

Katrin Schuchardt
Dr.med.

Wirkung von Ketamin auf die Nerve Growth Factor Sekretion in Kulturen glatter Muskelzellen und in einem *in vivo* Wundmodell

Geboren am 24.7.1976 in Filderstadt
Reifeprüfung am 27.6.1995 in Stuttgart
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1996 bis WS 2002/2003
Physikum am 25.3.1998 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg und Genf
Staatsexamen am 9.5.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anaesthesiologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. B.M. Graf

Nerve Growth Factor (NGF) ist ein physiologisches Neurotrophin, welches als Mediator entzündlicher Schmerzen eine entscheidende Rolle spielt. NGF trägt sowohl auf zentraler als auch auf peripherer Ebene zur Schmerzsensibilisierung bei und wird für verlängerte Schmerzzustände und intraoperative Schmerzentstehung verantwortlich gemacht. Weitere mit NGF assoziierte Krankheiten sind Hypertonie, Fettleibigkeit sowie obstruktive Veränderungen an Herz und Blase.

Ketamin ist ein potentes Anästhetikum, welches zentrale Sensibilisierung durch nichtkompetitiven Antagonismus am NMDA-Rezeptor verhindern kann. Außerdem wird für Ketamin ein antiinflammatorisches Potential beschrieben, welches auf einer Suppression proinflammatorischer Zytokine wie des Tumor Nekrose Faktors basiert. Unsere Studie wurde durchgeführt, um zu ermitteln, ob die Ausschüttung des Nerve Growth Factors ebenfalls durch Ketamin reduziert werden kann. Hierzu führten wir Versuche in Kulturen glatter Muskelzellen sowie in einem *in vivo* Wundmodell durch.

In Kulturen glatter Gefäß- und Blasenmuskelzellen von Ratten (WKY BSMC, VSMC, sowie SHR VSMC) wurde das Kulturmedium mittels Sandwich ELISA quantitativ auf NGF untersucht, in mRNA Experimenten wurde mittels Q C RT PCR die Menge an NGF mRNA analysiert. Im Wundmodell wurden Wunden auf dem Abdomen von Ratten entweder mit Ketamin oder Kontrollflüssigkeit behandelt und die NGF-Konzentration im Wundsekret mittels ELISA bestimmt. 100 μ M Ketamin konnte als Razemat sowie auch in Form seiner optischen Isomere, S(+) und R(-), auf basale NGF-Sekretionen in WKY BSMC und SHR VSMC hemmend wirken. Die NGF-Abnahme betrug nach 24 h für WKY $-56\pm 4,9\%$, für SHR $-20\pm 9\%$ (beide signifikant). Ebenso erwiesen sich mRNA Konzentrationen als erniedrigt, nach 24 h war die Menge an NGF-mRNA von 18 fg auf 9 fg zurückgegangen. Ein anderes Bild zeigte sich, wenn mit verletzungsassoziierten Wachstumsfaktoren (TGF β und PDGF) oder Thrombin eine Entzündung simuliert, und gleichzeitig Ketamin verabreicht wurde. Wachstumsfaktoren sowie Thrombin bewirken nachweislich eine Stimulation der NGF-Produktion in Kulturen glatter Muskelzellen, ebenso ist dieser Effekt *in vivo* nachgewiesen worden. Es ergab sich unter Ketamingabe weder ein Einfluss auf die NGF-Produktion in WKY BSMC, noch in WKY VSMC. Lediglich in Zellkulturen der spontan hypertensiven Ratte konnte Ketamin durch Wachstumsfaktoren stimulierte NGF-Produktion nach 24 h um $20\pm 7\%$ reduzieren. Wirksam zeigte sich Ketamin auch in einem *in vivo* Wundmodell mit WKY Ratten. Nach 6 h war die NGF Konzentration in der Wundflüssigkeit zurückgegangen ($-23,04\pm 10\%$), verfehlte jedoch knapp eine statistische Signifikanz ($p=0,06$).

Unsere Daten zeigen, dass Ketamin in die Regulation von NGF einzugreifen vermag. Basale NGF Sekretionsraten zeigten sich sowohl bei Wistar als auch hypertensiven Ratten erniedrigt. Die Tatsache, dass die mRNA-Konzentration nach Ketaminbehandlung abnimmt, spricht dafür, dass Transkriptionsfaktoren in den Prozess involviert sein könnten. Ketamin konnte in anderen Studien eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B hemmen. NF- κ B wird zwar auch durch sämtliche von uns verwendeten Stimulanzen aktiviert, jedoch existieren nachweislich weitere Wirkungen. So ist beispielsweise bekannt, dass ebenso die NGF mRNA-Stabilität zunimmt, als auch, dass es zu einer Effizienzsteigerung posttranslationeller Prozesse kommt. Man kann vermuten, dass Ketamin auch hier zwar die Aktivierung von NF- κ B reduziert, jedoch aufgrund multipler anderer Eingriffsorte der Wachstumsfaktoren trotzdem keine Reduktion der NGF-Sekretion erzielt wird. Im Gegensatz dazu ist in Zellkulturen der spontan hypertensiven Ratte (SHR) eine Reduktion der wachstumsfaktoreninduzierte Stimulation der NGF-Produktion durch Ketamin zu erreichen. SHR-Zellen weisen im Vergleich zu normotensiven Ratten (WKY) charakteristischerweise eine NGF-Mehrproduktion auf. Ursächlich hierfür werden erhöhte mRNA-Level genannt. Die reduzierten NGF mRNA-Mengen sind letztlich NF- κ B-abhängig, da NF- κ B in der Expression des NGF Gens und somit zur Bildung von mRNA eine entscheidende Rolle spielt. Wie oben beschrieben, konnte Ketamin in einigen Geweben die Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors verhindern. Somit könnte Ketamin also eine der NGF-Mehrproduktion zugrundeliegenden Mechanismus wirksam unterbinden. Die Tatsache, dass Ketamin die NGF-Sekretion unter bestimmten Umständen vermindern kann, und das Wissen, dass NGF zu den Mediatoren entzündlicher Schmerzen zählt, ist ein Hinweis dafür, dass eine effektive Blockade der NGF-Bildung während und nach einem Trauma oder einer Entzündung die Schmerzen mindern könnte. Weitere Forschung auf diesem Gebiet kann möglicherweise die Entwicklung neuer Behandlungsmethoden des chronischen Schmerzes und ebenso ein neues Verständnis der antiinflammatorischen Eigenschaften von Ketamin mit sich bringen.