

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Stressinduzierte neuronale Plastizität und neuroimmune Kommunikation  
in verschiedenen Organen**

- Neuroimmunpathologische Grundlagen, neuroimmunologische Entgleisung  
und die Bedeutung von Stressintervention -

zur Erlangung des Grades eines Dr. rer. medic.

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von  
Dipl. Ing. Biotech. (FH) Christiane Liezmann  
aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. E. M. Peters

2. Prof. Dr. T. Fischer

3. Prof. Dr. K. Schallreuther

Datum der Promotion: 25.10.2013

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Titel.....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Autorin .....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Abstrakt.....</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>6</b>
4.1	Atopische Dermatitis	6
4.2	Brustkrebs	7
4.3	Das TH1/TH2-Paradigma in Allergie und Krebs	7
4.4	Stress beeinflusst die TH1/TH2- Balance	8
4.5	Stress-abhängige Verschiebung der TH1/TH2- Balance: pathogenetische Relevanz für Allergie und Krebs	9
4.6	Stressintervention als Therapiestrategie	9
<b>5</b>	<b>Fragestellungen.....</b>	<b>10</b>
<b>6</b>	<b>Methodik .....</b>	<b>11</b>
6.1	Das Stress-Allergie-Haut-Tiermodell und die pharmakologische Stressachsen-intervention	11
6.2	Genexpressionsanalysen neuro-immuner Mediatoren und Stressmarker	12
6.3	Routine-Immunhistochemie zur Analyse der peripheren Entzündung und neuro-immuner Mediatoren	12
6.4	Epidermaler Migrations-Assay: Migration als Indiz für aktivierte APZ	13
6.5	Dendritische-T-Zell-Ko-Kultur: Interaktion von Stimulatoren und Respondern	13
6.6	Durchflusszytometrie zur Analyse von Zelldifferenzierung und Antigenpräsentation	13
6.7	Cytometric Bead Array (CBA) zum Nachweis der TH1- und TH2-Zytokinbalance	14
6.8	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA; Maus und Human) zum Nachweis klassischer Stressmediatoren	14
6.9	Massage als Stressintervention	14
6.10	Erhebung psychosozialer Parameter mit Fragebögen	15
6.11	Statistik humaner Daten	15
6.1	Statistik der Tierversuchsdaten	15
<b>7</b>	<b>Zusammengefasste Ergebnisse der Originalarbeiten.....</b>	<b>16</b>
7.1	NGF ist ein Schlüsselmolekül stress-aggravierter Entzündung - die pharmakologische Intervention führt zu einer reduzierten peripheren Entzündung	16
7.1.1	Stress führte zu einer verstärkten Genaktivität von NGF-assoziierten Wachstumsfaktoren und Entzündungsparametern in der Haut von C57BL/6-Mäusen	16
7.1.2	Stress führte zu einer verstärkte Expression von NGF, dem NGF-Rezeptor Trk-A und dem NGF-assoziierten TGF- $\beta$ 2 in der Haut von C57BL/6 Mäusen	16

7.1.3	Die Applikation von anti-NGF reduzierte die Zahl der NGF-immunreaktiven Mastzellen und das Mastzell-assoziierte pro-inflammatorische Zytokin TNF- $\alpha$	16
7.1.4	Die Applikation von anti-NGF führte zu einer Verbesserung klassischer Entzündungsparameter: der Eosinophileninfiltration und der Hautdicke	16
7.2	Stressexposition mit Trainingseffekt – wiederholte Stressexposition führt Substanz P-abhängig zu einer reduzierten peripheren Entzündung	17
7.2.1	Stress führte zu einer vermehrten Interaktion zwischen epidermalen Nervenfasern und Langerhans-Zellen – den Schlüsselzellen der ersten Abwehr	17
7.2.2	Stress induzierte eine verstärkte Migration von dendritischen Zellen in die Haut-drainierenden Lymphknoten	17
7.2.3	Stress führte zu einer verstärkten Ausdifferenzierung dendritischer Zellen und einem Anstieg regulatorischer T-Zellen in den Haut-drainierenden Lymphknoten	17
7.2.4	Die stress- und SP-abhängig induzierten regulatorischen Mechanismen führten zu einer Verbesserung klassischer Entzündungsparameter in der Haut	17
7.3	Massagetherapie führte zu einer reduzierten Stress-Empfänglichkeit und zu einem reduzierten Serum-Kortisol Level bei Patientinnen mit Brustkrebs	18
7.3.1	Die Massage-Stressintervention reduzierte signifikant den empfundenen Stress	18
7.3.2	Die Massage-Stressintervention führte zu einer Verbesserung im Umgang mit Stimmungsschwankungen	18
7.3.3	Die Massage-Stressintervention veränderte die Stressachsenreagibilität – der Serumkortisolspiegel viel signifikant ab	18
<b>8</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>19</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>24</b>
<b>10</b>	<b>Anteilerklärung</b> .....	<b>28</b>
<b>11</b>	<b>Ausgewählte Publikationen</b> .....	<b>29</b>
<b>12</b>	<b>Lebenslauf</b> .....	<b>55</b>
<b>13</b>	<b>Vollständige Publikationsliste</b> .....	<b>56</b>
<b>14</b>	<b>Selbstständigkeitserklärung</b> .....	<b>63</b>
<b>15</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>64</b>

## **1 Titel**

Stressinduzierte neuronale Plastizität und neuroimmune Kommunikation in verschiedenen Organen: Neuroimmunpathologische Grundlagen, neuroimmunologische Entgleisung und die Bedeutung von Stressintervention.

## **2 Autorin**

Dipl. Ing. (FH) Christiane Liezmann

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik und Psychotherapie, Charité Centrum 12 für Innere Medizin und Dermatologie, Charité - Universitätsmedizin

## **3 Abstract**

In der westlich industrialisierten Gesellschaft ist Stress ein allgegenwärtiger und im Allgemeinen negativ konnotierter Begriff. Stress beeinflusst die Gesundheit und damit unsere Lebensqualität negativ, eine Hypothese, die durch die Forschungsarbeiten der letzten Jahrzehnte untermauert wird. Psychischer bzw. psychoemotionaler Stress führt über die Aktivierung der klassischen Stressachsen (sympathische Achse; SA und Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse; HHNA) zu einem Anstieg ihrer Mediatoren Kortisol bzw. Adrenalin und Noradrenalin. Diese Mediatoren werden weitläufig als Auslöser oder Aggravatoren von entzündlichen Hauterkrankungen akzeptiert. Darüber hinaus gilt Stress auch als Aggravator von Krebserkrankungen. In der aktuellen Fachpresse finden sich viele Beispiele über die Beziehung von psychischen Stress und Brustkrebs. Die Klärung der Fragen, warum psychischer Stress einen Einfluss auf die Pathogenese dieser Erkrankungen hat und ob hier die Möglichkeit einer therapeutischen Intervention besteht, ist das Ziel aktueller Forschungen auf diesem Gebiet. Die hier vorgelegte Arbeit beleuchtet über die klassischen Stressachsen hinaus die Funktion weiterer Stressmediatoren, wie den *Nerve Growth Factor* (NGF, konventionell ein Neurotrophin, das Nervenfasernwachstum induziert) oder das Neuropeptid Substanz P (SP, konventionell ein Neuropeptid sensibler Nervenfasern) sowie den Effekt unterschiedlicher Stressparadigmen und stressreduzierender Maßnahmen. In einem Mausmodell für psychischen Stress (Lärmstress) und allergische Hautentzündung bewirkt Stress vor Allergen-Provokation eine Exazerbation der NGF-assoziierten Entzündungsparameter, wobei die Gabe von anti-NGF diesen Effekt inhibiert. Eine Stressexposition während der Allergensensibilisierung bewirkt dagegen eine direkte Reduktion der Entzündung – SP-vermittelt und durch die Induktion regulatorischer Mechanismen. In einer Studie an Brustkrebspatientinnen führte eine stressreduzierende Intervention (klassische Massagetherapie) zum Anstieg der Lebensqualität der Patientinnen und einer veränderten Reagibilität der Stressachsen (Abfall des Serumkortisolspiegels). Das Verständnis von lokalen und systemischen, stressinduzierten Kaskaden bietet damit interessante Ansätze in der Prävention oder Intervention der vorgestellten Erkrankungen.

## 4 Einleitung

### 4.1 Atopische Dermatitis

Die exogene atopische Dermatitis<sup>1</sup> oder auch Neurodermitis ist eine chronische Ekzemerkrankung und entsteht durch das Zusammenwirken einer genetischen Disposition und einer umweltbedingten Allergensensibilisierung, vorwiegend bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen. Rund 10% der Bevölkerung westlich-industrialisierter Länder sind mit steigender Tendenz von dieser Erkrankung betroffen [1]. Es gilt als weitgehend akzeptiert, dass physische *und* psychische Stressoren diese Erkrankung auslösen oder exazerbieren können [2].

Ein Forschungsschwerpunkt der letzten zwei Jahrzehnte liegt hierbei auf erlebtem, psychischem Stress als Aggravator [2]. Hierbei konnte gezeigt werden, welche lokalen Prozesse hinter diesem Phänomen stehen: Das Neuropeptid und Signalmolekül sensibler Nervenfasern Substanz P (SP) ist der Hauptmediator einer stressabhängig aggravierten neurogenen Entzündung und damit der Haut-Stress-Antwort [2, 3]. SP ist ein wichtiger Akteur der eingangs beschriebenen dritten Neurotrophin-Neuropeptid-Achse (NNA). Das Neurotrophin *Nerve Growth Factor* (NGF) ist seinem Namen nach essentiell für den Erhalt von Nervenstrukturen. Darüber hinaus ist NGF ein wichtiger Faktor stressinduzierter kutaner Hyperinnervierung und es unterstützt speziell den Erhalt SP-enthaltender Nervenfasern [4]. NGF induziert Hyperproliferation in Keratinozyten und fördert Mastzelldegranulation, alles Indizien für eine Beteiligung von NGF an einer stressinduzierten Exazerbation neurogener Entzündung [5, 6]. Akuter Stress verstärkt die neurogene Entzündung über enge Kontakte zwischen SP enthaltenden Nervenfasern und gewebeständigen Mastzellen [3]. Aus klinischen Beobachtungen wissen wir aber auch, dass Stress periphere Entzündungen verbessern kann [7].

In der vorliegenden Arbeit wurde in einem veränderten Stressparadigma die Interaktion von epidermalen Nervenfasern und antigenpräsentierenden Zellen (APZ; speziell Langerhanszellen in der Epidermis) untersucht. APZ stellen eine essentielle Verknüpfung von angeborener und erworbener Immunität dar. Sie können stressinduziert ihre Zytokinproduktion und Antigenpräsentation verändern und T-Zellen forcieren, sich in verschiedene Subtypen zu differenzieren [8, 9].

---

<sup>1</sup> Die atopische Dermatitis (AD) ist häufig mit Allergien assoziiert und wird daher auch in eine extrinsische (allergische Genese) und intrinsische (nicht allergische) AD unterteilt. Im aktuellen Sprachgebrauch findet man häufig die Verwendung von allergischer Dermatitis für die extrinsische Form. In der vorliegenden Arbeit wird aus Gründen der Übersichtlichkeit und der Vergleichbarkeit mit dem Tiermodell ausschließlich der Begriff *allergische Dermatitis* (AID) verwendet.

## 4.2 Brustkrebs

Trotz intensiver Aufklärung und gesetzlicher Rahmenbedingungen für Voruntersuchungen ist der Brustkrebs mit rund einem Drittel aller Fälle, das am häufigsten diagnostizierte Malignom bei Frauen mit jährlich steigender Inzidenz an Neuerkrankten. Klassische Ansätze in der Behandlung der Brustkrebserkrankung sind die operative Entfernung des erkrankten Gewebes und die Bestrahlung bei Verdacht oder einem Nachweis auf Metastasierung sowie lebenslange Kontrolle des Heilungsverlaufes [10].

Eine genetische Disposition sowie die im Alter nachlassenden Reparaturmechanismen während der Zellteilung (Apoptose) gelten als wichtige Auslöser des pathologisch entarteten Zellwachstums. Stress ist in diesem Zusammenhang ein negativ konnotierter Faktor. Auf molekularer Ebene fördert oxidativer Stress den Alterungsprozess der Zellen und stört damit u.a. die Kontrollmechanismen der Zellteilung, was zu unkontrolliertem Zellwachstum und somit Krebs führen kann [11]. Oxidativer Stress wird intensiviert durch physische Stressoren, wie chronische Entzündungen, den Alterungsprozess selbst und nicht zuletzt auch durch psychischen Stress [11, 12].

Des Weiteren hat psychischer Stress ein eminentes Potential den Immunstatus des Erkrankten, der von entscheidender Bedeutung für den Verlauf der Erkrankung ist, zu modifizieren [13]. Über die neuro-immune Kommunikation steuert psychischer Stress die Fehlaktivierung der Stressachsen, resultierend in einer Polarisierung der TH2-Immunantwort (s. 4.4) [14]. Die Diagnose selbst und der Umgang mit der Erkrankung stellen hierbei ein überaus tiefgreifendes, psychisches Stresserlebnis für die Erkrankten dar [10]. In der hier vorgelegten Arbeit wurde daher untersucht, wie sich eine Intervention durch klassische Massage auf die subjektiv empfundene Lebensqualität von Patientinnen mit Brustkrebs auswirkt und ob das zu objektiv messbaren Veränderungen in der Reagibilität der klassischen Stressachsen führt.

## 4.3 Das TH1/TH2-Paradigma in Allergie und Krebs

Der gesunde Organismus zeichnet sich durch eine Balance zwischen TH1- (zellulärer/pro-inflammatorischer) und TH2-(adaptiver/pro-allergischer) Immunantwort aus [15]. Diese Dichotomie der T-Helfer Zellen beruht auf einer *in vitro* Charakterisierung von T-Zell-Klonen, die zuerst bei der Maus und später auch beim Menschen entdeckt wurde [16]. Mit der Weiterentwicklung der diagnostischen Möglichkeiten erweiterte sich auch das Feld der möglichen Immunantworten: Die regulatorische Immunantwort - T-regulatorisch - ist durch eine starke IL-10 Produktionen gekennzeichnet [17]. IL-10 wirkt stark anti-inflammatorisch. Trotz dieser Auffächerung immunologischer Prozesse gilt die TH1/TH2-Subtypisierung in der Fachliteratur immer noch als Leitfaden zur Unterscheidung von zellulär geprägten entzündlichen (TH1-polarisiert) und allergieassoziierten Komponenten bzw. Erkrankungen bei denen eine zellvermittelte Abwehr fehlt (TH2-polarisiert) [18, 19].

Im Detail dient die TH1-Immunantwort der zellvermittelten Abwehr eingedrungener Pathogene und soll diese schnell und effektiv eliminieren. IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  sind die Hauptvertreter dieser Immunantwort. Sie dirigieren weitere Immunzellen der TH1-Immunantwort an den Ort des Geschehens und werden vorwiegend von dendritischen Zellen und Makrophagen produziert (= APZ). Die TH2-Immunantwort soll den Körper vorrangig über die Antikörperproduktion rasch und effektiv vor wiederholten Attacken dieser Pathogene schützen. IL-4 und IL-5 gehören hier zu den am besten untersuchten Mediatoren, deren Aufgabe es ist, weitere Zellen der TH2-Immunantwort an den Ort des Geschehens zu dirigieren. Sie werden hauptsächlich von TH2- und B-Zellen produziert.

Bei dominanter Ausprägung einer TH2-Antwort treten jedoch verstärkt Erkrankungen auf, die durch eine übersteigerte Antikörperproduktion gekennzeichnet sind. Hierzu gehören Allergien [20] und Erkrankungen, die eigentlich durch eine zelluläre Immunantwort kontrolliert werden, wie Krebs [21]. Eine Schnittstelle von Allergie und Krebs ist somit die Imbalance der TH1/TH2-Immunantwort. So ist die initiale Phase der allergischen Dermatitis<sup>1</sup> (AID) gekennzeichnet durch eine TH2-Polarisierung, dominiert durch IL-4 [22]. Während der Chronifizierung wird von Monozyten (dendritische Zellen, Makrophagen) zusätzlich das TH1-Zytokin IFN- $\gamma$  produziert. Es dirigiert weitere Monozyten, Langerhanszellen und Mastzellen an den Ort der Entzündung. Krebs ist ebenfalls geprägt durch eine TH2-Polarisation [18, 21]. Da diese auch während des natürlichen Alterungsprozesses zunimmt, gilt die Annahme, dass die abnehmende Fähigkeit des Körpers die zelluläre/ TH1-Immunantwort zu induzieren, die Neoplasie und damit Krebserkrankungen begünstigt.

#### **4.4 Stress beeinflusst die TH1/TH2- Balance**

Immunsystem und Nervensystem kommunizieren über eine bidirektionale Verknüpfung - Zellen des Immunsystems besitzen Rezeptoren für nahezu alle bislang bekannten Stressmediatoren und Nervenfasern Rezeptoren für Zytokine [2]. In Abhängigkeit von der Bindung eines Stressmediators an seinen entsprechenden Rezeptor verändern Immunzellen ihre Zytokinproduktion oder die Differenzierung in Immunzellsubtypen [2, 23]. Zytokine wiederum können das Wachstum von Nervenfasern beeinflussen und so die neuronale Plastizität zentral [24] aber auch in peripheren Geweben verändern [2].

Die Auswirkungen von Stress hängen im Wesentlichen von der Stressqualität und der Einwirkdauer des Stress ab. Die Stressintensität moduliert die Reaktivität des Immunsystems [25]. Ein diagnostisches Tool, das Aufschluss über die resultierende Immunantwort gibt, ist die Bestimmung des oben beschriebenen TH1/TH2- Zytokinexpressionsmusters.

Akuter Stress aktiviert vorrangig die sympathische Achse (SA) und polarisiert eine TH1-Immunantwort, während chronischer Stress über die Aktivierung der Hypothalamus-

Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse; (HHNA) zu einer relativen Immunsuppression durch Polarisation einer TH2-Immunantwort führt [14, 19]. Chronischer Stress führt darüber hinaus zu einer permanent hyporeaktiven HHNA [26].

Eine das äußere Erscheinungsbild und damit soziale Interaktionen stark verändernde Erkrankung wie die AID oder eine lebensbedrohende Erkrankung, wie Brustkrebs, können als chronische Stressoren gewertet werden. Hypokortisolismus – ein Indiz für chronischen Stress - finden wir bei Krebspatienten ebenso, wie bei Patienten mit der chronisch-entzündlichen AID. Der hierbei kontinuierlich schwach erhöhte Serumkortisolspiegel führt zu einer permanenten Unterdrückung der zellulären (TH1) Immunantwort sowie einer Pathogenese-relevanten TH2-Dominanz [27, 28]. Diese Balance-Verschiebung begünstigt in der Folge Allergien und das unkontrollierte Wachstum entarteter Krebszellen [18].

#### **4.5 Stress-abhängige Verschiebung der TH1/TH2- Balance: pathogenetische Relevanz für Allergie und Krebs**

In Organen an der Grenze zwischen Umwelt und Organismus (z.B. Haut, Schleimhäute, Atemwegen, Intestinum) findet man eine starke Innervierung mit sensiblen Nervenfasern, die in engem Kontakt mit Immunzellen stehen. An dieser Schnittstelle informiert das Immunsystem das Nervensystem über das Eindringen von Fremdstoffen, die als lokale Stressoren gewertet werden können, während die stressabhängige Aktivierung der sensiblen Nervenfasern das Hautimmunsystem moduliert. Hauptmediatoren dieser NNA sind das Neurotrophin *Nerve Growth Factor* (NGF) und das Neuropeptid Substanz P (SP) [2]. Nach stressabhängiger Freisetzung von NGF oder SP aus Mastzellen oder Nervenendigungen kommt zu einer Hyperinnervierung läsionaler Hautregionen und zu einer vermehrten IgE-unabhängigen Mastzelldegranulation, die wiederum in einer pro-inflammatorischen Kaskade mündet, die das kutane Infiltrat reich an Entzündungszellen macht [3].

Des Weiteren zeigen Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte, dass die Aktivierung der klassischen Stressachsen, SA und HHNA, den Verlauf von TH2-dominierten Erkrankungen beeinflussen [29]. Die Aktivierung der klassischen Stressachsen SA und HHNA führt dabei zu einer Ausschüttung von Noradrenalin und Kortisol. Beide Stressmediatoren unterdrücken eine TH1-Immunantwort über die Polarisation einer pathogenetisch relevanten TH2-Immunantwort [27, 28, 30].

#### **4.6 Stressintervention als Therapiestrategie**

Für die eingeführten Zusammenhänge gilt: Stress beeinflusst über die neuro-immune Kommunikation das Immunsystem derart, dass er zu einer Exazerbation von chronischen Erkran-

kungen führt. Klinische Beobachtungen jedoch zeigen, dass Stress durchaus auch einen positiven Effekt auf den Krankheitsverlauf haben kann. So war bei 9% der untersuchten Atopiker im japanischen Hanshin nach dem großen Erdbeben 1999, eine deutliche Verbesserung der Hautsituation zu beobachten [7]. Auch andere Arbeiten zeigen, dass die Interaktion von dermalen Nervenfasern und APZ die periphere Entzündung unterdrücken kann [31].

Neben der Frage, welches Stressparadigma einen Exazerbations- und welches einen Trainingseffekt hat, gibt es bis heute noch keine anerkannte Methode um eine stressabhängig exazerbierte neurogene Entzündung systemisch zu intervenieren. Es gibt jedoch einige Ansätze um den inflammatorischen Anteil von allergischen Entzündungen zu inhibieren: Noch bevor der Mechanismus der NGF- und SP- abhängigen Mastzelldegranulation bis in das Detail verstanden wurde, begann man mit der Behandlung von Atopikern mit dem SP-Antagonisten Spantide, vorrangig um die reizende Wirkung von lokalen Therapeutika über sensible Nervenfasern zu unterbinden [32]. Heute wissen wir, dass die Hauptwirkung von SP-Antagonisten darin besteht, die SP-abhängige Mastzelldegranulation zu unterbinden. Ein weiterer Kandidat der NNA eignet sich ebenfalls - vorerst tierexperimentell - die pharmakologische Stressintervention zu untersuchen: NGF, da es wie oben beschrieben ebenfalls eine Rolle in der stressexazerbierten neurogenen Entzündung spielt.

Nicht zuletzt bietet es sich an, bestehende Stresssituationen physisch zu intervenieren, wie in der Komplementärmedizin in Form von Massagetherapien schon seit Jahren ergänzend in der Krebsbehandlung durchgeführt [33]. Krebs als Diagnose bedeutet für die Betroffenen einen unvorstellbaren Eingriff in die Lebensplanung und so ergeben sich als Begleitsymptome der Erkrankung häufig vermehrte Depressivität, Verlust kognitiver Fähigkeiten und eine verminderte Fähigkeit mit alltäglichen Stresssituationen adäquat umzugehen [10]. Die Massagetherapie soll diesen Dysstresszyklus unterbrechen und die Lebensqualität wieder steigern. Insgesamt kann auch durchaus ein positiver Effekt auf den Behandlungsverlauf erwartet werden. Jedoch ist der Beweis der Effektivität solcher Interventionen in der heutigen Forschung selten geführt und ergibt auch häufig konträre Resultate [28, 34-36].

## **5 Fragestellungen**

- Spielt NGF bei der Verstärkung einer TH2-dominierten Erkrankung, der experimentellen allergischen Entzündung durch Stress eine Rolle?
- Kann die wiederholte Ausschüttung von Stressmediatoren der NNA die Stressantwort „trainieren“ und Entzündungen entgegenwirken?
- Wirkt eine stressreduzierende Intervention bei einer TH2-Immunantwort dominierten Erkrankung - dem Brustkrebs - der Stressachsenimbalance entgegen?

## 6 Methodik

### 6.1 Das Stress-Allergie-Haut-Tiermodell und die pharmakologische Stressachsen-intervention

C57BL/6 Mäuse (Charles River, Wilmington, MA, USA), bei Versuchsbeginn 6-8 Wochen alt, wurden unter keimarmen Bedingungen in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Campus Virchow Klinikum, bei standardisierter Tag/Nacht Regelung und freiem Futterzugang gehalten. Die Tiere wurden randomisiert in Gruppen zu 6-8 Tieren aufgeteilt: Kontrolle (ohne Behandlung), Stress (Stressexposition, s.u.), AID (allergische Sensibilisierung und Provokation, s.u.), Stress+AID (Kombination aus Stressexposition und allergischer Sensibilisierung sowie Provokation), Stress+AID+NK-1 Ra (Kombination aus Stressexposition und allergischer Sensibilisierung sowie Provokation und *intrapertoneale* [*i.p.*] Applikation eines NK-1 Rezeptor-Antagonisten, s.u.) und Stress+AID+anti-NGF (Kombination aus Stressexposition und allergischer Sensibilisierung sowie Provokation und *i.p.* Applikation eines NGF-neutralisierenden Antikörpers, s.u.).

Als Stressor wurde für die Erzeugung von akutem, 24 stündigem Stress ein handelsüblicher Wühlmausvertreiber verwendet (P7901 *Molechaser*, P3 International Corporation Technical Support, New York, NY, USA). Für die beiden Stressparadigmen erfolgte die Stressexposition entweder vor der Provokation (24 Stunden bis zur Provokation, ein Zeitpunkt) oder wiederholt vor der Sensibilisierung (24 Stunden bis zur Sensibilisierung, zwei Zeitpunkte).

Eine allergische Sensibilisierung wurde durch *i.p.* Injektion von 20 µg Ovalbumin (Grad VI, Sigma-Aldrich Chemie, St. Louis, MO, USA) in 2,25 mg Aluminiumhydroxyd (Alumject, Pierce, Rockford, IL, USA) an Tag 0 und 14 erreicht. Die Rückenhaut wurde am Tag 21 rasiert und eine allergische Dermatitis wurde durch die *intradermale* Injektion von 50 µg Ovalbumin (Grad V, Sigma-Aldrich Chemie) in 100 µl PBS provoziert. Die Mäuse wurden 48 Stunden nach Stressexposition getötet.

Die Applikation des hochspezifischen NK-1 Antagonisten (NK-1 Ra) [D-Arg1, D-Phe5, D-Trp7, 9, Leu11]-SP (Sigma-Aldrich Chemie) (A) sowie des anti-NGF Antikörpers (Kaninchen-Anti-Maus-NGF-Antikörper, Sigma-Aldrich Chemie) (B), erfolgte *i.p.* vor und nach jeder Stressexposition.

Für Gewebe, das für die Immunhistochemie prozessiert wurde, wurden die Tiere nach etablierten Standardprotokollen perfusionsfixiert [37-39]. Für Gewebe, das für semi-quantitative PCR (sq-PCR) sowie den Mikroarray prozessiert wurde, wurden die Tiere durch zervikale Dislokation getötet und die Gewebe sofort tiefgefroren.

## 6.2 Genexpressionsanalysen neuro-immuner Mediatoren und Stressmarker

Die RT-PCR wurde nach Standardmethoden des Labors durchgeführt. Ca. 100 mg Gewebe wurden unter Zugabe von Trizol (Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland) homogenisiert. Die Gesamt-RNA wurde mit Fällungsreaktion extrahiert und mit DNase I (Invitrogen) behandelt. Die Erststrang c-DNA Synthese wurde mittels SuperScript II Reverser Transkriptase (Invitrogen) durchgeführt und diese c-DNA anschließend in der sq-PCR verwendet. Nachgewiesen wurden Unterschiede in der Genexpression von NGF, Pre-Pro-Tachykinin-1 (Präkursor von SP), IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  in Abhängigkeit von der Behandlung unter Verwendung der  $2^{\Delta\Delta CT}$  Methode [40, 41].

Insgesamt drei Tiere der Kontroll- und der Stressgruppe wurden für die Genanalyse zusammengefasst ( $n=3$ ). Die total RNA aus 90 ng Haut wurde isoliert und in zwei Runden unter Nutzung des RiboAmp RNA Amplifikations Kits (Arcturus, Sunnyvale, CA, USA) amplifiziert und die Antisense RNA biotinyliert (BioArray HighYield RNA Transcript Labeling Kit, ENZO Diagnostics, Farmingdale, NY, USA). Insgesamt 10 ng antisense RNA wurden auf dem Gen Chip Mouse Genome 430A 2.0 (Affymetrix; *inquires for B14,000 murine genes*) nach Affymetrix Standard Protokollen hybridisiert. Für die Verarbeitung und Auswertung der Daten wurde die Affymetrix Microarray Suite (MAS) 5.0 und die Operating Software GCOS 1.4 (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) verwendet. Die Gene wurden mit Hilfe des NetAFFX Analysen Centers (<http://www.affymetrix.com/analysis/index>; Affymetrix) annotiert. Die Pathwayanalyse und Gene-Ontology erfolgte unter Verwendung der Datenbank für Annotierung, Visualisierung und integrierter Auffindung 2007 [42, 43]. Eine *Fold-Change*  $> 2$  wurde als signifikant definiert (<http://www.affymetrix.com> und <http://www.biomedcentral.com>).

## 6.3 Routine-Immunhistochemie zur Analyse der peripheren Entzündung und neuro-immuner Mediatoren

Für die Evaluation der Hautdicke, der Eosinophilinfiltration und der Mastzelldegranulation wurden 10  $\mu$ m dicke Hautschnitte mit der Giemsa Technik (Merck, Darmstadt, Deutschland) unter Verwendung von Standardprotokollen gefärbt [3, 38, 44].

Für den Nachweis von Nervenfasern (*protein-gene product* 9.5, PGP9.5; Biotrend, Köln, Deutschland) und Langerin-positiven Zellen (Langerin anti-Serum; Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) wurden 14  $\mu$ m dicke Gewebeschnitte verwendet. Der Nachweis von FoxP3-, MHC-II, NGF-, TrkA, p75-, TGF- $\beta$ 2 und TNF-RII-Immunreaktivität wurde an 10  $\mu$ m dicken Gewebeschnitten durchgeführt (NGF anti-Serum, polyklonal; TrkA anti-Serum, polyklonal; TGF- $\beta$ 2 anti-Serum, polyklonal: Santa Cruz; p75NTR Antiserum, polyklonal: Chemicon, International, Hampshire, UK; TNF-RII anti-Serum, polyklonal: Promo Kine, Heidelberg, Deutschland). Die Zellkerne wurden mit einer 40,6-diamidino-2-phenylindol-Gegenfärbung (DAPI; Bhoeringer Mannheim, Mannheim, Deutschland) dargestellt. NGF wurde mit Tryptase

(MSP6 anti-Serum; R&D Systems, Minneapolis, USA) gegengefärbt um NGF-Immunreaktivität in Mastzellen nachzuweisen. Die Antikörper (AK) wurden im Sandwichverfahren mit Hilfe eines zweiten Antikörpers, der entweder FITC (Fluorescein-Isothiocyanat; Dianova, Hamburg, Deutschland)-, TRITC (Rhodamin; Dianova)- oder Biotin (Tyramid-Amplifikationskit; PerkinElmer, Waltham, MA, USA)- markiert wurde, detektiert [3, 45]. Die Auswertung erfolgte bei 400-facher Vergrößerung an einem 3-Kanal-Fluoreszenz Mikroskop der Firma Zeiss und an einem Konfokalem Lasermikroskop der Firma Leica (Langerin-Nervenfaser-Kontakte) nach Standardprotokoll [3, 45].

#### **6.4 Epidermaler Migrations-Assay: Migration als Indiz für aktivierte APZ**

Es wurden vier Biopsien je Maus aller Tiere der Behandlungsgruppen mit einem 8-mm Ausstecher sofort nach der Induktion einer AID aus der Telogen-Rückenhaut entnommen und die Dermis von der Epidermis nach einer über-Nacht Inkubation mit Dispase I (Roche, Mannheim, Deutschland) getrennt. Die Epidermalen Biopsien wurden für 72 Stunden bei 37°C kultiviert. Das Medium enthielt RPMI 1640 (Gibco, Invitrogen), 10% hitzeinaktiviertes fetales Kälberserum (Life Technologies, Invitrogen), 50mg/ml Glutamin und 1% Streptomycin/Penicilin. Aus den Explantaten in das Medium emigrierte Zellen wurden anhand ihrer haarigen, dendritischen Erscheinung identifiziert und unter Verwendung eines Hämozytometers mit einem 340-er Objektiv und mit einem kalibrierten Flächenraster ausgewertet. Tote Zellen konnten durch Trypanblaufärbung ausgeschlossen werden. Die emigrierten Zellen wurden mit einer MHC-II (s.o.) Färbung validiert. Um die Neuropeptid-abhängige Migration zu untersuchen, wurden einige Explantate in Anwesenheit von SP (1mM; Sigma-Aldrich Chemie) und CGRP (1mM; Sigma-Aldrich Chemie) bzw. nur in Medium kultiviert.

#### **6.5 Dendritische-T-Zell-Ko-Kultur: Interaktion von Stimulatoren und Respondern**

Dendritische Zellen (DZ) wurden aus den Haut-drainierenden Lymphknoten der behandelten Tiere mit anti-CD11c markierten magnetischen Mikrokugeln (*Microbeads*, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland) isoliert. T-Zellen wurden mit anti-CD4 markierten magnetischen Mikrokugeln (Miltenyi Biotec) aus homogenisiertem Milzgewebe von 6 Wochen alten BALB/c Mäusen isoliert. CD11c-positive DZ wurden als Stimulatoren mit den CD4-positiven T-Zellen als Empfänger, unter optimierten, standardisierten Bedingungen für 72 Stunden kokultiviert (Medium wie unter 6.4, zusätzlich 2mM Glutamin) [46].

#### **6.6 Durchflusszytometrie zur Analyse von Zelldifferenzierung und Antigenpräsentation**

Die Zellen für die Oberflächenmarkeranalyse wurden aus den hautdrainierenden Lymphknoten entnommen und unter Verwendung eines Standardprotokolls untersucht [47].  $2 \times 10^7$  Zellen/ml wurden mit einem der nachfolgenden Antikörper markiert: FITC-markierter Antikör-

per (AK) gegen CD86 und CD4, DC-markierter AK gegen CD11c und CD25, PE-markierter AK gegen CD80, VLA4 und LFA1 (alle AK von BD Biosciences, Texas, USA). Die Durchflusszytometrie wurde an einem FACSCalibur System (BD Biosciences) durchgeführt. Die Daten wurden mit der CellQuest Software von BD analysiert. Die Ergebnisse wurden als Prozentsatz-positiv von der evaluierten Population dargestellt.

### **6.7 Cytometric Bead Array (CBA) zum Nachweis der TH1- und TH2-Zytokinbalance**

Die Kulturüberstände (s. 6.5) wurden mittels CBA auf die behandlungsabhängigen Unterschiede in der Zytokinsekretion untersucht. IL-4, IL-5, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , und IL-2 wurden zeitgleich unter Verwendung des Maus Th1/Th2-Zytokin CBA Kit (BD Biosciences) nach Herstellerangaben evaluiert. Die Daten wurden wie unter 6.6 beschrieben erhoben.

### **6.8 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA; Maus und Human) zum Nachweis klassischer Stressmediatoren**

Maus-Serum NGF Level in Abhängigkeit von der Behandlung wurde unter Verwendung des Chemikine murine NGF-ELISA Kit (Chemicon) nachgewiesen. Hierfür wurde das Serum von 6 Tieren je Gruppe aufbereitet und im ELISA verwendet. Der NGF Gehalt wurde durch ein Sandwichverfahren mit einem Peroxidase markiertem anti-NGF AK und nachfolgender Farbreaktion: Zugabe von 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin als Substrat für die Peroxidase, Stopp der Farbreaktion mit HCL: Nachweis des gelben Farbproduktes bei 450 nm unter Verwendung des Optima Mikroplatten Readers (BMG LapTech, Ortenberg, Deutschland) nachgewiesen.

Humanes Serum wurde verwendet, um die Stressmediatoren Kortisol und Serotonin nachzuweisen. Für den Nachweis der Effektivität der Massage-Stress-Intervention wurde der Serumkortisolspiegel mit einem kompetitiven ELISA (R&D Systems) evaluiert. Serotonin wurde ebenfalls unter Verwendung eines kompetitiven ELISA (IBL-Hamburg, Hamburg, Deutschland) nach Acylierung der Proben nachgewiesen. Die Aufarbeitung der Blutproben erfolgte nach Laborstandardprotokollen.

### **6.9 Massage als Stressintervention**

34 Frauen mit der Diagnose primärer Brustkrebs (Durchschnittsalter 59,7 Jahre, Altersspanne: 36-82 Jahren) wurden aus einer größeren Studie (6-Zyklen, siehe [48]) ausgewählt (siehe [28]). Folgende Einschlusskriterien wurden herangezogen: eine Mamakarzinomdiagnose in den letzten 4 Jahren, Tumorklassifikation TNM,  $\leq T2$  ( $\leq 5$ cm),  $\leq N2$  ( $\leq 9$  positive axilläre Lymphknoten), M=0 (keine Fernmetastasen) und eine mindestens drei Monate zurückliegende, abgeschlossene Primärtherapie (Operation und/oder Strahlen- und Chemotherapie).

Zu den Ausschlusskriterien gehörten: Lymphödeme an Armen oder Brust, entzündete Hautareale im Behandlungsbereich, die Einnahme von Antikoagulantien, Antidepressiva, Korti-

kosteroiden, Opioiden und/oder Zytostatika, psychiatrische Erkrankungen und Alkohol- bzw. Drogenabusus sowie mangelnde deutsche Sprachkenntnisse in Hinsicht auf die Erhebung von Fragebögen.

Die Frauen wurden randomisiert einer Massagetherapiegruppe (Intervention,  $n=17$ ) oder eine Standardkontrollgruppe ( $n=17$ ) zugeteilt. Die Datenerhebung fand zum Zeitpunkt T1 (Beginn der Studie), T2 (Ende des 5-wöchigen Interventionszeitraumes) und T3 (6 Wochen nach Abschluss der Intervention) statt. Hierzu gehörten die Fragebogenerhebung (s.u.) und die Blutentnahme (Erfassung des Serumkortisol- und Serumserotoninspiegels). Die Patienten der Massagegruppe erhielten eine 30-minütige Massage nach Schwedischer Technik. Die Massage wurde nach einem Standardprotokoll durchgeführt [48].

### **6.10 Erhebung psychosozialer Parameter mit Fragebögen**

Der PSQ (*Perceived Stress Questionnaire*) ist ein Selbsteinschätzungsinstrument, entwickelt um empfundene Stresssituationen auf kognitivem und emotionalem Level zu evaluieren (Levenstein et al. 1993), weiterentwickelt und minimiert auf einen 20-Fragenkatalog nach Fliege et al. (2005) [49]. Der Test enthält 4 Subskalierungen: 1. Sorgen 2. Anspannung, 3. Zufriedenheit 4. Anforderungen.

Der *Berlin Mood Questionnaire* ist ein validierter deutscher Fragenkatalog [50, 51], adaptiert und verkürzt aus dem Original von Hecheltjen und Mertensdorf (1973), sowie Nowlis (1965), der 30 Fragen enthält, um 6 verschiedene Stimmungssituationen mit Hilfe einer Einteilung in Skalen zu eruieren. Hierzu gehören: Ängstlichkeit, Depression, Ärger, Erschöpfung, Antriebslosigkeit, Hochstimmung, Leidenschaft.

### **6.11 Statistik humaner Daten**

Der Effekt der Massageintervention und die Ergebnisse der Fragebogenevaluation wurden zu den Zeitpunkten T2 und T3 mittels ANCOVA (Kovarianzanalyse) und über den gesamten Zeitraum mit dem  $t$ -Test für unabhängige- bzw. dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson für abhängige Variablen unter zur Hilfenahme der IBM-SPSS® Software zwischen der Kontroll- und Interventionsgruppe verglichen und ein zweiseitiger  $p$ -Wert  $<0,05$  als signifikant definiert. Die Kortisol- und Serotoninwerte wurden logarithmiert und mittels ANCOVA an den genannten Zeitpunkten verglichen.

### **6.1 Statistik der Tierversuchsdaten**

Die gewonnenen Daten wurden mittels Mann-Whitney  $U$  Test für nicht-verbundene Stichproben unter zur Hilfenahme der IBM-SPSS® Software evaluiert und als Mittelwert je Gruppe  $\pm$ Standardfehler dargestellt. Signifikanzen wurden dargestellt als: \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ .

## 7 Zusammengefasste Ergebnisse der Originalarbeiten

### 7.1 NGF ist ein Schlüsselmolekül stress-aggravierter Entzündung - die pharmakologische Intervention führt zu einer reduzierten peripheren Entzündung

#### 7.1.1 Stress führte zu einer verstärkten Genaktivität von NGF-assoziierten Wachstumsfaktoren und Entzündungsparametern in der Haut von C57BL/6-Mäusen

Mikroarrayanalysen der Haut von C57BL/6-Mäusen 48 h nach Stressexposition ergaben einen Anstieg in der Aktivität von 76 Genen, die nach der Pathwayanalyse als NGF-abhängig reguliert beschrieben werden. Die Aktivität der NGF-abhängigen Wachstumsfaktoren *ransforming growth factor-β2* (TGF-β2), *tumor necrosis factor receptor type 1B* (TNFR1B encoding TNF-RII) sowie die entzündungsassoziierten *vascular endothelial growth factors* (VEGF's) A und C waren signifikant heraufreguliert ( $n=3$ ; *Fold change* > 2, siehe Methodik).

#### 7.1.2 Stress führte zu einer verstärkte Expression von NGF, dem NGF-Rezeptor Trk-A und dem NGF-assoziierten TGF-β2 in der Haut von C57BL/6 Mäusen

Stress allein und Stress vor der Provokation führte zu einem signifikanten Anstieg der Immunreaktivität von NGF, dem primären Rezeptor für NGF – Tyrosinkinase (Trk) - A und den durch die Mikroarrayanalysen eruierten *Transforming Growth Factor* (TGF) – β2 in der Epidermis von C54BL/6-Mäusen 48 h nach Stresstermination ( $n=5$ ;  $p<0,01$ ). Dieser Effekt wurde signifikant durch die Applikation von anti-NGF inhibiert ( $n=5$ ;  $p<0,05$ ).

#### 7.1.3 Die Applikation von anti-NGF reduzierte die Zahl der NGF-immunreaktiven Mastzellen und das Mastzell-assoziierte pro-inflammatorische Zytokin TNF-α

Die Zahl degranulierter Mastzellen als ein Kennzeichen neurogener Entzündung war in unserem Stressprotokoll signifikant erhöht, jedoch zeigte sich dieser Effekt als nicht abhängig von NGF. Die Zahl NGF-immunreaktiver Mastzellen nahm jedoch unter Behandlung mit anti-NGF signifikant ab ( $n=5$ ;  $p<0,01$ ), ebenso wie der Gehalt an pro-inflammatorischem Zytokin TNF-α ( $p<0,05$ ), das in der Haut hauptsächlich von Mastzellen produziert wird.

#### 7.1.4 Die Applikation von anti-NGF führte zu einer Verbesserung klassischer Entzündungsparameter: der Eosinophileninfiltration und der Hautdicke

Insgesamt zeigte die pharmakologische Stressintervention mit anti-NGF einen positiven Effekt für die periphere Entzündung: die Zahl der infiltrierenden Eosinophilen ( $n=6$ ;  $p<0,01$ ) und die epidermale Hautdicke ( $p<0,05$ ) als klassische Parameter neurogener Entzündung waren signifikant reduziert.

## 7.2 Stressexposition mit Trainingseffekt – wiederholte Stressexposition führt Substanz P-abhängig zu einer reduzierten peripheren Entzündung

### 7.2.1 Stress führte zu einer vermehrten Interaktion zwischen epidermalen Nervenfasern und Langerhans-Zellen – den Schlüsselzellen der ersten Abwehr

Stress vor der Sensibilisierung führte zu einem signifikanten Anstieg der Kontakte ( $n=6$ ;  $p<0,05$ ) zwischen PGP 9.5-immunreaktiven Nervenfasern und Langerin-immunreaktiven Zellen in der Epidermis von C57BL/6-Mäusen - essentiell für eine stressinduziert veränderte neuro-immune Kommunikation.

### 7.2.2 Stress induzierte eine verstärkte Migration von dendritischen Zellen in die Haut-drainierenden Lymphknoten

Nachfolgend migrierten die in der Epidermis vermehrt gefundenen Langerhans-Zellen Stress- und SP abhängig in die Haut-drainierenden Lymphknoten: die Zahl MHC-II exprimierender Zellen war nach Stressexposition vor der Sensibilisierung in der Epidermis wie auch in der Dermis signifikant reduziert ( $n=6$ ;  $p<0,01$ ), während die Zahl der migrierten APZ *in vitro* unter Stress signifikant zunahm ( $p<0,05$ ). Die Applikation des SP-Rezeptor-Antagonisten führte zu einer signifikanten Inhibition der Migrationsrate ( $n=6$ ;  $p<0,01$ ).

### 7.2.3 Stress führte zu einer verstärkten Ausdifferenzierung dendritischer Zellen und einem Anstieg regulatorischer T-Zellen in den Haut-drainierenden Lymphknoten

Stress vor der Sensibilisierung führte zu einem signifikanten Anstieg der Zahl CD11c/ CD80- und CD11c/ CD86-stark immunreaktiver Zellen in den hautdrainierenden Lymphknoten ( $n=6$ ;  $p<0,01$ ). Die für die Interaktion mit T-Zellen in den Lymphknoten essentiellen Oberflächenmoleküle VLA-4 (*Very Late Antigen-4*) und LFA-1 (*Leucocyte Function-Associated Antigen-1*) wurden signifikant vermehrt exprimiert ( $p<0,05$  und  $p<0,01$ ). Gleichzeitig fand eine Induktion von T-regulatorischen Markern auf T-Zellen in den Lymphknoten statt, die Zahl der CD4/CD25-immunreaktiven Zellen stieg signifikant an ( $p<0,05$ ).

### 7.2.4 Die stress- und SP-abhängig induzierten regulatorischen Mechanismen führten zu einer Verbesserung klassischer Entzündungsparameter in der Haut

Die Zahl der FoxP3-immunreaktiven Zellen in der läSIONalen Haut nahm nach wiederholter Stressexposition signifikant zu ( $n=6$ ;  $p<0,05$ ). Gleichzeitig reduzierte sich die als klassischen Entzündungsparameter Eosinophileninfiltration und Hautdicke signifikant ( $p<0,01$ ). Alle Effekte wurden durch die Applikation eines SP-Rezeptor-Antagonisten aufgehoben ( $p<0,05$  respektive  $<0,01$ ).

### **7.3 Massagetherapie führte zu einer reduzierten Stress-Empfänglichkeit und zu einem reduzierten Serum-Kortisol Level bei Patientinnen mit Brustkrebs**

#### 7.3.1 Die Massage-Stressintervention reduzierte signifikant den empfundenen Stress

Die Massage-Stressintervention führte zu einer signifikanten Reduktion der empfundenen Sorgen (PSQ, siehe Methodik) der Studienteilnehmerinnen zwischen den Zeitpunkten T1 (Beginn der Studie) und T2 (Ende der Intervention;  $p < 0,05$ ) und nochmals verstärkt zum Zeitpunkt T3 (Nachsorgetermin;  $p < 0,001$ ) sowie einem reduzierten Gefühl der Anspannung zum Zeitpunkt T2 ( $n=17$ ;  $p < 0,05$ ).

#### 7.3.2 Die Massage-Stressintervention führte zu einer Verbesserung im Umgang mit Stimmungsschwankungen

Eine signifikante Reduktion der Empfindungen wie Ärger ( $n=17$ ;  $p < 0,05$ ) und Depression ( $p < 0,01$ ) wurde mit dem BSF zum Zeitpunkt T2, direkt nach der Intervention, bei den Patientinnen festgestellt. Das Gefühl der Erschöpfung reduzierte sich über den gesamten Zeitraum und war zum Zeitpunkt T3 signifikant verbessert im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p < 0,01$ ).

#### 7.3.3 Die Massage-Stressintervention veränderte die Stressachsenreagibilität – der Serulkortisolspiegel viel signifikant ab

Nur in der Massagegruppe konnte ein signifikanter Abfall des Serulkortisolspiegels zum Zeitpunkt T2 gemessen werden ( $n=17$ ;  $p < 0,05$ ). Dieser Effekt war nicht stabil zum Zeitpunkt T3. Die Auswirkungen auf den Serulkortisolspiegel waren nicht signifikant.

## 8 Diskussion

Erkrankungen, denen eine Dysfunktion des Immunsystems zugrunde liegt, wie Allergien aber auch Krebs, können durch das Eingreifen in die Balance zwischen der TH1- und TH2-Immunantwort in ihrem Verlauf beeinflusst werden [14]. Stress hat einen erheblichen Einfluss auf diese Balance über den Mechanismus der neuro-immunen Kommunikation [52-54]. Somit kann die Stressintervention als ein überaus interessanter Ansatzpunkt für die Behandlung dieser Erkrankungen angesehen werden [55-58]. Mit der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, unter der Beantwortung der eingangs gestellten Fragen, eine Intervention der Stressreaktion an drei Kernpunkten darzustellen:

Ad 1) NGF spielt eine entscheidende Rolle in der stressabhängigen Exazerbation der TH2-dominierten allergischen Dermatitis. Die Inhibierung der Wirksamkeit von NGF im Zielgewebe durch die systemische Applikation eines NGF-Antagonisten bewirkt eine signifikante Reduktion von Parametern, die eine allergische Entzündung aufrechterhalten. Hierzu gehören die Inhibierung der TNF- $\alpha$ -Produktion durch Mastzellen und nachfolgend die Reduktion der Migration entzündungsfördernder Eosinophilen in die läsionale Haut.

Ad 2) In einem frühen Stadium der Entwicklung der TH2- polarisierten, allergischen Dermatitis können durch wiederholte Stressexposition essentielle Parameter der allergischen Entzündung in läsionaler Haut signifikant reduziert werden. Hierzu gehören die Reduktion der Hautdicke, der Mastzell- und der Eosinophilenzahl. Die TH2- dominierte allergische Entzündung wird in Richtung TH1 polarisiert, während parallel regulatorische Mechanismen aktiviert werden, die die Entzündung signifikant reduzieren. SP zeigt sich in diesem Setting als potenter Stressmediator. SP hat einen entscheidenden Anteil an der Induktion der beobachteten anti-inflammatorischen Prozesse, in dem es in der Kommunikation zwischen SP-enthaltenden Nervenfasern und APZ vermittelt und in der Folge die Antigenpräsentation dieser Zellen verändert.

Ad3) Eine stressreduzierende Intervention, wie die Massage, kann im Verlauf der TH2-polarisierten Erkrankung Brustkrebs, signifikant die Stressachsenimbalance beeinflussen. Es kommt zu einer signifikanten Reduktion des Stressmediators Kortisol im Serum der Patientinnen, die einhergeht mit einer deutlichen Verbesserung der Stressverarbeitung der Patientinnen.

Der Mechanismus von Stress-Allergie-Wechselwirkungen wird seit vielen Jahren in Tiermodellen untersucht [59-62]. Die AID ist ein etabliertes tierexperimentelles Modell, welches zelluläre und molekulare Mechanismen der Erkrankung in ein Tiermodell übertragen hat und die

validierte Untersuchung von insbesondere psychoemotionalem Stress auf die Pathogenese der Erkrankung ermöglicht [63-68].

In diesem Modell wurden NGF und SP als Hauptmediatoren der Wechselwirkungen von sensiblen Nervenfasern und Immunzellen und nachfolgender Exazerbation neurogener Entzündung an der Barriere zwischen Körper und Umwelt zum Zeitpunkt der Etablierung einer allergischen Reaktion identifiziert [3, 44, 64, 69, 70]. Es gibt Arbeiten die zeigen, dass NGF an der IgG-unabhängigen Mastzelldegranulation und somit der Entstehung von Pruritus beteiligt ist [6, 67]. NGF ist wiederum selbst in Mastzellen enthalten und wird bei der Degranulation in das läSIONALE Gewebe entlassen [71]. Letztendlich erhält NGF die lokale Entzündung aufrecht, in dem es die Innervation mit sensiblen SP-enhaltenden Nervenfasern fördert sowie die Keratinozytenproliferation und die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine induziert [4, 5, 72, 73]. NGF ist somit wie SP ein ideales Ziel pharmakologischer Intervention.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass NGF eine entscheidende Rolle an der stressabhängig exazerbierten neurogenen Entzündung hat, indem es epidermale Hyperplasie, TNF- $\alpha$ -Expression und Eosinophilie fördert. NGF enthaltende Mastzellen werden durch eine anti-NGF Behandlung signifikant reduziert, während NGF aber nicht an einer stressinduzierten Degranulation, wie sie von anderen Autoren gezeigt wurde, beteiligt ist [67]. Der durch die anti-NGF Behandlung reduzierte Mastzelltyp zeigt sich NGF immunreaktiv und konnte als ein wichtiger TNF- $\alpha$  Produzent verifiziert werden. TNF- $\alpha$  ist ein entscheidender Faktor der Eosinophileninfiltration [74]. Die deutliche Reduktion des Eosinophileninflux und nachfolgend der epidermalen Hautdicke erklärt sich somit in diesem Setting durch eine Intervention der stressinduzierten pro-inflammatorischen Signalkaskade am Kreuzpunkt des neurotrophen Anteils der NNA zum Zeitpunkt der Etablierung der allergischen Entzündung. Ein reduzierter NGF Gehalt in läSIONALER Haut durch Blockierung NGF enthaltender Mastzellen reduziert deutlich stressinduzierte Entzündungsparameter in der AID. Somit ist die pharmakologische Anwendung von NGF-Antagonisten, neben TNF- $\alpha$ -Inhibitoren und SP-Antagonisten zur Behandlung von Entzündung und Juckreiz in der AID, ein weiterer interessanter Ansatz zur Behandlung der neurogenen Entzündung.

Die obigen Beobachtungen zusammenfassend liegt es nahe, Stress als schädliche Einflussgröße für TH2- dominierte, chronisch entzündliche Erkrankungen zu betrachten. Verschiedene klinische Beobachtungen zeigen aber auch, dass der Umgang mit Stress trainiert werden kann. So war es bereits vor 30 Jahren möglich nachzuweisen, dass die Histaminsekretion konditioniert (z.B. durch Hypnose) werden kann und damit mastzellabhängige Kaskaden durch psychoemotionale Interventionen gesteuert werden können [75-78]. Der Psychologe Robert Ader war in den darauffolgenden Jahren in der Lage, eine Immunsuppression durch

Modifikation der neuro-endokrinen Stressantwort zu steuern [79]. Diese Arbeiten zeigen, dass Stress keine Ein-Weg-Straße ist: Es ist möglich den Körper durch optimierte, gezielte Stressexposition abzuhärten [20].

SP zählt klassischerweise zu den TH1- favorisierenden und entzündungsfördernden Neuropeptiden in stressabhängig aktivierten Signalkaskaden [3, 64, 70, 80, 81]. SP ist der Hauptmediator der NNA und verantwortlich für die stressaggravierte, neurogene Entzündung in der AID [3, 9]. An der Barriere von Körper und Umwelt wird SP stressabhängig aus sensiblen Nervenfasern in das Gewebe entlassen und ist der Hauptmediator der unvermittelten inflammatorischen Antwort [3, 20, 82, 83]. SP fördert die Ig-E-unabhängige Mastzelldegranulation sowie die Produktion des pro-inflammatorischen Zytokins IFN- $\gamma$  und nachfolgend die neurogene Entzündung [3, 70]. Diese Effekte werden in der Literatur nach akuter Stressexposition, wie 24-stündigem Lärmstress, akuter Immobilisation von weniger als 30 Minuten aber auch nach Exposition mit einem pro-inflammatorischen Signal wie Lipopolysacchariden, beschrieben [3, 84, 85].

Die Aktivierung und Modulation von APZ ist eine der Schlüsselrollen von SP über die nachfolgend, zum Zeitpunkt der Etablierung der allergischen Entzündung, pro-inflammatorische Zytokine produziert werden [3] und eine Verknüpfung von adaptiver und erworbener Immunantwort - TH1 zu TH2 - stattfindet. SP moduliert die Produktion von IFN- $\gamma$  direkt in APZ ebenso wie über eine veränderte Antigenpräsentation nachfolgend in T-Zellen [85, 86].

In dem Zweiten hier vorgestellten Stressparadigma führt die Stressexposition vor der Sensibilisierung ebenfalls SP-abhängig zu einer veränderten Antigenpräsentation von epidermalen APZ den Langerhanszellen, einer speziellen APZ Population, die Antigene in der Haut aufnehmen, prozessieren und in ortsständigen Lymphknoten den T-Zellen präsentieren [87]. Die wiederholte Stressexposition führt hier jedoch zu einer vermehrten IL-2 Produktion, Grundlage für T-Zellproliferation, CD25 Expression und Bildung von anti-inflammatorischen TGF- $\beta$  [88, 89]. Nachfolgend entsteht ein APZ-Phänotyp, der in der Lage ist in den ortsständigen Lymphknoten die Bildung von T-regulatorischen Zellen anzuregen, die anschließend in die Haut re-migrieren, um hier die periphere Entzündung zu unterdrücken. Gleichzeitig wird die Produktion von TH1- Zytokinen angeregt, was zu einer Unterdrückung der für die Allergie entscheidenden TH2- Polarisation führt [25]. Es ist also nicht nur die Dosis entscheidend, ob Stress einen negativen Impact auf den Verlauf der allergischen Erkrankung hat. Wichtig ist auch der Zeitpunkt der Stressexposition zwischen Sensibilisierungs- und Effektorphase während der Etablierung der Allergie. Die richtige Dosis und der richtige Zeitpunkt der Stressexposition können den Körper trainieren, sich an einen Stressor effektiv zu adaptieren. Mit dieser Arbeit ist es nach aktuellem Erkenntnisstand erstmalig gelungen, eine Stress- und SP-

abhängige Induktion von T-regulatorischen Zellen nachzuweisen, wie sie schon seit langen in der Therapie von entzündlichen Erkrankungen diskutiert wird [90, 91].

Pharmakologisch und präventiv intervenierte Stressantworten führen zu einem dritten Ansatz der Stressintervention: Die Intervention eines chronischen Stressors durch Aktivierung der Eigenregulation. Die Diagnose einer Krebserkrankung ist für den Betroffenen allein schon ein über die Maßen stressvolles Ereignis [92]. Die gesamte Lebensplanung wird „auf den Kopf gestellt“ und der Umgang mit einer Krankheit, die tödlich enden kann, kann als chronischer Stressor gewertet werden.

Die Aktivierung der klassischen Stressachsen SA und HHA unterdrücken die TH1- Immunantwort, ein Mechanismus der rudimentär die Vergeudung von Energiereserven vermeiden soll, um einen physischen oder psychischen Stressor begegnen zu können [93]. Bei einer Fehlaktivierung bzw. einer fehlenden Erholung von solch einer Stressphase, bewirkt die Unterdrückung der TH1- Immunantwort eine Balanceverschiebung in Richtung einer TH2- Immunantwort, die die zelluläre Abwehr inhibiert - ein entscheidender Faktor in der Pathogenese TH2- assoziierter Erkrankungen, wie auch dem Brustkrebs [21].

Die Studie der Massageintervention bei Patientinnen mit Brustkrebs stellt deutlich heraus, dass intensiver körperlicher Kontakt in Form von Massagen das Stresserleben und damit die Lebensqualität der Patientinnen deutlich verbessert. Der signifikante Abfall des Serumkortisolspiegels als entscheidender Parameter einer reduzierten HHNA Achsen Aktivierung, untermauert die Effektivität dieser komplementären Behandlungsstrategie [26].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Stressintervention bei chronisch entzündlichen ebenso wie bei Krebserkrankungen, an verschiedenen Kreuzpunkten der Stresssignal-kaskade als effektive und sinnvolle Ergänzung in der Therapie anzusehen ist. Unser wachsendes Wissen über neuronale Netzwerke und deren lebenslanger Plastizität öffnen uns die Augen über die enge Verbindung von Nerven- und Immunsystem und deren gegenseitige Beeinflussung - ein Mechanismus der es dem Körper im Laufe der Evolution ermöglichte, auf physische wie auch psychische Stressoren zu reagieren, zu adaptieren und die Homöostase aller lebensnotwendigen Systeme aufrechtzuerhalten [20]. Die Stressantwort hat sich aus der Immunantwort entwickelt und beide stellen somit hoch-konservierte Systeme zur Antwort auf veränderte Umweltbedingungen dar [94]. So erklärt sich das immense Potential des Einflusses von Stress auf adaptive Veränderungen von neuro-immunen Interaktionen und bietet damit selbst ein hohes Potential für Interventionen im Kampf gegen Erkrankungen, denen eine genetisch prädisponierte Immunsystemfehlaktivierung zugrunde liegt [95].

Keine der Strategien, von schulmedizinischer bis komplementärer Behandlungsoption, sollte per se ausgeschlossen werden - sie erleichtern den Betroffenen den Umgang mit der Erkrankung und können den Verlauf der Erkrankung positiv beeinflussen. Von der Prävention bis zur Intervention sollten Ärzte und Therapeuten aller Fachrichtungen in einen regen Austausch treten, um therapeutische Konzepte zu entwickeln, die die Stressintervention als ernstzunehmende Zusatzoption in die Behandlung von Erkrankungen, bei denen das Immunsystem eine Fehlregulation aufweist, einfließen zu lassen.

## 9 Literaturverzeichnis

1. Bachert, C., et al., *Weißbuch Allergie in Deutschland*, ed. J. Ring, T. Fuchs, and G. Schultze-Werninghaus 2004, München: Urban & Vogel Medien und Medizin Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG.
2. Peters, E.M., et al., *The neuroimmune connection interferes with tissue regeneration and chronic inflammatory disease in the skin*. Ann N Y Acad Sci, 2012. **1262**: p. 118-26.
3. Pavlovic, S., et al., *Further exploring the brain-skin connection: stress worsens dermatitis via substance P-dependent neurogenic inflammation in mice*. J Invest Dermatol, 2008. **128**(2): p. 434-46.
4. Tominaga, M., et al., *Psoralen-ultraviolet A therapy alters epidermal Sema3A and NGF levels and modulates epidermal innervation in atopic dermatitis*. J Dermatol Sci, 2009. **55**(1): p. 40-6.
5. Botchkarev, V.A., et al., *Epithelial growth control by neurotrophins: leads and lessons from the hair follicle*. Prog Brain Res, 2004. **146**: p. 493-513.
6. Tal, M. and R. Liberman, *Local injection of nerve growth factor (NGF) triggers degranulation of mast cells in rat paw*. Neurosci Lett, 1997. **221**(2-3): p. 129-32.
7. Kodama, A., et al., *Effect of stress on atopic dermatitis: investigation in patients after the great hanshin earthquake*. J Allergy Clin Immunol, 1999. **104**(1): p. 173-6.
8. Flint, M.S., et al., *Differential regulation of sensitizer-induced inflammation and immunity by acute restraint stress in allergic contact dermatitis*. J Neuroimmunol, 2003. **140**(1-2): p. 28-40.
9. Joachim, R.A., et al., *Stress-induced neurogenic inflammation in murine skin skews dendritic cells towards maturation and migration: key role of intercellular adhesion molecule-1/leukocyte function-associated antigen interactions*. Am J Pathol, 2008. **173**(5): p. 1379-88.
10. Sehlen, S., et al., *Psychosocial stress in cancer patients during and after radiotherapy*. Strahlenther Onkol, 2003. **179**(3): p. 175-80.
11. Hasselbalch, H.C., *Chronic inflammation as a promotor of mutagenesis in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis. A human inflammation model for cancer development?* Leuk Res, 2013. **37**(2): p. 214-20.
12. Picardo, S.L., et al., *Barrett's to oesophageal cancer sequence: a model of inflammatory-driven upper gastrointestinal cancer*. Dig Surg, 2012. **29**(3): p. 251-60.
13. Antoni, M.H., et al., *The influence of bio-behavioural factors on tumour biology: pathways and mechanisms*. Nat Rev Cancer, 2006. **6**(3): p. 240-8.
14. Tausk, F., I. Elenkov, and J. Moynihan, *Psychoneuroimmunology*. Dermatol Ther, 2008. **21**(1): p. 22-31.
15. Elenkov, I.J., *Neurohormonal-cytokine interactions: Implications for inflammation, common human diseases and well-being*. Neurochem Int, 2008. **52**(1-2): p. 40-51.
16. Böhm, I. and R. Bauer, *[Th1 cells, Th2 cells and atopic dermatitis]*. Hautarzt, 1997. **48**(4): p. 223-7.
17. Straub, R.H., et al., *Anti-inflammatory role of sympathetic nerves in chronic intestinal inflammation*. Gut, 2008. **57**(7): p. 911-21.
18. Krohn, M., et al., *Depression, mood, stress, and Th1/Th2 immune balance in primary breast cancer patients undergoing classical massage therapy*. Support Care Cancer, 2011.
19. Schubert, C. and G. Schussler, *[Psychoneuroimmunology: an update]*. Z Psychosom Med Psychother, 2009. **55**(1): p. 3-26.
20. Liezmann, C., B. Klapp, and E.M. Peters, *Stress, atopy and allergy: A re-evaluation from a psychoneuroimmunologic perspective*. Dermatoendocrinol, 2011. **3**(1): p. 37-40.
21. Kidd, P., *Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease*. Altern Med Rev, 2003. **8**(3): p. 223-46.
22. Zheng, T. and Z. Zhu, *Lessons from murine models of atopic dermatitis*. Curr Allergy Asthma Rep, 2005. **5**(4): p. 291-7.
23. Elenkov, I.J. and G.P. Chrousos, *Stress Hormones, Th1/Th2 patterns, Pro/Anti-inflammatory Cytokines and Susceptibility to Disease*. Trends Endocrinol Metab, 1999. **10**(9): p. 359-368.
24. Besedovsky, H.O. and A. del Rey, *The cytokine-HPA axis feed-back circuit*. Z Rheumatol, 2000. **59 Suppl 2**: p. II/26-30.
25. Elenkov, I.J., et al., *Cytokine dysregulation, inflammation and well-being*. Neuroimmunomodulation, 2005. **12**(5): p. 255-69.
26. Boscarino, J.A., *Posttraumatic stress disorder and physical illness: results from clinical and epidemiologic studies*. Ann N Y Acad Sci, 2004. **1032**: p. 141-53.
27. Rupprecht, M., et al., *Cortisol, corticotropin, and beta-endorphin responses to corticotropin-releasing hormone in patients with atopic eczema*. Psychoneuroendocrinology, 1995. **20**(5): p. 543-51.

28. Hernandez-Reif, M., et al., *Natural killer cells and lymphocytes increase in women with breast cancer following massage therapy*. *Int J Neurosci*, 2005. **115**(4): p. 495-510.
29. Buske-Kirschbaum, A. and D.H. Hellhammer, *Endocrine and immune responses to stress in chronic inflammatory skin disorders*. *Ann N Y Acad Sci*, 2003. **992**: p. 231-40.
30. Elenkov, I.J., et al., *The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system*. *Pharmacol Rev*, 2000. **52**(4): p. 595-638.
31. Flint, M.S., et al., *Restraint stress applied prior to chemical sensitization modulates the development of allergic contact dermatitis differently than restraint prior to challenge*. *J Neuroimmunol*, 2001. **113**(1): p. 72-80.
32. Gomez-Bezares, P. and F.J. Vazquez-Doval, [*Neuropeptides in dermatologic therapy*]. *Rev Neurol*, 1997. **25 Suppl 3**: p. S320-4.
33. Collinge, W., G. MacDonald, and T. Walton, *Massage in supportive cancer care*. *Semin Oncol Nurs*, 2012. **28**(1): p. 45-54.
34. Moyer, C.A., J. Rounds, and J.W. Hannum, *A meta-analysis of massage therapy research*. *Psychol Bull*, 2004. **130**(1): p. 3-18.
35. Fawzy, F.I., et al., *A structured psychiatric intervention for cancer patients. I. Changes over time in methods of coping and affective disturbance*. *Arch Gen Psychiatry*, 1990. **47**(8): p. 720-5.
36. Fawzy, F.I., et al., *Malignant melanoma. Effects of an early structured psychiatric intervention, coping, and affective state on recurrence and survival 6 years later*. *Arch Gen Psychiatry*, 1993. **50**(9): p. 681-9.
37. Botchkarev, V.A., et al., *Hair cycle-dependent plasticity of skin and hair follicle innervation in normal murine skin*. *J Comp Neurol*, 1997. **386**(3): p. 379-95.
38. Botchkarev, V.A., et al., *A simple immunofluorescence technique for simultaneous visualization of mast cells and nerve fibers reveals selectivity and hair cycle--dependent changes in mast cell--nerve fiber contacts in murine skin*. *Arch Dermatol Res*, 1997. **289**(5): p. 292-302.
39. Nagel, C., et al., *Mast cell-mediated allergic inflammation is impaired in the absence of cutaneous nerves*. *Arch Derm Res*, 2002. **294**: p. 1 (abstract and oral presentation, annual meeting of the "Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung", Berlin, Germany: 28.2.2002).
40. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen, *Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method*. *Methods*, 2001. **25**(4): p. 402-8.
41. Schmittgen, T.D. and K.J. Livak, *Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method*. *Nat Protoc*, 2008. **3**(6): p. 1101-8.
42. Dennis, G., Jr., et al., *DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery*. *Genome Biol*, 2003. **4**(5): p. P3.
43. Hosack, D.A., et al., *Identifying biological themes within lists of genes with EASE*. *Genome Biol*, 2003. **4**(10): p. R70.
44. Peters, E.M., et al., *Stress exposure modulates peptidergic innervation and degranulates mast cells in murine skin*. *Brain Behav Immun*, 2005. **19**(3): p. 252-62.
45. Hendrix, S., et al., *Skin and hair follicle innervation in experimental models: a guide for the exact and reproducible evaluation of neuronal plasticity*. *Exp Dermatol*, 2008. **17**(3): p. 214-27.
46. Ebner, K. and N. Singewald, *Stress-induced release of substance P in the locus coeruleus modulates cortical noradrenaline release*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2007.
47. Blois, S.M., et al., *Depletion of CD8+ cells abolishes the pregnancy protective effect of progesterone substitution with dydrogesterone in mice by altering the TH1/TH2 cytokine profile*. *J Immunol*, 2004. **172**(10): p. 5893-9.
48. Listing, M., et al., *Massage therapy reduces physical discomfort and improves mood disturbances in women with breast cancer*. *Psychooncology*, 2009. **18**(12): p. 1290-9.
49. Fliege, H., et al., *The Perceived Stress Questionnaire (PSQ) reconsidered: validation and reference values from different clinical and healthy adult samples*. *Psychosom Med*, 2005. **67**(1): p. 78-88.
50. Hörhold, M. and B. Klapp, *Testing the invariance and hierarchy of a multidimensional model of mood by means of repeated measurement with student and patient sample*. *Z Med Psychol*, 1993. **1**: p. 27-35.
51. Rose, M., et al., *Determinants of the quality of life of patients with diabetes under intensified insulin therapy*. *Diabetes Care*, 1998. **21**(11): p. 1876-85.
52. Ziemssen, T. and S. Kern, *Psychoneuroimmunology--cross-talk between the immune and nervous systems*. *J Neurol*, 2007. **254 Suppl 2**: p. I18-11.
53. Maier, S.F., L.R. Watkins, and M. Fleshner, *Psychoneuroimmunology. The interface between behavior, brain, and immunity*. *Am Psychol*, 1994. **49**(12): p. 1004-17.

54. Sternberg, E.M., et al., *The stress response and the regulation of inflammatory disease*. Ann Intern Med, 1992. **117**(10): p. 854-66.
55. Calabrese, F., et al., *Neuronal plasticity: a link between stress and mood disorders*. Psychoneuroendocrinology, 2009. **34 Suppl 1**: p. S208-16.
56. Sturgeon, M., et al., *Effects of therapeutic massage on the quality of life among patients with breast cancer during treatment*. J Altern Complement Med, 2009. **15**(4): p. 373-80.
57. Zozulya, A.A., et al., *Personality, coping style, and constitutional neuroimmunology*. J Immunotoxicol, 2008. **5**(2): p. 221-5.
58. Arndt, J., N. Smith, and F. Tausk, *Stress and atopic dermatitis*. Curr Allergy Asthma Rep, 2008. **8**(4): p. 312-7.
59. Wu, Z., S.D. Holwill, and D.B. Oliveira, *Desferrioxamine modulates chemically induced T helper 2-mediated autoimmunity in the rat*. Clin Exp Immunol, 2004. **135**(2): p. 194-9.
60. Gallucci, S. and P. Matzinger, *Danger signals: SOS to the immune system*. Curr Opin Immunol, 2001. **13**(1): p. 114-9.
61. Elenkov, I.J. and G.P. Chrousos, *Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity*. Ann N Y Acad Sci, 2002. **966**: p. 290-303.
62. Aloe, L., et al., *The expanding role of nerve growth factor: from neurotrophic activity to immunologic diseases*. Allergy, 1997. **52**(9): p. 883-94.
63. Peters, E.M.J., et al., *Mouse models for stress and atopic dermatitis*. Exp Dermatol, 2002: p. (submitted).
64. Peters, E.M., et al., *Probing the effects of stress mediators on the human hair follicle: substance P holds central position*. Am J Pathol, 2007. **171**(6): p. 1872-86.
65. Peters, E.M., et al., *Neurogenic inflammation in stress-induced termination of murine hair growth is promoted by nerve growth factor*. Am J Pathol, 2004. **165**(1): p. 259-71.
66. Peters, E.M., et al., *p75 Neurotrophin Receptor-Mediated Signaling Promotes Human Hair Follicle Regression (Catagen)*. Am J Pathol, 2006. **168**(1): p. 221-34.
67. Kulka, M., et al., *Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production*. Immunology, 2008. **123**(3): p. 398-410.
68. Joachim, R.A., et al., *Neuronal plasticity of the "brain-skin connection": stress-triggered up-regulation of neuropeptides in dorsal root ganglia and skin via nerve growth factor-dependent pathways*. J Mol Med, 2007. **85**(12): p. 1369-78.
69. Siebenhaar, F., et al., *Substance P as an Immunomodulatory Neuropeptide in a Mouse Model for Autoimmune Hair Loss (Alopecia Areata)*. J Invest Dermatol, 2007. **127**(6): p. 1489-97.
70. Siebenhaar, F., et al., *Mast cell-driven skin inflammation is impaired in the absence of sensory nerves*. J Allergy Clin Immunol, 2007.
71. Bonini, S., et al., *Nerve growth factor and asthma*. Allergy, 2002. **72**: p. 13-5.
72. Schulte-Herbruggen, O., et al., *Neurotrophic factors--a tool for therapeutic strategies in neurological, neuropsychiatric and neuroimmunological diseases?* Curr Med Chem, 2007. **14**(22): p. 2318-29.
73. Peters, E.M., et al., *Neurotrophins act as neuroendocrine regulators of skin homeostasis in health and disease*. Horm Metab Res, 2007. **39**(2): p. 110-24.
74. Broide, D.H., et al., *Inhibition of eosinophilic inflammation in allergen-challenged TNF receptor p55/p75--and TNF receptor p55-deficient mice*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001. **24**(3): p. 304-11.
75. Zachariae, R. and P. Bjerring, *The effect of hypnotically induced analgesia on flare reaction of the cutaneous histamine prick test*. Arch Dermatol Res, 1990. **282**(8): p. 539-43.
76. Russell, M., et al., *Learned histamine release*. Science, 1984. **225**(4663): p. 733-4.
77. Kossak, H.C., *Hypnose. Ein Lehrbuch.*, ed. H.E. Lehrbuch. 1997: Psychologie Verlags Union. 448.
78. Langewitz, W., et al., *Effect of self-hypnosis on hay fever symptoms - a randomised controlled intervention study*. Psychother Psychosom, 2005. **74**(3): p. 165-72.
79. Ader, R., *Classical conditioning in the treatment of psoriasis*. Cutis, 2000. **66**(5): p. 370-2.
80. Blum, A., et al., *Interleukin-12 (IL-12) and IL-23 induction of substance p synthesis in murine T cells and macrophages is subject to IL-10 and transforming growth factor beta regulation*. Infect Immun, 2008. **76**(8): p. 3651-6.
81. Joachim, R.A., et al., *Stress induces substance P in vagal sensory neurons innervating the mouse airways*. Clin Exp Allergy, 2006. **36**(8): p. 1001-10.
82. Joachim, R.A., et al., *Correlation between immune and neuronal parameters and stress perception in allergic asthmatics*. Clin Exp Allergy, 2008. **38**(2): p. 283-90.
83. Hendrix, S., *Neuroimmune communication in skin: far from peripheral*. J Invest Dermatol, 2008. **128**(2): p. 260-1.

84. Singh, L.K., et al., *Acute immobilization stress triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing hormone, neurotensin, and substance P: A link to neurogenic skin disorders*. Brain Behav Immun, 1999. **13**(3): p. 225-39.
85. Weinstock, J.V., et al., *Substance P regulates Th1-type colitis in IL-10 knockout mice*. J Immunol, 2003. **171**(7): p. 3762-7.
86. Arsenescu, R., et al., *IL-12 induction of mRNA encoding substance P in murine macrophages from the spleen and sites of inflammation*. J Immunol, 2005. **174**(7): p. 3906-11.
87. Koch, S., et al., *Skin homing of Langerhans cell precursors: adhesion, chemotaxis, and migration*. J Allergy Clin Immunol, 2006. **117**(1): p. 163-8.
88. Yamanouchi, J., et al., *Interleukin-2 gene variation impairs regulatory T cell function and causes autoimmunity*. Nat Genet, 2007. **39**(3): p. 329-37.
89. Fontenot, J.D., et al., *A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells*. Nat Immunol, 2005. **6**(11): p. 1142-51.
90. Cavani, A., *T regulatory cells in contact hypersensitivity*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2008. **8**(4): p. 294-8.
91. Elkord, E., *Novel therapeutic strategies by regulatory T cells in allergy*. Chem Immunol Allergy, 2008. **94**: p. 150-7.
92. Chaturvedi, S.K. and C. Venkateswaran, *New research in psychooncology*. Curr Opin Psychiatry, 2008. **21**(2): p. 206-10.
93. Selye, H., *The Physiology and Pathology of Exposure to STRESS*1950, Montreal: ACTA. INC. Medical Publishers.
94. Black, P.H., *Stress and the inflammatory response: A review of neurogenic inflammation*. Brain Behav Immun, 2002. **16**(6): p. 622-53.
95. Langkafel, M., et al., *Entwicklungstheorie*. , in *Praxis der Psychotherapie.*, B.M. Senf W, Editor 2000, Thieme: Stuttgart.

## 10 Anteilserklärung

Die Antragstellerin Liezmann, Christiane hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

### **Publikation 1:**

Autoren: Peters EMJ, Liezmann C, Spatz K, Daniltchenko M, Joachim R, Gimenez-Rivera A, Hendrix S, Botchkarev VA, Brandner J M, Klapp BF.

Titel: Nerve Growth Factor Partially Recovers Inflamed Skin from Stress-Induced Worsening in Allergic Inflammation.

Journal: J Invest Dermatol

Jahr: 2010

40 Prozent

Beitrag im Einzelnen:

Durchführung, Auswertung und graphische Darstellung labortechnischer Untersuchungsmethoden wie ELISA und PCR. Partizipierung am Manuskriptentwurf und Gegenkorrektur des Manuskripts.

### **Publikation 2:**

Autoren: Pavlovic S\*, Liezmann C\*, Blois SM, Joachim R, Kruse J, Romani N, Klapp BF, Peters EM. (\* both authors contributing equal)

Titel: Substance P Is a Key Mediator of Stress-Induced Protection from Allergic Sensitization via Modified Antigen Presentation.

Journal: J Immunol

Jahr: 2010

40 Prozent

Beitrag im Einzelnen:

Partizipieren am experimentellen Entwurf, Tierexperimentelle Assistenz, Gewebeentnahme, Gewebeasservierung und Gewebeprozessierung, Datenaufarbeitung und Datenanalyse, Bildgestaltung, Partizipieren am Manuskriptentwurf, Korrektur des Manuskripts und Finalisieren.

### **Publikation 3:**

Autoren: Listing M, Krohn M, Liezmann C, Kim I, Reissbauer A, Peters EMJ, Klapp, BF, Rauchfuss M.

Titel: The efficacy of classical massage on stress perception and cortisol following primary treatment of breast cancer.

Journal: Arch Womens Ment Health

Jahr: 2010

20 Prozent

Beitrag im Einzelnen:

Konzeption, Unterstützung und Anleitung der Doktorandin Miriam Listing bei der Erarbeitung und Durchführung der Serotonin- und Kortisol-ELISA (Messmethode zur labortechnischen Bestimmung der Stressmarker Serotonin und Kortisol im Serum der Patientinnen) im Labor.

Berlin, den 22.05.2013

Christiane Liezmann

PD Dr. med. Eva Peters

## 11 Ausgewählte Publikationen

Peters EMJ, **Liezmann C**, Spatz K, Daniltchenko M, Joachim R, Gimenez-Rivera A, Hendrix S, Botchkarev VA, Brandner J M, Klapp BF. *Nerve Growth Factor Partially Recovers Inflamed Skin from Stress-Induced Worsening in Allergic Inflammation*. J Invest Dermatol, 2010.

<http://www.nature.com/jid/journal/v131/n3/full/jid2010317a.html>

Pavlovic S\*, **Liezmann C\***, Blois SM, Joachim R, Kruse J, Romani N, Klapp BF, Peters EMJ. *Substance P Is a Key Mediator of Stress-Induced Protection from Allergic Sensitization via Modified Antigen Presentation*. J Immunol, 2010.

<http://www.jimmunol.org/content/186/2/848.full?sid=ae30d02a-64be-4e34-8f03-c20acb567b4b>

Listing M, Krohn M, **Liezmann C**, Kim I, Reissauer A, Peters EMJ, Klapp, BF, Rauchfuss M. *The efficacy of classical massage on stress perception and cortisol following primary treatment of breast cancer*. Arch Womens Ment Health, 2010.

<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00737-009-0143-9>



















































## **12 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

### 13 Vollständige Publikationsliste

#### Wissenschaftliche Artikel chronologisch

Autoren: Peters EMJ, Stieglitz MG, Liezman C, Overall RW, Nakamura M, Hagen E, Klapp BF, Arck P, Paus R.

Titel: p75 Neurotrophin Receptor-Mediated Signaling Promotes Human Hair Follicle Regression (Catagen)

Journal: Am J Pathol

Jahr: 2006

Autoren: Arck PC, Overall R, Spatz K, Liezman C, Handjiski B, Klapp BF, Birch-Machin MA, Peters EMJ.

Titel: Towards a "free radical theory of graying": melanocyte apoptosis in the aging human hair follicle is an indicator of oxidative stress induced tissue damage

Journal: Faseb J

Jahr: 2006

Autoren: Hendrix S, Picker B, Liezmann C, Peters EMJ.

Titel: Skin and hair follicle innervation in experimental models: a guide for the exact and reproducible evaluation of neuronal plasticity

Journal: Exp Dermatol

Jahr: 2008

Autoren: Listing M, Krohn M, Liezmann C, Kim I, Reissbauer A, Peters EMJ, Klapp BF, Rauchfuss M.

Titel: The efficacy of classical massage on stress perception and cortisol following primary treatment of breast cancer

Journal: Arch Womens Ment Health

Jahr: 2010

Autoren: Peters EMJ, Liezmann C, Spatz K, Daniltchenko M, Joachim R, Gimenez-Rivera A, Hendrix S, Botchkarev VA, Brandner J M, Klapp BF.

Titel: Nerve Growth Factor Partially Recovers Inflamed Skin from Stress-Induced Worsening in Allergic Inflammation

Journal: J Invest Dermatol

Jahr: 2010

Autoren: Pavlovic S\*, **Liezmann C**, Blois SM, Joachim R, Kruse J, Romani N, Klapp BF, Peters EMJ. (\* both authors contributing equal)

Titel: Substance P Is a Key Mediator of Stress-Induced Protection from Allergic Sensitization via Modified Antigen Presentation.

Journal: J Immunol

Jahr: 2010

Autoren: Peters EMJ, **Liezmann C**, Klapp BF, Kruse J.

Titel: The neuroimmune connection interferes with tissue regeneration and chronic inflammatory disease in the skin.

Journal: Ann N Y Acad Sci

Jahr: 2012

Autoren: Peters EMJ, **Liezmann C**, Spatz K, Ungethüm U, Daniltchenko M, Kruse J, Imfeld D, Klapp BF, Gräub R.

Titel: Profiling mRNA of the graying human hair follicle constitutes a promising state of the art tool to assess its aging.

Journal: Invest Dermatol

Jahr: 2012 (submitted and accepted)

#### Reviews

Autoren: **Liezmann C**, Klapp BF, Peters EMJ.

Title: Stress, Atopy and Allergy: a Re-Evaluation from a Psychoimmunologic Perspective.

Journal: Special Issue "10 Years of *Dermato-Endocrinology*" in: *Dermatoendocrinol.*

Jahr: 2011

Autoren: **Liezmann C**, Stock D, Peters EMJ.

Titel: Stress induced neuroendocrine-immune plasticity: A role for the spleen in peripheral inflammatory disease and inflammaging?

Journal: Special Issue "*Inflammaging*" in: *Dermatoendocrinol.*

Jahr: 2012

#### **Manuskripte in Vorbereitung**

**Liezmann C**, Blois S, Kruse J, Klapp BF, Peters EMJ.

Noise stress attenuates splenic TH-2 cytokine production in a substance P-dependent manner in a mouse model of atopic-like experimental allergic dermatitis. (in submission)

Peters EMJ, Mahr AS, Soost S, Fliege H, **Liezmann C**, Reishauer A, Klapp BF, Worm M.  
Long term strain but not acute stress perception are prominently linked to altered psychoneuroimmune parameters in atopic individuals. *J Clin Invest* (in preparation)

**Liezmann C\***, Snaga W\*, Daniltchenko M, Klapp BF, Peters EMJ.

Acute versus chronic stress in a mouse model of allergic dermatitis. (\* both authors contributing equal)

### **Kongressbeiträge chronologisch**

Autoren: Peters EMJ, **Liezmann C**, Hansen M, Overall R, Arck PC, Klapp B, Paus R.

Titel: NGF and its Precursor proNGF differentially regulate human hair growth.

Poster and abstract publication in: *J Invest Dermatol* 125 (3): A65 (supplement).

Jahr: 2005

Autoren: Peters EMJ, Hansen MG, **Liezmann C**, Overall RW, Nakamura M, Hagen E, Klapp BF, Arck PC, Paus R.

Titel: NGF and its precursor proNGF promote p75-neurotrophin-receptor-mediated human hair follicle regression (catagen).

Poster and abstract publication in: *Dermatology* 211: 18.

Jahr: 2005

Autoren: Peters EMJ, Hansen MG, **Liezmann C**, Overall RW, Hagen E, Arck P Klapp BF, Paus R.

Titel: NGF interacts with p75 to terminate human hair growth.

Ort: 66<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology (SID), St. Louis, Missouri : Oral presentation: 5.5.2005. Abstract publication: *J Invest Dermatol* 124 (4): A94.

Jahr: 2005

Autoren: Peters EMJ, Hansen MG, **Liezmann C**, Overall RW, Nakamura M, Hagen E, Klapp BF, Arck PC, Paus R.

Titel: NGF and its precursor proNGF promote p75-neurotrophin-receptor-mediated human hair follicle regression (catagen).

Ort: 11<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Hair Research Society (EHRS). Zurich, Switzerland: Oral presentation 8.7.

Jahr: 2005.

Autoren: **Liezmann C**, Daniltchenko M, Pavlovic Masnikosa S, Klapp BF, Peters EMJ.  
Titel: Stress triggered neuronal plasticity in spleen in interaction with immunocytes.  
Ort: World Conference of Stress. Budapest, Hungary: Oral presentation 24.8.2007. Abstract publication in: *Cell Stress & Chaperones* online 12: 7C\_01\_P.  
Jahr: 2007

Autoren: **Liezmann C**, Daniltchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.  
Titel: Stress sensitive differentiation in expression of nerve fibers and antigen presenting cell and Substance P sensitive alteration of dendritic cell subpopulations in spleen.  
Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Erlangen, Deutschland: Vortrag  
Jahr: 2008

Autoren: Peters EM, **Liezmann C**, Daniltchenko M, Blois S, Pavlovic S, Klapp BF.  
Titel: A new role for Substance P: induction of regulatory T-cells during stress adaption.  
Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Heidelberg, Deutschland: Vortrag, Poster  
Jahr: 2009

Autoren: **Liezmann C**, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.  
Titel: Stress sensitive differentiation in expression of nerve fibers and antigen presenting cell and Substance P sensitive alteration of dendritic cell subpopulations in spleen.  
Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Heidelberg, Deutschland: Vortrag, Poster  
Jahr: 2009

Autoren: **Liezmann C**, Daniltchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.  
Titel: A new role for the spleen as a conductor of neuro-immune regulation in allergic inflammation.  
Ort: 2<sup>nd</sup> European Congress of Immunology, Berlin, Deutschland: Poster  
Jahr: 2009

Autoren: Pavlovic S, **Liezmann C**, Blois SM, Joachim R, Klapp BF, Peters EMJ.  
Titel: A new role for Substance P: regulatory protection from overshooting inflammation.  
Ort: 2<sup>nd</sup> European Congress of Immunology, Berlin, Deutschland: Poster  
Jahr: 2009

Autoren: **Liezmann C**, Daniltchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.

A new role for the spleen as a conductor of neuro-immune regulation in allergic dermatitis?

Ort: 16. International conference on lymphatic tissue and germinal centres in immune reactions (GEBIN and Germinal Centre Conference), Frankfurt am Main, Deutschland: Vortrag

Jahr: 2009

Autoren: Spatz K, **Liezmann C**, Daniltchenko M, Kuban RJ, Ungethüm U, Klapp BF, Gräub R, Imfeld D, Peters EMJ.

Titel: Profiling the aging process: stress and the graying hair follicle.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Erlangen, Deutschland: Vortrag, Poster

Jahr: 2010

Autoren: **Liezmann C**, Daniltchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.

Titel: Dissecting the role of splenic immune regulation reveals control of peripheral inflammatory processes by enhanced neuro-immune communication.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Erlangen, Deutschland: Vortrag, Poster

Jahr: 2010

Autoren: Spatz K, **Liezmann C**, Daniltchenko M, Kuban RJ, Ungethüm U, Klapp BF, Gräub R, Imfeld D, Peters EMJ.

Titel: Profiling the aging process: stress and the graying hair follicle.

Ort: Deutsches Kongress für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie (DKPM), Berlin, Deutschland: Vortrag

Jahr: 2010

Autoren: **Liezmann C**, Daniltchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.

Titel: The spleen as a conductor of neuro-immune regulation in allergic inflammation.

Ort: Deutsches Kongress für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie (DKPM), Berlin, Deutschland.

Vortrag

Jahr: 2010

Autoren: Spatz K, **Liezmann C**, Danilchenko M, Klapp BF Peters EMJ.

Titel: Molecular genetics of the Graying Hair.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Tübingen, Deutschland.

Poster (erstellt und präsentiert von C. Liezmann, EMJ Peters)

Jahr: 2011

Autoren: **Liezmann C**, Peters EMJ.

Titel: The spleen as a conductor of neuro-immune regulation in allergic dermatitis - stress and Substance P dependent changes in neuro-immune communication.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Tübingen, Deutschland.

Vortrag, Poster

Jahr: 2011

Autoren: Pavlovic S\*, **Liezmann C\***, Blois SM, Joachim R, Kruse J, Romani N, Klapp BF, Peters EM. (\* both authors contributing equal)

Titel: Substance P Is a Key Mediator of Stress-Induced Protection from Allergic Sensitization via Modified Antigen Presentation.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Tübingen, Deutschland.

#### **Vortrag zum Forschungspreis 2011 der ADE**

Autoren: **Liezmann C\***, Snaga W\*, Danilchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ. (\* both authors contributing equal)

Titel: Chronic stress counter regulates pro-allergic profile by upregulating langerhans-nerve fiber contacts while down regulating eosinophil influx in AID skin.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Marburg, Deutschland.

#### **Posterpreis 2012 der ADF**

Autoren: Peters EMJ, **Liezmann C**, Snaga W, Kruse J, Schmidt-Rose T, Max H, Schweiger D, Klapp BF.

Titel: Cortisol and Brain Derived Neurotrophic Factor levels are altered by exam stress: consequences for tissue regeneration in healthy young women.

Ort: Tagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologie Endokrinologie (ADE) und der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF), Marburg, Deutschland. Jahr: 2012

Autoren: Peters EMJ, Pavlovic S, Örsal A, Klapp BF, Kruse J, **Liezmann C**.

Titel: Allergic inflammation of the skin modifies the reactivity of the hypothalamic pituitary adrenal axis and alters behavior.

Ort: Tagung der AKNEI (Arbeitskreis NeuroEndokrinolImmunologie), Dummersdorf, Deutschland. Jahr: 2012

Autoren: **Liezmann C**\*, Snaga W\*, Daniltchenko M, Pavlovic S, Klapp BF, Peters EMJ.

(\* both authors contributing equal)

Titel: Repeated stress is different from acute stress and inhibits allergic inflammation in a mouse model for noise-related stress and dermatitis.

Ort: Tagung der AKNEI (Arbeitskreis NeuroEndokrinolImmunologie), Dummersdorf, Deutschland. Jahr: 2012

Autoren: Peters EMJ, **Liezmann C**, Pavlovic S, Örsal A, Klapp BF, Kruse J.

Titel: Peripheral allergic inflammation affects hypothalamic pituitary adrenal axis function and behavior in a neuropeptide and neurotrophin dependent manner.

Ort: Tagung der ECI (European Congress of Immunology) in Glasgow, England. Jahr: 2012

Autoren: **Liezmann C**, Pavlovic S, Örsal A, Kruse J, Klapp BF, Peters EMJ.

Titel: Allergische Entzündung der Haut modifiziert zentral die Reaktivität der Hypothalamus Hypophysen Nebennierenrindenachse und verändert Verhalten.

Ort: DKPM (Deutscher Kongress für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie), München, Deutschland. Jahr: 2012

#### **14 Selbstständigkeitserklärung**

Ich, Christiane Liezmann, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Stressinduzierte neuronale Plastizität und neuroimmune Kommunikation in verschiedenen Organen – neuroimmunpathologische Grundlagen, neuroimmunologische Entgleisung und die Bedeutung von Stressintervention, selbst verfasst und keine Anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Christiane Liezmann

Berlin, den 17.09.2013

## **15 Danksagung**

Ich danke meinen Eltern und meiner Schwester für die große Unterstützung in jeder Lage und die Gegenkorrektur meines Manuskriptes.

Meinen besten Freundinnen Sandra Neuendorf und Nancy Schugert danke ich für die immense Motivation und die Gegenkorrektur des Manuskriptes.