

*Aus dem Institut für Neuroendokrinologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. J. Born*

Die Beeinflussung der Encodierung
im echoischen Gedächtnis durch Ketamin,
gemessen mit Hilfe der *Mismatch negativity*

Eine Untersuchung an gesunden Probanden

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von
Volker Merl
aus Göttingen

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Jan Born, Institut für Neuroendokrinologie

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Rolf Verleger, Klinik für Neurologie

Tag der mündlichen Prüfung: 1.9.2004

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 1.9.2004

gez. Prof. Dr. med. Peter Dominiak

-Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Stand der Forschung	1
2. Methodik	12
3. Ergebnisse	26
4. Diskussion	41
5. Zusammenfassung	48
Anhang	1
A. Literaturverzeichnis	1
B. Übersicht über die verwendeten Abkürzungen	2
C. Danksagung	4
D. Lebenslauf	5

1. Einleitung und Stand der Forschung

1.1. Encodierung und Konsolidierung

1.1.1. Encodierung und Konsolidierung

Seit dem Altertum beschäftigen sich Philosophen, Psychologen und Neurowissenschaftler mit der Erforschung des Gedächtnisses. Die Gedächtnisbildung geht dabei in zwei Schritten vor sich: Encodierung (Aufnahme der Information und Umverarbeitung zur Einspeisung in das Gedächtnis) und Konsolidierung (wiederholte Verarbeitung der Information zur Stärkung des Gedächtnisinhaltes).

Dieses psychologische Modell wurde in vielen Versuchen bestätigt und lässt sich mittlerweile auf molekularbiologischer und zellulärer Ebene in seinen Grundzügen nachvollziehen. Dabei sprechen viele Hinweise dafür, dass die Encodierung von Gedächtnisinhalten auf zellulärer Ebene über das NMDA-glutamaterge Rezeptorsystem, eine spezielle Untergruppe der Aminosäurerezeptoren, vermittelt wird. Auch bei der Konsolidierung spielen NMDA-Rezeptoren eine Rolle.

Die Rolle der NMDA-glutamatergen Rezeptoren für die Encodierung von Gedächtnisinhalten soll in dieser Studie weiter aufgeschlüsselt werden. Im Mittelpunkt steht die Encodierung des echoischen Arbeitsgedächtnisses, einer Form des Kurzzeitgedächtnisses für akustische Reize. Untersucht wird das echoische Gedächtnis mit Hilfe von auf einen spezifischen akustischen Reiz auftretenden EEG-Veränderungen, sogenannten ereigniskorrelierten oder auch evozierten Potentialen. Ergänzend wurde auch der Gedächtniskonsolidierungsprozess im Rahmen zweier Langzeitgedächtnisaufgaben beobachtet. Zusätzlich wird die Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Achse durch die Messungen der Cortisol- und ACTH-Konzentrationen im Blut bestimmt und Befindlichkeitsstörungen mit Hilfe der Eigenschaftswörterliste gemessen, damit eine Aussage über evtl. Störfaktoren getroffen werden kann.

1.1.2. Ereigniskorrelierte Potenziale

Schon relativ früh wurde entdeckt, dass sich im EEG Musterveränderungen als Antwort auf einen spezifischen Reiz finden lassen. Diese Veränderungen sind allerdings so klein in der Amplitude, dass sie in den normalen Frequenzschwankungen des EEGs nicht entdeckt werden können. Die Entwicklung von computergesteuerten Aufzeichnungs- und Auswertungsverfahren ermöglichte jedoch bald, diese Potenziale sichtbar zu machen, in-

dem die Reizantwort einfach mehrere Male aufgezeichnet wurde und dann durch Aufsummation und Mittelung dargestellt wurde.

Je nach Qualität des auslösenden Reizes unterscheidet man visuell (durch optische Reize), akustisch, somatosensorisch (durch Berührungen) oder motorisch (durch magnetische Stimulation des *Gyrus praecentralis*, des motorischen Steuerungszentrums) evozierte Potenziale. Als objektive Messmethoden für die Qualität der Reizverarbeitung sind sie heutzutage in der Klinik nicht mehr wegzudenken und sie finden ihre Anwendung z.B. in der Neurologie, Hals-Nasen-Ohrenheilkunde und Pädiatrie.

Ein normales evoziertes Potenzial besteht dabei aus mehreren Wellen, die die unterschiedlichen Stationen der Reizverarbeitung repräsentieren. Die frühen Wellen, die bereits mehrere Millisekunden nach dem Reiz festzustellen sind, werden dabei eher dem Verarbeitungssystem im Hirnstamm und Mittelhirn zugeordnet und auch als exogene Potenziale bezeichnet. Hingegen sind die späteren Anteile der evozierten Potenziale (0,1-0,3 Sekunden nach dem Reiz) stark von den Vorgängen in der Hirnrinde abhängig, sie werden auch als endogene Potenziale bezeichnet. Während die exogenen Potenziale eher von den physikalischen Eigenschaften des Reizes abhängen, werden die endogenen Potenziale eher von psychologischen Parametern wie Aufmerksamkeit beeinflusst.

1.1.3. Das akustisch evozierte Potenzial in unterschiedlichen Paradigmen

Besondere Beachtung in der klinischen Forschung hat das akustisch evozierte Potenzial (AEP) gefunden, weil es gegenüber den anderen Reizqualitäten einige Besonderheiten hat: Es repräsentiert viele Schichten der neurologischen Organisation (während z.B. das visuell evozierte Potenzial nur die Verarbeitung in Zwischenhirn und Großhirnrinde widerspiegelt) und lässt sich in gleicher Qualität ohne großen apparativen Aufwand mit beliebig vielen Wiederholungen erzeugen.

Beim akustisch evozierten Potenzial werden frühe (FAEP), mittlere (MAEP) und späte (SAEP) Potenziale unterschieden. Die FAEP treten im Millisekundenbereich auf und repräsentieren in mehreren Wellen die einzelnen Stationen der Hörbahn auf dem Weg von der Cochlea ins Zwischenhirn. Veränderungen der FAEP weisen auf neurologische Störungen hin. Die MAEP sind sehr unspezifische Potenziale, die hauptsächlich wohl myogenen Ursprungs sind. Untersuchungen haben gezeigt, dass hier genau wie bei den FAEP Ketamin oder andere NMDA-Antagonisten keinen Einfluss zeigen. Hingegen repräsentieren die SAEP die Reizverarbeitung in der Großhirnrinde; viele Untersuchungsergebnisse

weisen daraufhin, dass sie stark von Ketamin beeinflusst werden. Hier finden sich charakteristische Wellen wie z.B. die N100-Welle, eine Negativierung, die nach ca. 100ms auftritt und besonders über den zentralen EEG-Ableitungen ausgeprägt ist.

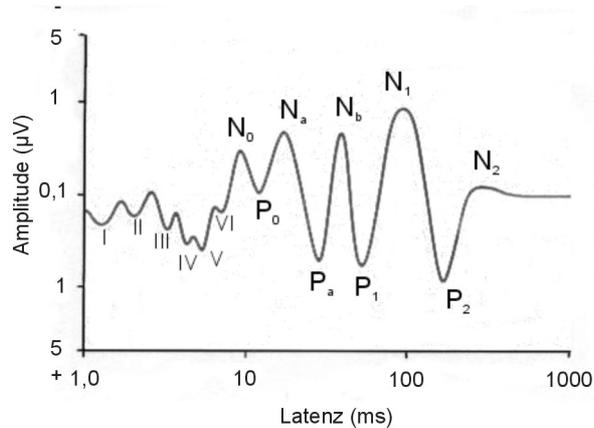


Abbildung 1: Darstellung eines akustisch evozierten Potentials mit den frühen akustisch evozierten Potentialen (I – VI), den mittleren akustisch evozierten Potentialen (N₀-N_b) und den späten akustisch evozierten Potentialen (ab P₁).

Die evozierten Potenziale, insbesondere die akustisch evozierten Potenziale, bieten einen guten Ansatz zur Untersuchung der zentralnervösen Reizaufnahme und -weiterverarbeitung. Dem liegt zugrunde, dass alle aufgenommenen Reize im Ultrakurzzeitgedächtnis, einem Teil des Kurzzeitgedächtnisses, gespeichert werden, ehe sie interpretiert und in der Mehrzahl der Fälle wieder verworfen werden.

Mehrere Ansätze wurden entwickelt, um anhand der akustisch evozierten Potenziale Bestandteile der zentralen Informationsverarbeitung genauer untersuchen zu können. Hierzu gehört v.a. die *Mismatch negativity*.

1.1.4. Die Mismatch-Negativity und ihre Anwendungsmöglichkeiten

Die *Mismatch negativity* (MMN) untersucht die „Spur“, die ein akustischer Reiz im echoischen Gedächtnis hinterlässt. Eine MMN entsteht, wenn in einer Reihe von Standardreizen ein einzelner Reiz, der *Deviant*, in einer Reizqualität vom Standard abweicht. Dabei ist es unerheblich, ob sich der *Deviant* in Frequenz, Dauer oder anderen Qualitäten vom Standard unterscheidet, selbst phonetische Unterschiede können eine Mismatch negativity auslösen, hier zeigen sich sogar muttersprachliche Unterschiede. Interessant ist dabei, dass

der Standard selbst gar nicht immer der gleiche Reiz sein muss, er kann z.B. in einer anderen Qualität variieren (so z.B. unterschiedlich lang sein, wenn der *Deviant* generell eine andere Frequenz hat) oder sogar kleine Variationen in derselben Qualität haben. Diese Möglichkeit, den Standard zu variieren, ist auch Grundlage des *Roving-Standard-Modells*, das in der aktuellen Studie Anwendung gefunden hat und das weiter unten erklärt wird (s. Seite 18).

Grundlage der MMN ist eine Gedächtnisspur, die jeder akustische Reiz hinterlässt, und die für ungefähr 10 Sekunden im echoischen Arbeitsgedächtnis gespeichert wird. Jeder darauf folgende Reiz wird mit dieser Gedächtnisspur verglichen und bei Nichtübereinstimmen weicht die Potenzialkurve des akustisch evozierten Potenzials von der vorherigen etwas ab. Zieht man diese beiden Kurven voneinander ab, resultiert daraus die MMN. Amplitude und Latenz der Kurve sind dabei von mehreren Faktoren abhängig. Je mehr z.B. der Zielton vom Standardton abweicht, desto höher ist die Amplitude und desto kürzer ist die Latenz. Zudem zeigt sich ein Gewöhnungseffekt bei der Aufzeichnung der MMN: wenn man zwei gleiche Blöcke von Tonsignalen präsentiert, sind die Amplituden im zweiten Block niedriger als im ersten Block.

Veränderungen analog zur MMN lassen sich nicht nur im elektrischen Feld der Hirnströme nachweisen. Ebenso kann mit magnetoenzephalographischen Methoden eine Feldschwankung nachgewiesen werden, das *Magnetic Mismatch Field* (MMF, auch als MMNm, *magnetic Mismatch Negativity*, bezeichnet). Die Untersuchung des MMF ist technisch wesentlich aufwändiger als die der MMN, bietet aber zur Bestimmung der räumlichen Lokalisation der Mismatch-Generatoren wesentlich bessere Möglichkeiten.

Aber auch mit elektroenzephalographischen Methoden konnten die Generatoren der MMN gefunden werden. In mehreren Studien konnte der Ursprungsort der MMN auf den Gyrus temporalis superior eingegrenzt werden, dementsprechend sind aufgrund der tangentiellen Orientierung der EEG-Ableitungen die höchsten Amplituden über den Ableitungen der frontozentralen Elektroden F_z und C_z zu finden. Außerdem konnte ein zweiter, kleinerer Generator gefunden werden, der über den Mastoiden zu positiven Ausschlägen führte. Diese als *Mismatch positivity* bezeichnete Welle ist nicht nur die Feldumkehrung der Potentiale, die der *Mismatch negativity* zugrunde liegen. Diskordante Verläufe unter verschiedenen Bedingungen (die z.B. zum Abnehmen der MMN bei gleichzeitiger Zunahme der MMP führten) zeigten, dass es sich bei der MMP um ein eigenes Phänomen handeln muss.

Die Aufzeichnung der MMN ist unter verschiedenen Bewusstseinszuständen größtenteils stabil. Allerdings gibt es Hinweise auf einen sekundären, aufmerksamkeitsgesteuerten Generator im Frontalhirn, der durch den eigentlichen MMN-Generator im *Gyrus temporalis superior* getriggert wird und der der Ursprungsort der MMP sein könnte .

Die Anwendungsmöglichkeiten der MMN in der Forschung sind äußerst vielfältig und haben neue Einblicke in viele Aspekte der akustischen Reizverarbeitung gegeben. So konnte z.B. mit Hilfe der MMN die Präzision der zentralen Tonverarbeitung nachvollzogen werden. Hierbei zeigte sich, dass die Fähigkeit zur Erkennung von Frequenzunterschieden sehr unterschiedlich ausgeprägt sein kann. Bei musikalisch begabten Probanden ist der Frequenzunterschied, der eine MMN ausgelöst hat, z.B. sehr klein (unter 0,5%), während gänzlich unmusikalische Probanden teilweise erst bei Frequenzunterschieden von 5% eine MMN zeigen .

Mittlerweile zeichnet sich ab, dass die MMN Einzug halten könnte in die Diagnostik vieler Krankheitsbilder und in die Erforschung von pharmakologischen Effekten. Zu den Krankheiten oder Störungen, bei denen in mehreren Studien Abweichungen in der MMN gefunden wurden, zählen z.B. Dyslexie , Autismus , M. Parkinson oder M. Alzheimer . Besondere Aufmerksamkeit hat auch die Untersuchung der MMN bei schizophrenen Patienten gefunden, zusammen mit Untersuchungen bei gesunden Probanden unter NMDA-Blockade. Hier wurden ähnliche Veränderungen gefunden, die einerseits auf eine Störung des Arbeitsgedächtnisses bei Schizophrenie hindeuten, andererseits die wichtige Rolle der NMDA-Rezeptoren aufzeigen .

1.2. Ketamin und der NMDA-Rezeptor – pharmakologische Grundlagen

1.2.1 Grundlagen der Informationsübermittlung im Nervensystem

Während entlang einer einzelnen Nervenzelle (Neuron) die Informationen in Form elektrischer Depolarisation und Hyperpolarisation geleitet werden, geschieht die Informationsübertragung zwischen zwei Neuronen meistens auf chemischem Wege an den sogenannten Synapsen. Normalerweise wird ein chemischer Botenstoff (Neurotransmitter) aus den Nervenendigungen des präsynaptischen Neurons ausgeschüttet und bindet nach der Durchquerung des synaptischen Spalts an Rezeptoren auf der Zelloberfläche des postsynaptischen Neurons, was zur Öffnung von Ionenkanälen und somit zur Hyper- oder Depolarisation der Nervenzelle führt. Weil diese Ionenkanäle sich erst nach der Bindung eines Botenstoffes öffnen, nennt man sie auch ligandengesteuerte Ionenkanäle.

Im peripheren Nervensystem werden hauptsächlich biogene Amine wie das Acetylcholin zur Informationsübertragung verwendet, im zentralen Nervensystem (ZNS) hingegen dienen auch Aminosäuren als Transmitter. Sie binden an eine Vielzahl von exzitatorisch (erregend) und inhibitorisch (hemmend) wirkenden Rezeptoren. Die am häufigsten als Transmitter vorkommenden Aminosäuren sind Glycin und γ -Amino-Buttersäure (GABA) als hauptsächlich inhibitorisch wirkende, sowie Glutamat als exzitatorisch wirkende Aminosäure. Die Rezeptoren für Aminosäuren sind zellmembranständig und können nach ihrem Aufbau in weitere Untereinheiten klassifiziert werden .

Eine große Gruppe stellen die Glutamat-Rezeptoren dar, die wiederum in die langsameren, metabotropen Rezeptoren, bei denen eine Signalübertragung (Signaltransduktion) durch Aktivierung von sogenannten G-Proteinen erfolgt, und die schnelleren, ionotropen Rezeptoren, die über ligandengesteuerte Ionenkanäle verfügen, eingeteilt werden . Nach dem jeweils spezifischen Agonisten kann man schließlich bei den ionotropen Rezeptoren drei Untergruppen unterscheiden: die Kainat-Rezeptoren (für Kainsäure, ein Naturstoff aus der Rotalge *Didania simplex*), die AMPA- oder Quisquilat-Rezeptoren (für 2-Amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl-)propionat) und die NMDA-Rezeptoren (für N-methyl-D-aspartat); Kainat- und AMPA-Rezeptoren werden oft auch als Non-NMDA-Rezeptoren bezeichnet, um sie vom NMDA-Rezeptor mit seinen besonderen Eigenschaften abzugrenzen .

1.2.2. Signaltransduktion am NMDA-Rezeptor

Der NMDA-Rezeptor spielt unter den ligandengesteuerten Ionenkanälen eine Sonderrolle. Während bei Non-NMDA-Rezeptoren eine rein glutamat-gesteuerte, sehr schnelle (μ s-Bereich) Aktivierung mit Einstrom von Natriumionen in den Intrazellulärraum und Kaliumionen in den Extrazellulärraum nachgewiesen wurde, ist der Transduktionsvorgang beim NMDA-Rezeptor langsamer (ms-Bereich), und es kommt nicht nur zum Natrium- und Kaliumfluss, sondern auch zum Einstrom von Calciumionen ins Zellinnere .

Wichtigster Unterschied ist aber v.a. die Art der Signalaktivierung am NMDA-Rezeptor, die das Zusammenspiel mehrerer Faktoren erfordert. Der NMDA-Rezeptor besitzt mehrere extrazelluläre Bindungsstellen, neben einer Bindungsstelle für Glutamat unter anderem auch eine für Glycin (auch als strychninunabhängiger, exzitatorischer Glycin-Rezeptor Gly_B bezeichnet) und für Magnesium, wobei Magnesium unter physiologischen Umständen ständig an den Rezeptor gebunden ist .

Soll es nun zur Signaltransduktion am NMDA-Rezeptor kommen, ist hierfür die gleichzeitige Bindung von Glutamat und Glycin an den Rezeptor notwendig. Außerdem muss durch eine vorherige leichte Depolarisation (z.B. über eine hochfrequente tetanische Reizung oder die Anregung über Nachbarneuron z.B. mittels des AMPA-Rezeptors) die Loslösung von Magnesium-Ionen aus dem Ionenkanal erfolgen. Erst dann kann es schließlich zum Einstrom von Natrium und Calcium in die Zelle kommen, wodurch in der Zelle Enzyme zur weiteren Signaltransduktion aktiviert werden, z.B. die Calcium-abhängige NO-Synthetase, die für die Produktion des Botenstoffes NO (Stickstoffmonoxid) sorgt. Da NO ein Gas ist, kann es leicht in die Umgebung diffundieren und auch bei benachbarten Nervenzellen wirksam werden und dort, wie auch im Ursprungsneuron, die Produktion des wichtigen *second messenger* cGMP (zyklisches Guanosinmonophosphat) induzieren, der dann weitere Reaktionen im Zellinneren auslöst.

1.2.3. Ketamin und seine pharmakologischen Eigenschaften

Ketamin ist ein Derivat des Phencyclidins und liegt aufgrund eines asymmetrischen Kohlenstoffatoms in seinem Cyclohexan-Ring in zwei chiralen Formen vor, R-(-)-Ketamin und S-(+)-Ketamin, wobei heutzutage fast nur noch letzteres therapeutisch eingesetzt wird (Ketanest® S), während früher das Razemat (z.B. Ketamin® ratiopharm, Ketamin® Curamed) verwendet wurde.

Das S-(+)-Enantiomer von Ketamin bindet sich hauptsächlich an den Ionenkanal des NMDA-Rezeptors und verhindert so eine Aktivierung über L-Glutamat oder andere Agonisten. Neben dieser Hauptwirkung zeigte sich v.a. in Tierversuchen, dass Ketamin sich aber auch unspezifisch an andere Rezeptoren binden kann, so z.B. an den AMPA-Rezeptor, an Opiatrezeptoren und an nikotinerge und muskerinerge Acetylcholin-Rezeptoren.

In der Klinik wird Ketamin zur Anästhesie verwendet, in einer Dosis von 1-5 mg/kg KG zur intravenösen Gabe, bei Kindern auch 4-10 mg/kg KG intramuskulär. Im Unterschied zu anderen Narkosemitteln kommt es nach der Gabe von Ketamin zum Anstieg von Herzfrequenz und Blutdruck, deshalb wird es immer noch gerne in der Notfallmedizin eingesetzt, wo eine gute Analgesie bei gleichzeitigem Erhalt der Herz-Kreislauf-Funktion erwünscht ist. Ansonsten hat die klinische Bedeutung von Ketamin eher abgenommen, weil es stark halluzinogen und angstausslösend wirken kann, ein Effekt, der durch die gleichzeitige Gabe von Benzodiazepinen aufgehoben wird.

1.3. Encodierung beim deklarativen und prozeduralen Lernen

Lernen ist nicht gleich Lernen. Unter deklarativem oder auch explizitem Lernen versteht man das bewusste Aufnehmen von Fakten wie z.B. beim Vokabellernen. Hingegen bezeichnet prozedurales oder auch implizites Lernen einen eher unbewussten Vorgang wie z.B. das Erlernen häufig gebrauchter Handgriffe.

Obwohl einige Formen des deklarativen Gedächtnisses wie z.B. das sprachliche Gedächtnis an den menschlichen Verstand gebunden sind, kann deklaratives Lernen auch bei Mäusen und Ratten beispielsweise anhand des räumlichen Lernens untersucht werden. Diese nehmen Informationen in ihrer Umgebung anscheinend bewusst auf und vermögen, ein Abbild dieser Umgebung in ihrem Gedächtnis zu speichern und später wieder abzurufen. Dieses räumliche Lernen zeigt Elemente des deklarativen Lernens. Aufgrund dieser Tatsache können zelluläre Mechanismen der Encodierung und Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses auch an Rattenhirnen erforscht werden, was bereits in den 70er Jahren zur Entdeckung des Mechanismus führte, der für die Übertragung von Informationen ins Langzeitgedächtnis verantwortlich zu sein scheint. Wenn man Neurone im Hippokampus einer Ratte mit einer kurzen, hochfrequenten elektrischen Aktivität reizt, führt dies dazu, dass synaptische Verbindungen zwischen diesen Neuronen über mehrere Stunden, Tagen oder sogar Wochen hinweg mit einem stärkeren Potenzial weiterleiten als zuvor. Die Synapsen in der CA1-Region des Hippokampus, die hier untersucht wurden, besitzen die Fähigkeit, ihre Reizschwelle und Aktivität den jeweiligen Bedürfnissen anzupassen, was man synaptische Plastizität oder Langzeitpotenzierung (*long term potentiation*, LTP) genannt hat.

Lange Zeit war es nur möglich, die LTP an Nagetieren post mortem nachzuweisen. Allerdings haben in den vergangenen Jahren immer weitere Befunde gerade auf molekularbiologischer Ebene Details nachweisen können, die einerseits die wichtige Rolle der Langzeitpotenzierung und der synaptischen Plastizität bei der Gedächtnisbildung unterstreichen und andererseits zeigen, wie wichtig auch das NMDA-glutamaterge System bei der Langzeitpotenzierung ist. Zudem ist es durch spezielle elektrophysiologische Methoden auch möglich gewesen, Anzeichen der LTP oder anderer Formen der synaptischen Plastizität beim Menschen in vivo nachzuweisen.

Man hat LTP mittlerweile auch außerhalb des Hippokampus nachweisen können, z.B. im visuellen Cortex oder im frontalen Cortex von Mäusen. Viele Studien mit neuro-

chemischen Methoden und Tierversuchen haben mittlerweile ein einigermaßen klares Bild von den Vorgängen ergeben, die für die NMDA-Rezeptor-vermittelte LTP im Hippokampus verantwortlich sind, und sie haben gezeigt, dass NMDA-Rezeptoren v.a. zur Induktion der LTP benötigt werden, während die weitere Konsolidierung über Non-NMDA-Rezeptoren vermittelt wird. Während man mit neurochemischen Methoden den Ablauf der LTP *in vitro* immer genauer nachvollziehen konnte, wurde gleichzeitig in Tierversuchen nachgewiesen, dass die LTP im Hippokampus von wesentlicher Bedeutung für die Bildung des deklarativen Gedächtnisses ist.

Nachdem man einen Zusammenhang zwischen NMDA-Rezeptoren, Langzeitpotenzierung und deklarativem Lernen gefunden hat, stellt sich die Frage, ob es unter Gabe von NMDA-Antagonisten auch zu Verschlechterungen des prozeduralen Gedächtnisses kommt. Mehrere Studien zeigten, dass zumindest bei Ratten dem prozeduralen Lernen wohl andere neurochemische Grundlagen zugrunde liegen. Die Beeinflussung des prozeduralen Lernens durch Ketamin beim Menschen ist bislang wenig von der Forschung untersucht worden, hier gab es zwar Einschränkungen durch Ketamin, dennoch ist die Rolle des NMDA-Rezeptors beim prozeduralen Lernen noch nicht ganz geklärt.

1.4. Befindlichkeitsstörungen unter NMDA-Blockade

Das NMDA-glutamaterge System beeinflusst u.a. auch die Befindlichkeit und das Verhalten. Neben kurzfristigen Störungen unter induzierter NMDA-Blockade hat der NMDA-Rezeptor wohl auch eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der schizophrenen Psychosen, die sich u.a. durch Denkstörungen, Halluzinationen und auffälliges Verhalten auszeichnen. Hinweise auf Störungen des NMDA-glutamatergen Systems bekam man z.B. durch einen erniedrigten Glutamatgehalt im Liquor cerebrospinalis bei Schizophrenen und durch die typischen psychotischen Wirkungen des NMDA-Antagonisten Phencyclidin (PCP, „*Angel dust*“) bei Drogenabhängigen, die den Symptomen einer Schizophrenie sehr ähnlich waren. Daraus ergab sich die NMDA-Mangel-Hypothese der Schizophrenie, die die wichtigsten Merkmale der Erkrankung mit einbezieht.

Viele der verhaltensändernden Effekte von NMDA-Antagonisten zeigen sich am deutlichsten unter PCP, das noch bis in die 60er Jahre als Anästhetikum klinische Verwendung fand. PCP wirkt in niedrigen Dosen enthemmend und euphorisierend, begleitet von paranoiden Gedanken und meist akustischen Halluzinationen. Zusätzlich kommt es zu Depersonalisationserlebnissen und Desorientierung. In höheren Dosen wirkt PCP sedierend

und es kann eine Bewusstlosigkeit eintreten, durch besondere Veranlagung oder ständigen Missbrauch kann durch PCP eine dauernde Psychose ausgelöst werden .

Ähnliche Befindlichkeitsveränderungen wurden unter dem Einfluss von Ketamin beobachtet. Im angelsächsischen Sprachraum wurde zur standardisierten Erfassung dieser Veränderungen v.a. die BPRS (*Brief Psychiatric Rating Scale*), die auch psychopathologische Gesichtspunkte mit abdeckt, und die TLC (*Scale for the Assessment of Thought, Language and Communication*), die zur genaueren Erfassung formaler Denkstörungen dient, verwendet. Generell wurden unter Ketamin erhöhte Gesamtscores sowie erhöhte Teilscores von positiven und negativen Symptomen der Schizophrenie festgestellt . Auch ohne quantitative Nachweise berichteten viele Autoren von Verhaltensänderungen wie z.B. Depersonalisierungserlebnissen oder Halluzinationen. In einer Studie wurde herausgefunden, dass das S-(+)-Enantiomer eher zu Befindlichkeitsstörungen führt als das R-(-)-Enantiomer .

1.5. Neuroendokrinologische Grundlagen

Die Hormone der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse, vom englischen *Hypothalamo-Pituitary-Adrenal-Axis*) dienen aufgrund ihrer zentralen Regulation als in der Peripherie messbarer Parameter der zentralnervösen Stressreaktion. In mehreren Instanzen wird die Cortisol-Sekretion in der Nebennierenrinde als Antwort auf zentrale Stressreize gesteuert.

So setzt der Hypothalamus im Zwischenhirn *Corticotropin Releasing Hormone* (CRH) frei, das über das hypothalamische-hypophysäre Pfortadersystem zum Hypophysenvorderlappen transportiert wird. Hier induziert CRH die Synthese von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH), das dann über die Blutbahn zur Nebennierenrinde gelangt, wo es die Produktion von Cortisol steigert. Cortisol wiederum hemmt im Hypothalamus die weitere Synthese von CRH im Sinne einer negativen Rückkopplung .

Die Sekretion von ACTH und Cortisol zeigt einen deutlichen zirkadianen Rhythmus . So sind die Konzentrationen dieser beiden Hormone v.a. in den Morgenstunden besonders hoch, während in der ersten Nachthälfte die niedrigsten Konzentrationen gemessen werden.

Bereits sehr früh wurde erkannt, dass Cortisol neben der Beeinflussung peripherer Prozesse auch Einfluss auf die zentrale Regulation der Reizaufnahme und -verarbeitung hat . Diese Beobachtung ist für die aktuelle Studie wichtig, wenn man bedenkt, dass die

Blockade des NMDA-glutamatergen Systems durch Ketamin zu einer verstärkten Aktivierung der HPA-Achse führt, die dadurch evtl. die Amplitude der *Mismatch negativity* beeinflussen könnte. Es ist noch nicht geklärt, ob der Anstieg der Cortisol- und ACTH-Konzentrationen direkt durch Blockade der NMDA-Rezeptoren verursacht wird oder nicht eher durch eine Stressreaktion des Körpers auf die Befindlichkeitsveränderungen unter der Gabe von Ketamin zu erklären ist.

1.6. Ziel der Studie

Hauptziel dieser Studie ist es, die Rolle des NMDA-Rezeptors bei der Encodierung von Inhalten des echoischen Gedächtnisses herauszufinden, was mit Hilfe der *Mismatch negativity* in ereigniskorrelierten Potentialen untersucht wird. Hier werden v.a. durch die Verwendung des weiter unten beschriebenen *Roving-Standard-Models* neue Erkenntnisse erwartet, da durch die Verwendung immer wieder wechselnder Standardtöne Langzeiteffekte vermieden werden können. Desweiteren werden auch zwei weitere Lernaufgaben durchgeführt, die Aussagen über die Rolle des NMDA-Rezeptors bei der Konsolidierung von prozedural und deklarativ gelernten Langzeitgedächtnisinhalten Auskunft geben sollen. Alle Untersuchungen werden im Rahmen einer Studienreihe über die Rolle von NMDA- und Non-NMDA-Rezeptoren bei der Gedächtnisbildung durchgeführt. Hier lassen sich Encodierung und Konsolidierung nicht direkt miteinander vergleichen, da zwei unterschiedliche Gedächtnistypen untersucht werden (echoisches Gedächtnis vs. Langzeitgedächtnis). Trotzdem tragen beide Untersuchungen zum Gesamtmodell der NMDA-vermittelten Gedächtnisbildung bei. Um evtl. Einflussfaktoren ausfindig zu machen, wurden zudem Befindlichkeitsmessungen mit Hilfe der Eigenschaftswörterliste (EWL-N) durchgeführt und die Spiegel von ACTH und Cortisol gemessen.

2. Methodik

2.1. Probanden

2.1.1. Auswahlkriterien für die Probanden

Zu den Versuchen wurden gesunde, männliche Probanden im Alter zwischen 18 und 35 Jahren zugelassen. Ausschlusskriterien waren: regelmäßige Schichtarbeit (mehr als einmal pro Woche), regelmäßige Medikamenteneinnahme, Nikotinabusus (mehr als fünf Zigaretten pro Woche) oder Konsum anderer Drogen, Linkshändigkeit, eine positive Familienanamnese für schizophrene Psychosen oder Krampfleiden.

Probanden, die in einer telefonischen Vorabbefragung als geeignet erschienen, wurden dann zu einer Voruntersuchung eingeladen. Alle Probanden wurden hierbei über die Versuche aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an den Experimenten. Die Studie war vorher von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt worden.

2.1.2. Klinische Voruntersuchung

Alle Probanden wurden vor den Versuchen klinisch untersucht. Hierbei wurden Herz und Lunge auskultiert, ein Standard-EKG angefertigt, der Blutdruck und der Puls gemessen und der Reflexstatus (BSR und PSR) überprüft. Den Probanden wurde Blut abgenommen, aus dem ein kleines Blutbild, klinisch-chemische Parameter (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Gesamt-Eiweiß, Kreatinin, GOT, GPT, γ -GT, Glucose) und TSH bestimmt wurden. Außerdem wurde bei den Probanden eine kurze Anamnese durchgeführt, die v.a. auszuschließende Erkrankungen wie Bluthochdruck, Epilepsie, Medikamentenallergien oder endokrinologische Erkrankungen abfragte. Bei auffälligen Laborparametern oder bei auffälliger Anamnese wurde der Proband aus der Studie ausgeschlossen. Die Probanden wurden gewogen, die Körpergröße wurde bestimmt und der Body Mass Index (BMI) errechnet.

2.1.3. Psychologische Begutachtung

Von einem Psychologen wurden die Probanden zu auszuschließenden psychischen Erkrankungen befragt. Im Vordergrund standen hier einerseits Suchterkrankungen, andererseits die Neigung zu Psychosen wie Schizophrenie oder endogenen Depressionen beim Probanden und bei engen Familienangehörigen. Die Anamnese erfragte auch den Konsum psychostimulierender Substanzen, bzw., wie sich die Probanden die Einnahme dieser Substanzen vorstellen würden. Die Probanden wurden zudem befragt, wie sie sich ihrer Meinung

nach in besonderen Stresssituationen verhalten würden; abschließend wurde erfragt, ob momentan eine besondere psychische Beeinträchtigung vorliege. Zur Objektivierung des Interviews wurden zwei Tests durchgeführt, zum einen die SCL-90-R (Symptom Check List), die einen psychopathologischen Befund über den Zeitraum der vergangenen sieben Tage erstellt, zum anderen ein FPI-R (Freiburger Persönlichkeitsinventar), das ein Persönlichkeitsprofil über einen längeren Zeitraum hinweg erfasst.

2.1.4. Probandenkollektiv

An den Versuchen nahmen insgesamt 22 Probanden teil, 16 von ihnen wurden in die endgültige Auswertung der Versuche übernommen. Die übrigen Probanden brachen zum Teil ihre Versuche ab, weil es beispielsweise bei ihnen zu starken Halluzinationen gekommen war (n=3), zum Teil, weil es in der Versuchsdurchführung technische Probleme gab (n=1), zum Teil aus eigener Entscheidung (n=2). Die 16 Probanden, die in die Auswertung mit eingegangen sind, gehörten zwei unterschiedlich großen Gruppen an: zehn Probanden erhielten eine niedrige Dosis Ketamin (0,083 mg/kg KG/h), sechs Probanden, die sich nach klinischer und psychologischer Begutachtung als besonders geeignet erwiesen hatten, eine hohe Dosis (0,25 mg/kg KG/h). Beide Gruppen waren in Alter und BMI vergleichbar. In der Hochdosisgruppe waren das Durchschnittsalter $22,5 \pm 1,52$ Jahre und der durchschnittliche BMI $21,4 \pm 0,94$ kg/m². In der Gruppe, die die niedrige Dosis Ketamin erhielt, war das Durchschnittsalter $23,3 \pm 1,57$ Jahre und der durchschnittliche BMI $21,9 \pm 2,21$ kg/m². (Alle Werte sind als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.)

2.2. Studiendesign

Die Studie wurde als placebokontrollierte, randomisierte, doppelblinde Studie an zwei Versuchsabenden pro Proband durchgeführt. Da diese Studie nur ein Teil einer Studienreihe zur Erforschung der schlafassoziierten Gedächtnisbildung unter modulierter NMDA- oder Non-NMDA-Aktivität ist, wurde sie nachts durchgeführt, um sie besser mit den anderen Studien vergleichen zu können. Die Probanden blieben dabei aber wach. Zwischen den einzelnen Versuchsnächten wurden dabei mindestens drei Wochen Abstand gelassen, um Gewöhnungseffekte zu minimieren.

2.3. Ablauf der Versuche

Tabelle 1: Übersicht über den Ablauf der Versuchsnächte

Uhrzeit	Ablauf	Tests	Blutentnahmen
20:15	Eintreffen Proband, Braunüle 1		
20:30	Vorbereitung EEG		BE 1
20:45			
21:00			
21:15		EWL - N	
21:30		MT PAL	
21:45		PAL MT	
22:00			BE 2
22:15			
22:30	Vorbereitung Substanzgabe		
22:45	Braunüle 2		
23:00			BE 3
23:15			
23:30	Substanzgabe		BE 4
23:45			
0:00	EEG, EOG, EKG		BE 5
0:15			
0:30	RR und Puls alle 30 Minuten		BE 6
0:45			
1:00		ERP-Sequenz (MMN)	BE 7
1:15			
1:30	Pause für Probanden		BE 8
1:45			
2:00		EWL - N	BE 9
2:15		MT PAL	
2:30		PAL MT	BE 10
2:45			
3:00	Versuchsende		BE 11

Schemazeichnung des Versuchsablaufs. Verwendete Abkürzungen: BE = Blutentnahme, EWL-N = Eigenschaftswörterliste, MMN = *Mismatch negativity*, MT = *Mirror Tracing*, PAL = Paar-assoziertes Lernen, EEG = Elektroenzephalogramm, EOG = Elektrookulogramm, EKG = Elektrokardiogramm, RR = Blutdruck nach *Riva und Rocci*.

2.3.1. Vorbereitungsphase

Der Proband traf gegen 20:15 im Labor ein. Er durfte am betreffenden Tag keine koffein- und alkoholhaltigen Getränke getrunken haben. Sein Abendessen durfte er wie gewöhnlich einnehmen, während des Versuchs durfte er dann aber nichts mehr essen. Zuerst wurde der Proband auf die Durchführung der Versuche vorbereitet. Dazu erhielt er direkt nach seinem Eintreffen einen venösen Zugang in den linken Unterarm, so dass die Braunüle bei den später folgenden Schreibaufgaben am wenigsten störte. Über diese Braunüle wurde dann Blut abgenommen, das sofort bei 4°C gelagert und so bald wie möglich zentrifugiert wurde. An die Braunüle wurde eine Kochsalz-Infusion (NaCl 0,9% der Firma Berlin-Chemie, Berlin) angeschlossen, die einen Verschluss des Katheters mit geronnenem Blut verhindern sollte; die zugeführte Menge an Kochsalz-Lösung wurde über den Zeitraum der Versuchsnacht auf maximal 500ml begrenzt.

Nach der ersten Blutentnahme wurden den Probanden am Kopf, nach Messung des Kopfumfanges über Nasion und Inion, mit Hilfe eines Easy-Cap-EEG-Systems Elektroden für ein 21-Kanal-EEG (modifiziertes 10-20-System mit Referenzelektrode an der Nasenwurzel und zwei zusätzlichen EEG-Elektroden über den Mastoiden, siehe Abbildung 7, Seite 16 im Anhang) befestigt. Das System besteht aus einer Haube, die mittels eines Brust- oder Kinngurtes befestigt wird und die vorgefertigte Steckplätze für die EEG-Elektroden bietet. An diesen Steckplätzen wurden die Haare mittels eines Holzstäbchens zur Seite geschoben, die Kopfhaut mit Alkohol (Cutasept® der Firma Bode Chemie, Hamburg) desinfiziert und dann mit einem abrasivem Elektrodengel (Natriumchlorid, Lapis pumicis, Traganth, Glycerin, Kaliumhydrogentartrat und Phenol liquidum 0,2% in wässriger Lösung, Theodor-Körner-Apotheke, Graz, Österreich) angeraut. Das Gel wurde danach mit einer Spritze in die Steckplätze und in die Elektroden gefüllt, so dass schließlich eine leitende Verbindung mit möglichst geringem Widerstand ($< 10\text{k}\Omega$) zwischen Kopfhaut und Elektrode bestand. Zusätzlich zu den EEG-Elektroden wurde noch eine Referenz-Elektrode (Silber/Silberchlorid-Elektrode) auf der Nasenwurzel befestigt, die Erdung erfolgte über eine weitere Elektrode auf der Stirn, die der Einfachheit halber auch am Easy-Cap-System befestigt wurde. Zwei weitere EEG-Elektroden wurden an den beiden Processus mastoidei befestigt, um dort die *Mismatch postivity* aufzeichnen zu können. Außerdem wurden am superioren, inferioren und lateralen Orbitalrand vier Elektroden zur Aufzeichnung des Elektrokulogramms befestigt. Die Silber/Silberchlorid-Elektroden, die nicht über das Easy-Cap-System befestigt wurden, wurden mit EC2-Electrode-Cream® (Firma Grass,

Warwick, Rhode Island, USA) gefüllt und danach mit Kleberingen auf der Haut befestigt. Auch hier wurde vorher die Haut mit abrasivem Elektrodengel angeraut.

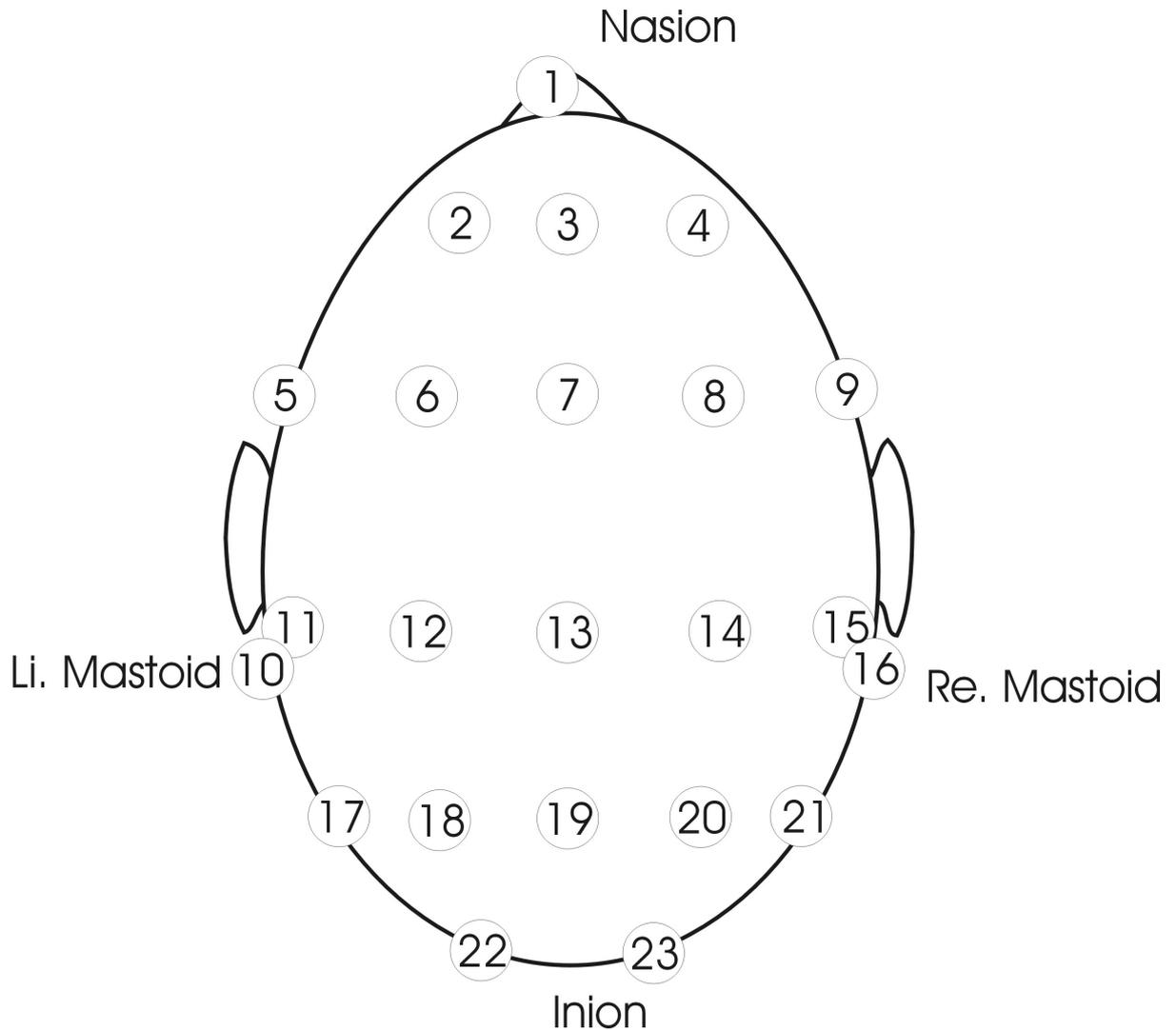


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Elektroden-Positionen nach dem 10-20er-System. Fp = frontopolar, F = frontal, T = temporal, M = Mastoid, C = zentral, P = parietal, O = okzipital. Elektroden auf der rechten Seite werden mit geraden, die auf der linken Seite mit ungeraden Ziffern bezeichnet.

1	Referenz	9	F ₈	17	T ₅
2	Fp ₁	10	M ₁	18	P ₃
3	Erdung	11	T ₃	19	P _z
4	Fp ₂	12	C ₃	20	P ₄
5	F ₇	13	C _z	21	T ₆
6	F ₃	14	C ₄	22	O ₁
7	F _z	15	T ₄	23	O ₂

2.3.2. Konsolidierungstests und Befindlichkeitstestung

Nach Abschluss der Vorbereitungen füllten die Probanden eine Eigenschaftswörterliste (EWL-N, Janke & Debus, 1978, Hogrefe-Verlag, Göttingen) aus und machten danach in zufälliger Reihenfolge zwei Gedächtnisaufgaben. Die Aufgaben wurden damit bereits vor der Gabe von Ketamin ausgeführt, so dass nach der Infusion von Ketamin der Einfluss von Ketamin auf die Konsolidierung gemessen werden konnte, ohne dass die Encodierung hiermit beeinflusst worden wäre. Dies nahm ca. eine dreiviertel Stunde in Anspruch, so dass die Testphase zur Erfassung der Konsolidierung je nach Dauer der Vorbereitungen zwischen 22:00 und 22:15 abgeschlossen war. Die Durchführung der Eigenschaftswörterliste und der Ablauf der zwei Gedächtnistests (Paar-assoziertes Lernen und *Mirror Tracing*) sind weiter unten beschrieben. Jeder der zwei Tests liegt in zwei Versionen vor, so dass jeder Proband an seinen beiden Versuchsabenden eine unterschiedliche Version lernen konnte. Der Proband erhielt zu jedem Test standardisierte Anweisungen.

2.3.3. Medikamentengabe und Encodierungstest

Nach dem Ende der Testphase bekamen die Probanden eine zweite Braunüle, die nun in den anderen Arm gelegt wurde und über die Ketamin bzw. Placebo verabreicht wurde. Desweiteren wurde auf jeder Hand eine weitere Elektrode befestigt, über die während der Medikamentengabe das EKG abgeleitet werden konnte. Mit Hilfe eines automatischen Blutdruckmessers wurden während der Medikamentengabe auch im halbstündigen Abstand Blutdruck und Puls kontrolliert.

Die Probanden nahmen in einem schallgeschütztem Raum Platz. An die beiden Braunülen wurden lange Kunststoffschläuche angeschlossen, die Blutentnahme und Medikamentengabe vom Nachbarzimmer aus ermöglichten. Das EEG wurde ebenfalls im Nachbarzimmer aufgezeichnet, hierzu wurden die Elektrodenkabel in eine Headbox neben dem Probanden gesteckt, die wiederum mit einem Neuroscan-Verstärker im Nachbarzimmer verbunden war. Über einen Computer war auch eine Widerstandsmessung der Elektroden möglich und Elektroden, die einen zu hohen Widerstand zeigten ($> 10 \text{ k}\Omega$), wurden noch einmal korrigiert.

Während der Gabe des Medikaments wurde der Proband über eine Kamera beobachtet, ansonsten blieb er, außer während der halbstündig durchgeführten Blutdruckmessun-

gen, ungestört und durfte sich entspannen oder mitgebrachte Bücher oder Zeitschriften lesen. Um 23:00 wurde mit der Gabe von Ketamin bzw. Placebo begonnen. Probanden der Hochdosisgruppe erhielten Ketamin in einer Dosis von 0,25 mg/kg KG pro Stunde, Probanden der Niedrigdosisgruppe in einer Dosis von 0,083 mg/kg KG pro Stunde. Die Infusionslösungen waren vor dem Versuch von einem Arzt des Instituts zubereitet worden, indem ein körpergewichtsabhängiges Volumen Ketanest® (Konzentration 5 mg/ml) mit Kochsalzlösung auf insgesamt 50 ml verdünnt wurde. Der durchschnittliche Ketamingehalt der Infusion betrug dabei in der Hochdosisgruppe 55,25 mg, entsprechend 1,105 mg/ml, in der Niedrigdosis 18,55 mg, was einer Konzentration von 0,371 mg/ml entspricht. Die Infusion wurde über einen Perfusor mit einer konstanten Infusionsrate von 17 ml/h gegeben.

Die Medikamentengabe dauerte insgesamt zweieinhalb Stunden, also bis 1:30. Währenddessen wurde im Halbstundentakt Blut abgenommen (s.u.). Eine dreiviertel Stunde vor dem Ende der Medikamentengabe wurde mit der Präsentation der Tonsequenz zur Messung der akustisch evozierten Potentiale und der *Mismatch negativity* begonnen. Diese Tonsequenz dauerte ca. 40 Minuten, so dass das Ende der Tonsequenz kurz vor das Ende der Infusion fiel. Weitere Details zur Tonsequenz finden sich weiter unten.

2.3.4. Schlussphase

Nach Beendigung der Tonsequenz und der Medikamentengabe wurde dem Probanden die EEG-Haube abgenommen und die Braunüle, über die Ketamin bzw. Placebo gegeben worden war, entfernt. Nach einer kurzen Pause füllte der Proband wieder eine Eigenschaftswörterliste aus und machte ein weiteres Mal die zwei Gedächtnistests. Auch jetzt wurde weiterhin im Halbstundentakt Blut abgenommen. Nach dem Ende der Gedächtnistests und der letzten Blutentnahme durfte der Proband um 3:00 nach Hause gehen oder die restliche Nacht im Institut für Neuroendokrinologie verbringen.

2.4. Ablauf der einzelnen Aufgaben

2.4.1. Mismatch negativity

Wie oben beschrieben, wurde mit der Präsentation der Töne um 0:45 begonnen, eine dreiviertel Stunde vor dem Ende der Medikamentengabe. Im Versuchsraum befanden sich zwei Lautsprecher in 1m Entfernung vom Probanden, sie waren so laut eingestellt worden, dass der Proband die Töne in einer Lautstärke von 80 dB(A) hören konnte. Die Lautstärke

der Lautsprecher war zuvor mit einem Schallpegelmesser (Schallpegelmesser SL-325, PCE-Group, Meschede) gemessen worden.

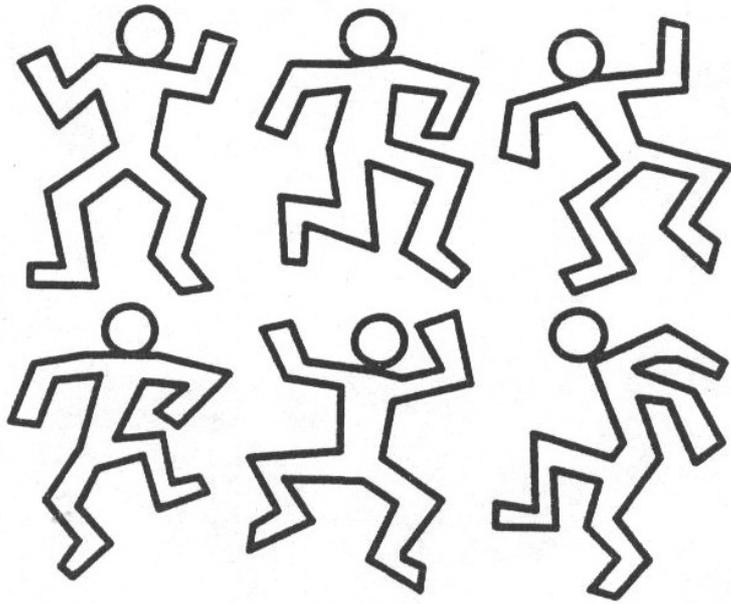
Die Tonsequenz bestand aus 8376 Tönen, die in Gruppen von 3, 7 oder 37 Tönen angeordnet waren. Die ersten 2, 6 bzw. 36 Töne dieser Tongruppen stellten dabei den Standard dar, der jeweils letzte Ton der Tongruppe wich in Tonhöhe (*Frequency Deviant*) oder Tondauer (*Duration Deviant*) vom Standardton ab. Je nach Anzahl der vorangegangenen Standards hatte der *Deviant* also eine Wahrscheinlichkeit von (gerundet) 33%, 15% oder 2,5%. Die Standardtöne und die *Frequency Deviants* waren immer 25 ms lang, die *Duration Deviants* hingegen 75 ms. Der Abstand zwischen den Tönen betrug 300ms. Die Frequenz der Töne schwankte zwischen 700 und 1200 Hz (in unterschiedlichen Tonhöhen im Abstand von 50 Hz). Der Standard und der *Duration Deviant* hatten immer dieselbe Frequenz. Der *Frequency Deviant* wich um mindestens 50Hz, höchstens um 250Hz von der Frequenz des Standards ab, er stellte aber gleichzeitig den ersten neuen Standardton einer neuen Subsequenz dar. Dieses Modell, dass die Tonhöhe des Standards im Laufe des Experiments immer wieder wechselte, wurde als *Roving Standard* bezeichnet. Durch die unterschiedlich lange Dauer der einzelnen Subsequenzen (3, 7 oder 37 Töne) war es für die Probanden nicht vorhersehbar, wann sie einen *Duration Deviant* oder einen *Frequency Deviant* präsentiert bekommen.

Die Töne wurden von einem PC generiert und über die oben genannten Lautsprecher dem Probanden präsentiert. Gleichzeitig sendete der PC über ein Triggerkabel ein Signal an den Neuroscan-Verstärker, das verschlüsseln sollte, ob ein Standardton oder ein *Deviant* präsentiert worden war. Darüber hinaus wurde die Wahrscheinlichkeit des *Deviants*, und, im Falle der *Frequency Deviants*, das Ausmaß des Frequenzsprungs an den Verstärker übermittelt und zusammen mit den EEG-Dateien aufgezeichnet.

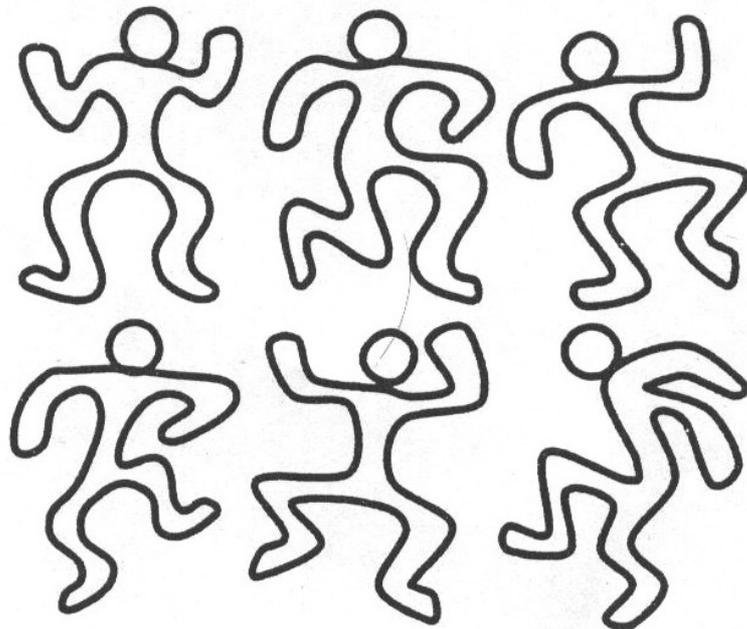
2.4.2. Mirror Tracing

Beim *Mirror Tracing* wurde das prozedurale Lernen geprüft. Die Probanden mussten dabei Figuren nachzeichnen, die sie nicht direkt, sondern nur über einen Spiegel einsehen konnten. Die nachzuzeichnenden Figuren waren auf durchsichtige Folien gedruckt und wurden von unten beleuchtet, so dass mit Hilfe eines lichtempfindlichen Stiftes die Zeichengenauigkeit gemessen werden konnte. Ein Messgerät bestimmte dann Fehlerzahl, Fehlerzeit und Gesamtzeit des Zeichenvorganges.

Die Probanden mussten das Prinzip des Spiegelzeichnens erst an einem fünfstrahligen Stern erlernen, den sie so lange nachzeichnen mussten, bis sie ihn mit weniger als sechs Fehlern nachgezeichnet hatten, maximal aber sechsmal. Auf die Zeichengeschwindigkeit wurde hier noch kein Wert gelegt. Danach mussten sie sechs komplexere Figuren nachzeichnen (siehe Abbildung 3), jede Figur nur einmal, diesmal aber dafür nicht nur möglichst fehlerfrei, sondern auch möglichst schnell. Damit war die Lernphase abgeschlossen. Nach der Medikamentengabe mussten die Probanden wiederum die komplexen Figuren nachzeichnen, ohne vorher noch einmal den Stern geübt zu haben. Auch diesmal mussten sie so schnell, aber auch so sorgfältig wie möglich vorgehen. Die Figuren waren in zwei Testsets aufgeteilt, eins mit spitzen und eins mit abgerundeten Ecken.



Set 1



Set 2

Abbildung 3: Übersicht über die Figuren des Mirror-Tracings im Maßstab 1:3

2.4.3. Paar-Assoziiertes-Lernen

Beim Paar-Assoziierten-Lernen (PAL) wurden dem Probanden 40 Wortpaare präsentiert, die später abgefragt wurden. Diese Wortpaare waren so bestimmt worden, dass das zweite Wort jedes Paares inhaltlich mit dem ersten Wort korrespondierte. Die Paare wurden einzeln für jeweils 5 Sekunden auf einem Computermonitor präsentiert. Direkt nach der Präsentation wurden die Probanden abgefragt, indem das erste Wort des Wortpaares vom Computer angezeigt wurde. Der Proband musste dann das passende zweite Wort sagen. Danach erst durfte er durch Drücken der Leertaste zum nächsten Wortpaar schalten, das vorher abgefragte Wortpaar wurde dann noch einmal für 0,5 Sekunden auf dem Monitor gezeigt. Insgesamt mussten 24 Wortpaare richtig gelernt worden sein, war dies nicht der Fall, musste der Proband den Lerndurchgang wiederholen. Erst wenn 24 oder mehr Wortpaare richtig genannt worden waren, war die Lernphase für diesen Test abgeschlossen. Nach der Substanzgabe schließlich musste der Proband in einem weiteren, einmaligen Durchgang so viele Wörter wiedergeben, wie er behalten hatte. Dabei wurde ihm wieder das erste Paar eines Wortpaares angezeigt, das zweite Paar musste er sagen und danach durch Drücken der Leertaste zum nächsten Wort weiterschalten. Im Unterschied zur Lernphase wurde ihm hier das Wortpaar nicht noch ein weiteres Mal angezeigt, um den Probanden nicht durch die Anzeige des Lernerfolgs zu beeinflussen.

2.4.4. Eigenschaftswörterliste (EWL-N)

Dieser Test diente zur Erfassung der momentanen Befindlichkeit. Die Probanden mussten 160 Adjektive danach einordnen, ob diese ihren momentanen Zustand beschreiben könnten oder eher nicht. In der Auswertung wurden diese dann 14 Skalenwerten zugeordnet (siehe auch Tabelle 10 und 11). Diesen Fragebogen füllten die Probanden zweimal am Versuchsabend aus, einmal nach Abschluss der Vorbereitung vor den eigentlichen Gedächtnisaufgaben und zum zweiten Mal nach dem Ende der Medikamentengabe.

2.4.5. Blutentnahmen und Laboruntersuchungen

Insgesamt wurde den Probanden während einer Versuchsnacht elfmal Blut abgenommen: beim Eintreffen (ca. 20:30 Uhr), um 22:00 Uhr, ab 23:00 Uhr dann im Halbstundentakt bis 3:00 Uhr. Bei jeder Blutentnahme wurde eine Monovette für EDTA-Plasma zur späteren ACTH- und Cortisol-Bestimmung (2,7 ml) sowie eine Monovette zur Serum-Gewinnung zur späteren Bestimmung von Interleukin-1, Interleukin-2, Interleukin-4, Tumor-Nekrose-

Faktor- α und Interferon- γ (9 ml) entnommen (Monovetten der Firma Sarstedt, Nürnberg). Das EDTA-Plasma-Röhrchen wurde bis zur Zentrifugation kühl bei 4°C aufbewahrt, die Blutproben wurden nach der Gerinnung des Blutes im Serum-Röhrchen in einer kühlbaren Zentrifuge mit 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Je 600 μ l der Plasma- bzw. Serumprobe wurde in einem vorher vorbereiteten Eppendorf-Reaktionsgefäß aliquotiert (2 Gefäße mit EDTA-Plasma; 6 Gefäße, inkl. eines Reservegefäßes, mit Serum) und zur späteren Bestimmung eingefroren. Der geschätzte Blutverlust eines Probanden pro Nacht betrug 150 ml, hierin ist berücksichtigt, dass aufgrund der Blutentnahme über ein Schlauchsystem Blut verworfen werden musste.

Die Blutproben wurden nach Abschluss aller Versuche bei -20°C eingefroren und später auf Cortisol und ACTH untersucht, die Bestimmung des Gehalts an Zytokinen im Serum wurde auf einen späteren Zeitpunkt verschoben und geht nicht in die Auswertung der Daten ein.

Zur Bestimmung von Cortisol im Plasma wurden Reaktionskits der Firma DSL, Sinsheim, verwendet (DSL-10-2000 Active™ Cortisol-EIA). Dieses Testkit beruht auf dem Prinzip des Enzym-Immunoassays, bei dem enzym-markiertes und unmarkiertes Antigen um eine begrenzte Anzahl Antikörper-Bindungsplätze konkurrieren. Je mehr enzym-markierte Antigene (hier Cortisol) gebunden werden, desto geringer ist die Konzentration von nichtmarkiertem Cortisol und umgekehrt.

ACTH wurde mit dem Testkit Lumitest® ACTH der Firma BRAHMS, Henningsdorf, nach der Immunoluminometrischen Methode bestimmt. Diese Methode arbeitet mit zwei unterschiedlichen Antikörpern gegen ACTH. Da ACTH ein Protein ist, kann man einen Antikörper an das N-terminale Ende des Proteins, einen anderen an das C-terminale Ende binden lassen. Der Antikörper gegen das N-terminale Ende befindet sich auf einem beschichteten Röhrchen (*coated tube*), der Antikörper gegen das C-terminale Ende ist lumineszenz-markiert (mit einem Akridinium-Derivat). Beide Antikörper sind monoklonale Antikörper aus Mäusen.

2.5. Auswertung und Statistik

2.5.1. Auswertung der akustisch evozierten Potentiale

Die computergesteuerte Aufzeichnung von EEG-Dateien und Stimulus-Codes ermöglichte die Auswertung mit Hilfe des Programms NeuroScan®. Mit einem *low-pass*-Filter von 0,5 Hz und einem *high-pass*-Filter von 30 Hz wurden Artefakte herausgefiltert. Danach wurde

die EEG-Datei entsprechend der Stimulus-Codes in einzelne 400ms Epochen zerlegt, 100ms fielen dabei auf die sogenannte *Baseline* vor dem Ton. Epochen, die in einer der Ableitungen Werte von mehr als $\pm 50\mu\text{V}$ zeigten, wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Im Anschluss wurde eine *Baseline*-Korrektur durchgeführt, d.h., der Abschnitt vor dem Stimulus wurde in jeder Epoche so angepasst, dass hier der Mittelwert 0 betrug.

Für die statistische Auswertung wurde die Fläche unter der Kurve im Abschnitt zwischen 100ms und 200ms berechnet, und zwar für das evozierte Potential auf die Standard-Stimuli, für die Potentiale auf die abweichenden Stimuli und für die *Mismatch negativity* bzw. *Mismatch positivity*, die man nach Subtraktion der beiden Kurven voneinander erhält. Dabei wurden immer nur die Standard-Stimuli ausgewertet, die direkt vor einem abweichenden Ton aufgezeichnet waren, um die Anzahl von Standard-Tönen und *Deviant*-Tönen anzugleichen. Obwohl die Fläche unter der Kurve für alle Elektrodenpositionen bestimmt wurde, konzentrierte sich die Auswertung im Nachhinein auf die Elektroden, an denen erfahrungsgemäß die *Mismatch negativity* am ausgeprägtesten nachzuweisen war, d.h., auf die frontozentralen Elektroden F_3 , F_4 , F_z und C_z . Die *Mismatch positivity* wurde an den Elektroden M_1 und M_2 analysiert.

Die statistische Auswertung wurde mit einer Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen mit mehreren Faktoren durchgeführt: dem Messwiederholungsfaktor *Treatment*, der zwischen Ketamin und Placebo unterschied, dem Faktor *Electrode*, um die vier frontalen bzw. die beiden Mastoid-Elektroden zu berücksichtigen, und einem Zwischen-Subjekt-Faktor *Dose*, der zwischen den beiden Probandenkollektiven (hohe vs. niedrige Ketamin-Dosis) entscheiden sollte. Post-hoc wurden einzelne Messwerte noch einmal mit t-Tests für gepaarte und ungepaarte Stichproben verglichen.

Der Wahrscheinlichkeitseffekt wurde ebenfalls mit einer ANOVA getestet. Auch hier wurden die Messwiederholungsfaktoren *Treatment* und *Electrode* verwendet, zudem noch der Faktor *Probability*, der für die unterschiedlichen *Deviant*-Wahrscheinlichkeiten verwendet wurde (33%, 15% und 2,5%). Einzelne Wahrscheinlichkeitswerte wurden aber zudem mit einem t-Test für gepaarte Stichproben verglichen.

Die oben erläuterte ANOVA wurde so für die Potentiale nach den Standardtönen und den *Deviants* ausgeführt. Die Auswertung der *Mismatch negativity*, die ja den Unterschied zwischen den Potentialen nach den Standardtönen und den abweichenden Tönen darstellt, wurde hierzu analog durchgeführt, darüber hinaus wurde aber jeweils noch der Faktor

Mismatch für den Vergleich zwischen Standard und *Deviant* eingeführt. Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Programms SPSS 11.5 durchgeführt. Wenn nicht anders angegeben, sind alle Werte als Mittelwert \pm Standardabweichung aufgeführt. Ein p -Wert $< 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

2.5.2. Auswertung der kognitiven Tests und der Eigenschaftswörterliste

Beim *Mirror tracing* wurde der Mittelwert der *Error Time*, des *Error Count* und der *Total Time* der sechs Figuren berechnet und dann in die weitere statistische Auswertung übernommen. Das vorhergehende Üben am Stern wurde nicht in die weitere Auswertung einbezogen. Beim Paar-assozierten Lernen wurden die beim letzten Lernvorgang und bei der Abfrage richtig gewussten Wortpaare in die Auswertung übernommen. Die Mittelwerte wurden dann mit Hilfe einer ANOVA statistisch verglichen, die die Messwiederholungsfaktoren *Pre_post* zur Berücksichtigung des Vorher-Nachher-Effekts und *Treatment* zur Unterscheidung zwischen Ketamin und Placebo sowie den Zwischen-Subjekt-Faktor *Dose* zur Berücksichtigung der gegebenen Ketamin-Dosis umfasste.

Die Eigenschaftswörterliste wurde mit Hilfe einer durchsichtigen Schablone ausgewertet. Mit dieser Schablone konnten die Adjektive, die der Proband mit „trifft zu“ angekreuzt hatte, den vierzehn Subskalen zugeordnet werden. So konnte die Anzahl der als zutreffend angekreuzten Adjektive in jeder Subskala bestimmt werden. Da die Gesamtzahl der Eigenschaftswörter in jeder Subskala unterschiedlich ist, wurden jeweils die prozentualen Anteile der zutreffenden Adjektive berechnet. Die statistische Auswertung umfasste wie bei den kognitiven Tests eine ANOVA mit den Faktoren *Pre_post*, *Treatment* und *Dose*.

2.5.3. ACTH- und Cortisol-Konzentrationen

Für die Werte der ACTH- und Cortisol-Konzentrationen wurden erst deskriptive statistische Werte wie Mittelwert und Standardabweichung berechnet und schließlich auch eine Varianzanalyse durchgeführt. Hierzu wurden die Messwiederholungsfaktoren *Time* zur Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufs und *Treatment* zur Unterscheidung zwischen Ketamin und Placebo sowie der Zwischen-Subjekt-Faktor *Dose* zur Unterscheidung zwischen hoher und niedriger Ketamindosis sowie die Interaktionen zwischen ihnen untersucht.

3. Ergebnisse

3.1. Akustisch evozierte Potentiale

3.1.1. Der Einfluss von Ketamin auf die Encodierung der Standard-Töne

Zur Vereinfachung wird das Potential, das durch einen Standard-Ton hervorgerufen wird, im Folgenden als Standard-Potential bezeichnet. Der Kurvenverlauf des Standard-Potentials an der Elektrodenposition C_z und an der Elektrodenposition M_2 ist aus Abbildung 1 ersichtlich. Man sieht, dass es über der Elektrode C_z zu einer starken Positivierung kommt. Nach 80 ms ist die erste positive Amplitude (P1 oder P50) erreicht, kurz darauf findet sich eine kleine negative Amplitude (N1 oder N100), ehe es nach ca. 150ms zu einer weiteren, noch breiteren, aber nicht mehr so starken positiven Amplitude kommt (P2). Erst nach ca. 200 ms findet sich wieder zu einer Negativierung. Der Kurvenverlauf über M_2 ist dazu beinahe spiegelbildlich, außer, dass die Negativierung hier nicht so ausgeprägt ist wie die Positivierung über C_z .

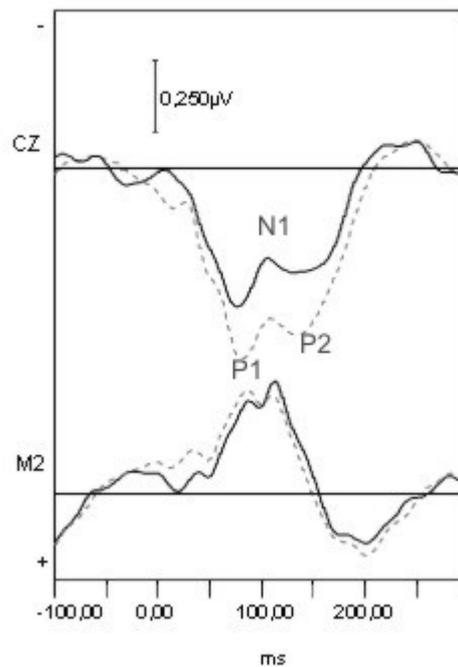


Abbildung 4: Evozierte Potentiale nach den Standard-Tönen über den Elektroden C_z (oben, mit Kennzeichnung der AEP-Abschnitte P1, N1 und P2) und M_2 (unten), unter dem Einfluss von Ketamin (schwarz, durchgezogen) bzw. Placebo (grau, gestrichelt). Dargestellt ist der Bereich von 100 ms vor dem Ton bis 300 ms nach dem Ton. Wenn nicht anders angegeben, werden in den Abbildungen immer die Potentialverläufe für das gesamte Probandenkollektiv wiedergegeben. (Nach internationaler Konvention werden bei EEG-Kurven negative Spannungen auf der y-Achse nach oben hin aufgetragen)

Die Berechnung der Flächen unter der Kurve ergibt, dass diese v.a. an den frontozentralen Elektroden unter Ketamin im Vergleich zu Placebo deutlich vermindert ist. Dies zeigt sich auch in der ANOVA ($p < 0,001$ für *Treatment* über den frontozentralen Elektroden). Der Einfluss auf die Fläche unter der Kurve ist zudem stark von der gegebenen Ketamindosis abhängig. Wie aus den Werten in Tabelle 2 ersichtlich, zeigt sich der Effekt von Ketamin stärker bei den Probanden, die die hohe Dosis erhalten haben ($p = 0,045$ für die *Treatment x Dose*-Interaktion), auch in einem post-hoc durchgeführten t-Test für ungepaarte Stichproben zeigten sich diese Dosisunterschiede. Für die AEPs über den Mastoid-Elektroden hingegen ergeben sich diese Effekte nicht ($p > 0,25$ für *Treatment* und für *Treatment x Dose*). Auch im post-hoc durchgeführten t-Test für gepaarte Stichproben zeigt sich im direkten Vergleich der einzelnen Flächen unter den Kurven ein starker Effekt von Ketamin an den frontozentralen Elektroden, hingegen nicht an den Mastoid-Elektroden (Tabelle 2).

Tabelle 2: Fläche unter der Kurve (Standard) im Vergleich der beiden Dosisgruppen

Elektrode	Gruppe 1 (Hohe Ketamindosis)		Gruppe 2 (Niedrige Ketamindosis)	
	Ketamin	Placebo	Ketamin	Placebo
F ₃	9,0 ± 36,0 ^a	34,3 ± 20,4	40,0 ± 16,1 ^a	47,9 ± 21,1
F ₄	15,6 ± 30,9 ^a	37,1 ± 23,8	43,3 ± 19,5 ^a	52,0 ± 18,8
F _z	16,2 ± 32,6 ^a	45,4 ± 22,3	48,0 ± 21,3 ^a	59,2 ± 22,1
C _z	9,0 ± 28,2 ^a	39,0 ± 19,1	40,9 ± 21,5 ^a	51,3 ± 21,1
M ₁	-8,2 ± 13,3	-9,1 ± 16,4	-8,0 ± 18,0	-14,6 ± 21,4
M ₂	-3,1 ± 15,3	-1,5 ± 9,0	-8,6 ± 21,7	-15,3 ± 19,9

Die Fläche unter der Kurve des Standard-Potentials in $\mu\text{V}\cdot\text{ms}$ (Mittelwert ± Standardabweichung), aufgeteilt nach den Dosisgruppen. Die Ergebnisse der ANOVA sind im Text aufgeführt.

a: $p < 0,05$ für den Vergleich hohe vs. niedrige Dosis im t-Test für ungepaarte Stichproben.

Tabelle 3: Flächen unter der Kurve (Standard) im Vergleich zwischen Ketamin und Placebo

Elektrode	Fläche unter der Kurve ($\mu\text{V}\cdot\text{ms}$)		t-Test für gepaarte Stichproben
	Ketamin	Placebo	
F ₃	29,0 ± 29,9	42,8 ± 21,3	p=0,005
F ₄	32,9 ± 27,2	46,4 ± 21,4	p=0,011
F _z	36,1 ± 29,6	53,4 ± 22,5	p=0,001
C _z	29,0 ± 28,2	46,7 ± 20,7	p=0,002
M ₁	-8,1 ± 15,9	-12,5 ± 19,3	p=0,162
M ₂	-6,6 ± 19,2	-10,1 ± 17,7	p=0,347

Die Flächen unter den Kurven des Standard-Potentials (Mittelwerte \pm Standardabweichung) an den wichtigsten Elektroden-Positionen für das gesamte Probandenkollektiv. Vergleiche zwischen Ketamin und Placebo wurden hier mit einem t-Test für gepaarte Stichproben ausgeführt, dessen Ergebnisse in der rechten Spalte zu sehen sind. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Die ANOVA bezüglich der Wahrscheinlichkeitseffekte ergibt, dass die Anzahl der Wiederholungen der Standard-Töne einen Einfluss auf die Fläche unter der resultierenden AEP-Kurve hatte ($p=0,002$ für *Probability* über den frontozentralen Elektroden, $p=0,035$ für *Probability* über den Mastoidelektroden). Über den frontozentralen Elektroden wurde die Fläche unter der Kurve dabei immer positiver, über den Mastoidelektroden ist der Verlauf nicht ganz eindeutig, die Werte sind in Tabelle 4 und in Abbildung 5 zu finden. Die Beobachtung, dass mit zunehmender Anzahl der Standard-Töne die resultierende Fläche unter der Kurve positiver wird, zeigt sich v.a. unter Ketamin in den frontozentralen Ableitungen. Dieser Effekt ist allerdings nicht signifikant ($p>0,2$ für die *Treatment x Probability*-Interaktion). Führt man jedoch für jedes einzelne Ketamin-Placebo-Paar t-Tests für gepaarte Stichproben durch, zeigen sich v.a. über den frontozentralen Elektroden signifikante Unterschiede im Vergleich der Paare mit hoher *Deviant*-Wahrscheinlichkeit (s. Tabelle 4).

Tabelle 4: Einfluss der Unterschiedlichen *Deviant*-Wahrscheinlichkeiten

Elektrode / Wahrscheinlichkeit	Fläche unter der Kurve in $\mu\text{V}\cdot\text{ms}$		t-Test für gepaarte Stichproben	
	Ketamin	Placebo		
F ₃	33%	-21,9 ± 51,6	21,4 ± 62,3	p=0,006
	15%	25,0 ± 81,6	48,9 ± 47,2	p=0,331
	2,5%	55,2 ± 66,1	78,5 ± 85,7	p=0,386
F ₄	33%	-28,6 ± 46,4	29,2 ± 57,4	p<0,001
	15%	29,0 ± 74,1	57,4 ± 54,9	p=0,258
	2,5%	66,5 ± 53,8	75,8 ± 78,8	p=0,694
F _z	33%	-21,1 ± 52,8	31,5 ± 68,5	p=0,002
	15%	42,5 ± 90,6	54,1 ± 47,5	p=0,682
	2,5%	68,9 ± 62,7	89,1 ± 89,4	p=0,454
C _z	33%	-31,0 ± 62,3	33,4 ± 63,5	p=0,002
	15%	12,0 ± 95,3	43,7 ± 41,4	p=0,292
	2,5%	62,8 ± 67,9	70,0 ± 92,7	p=0,825
M ₁	33%	4,0 ± 49,9	29,5 ± 46,4	p=0,079
	15%	-37,0 ± 55,5	11,1 ± 39,6	p=0,012
	2,5%	4,3 ± 50,9	-19,7 ± 74,7	p=0,339
M ₂	33%	8,4 ± 42,3	41,0 ± 39,7	p=0,029
	15%	-20,0 ± 56,5	-13,0 ± 59,1	p=0,766
	2,5%	5,1 ± 53,3	-11,8 ± 76,3	p=0,394

Der Einfluss der *Deviant*-Wahrscheinlichkeit auf das Standard-Potential. Zu jeder Elektrode ist die Fläche unter der Kurve für die drei unterschiedlichen *Deviant*-Wahrscheinlichkeiten angegeben. Der t-Test für gepaarte Stichproben vergleicht die jeweiligen Ketamin- und Placebo-Werte.

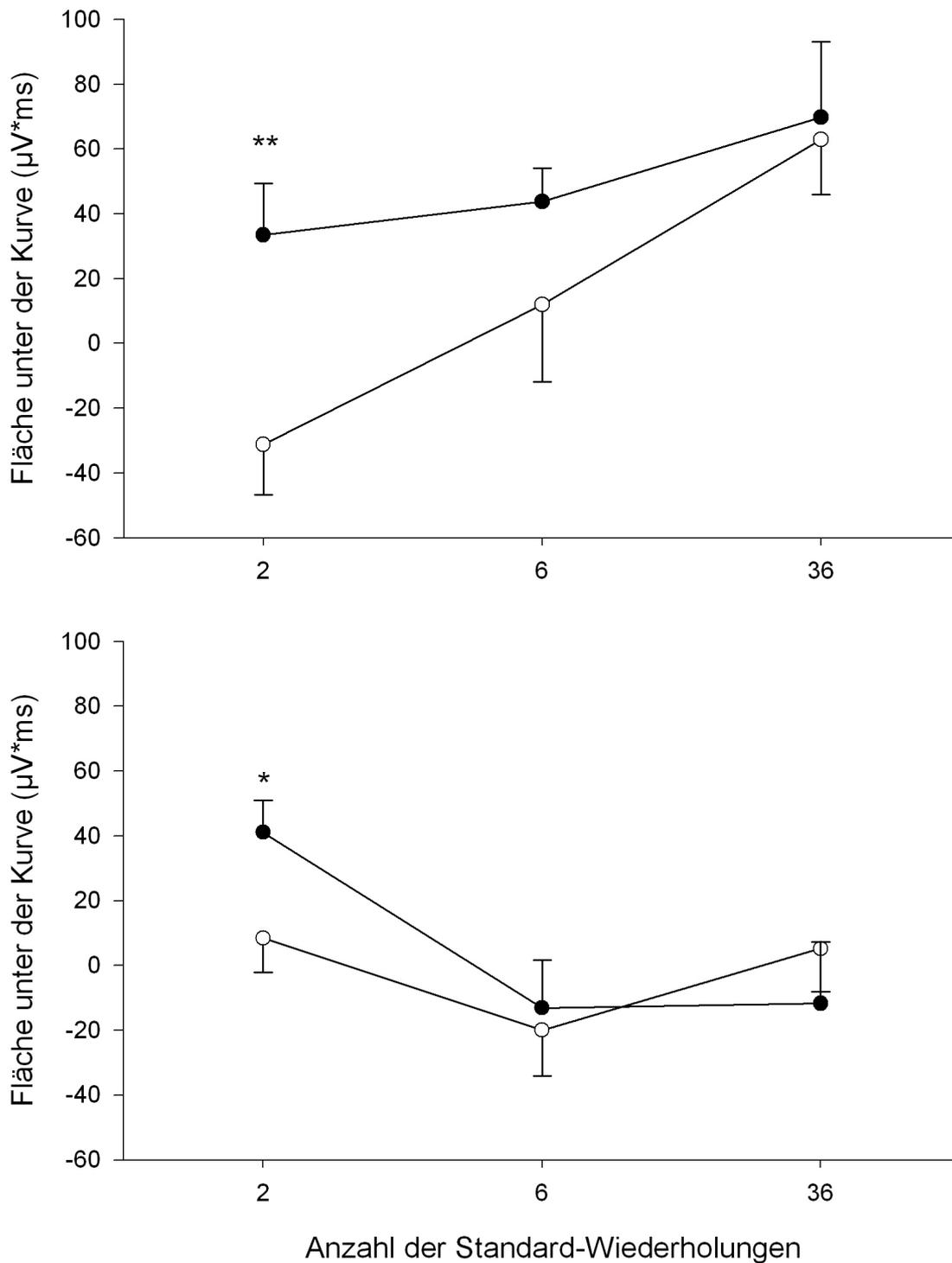


Abbildung 5: Fläche unter der Kurve des Standard-Potentials in Abhängigkeit von den vorausgegangenen Standard-Ton-Wiederholungen über den Elektroden C_Z (oben) und M₂ (unten) unter Ketamin (offene Kreise) und Placebo (schwarze Kreise).

*: $p < 0,05$ für den Vergleich Ketamin – Placebo

** : $p < 0,01$ für den Vergleich Ketamin – Placebo

3.1.2. Der Einfluss von Ketamin auf die Encodierung der *Deviant*-Töne

Betrachtet man den Verlauf der Potentialkurven, sieht man, dass sie sehr unterschiedlich aussehen, je nachdem, ob das Potential durch eine Abweichung in der Tondauer (*Duration Deviant*, im folgenden zur Vereinfachung auch *Duration Deviant-Potential* genannt, links) oder in der Tonfrequenz (*Frequency Deviant*, im folgenden zur Vereinfachung *Frequency Deviant-Potential* genannt, rechts) hervorgerufen wird. Beim *Duration Deviant-Potential* kommt es über den frontozentralen Elektroden nach ca. 100 ms zu einer starken Negativierung mit einer etwas niedrigeren (N2a) und einer etwas höheren Amplitude (N2b), der nach ca. 300 ms eine ebenso starke Positivierung (P3a oder P300) folgt, der Verlauf der über den Mastoiden abgeleiteten Kurven ist hierzu annähernd spiegelverkehrt. Beim *Frequency Deviant* kommt es ziemlich bald nach dem auslösenden Ton zu einer Positivierung, der ebenfalls nach ca. 100ms eine Negativierung und nach ca. 300ms einer weitere Positivierung (P3a oder P300) folgt.

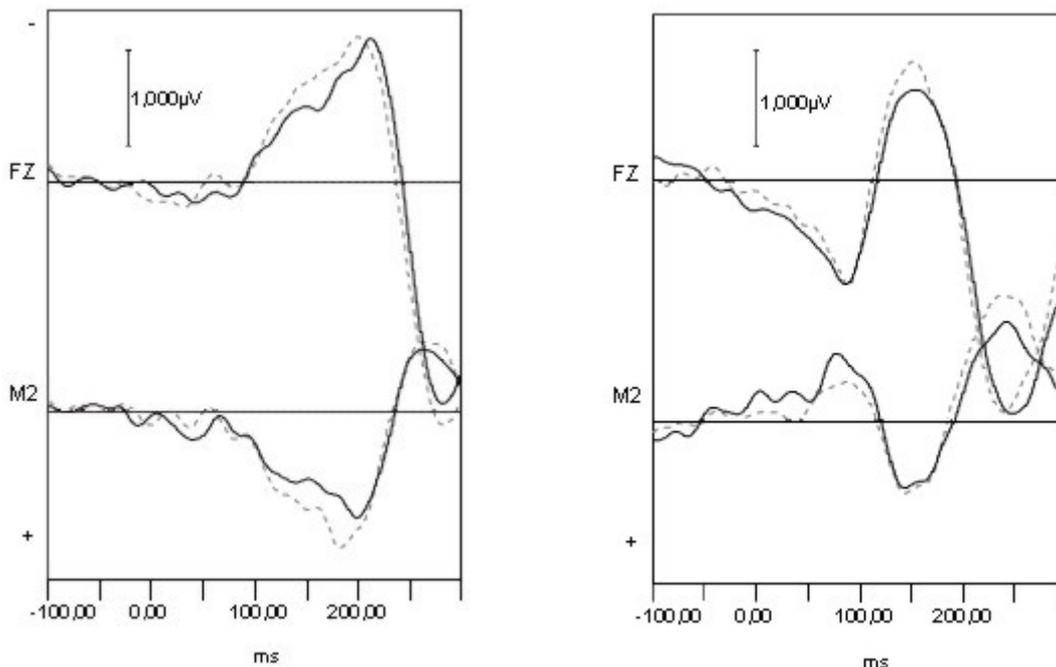


Abbildung 6: *Duration Deviant*-Potential (links) und *Frequency Deviant*-Potential (rechts) unter Ketamin (schwarz, durchgezogen) und Placebo (grau, gestrichelt) über den Elektroden F_z (oben) und M₂ (unten).

Auch hier wurden die Flächen unter der Kurve berechnet und eine ANOVA durchgeführt, in der sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Ketamin und Placebo ($p > 0,5$)

für *Treatment* über den frontozentralen Elektroden und den Mastoid-Elektroden bei den *Frequency Deviants*, $p > 0,15$ bei den *Duration Deviants*) zeigen. Ebenfalls zeigt sich kein Einfluss der Ketamin-Dosis ($p > 0,1$ für alle *Treatment* x *Dosis*-Interaktionen). Auch im post-hoc durchgeführten t-Test für gepaarte Stichproben für den Einzelvergleich an allen Elektroden finden weder für die *Duration Deviant*-Potentiale noch für die *Frequency Deviant*-Potentiale signifikante Unterschiede zwischen Ketamin und Placebo (Tabelle 5).

Tabelle 5: Fläche unter der Kurve nach den *Deviant*-Tönen für den Vergleich zwischen Ketamin und Placebo

Elektrode	Fläche unter der Kurve ($\mu\text{V}\cdot\text{ms}$)		t-Test für gepaarte Stichproben
	Ketamin	Placebo	
<i>Duration Deviants</i>			
F ₃	-35,8 ± 54,0	-40,0 ± 83,7	p=0,788
F ₄	-34,2 ± 55,8	-41,5 ± 71,5	p=0,617
F _z	-35,3 ± 58,1	-40,0 ± 83,7	p=0,773
C _z	-15,4 ± 61,0	-17,8 ± 69,7	p=0,876
M ₁	59,6 ± 63,0	73,5 ± 59,8	p=0,347
M ₂	64,6 ± 59,2	83,5 ± 66,1	p=0,283
<i>Frequency Deviants</i>			
F ₃	-30,2 ± 77,7	-35,8 ± 64,2	p=0,717
F ₄	-30,0 ± 69,3	-35,2 ± 57,8	p=0,694
F _z	-28,2 ± 75,9	-40,9 ± 64,9	p=0,390
C _z	-18,0 ± 70,3	-14,0 ± 56,9	p=0,765
M ₁	21,0 ± 57,1	26,2 ± 68,5	p=0,737
M ₂	17,3 ± 42,4	21,3 ± 50,6	p=0,786

Mittelwerte ± Standardabweichungen der Fläche unter der Kurve der *Duration Deviant*-Potentiale und der *Frequency Deviant*-Potentiale. In der rechten Spalte das Ergebnis des t-Tests für gepaarte Stichproben für den Vergleich zwischen Ketamin und Placebo.

Die Berücksichtigung des Wahrscheinlichkeitseffektes brachte ebenfalls keinen Einfluss der Substanzgabe ($p > 0,5$ für *Treatment*). Hingegen zeigten sich generelle Unterschiede darin, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein *Deviant* aufgetreten war (bei den *Duration Deviants* $p = 0,015$ für *Probability* über den frontozentralen Elektroden, $p > 0,2$ bei den

anderen Berechnungen). Die einzelnen Flächen unter den Kurven in Abhängigkeit von der Wahrscheinlichkeit sind auch in Tabelle 6 (*Duration Deviants*) bzw. Tabelle 7 (*Frequency Deviants*) zu sehen.

Tabelle 6: Wahrscheinlichkeitseffekte bei den *Duration Deviants*

Elektrode / Wahrscheinlichkeit		Fläche unter der Kurve in $\mu\text{V}\cdot\text{ms}$		t-Test für gepaarte Stichproben
		Ketamin	Placebo	
F ₃	33%	-15,6 ± 64,8	-61,0 ± 98,1	p=0,120
	15%	-71,5 ± 123,4	-87,4 ± 135,2	p=0,731
	2,5%	-98,3 ± 105,8	-140,0 ± 138,6	p=0,329
F ₄	33%	-20,0 ± 58,9	-64,2 ± 79,1	p=0,094
	15%	-48,5 ± 107,3	-107,2 ± 150,2	p=0,271
	2,5%	-105,6 ± 113,0	-130,1 ± 120,3	p=0,559
F _z	33%	-31,6 ± 55,0	-68,7 ± 106,6	p=0,231
	15%	-78,0 ± 132,1	-106,6 ± 158,0	p=0,617
	2,5%	-114,5 ± 109,5	-153,0 ± 131,3	p=0,387
C _z	33%	1,8 ± 15,0	-36,5 ± 99,1	p=0,230
	15%	-19,9 ± 151,0	-76,5 ± 138,8	p=0,312
	2,5%	-92,0 ± 129,4	-117,5 ± 160,4	p=0,657
M ₁	33%	71,5 ± 81,2	55,8 ± 91,8	p=0,481
	15%	70,6 ± 123,4	36,9 ± 82,6	p=0,335
	2,5%	37,2 ± 109,8	73,8 ± 154,5	p=0,458
M ₂	33%	86,7 ± 76,7	68,7 ± 100,2	p=0,465
	15%	81,7 ± 111,8	65,2 ± 131,1	p=0,752
	2,5%	36,1 ± 102,1	73,1 ± 125,7	p=0,428

Fläche unter der Kurve der durch die *Duration Deviants* hervorgerufenen Potentiale, aufgeteilt nach den jeweiligen *Deviant*-Wahrscheinlichkeiten. In der rechten Spalte die Ergebnisse des t-Tests für gepaarte Stichproben für den Vergleich zwischen Ketamin und Placebo.

Tabelle 7: Wahrscheinlichkeitseffekte bei den *Frequency Deviants*

Elektrode / Wahrscheinlichkeit		Fläche unter der Kurve in $\mu\text{V}\cdot\text{ms}$		t-Test für gepaarte Stichproben
		Ketamin	Placebo	
F ₃	33%	-23,0 ± 93,5	-46,4 ± 106,8	p=0,277
	15%	-30,7 ± 106,8	-4,4 ± 82,3	p=0,356
	2,5%	-37,7 ± 102,7	-57,1 ± 105,7	p=0,563
F ₄	33%	-20,8 ± 86,5	-34,9 ± 70,7	p=0,462
	15%	-22,3 ± 84,9	-11,8 ± 86,9	p=0,645
	2,5%	-48,8 ± 88,3	-59,6 ± 110,2	p=0,711
F _z	33%	-17,4 ± 100,0	-41,1 ± 79,4	p=0,245
	15%	-24,4 ± 99,9	-17,2 ± 97,1	p=0,799
	2,5%	-44,6 ± 95,3	-65,2 ± 107,8	p=0,514
C _z	33%	-0,3 ± 89,4	-6,1 ± 88,9	p=0,787
	15%	-21,7 ± 87,2	5,9 ± 69,2	p=0,230
	2,5%	-33,8 ± 97,1	43,0 ± 106,8	p=0,783
M ₁	33%	21,3 ± 72,6	7,1 ± 84,8	p=0,462
	15%	-2,0 ± 61,6	38,6 ± 98,9	p=0,194
	2,5%	44,4 ± 115,0	34,3 ± 76,8	p=0,778
M ₂	33%	21,7 ± 53,5	16,5 ± 77,2	p=0,830
	15%	2,9 ± 61,9	23,9 ± 80,0	p=0,323
	2,5%	27,4 ± 79,1	24,1 ± 70,9	p=0,917

Fläche unter der Kurve der durch die *Frequency Deviants* hervorgerufenen Potentiale, aufgeteilt nach den *Deviant*-Wahrscheinlichkeiten. In der rechten Spalte die Ergebnisse des t-Tests für gepaarte Stichproben für den Vergleich zwischen Ketamin und Placebo.

3.1.3. Die Beeinflussung der resultierenden *Mismatch negativity*

Die Kurve, die durch die Subtraktion der Potentialkurven, die durch den Standard und die *Deviants* hervorgerufen wurden, entsteht, gibt die *Mismatch negativity* wieder. Zur Vereinfachung wird die MMN, die durch die Subtraktion des durch einen *Duration Deviant* bzw. einen *Frequency Deviant* hervorgerufenen Potentials von dem durch den Standardton hervorgerufenen Potential entsteht, als *Duration-MMN* bzw. *Frequency-MMN* bezeichnet.

Bei der *Duration-MMN* ergibt sich über den frontozentralen Elektroden kurz nach den Triggersignalen eine schwache Positivierung, der nach ca. 100 ms eine starke Negativierung (N2a) folgt. Erst nach ca. 300 ms kommt es zu einer weiteren Positivierung (P3a), die wesentlich ausgeprägter als die erste ist. Bei der *Frequency-MMN* hingegen bleibt die erste schwache Positivierung aus und auch die Negativierung (N2a) ist nicht so stark wie bei der *Duration-MMN*. Hingegen ist die Positivierung (P3a), die nach ca. 200 ms beginnt und nach ca. 250ms vollkommen ausgeprägt ist, noch stärker als die bei der *Duration-MMN* etwas später einsetzende Positivierung. Der Verlauf über den Mastoiden ist, wie auch aus Abbildung 7 ersichtlich, annähernd spiegelbildlich. Auch wenn hier keine Bestimmung der genauen Amplituden und Latenzen vorgenommen wurde, ist aus der Abbildung erkennbar, dass bei der *Frequency-MMN* eine leichte Amplituden-Abnahme und bei der *Duration-MMN* eine Latenz-Abnahme an der N2-Welle unter Ketamin besteht.

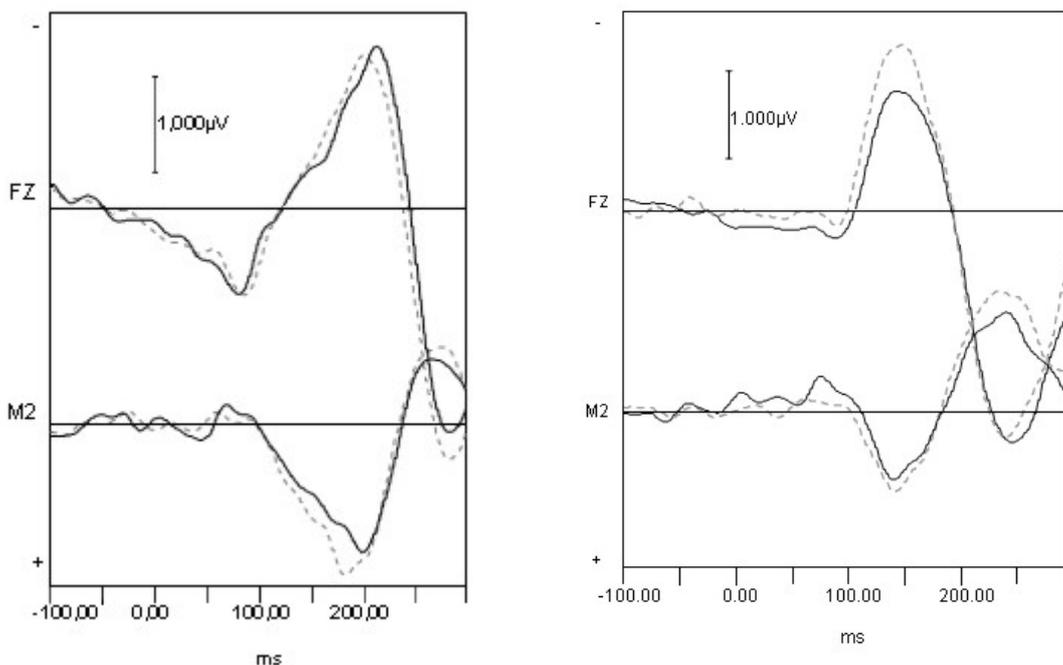


Abbildung 7: *Duration-MMN* (links) und *Frequency-MMN* (rechts) unter Ketamin (schwarz, durchgezogen) und Placebo (grau, gestrichelt) über den Elektroden F_z (oben) und M₂ (unten).

In der ANOVA zeigte sich kein signifikanter Effekt der Gabe von Ketamin, auch unter Berücksichtigung der Dosis ($p > 0,1$ für alle *Mismatch x Treatment*-Interaktionen und *Mismatch x Treatment x Dose*-Interaktionen sowohl bei der *Duration*-MMN als auch bei der *Frequency*-MMN). Die Berücksichtigung der *Deviant*-Wahrscheinlichkeit zeigt ebenfalls keine signifikanten Einflüsse von Ketamin ($p > 0,1$ für alle *Mismatch x Treatment x Probability*-Interaktionen). Auch in den post-hoc durchgeführten t-Tests für gepaarte Stichproben ergaben sich keine signifikanten Unterschiede außer einem Trend hin zu einer verminderten Fläche unter der Kurve unter Ketamin (Tabelle 8).

Tabelle 8: *Mismatch negativity* im Vergleich Ketamin - Placebo

Elektrode	Fläche unter der Kurve ($\mu\text{V}\cdot\text{ms}$)		t-Test für gepaarte Stichproben
	Ketamin	Placebo	
<i>Duration</i> MMN			
F ₃	-71,2 ± 57,9	-88,4 ± 76,9	p=0,363
F ₄	-73,7 ± 59,6	-95,8 ± 76,0	p=0,228
F _z	-78,4 ± 60,7	-102,3 ± 87,6	p=0,243
C _z	-49,4 ± 73,3	-70,0 ± 72,0	p=0,303
M ₁	74,1 ± 61,7	93,4 ± 58,5	p=0,202
M ₂	76,5 ± 57,7	100,9 ± 63,5	p=0,169
<i>Frequency</i> MMN			
F ₃	-69,0 ± 73,3	-89,9 ± 58,6	p=0,221
F ₄	-72,9 ± 69,4	-94,3 ± 55,3	p=0,182
F _z	-75,3 ± 76,0	-107,9 ± 67,2	p=0,064
C _z	-53,6 ± 75,9	-69,6 ± 53,5	p=0,298
M ₁	35,5 ± 58,2	44,5 ± 75,2	p=0,618
M ₂	29,3 ± 42,2	36,0 ± 54,7	p=0,668

Flächen unter den Kurven in $\mu\text{V}\cdot\text{ms}$ für die *Duration* MMN und die *Frequency* MMN. Der t-Test für gepaarte Stichproben gibt das Signifikanzniveau für den Vergleich Ketamin – Placebo wieder.

3.2. Gedächtniskonsolidierung

Die Vorher-Nachher-Vergleiche für das *Mirror Tracing* und das Paar-assozierte Lernen sind in Tabelle 9 aufgeführt. Sowohl beim *Mirror Tracing* als auch beim Paar-assozierten Lernen gibt es signifikante Unterschiede im Vorher-Nachher-Vergleich ($p < 0,001$ für *Pre_post* beim *Mirror Tracing*, $p < 0,05$ für *Pre_post* beim Paar-assozierten Lernen).

Signifikante Behandlungseffekte jedoch zeigen sich nicht ($p > 0,15$ für alle *Treatment* x *Pre_post*-Interaktionen). Ebenso wenig ergibt sich für die oben genannten Parameter ein Einfluss der Dosis ($p > 0,20$ für alle *Treatment* x *Pre_post* x *Dosis*-Interaktionen).

Tabelle 9: Ergebnisse der Konsolidierungs-Tests

Parameter	Ketamin		Placebo	
	vorher	nachher	vorher	nachher
<i>Mirror Tracing</i>				
<i>Error Count</i>	5,8 ± 4,27	4,2 ± 2,65	6,1 ± 4,57	4,4 ± 3,91
<i>Error Time</i>	1,89 ± 1,73	1,29 ± 1,05	1,88 ± 1,52	1,32 ± 1,30
<i>Total Time</i>	62,3 ± 28,56	49,0 ± 14,91	59,3 ± 22,04	46,5 ± 11,89
Paar-assoziertes Lernen				
richtige WP	31,8 ± 4,78	32,4 ± 4,91	29,9 ± 4,40	31,8 ± 3,92

Vorher-Nachher-Vergleiche (Mittelwert ± Standardabweichung) für die kognitiven Tests. Die Angaben für *Error Time* und *Total Time* sind jeweils in Sekunden.

3.3. Eigenschaftswörterliste

Die deskriptive Statistik für die einzelnen Subskalen sowie die Ergebnisse der ANOVA sind in Tabelle 10 bzw. 11 zu finden. In fast allen Subskalen kommt es zu einem Abfall (Aktiviertheit, Konzentriertheit, Extrovertiertheit, Selbstsicherheit und Stimmung) oder zu einem Anstieg (Desaktiviertheit, Müdigkeit, Benommenheit, Introvertiertheit, Ängstlichkeit und Deprimiertheit) der Skalenwerte, lediglich in den Subskalen Erregtheit, Empfindlichkeit, Ärger und Verträumtheit gibt es keine signifikanten Unterschiede im Vorher-Nachher-Vergleich. Bei einigen Subskalen zeigen sich zudem signifikante Unterschiede, entweder nur unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Dosis (Desaktiviertheit, Müdigkeit und Stimmung – hier hat Ketamin nur in der hohen Dosis einen signifikanten Unterschied zu Placebo hervorgerufen) oder in der direkten Interaktion *Pre_Post* x *Treatment*

(Aktiviertheit, Benommenheit, Introvertiertheit und Deprimiertheit – hier zeigen sich signifikante Unterschiede auch in der Betrachtung des Gesamtkollektivs).

Tabelle 10: Subskalenwerte der Eigenschaftswörterliste

Subskala	Ketamin		Placebo	
	Vorher	Nachher	Vorher	Nachher
Aktiviertheit ^{a,d,g}	56,3 ± 31,50	21,7 ± 25,49	59,9 ± 22,48	35,9 ± 26,50
Konzentriertheit ^a	75,0 ± 28,54	39,6 ± 35,94	78,1 ± 27,02	57,3 ± 38,47
Desaktiviertheit ^{a,f}	16,4 ± 27,85	39,8 ± 39,71	5,1 ± 10,26	22,7 ± 30,09
Müdigkeit ^{a,g}	17,9 ± 23,04	60,7 ± 38,86	8,9 ± 18,72	50,0 ± 28,57
Benommenheit ^{a,c,e}	4,2 ± 7,99	36,1 ± 36,63	2,1 ± 6,04	11,1 ± 11,48
Extroviertheit ^a	56,3 ± 20,07	34,7 ± 23,61	63,2 ± 22,49	39,6 ± 28,68
Introvertiertheit ^{a,d,g}	7,0 ± 19,35	20,3 ± 32,56	4,7 ± 15,73	12,5 ± 20,41
Selbstsicherheit ^a	74,2 ± 26,41	53,9 ± 29,13	77,3 ± 21,51	54,7 ± 29,13
Stimmung ^{a,g}	55,9 ± 29,36	39,1 ± 26,47	63,7 ± 26,83	47,3 ± 31,21
Erregtheit	7,1 ± 10,74	7,9 ± 11,21	5,4 ± 9,18	2,5 ± 5,37
Empfindlichkeit	12,5 ± 25,82	10,9 ± 15,73	7,8 ± 19,83	12,5 ± 22,36
Ärger	0,9 ± 0,357	0,9 ± 0,357	1,8 ± 4,88	1,8 ± 4,88
Ängstlichkeit ^b	2,7 ± 7,77	8,0 ± 11,63	1,8 ± 4,88	3,6 ± 6,39
Deprimiertheit ^{b,d,f}	2,2 ± 5,47	6,6 ± 12,61	0,3 ± 1,25	2,2 ± 4,46
Verträumtheit	15,0 ± 15,06	13,8 ± 18,21	6,9 ± 8,73	14,3 ± 18,96

Subskalen-Werte der Eigenschaftswörterliste (Mittelwert ± Standardabweichung) in Prozent des maximal möglichen Wertes. Die hochgestellten Buchstaben an den Subskalenbezeichnungen geben das Signifikanzniveau der ANOVA wieder:

a: $p < 0,001$ für *Pre_post*

b: $p < 0,01$ für *Pre_post*

c: $p < 0,001$ für *Pre_post* x *Treatment*

d: $p < 0,05$ für *Pre_post* x *Treatment*

e: $p < 0,001$ für *Pre_post* x *Treatment* x *Dose*

f: $p < 0,01$ für *Pre_post* x *Treatment* x *Dose*

g: $p < 0,05$ für *Pre_post* x *Treatment* x *Dose*

3.4. Hormonkonzentrationen

Betrachtet man den Verlauf der Hormonkonzentrationen unter Ketamin bzw. Placebo (Abbildung 5, nächste Seite), so zeigt sich, dass unter der hohen Dosis Ketamin ca. eine Stunde nach Beginn der Ketamingabe ein Anstieg der ACTH- und Cortisol-Konzentrationen im Plasma auftritt. Dieser Anstieg findet sich weder unter der niedrigen Dosis Ketamin noch unter Placebo. Hier kommt es entsprechend dem zirkadianen Verlauf der beiden Hormone zu einem Absinken in der ersten Nachthälfte und gegen Ende des Experiments zu einem leichten Anstieg.

In der ANOVA ergibt sich dabei für Cortisol eine signifikante *Treatment x Time*-Interaktion, d.h., dass der Zeitverlauf sehr stark von Ketamin abhängt ($p < 0,001$). Eine ebenfalls hochsignifikante *Treatment x Time x Dose*-Interaktion zeigt an, dass dieser Effekt sich v.a. in der hohen Dosis zeigt ($p < 0,001$). Bei ACTH ist aufgrund der höheren Varianz der Konzentrationen lediglich ein Trend in dieselbe Richtung nachweisbar ($p = 0,096$ für *Treatment x Time*, $p = 0,059$ für *Treatment x Time x Dose*).

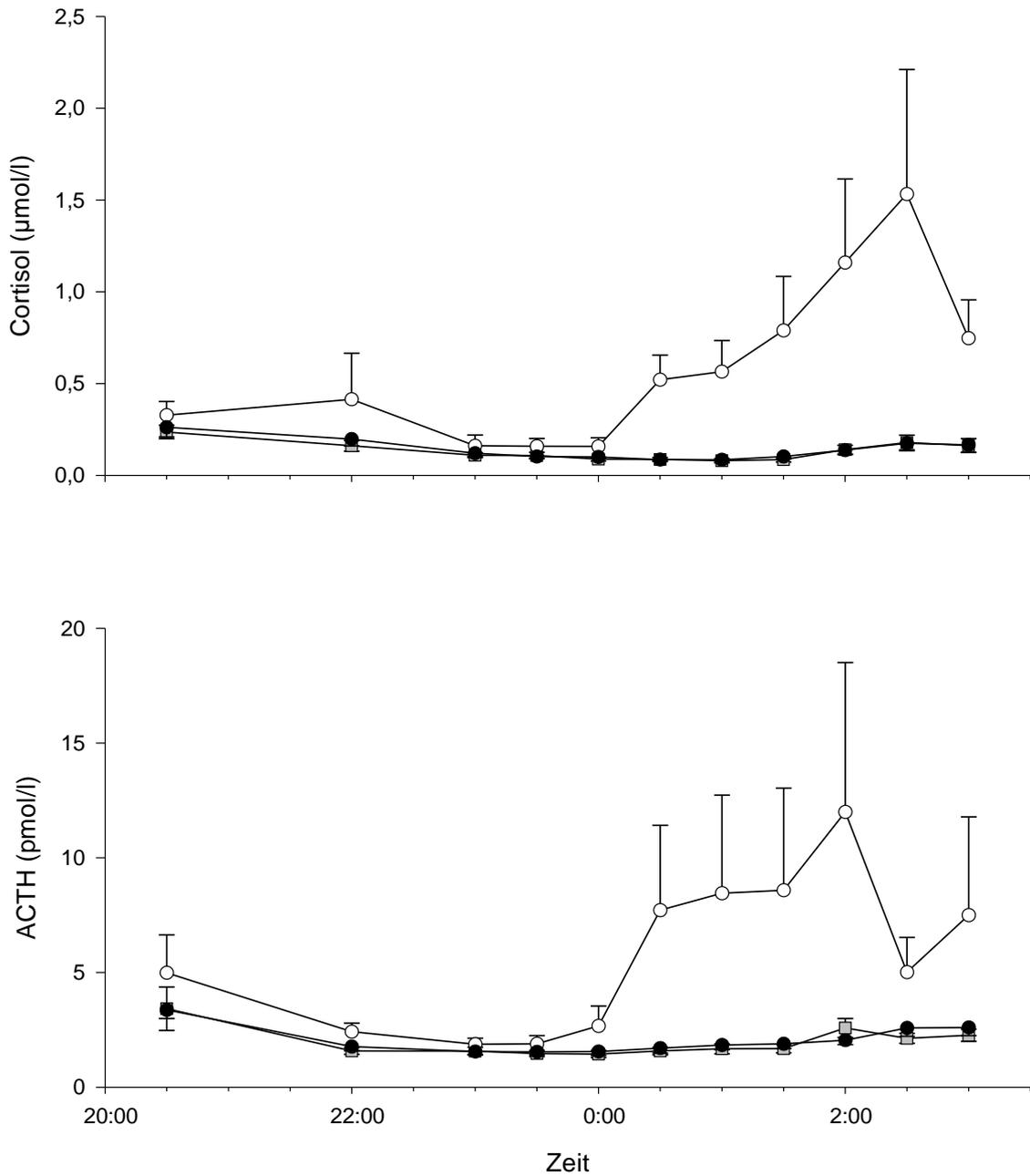


Abbildung 8: Darstellung der Konzentrationsverläufe (Mittelwerte \pm Standardfehler) von ACTH (oben) und Cortisol (unten) unter der hohen Dosis Ketamin (weiße Kreise), unter der niedrigen Dosis Ketamin (schwarze Kreise) und unter Placebo (graue Quadrate).

4. Diskussion

4.1. Die Rolle des NMDA-Rezeptors in der MMN-Encodierung

Der wichtigste Befund der Studie ist, dass unter Ketamin die Fläche unter der Kurve beim Standard-ERP im Vergleich zum Standard-ERP unter Placebogabe signifikant vermindert ist. Diese Beobachtung wurde in vorausgehenden Studien nicht gemacht. Hingegen fand sich im Unterschied zu diesen anderen Studien kein signifikanter Einfluss von Ketamin auf die *Deviant*-ERPs und die *Mismatch negativity*. Dabei erscheint es auf den ersten Blick nicht erklärbar, dass es keine signifikante Änderung der *Mismatch negativity* gab, die ja immerhin die Differenz zwischen dem signifikant veränderten Standard-ERP und dem nicht veränderten *Deviant*-ERP ist. Allerdings sind die Amplituden der *Deviant*-ERPs, wie sich aus den Abbildungen ergibt, wesentlich größer als die des Standard-ERPs, was sich auch auf die Flächen auswirkt, auch wenn hier dieser Einfluss durch das Auftreten negativer Werte etwas verschleiert erscheint. Desweiteren ist die Standardabweichung bei den Flächen unter den Kurven der *Deviant*-ERPs auch wesentlich größer als beim Standard-ERP, diese größere Varianz kann daher auch die fehlende Signifikanz erklären.

Darüber hinaus wurde in dieser Studie lediglich die Fläche unter der Kurve verglichen und nicht andere Maße wie die Amplitude oder die Latenz. Die Fläche unter der Kurve ist für die Beurteilung des Standard-ERPs sicher das geeignetste Maß, weil die unterschiedlichen Gipfel hier zu mehreren Amplituden- und Latenzwerten führen. Es stellt sich aber die Frage, ob bei den *Deviant*-ERPs und bei der MMN nicht die Bestimmung der Amplituden und Latenzen andere Ergebnisse erbracht hätte. Zumindest bei der MMN lassen sich schon bei der Betrachtung der Kurven Einflüsse auf die Amplituden bei den *Frequency*-MMNs und auf die Latenzen bei den *Duration*-MMNs erahnen, ähnliche Ergebnisse sind aus früheren Studien schon bekannt.

Dass der Einfluss von Ketamin auf das Standard-ERP hier zum ersten Mal so gezeigt werden kann, ist durch die neu angewandte Methode des *Roving Standards* mitzuerklären, die die Langzeiteffekte einer ständigen Standard-Wiederholung vermeidet, die bislang diesen Befund in anderen Studien verschleiert haben könnten. Dass die Wiederholung des Standards tatsächlich einen Effekt auf die Ausprägung der evozierten Potentiale hat, konnten wir anhand der ansteigenden Amplitude und der abnehmenden Unterschiede zwischen Ketamin und Placebo in bezug auf die Anzahl der Standard-Wiederholungen zeigen. Der Effekt von Ketamin zeigte sich besonders deutlich bei nur zwei Wiederholungen und war bei 36 Wiederholungen kaum mehr nachzuweisen. Die Beobachtung, dass die Wahr-

scheinlichkeit, mit der ein akustischer Reiz auftritt, in der Tat die zerebrale Reizantwort beeinflusst, ist schon in anderen Studien gemacht worden . Nicht erklärbar ist hiermit allerdings, warum es bei den *Deviant*-Tönen, die ja sogar noch seltener auftreten als der seltenste Standard-Ton, zu keinem Einfluss auf das evozierte Potential kam.

Dieser Befund lässt sich in Beziehung setzen mit der bereits länger bekannten synaptischen Plastizität im NMDA-glutamatergen System. Auch wenn die LTP im klassischen Sinn ein Modell für Korrelate des Lernens von Langzeitgedächtnisinhalten darstellt, ist es bekannt, dass NMDA-Rezeptoren auch in der Codierung von Reizen für das Arbeitsgedächtnis eine wichtige Rolle spielen , ein Befund, der in der jetzigen Untersuchung bestätigt wurde. Besonders wesentlich scheinen NMDA-Rezeptoren dabei gerade in den Anfangsphasen der Encodierung zu sein, während in späteren Phasen der Encodierung die Aufrechterhaltung über andere Rezeptoren erfolgt ist. Ob es sich dabei um Non-NMDA-Rezeptoren handelt wie bei der klassischen LTP, ist noch unklar. Dies könnte auch erklären, warum andere Studien, die wesentlich höhere Ketamin-Dosen untersuchten, eine Beeinflussung der *Deviants* und der MMN fanden . In diesen Studien könnte es zu Interaktionen des Ketamins mit anderen Rezeptoren gekommen sein, die die reine NMDA-Blockade überlagert haben.

Wenn man die MMN als Modell für das echoische Arbeitsgedächtnis sieht, muss man sich vorstellen, dass jeder Ton im Arbeitsgedächtnis zu einer Gedächtnisspur beiträgt. Jeder nachfolgende Ton wird mit dieser Gedächtnisspur verglichen. Falls er mit der Gedächtnisspur übereinstimmt, wird diese Spur verstärkt. Falls er jedoch abweicht, wird ein anderes Potential erzeugt und es zeigt sich die *Mismatch negativity*. In unserem Versuch zeigt sich, dass über den frontozentralen Elektroden die Fläche unter der Kurve mit steigender Anzahl von Standard-Wiederholungen sowohl unter Ketamin als auch unter Placebo zunimmt (Tabelle 4, Seite 29 und Abbildung). Dies könnte die Verstärkung der zentralen Repräsentation der Gedächtnisspur widerspiegeln, die beim auditorischen Gedächtnis im Gyrus temporalis superior vermutet wird . Gerade das Konzept des *Roving Standard* diene dabei der Aufklärung, weil somit die Gedächtnisspur in jedem neuen Block für den Standard neu angelegt wurde und die Einflüsse des NMDA-Rezeptors zeigen konnte.

Zudem konnten wir mit unseren Experimenten weitere Hinweise dafür gewinnen, dass es sich bei der *Mismatch positivity* um ein eigenes, von der MMN weitgehend unabhängiges Phänomen handelt, weil der Effekt von Ketamin auf die Mastoid-Ableitungen

wesentlich schwächer ist. Allerdings muss man bei dieser Vermutung berücksichtigen, dass sich an den übrigen Elektroden, an denen zwar evozierte Potentiale abgeleitet wurden, deren Ergebnisse hier aber nicht dargestellt wurden, auch keine signifikanten Unterschiede ergaben. Dennoch ist die Ableitung von akustisch evozierten Potentialen über den Mastoiden von besonderem Interesse, weil sich hier aufgrund des MMN-Generators im Gyrus temporalis superior auch eine Feldumkehrung der an den frontozentralen Elektroden abgeleiteten Potentiale zeigt, was sich in der deutlichen Positivität der Potentiale niederschlägt. Die Beobachtung eines eigenständigen MMP-Generators wurde zudem auch schon in Studien mit funktionellem MRT (Magnetresonanztomographie) gemacht. Neben dem eigentlichen Generator der *Mismatch negativity*, dem Gyrus temporalis superior, spricht die Eigenständigkeit der *Mismatch positivity* für einen zusätzlichen Generator im Frontalhirn. Dieser Generator scheint anderen Regulationen als der primäre Generator im auditiven Cortex zu unterliegen. So wurde z.B. beobachtet, dass bei schizophrenen Probanden zwar eine Abschwächung der *Mismatch negativity* über den zentrofrontalen Elektroden auftrat, eine Abschwächung der *Mismatch positivity* über dem Mastoid hingegen ausblieb. In einer anderen Studie mit zwei aufeinanderfolgenden ERP-Aufzeichnungsblöcken wurde gezeigt, dass die Amplitude der *Mismatch negativity* im Zeitverlauf zunahm, die der *Mismatch positivity* hingegen abnahm, zudem zeigten sich auch hier Hinweise auf den oben besprochenen Wiederholungseffekt auf das Standard-ERP.

4.2. Gedächtniskonsolidierung

In unserer Studie konnten wir weder beim deklarativen noch beim prozeduralen Lernen eine Beeinflussung der Konsolidierung durch die zwischenzeitliche Gabe von Ketamin feststellen. Dieses Ergebnis ist zu erwarten, wenn man bedenkt, dass NMDA-Rezeptoren für die Initiierung der LTP und nicht mehr für ihre Aufrechterhaltung benötigt werden. Der Einfluss von Ketamin auf das deklarative Lernen wurde schon in mehreren Studien untersucht. Trotz unterschiedlicher Designs, unterschiedlicher Tests und teilweise wesentlich höherer Dosen fand sich in all diesen Studien keine Beeinflussung der Wissensverarbeitung, sondern nur der Wissensaufnahme durch Ketamin. Lediglich in einer Studie wurde ein entgegengesetzter Befund gemacht, allerdings berichten die Autoren über Befindlichkeitsstörungen von Probanden, die bei allen die Gabe von Benzodiazepinen notwendig machten, was die Ergebnisse wesentlich beeinflusst haben könnte.

Die Beeinflussung des prozeduralen Lernens durch Ketamin wurde bislang noch nicht untersucht. Jedoch fanden sich bei schizophrenen Patienten, bei denen eine Unterfunktion der NMDA-Rezeptoren vermutet wird, keine signifikanten Verschlechterungen in der Ausführung von Tests für das prozedurale Gedächtnis im Vergleich mit gesunden Probanden, so dass sich vermuten lässt, dass der NMDA-Rezeptor beim prozeduralen Lernen keine bedeutende Rolle spielt.

4.3. Befindlichkeitsstörungen

Unter Ketamin kommt es zu Veränderungen in der Befindlichkeit, die sich mit Hilfe der EWL von uns objektiv zeigen ließen, die aber nach den Versuchen teilweise auch von den Probanden berichtet wurden. Gerade Probanden, die die hohe Dosis erhalten hatten, berichteten von Bewusstseinsveränderungen und –einschränkungen, die zum Teil mit dem Genuss größerer Mengen Alkohols verglichen wurden. Bei einigen Probanden kam es zudem sogar zu Halluzinationen, nach so starken Reaktionen wurden ihre Daten aber nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Diese Beobachtungen schlagen sich auch deutlich in den Ergebnissen der Eigenschaftswortliste nieder, wo es in wichtigen Skalen wie Aktiviertheit, Desaktiviertheit und besonders Benommenheit zu signifikanten, dosisabhängigen Veränderungen durch die Gabe von Ketamin gekommen ist, die sich nicht alleine durch die fortgeschrittene Stunde bei der zweiten Abfrage erklären lassen, da sie sich sonst auch in der Placebogruppe zeigen würden. Dass diese Veränderungen durch Ketamin hervorgerufen werden, steht also außer Frage. Allerdings lässt sich nicht sicher sagen, ob sie wirklich durch eine Blockade der NMDA-Rezeptoren hervorgerufen werden oder durch Interaktion des Ketamins mit anderen Rezeptoren, wie z.B. dem κ -Opiatrezeptor, der laut einer Studie von Hustveit et al. zumindest mitverursachend für psychomimetische Wirkungen von Ketamin sein soll, weil sich diese Symptomatik auch mit κ -spezifischen Antagonisten aufheben ließ. Allerdings zeigen historische Versuche mit anderen NMDA-Antagonisten wie z.B. Phencyclidin, die keinen signifikanten Antagonismus an Opioid-Rezeptoren haben, ähnliche psychomimetische Wirkungen, so dass die beobachteten Effekte sicher zu einem großen Teil durch die direkte Blockade des NMDA-Rezeptors zu erklären sind.

4.4. Hormonantwort

Wie unsere Ergebnisse zeigen, kommt es unter Ketamin zu einem für die Tageszeit unphysiologisch hohen Anstieg sowohl von ACTH als auch von Cortisol. Dies entspricht bisherigen klinischen und experimentellen Beobachtungen, zumindest denen, die *in vivo* beim Menschen gemacht wurden. Dieser Effekt ist von der Dosis abhängig, denn die Veränderungen in den Hormonkonzentrationen sind nur unter der hohen Dosis aufgetreten, während sich unter den niedrigen Dosierungen kein nennenswerter Unterschied zur Placebobedingung ergibt.

Die Frage stellt sich, ob die Gabe von Ketamin *per se* diese Veränderungen auslöst, oder ob die Hormonausschüttung nur indirekt durch Ketamin angeregt wird, indem die durch Ketamin verursachten Befindlichkeitsstörungen zu einer allgemeinen Stressantwort führen. Tierversuche haben gezeigt, dass nicht die Blockade, sondern die Stimulation von NMDA-Rezeptoren die HPA-Achse anregt. Ebenfalls wurde in Tierversuchen herausgefunden, dass unter einer Blockade von NMDA-Rezeptoren unterschiedliche Stressoren nicht zu einer Cortisol-Ausschüttung führen. Demnach könnte auch in unseren Versuchen eine direkte Stimulation der HPA-Achse durch NMDA-Blockade eher nicht in Frage kommen und der beobachtete Anstieg der Cortisol- und ACTH-Konzentrationen auch mittelbar verursacht worden sein, indem die durch Ketamin ausgelösten Befindlichkeitsstörungen eine allgemeine Stressantwort getriggert haben.

Der Vergleich der Hormonantworten auf Ketamin und den NMDA-Antagonisten Memantin in einer vorherigen Studie spricht auch für eine nur mittelbare Aktivierung der HPA-Achse durch Ketamin im Sinne einer allgemeinen Stressantwort. Ketamin (0,5 mg/kg KG) führte hier zum Anstieg von Cortisol und Prolactin im Serum, Memantin in einer Dosis von 0,16 mg/kg KG hingegen nicht. Weitergehende Untersuchungen der psychomimetischen Wirkung wurden nicht getätigt, das Ergebnis könnte jedoch implizieren, dass eine Blockade des NMDA-Rezeptors alleine noch nicht ausreicht, um diese Hormonantwort hervorzurufen, sondern dass diese zusätzlich durch psychomimetische oder, wie von Hergovich postuliert, durch die sympathomimetische Wirkung von Ketamin unterstützt werden. Allerdings bleibt ungeklärt, inwiefern Memantin in dieser Dosierung den NMDA-Rezeptor genau so blockiert wie Ketamin.

In zwei weiteren Studien wurden interaktive Effekte von Lorazepam und Haloperidol auf unterschiedlichste Ketamin-Wirkungen untersucht. Auch hier fand sich eine erhöhte

Aktivierung der HPA-Achse durch alle drei Substanzen, am deutlichsten jedoch durch Ketamin allein. Durch gleichzeitige Gabe von Lorazepam bzw. Haloperidol konnten sicherlich einige Befindlichkeitsstörungen, die unter Ketamin allein auftreten, abgemildert werden. Allerdings ist es dadurch noch schwieriger sich auf eine Ursache für die Aktivierung der HPA-Achse festzulegen, da die Interaktion zwischen den jeweiligen Medikamenten über teilweise noch unbekannte Aktivierungsmechanismen die Sekretion von ACTH und Cortisol fördern oder hemmen kann.

Messungen und Untersuchungen zur HPA-Achse bei schizophrenen Patienten, die vermutlich eine generelle Unterfunktion des NMDA-Systems haben, haben gezeigt, dass auch hier erhöhte Cortisol-Konzentrationen sowie eine verstärkte Aktivierung der HPA-Achse vorhanden sind. Dies stärkt daher eher die Hypothese, dass auch eine unmittelbare Blockade des NMDA-Systems, ohne sonstige Auslöser wie Stress, eine Aktivierung der HPA-Achse hervorruft.

4.5. Zusammenfassende Betrachtungen

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Encodierung von akustischen Reizen, aber nicht die Konsolidierung von Gedächtnisinhalten im Langzeitgedächtnis durch die Gabe des NMDA-Antagonisten Ketamin stark beeinflusst wird und dass dieser Effekt auf die Encodierung von der gegebenen Dosis abhängt. Ebenso wurden v.a. unter der hohen Dosis Ketamin starke Befindlichkeitsstörungen sowie hohe Konzentrationen der HPA-Achsen-Hormone ACTH und Cortisol gemessen. Die Frage stellt sich nun, ob der Hauptbefund, nämlich die verschlechterte Encodierung des echoischen Gedächtnisses, von den anderen Nebenergebnissen wie erhöhter neuroendokriner Aktivität und Befindlichkeitsstörungen mit beeinflusst werden kann, d.h., inwiefern diese als Störfaktoren die Encodierung im echoischen Gedächtnis beeinflussen könnten.

Befindlichkeits- und Aufmerksamkeitsstörungen als rein psychisches Korrelat lassen sich zunächst schwer mit akustisch evozierten Potentialen als physikalisch gemessene Aktivität in Beziehung setzen. Dennoch ist seit längerem bekannt, dass akustisch evozierte Potentiale auch durch die Befindlichkeit beeinflusst werden, und auch wenn die MMN relativ stabil gegenüber Aufmerksamkeitseffekten ist, kann vielleicht nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass es v.a. unter den hohen Ketamindosen auch zu Veränderungen an den akustisch evozierten Potentialen kam, weil die Probanden in ihrem Wohlbefinden gestört waren. Auch wenn in der aktuellen Studie die MMN unter Ketamin

lediglich im Trend von der MMN unter Placebo unterschiedlich war und die Einflüsse hauptsächlich am Standard-Potential gezeigt wurde, stellt sich die Frage, inwieweit bei anderen Studien, in denen wesentlich höheren Ketamindosen gegeben wurden, stärkere Einflüsse auf die MMN auch durch die Bewusstseinsveränderungen des Medikaments hervorgerufen wurden. Wenn es bereits bei Dosen von $0,25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bei einigen Probanden zu Halluzinationen gekommen ist, müssen die höheren Dosen vorhergehender Studien zu sogar noch schwerwiegenderen Bewusstseinsstörungen bis hin zur Bewusstlosigkeit geführt haben, was die MMN-Generierung entsprechend beeinflusst haben könnte.

Auch von den Hormonen der HPA-Achse ist es bekannt, dass sie teilweise die Generierung akustisch evozierter Potentiale beeinflussen können. In diesen Studien zeigte sich der Einfluss auch v.a. auf die *Mismatch negativity*, allerdings wurde auch hier das *Roving standard*-Modell nicht verwendet, so dass ein direkter Vergleich nicht möglich ist. Dennoch lässt sich auch nicht ausschließen, dass die Aktivierung der HPA-Achse auch in der aktuellen Studie die MMN beeinflusst haben könnte.

5. Zusammenfassung

Die *Mismatch negativity* (MMN) ist seit mehreren Jahren als Parameter zur Erfassung des echoischen Arbeitsgedächtnisses in Gebrauch. Zur Erzeugung der MMN werden akustisch evozierte Potentiale gemessen; dabei weichen mehrere Töne in einer Sequenz von Standardtönen in einer bestimmten Tonqualität ab und das dabei resultierende evozierte Potential wird vom Potential nach einem Standardton abgezogen. Es wurde schon lange vermutet, dass der NMDA-Rezeptor eine wichtige Rolle bei der Generierung der *Mismatch negativity* spielt. In der aktuellen Studie soll untersucht werden, inwiefern er zur Encodierung des echoischen Gedächtnisses beiträgt.

22 gesunde, männliche Probanden nahmen an einem randomisierten, placebokontrollierten, doppelblinden Versuch teil, von denen 16 den Versuch beendeten und in die statistische Auswertung übernommen wurden. In einer Versuchsnacht erhielten sie Ketamin in einer Dosis von 0,25 mg/kg KG/h (n=6) oder 0,083 mg/kg KG/h (n=10), in einer weiteren Versuchsnacht Placebo, und es wurden während der Infusion akustisch evozierte Potentiale mit wechselnden Standardtönen aufgezeichnet. Außerdem wurde das deklarative Lernen mittels Paar-assozierten Lernens sowie das prozedurale Lernen mittels Spiegelzeichen überprüft. Die aktuelle Befindlichkeit vor und nach der Substanzgabe wurde mittels der Eigenschaftswörterliste abgefragt. Zur Messung der Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) wurden die Plasmakonzentrationen von ACTH und Cortisol gemessen. Bei der Auswertung wurde der dosisabhängige Einfluss von Ketamin auf die Fläche unter der Kurve der evozierten Potentiale, auf die Tests zur Gedächtniskonsolidierung, auf die EWL-N-Subskalen und auf die Hormonkonzentrationen untersucht.

Unter Ketamin zeigte sich eine deutliche Verminderung der Fläche unter der Kurve des durch einen Standardton hervorgerufenen evozierten Potentials im Vergleich zu Placebo. Die Potentiale auf abweichende Töne und die resultierende *Mismatch negativity* hingegen wurden nicht beeinflusst. Der beobachtete Effekt zeigte sich besonders deutlich nach nur wenigen Wiederholungen des Standards, während viele Wiederholungen des Standards zu einer Angleichung der Standard-Potentiale zwischen Ketamin und Placebo führten. Die Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses hingegen wurde durch Ketamin im Vergleich zu Placebo nicht wesentlich beeinflusst. Desweiteren beobachteten wir unter der hohen Dosis Ketamin einen starken Anstieg der Cortisol- und ACTH-Konzentrationen. Die EWL-N zeigte in mehreren Subskalen eine durch Ketamin hervorgerufene Veränderung.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Encodierung von Stimuli in das Kurzzeitgedächtnis v.a. bei wenigen präsentierten Standardtönen durch Ketamin beeinflusst wird, was darauf hinweist, dass Ketamin eher Einfluss auf die Initiierung dieser Encodierung hat. Spätere Phasen der Encodierung sowie die Konsolidierung werden hingegen nicht beeinflusst. Die gleichzeitig beobachteten Befindlichkeitsstörungen und die starke Aktivierung der HPA-Achse allerdings könnten die Beobachtungen ebenfalls erklären.

Anhang
A. Literaturverzeichnis

B. Übersicht über die verwendeten Abkürzungen

ACTH	adrenocorticotropes Hormon
AEP	Akustisch evozierte Potenziale
AMPA	2-Amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl-)propionat
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale
BSR	Bizepssehnenreflex
BMI	Body Mass Index
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EOG	Elektrookulogramm
EWL-N	Eigenschaftswortliste, normale Version
FAEP	frühe akustisch evozierte Potenziale
FPI-R	Freiburger Persönlichkeits-Inventar
GABA	Gamma-Amino-Butyric-Acid (γ -Amino-Buttersäure)
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ -GT	γ -Glutaryl-Transferase
HPA-Achse	Hypothalamo-Pituitary-Adrenal-Axis (Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse)
MAEP	mittlere akustisch evozierte Potenziale
mg/kg KG/h	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Stunde
MMN	Mismatch negativity
MMP	(mastoid) mismatch positivity
MT	mirror tracing (Spiegelzeichnen)
NMDA	N-methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
PAL	paar-assoziertes Lernen
PSR	Patellarsehnenreflex
RR	Blutdruckmessung nach Riva-Rocci
SAEP	späte akustisch evozierte Potenziale
SCL-90-R	Symptom Check List

TSH

Thyroidea-stimulierendes Hormon

C. Danksagung

Mein erster Dank gilt natürlich den Mitgliedern der Klinischen Forschergruppe Neuroendokrinologie an der Medizinischen Klinik I, jetzt Institut für Neuroendokrinologie, allen voran meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. soc. Jan Born für die Betreuung meiner Doktorarbeit. Desweiteren danke ich Herrn Dr. med. Rüdiger Smolnik für die ärztliche Überwachung der Studie und Herrn Dr. ing. Matthias Mölle für die technische Organisation der EEG-Versuche. Herrn Dr. med. Torsten Baldeweg am Institute for Child Health in London danke ich für die Mithilfe bei der Auswertung der EEG-Daten und für die nette und freundliche Unterstützung während meines dortigen Aufenthalts. Ich danke Herrn Dipl.-Psych. Stefan Fischer dafür, dass er die psychologische Befragung meiner Probanden übernommen hat, Herrn Dipl.-Psych. Steffen Gais für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten. Herrn Dipl.-Psych. Manfred Hallschmid schließlich kommt mein ganz besonderer Dank zu für Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit und für die Einführung in die Literatur-Recherche. Herrn Dipl.-Oec.troph. Christian Benedict danke ich für seine hilfreichen Korrekturvorschläge.

Ebenso möchte ich dem nichtwissenschaftlichen Personal danken, Frau Anja Otterbein für die praktische Organisation, Frau Katja Trompf für die anfängliche Unterstützung bei den EEGs, Frau Christiane Otten und Frau Heidi Ruf für die laborchemische Auswertung der Blutproben.

Ein ganz großes Dankeschön an meine Probanden, ohne die natürlich die gesamte Arbeit nicht geklappt hätte. Außerdem möchte ich bei meinen Mitdoktoranden bedanken, die mit mir zusammen so manches organisatorisches Problem lösen konnten, insbesondere bei Maike Hansmann, Anna-Lisa Ehlers, Cornelia Wulff, Julia Schulte-Hengesbach, Alexander Krapalis, Boris Scharf, Markus Herms und Kay Helms.

Herrn Christoph Vogel, Student der Pharmazie aus Heidelberg, bin ich sehr dankbar für seine Unterstützung von pharmakologischer Seite; er versorgte mich mit Literatur über den NMDA-Rezeptor und über Ketamin. Für die anfängliche Mithilfe und Unterstützung bei den Versuchen danke ich auch Herrn Volker Bartz.

Zum Schluss möchte ich aber auch meiner Familie bedanken, die mir das Medizinstudium überhaupt möglich gemacht hat, vor allem bei meinen Eltern, Heinz und Ursula Merl, aber auch bei Frau Dr. med. Barbara Roeser-Liebeck und Frau Dr. iur. Ria Kemper, sowie sämtlichen anderen Verwandten, die mich während meines Studiums finanziell und ideell unterstützt haben.

D. Lebenslauf

Name	Volker Merl
Anschrift	Große Burgstraße 42 23552 Lübeck
Geburtsdatum und –ort	21.12.1976 in Göttingen
Staatsangehörigkeit	deutsch
Bekenntnis	römisch-katholisch
Familienstand	ledig
Schulbildung	1983-1984 Grundschule Habichtswald in Ehlen, Kr. Kassel 1984-1987 Grund- und Hauptschule am Westwall in Korbach, Kr. Waldeck-Frankenberg 1987-1996 Gymnasium Alte Landesschule in Korbach Frühjahr 1996 Abitur
Studium	1996-2003 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität zu Lübeck, jetzt Universität zu Lübeck Herbst 1998 Physikum Herbst 1999 Erstes Staatsexamen Frühjahr 2002 Zweites Staatsexamen Praktisches Jahr in der Medizinischen Klinik I und in der Klinik für Dermatologie und Venerologie am Universitätsklinikum Lü- beck sowie in der chirurgischen Abteilung der Ostholsteinklinik Eutin Frühjahr 2003 Drittes Staatsexamen
Beruf	Juni 2003 – März 2004 Arzt im Praktikum, Medizinische Klinik I, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Prof. Dr. H.-L. Fehm (Klinische Forschung PD Dr. B. Schultes) Seit März 2004 Arzt im Praktikum, Klinik für Dermatologie und Venerologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Prof. Dr. H. H. Wolff und Prof. Dr. D. Zillikens

