

## Berichterstattung Auslandspraktikum

Zu Beginn meines Praktikums wurde ich von meinem betreuenden Professor, Prof. R., herzlich empfangen. Er führte mich über das Gelände der Universitat de València, stellte mir die Laborräume und Arbeitsplätze vor und integrierte mich direkt in das Team, indem er mich allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe persönlich vorstellte. Die Atmosphäre war von Anfang an offen, respektvoll und unterstützend, wodurch ich mich sofort willkommen fühlte. In den ersten Tagen lernte ich die regelmäßig verwendeten Geräte und Chemikalien kennen. Die Handhabung wurde mir praxisnah von Prof. R. und meiner Betreuerin, Dr. A. , demonstriert. Zusätzlich arbeitete ich mit einer spanischen Studentin zusammen, was mir den Einstieg in die fachspezifische Labor-Kommunikation auf Spanisch sehr erleichterte. Dank meiner guten Spanischkenntnisse konnte ich mich rasch einarbeiten und verstständigen. Fragen wurden mir jederzeit offen beantwortet, und ich wurde stets dazu ermutigt, aktiv mitzuarbeiten und mitzudenken.

Zu meinen Aufgaben gehörte unter anderem:

- das präzise Pipettieren und die Durchführung grundlegender molekularbiologischer Techniken wie PCR,
- die Homogenisierung von Pankreasproben und deren Lagerung bei –80 °C,
- Immunoassays zur Detektion spezifischer Proteine,
- Anwendung und Auswertung des Western Blots,
- sowie Verfahren zum Nachweis von Ferroptose im Kontext der Pankreatitis.

Im Verlauf des Praktikums war ich intensiv in ein aktuelles Forschungsprojekt eingebunden, das sich mit der Rolle des Enzyms ACOD1 (auch IRG1) bei der Regulation von Entzündungsprozessen und Redox-Signalisierung im Zusammenhang mit der akuten Pankreatitis befasste. Diese Erkrankung ist eine potenziell lebensbedrohliche Entzündung der Bauchspeicheldrüse, für die es bisher keine spezifisch wirksame Therapie gibt. ACOD1 ist ein Enzym, das insbesondere in aktivierten Makrophagen exprimiert wird. Es katalysiert die Umwandlung von cis-Aconitat – einem Zwischenprodukt des Citratsäurezyklus – zu Itaconat, einem Metaboliten mit ausgeprägten entzündungshemmenden und immunmodulatorischen Eigenschaften. Itaconat moduliert unter anderem die Makrophagenaktivierung, hemmt entzündungsfördernde Signale und reduziert oxidativen Stress. Die Untersuchung dieser Mechanismen im Kontext der akuten Pankreatitis kann somit zur Entwicklung neuer therapeutischer Strategien beitragen. Ich arbeitete aktiv an der Entnahme und Handhabung von Pankreasgewebeproben von Wildtyp- und ACOD1-Knockout-Mäusen, bei denen eine akute Pankreatitis experimentell durch intraperitoneale Injektion von Cerulein – einem Cholecystokinin-Analogon – ausgelöst wurde. Dieses Verfahren wurde ausschließlich von geschultem und autorisiertem Fachpersonal durchgeführt und erfolgte unter Einhaltung der europäischen Richtlinie 2010/63/EU sowie der spanischen Gesetzgebung (RD 53/2013) zum Schutz von Versuchstieren.

Dabei wurden auch Vergleiche zwischen normalgewichtigen (lean) und übergewichtigen (obese) Tieren angestellt. Die übergewichtigen Tiere erhielten vorab eine sogenannte High-Fat-Diet, um ein adipöses Modell zu erzeugen, das metabolische Veränderungen wie sie beim Menschen mit Adipositas auftreten, widerspiegelt.

Meine Aufgabe war es, die entnommenen Gewebeproben sofort durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff für spätere Analysen zu konservieren. Im Anschluss führte ich RNA-Extraktionen durch und wertete die Expression proinflammatorischer Zytokine (Tnf- $\alpha$ , Il-6, Il-1 $\beta$ ) mittels RT-qPCR mit TaqMan-Sonden aus. Ich analysierte außerdem Gene des NRF2-Signalwegs (z. B. Nqo1, Ho-1, Sod1, Sod2), die mit antioxidativen Mechanismen assoziiert sind. Einen weiteren Schwerpunkt bildete die Analyse der Ferroptose, einer Form des regulierten Zelltods, die durch gestörten Eisenstoffwechsel und Lipidperoxidation gekennzeichnet ist. In diesem Zusammenhang führte ich Lipidextraktionen durch und quantifizierte Malondialdehyd (MDA), ein anerkanntes Endprodukt der Lipidperoxidation und etablierter Marker für Ferroptose. Darüber hinaus arbeitete ich an der Western-Blot-Analyse, mit deren Hilfe die Expression ferroptose-assoziierter Proteine bestimmt wurde. Hierbei erstellte ich u. a. eine Standardkurve mittels BCA-Tests, berechnete die erforderlichen Konzentrationen und bereitete die Proben eigenständig vor. Anschließend wurden die Proteine denaturiert, aufgetrennt und auf eine Membran übertragen. Während der Laufzeit des Gels übernahm ich parallel allgemeine Laboraufgaben, wie das Auffüllen von Materialien oder das Ansetzen von Pufferlösungen (z. B. TBST, PBS, BSA-Gemische).

Zudem war ich an mikroskopischen und histologischen Untersuchungen beteiligt. Ich half bei der Einbettung, dem Schneiden und Färben von Pankreasgewebeproben und analysierte morphologische Unterschiede zwischen gesundem und pathologisch verändertem Gewebe. Einige der dabei angefertigten Aufnahmen sollen im Rahmen einer geplanten wissenschaftlichen Publikation verwendet werden.

Meine Arbeitszeiten richteten sich flexibel nach dem Ablauf der Experimente. In Absprache mit meinem Betreuer plante ich die Woche im Voraus, bereitete benötigte Materialien vor, holte Proben aus dem Tiefkühlschrank und führte die anstehenden Versuche weitgehend eigenständig durch. Bei der Durchführung von PCRs stellte ich selbst Reaktionsmischungen zusammen, berechnete Reagenzienmengen und bediente die PCR-Maschine eigenverantwortlich. Die Ergebnisse wurden automatisch per E-Mail übermittelt und gemeinsam mit meinem Professor ausgewertet.

## Ergebnisse

Die RT-qPCR-Analysen zeigten, dass die Expression von ACOD1 in den Pankreasproben der übergewichtigen Ratten signifikant reduziert war, während in normalgewichtigen Ratten eine höhere Konzentration von ACOD1 nachgewiesen werden konnte. Auf Basis dieser Erkenntnis wurden im weiteren Verlauf gezielt ACOD1-Knockout (KO)-Mäuse eingesetzt, um die funktionellen Auswirkungen des fehlenden ACOD1-Gens auf die Entzündung und Zellschädigung in der akuten

Pankreatitis genauer zu untersuchen. ACOD1 spielt eine wichtige Rolle bei der Umwandlung von Cis-Aconitat in Itaconat, welches wiederum dafür sorgt, dass die Succinat-Dehydrogenase gehemmt wird. Somit wird kein Succinat in Fumarat umgewandelt und die Mitochondrienkette produziert weiterhin ATP. Bei den ACOD1-KO-Mäusen jedoch verringert sich die ATP-Produktion aufgrund oben genannter fehlender Prozesse und auch die NRF2-Gen-Transkription wird gehemmt. Im Umkehrschluss werden keine antioxidativen Gene angekurbelt und Ferroptose und weitere Abbauprozesse finden statt. Auch die Western-Blot-Analysen bestätigten diese Ergebnisse auf Proteinebene: In den Proben der KO-Mäuse zeigte sich eine geringere Proteinexpression spezifischer Marker, darunter GPX4, ein zentrales antioxidatives Enzym und essenzieller Marker für Ferroptose. Die geringere Intensität der Signale im Western Blot spiegelte den niedrigeren Proteingehalt in diesen Proben wider und deutete auf eine erhöhte Anfälligkeit für oxidativen Stress hin. Bei den übergewichtigen Mäusen waren diese Unterschiede noch stärker ausgeprägt, da sie noch anfälliger für akute Pankreatitis sind und geringere Level an ACOD1 besitzen. Itaconat könnte also ein wichtiger Regulationspunkt während der Pankreatitis sein, da es oxidativen Stress und in der Folge Ferroptose verringert.

Ergänzend dazu wurden MDA-Tests (Malondialdehyd) durchgeführt, um den Grad der Lipidperoxidation – ein typisches Kennzeichen für Ferroptose – zu quantifizieren. Die Ergebnisse zeigten eine erhöhte Lipidperoxidation in den ACOD1-KO-Mäusen, was weiterhin die Annahme stützt, dass ACOD1 eine protektive Rolle gegen ferroptotischen Zelluntergang spielt. In Abwesenheit von ACOD1 war der oxidative Schaden durch Lipidperoxidation deutlich ausgeprägter. Auch bei den adipösen Mäusen wurde ein erhöhter MDA-Wert festgestellt, was ebenfalls auf verstärkte oxidative Prozesse infolge der verringerten ACOD1-Expression hinweist.

Diese Befunde liefern wichtige Hinweise darauf, dass ACOD1 nicht nur entzündungshemmend wirkt, sondern auch eine zentrale Rolle beim Schutz vor Lipidperoxidation und ferroptotischem Zelltod spielt – insbesondere im Kontext von Adipositas und Pankreatitis.

## Fazit

Das Praktikum an der Universitat de València war für mich in jeder Hinsicht bereichernd – fachlich wie persönlich. Ich konnte mein Wissen in den Bereichen Molekularbiologie, Biochemie und pathophysiologischer Forschung deutlich erweitern und mir zahlreiche praktische Fähigkeiten aneignen. Die wertschätzende, kollegiale Atmosphäre und die Möglichkeit, selbstständig und verantwortungsvoll zu arbeiten, haben meine Begeisterung für die biomedizinische Forschung nachhaltig gestärkt.

Besonders hervorzuheben ist, dass sich im Rahmen des Projekts relevante wissenschaftliche Ergebnisse ergeben haben, die das Potenzial für ein eigenes Forschungsprojekt – konkret meine zukünftige Masterarbeit – bieten. Aus diesem Grund habe ich mich entschieden, mein Masterstudium in Spanien fortzusetzen. Die Möglichkeit, direkt an meine bisherigen Arbeiten anzuknüpfen, ein vertieftes Verständnis für die zugrunde liegenden Mechanismen zu entwickeln und weiterführende

Fragestellungen zu bearbeiten, stellt für mich eine wertvolle Chance dar – sowohl für meine akademische als auch für meine persönliche Entwicklung.