

**Identification of clinical, cellular, and molecular pain-inducing characteristics
of lipedema patients**

Inaugural Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

Dr. nat. med.

der Medizinischen Fakultät

und

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Rebecca Dinnendahl

aus Mechernich

M&S Druckhaus, Köln

2025

1. Abstract

Lipedema is a subcutaneous adipose tissue disorder. Caloric restriction unresponsive adipocytes accumulate bilaterally in the extremities sparing hands and feet. Sensitivity and pain in affected body parts is a lipedema-defining characteristic and due to its therapy-resistance symptom perceived by patients as highly aggravating. Despite its first characterization in 1940, a definition of lipedema associated sensitivity and pain as well as the underlying molecular causes for such sensory aberrations have not been attempted so far.

I set out 1) to define the sensory changes and pain of lipedema patients, 2) to identify putative causative tissue factors, and 3) to test such identified factors as well as core molecular hypotheses for their effect on pain-initiating nociceptive neurons.

1) The clinical pain phenotype was analyzed psychometrically with the DSF-questionnaire and physiologically with Quantitative Sensory Testing according to the DFNS-Protocol in cohorts of women with and without lipedema. I identified changes selectively for pressure pain hyperalgesia and for hypoesthesia of vibrational stimuli but not for other pain or sensory thresholds. Such changes were specific for the affected lateral thigh while sensory parameters were normal at unaffected hands. Psychometric measures were within a clinically inconspicuous range. Comparison of such sensory changes with sensory parameters in non-painful lymphedema patients as well as in painful orthopedic patients suggests the assessment of pressure pain and vibration detection thresholds as a first measurement-based fast and easy-to-use diagnostic tool of early-stage lipedema.

2) To identify putative cellular and molecular candidates, I performed secretome analysis of single cell transcriptome data as well as a broad quantification of cytokines and growth factors in patient tissue samples. Thereby, I identified molecular alterations in patients with lipedema such as increased expression of extracellular matrix and increased tissue concentrations of different cytokines, respectively.

3) Pain-inducing potential was tested in High-content imaging experiments upon stimulation of rodent sensory neurons quantifying the activity of intracellular pain signaling components such as the protein kinase A type II and the MAP-kinase Erk1/2 as surrogates for nociceptor activity. Exposure to lipedemic adipocyte-conditioned medium pointed to pain-inducing factors in the tissue. Indeed, nociceptor signaling was modulated by e.g. extracellular matrix components..

In conclusion, I identified a specific and selective sensory alteration, molecular alterations in tissue of lipedema patients, and corroborated their putative involvement in pain-initiating nociceptor activity. This establishes a first full test paradigm from patient stratification, over factor identification, and factor in vitro testing. The results point to a multifactorial etiology of lipedema pain. The identified sensory changes may allow early diagnosis and a quantifiable readout for evaluation of future therapeutic interventions, that may open up the pathways to new therapeutic options and increase the quality of life of the women affected by this widespread but still greatly neglected disease.

2. Kurzzusammenfassung

Das Lipödem ist eine Störung des subkutanen Fettgewebes. Auf Kalorienrestriktion nicht ansprechende Adipozyten sammeln sich beidseitig in den Extremitäten an, wobei Hände und Füße ausgespart werden. Empfindlichkeit und Schmerzen in den betroffenen Körperteilen sind ein charakteristisches Merkmal des Lipödems und werden aufgrund der Therapieresistenz von den Patienten als sehr belastend empfunden. Obwohl das Lipödem bereits 1940 erstmals beschrieben wurde, ist eine Definition der mit dem Lipödem verbundenen Sensibilität und des Schmerzes sowie der zugrunde liegenden molekularen Ursachen für solche sensorischen Aberrationen bisher nicht versucht worden.

Ich habe es mir zur Aufgabe gemacht, 1) die sensorischen Veränderungen und Schmerzen von Lipödem-Patienten zu definieren, 2) mutmaßliche ursächliche Gewebefaktoren zu identifizieren und 3) diese identifizierten Faktoren sowie molekulare Kernhypothesen auf ihre Wirkung auf schmerzauslösende nozizeptive Neuronen zu testen.

1) Der klinische Schmerzphänotyp wurde psychometrisch mit dem DSF-Fragebogen und physiologisch mit quantitativen sensorischen Tests nach dem DFNS-Protokoll in Kohorten von Frauen mit und ohne Lipödem analysiert. Ich identifizierte Veränderungen selektiv für Druckschmerzhyperalgesie und für Hypoästhesie von Vibrationsreizen, aber nicht für andere Schmerz- oder Empfindungsschwellen. Diese Veränderungen waren spezifisch für den betroffenen seitlichen Oberschenkel, während die sensorischen Parameter an den nicht betroffenen Händen normal waren. Die psychometrischen Messwerte lagen in einem klinisch unauffälligen Bereich. Der Vergleich dieser sensorischen Veränderungen mit sensorischen Parametern bei nicht schmerzhaften Lymphödempatienten sowie bei schmerzhaften orthopädischen Patienten legt die Bewertung von Druckschmerz- und Vibrationsdetektionsschwellen als erstes messbasiertes, schnelles und einfach anzuwendendes Diagnoseinstrument für Lipödeme im Frühstadium nahe.

2) Um mutmaßliche zelluläre und molekulare Kandidaten zu identifizieren, führte ich eine Sekretomanalyse von Einzelzelltranskriptomdaten sowie eine umfassende Quantifizierung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren in Gewebeproben von Patienten durch. Dadurch konnte ich molekulare Veränderungen bei Patienten mit Lipödem feststellen, wie z. B. eine erhöhte Expression der extrazellulären Matrix, bzw. erhöhte Gewebekonzentrationen von bestimmten Zytokinen.

3) Das schmerzauslösende Potenzial wurde in High-Content-Imaging-Experimenten nach Stimulation sensorischer Neuronen von Nagetieren getestet, wobei die Aktivität intrazellulärer Schmerzsignalkomponenten wie der Proteinkinase A Typ II und der MAP-Kinase Erk1/2 als Surrogate für die Aktivität von Nozizeptoren quantifiziert wurde. Die Exposition gegenüber lipödemhaltigem, adipozytenkonditioniertem Medium wies auf schmerzauslösende Faktoren im Gewebe hin. Tatsächlich wurden die Signalkaskaden z.B. durch Komponenten der extrazellulären Matrix moduliert

Zusammenfassend kann ich sagen, dass ich eine spezifische und selektive sensorische Veränderung, molekulare Veränderungen im Gewebe von Lipödem-Patienten identifiziert und ihre mutmaßliche Beteiligung an der schmerzauslösenden Nozizeptorenaktivität bestätigt habe. Damit wurde ein erstes vollständiges Testparadigma geschaffen, das von der Patientenstratifizierung über die Identifizierung von Faktoren bis hin zu In-vitro-Tests von Faktoren reicht. Die Ergebnisse deuten auf eine multifaktorielle Ätiologie des Lipödemschmerzes hin. Die festgestellten sensorischen Veränderungen könnten eine

frühzeitige Diagnose und eine quantifizierbare Anzeige für die Bewertung künftiger therapeutischer Maßnahmen ermöglichen, die neue therapeutische Optionen eröffnen und die Lebensqualität der von dieser weit verbreiteten, aber immer noch stark vernachlässigten Krankheit betroffenen Frauen verbessern könnten.