

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....IV

Tabellenverzeichnis.....VII

Abbildungsverzeichnis.....VIII

1. **Einleitung** 1

1.1. Neuropathische Schmerzen..... 2

1.1.1. Allgemeines..... 2

1.1.2. Das nozizeptive System..... 2

1.1.3. Epidemiologie..... 6

1.1.4. Diagnostik..... 6

1.1.5. Therapie 8

1.2. Pathomechanismen neuropathischer Schmerz.....10

1.2.1. Periphere Sensibilisierung..... 10

1.2.2. Zentrale Sensibilisierung 12

1.2.3. Spinale *Gap junctions* 15

1.2.4. Expressionsmodulation von Connexin 43 17

1.3. Mikro RNA als mögliche Therapieoption neuropathischer Schmerzen.....18

1.3.1. Allgemeines zur mikro RNA (miR) 18

1.3.2. Klinischer Einsatz von mikro RNA..... 22

1.3.3. Mikro RNA 1 22

1.4. Ziele der Arbeit.....24

2. **Material und Methoden**.....25

2.1. Geräte und Verbrauchsmaterialien.....25

2.2. Chemikalien, Reagenzien und Medien.....26

2.3. Materialien für den Tierversuch.....27

2.4. Puffer.....27

2.5. Kits.....28

2.6. Antikörper und Zelllinie.....29

2.7. Substanzen für cDNA Synthese und quantitative *Real-Time*-PCR.....29

2.8. miR-1-mimetische Nukleotide.....29

2.9.	Versuchstiere.....	30
2.10.	Etablierung eines miRNA-1-mimetischen Nukleotids <i>in vitro</i>	31
2.10.1.	Transfektion von U87-Zellen mit miRNA-1-Mimic und iFECT™.....	31
2.10.1.1	Vorbereitung des miRNA-Mimic.....	31
2.10.1.2	Vorbereitung der Zellkultur	32
2.10.1.3	Transfektion	32
2.10.2	RNA-Isolierung.....	34
2.10.2.1	RNA-Isolierung mit Trizol ®	34
2.10.2.2	Konzentrationsbestimmung der RNA	34
2.10.3	Reverse Transkription der miR-1 (cDNA-Synthese)	35
2.10.4	Die quantitative Real-Time-Polymerase Kettenreaktion.....	36
2.10.5	Western Blot Analyse.....	38
2.10.5.1	Vorbereitung der Proben	38
2.10.5.2	Gelelektrophorese	39
2.10.5.3	Transfer der Proteine aus dem Gel auf eine Membran	39
2.10.5.4	Immundetektion mit spezifischen Antikörpern	40
2.11	Etablierung eines miRNA-1-mimetischen Nukleotids <i>in vivo</i>	41
2.11.1.	Induktion einer Neuropathie nach dem Modell von Bennett und Xie „Chronic Constriction Injury (CCI)“	41
2.11.2.	Intraneurale Injektion von miR-1-Mimics bzw. miR- Antagonisten.....	42
2.11.3.	Gewebeentnahme nach Versuchsende	43
2.11.4.	Bestimmung der Mechanischen Allodynie	44
2.11.5.	Dreimalige Intraneurale Applikation von miR-1-Mimics	46
2.12	Statistische Analyse und graphische Darstellung	47
3.	Ergebnisse	48
3.1.	Transfektion von U87-Zellen mit miR-1-Mimics und iFECT™	48
3.1.1.	Expression von miR-1 in U87-Zellen	48
3.1.2.	Expression von Connexin 43 in U87-Zellen.....	50
3.2.	Intraneurale Applikation von miR-1-Mimics.....	53
3.2.1.	Expression von miR-1 im Nervengewebe	53
3.2.2.	Expression von Connexin 43 im Nervengewebe.....	54
3.2.3.	Bestimmung der mechanischen Allodynie.....	54

4.	Diskussion	56
4.1.	Diskussion der Methodik.....	56
4.1.1.	Tiermodell und <i>Chronic Constriction Injury</i> -Methode	56
4.1.2.	Intraneurale Injektionsform	57
4.1.3.	Verhaltenstestung.....	58
4.1.4.	Versuchsablauf	59
4.1.5.	Mikro RNA-mimetische Nukleotide	60
4.2.	Diskussion der Ergebnisse.....	61
4.2.1.	Einfluss von mikro RNA-1 auf die Expression von Connexin 43.....	61
4.2.2.	Einfluss von mikro RNA-1 auf neuropathische Symptome	64
4.2.3.	Schlussfolgerung und Ausblick.....	65
5.	Zusammenfassung	67
6.	Summary	69
7.	Literaturverzeichnis	71
8.	Erklärung zur Einreichung der Dissertation	91
9.	Danksagung.....	92