

Jonas Tesarz

Dr. med.

## **Unterschiede in der spinalen Expression von c-Fos und FosB-immunreaktiven Neuronen im Rückenmark der Ratte nach Reizung von nozizeptiven Fasern der Haut und des Muskels**

Promotionsfach: Anatomie und Zellbiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Siegfried Mense

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung eines isolierten Impulseinstroms von TTX-resistenten Afferenzen auf spinale Nervenzellen untersucht und Unterschiede in der spinalen Verschaltung muskulärer und kutaner nozizeptiver Afferenzen analysiert. Dieses Vorgehen basiert auf der Annahme, dass es durch die Verwendung von TTX möglich ist, einen isoliert nozizeptiven Impulseinstrom hervorzurufen. Hierzu wurden als allgemeine Marker für neuronale Aktivität die Genexpressionen von c-Fos und FosB (bei gleichzeitiger Superperfusion der gereizten Afferenzen mit TTX) immunhistologisch ausgewertet. Zur peripheren Reizapplikation diente im ersten Teil die elektrische Stimulation peripherer Nerven und im zweiten Teil die intramuskuläre Injektion von 5 %-iger Formalin-Lösung.

Unsere Daten zeigen, dass es eine Fraktion TTX-resistenter Fasern gibt, welche auch unter dem Einfluss relativ hoher TTX-Konzentrationen ein Signal an die Nervenzellen des Rückenmarks weiterleiten. Es ist bekannt, dass ein Teil dieser Fasern nozizeptiven Ursprungs ist. Es konnte anhand der histologischen Daten gezeigt werden, dass dieses Signal auch ohne den synchronen Einfluss TTX-sensitiver Fasern eine wesentliche physiologische Relevanz besitzt und zu wesentlichen biologischen Veränderungen in der Lage ist. Anhand unserer Daten kann keine Aussage darüber gemacht werden, wie groß der Anteil nicht-nozizeptiver Fasern am Gesamtpool TTX-resistenter Fasern ist. Gegenwärtig lässt sich ein Einfluss nicht-nozizeptiver Fasern an den zentralen nozizeptiven Prozessierungsvorgängen nicht ausschließen. Unsere Daten stützen vielmehr die Hypothese, dass ein Zusammenspiel TTX-resistenter und TTX-sensitiver Fasern für die physiologische Verarbeitung nozizeptiver Informationen von Bedeutung ist. Hierbei scheinen signifikante Unterschiede zwischen der Verarbeitung von nozizeptiven Informationen aus dem Muskel und der Verarbeitung von nozizeptiven Informationen aus der Haut zu existieren. In diesem Sinne weisen unsere Daten

darauf hin, dass dieses Zusammenspiel von TTX-resistenten und TTX-sensitiven Fasern für nozizeptive Prozesse aus dem Muskel ausgeprägter ist als für nozizeptive Prozesse der Haut.

Bei Vergleich der verschiedenen Rückenmarkssegmente zeigte sich, dass die Hauptexpression der Aktivitätsmarker nach elektrischer Reizung in den Rückenmarkssegmenten L 4 und L 5 bei etwas geringerer Expression in Segment L 3 zu beobachten war. Die Blockierung der TTX-sensitiven Afferenzen führte tendenziell zu einem verminderten Antrieb in den kaudalen Segmenten, wohingegen die operative Präparation eher einen vermehrten kaudalen Reizeinstrom bewirkte. Unsere Daten zeigen somit, dass die Projektionen der TTX-resistenten (potentiell nozizeptiven) Fasern im Vergleich zu den TTX-sensitiven (nicht nozizeptiven) Fasern nach rostral verschoben sind. Dies gilt in gleichermaßen sowohl für den nozizeptiven Antrieb aus der Haut als auch für den nozizeptiven Antrieb aus dem Muskel.

Die Analyse der verschiedenen spinalen Kerngebiete hinsichtlich der c-Fos-Expression nach elektrischer Reizung ergab charakteristische Expressionsmuster. Die elektrische Reizung muskulärer Afferenzen führte generell zu einer relativ geringen Immunreaktivität des Aktivitätsmarkers auf Rückenmarksebene. Diese Beobachtungen weisen auf eine starke Abhängigkeit muskulärer nozizeptiver Rückenmarksneurone von nicht-nozizeptiven Erregungssignalen hin. Im Gegensatz zum Muskel konnte durch die Erregung kutaner Afferenzen eine signifikant stärkere Expression des Aktivitätsmarkers hervorgerufen werden. Dabei waren insbesondere Neurone in Lamina I, II und V von Bedeutung.

Für den Aktivitätsmarker FosB konnte ferner gezeigt werden, dass es nach nozizeptiver Stimulierung unter TTX-Block zu einer Expression v.a. in den Laminae I und V kommt, wohingegen eine nozizeptive Stimulierung ohne TTX-Block vor allem zu einer Expression in Lamina II und V führt. Dies stützt die Hypothese, dass Neurone in Lamina I eine spezifisch nozizeptive Funktion besitzen und bei der Verarbeitung nozizeptiver Prozesse eine besondere Rolle spielen.

Wurde anstelle einer elektrischen Reizung Formalin in den Muskel injiziert und verglichen zwischen Injektion ohne TTX-Block und Injektion unter TTX-Block, so zeigte sich ein ähnliches Phänomen: nach selektiver Erregung TTX-resistenter Afferenzen konnte eine Population FosB-immunreaktiver Neurone in Lamina I erregt werden, welche nicht, oder zumindest nicht in gleichem Maße durch eine unselektive Erregung nozizeptiver und nicht-nozizeptiver Afferenzen erregt werden konnte. Zusammengenommen sprechen diese Daten für die Annahme, dass in Lamina I eine Neuronenpopulation existiert, welche insbesondere

durch TTX-resistente muskuläre Afferenzen erregt, bzw. zur FosB-Expression angeregt werden können. Anhand des von uns gewählten experimentellen Prozedere kann jedoch nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich hierbei um die gleiche (auf TTX-resistente muskuläre Afferenzen ansprechend) oder verschiedene Neuronenpopulationen (zum einen auf TTX-resistente zum anderen auf muskuläre Afferenzen ansprechend) handelt.

Eine weitere außerordentlich interessante Beobachtung war das Verhalten der FosB-Expression im Vorderhorn nach Reizung muskulärer Afferenzen. So konnte nach Reizung des N. gastrocnemius eine signifikant höhere Expression von FosB im Vorderhorn sowohl gegenüber der Kontrollserie als auch gegenüber der Suralisreizserie nachgewiesen werden. Dies ist einerseits überraschend, da das Vorderhorn einen Ort der motorischen und weniger der sensorischen Verarbeitung darstellt. Andererseits werden gerade durch nozizeptive Reize im Muskel motorische Reflexmuster induziert. In diesem Sinne könnte diese Aktivität von FosB im Vorderhorn ein indirekter Hinweis für die Verkettung von nozizeptiv-sensorischen mit reflektorisch-motorischen Prozessen im Muskel darstellen.

Die durch diese Arbeit verifizierte Hypothese, dass die isolierte Aktivität nozizeptiver Afferenzen auch ohne den synchronen Einfluss TTX-sensitiver, nicht nozizeptiver Fasern eine physiologische Relevanz besitzt und zu wesentlichen biologischen Veränderungen in der Lage ist, macht die Durchführung weiterer Studien wünschenswert. Insbesondere in Hinblick auf therapeutische Konsequenzen sollte der Frage nachgegangen werden nach der spezifischen Funktion von TTX-resistenten nozizeptiven Afferenzen bei Chronifizierungsvorgängen.