05$ wurde die Nullhypothese, dass die Daten normalverteilt sind, beibehalten. Die Homogenität der Varianzen wurde mit dem Levene-Test überprüft. In SPSS® Statistics ist er Teil der Ausgabe einer einfaktoriellen ANOVA. Bei $p > 0,05$ wurde die Nullhypothese, dass Varianzhomogenität der Daten vorliegt, beibehalten. Im Falle normalverteilter Daten wurde zum Vergleich der Mittelwerte ein T-Test durchgeführt, im Gruppenvergleich für unabhängige Stichproben bzw. innerhalb derselben Gruppe für gepaarte Stichproben. Lagen nicht-normalverteilte Daten vor, so wurden die Mittelwerte mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test für unabhängige bzw. Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben verglichen. Bei $p < 0,05$ wurde die

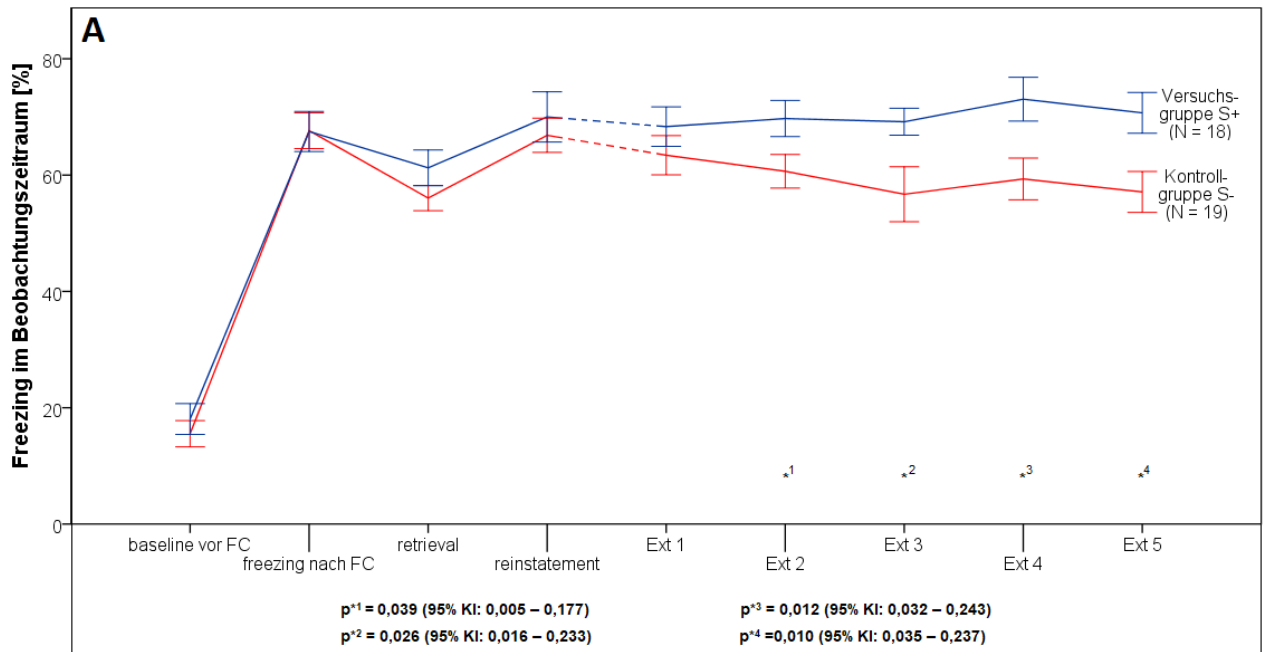
Nullhypothese, dass es keinen Unterschied zwischen den Gruppen gibt, verworfen und ein Unterschied von statistischer Signifikanz auf dem Niveau $\alpha = 0,05$ angenommen. Zur Auswertung des fünftägigen Extinktionstrainings wurde zusätzlich ein lineares Regressionsmodell verwendet. Es wurde – wie oben bereits erwähnt – ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ festgesetzt, dementsprechend wurde bei $p < 0,05$ ein Ergebnis als statistisch signifikant interpretiert. Die Extinktionsleistung sollte als abhängige Variable anhand der unabhängigen Variablen Gruppenzugehörigkeit (Versuchs- vs. Kontrollgruppe) und dem Messzeitpunkt (Tag des Extinktionstrainings) erklärt werden. Hierzu wurde folgende Gleichung aufgestellt:

$$\text{Extinktion} = \alpha + \beta_1 * \text{Gruppe} + \beta_2 * \text{Tag d. Extinktionstrainings}$$

In dieser Formel ist α die Konstante für das gezeigte *freezing* zu Beginn des Experiments, während β_1 und β_2 als Koeffizienten den Einfluss von Gruppenzugehörigkeit und Tag des Trainings an der Extinktionsleistung schätzen sollen. In allen Diagrammen ist – falls nicht eindeutig anders gekennzeichnet - der Mittelwert der jeweiligen Zielgröße \pm SEM (entspricht den Whiskers) dargestellt. Signifikante Gruppenunterschiede bei $p < 0,05$ wurden in den Grafiken mit * markiert.

4 Ergebnisse

Hauptfragestellung: Extinktion einer *Fear Conditioned Response*



B

Lineares Regressionsmodell

Abhängige Variable: Freezing im Beobachtungszeitraum [%]
Unabhängige Variablen: Gruppe (S+ / S-), Tag der Extinktion

R ²	Korrigiertes R ²	Standardfehler
0,119	0,109	14,819

Koeffizienten

	Regressionskoeffizient β	Standardfehler	Signifikanz
Konstante	49,673	4,126	0,000
Gruppe (S+ /S-)	$\beta_1 = 10,747$	2,180	0,000*
Tag der Extinktion	$\beta_2 = 0,324$	0,770	0,674

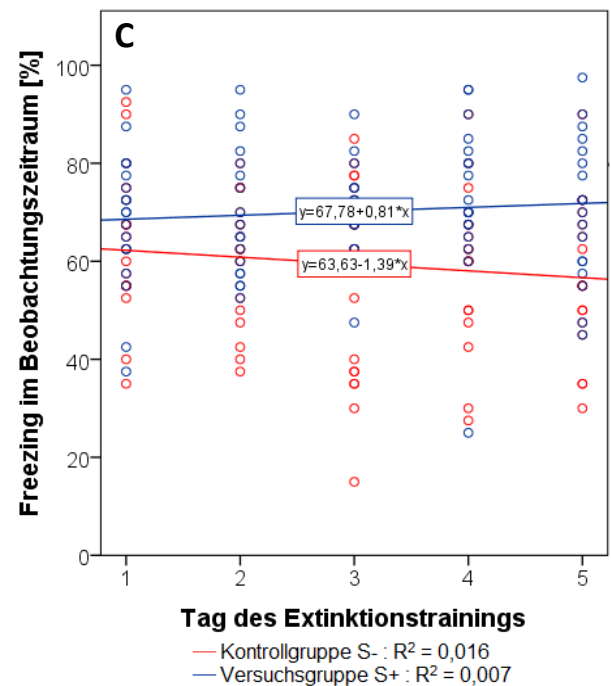


Abb. 4: *freezing nach fear conditioning:* **A** Konditionierung, Konsolidierung (*baseline, freezing nach fear conditioning, retrieval, reinstatement*) und Extinktion (Ext 1 - 5) im Gruppenvergleich **B** Statistik zum linearen Regressionsmodell **C** Streudiagramm mit Regressionsgeraden

Bei der Bestimmung der *baseline* an Tag 1 ergab sich kein Gruppenunterschied im *freezing*, sodass zu Beginn der Experimente von einem annähernd gleichen Phänotyp beider Gruppen ausgegangen werden konnte (Abb. 5A). Unmittelbar nach *fear conditioning* zeigten sowohl die Versuchstiere S- als auch die Kontrolltiere S+ einen starken Anstieg in ihrem *freezing*, welches sich während der Untersuchung von *retrieval* und *reinstatement* ohne relevante Gruppendifferenz auf einem relativ konstant hohen Niveau hielt, wie zu erwarten. Unmittelbar vor Beginn des Extinktionstrainings unterschieden sich die Gruppen also zu keinem Messzeitpunkt maßgeblich in ihrem *freezing*-Verhalten. Demnach sind sie unter denselben Voraussetzungen in das Extinktionstraining gestartet.

Im Extinktionstraining zeigten sich nun mit Beginn der Ext 2 zunehmend signifikante Unterschiede in der Extinktionsleistung zwischen den Gruppen S-/S+ (für p-Werte und Konfidenzintervalle: Abb. 5A). Am letzten Trainingstag Ext 5 ergab sich als Endpunkt eine mittlere Differenz von 13,6 % *freezing* ($p^{*4} = 0,010$; 95% KI 0,035 – 0,237).

Innerhalb beider Gruppen ergab sich zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Extinktionsleistung von einem Trainingstag auf den nächsten, und auch im Vergleich von Ext 1 und abschließender Ext 5 hatte das *freezing* in keiner der Gruppen S- ($p = 0,123$; 95% KI = -1,89 – 14,52) und S+ ($p = 0,374$; 95% KI = -3,09 – 7,81) signifikant abgenommen.

Aufgrund des im Zeitraum von Ext 1-5 annähernd linearen *freezing*, in das die Mäuse unter gleichen Voraussetzungen gestartet sind und das unter standardisierten Laborbedingungen zu gleichen Konditionen erfolgte, konnte für das Extinktionstraining linear modelliert werden (Abb. 5B). Mit den Daten des linearen Regressionsmodells ließ sich die Gleichung, mit der die Extinktionsleistung geschätzt wurde, nun vervollständigen:

$$\text{Extinktion} = 0,479 + 0,107 * \text{Gruppe} + (-0,003) * \text{Tag des Extinktionstrainings}$$

Demnach ergab sich ein zunächst von Gruppenzugehörigkeit und Trainingszeitpunkt unabhängiger Ausgangswert an *freezing* von 49,7 %. Der Koeffizient β_1 schätzt den Einfluss der Gruppenzugehörigkeit (S-/S+) auf die Extinktion. Hier zeigte sich ein relevanter Unterschied ($p^* = 0,000$; 95% KI 0,415 – 0,578). Für den Einfluss des Trainingstages auf die Extinktionsleistung ergab sich laut Schätzer β_2 keine Signifikanz ($p = 0,674$; 95% KI -0,018 – 0,012). Der beobachtete Unterschied lässt sich also von

den betrachteten Variablen Gruppe S-/S+ und Tag des Extinktionstrainings nur durch die Gruppenzugehörigkeit erklären.

Allerdings konnten bei einem korrigierten R^2 von 0,109 lediglich ca. 11% des Unterschieds im *freezing* mit dem aufgestellten Modell erklärt werden. Über weitere Gründe für die restliche Varianz kann keine Aussage getroffen werden.

Trägt man in einem Streudiagramm den Einfluss der Gruppenzugehörigkeit gegen die Extinktionsleistung im zeitlichen Verlauf auf (Abb. 5C), so ergibt sich für die Kontrollgruppe S- eine geringe Abnahme im *freezing*, während die Versuchstiere S+ eine leichte Zunahme in ihrem *freezing*-Verhalten zeigen.

Nebenfragestellungen

4.1 Reizgeneralisierung

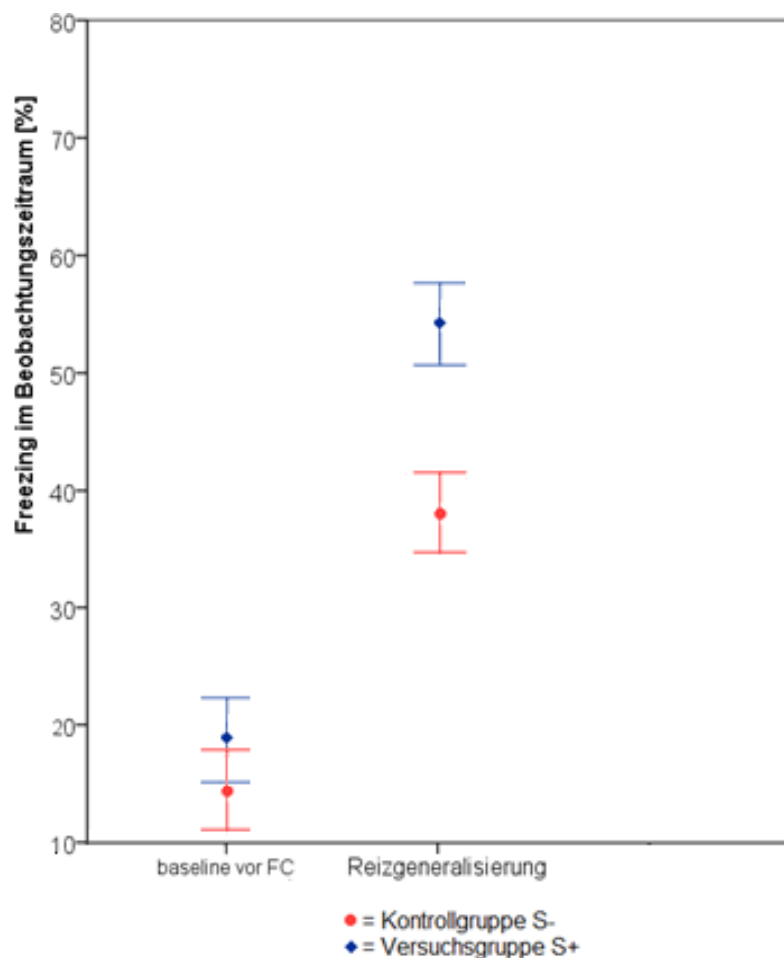


Abb. 5: *freezing* im Test auf Reizgeneralisierung

Der Test fand im Anschluss an das Extinktionstraining 3 am selben Tag statt. Die Gruppen unterschieden sich in diesem Test um eine mittlere Differenz an *freezing* von 16 % ($p^* = 0,002$; 95% KI 6,12 – 25,89). In beiden Gruppen bestand weiterhin ein deutlicher Unterschied zu ihrer jeweiligen *baseline* ($p(S^-) = 0,000$, 95% KI 14,04 – 31,22; $p(S^+) = 0,000$, 95% KI 28,22 – 44).

4.2 Renewal

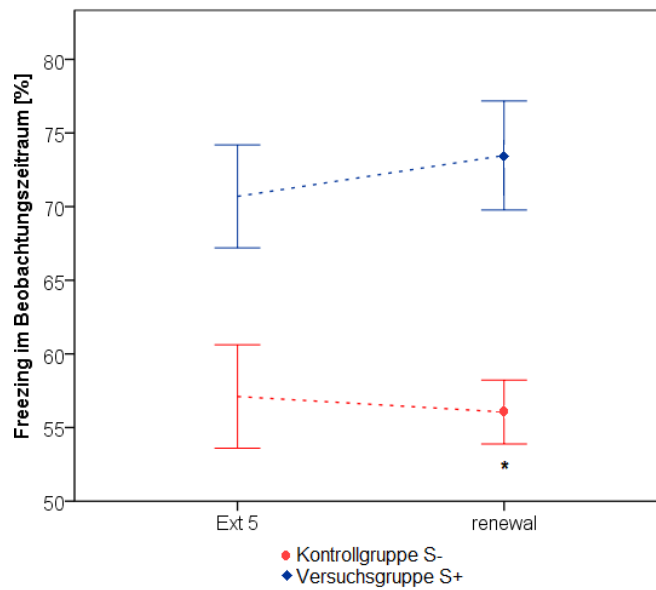


Abb. 6: *freezing* im Test auf *renewal* (zur besseren Einordnung wird der letzte Wert im Extinktionstraining 5 ebenfalls abgebildet)

Die Gruppen S-/S+ unterschieden sich in diesem Test um eine mittlere Differenz an *freezing* von 15 % ($p^* = 0,000$; 95% KI 8,61 – 26,23). Im Vergleich zum letzten Wert Ext 5 ergab sich innerhalb beider Gruppen kein deutlicher Unterschied ($p > 0,05$).

4.3 Sekundärer Endpunkt: Sensibilitätslevel

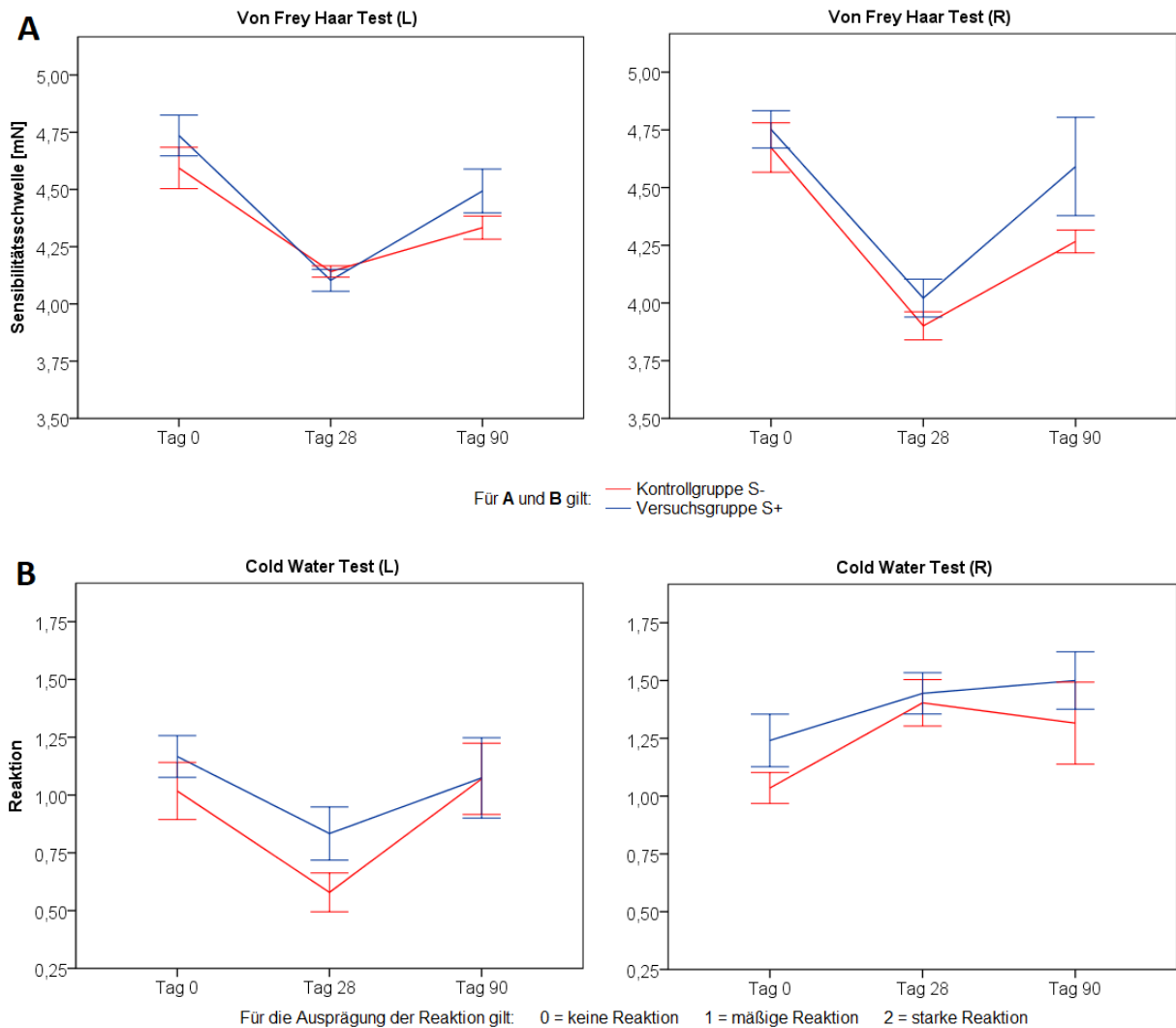


Abb. 7: sensorische Testungen **A** Von Frey Haar Test. **B** cold water test

Sowohl in der Versuchs- als auch in der Kontrollgruppe zeigte sich im Von Frey Haar Test eine deutliche Abnahme der Sensibilitätsschwelle direkt nach Gipsentfernung an Tag 28, geltend sowohl für die linke als auch für die rechte Pfote, wobei die Reduktion rechts nicht signifikant ausgeprägter war. An Tag 90 zeigte sich die Sensibilitätsschwelle in beiden Gruppen wieder annähernd identisch zum Ausgangsbefund (Abb. 8A). Es zeigte sich zu keinem Zeitpunkt ein relevanter Unterschied im Gruppenvergleich S-/S+ ($p > 0,05$).

In beiden Gruppen S-/S+ zeigte sich für die rechte Pfote im Vergleich zum Ausgangsbefund unmittelbar nach Fraktur eine Zunahme in der Abwehrreaktion auf das kalte Wasser, welche sich bis zum letzten Messzeitpunkt an Tag 90 nicht mehr

wesentlich veränderte. Für die linke Pfote ergab sich sowohl bei den Versuchs-, als auch bei den Kontrolltieren keine Änderung in ihrer Reaktion auf das kalte Wasser, welche bis zu Tag 90 wieder auf ihren Ausgangsbefund anstieg (Abb. 8B). Es bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen S-/S+ ($p > 0,05$).

Stimmig mit den Ergebnissen im *cold water test* zeigte sich in dessen Erweiterung um die Applikation neutral temperierten Wassers an Tag 28 bei beiden Gruppen S-/S+ für die linke Pfote selten eine Reaktion, während diese auf der rechten Seite häufiger zu beobachten war (Abb. 8C). An Tag 90 zeigten beide Gruppen S-/S+ und auf beiden Seiten vermehrt eine Reaktion auf den Wasserreiz, die Kontrollgruppe S- jedoch zu jedem Zeitpunkt in höherer Zahl.

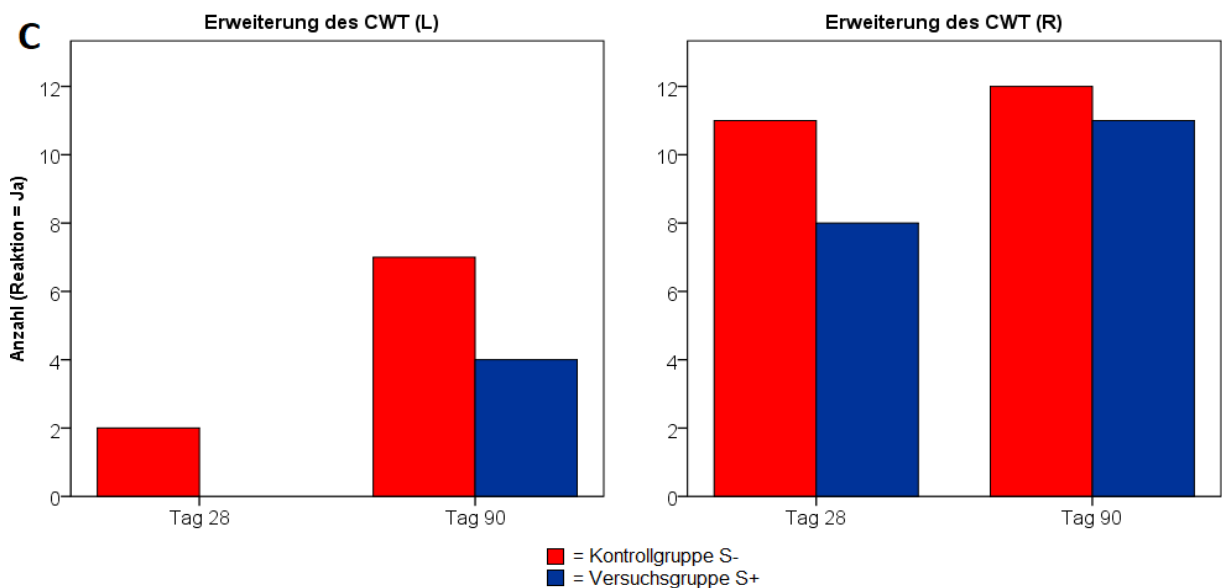


Abb. 7 C: Erweiterter *cold water test* (Raumtemperaturwasser)

4.4 Sekundärer Endpunkt: Stressauswirkung

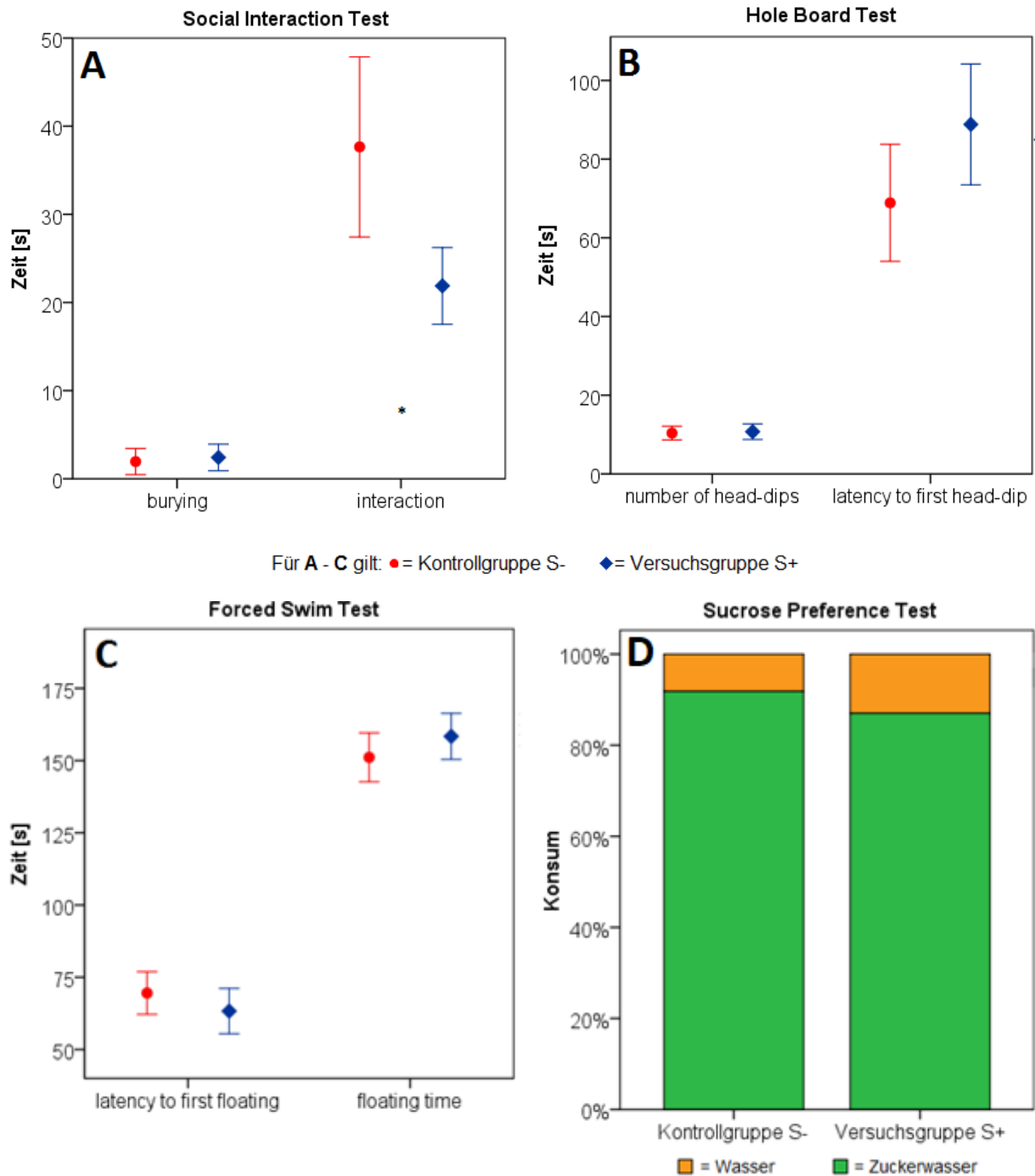


Abb. 8: Stressauswirkung: **A** *social interaction test*, **B** *hole board test*, **C** *forced swim test*, **D** *sucrose preference test*

Mit Ausnahme der Zeit in Interaktion mit dem Jungtier im *social interaction test* ($p^* = 0,008$; 95% KI 4,87 – 26,67) zeigten sich im Vergleich beider Gruppen S-/S+ keine deutlichen Unterschiede ($p > 0,05$) in der Ausprägung der jeweiligen Stresssymptome (Abb. 9A-D).

4.5 Temperatur, Pfortendicke, Gewicht

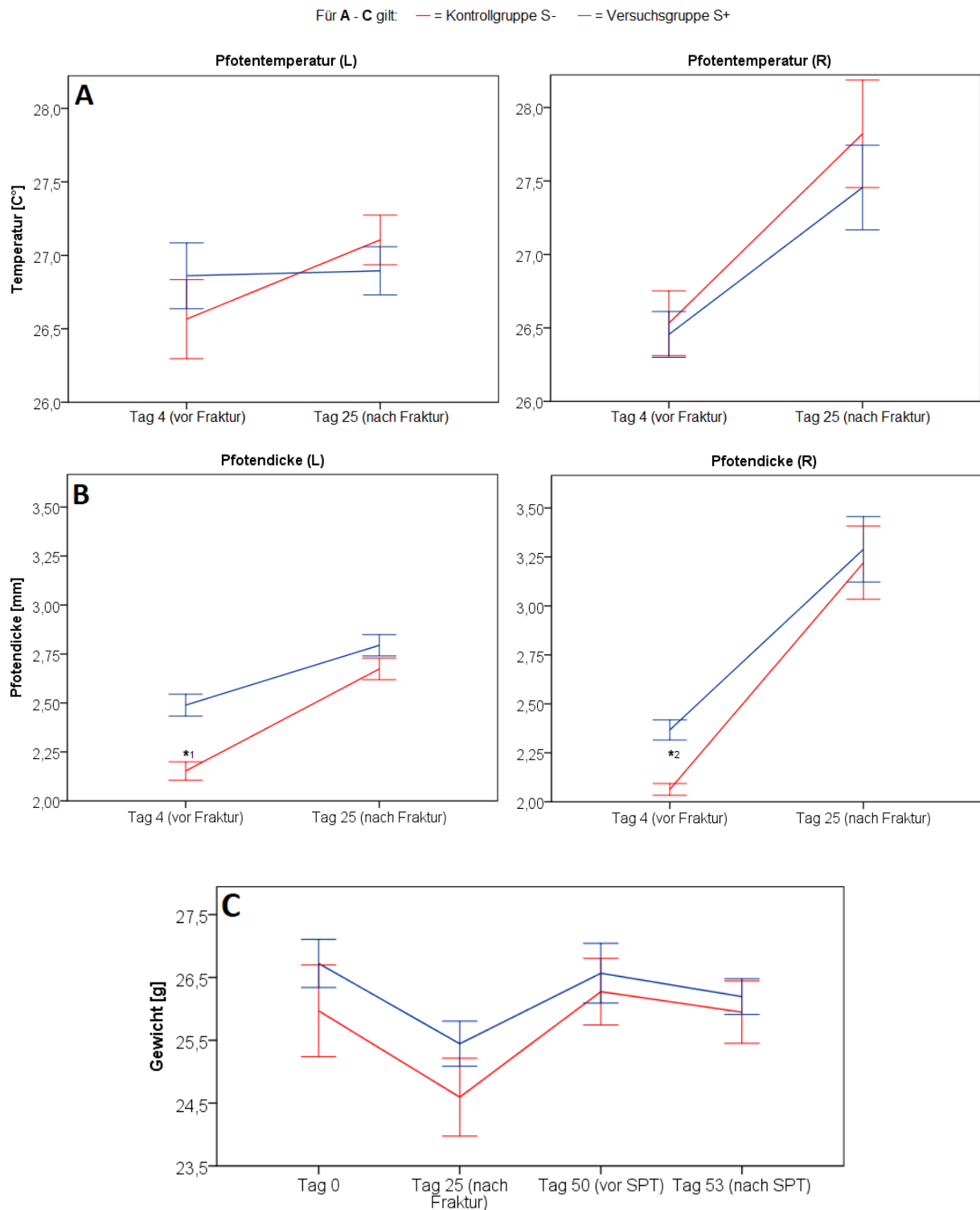


Abb. 9: Zeitlicher Verlauf der Temperatur (A) und Dicke (B) der Pfoten, sowie Gewichtsentwicklung (C) der Tiere im Gruppenvergleich

Beide Gruppen S-/S+ reagierten auf die Fraktur mit einem deutlichen Anstieg der Pfortemperatur und –dicke rechts, während auf der linken Seite kein oder nur ein geringer Anstieg zu beobachten ist. Nur zum Messzeitpunkt an Tag 4 vor Fraktur zeigte sich bei der Pfortendicke ein relevanter Unterschied im Gruppenvergleich S-/S+ ($p^{*1} = 0,000$; 95%KI 0,19 – 0,48 und $p^{*2} = 0,000$; 95% KI 0,18 – 0,42). Hier sollte ein Messfehler in Betracht gezogen werden. Ansonsten konnten keine bedeutsamen Gruppenunterschiede ($p > 0,05$) festgestellt werden (Abb. 10A-B).

In beiden Gruppen S-/S+ entwickelte sich das Gewicht annähernd parallel. Es ergaben sich zu keinem Zeitpunkt deutliche Gruppenunterschiede ($p > 0,05$). Es zeigte sich eine relevante Gewichtsabnahme nach Fraktur, sowie sich anschließend eine deutliche Zunahme auf das Ausgangsgewicht.

5 Diskussion

5.1 Stressexposition vor *Fear Conditioning* als Distinktionsmerkmal und entscheidende Gruppierungsgröße

Nach Zuweisung der Tiere anhand des Merkmals Stressexposition zur jeweiligen Kohorte S+ bzw. S- wurden in den vor Extinktionstraining durchgeführten Experimenten (*freezing* bei *baseline*, *retrieval*, *reinstatement*) keine relevanten Unterschiede zwischen den beiden so formierten Gruppen beobachtet. Im Verlauf des sich anschließenden Extinktionstrainings konnte allerdings ab dem zweiten Tag bereits sehr früh ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Versuchs- und Kontrollmäusen festgestellt werden. Während die Veränderungen in der Ausprägung des *freezing* nicht durch den Einfluss der Zeit begründet werden konnten, bot jedoch die Betrachtung der jeweiligen Gruppenzuordnung eine relevante Erklärung für diesen Effekt. Dennoch ließ sich mithilfe der Statistik des linearen Regressionsmodells schlussfolgern, dass auch mit der Gruppenzugehörigkeit (und damit der Stressexposition + oder -) nur ein kleiner Teil der ursächlichen Varianz der Extinktion ermittelt wurde. Ein Großteil der erklärenden Faktoren blieb weiterhin unklar. Der Gruppenunterschied ließ sich auch im Test auf Reizgeneralisierung noch in relevanter Ausprägung nachweisen, der mit einer zeitlichen Latenz von 14 Tagen nach Ende des Extinktionstrainings durchgeführt wurde. Auch hier zeigten die Versuchstiere S+ einen deutlich höheren Anteil an *freezing* als die Kontrollgruppe S-. Nach aktueller Studienlage herrscht Uneinigkeit darüber, ob chronisches ängstliches Verhalten sich primär charakterisieren lässt als Folge eines stärkeren Erwerbs, einer schwächeren Extinktion oder einer breiteren Generalisierung der CR (130). Für das Argument eines profunderen Erwerbs der Angst konnte ich in meiner Studie lediglich eine tendenzielle Bedeutung feststellen. Der mögliche Einfluss einer schwächeren Extinktion und einer breiteren Generalisierung auf die Persistenz des Angstverhaltens kann mit meiner Arbeit unterstützt werden und soll im Folgenden diskutiert werden. Die Ergebnisse widerlegen die Nullhypothese und liefern Zuspruch zu der Annahme, dass Stress vor einem Schmerzereignis ein Vulnerabilitätsfaktor für die Chronifizierung einer konditionierten Reaktion ist.

5.2 *Fear Conditioning* und Vorbereitung für das Extinktionstraining

Essenziell für die weitere Einordnung und Diskussion der Ergebnisse der Extinktion sind zunächst die im Vorfeld gemachten Beobachtungen im *fear conditioning*, *retrieval* und *reinstatement*. Für die *baseline* vor Applikation der Fußschocks war bei den Mäusen kein deutlicher Gruppenunterschied in ihrem Verhalten zu erwarten, und konnte auch nicht festgestellt werden. Das hier gemessene *freezing* bei *baseline* liegt in dem in verschiedenen Studien beobachteten Bereich von 10 - 15 % ohne deutlichen Gruppenunterschied (83). Die Analyse von *retrieval* und *reinstatement* vor Extinktion ist im aktuellen Diskurs von großem Interesse (98). So existiert aktuell die Hypothese, dass Individuen mit unterschiedlichen Risikofaktoren entsprechend verschieden leicht bzw. schwer zu konditionieren sind, was mit dem Begriff der Konditionierbarkeit beschrieben wird (61). Da in der Versuchsgruppe S+ durch den im Vorfeld erfahrenen psychisch-physischen Stress das Vorhandensein von solchen Risikofaktoren angenommen wurde, müsste sie daher als potenziell (in Relation zu den Kontrolltieren S-) „leichter“ konditionierbar gelten. Oder umgekehrt ausgedrückt: Die ungestresste Gruppe S- hätte unter Annahme o.g. Hypothese resistenter gegenüber dem *fear conditioning* reagieren und folglich weniger *freezing*-Verhalten zeigen müssen. Diese Überlegung findet jedoch in meinen Auswertungen zu keinem Zeitpunkt ein objektivierbares Korrelat: Unmittelbar nach *fear conditioning* reagierten beide Gruppen mit einem gleichhohen Ausmaß an *freezing*. Dieses Ergebnis deckte sich mit den Angaben mehrerer Studien zum Thema, laut derer unmittelbar nach Fußschock ein gruppenhomogener Anstieg im *freezing* auf etwa 80 – 85 % zu erwarten war (82, 83). Auch in den folgenden Tests auf *retrieval* und *reinstatement* des *fear conditioned freezing* zeigte sich kein deutlicher Unterschied zwischen den Kontroll- und Versuchstieren. Es lässt sich also zusammenfassen, dass beide Gruppen S- und S+ unter denselben Voraussetzungen in die Extinktion gestartet sind. Eine unterschiedliche Konditionierbarkeit – soweit bis hierher anhand des Verhaltens beurteilbar – konnte als sich womöglich im Extinktionstraining auswirkender systematischer Fehler weitestgehend ausgeschlossen werden. Durchaus aber könnte sich bei den Versuchstieren, trotz gleichem Ausmaß an gezeigtem *freezing*, ein robusteres Angstgedächtnis manifestiert haben. Dieses würde sich nicht im *freezing* unmittelbar nach Konditionierung darstellen lassen. Ein robusterer Gedächtnispfad der CS – CR-Verknüpfung könnte in den Versuchstieren im Vergleich zu den Kontrollmäusen ein Resistenzfaktor gegenüber erfolgreicher Extinktion gewesen sein

(94). Problematisch an dieser Möglichkeit ist die Tatsache, dass sie nicht durch das hier getestete *freezing* überprüft werden konnte. Weiterhin lässt sich diskutieren, ob sich die beiden Gruppen wirklich durch das Gruppierungsmerkmal „Stress vor *fear conditioning*“ unterscheiden: In der gängigen Literatur zum Thema wird die Induktion von Stresssymptomen – wie sie zum Beispiel im Rahmen einer PTBS vorkommen – in Mäusen häufig durch (alleiniges) *fear conditioning* mit Fußschock ausgelöst (50, 94). Es ist daher nicht auszuschließen, dass das *fear conditioning* ein derartiges Trauma für die Mäuse dargestellt hat, dass der vorangegangene Stress durch diese Erfahrung überlagert oder zumindest abgeschwächt wurde. Ob sich die Tiere unmittelbar nach der Stressinduktion in der Versuchsgruppe S+, und damit wahrscheinlich durch diesen Stress bedingt, unterscheiden, konnte letztendlich nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Die Tests, die zur Überprüfung der Stresssymptome am Ende der Testreihe eingesetzt wurden, können aufgrund der zeitlichen Latenz keine sichere Antwort bieten. Da sich die Gruppen in der darauffolgenden Extinktionsmessung jedoch signifikant voneinander unterscheiden, sollte als Alternative zur (unsicheren) Stressauslösung vor Fraktur auch die Fraktur selbst als ein potenzieller Auslöser für einige der im Anschluss gemessenen Unterschiede in Betracht gezogen werden (siehe dazu 5.2.2.2).

5.3 *Freezing* als Zielgröße nach *Fear Conditioning*

In meiner Hauptfragestellung habe ich mich mit dem Erfolg bzw. Misserfolg von Extinktion am Ende eines mehrtägigen Trainings im Vergleich zwischen zwei distinkten Gruppen beschäftigt. Zur Beurteilung der Extinktionsleistung wurde das *freezing*-Verhalten als eine die CR messbar machende Zielgröße festgelegt. Die Dokumentation von *freezing* ist eine anerkannte und häufig verwendete Methode, um Angstverhalten zu untersuchen (82, 83). Die Auswirkung von Angst auf individuelle Annahmen über den Schmerz („Ich habe Angst, ich kann ihn nicht aushalten“ oder „Ich habe Angst, dass er bei dieser Bewegung auftritt“; „Ich habe Angst, dass er nie wieder weniger wird“) und damit auch das Schmerzempfinden selbst (Anspannung → Muskelverspannung) ist unbestritten (3, 64). Dennoch kann Angstverhalten nicht gleichgesetzt werden mit Schmerzverhalten. *Freezing* als eine auf die Emotion „Angst“ konditionierte Reaktion ist kein direkter Ausdruck von Schmerz, auch wenn dieser natürlich parallel bestehen kann. Dementsprechend wurde hier nur die eingeschränkte Extinktion von ängstlichem Verhalten bei komorbidem Vorliegen von Schmerz und

Stress explizit nachgewiesen. Auf eine Neigung zu Chronifizierung von Schmerzen bei verminderter Extinktionsleistung wurde im Anschluss indirekt rückgeschlossen.

5.4 Gruppenunterschiede in der Extinktionsleistung

In der Auswertung des Extinktionstrainings ergaben sich zwei zentrale Resultate: Zunächst zeigte sich gruppenintern zu keinem Zeitpunkt ein signifikant reduziertes *freezing* im zeitlichen Verlauf. Bei den Kontrolltieren hatte das *freezing* an Tag 5 im Vergleich zum Extinktionstraining 1 um ca. 6 % abgenommen, bei den Versuchstieren waren es lediglich ca. 2 %. Diese Ergebnisse waren konform mit den bereits anerkannten und wissenschaftlich belegten Thesen, dass verminderte Extinktion eine (Mit-)Ursache in der Krankheitsmanifestation sowohl von chronischen Schmerzen als auch chronischen Stresserkrankungen ist (55, 62). Stress vor *fear conditioning* (hier: soziale Isolation, *restraint stress*, *tail suspension*) kann eine Minderung der Extinktionsleistung hervorzurufen, gleichwohl kann auch Stress nach Konditionierung (hier: Stress durch Fraktur), aber vor Extinktionstraining zu mangelndem Erfolg führen. Für die richtige Interpretation der gezeigten Extinktion ist somit wichtig festzuhalten, dass es keine gänzlich gesunde Kontrollgruppe gab. Alle Mäuse waren zumindest dem Frakturschmerz und dem damit verbundenen Stress ausgesetzt. Zum Vergleich liegen Daten einer Studie zu ähnlich lange durchgeführten Extinktionssitzungen vor. Sie zeigten bei gesunden Jungtieren (18 bis 26 Wochen alt) einen deutlich stärkeren Abfall des *freezing* von anfänglichen 80 % in Extinktion 1 auf 30 % an Tag 5 des Extinktionstrainings (bei einer ursprünglichen *baseline* von 15 %) (89). Es gilt außerdem zu beachten, dass ich in dieser Arbeit an einer rein weiblichen Tierkohorte geforscht habe. Laut Literatur extinguieren ungestresste weibliche Mäuse im Vergleich zu ungestressten männlichen Mäusen grundsätzlich schlechter (94). Ferner existieren Studien, die den Einfluss des Alters der Mäuse bei *fear conditioning* und Extinktionstraining untersuchten. Es besteht die Hypothese, dass Jungtiere eine geringere Konsolidierung von kontextabhängigen Gedächtnisinhalten leisten können als ältere Tiere, und folglich per se weniger *freezing* in Extinktionsexperimenten zeigen. Die hier getesteten Mäuse waren bei Extinktionstraining bereits > 39 Wochen alt und damit nicht mehr als Jungtiere anzusehen. Diese beiden Faktoren – rein weibliches Geschlecht der Gruppe sowie relativ fortgeschrittenes Alter der Tiere – müssen in der Bewertung des Gesamtanteils an gezeigtem *freezing* berücksichtigt werden. Es zeigte sich im Experiment letztendlich ein bereits sehr früh einsetzender

signifikanter Gruppenunterschied in der Extinktionsleistung. Dieser nahm bei zunehmend höherem Extinktionserfolg der ungestressten Kontrollgruppe S- bis zum letzten Tag des Experiments weiter zu. Dieses Ergebnis unterstützt die aufgestellte Alternativhypothese, dass Stress vor einem Schmerzereignis zu einer (noch) schlechteren Extinktion einer konditionierten Reaktion führt.

5.4.1 Einfluss der Zeit

Anzahl und Dauer von Trainingssitzungen als Zeitfaktor im Lernprozess ist essenziell für Fortschritt und Konsolidierung einer trainierten Extinktion. In diesem Experiment konnte jedoch in keiner der beiden Gruppen eine Signifikanz der Zielgröße „Zeit“ nachgewiesen werden. Mögliche Ursachen hierfür sind zahlreich. Zum einen ist nicht auszuschließen, dass sich bei höherer Anzahl der Trainingssitzungen nicht doch noch eine signifikante Abnahme des *freezing* eingestellt hätte. Die Arbeitsgruppe der bereits unter 5.2.2 zitierten Studie testete die Extinktion ähnlich häufig an insgesamt 6 Trainingstagen. Zwischen Tag 5 und 6 konnten sie einen weiteren Abfall des *freezing* auf einen Endwert von etwa 20 % feststellen. In ihren Auswertungen zeigte sich der größte Zuwachs an erfolgreicher Extinktion zwischen Tag 2 und Tag 4 des Trainings (89). Zum Vergleich erwies sich in meinen Untersuchungen die Extinktion der Kontrolltiere S- ebenfalls am stärksten zwischen Tag 2 und 3 des Trainings (Tag 4 kann zum Vergleich schlecht herangezogen werden, da an Tag 3 zusätzlich der Test auf Reizgeneralisierung durchgeführt wurde). Im selben Zeitraum kam es in der Versuchsgruppe S+ tendenziell eher zu einem Anstieg im *freezing*. Nach Tag 4 des Extinktionstrainings veränderte sich in beiden Gruppen das Ausmaß an *freezing* kaum noch. Die Möglichkeit, dass der Trainingszeitraum insgesamt zu kurz gewählt wurde, um eine signifikante Extinktion erfassen zu können, erscheint daher unwahrscheinlich, wenn auch nicht völlig ausgeschlossen. Eine andere mögliche Erklärung wäre eine ungeschickte Taktung der Zeitpunkte, an denen die Extinktion auf ihren Fortschritt untersucht wurde. Ein zu dichtes Aufeinanderfolgen der einzelnen Sitzungen (*massed extinction trials*) kann laut Literatur zu schlechteren Extinktionsergebnissen führen, während Tiere besonders dann erfolgreich abschneiden, wenn die einzelnen Tests zeitlich weiter auseinanderlagen (*spaced extinction trials*) (99, 135). In dem hier angewandten Zeitregime gab es keinen testfreien Tag, sodass in meiner Arbeit eher von *massed extinction trials* auszugehen war. Gerade an Tag 3 des Trainings traf dies in besonderem Maße zu, da die Tiere hier zusätzlich einem Test auf

Reizgeneralisierung unterzogen wurden. In Kongruenz zu den gemachten Überlegungen, zeigten die Tiere beider Gruppen am darauffolgenden Tag 4 eine tendenzielle (wenn auch nicht signifikante) Zunahme in ihrem *freezing* im Trauma-Kontext. Es kann folglich diskutiert werden, ob der strikte und enge zeitliche Ablauf des Experiments zu einem gewissen Anteil zu falsch hohem *freezing* und damit einer falsch niedrig gemessenen Extinktionsleistung geführt hat. Eine andere Arbeitsgruppe beschäftigte sich mit der Korrelation zwischen der Anzahl der applizierten Fußschocks und der zeitlichen Persistenz der konditionierten Angstsymptome, gemessen anhand von *freezing* (136). Sie verglich unterschiedliche Konditionierungsschemata mit entweder 0, 1, 2 oder 5 erfolgten Elektroschocks. Anhand ihrer Ergebnisse konnte sie zeigen, dass die Anzahl der Schocks nicht nur mit der Schwere des Angst-Gedächtnisses korreliert, sondern sowohl mit einer steigenden Reizgeneralisierung, als auch der bereits diskutierten zeitlichen Robustheit der konditionierten Reaktion. Demnach bestünde also die Möglichkeit, dass die in meiner Arbeit erfolgte Applikation von 3 Fußschocks ein längeres Trainingsfenster notwendig gemacht hätte, um eine aussagekräftige Extinktionsleistung feststellen zu können.

5.4.2 Einfluss von Stress vor Konditionierung

Im Gegensatz zum Einfluss der Zeit, konnte anhand der Gruppenzugehörigkeit entweder zur ungestressten Kontrollgruppe S- oder zur gestressten Versuchsgruppe S+ teilweise die Dynamik des *freezing* während des Extinktionstrainings erklärt werden. Ab dem zweiten Tag ließ sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen beobachten. Schon bei der Vorbereitung auf das Extinktionstraining zeigte sich im *retrieval* eine erste Tendenz zu einem unterschiedlich stark ausgeprägten *freezing*-Verhalten im Gruppenvergleich. Die Versuchstiere zeigten hier bereits 5,2 % weniger *freezing* als die Kontrolltiere, was zu diesem Zeitpunkt noch keine statistische Signifikanz erreichte. Da der Gruppenunterschied lediglich in der Induktion von Stress in der Versuchsgruppe S+ bestand, und die Tiere ansonsten zu exakt gleichen Konditionen gehalten und identischen Experimenten jeweils zum selben Zeitpunkt unterzogen wurden, entspricht er damit dem Unterschied in der Stressexposition (S+ oder S-) vor Fraktur. Dennoch wird nicht nur Einfluss von Stress vor Fraktur auf die Extinktion einer konditionierten Reaktion abgebildet. Auch die Auswirkungen der Fraktur an sich zeigt hierauf einen Einfluss. Eine Knochenfraktur bedeutet für die Tiere nicht nur physischen Schmerz, sondern als eine weitere Folge auch psychischen

Stress (137). Die Frakturierung fand zwar vor Extinktionsuntersuchung statt, dennoch zeitlich erst im Anschluss an die Konditionierung. Der Frakturstress hatte womöglich einen anderen Einfluss (schwächer oder stärker als Stress vor Konditionierung?) auf die Extinktionsleistung als der Stress in der Versuchsgruppe vor Fraktur. Zwar erfuhren alle Tiere diese physische und psychische Belastung zur selben Zeit und in gleicher Ausführung, dadurch aber nicht automatisch mit denselben Auswirkungen. In der Versuchsgruppe S+ konnte der Stress durch Fraktur als eine Art *second hit* nach dem bereits erlebten Stress (also dem *first hit*) vor *fear conditioning* angesehen werden. In der Kontrollgruppe S- war die Fraktur in diesem Hinblick eher ein Erstereignis, das nicht mit dem Stress-Erstereignis der Versuchstiere äquivalent war. Es ist also durchaus denkbar, dass die Fraktur als weiterer psychischer Stressor den Effekt des Stresses vor Fraktur als definierende Gruppierungsgröße relativiert hat. Von den daraus resultierenden Konsequenzen sind vor allem zwei von möglicher Relevanz: 1. Der Unterschied im Stresslevel zwischen den Gruppen wurde verstärkt. Die Fraktur könnte bei einer vorbelasteten Gruppe ein Mehr an Stress ausgelöst haben, welches das Ausmaß der Stressauswirkung in der naiven Kontrollgruppe deutlich überstieg. 2. Der Gruppenunterschied könnte durch den Frakturstress abgeschwächt worden sein. Die Fraktur als Erstereignis hat die gesunde Kontrolle möglicherweise stärker belastet, als es dasselbe Ereignis, aber in der Rolle eines *second hit*, die an Stress gewöhnte Versuchsgruppe belastet hat. Jedoch lassen sich die Überlegungen nicht in gleicher Art auf ein klinisches Patientenkollektiv übertragen bzw. haben dort nicht zwangsläufig entsprechende Gültigkeit. Eine Fraktur beim Menschen kann vor Erstversorgung in der Mehrzahl der Fälle noch in irgendeiner Form psychisch aufgearbeitet werden. Das heißt, gerade eine distale Radiusfraktur in der Pathogenese eines CRPS, ermöglicht es der betroffenen Person regelhaft, sich vor einer medizinischen Vorstellung und vor einer Operation noch kognitiv und vor allem emotional mit dem Trauma auseinander zu setzen. Wird das Trauma vom Patienten realisiert und in seinem Umfang begriffen, dann kann auch eine Operation und eine sich anschließende Ruhigstellung im Gips antizipiert, verstanden und für sinnvoll erachtet werden. Diese Möglichkeit hatten die Tiere nicht: Sie wurden mit vier gesunden Extremitäten narkotisiert und erwachten mit einer schmerzhaften, frakturierten Extremität und einem immobilisierenden Gips. Eine Fraktur und eine Gipsruhigstellung auf diese Art zu erleben, unterscheidet sich in der traumatischen Potenz deutlich von der Art, wie sie für die meisten Menschen zutrifft. Der Effekt des Frakturtraumas, das sich bereits generell eher unabsehbar auf die Extinktion auswirkt, lässt sich auch nicht ohne weiteres von der Tierkohorte auf das

entsprechende klinische Patientenkollektiv übertragen. In meiner Arbeit konnte ich feststellen, dass Stress vor Fraktur in der Lage ist, Gruppen derart zu distinguieren, dass sie in einem Extinktionssetting unterschiedlich erfolgreich abschneiden. Um festzustellen, ob sich diese Beobachtung reproduzieren lässt, sollte die Versuchsanordnung in weiteren Experimenten angewandt werden. Im nächsten Schritt könnte es dann bspw. sinnvoll sein, das Modell daraufhin zu testen, ob es auch im Menschen einen signifikanten Unterschied zwischen zwei Gruppen (S- und S+) hervorrufen kann. Die unterschiedliche Rolle der Fraktur im Tiermodell (dort artifiziell) und im betroffenen Menschen (dort real, z.B. als Unfallfolge) sollte dabei bedacht werden.

5.5 Reizgeneralisierung

Im Test auf Reizgeneralisierung an Tag 3 des Extinktionstrainings konnte – wie im Extinktionstraining – ein relevanter Unterschied im Vergleich der gestressten zur ungestressten Gruppe festgestellt werden. Dieses Ergebnis bekräftigte die Hypothese, dass ein Stresskollektiv anfällig ist in Bezug auf eine Generalisierung von angstinduzierenden Stimuli über den ursprünglich angstausslösenden Reiz oder Kontext hinaus. Laut aktuellem Stand der Forschung wirken sich jedoch nicht alle Arten von Kontextveränderungen gleichermaßen auf das Generalisieren von Ängsten aus. Alterationen der visuellen Reize scheinen einen geringeren Effekt auf das Angstverhalten auszuüben, als olfaktorische oder taktile Veränderungen der Umgebung (98). Da im hier durchgeführten Test auf Reizgeneralisierung sowohl die visuell erfassbare Umgebung (Form des Plexiglasses, veränderte Lichtverhältnisse, etc.), als auch taktil erfassbare Merkmale (Abdeckung der Gitterstäbe) verändert wurden, muss von einem summierten Einfluss (relativ stark und relativ schwach) auf das gezeigte Verhalten ausgegangen werden. Unter dem Aspekt dieser Kontextveränderungen reagierten die Mäuse weiterhin mit einem deutlichen Anteil an *freezing*, welches sogar das Ausmaß unmittelbar nach Präsentation des CS im Rahmen der Konditionierung noch übertraf. Die Beurteilbarkeit des weiteren Verlaufs der Extinktion nach Tag 3 kann durch den erneuten und ausgeprägten Anstieg an *freezing* verzerrt worden sein. Auch olfaktorische Reize im Traumakontext gelten als Einflussfaktoren auf die untersuchte Reizgeneralisierung. Sowohl im Extinktionstraining, als auch im Test auf Generalisierung der CR, wurde nach jedem Tier die Schockbox mit 70% Ethanol gereinigt. Daher muss davon ausgegangen

werden, dass ein wichtiger „Erinnerungsreiz“ (vergleichbar mit einem konditionierten Reiz höherer Ordnung) aus dem ursprünglichen Traumakontext die veränderte Umgebung mehr oder minder stark „kontaminiert“ hat (56). Ohne diesen Mediator wäre das *freezing* im Test auf Reizgeneralisierung womöglich geringer ausgefallen, allerdings gruppenhomogen. Auch die Reihenfolge der Kontextpräsentation beeinflusst eine potenzielle Reizgeneralisierung. In einer Studie konnte eine stärker ausgeprägte Generalisierung nachgewiesen werden, wenn die Tiere zunächst im veränderten und danach im ursprünglichen Kontext getestet wurden (97). In meinem Experiment habe ich die Anordnung der Tests genau umgekehrt realisiert, also erst Traumakontext und dann Alternativkontext. Daher erscheint ein durch diesen Effekt zu hoch gemessener Anteil an *freezing* unwahrscheinlich. Abschließend ließ sich also anhand der Resultate dieses Experiments vermuten, dass eine gestresste Schmerzgruppe eher zu einer Stimulusgeneralisierung neigt, als eine ungestresste Schmerzkohorte. Eine Übergeneralisierung angstauslösender Stimuli ist als wichtiger ursächlicher Faktor in chronischen Stresserkrankungen im wissenschaftlichen Konsens akzeptiert (54, 55). Implizit konnte durch den beobachteten Gruppenunterschied daher ein starker Hinweis auf die erfolgreiche Stressinduktion in der Versuchsgruppe S+ gefunden werden. Es gelten dennoch dieselben einschränkenden Überlegungen über die Aussagekraft des Stresses als Gruppierungsgröße wie unter 5.4.2. Erwähnenswert ist auch der erneute (nicht deutlich ausgeprägte) Anstieg im *freezing* nach Test auf Reizgeneralisierung im Vergleich von Ext 3 und Ext 4. Die kurzzeitige „Erholung“ im neutraleren Kontext hat anscheinend eine Art milde spontane Wiederkehr der konditionierten Reaktion im Sinne einer leichten *spontaneous recovery* hervorgerufen (51).

5.6 *Renewal*

Im Test auf *fear renewal* nach abgeschwächtem *reminder*-Stromschlag zeigte sich ein relevant höheres *freezing* der gestressten Versuchsgruppe S+ ($P < 0,05$). Im Vergleich zum zuletzt durchgeführten Extinktionstraining 5, gab es innerhalb beider Gruppen im internen Vergleich keinen relevanten Unterschied im *freezing* bei *renewal*. Der Gruppenunterschied im *freezing* bestand also auch nach Extinktionstraining fort, allerdings bei annähernd gleich ausgeprägtem *freezing* im Vergleich von Extinktion 5 und *renewal*. Es ist bekannt, dass weibliche Mäuse im Geschlechtervergleich prinzipiell zu einem stärkeren *renewal* tendieren, sodass das negative Ergebnis zudem

überrascht (94). In verschiedenen Studien wurde beschrieben, dass der Zeitabstand der einzelnen Tests einen Effekt auf das Verhalten bei *renewal* hat (100). Zwischen dem hier durchgeführten Test auf *renewal* und der letzten Extinktionssitzung lagen insgesamt 14 Tage. Diese zeitliche Latenz ist vermutlich zu groß, um eine *renewal* noch sinnvoll messen zu können. Das gezeigte *freezing* bei *renewal* deckte sich mit der Erkenntnis mehrerer Autoren, dass Stress vor Erlernen einer bestimmten konditionierten Reaktion zu einer Relativierung ihrer starken Kontextabhängigkeit führen kann (138). In einigen Studien werden bereits erste Erklärungsmodelle für diese Beobachtung vorgeschlagen. Eine Arbeitsgruppe vermutet, dass innerhalb einer gestressten Versuchsgruppe prinzipiell nicht mit einem deutlichen Anstieg von *freezing* bei *renewal* im Traumakontext zu rechnen sei (55, 60). Sie begründen ihre Hypothese mit der Aussage, dass bei bereits zuvor missglückter Extinktion der konditionierten Reaktion im sicheren Kontext eine Diskriminierung der beiden unterschiedlichen Umgebungen ohnehin nie stattgefunden habe, sodass nicht von einem erneuten Einsetzen, sondern dem Fortbestehen der CR ausgegangen werden müsse. Anders verhalte es sich jedoch für eine gesunde, ungestresste Kontrollgruppe. Der Gruppenvergleich in meinen Experimenten erfolgte allerdings nicht mit völlig gesunden Tieren, sondern mit einer Schmerzgruppe. Diese wurde zwar als Kontrollgruppe nicht in gleicher Weise vor Konditionierung gestresst, wie die Versuchstiere, dennoch konnte sie nach Fraktur nicht als gänzlich Stress-naiv gelten. Nach obiger Hypothese sollten dann beide Gruppen im Test auf *renewal* mit reduziertem, oder zumindest mit nicht relevant erhöhtem *freezing* im Vergleich zur letzten Extinktion reagiert haben. Letzteres traf in meinem Experiment für beide Gruppen zu. Außerdem wurde in verschiedenen Studien festgestellt, dass auch die Zeit zwischen den einzelnen Tests einen Effekt auf das Verhalten bei *renewal* hat (100). Zwischen dem hier durchgeführten Test auf *renewal* und der letzten Extinktionssitzung lagen insgesamt 14 Tage. Diese zeitliche Latenz ist zu groß, um eine *renewal* noch sinnvoll messen zu können. Aber auch eine bereits schon einmal vor *renewal* stattgehabte Re-Exposition gegenüber dem CS alleine, (z.B. im Rahmen eines *retrieval trial*, wie er auch in meiner Arbeit an Tag 2 durchgeführt wurde) kann die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines signifikanten *renewal* negativ beeinflussen (94). Diese verschiedenen Einflussfaktoren auf das im Vergleich zu Ext 5 kaum erfolgte *renewal* sollten berücksichtigt werden. Zusammenfassend betrachtet, stehen die Testergebnisse meiner Arbeit in Einklang mit der Mehrzahl der aktuellen Studien. Demnach scheint (nicht nur, aber vor allem) Stress zu einer Abschwächung im Wiederauftreten der CR

in einem dem Extinktionstraining unterschiedlichen Kontext zu führen. Da auch die Gruppe S- als nicht gänzlich frei von Stressauswirkungen betrachtet werden musste, war laut Literatur in keiner der beiden Gruppen ein signifikantes *renewal* der konditionierten Reaktion zu erwarten. Der trotzdem nachweisbare Gruppenunterschied ließ sich augenscheinlich durch das Mehr an Stress in der Versuchsgruppe S+ vor *fear conditioning* erklären, wobei dieselben einschränkenden Überlegungen über die Aussagekraft von Stress als Gruppierungsgröße gelten, wie unter 5.4.2.

5.7 Sensibilitätslevel

In beiden Gruppen ließ sich der zu erwartende Abfall in der Sensibilitätsschwelle nach Fraktur im Von Frey Haar Test deutlich vorfinden. Dieser Abfall war bei beiden Gruppen auf der rechten, frakturierten Seite stärker ausgeprägt als auf der linken Seite. Im Vergleich zwischen den Gruppen ergab sich jedoch kein deutlicher Unterschied. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch eine Studie, welche die mechanische Sensibilitätsschwelle bei Ratten mit einem neuropathischen Schmerzsyndrom im Vergleich zu gesunden Kontrollen untersuchte (131). Es konnte dargestellt werden, dass der beobachtete Unterschied im Von Frey Haar Test erst dann signifikant wurde, wenn man die Tiere nach einem vorangegangenen Extinktionstraining in erfolgreiche versus gescheiterte „Extingierer“ aufteilte. Diejenigen Tiere, die zuvor nicht signifikant extingiert hatten, zeigten eine geringere Reizschwelle im Von Frey Haar Test. Dieser Effekt war nicht mehr nachweisbar, sobald man die Tiere lediglich anhand der Gruppenzuordnung (Schmerzgruppe gegen Kontrollgruppe) verglich. Daher folgerten die Autoren, dass die Extinktionsleistung einen größeren Einfluss auf das mechanische Sensibilitätslevel ausübte, als die Schmerzausprägung zum Messzeitpunkt. In meinem Experiment wurde den Mäusen beider Gruppen eine schmerzhafte Fraktur der Extremität zugefügt, sodass eine Aufteilung in eine Schmerz- und eine gesunde Kontrollgruppe nicht vorgenommen werden konnte. Auch die Extinktionsleistung konnte nicht als Gruppierungsvariable herangezogen werden, da beide Gruppen (S- und S+) nicht signifikant extingierten. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der oben zitierten Studie, ist der fehlende Gruppenunterschied im Von Frey Haar Test wohl vor allem anhand der gruppenübergreifend schlechten Extinktionsleistung zu erklären. Er kann weniger auf unterschiedlich stark ausgeprägte Frakturschmerzen zurückgeführt werden. Im *cold*

water test äußerten sich die Auswirkungen der Fraktur in etwas komplexerer Art: auf der frakturierten Seite stieg die Reaktion auf das eiskalte Wasser im Vergleich zum Ausgangswert in ihrer Intensität deutlich an, auf der linken Seite nahm die Reaktionsintensität ab. Zwar könnte eine rasche Habituation auf das Wasser diskutiert werden, allerdings würde diese nicht zum Zeitpunkt (frisch nach Gipsentfernung) und auch nicht zu den Ergebnissen des Von Frey Haar Tests passen. Möglich wäre auch eine relative Desensibilisierung der gesunden Pfote im Vergleich zur im Vordergrund stehenden erkrankten Pfote. Außerdem konnte zu keinem Testzeitpunkt ein deutlicher Gruppenunterschied festgestellt werden. Hier liegt zum Vergleich eine Studie aus dem Jahre 2012 vor, in welcher ein Ischämie-Reperusions-Modell zur Auslösung eines CRPS angewandt und an mehreren Tagen die thermische Allodynie über Applikation kalter Stimuli untersucht wurde (132). Die Kontrollgruppe bestand aus nicht-CRPS Mäusen. Auch hier konnte kein Gruppenunterschied in der Reaktion auf die Kältereize beobachtet werden, allerdings fand sich zu frühen Testzeitpunkten ein Anstieg der Reaktionsintensität an beiden Hinterpfoten. In meinen Experimenten reagierten die Tiere beider Gruppen S- und S+ an beiden Pfoten mit einer höheren Anzahl an Abwehrreaktionen an Tag 90 als an Tag 28. Diese Beobachtung spricht für eine thermische Allodynie an Tag 90, welche sich in den anderen beiden Tests (im Von Frey Haar Test entsprechend einer mechanischen Allodynie) zum selben Zeitpunkt nicht (mehr) zeigte. Hier kann über die unterschiedliche Anzahl an Testwiederholungen als Ursache spekuliert werden (*cold water test* und Von Frey Haar Test mit $n = 3$; erweiterter *cold water test* mit $n = 2$). Bei der ersten Wiederholung des Von Frey Haar Tests und des *cold water test* reagierten die Tiere auch noch mit einer gesunkenen Sensibilitätsschwelle, sodass die abweichenden Ergebnisse der Erweiterung des *cold water test* an Tag 90 womöglich teilweise auf den zeitlichen Versatz in der Anzahl der Testwiederholungen zurückgeführt werden könnten. Unter Annahme dieser möglichen Erklärung, lässt sich zumindest in den anderen beiden Tests (Von Frey Haar Test und *cold water test*) für alle Tiere am Ende der Experimente eine Rückkehr zum Ausgangswert ihrer Sensibilitätsschwelle beschreiben. Zusammenfassend ergab sich also zu keinem Messzeitpunkt ein relevanter Gruppenunterschied in der thermisch oder mechanisch getesteten Sensibilitätsschwelle. Etwaig noch an Tag 90 vorhandene Frakturschmerzen fanden zumindest in den sensorischen Tests kein Korrelat. Diese Beobachtungen passen zu den Ergebnissen verschiedener Studien, laut denen eine mechanische und thermische Allodynie 6 Wochen nach Fraktur nicht mehr nachweisbar war (102, 103). Einen neuen

Ansatz zur Induktion langanhaltender Allodynie gewährt ein auf chronischer Ischämie basierendes Modell zur Auslösung eines CRPS. In manchen Studien konnte mit dieser Methode auch nach 16 Wochen noch erfolgreich eine mechanische bzw. thermische Allodynie nachgewiesen werden (132). Allerdings liegen auch widersprüchliche Studien zu diesen Ergebnissen vor (133). Letztendlich schließt die fehlende Beobachtung von Allodynie im Von Frey Haar Test und im *cold water test* das potenzielle Vorhandensein von Schmerzen zu diesem Zeitpunkt keinesfalls sicher aus. Es ist möglich, dass sie mit den angewandten Tests lediglich nicht messbar gemacht werden konnten. Insbesondere die primäre Fokussierung der Forschung auf die kutanen Manifestationen des CRPS wird von einer Arbeitsgruppe kritisiert und postuliert, dass durch Untersuchungen der tiefer gelegenen Gewebe (Muskel, Knochen und periphere Nerven) die Pathophysiologie viel besser abgebildet werden könnte (133).

5.8 Stresssymptome

In der Mehrzahl der Tests zur Untersuchung von Stresssymptomen wie Vermeidungsverhalten, sozialem Rückzug oder depressiver Symptomatik ergab sich nur ein tendenziell schlechteres Abschneiden der Versuchsgruppe S+ im Vergleich zur Kontrollgruppe S. Die Ergebnisse deckten sich weitestgehend mit denen einer Arbeitsgruppe, die im Anschluss an ein *fear conditioning* das Vorliegen von PTBS-Symptomen im *social interaction test*, *hole board test* und *forced swim test* untersuchten (120). Auch in deren Experimenten konnte kein signifikanter Unterschied in der Latenz bis zum ersten *head-dip* und der Gesamtzahl der explorierten Löcher im *hole board test* nachgewiesen werden. Auch im *forced swim test* konnte in der Studie kein relevanter Gruppenunterschied von *struggling* und *swimming* nachgewiesen werden. Allerdings konnte ein signifikanter Unterschied in der *floating time* festgestellt werden, den ich in meiner Arbeit nur mit einer Tendenz beobachtet habe. Über die hedonische Bewertung von Nahrung liegt eine Studie vor, die sich mit den hier gemachten Auswertungen des *sucrose preference test* deckt und in der kein Gruppenunterschied zwischen chronisch neuropathisch erkrankten Tieren (trotz Nachweis der Entzündung) und gesunden Kontrollen festgestellt wurde. Die Autoren sahen die Ursache als evolutionsbedingt, da mit einer normalen (und nicht etwa anhedonischen) Reaktion auf Nahrung trotz Schmerzen das Überleben gesichert werden konnte (134). Dennoch möchte ich auch die nur tendenziell ausgeprägten

Unterschiede zwischen den Gruppen an dieser Stelle diskutieren. Ich erachte es als möglich, dass ein Unterschied zwischen den S- und S+-Tieren einmal relevant ausgeprägt war, bspw. direkt nach Stressinduktion in der Versuchsgruppe oder auch noch zum Zeitpunkt vor dem Extinktionstraining. Allerdings wurde in dieser Phase kein Test zur Evaluation der Stresssymptome durchgeführt und der Nachweis eines relevanten Unterschiedes zwischen den Gruppen so möglicherweise verpasst. Umgekehrt ist es auch vorstellbar, dass sich ein wesentlicher Unterschied erst nach den Tests eingestellt hat, und bedingt durch zu frühes Überprüfen noch nicht festgestellt werden konnte. Die dritte Möglichkeit besteht in der Annahme einer tatsächlich rein zufällig unterschiedlichen Ausprägung der Stresssymptome im Vergleich der Gruppen. Außerdem ist die Aussagekraft der gemachten Tests bezüglich des Vorliegens von stressbezogenen Symptomen als eingeschränkt zu betrachten, da bei weitem nicht alle Symptome, welche eine PTBS charakterisieren, getestet wurden. Typische Positivsymptome, wie Schlaflosigkeit, Schreckhaftigkeit, etc., wurden überhaupt nicht überprüft und auch das klinisch eindrückliche Wiedererleben des Traumas in Form von Intrusionen wurde nicht untersucht.

Die Ergebnisse des *social interaction test* sind jedoch hervorzuheben: Die Versuchstiere S+ traten in relevant kürzere Interaktionszeit mit dem Jungtier. Diese Beobachtung wurde auch von einer anderen Arbeitsgruppe bereits gemacht (120). Soziale Isolation hat negativen Einfluss auf die frühe Symptomlast als auch den Langzeitverlauf einer chronischen Schmerzerkrankung (138). Es sollte bedacht werden, dass die gemessene Ungleichheit in der sozialen Interaktion potentiell einem Bias unterliegt: Es sollte berücksichtigt werden, dass die Versuchstiere S+ bereits direkt bei Ankunft im Labor vereinzelt wurden und vor Durchführung dieses Tests nie den Käfig mit weiteren Artgenossen geteilt hatten. Die Kontrolltiere S- waren an diese Situation bis zum Zeitpunkt der Fraktur jedoch gewöhnt, sodass für sie die Konfrontation mit einem weiteren Tier nicht gänzlich neu war. Dieser Umstand hat potenzielle Auswirkungen auf den *social interaction test* und kann die eigentliche Zielgröße „soziales Interesse“ im Sinne einer natürlichen Scheu der Stressgruppe verfälscht haben. Im Menschen wurden die Charaktereigenschaften Introversion versus Extroversion als Mediatoren in der Untersuchung von sozialem Rückzug identifiziert (139, 140).

5.9 Klinische Relevanz und Aussagekraft für den medizinischen Alltag

Von besonderer Bedeutung ist in meinen Augen die kritische Hinterfragung der klinischen Relevanz, die ich einerseits durch die Interpretation meiner Ergebnisse unterstelle, welche aber auch die einschränkende Größe in weiteren Schlussfolgerungen ist. So gilt es, eine statistische Signifikanz von einem praktischen Nutzen in medizinischer Hinsicht zu unterscheiden. Als zentrale Aussage dieser Arbeit ergab sich, dass die Extinktionsleistung sowohl in einer Schmerz- als auch in einer Stress-Kohorte reduziert bzw. ungenügend ist. Dies steht in Einklang mit der deutlichen Mehrzahl an aktuellen Forschungsergebnissen zur Thematik. Es konnte weiterhin dargestellt werden, dass sich eine zusätzlich gestresste von einer ungestressten Schmerzgruppe insofern signifikant unterschied, als dass die Extinktionsleistung noch schlechter ausfiel als in der Kontrollgruppe S-. Die Übertragung auf eine Patientenpopulation und die Einordnung der Konsequenz aus dieser Beobachtung ist jedoch kritisch zu prüfen. Wenn Stress und Schmerz als eine einfach addierbare Summe an Krankheitsausprägung aufzufassen wären, und ab einem eindeutigen Schwellenwert Extinktionsversuche mit Sicherheit scheitern würden, dann könnte der Zusammenhang formuliert werden: Übersteigen komorbider Stress und Schmerz in ihrem kumulativen Ausmaß die Potenz von Extinktion als erfolgreicher Strategie zur Krankheitsbewältigung, dann kommt es zur Symptomchronifizierung. Ein derartig undurchsichtiges Zusammenspiel zweier komplexer Krankheitsbilder auf eine solch einfache Gleichung zu reduzieren, wäre sicher vermessen. Es existiert keine allgemein gültige Schwelle in der Ausprägung einer konditionierten Reaktion, deren Überschreiten Extinktionsbestreben wirkungslos machen und zu einer Chronifizierung der Beschwerden führen würde. Geschweige denn steht ein Messinstrument zur Verfügung, mit dem ein solcher cut-off-Wert objektivierbar gemacht werden könnte. In der Bewältigung, Aufarbeitung und schließlich Lösung einer Belastung, greifen Patienten nicht nur auf Extinktion als Copingstrategie zurück, sondern auch auf unzählige, dem außenstehenden Betrachter (z.B. dem Arzt) verborgene individuelle Ressourcen. Diese – positiven wie negativen – Ressourcen modulieren die Fähigkeit zu erfolgreicher Extinktion eines jeden Patienten und können schwer in einem Tiermodell abgebildet und verstanden werden. Passend zu diesen Überlegungen wies das aufgestellte lineare Regressionsmodell, in dem als Einflussvariablen auf das *freezing*-Verhalten nur Zeit und Stress (S-/S+) berücksichtigt wurden, eine Aussagekraft von lediglich ca. 11 % auf. Der Großteil des

Gruppenunterschiedes konnte anhand dieses Modells nicht erklärt werden. Ein „wenn, dann“-Zusammenhang, bspw. Im Sinne von „wenn mehr Stress, dann stärkerer Schmerz“ oder „wenn mehr Stress, dann länger Schmerz“, lässt sich nicht aufstellen. Trotzdem ist es aber möglich, dass Patienten, die bei alleiniger Schmerzexposition noch über ausreichende Resilienz verfügt hätten, bei Hinzutreten weiterer belastender Umstände, wie etwa vorausgegangenem Stress, „dekompensieren“ und es bei ihnen so zur Symptomchronifizierung kommt. In Anbetracht der Summe aus mehreren Belastungsfaktoren erweisen sich ihre Bewältigungsstrategien als nicht mehr ausreichend. Umgekehrt kann jedoch nicht behauptet werden, dass ohne vorangehenden Stress der Schmerz folglich nicht chronifiziert wäre. Ob also Stress das Zünglein an der Waage ist, der bis dahin kompensierte in anschließend chronifizierte Schmerzsymptome umschlagen lässt, kann nicht mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden. Gewiss trägt er aber nicht zu einer Verbesserung der Krankheitssituation bei. Bei Patienten mit PTBS-ähnlichen Stresssymptomen und (drohender) Schmerzerkrankung lässt dies folgende zwei Schlüsse zu: Befindet sich ein gestresster Patient noch in der Akutphase einer Erkrankung, die potenziell oder charakteristischerweise risikobehaftet ist für die Entstehung eines chronischen Schmerzsyndroms, so sollte dieser Stress mithilfe eines Experten aufgearbeitet und therapiert werden. Womöglich kann so eine individuelle Risikoreduktion erreicht und das Auftreten einer chronischen Schmerzerkrankung (deren Auftreten zu diesem Zeitpunkt nur vermutet bzw. befürchtet werden kann) weniger wahrscheinlich werden. Befindet sich ein gestresster Patient aber bereits im Stadium chronischer Schmerzen, dann reicht die alleinige Schmerzbehandlung nicht aus, um den Patienten wieder zur erfolgreichen Anwendung seiner Copingstrategien zu befähigen. Vielmehr müssen dann zusätzlich auch die Krankheitsfolgen der Stressbelastung behandelt werden. Für beide Erkrankungen stehen bereits Therapieansätze in Form von angewandtem Extinktionstraining, nämlich aktiver Exposition, zur Verfügung (71). Womöglich kann sich der Effekt auf den Erkrankungsverlauf so potenzieren und zu einer schnelleren oder suffizienteren Erholung führen. Eine Herausforderung ist es dabei, die möglicherweise hinter der im Vordergrund stehenden Schmerzerkrankung verborgenen Stresssymptome aufzudecken und sie in ein Gesamtbild mit den Schmerzen zu rücken. Häufig wird dazu die aktive Exploration durch den Arzt notwendig sein. Dieser Aufgabe haben sich die Autoren Speck et al. bereits mithilfe eines Symptomfragebogens angenommen und dabei Erkenntnisse gewonnen, die - nicht zuletzt im Rahmen dieser Arbeit - zu weiterer

Forschung anregen. Das Wissen um die hohe Komorbidität der beiden Erkrankungen und eine Sensitivierung gegenüber ihrer komplexen Verbindung ist Grundlage für ihr weiteres Verständnis. Mutmaßlich wird es dann auch möglich sein, Stresspatienten noch im Akutstadium ihres komorbiden Schmerzes zu identifizieren, nach ihrem Chronifizierungsrisiko zu stratifizieren und einer adäquaten Behandlung zuzuführen, welche idealerweise multimodal angelegt ist. Der gefürchtete Übergang in ein chronisches Schmerzsyndrom kann so möglicherweise in manchen Fällen verhindert werden.

6 Zusammenfassung

Chronischer Stress vor einem Schmerzereignis kann zu einer schlechteren Extinktion einer konditionierten Reaktion führen und so als ein kausaler Risikofaktor in der Pathogenese von chronischen Schmerzerkrankungen und persistierendem Schmerzverhalten gelten.

Da 38% der von unserer Arbeitsgruppe untersuchten CRPS-Patienten (im Vergleich zu 10 % Patienten mit reinen Gliederschmerzen und 4% der gesunden Kontrollgruppe) die Kriterien für die Diagnose einer PTBS erfüllten, bei der das auslösende belastende Ereignis zeitlich vor der CRPS-Erkrankung lag (Speck et al., 2017), wurde in dieser Arbeit im Tiermodell, das einen prospektiven Ansatz erlaubt, untersucht, ob ein kausaler Zusammenhang im Auftreten der beiden Krankheiten besteht. Dazu wurden zwei Tiergruppen miteinander verglichen, welche beide einer Frakturierung der Tibia unterzogen wurden, wobei nur in einer Gruppe (Versuchsgruppe S+) vor der Fraktur zusätzlich chronischer Stress induziert wurde. Die Extinktion einer konditionierten Reaktion wurde nach geheilter Fraktur gemessen, um Resilienz und Rehabilitation versus Vulnerabilität und Chronifizierung untersuchen zu können. Die ungestresste Tiergruppe zeigte eine bessere Extinktionsleistung. Stress vor einem Schmerzereignis kann demnach die Extinktion einer maladaptiven konditionierten Reaktion hemmen. Dies unterstreicht die Bedeutung gestörter Extinktion sowohl in der Pathogenese von chronischem Schmerz als auch von chronischem Stress.

Außer der geminderten Extinktionsfähigkeit wurde bei der gestressten Tiergruppe sozialer Rückzug festgestellt. Die Tierexperimente bekräftigen die Wichtigkeit der Behandlung der sozialen Isolation chronisch schmerzkranker Patienten zur Verbesserung der emotionalen und psychischen Funktionsfähigkeit. Ein stabiles soziales Netzwerk ist somit ein protektiver Faktor für chronischen Schmerz und sollte in der multimodalen Behandlung gefördert werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Liedl A, Knaevelsrud C. PTBS und chronische Schmerzen: Entstehung, Aufrechterhaltung und Zusammenhang – ein Überblick. *Der Schmerz*. 2008;22(6):644.
2. International Association for the Study of Pain. Classification of Chronic Pain [Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definition of Pain Terms. Second Edition.]: IASP Press; 1994 [cited 2018-05-11. Available from: <https://s3.amazonaws.com/rdcms-iasp/files/production/public/Content/ContentFolders/Publications2/FreeBooks/Classification-of-Chronic-Pain.pdf>.
3. Vlaeyen JW. Learning to predict and control harmful events: chronic pain and conditioning. *Pain*. 2015;156 Suppl 1:S86-93.
4. Guthmiller KB, Dulebohn SC. Pain, Complex Regional Pain Syndrome (Reflex Sympathetic Dystrophy, RSD, CRPS). *StatPearls*. Treasure Island (FL)2018.
5. Bruehl S. An update on the pathophysiology of complex regional pain syndrome. *Anesthesiology*. 2010;113(3):713-25.
6. Harden RN, Bruehl S, Stanton-Hicks M, Wilson PR. Proposed new diagnostic criteria for complex regional pain syndrome. *Pain Med*. 2007;8(4):326-31.
7. Birklein F, Riedl B, Sieweke N, Weber M, Neundorfer B. Neurological findings in complex regional pain syndromes--analysis of 145 cases. *Acta Neurol Scand*. 2000;101(4):262-9.
8. Marinus J, Moseley GL, Birklein F, Baron R, Maihofner C, Kingery WS, et al. Clinical features and pathophysiology of complex regional pain syndrome. *Lancet Neurol*. 2011;10(7):637-48.
9. Lesky J. Die „Sudeck-Persönlichkeit“: Mythos und Fiktion. *Z Orthop Unfall*. 2010;148(6):716-22.
10. Rommel O, Willweber-Strumpf A, Wagner P, Surall D, Malin JP, Zenz M. Psychische Veränderungen bei Patienten mit komplexem regionalem Schmerzsyndrom (CRPS). *Schmerz*. 2005;19(4):272-84.
11. Harden RN, Bruehl S, Perez RS, Birklein F, Marinus J, Maihofner C, et al. Development of a severity score for CRPS. *Pain*. 2010;151(3):870-6.
12. Giummarra MJ, Casey SL, Devlin A, Ioannou LJ, Gibson SJ, Georgiou-Karistianis N, et al. Co-occurrence of posttraumatic stress symptoms, pain, and disability 12 months after traumatic injury. *Pain Rep*. 2017;2(5):e622.
13. Bryant RA, Marosszeky JE, Crooks J, Baguley IJ, Gurka JA. Interaction of posttraumatic stress disorder and chronic pain following traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*. 1999;14(6):588-94.
14. Flatten G, Gast U, Hofmann A, Knaevelsrud C, Lampe A, Liebermann P, et al. S3 – LEITLINIE Posttraumatische Belastungsstörung ICD-10: F43.1. *Trauma & Gewalt*. 2011;5(3):202-10.
15. Krollner B. F43.- Reaktionen auf schwere Belastungen und Anpassungsstörungen [ICD-10-GM Version 2018 Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision - German Modification -]: Deutschen Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG); 2018 [cited 2018-05-11. Available from: <http://www.icd-code.de/icd/code/F43.1.html>].
16. Pausch MJ, Matten, S. J. Trauma und Posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) – Definition, Einteilung, Epidemiologie und Geschichte. *Trauma und Traumafolgestörung in Medien, Management und Öffentlichkeit* © Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH 2018,. 2018.
17. Sharp TJ, Harvey AG. Chronic pain and posttraumatic stress disorder: mutual maintenance? *Clin Psychol Rev*. 2001;21(6):857-77.
18. Speck V, Schlereth T, Birklein F, Maihofner C. Increased prevalence of posttraumatic stress disorder in CRPS. *European journal of pain (London, England)*. 2017;21(3):466-73.
19. Birklein F, Dimova V. Complex regional pain syndrome-up-to-date. *Pain Rep*. 2017;2(6):e624.
20. Birklein F, Ajit SK, Goebel A, Perez R, Sommer C. Complex regional pain syndrome - phenotypic characteristics and potential biomarkers. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(5):272-84.

21. Pons T, Shipton EA, Williman J, Mulder RT. Potential risk factors for the onset of complex regional pain syndrome type 1: a systematic literature review. *Anesthesiol Res Pract.* 2015;2015:956539.
22. Stanton-Hicks M, Janig W, Hassenbusch S, Haddock JD, Boas R, Wilson P. Reflex sympathetic dystrophy: changing concepts and taxonomy. *Pain.* 1995;63(1):127-33.
23. Bruehl S. Complex regional pain syndrome. *BMJ.* 2015;351:h2730.
24. Ott S, Maihofner C. Signs and Symptoms in 1,043 Patients with Complex Regional Pain Syndrome. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society.* 2018.
25. Urits I, Shen AH, Jones MR, Viswanath O, Kaye AD. Complex Regional Pain Syndrome, Current Concepts and Treatment Options. *Curr Pain Headache Rep.* 2018;22(2):10.
26. Harden RN, Bruehl S, Perez RS, Birklein F, Marinus J, Maihofner C, et al. Validation of proposed diagnostic criteria (the "Budapest Criteria") for Complex Regional Pain Syndrome. *Pain.* 2010;150(2):268-74.
27. Birklein F, Neurologie DGf. Diagnostik und Therapie komplexer regionaler Schmerzsyndrome (CRPS): Deutsche Gesellschaft für Neurologie 2012 [cited 2018-05-11. Available from: https://www.dgn.org/images/red_leitlinien/LL_2012/pdf/ll_63_2012_regionale_schmerzsyndrome_crps.pdf.
28. Dilek B, Yemez B, Kizil R, Kartal E, Gulbahar S, Sari O, et al. Anxious personality is a risk factor for developing complex regional pain syndrome type I. *Rheumatol Int.* 2012;32(4):915-20.
29. Feliu MH, Edwards CL. Psychologic factors in the development of complex regional pain syndrome: history, myth, and evidence. *Clin J Pain.* 2010;26(3):258-63.
30. Hill RJ, Chopra P, Richardi T. Rethinking the psychogenic model of complex regional pain syndrome: somatoform disorders and complex regional pain syndrome. *Anesth Pain Med.* 2012;2(2):54-9.
31. Beerthuizen A, van 't Spijker A, Huygen FJ, Klein J, de Wit R. Is there an association between psychological factors and the Complex Regional Pain Syndrome type 1 (CRPS1) in adults? A systematic review. *Pain.* 2009;145(1-2):52-9.
32. Lohnberg JA, Altmaier EM. A review of psychosocial factors in complex regional pain syndrome. *J Clin Psychol Med Settings.* 2013;20(2):247-54.
33. Bruehl S, Chung OY. Psychological and behavioral aspects of complex regional pain syndrome management. *Clin J Pain.* 2006;22(5):430-7.
34. Geertzen JH, de Bruijn-Kofman AT, de Bruijn HP, van de Wiel HB, Dijkstra PU. Stressful life events and psychological dysfunction in Complex Regional Pain Syndrome type I. *Clin J Pain.* 1998;14(2):143-7.
35. Asmundson GJ, Coons MJ, Taylor S, Katz J. PTSD and the experience of pain: research and clinical implications of shared vulnerability and mutual maintenance models. *Can J Psychiatry.* 2002;47(10):930-7.
36. Berger J, Hasse F, Herwede A, Krusemark D, Schuh A. Diagnostik von PTBS (posttraumatische Belastungsstörung): Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, ; 2010 [cited 2018-05-11. Available from: <https://www.psychologie.uni-freiburg.de/studium.lehre/bachelor.of.science/skripte/frueheresem.html/lpm/lpmlinster/PTBS>.
37. Poundja J, Fikretoglu D, Brunet A. The co-occurrence of posttraumatic stress disorder symptoms and pain: is depression a mediator? *J Trauma Stress.* 2006;19(5):747-51.
38. Villano CL, Rosenblum A, Magura S, Fong C, Cleland C, Betzler TF. Prevalence and correlates of posttraumatic stress disorder and chronic severe pain in psychiatric outpatients. *J Rehabil Res Dev.* 2007;44(2):167-78.
39. Otis JD, Keane TM, Kerns RD. An examination of the relationship between chronic pain and post-traumatic stress disorder. *J Rehabil Res Dev.* 2003;40(5):397-405.
40. Asmundson GJ. The emotional and physical pains of trauma: contemporary and innovative approaches for treating co-occurring PTSD and chronic pain. *Depress Anxiety.* 2014;31(9):717-20.
41. Liedl A, O'Donnell M, Creamer M, Silove D, McFarlane A, Knaevelsrud C, et al. Support for the mutual maintenance of pain and post-traumatic stress disorder symptoms. *Psychol Med.* 2010;40(7):1215-23.

42. Lethem J, Slade PD, Troup JD, Bentley G. Outline of a Fear-Avoidance Model of exaggerated pain perception--I. *Behav Res Ther.* 1983;21(4):401-8.
43. Norton PJ, Asmundson GJG. Amending the fear-avoidance model of chronic pain: What is the role of physiological arousal? *Behavior Therapy.* 2003;34(1):17-30.
44. Pavlov PI. Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. *Annals of Neurosciences.* 2010;17(3):136-41.
45. Dunsmoor JE, Niv Y, Daw N, Phelps EA. Rethinking Extinction. *Neuron.* 2015;88(1):47-63.
46. Bouton ME. Context, ambiguity, and unlearning: sources of relapse after behavioral extinction. *Biological psychiatry.* 2002;52(10):976-86.
47. Engelhard IM, de Jong PJ, van den Hout MA, van Overveld M. Expectancy bias and the persistence of posttraumatic stress. *Behaviour Research and Therapy.* 2009;47(10):887-92.
48. Wicking M, Steiger F, Nees F, Diener SJ, Grimm O, Ruttorf M, et al. Deficient fear extinction memory in posttraumatic stress disorder. *Neurobiology of Learning and Memory.* 2016;136:116-26.
49. Bouton ME. Context and behavioral processes in extinction. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY).* 2004;11(5):485-94.
50. Careaga MBL, Girardi CEN, Suchecki D. Understanding posttraumatic stress disorder through fear conditioning, extinction and reconsolidation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2016;71:48-57.
51. Rescorla RA. Spontaneous recovery. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY).* 2004;11(5):501-9.
52. Rescorla RA, Wagner A. A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement 1972.
53. Pearce JM, Hall G. A model for Pavlovian learning: variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. *Psychological review.* 1980;87(6):532-52.
54. Dunsmoor JE, Murphy GL. Categories, Concepts, and Conditioning: How Humans Generalize Fear. *Trends in cognitive sciences.* 2015;19(2):73-7.
55. Keane T, T. Zimering R, M. Caddell J. A behavioral formulation of Posttraumatic Stress Disorder in Vietnam veterans 1985. 9-12 p.
56. Foa EB, Steketee G, Rothbaum BO. Behavioral/cognitive conceptualizations of post-traumatic stress disorder. *Behavior Therapy.* 1989;20(2):155-76.
57. Meulders A, Meulders M, Stouten I, De Bie J, Vlaeyen JW. Extinction of Fear Generalization: A Comparison Between Fibromyalgia Patients and Healthy Control Participants. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society.* 2017;18(1):79-95.
58. Blechert J, Michael T, Vriends N, Margraf J, Wilhelm FH. Fear conditioning in posttraumatic stress disorder: Evidence for delayed extinction of autonomic, experiential, and behavioural responses. *Behaviour Research and Therapy.* 2007;45(9):2019-33.
59. Sijbrandij M, Engelhard IM, Lommen MJJ, Leer A, Baas JMP. Impaired fear inhibition learning predicts the persistence of symptoms of posttraumatic stress disorder (PTSD). *Journal of Psychiatric Research.* 2013;47(12):1991-7.
60. Tanja J, D. NS, Q. BN, Michael D, Erica D, Bekh B, et al. Impaired fear inhibition is a biomarker of PTSD but not depression. *Depression and Anxiety.* 2010;27(3):244-51.
61. Orr SP, Metzger LJ, Lasko NB, Macklin ML, Peri T, Pitman RK. De novo conditioning in trauma-exposed individuals with and without posttraumatic stress disorder. *Journal of abnormal psychology.* 2000;109(2):290-8.
62. Azad SC, Ziegglänsberger W. Was wissen wir über die Chronifizierung von Schmerz? *Der Schmerz.* 2003;17(6):441-4.
63. Vlaeyen JW, Linton SJ. Fear-avoidance model of chronic musculoskeletal pain: 12 years on. *Pain.* 2012;153(6):1144-7.
64. Elsenbruch S, Wolf OT. Could Stress Contribute to Pain-Related Fear in Chronic Pain? *Frontiers in Behavioral Neuroscience.* 2015;9(340).
65. Biggs EE, Meulders A, Kaas AL, Goebel R, Vlaeyen JWS. The Acquisition and Extinction of Fear of Painful Touch: A Novel Tactile Fear Conditioning Paradigm. *The Journal of Pain.* 2017.

66. K. K, A. M, R. G, H.A.M. S, R.P.G. G, J.W.S. V. Fear of pain changes movement: Motor behaviour following the acquisition of pain - related fear. *European Journal of Pain*. 2017;21(8):1432-42.
67. Hasenbring M, Hallner D, Klasen B. Psychologische Mechanismen im Prozess der Schmerzchronifizierung. *Der Schmerz*. 2001;15(6):442-7.
68. Flor H, Knost B, Birbaumer N. The role of operant conditioning in chronic pain: an experimental investigation. *Pain*. 2002;95(1-2):111-8.
69. Myers KM, Davis M. Mechanisms of fear extinction. *Molecular Psychiatry*. 2006;12:120.
70. Icenhour A, Langhorst J, Benson S, Schlamann M, Hampel S, Engler H, et al. Neural circuitry of abdominal pain-related fear learning and reinstatement in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterology & Motility*. 2015;27(1):114-27.
71. de Jong JR, Vlaeyen JW, Onghena P, Cuypers C, den Hollander M, Ruijgrok J. Reduction of pain-related fear in complex regional pain syndrome type I: the application of graded exposure in vivo. *Pain*. 2005;116(3):264-75.
72. Meulders A, Meulders M, Vlaeyen JWS. Positive Affect Protects Against Deficient Safety Learning During Extinction of Fear of Movement-Related Pain in Healthy Individuals Scoring Relatively High on Trait Anxiety. *The Journal of Pain*. 2014;15(6):632-44.
73. Brewin CR, Andrews B, Valentine JD. Meta-analysis of risk factors for posttraumatic stress disorder in trauma-exposed adults. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. 2000;68(5):748-66.
74. Pibiri F, Nelson M, Guidotti A, Costa E, Pinna G. Decreased corticolimbic allopregnanolone expression during social isolation enhances contextual fear: A model relevant for posttraumatic stress disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(14):5567-72.
75. Lisieski MJ, Eagle AL, Conti AC, Liberzon I, Perrine SA. Single-Prolonged Stress: A Review of Two Decades of Progress in a Rodent Model of Post-traumatic Stress Disorder. *Frontiers in Psychiatry*. 2018;9:196.
76. Berardi A, Trezza V, Palmery M, Trabace L, Cuomo V, Campolongo P. An updated animal model capturing both the cognitive and emotional features of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014;8:142.
77. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*. 1985;85(3):367-70.
78. Yamamoto S, Morinobu S, Takei S, Fuchikami M, Matsuki A, Yamawaki S, et al. Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety*. 2009;26(12):1110-7.
79. Landgraf D, Long J, Der-Avakian A, Streets M, Welsh DK. Dissociation of learned helplessness and fear conditioning in mice: a mouse model of depression. *PLoS One*. 2015;10(4):e0125892.
80. Dal-Zotto S, Martí O, Armario A. Glucocorticoids are involved in the long-term effects of a single immobilization stress on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28(8):992-1009.
81. Armario A, Escorihuela RM, Nadal R. Long-term neuroendocrine and behavioural effects of a single exposure to stress in adult animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2008;32(6):1121-35.
82. Wang H, Zuo D, He B, Qiao F, Zhao M, Wu Y. Conditioned fear stress combined with single-prolonged stress: A new PTSD mouse model. *Neuroscience Research*. 2012;73(2):142-52.
83. Baldi E, Bucherelli C. Entorhinal cortex contribution to contextual fear conditioning extinction and reconsolidation in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2014;110:64-71.
84. Shoji H, Takao K, Hattori S, Miyakawa T. Contextual and Cued Fear Conditioning Test Using a Video Analyzing System in Mice. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*. 2014(85):50871.
85. Daviu N, Fuentes S, Nadal R, Armario A. A single footshock causes long-lasting hypoactivity in unknown environments that is dependent on the development of contextual fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2010;94(2):183-90.
86. Louvart H, Maccari S, Ducrocq F, Thomas P, Darnaudéry M. Long-term behavioural alterations in female rats after a single intense footshock followed by situational reminders. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(4):316-24.

87. Kutlu MG, Gould TJ. Acute nicotine delays extinction of contextual fear in mice. *Behavioural Brain Research*. 2014;263:133-7.
88. Andreatta M, Leombruni E, Glotzbach-Schoon E, Pauli P, Muhlberger A. Generalization of Contextual Fear in Humans. *Behav Ther*. 2015;46(5):583-96.
89. Park CHJ, Ganella DE, Kim JH. A dissociation between renewal and contextual fear conditioning in juvenile rats. *Developmental Psychobiology*. 2017;59(4):515-22.
90. Do-Monte FH, Quinones-Laracuente K, Quirk GJ. A temporal shift in the circuits mediating retrieval of fear memory. *Nature*. 2015;519(7544):460-3.
91. Liu J, Zhao L, Xue Y, Shi J, Suo L, Luo Y, et al. An Unconditioned Stimulus Retrieval Extinction Procedure to Prevent the Return of Fear Memory. *Biological psychiatry*. 2014;76(11):895-901.
92. Lockhart RS. Memory Retrieval. In: Smelser NJ, Baltes PB, editors. *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences*. Oxford: Pergamon; 2001. p. 9613-8.
93. Kim JH, Richardson R. A developmental dissociation in reinstatement of an extinguished fear response in rats. *Neurobiol Learn Mem*. 2007;88(1):48-57.
94. Goode TD, Maren S. Animal Models of Fear Relapse. *ILAR Journal*. 2014;55(2):246-58.
95. Bouton ME, Bolles RC. Role of conditioned contextual stimuli in reinstatement of extinguished fear. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. 1979;5(4):368-78.
96. Zelikowsky M, Pham DL, Fanselow MS. Temporal factors control hippocampal contributions to fear renewal after extinction. *Hippocampus*. 2012;22(5):1096-106.
97. Huckleberry KA, Ferguson LB, Drew MR. Behavioral mechanisms of context fear generalization in mice. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)*. 2016;23(12):703-9.
98. Radulovic J, Kammermeier J, Spiess J. Generalization of fear responses in C57BL/6N mice subjected to one-trial foreground contextual fear conditioning. *Behav Brain Res*. 1998;95(2):179-89.
99. Urcelay GP, Wheeler DS, Miller RR. Spacing extinction trials alleviates renewal and spontaneous recovery. *Learning & behavior*. 2009;37(1):60-73.
100. Kim JH, Richardson R. Expression of renewal is dependent on the extinction-test interval rather than the acquisition-extinction interval. *Behavioral neuroscience*. 2009;123(3):641-9.
101. Holstein JH, Matthys R, Histing T, Becker SC, Fiedler M, Garcia P, et al. Development of a Stable Closed Femoral Fracture Model in Mice. *Journal of Surgical Research*. 2009;153(1):71-5.
102. Fusco R, Gugliandolo E, Campolo M, Evangelista M, Di Paola R, Cuzzocrea S. Effect of a new formulation of micronized and ultramicronized N-palmitoylethanolamine in a tibia fracture mouse model of complex regional pain syndrome. *PLoS ONE*. 2017;12(6):e0178553.
103. Guo TZ, Wei T, Shi X, Li WW, Hou S, Wang L, et al. Neuropeptide deficient mice have attenuated nociceptive, vascular, and inflammatory changes in a tibia fracture model of complex regional pain syndrome. *Molecular pain*. 2012;8:85.
104. Li W, Sabsovich I, Guo T-Z, Zhao R, Kingery WS, Clark JD. The role of enhanced cutaneous IL-1 β signaling in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome. *Pain*. 2009;144(3):303-13.
105. Kingery WS. Role of Neuropeptide, Cytokine, and Growth Factor Signaling in Complex Regional Pain Syndrome. *Pain Medicine*. 2010;11(8):1239-50.
106. Chrastil J, Sampson C, Jones KB, Higgins TF. Postoperative Opioid Administration Inhibits Bone Healing in an Animal Model. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2013;471(12):4076-81.
107. Degos V, Maze M, Vacas S, Hirsch J, Guo Y, Shen F, et al. Bone Fracture Exacerbates Murine Ischemic Cerebral Injury. *Anesthesiology*. 2013;118(6):1362-72.
108. Buzdon MM, Napolitano LM, Shi H-J, Ceresoli DM, Rauniya R, Bass BL. Femur Fracture Induces Site-Specific Changes in T-Cell Immunity. *Journal of Surgical Research*. 1999;82(2):201-8.
109. Li C, Ominsky MS, Tan H-L, Barrero M, Niu Q-T, Asuncion FJ, et al. Increased callus mass and enhanced strength during fracture healing in mice lacking the sclerostin gene. *Bone*. 2011;49(6):1178-85.
110. Hirsch S, Ibrahim A, Krämer L, Escolano-Lozano F, Schlereth T, Birklein F. Bone Trauma Causes Massive but Reversible Changes in Spinal Circuitry. *The Journal of Pain*. 2017;18(4):468-76.
111. Schmerz DFN. Quantitativ Sensorische Testung (QST) [cited 2018-09-03. Available from: <http://www.neuropathischer-schmerz.de/patienten/QST.html#def>.

112. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods*. 1994;53(1):55-63.
113. Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 1980;20:441-62.
114. Guo TZ, Shi X, Li WW, Wei T, Clark JD, Kingery WS. Passive transfer autoimmunity in a mouse model of complex regional pain syndrome. *Pain*. 2017;158(12):2410-21.
115. Park HJ, Lee HG, Kim YS, Lee JY, Jeon JP, Park C, et al. Ginkgo biloba Extract Attenuates Hyperalgesia in a Rat Model of Vincristine-Induced Peripheral Neuropathy. *Anesthesia & Analgesia*. 2012;115(5):1228-33.
116. Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kim SH, Chung JM. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*. 1994;59(3):369-76.
117. Wei F, Zou S, Young A, Dubner R, Ren K. Effects of four herbal extracts on adjuvant-induced inflammation and hyperalgesia in rats. *Journal of alternative and complementary medicine (New York, NY)*. 1999;5(5):429-36.
118. Siegmund A. Spuren eines Traumas - Die Entwicklung eines Tiermodells der Posttraumatischen Belastungsstörung. Schwarting RK, editor: Philipps-Universität Marburg; 2006.
119. de Angelis L, File SE. Acute and chronic effects of three benzodiazepines in the social interaction anxiety test in mice. *Psychopharmacology*. 1979;64(2):127-9.
120. Siegmund A, Wotjak CT. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *Journal of Psychiatric Research*. 2007;41(10):848-60.
121. Vučković MG, Wood RI, Holschneider DP, Abernathy A, Togasaki DM, Smith A, et al. Memory, mood, dopamine, and serotonin in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. *Neurobiology of Disease*. 2008;32(2):319-27.
122. Karl T, Pabst R, von Horsten S. Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie*. 2003;55(1):69-83.
123. Kasımay Cakir O, Ellek N, Salehin N, Hamamcı R, Keleş H, Kayalı DG, et al. Protective effect of low dose caffeine on psychological stress and cognitive function. *Physiology & Behavior*. 2017;168:1-10.
124. do-Rego J-C, Viana AF, Le Maître E, Deniel A, Rates SMK, Leroux-Nicollet I, et al. Comparisons between anxiety tests for selection of anxious and non anxious mice. *Behavioural Brain Research*. 2006;169(2):282-8.
125. Venzala E, García-García AL, Elizalde N, Tordera RM. Social vs. environmental stress models of depression from a behavioural and neurochemical approach. *European Neuropsychopharmacology*. 2013;23(7):697-708.
126. Elizalde N, Gil-Bea FJ, Ramírez MJ, Aisa B, Lasheras B, Del Rio J, et al. Long-lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice: effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology*. 2008;199(1):1.
127. Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The Mouse Forced Swim Test. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*. 2012(59):3638.
128. Chen L, Faas GC, Ferando I, Mody I. Novel insights into the behavioral analysis of mice subjected to the forced-swim test. *Translational Psychiatry*. 2015;5(4):e551.
129. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977;266:730.
130. Lissek S, Powers AS, McClure EB, Phelps EA, Woldehawariat G, Grillon C, et al. Classical fear conditioning in the anxiety disorders: a meta-analysis. *Behaviour Research and Therapy*. 2005;43(11):1391-424.
131. Ji G, Yakhnitsa V, Kiritoshi T, Presto P, Neugebauer V. Fear extinction learning ability predicts neuropathic pain behaviors and amygdala activity in male rats. *Molecular pain*. 2018;14:1744806918804441.
132. Ludwig J, Gorodetskaya N, Schattschneider J, Janig W, Baron R. Behavioral and sensory changes after direct ischemia-reperfusion injury in rats. *European journal of pain (London, England)*. 2007;11(6):677-84.

133. Coderre TJ, Bennett GJ. A hypothesis for the cause of complex regional pain syndrome-type I (reflex sympathetic dystrophy): pain due to deep-tissue microvascular pathology. *Pain medicine (Malden, Mass)*. 2010;11(8):1224-38.
134. Okun A, McKinzie DL, Witkin JM, Remeniuk B, Husein O, Gleason SD, et al. Hedonic and motivational responses to food reward are unchanged in rats with neuropathic pain. *Pain*. 2016;157(12):2731-8.
135. Westbrook RF, Smith FJ, Charnock DJ. The extinction of an aversion: Role of the interval between non-reinforced presentations of the averted stimulus. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*. 1985;37(3):255-73.
136. Poulos AM, Mehta N, Lu B, Amir D, Livingston B, Santarelli A, et al. Conditioning- and time-dependent increases in context fear and generalization. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)*. 2016;23(7):379-85.
137. Heinrichs SC, Koob GF. Application of experimental stressors in laboratory rodents. *Current protocols in neuroscience*. 2006;Chapter 8:Unit8.4.
138. Drexler SM, Merz CJ, Wolf OT. Preextinction Stress Prevents Context-Related Renewal of Fear. *Behav Ther*. 2018;49(6):1008-19.
139. Bannon S, Greenberg J, Mace RA, Locascio JJ, Vranceanu AM. The role of social isolation in physical and emotional outcomes among patients with chronic pain. *Gen Hosp Psychiatry*. 2021 Mar-Apr;69:50-54.
140. Flowers KM, Colebaugh CA, Hruschak V, Azizoddin DR, Meints SM, Jamison RN, Wilson JM, Edwards RR, Schreiber KL. Introversion, Extraversion, and Worsening of Chronic Pain Impact during Social Isolation: A Mediation Analysis. *J Clin Psychol Med Settings*. 2023 Sep;30(3):531-542.

IV Anhang

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Eva Carolin Altmeier
 Geburtsdatum / -ort: 16.06.1994 in Saarlouis
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Familienstand: ledig

Beruf:

Seit Juli 2020: Assistenzärztin Neurologie am Klinikum Saarbrücken
 Von August 2023 bis Januar 2024 intensivmedizinische Rotation am Klinikum Saarbrücken
 Seit August 2024 in Rotation zur Weiterbildung in der Psychiatrie der SHG Klinik Saarbrücken, der Sonnenberg

Praktisches Jahr (Mai 2019 – April 2020)

Erstes Tertial: Innere Medizin, Universitätsmedizin Mainz
 Zweites Tertial: Neurologie, Klinikum Stuttgart
 Drittes Tertial: Chirurgie, Evangelisches Diakoniekrankenhaus Freiburg

Ausbildung:

April 2014 - **Johannes-Gutenberg-Universität Mainz**
 April 2020 Studium der Humanmedizin
 - Physikum (M1) im März 2016
 - Schriftliches Staatsexamen (M2) im April 2019
 - Mündliches Staatsexamen (M3) im Mai 2020

Oktober 2012 – Universität des Saarlandes
 Oktober 2013 Lehramtsstudium (Englisch, Spanisch)

September 2004 – Albert-Schweizer-Gymnasium Dillingen (Saar)
 Juni 2012 Abitur im Juni 2012

Weitere Fähigkeiten und Kenntnisse

Sprachkenntnisse: Deutsch, Muttersprache
 Englisch, fließend in Wort und Schrift
 Spanisch, fließend in Wort und Schrift
 Französisch, Grundkenntnisse