



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Veränderungen der Proteinexpression im Rattenhirn nach
Lachgasinhalation im Zeitverlauf**

Autor: Benjamin Groß
Klinik: Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin
Doktorvater: Prof. Dr. K. F. Waschke

Hintergrund

Lachgas (N_2O) findet in der Medizin schon seit über 150 Jahren Verwendung in der Schmerzbekämpfung. Seitdem ist der Erfahrungsschatz über die klinischen Auswirkungen von Lachgas stetig gewachsen, ohne dass der genaue Wirkmechanismus von Lachgas aufgeklärt oder die Konsequenzen der Lachgasapplikation auf zellulärer Ebene bekannt wären.

Die vorliegende Arbeit untersucht, in welchem Ausmaß Veränderungen auf der molekularen Ebene der Proteinexpression nach einer dreistündigen Lachgasinhalation im Gehirn der Ratte vorhanden sind, ob sich Veränderungen in der Proteinexpression über einen längeren Zeitraum hinaus nachweisen lassen und ob in verschiedenen Hirnregionen ein unterschiedliches Expressionsmuster nachzuweisen ist.

Material und Methodik

Norwegische Wanderratten wurden entweder mit Raumluft oder einem Lachgas/Sauerstoffgemisch ($75\%N_2O/25\%O_2$) für drei Stunden behandelt. Cerebrale Strukturen (Cortex und Hippokampus) wurden entweder direkt nach Lachgasapplikation oder nach einem Intervall von 72 Stunden entnommen (Gruppeneinteilung dementsprechend *Kontrolle*, *Hippokampus 3h*, *Hippokampus 72h*, *Cortex 3h* und *Cortex 72h*). Mittels zweidimensionaler Gelelektrophorese (2-DE) wurden die cerebralen Proteine aufgetrennt. Der computergestützte Vergleich zwischen dem Proteom der mit Lachgas behandelten Tiere und der Kontrollgruppe zeigte die Veränderungen der Expression von bestimmten cerebralen Proteinen. Die Daten wurden mittels Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur für multiple Testungen ausgewertet. Die statistische Signifikanzgrenze wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Die differenziell regulierten Proteine wurden anschließend mittels Massenspektrometrie (MS) identifiziert.

Ergebnisse

Mehr als 1500 Proteinansammlungen (Spots) konnten pro Gel detektiert werden. Das geforderte Signifikanzniveau von $p < 0,05$ und einem Induktionsfaktor $< 0,5$ oder > 2 erfüllten insgesamt 57 Spots in allen vier Interventionsgruppen. Die detektierten Veränderungen der Proteinexpression, ausgedrückt in Induktionsfaktoren, reichten von 0,06 (Erniedrigung auf 6% des Ausgangswertes) bis zu 4,13 (Erhöhung auf 413%). In der Gruppe *Hippokampus 3h* zeigten 19 Spots einen erniedrigten und 6 Spots einen gesteigerten Induktionsfaktor. In Gruppe *Hippokampus 72h* waren 15 Spots in ihrer Intensität erniedrigt und 6 erhöht. In Gruppe *Cortex 3h* waren lediglich 3 Spots erniedrigt und 2 erhöht. In Gruppe *Cortex 72h* waren 4 Spots erniedrigt und 2 erhöht. Mittels MALDI-TOF-MS konnten aus diesen Spots 31 Proteine identifiziert werden. Die regulierten und mittels MS sequenzierten Proteine zeigen Zusammengehörigkeiten zu bestimmten Funktionsgruppen, wie Energiemetabolismus, Aminosäure- und Proteinmetabolismus, zelluläre Detoxifikation, Zellzykluskontrolle und Neurotransmission.

Schlussfolgerungen

- (1) Eine Behandlung mit N_2O induziert zahlreiche Veränderungen der Proteinexpression im Gehirn der Ratte, die mit Hilfe der differenziellen Proteomanalyse (2-DE und MS) registriert werden konnten.
- (2) Diese in ihrer Expression veränderten Proteine konnten in verschiedene cyto-funktionelle Gruppen eingeteilt werden.
- (3) Die von N_2O induzierten Veränderungen sind in verschiedenen Hirnarealen wie dem Hippokampus und dem Cortex unterschiedlich stark ausgeprägt.
- (4) Die Regulation der Proteinexpression war teilweise noch 72 Stunden nach der Applikation von Lachgas nachweisbar.