

Vom 01. Mai 2024 bis zum 31. Oktober 2024 absolvierte ich ein Auslandspraktikum an der UBC Vancouver im Centre for Molecular Medicine and Therapeutics. Mein Ziel war es, zu erforschen, ob Curcumin (der chemisch aktive Bestandteil von Kurkuma), einen positiven Effekt auf die Behandlung mit einer Chemotherapie hat. Das untergeordnete Ziel war es, zu erforschen, ob es einen Unterschied macht, die Zellen als Monolayer oder Aggregat zu kultivieren und zu behandeln. Weiterhin habe ich den Effekt auf gesunde Kleinhirnzellen untersucht. Außerdem untersuchte ich die Entwicklung von G4 Medulloblastomen aus Stammzellen einer Maus. Mit Hilfe von Immunofluoreszenz und mRNA Analysen sollte das molekulare Verhalten sowie deren Phänotyp bestimmt werden.

1. Einführung und Betreuung

In den ersten Tagen meines Aufenthaltes an der Partneruniversität wurde ich sehr freundlich in Empfang genommen und mir wurden alle Labore und Arbeitsbereiche vorgestellt. Ich wurde sofort aktiv einbezogen und erhielt meinen eigenen Arbeitsplatz. Zu Beginn arbeitete ich vor allem theoretisch an einem genauen Plan und der Umsetzung dessen. Während der wöchentlichen Labormeetings wurden meine Ideen diskutiert und wenn nötig verbessert. Trotz dessen wurde mir komplette Freiheit bezüglich meines Arbeitsplans gelassen. Alle Mitarbeiter behandelten mich sofort als ebenbürtiges Mitglied. Mir wurde ein Betreuer zugeordnet, welcher mir bei Fragen zur Seite stand. Während meines gesamten Praktikums wurde ich ausreichend betreut.

2. Aufgaben und Ablauf des Praktikums

Da das Praktikum den praktischen Anteil meiner Master Thesis darstellte, erhielt ich keine externen Aufgaben zur Bearbeitung, sondern konnte mich frei meinem eigenen Projekt widmen. Trotz dessen, wurden alle meine Ideen zur Bearbeitung meines Projekts mit dem Team während der wöchentlichen Labormeetings abgesprochen.

Zuerst besprachen wir mein Projekt. Meine ursprüngliche Idee, einer Co-Kultur, konnte nicht so einfach umgesetzt werden, da wir keinen Zugang zu primären menschlichen Kleinhirnzellen bekommen konnten. Aufgrund dessen, mussten wir das Forschungsprojekt anpassen, wodurch ich nun primäre (Maus) Kleinhirnzellen nutzte. Nach ausgiebiger Literaturrecherche entschieden wir uns, die Chemotherapeutika Cisplatin (häufig für Medulloblastoma genutzt), sowie Panobinostat und Navitoclax (ein Research Paper von 2024 zeigte einen synergistischen Effekt zwischen Entinostat (selbe Medikamentengruppe wie Panobinostat) und Navitoclax), zusätzlich zu Curcumin als Co-Bedingungen zu nutzen, um dessen Wirksamkeit besser zuordnen zu können.

Danach kümmerte ich mich, mit der Hilfe meines Betreuers um die Beschaffung der Medulloblastoma Zellen. Diese erhielten wir netterweise von einem befreundeten Labor. Um die Effektivität der Behandlungen testen zu können, entschied ich mich dafür, die Vitalität der Zellen zu bestimmen. Dafür benutze ich einen MTT Assay, welcher die metabolische Aktivität bestimmt, die dann, wenn die Zellzahl bekannt ist, mit dieser gleichgesetzt werden kann. Ich bestimmte die optimale Zellzahl für meine Messungen und gab jedes einzelne Medikament in verschiedenen Konzentrationen zu den Zellen über einen Zeitraum von 24 – 72 Stunden (Werte der Literaturrecherche entnommen), um die halbmaximale inhibitorische Konzentration (IC50) pro Medikament und Zeitpunkt festzustellen (auch über den MTT Assay). Diese Tests erfolgten immer für zwei Testsysteme: Monolayer und Zellaggregate.

Nachdem ich die IC50 Werte für Cisplatin, Panobinostat, Navitoclax und Curcumin bestimmt hatte, nutze ich eine geringfügig kleinere Konzentration pro Medikament, um die Effektivität der Co-Administration der Medikamente und Curcumin zu testen. Alle möglichen Kombinationen wurden über den Zeitraum von 72 Stunden in beiden Testsystemen auf ihre Effektivität überprüft.

Um die spezifischen Effekte der der Medikamente zu testen, untersuchte ich ihren Effekt auf die mRNA Expression von spezifischen Markergenen für Apoptose (Caspase 3 & 9, Bax), Überleben (Bcl-2, Bcl-XL, CCND1 & CDK4), Aggressivität und Metastasen (Ncad), sowie TGF beta, welches als Tumorsuppressor wirkt. Dafür kultivierte ich die Medulloblastoma Zellen sowohl als Aggregate als auch als Monolayer und kultivierte sie für 24 oder 72 Stunden mit den einzelnen Medikamenten oder

mit einer Co-Administration. Ich isolierte die RNA jeder Probe und erstellte cDNA, welche ich dann zur Analyse verwendete.

Unter denselben Bedingungen kultivierte ich erneut Zellen, um mit ihnen eine Immunofluoreszenzmarkierung zur Proteinexpression durchzuführen. Die Proteine, die ich nachzuweisen versucht waren die aktivierte Caspase 3, Caspase 9, Cyclin D1, CDK4, Bax, Bcl-2 und BCL-XL, sowie TGF beta. Somit wollte ich überprüfen, ob die mRNA auch tatsächlich in Proteine umgesetzt wurde.

Letztendlich untersuchte ich den Effekt der einzelnen Medikamente und die Co-Administration auf die Zellvitalität von primären Maus Kleinhirnzellen, da Curcumin nachweislich neuroprotektive Wirkungen besitzt, aber selektiv Krebszellen anfallen soll. Diesen Effekt wollte ich überprüfen. Ich führte erneut einen MTT Assay für die primären Zellen durch für 24 und 72 Stunden und analysierte auch den Effekt auf die mRNA Expression nach 72 Stunden Behandlung.

Parallel dazu wurden Stammzellen einer Maus kultiviert und mit Plasmiden zur Differenzierung zu Medulloblastomen gebracht. Mittels Elektroporation wurden die Plasmide induziert. Anschließend wurden die Zellen zur Erholung weiter kultiviert, bevor sie in ein 3D System überführt wurden. Die Organoids wurden mit Hilfe von Wachstumsfaktoren zur weiteren Differenzierung angeregt und über mehrere Monate herangezogen bis sie geerntet wurden. Danach wurde die gesamte RNA extrahiert und auf die Expression G4 Medulloblastoma-relevanter mRNA überprüft.

3. Beurteilung der Ergebnisse

Die Ergebnisse meiner Arbeit zeigen den positiven Einfluss von Curcumin auf die primären Kleinhirnzellen bei einer Chemotherapie. Eine Chemotherapie bedeutet enormen Stress für den Körper und da Medulloblastoma Tumore des Kleinhirns, häufig in sich entwickelnden Kleinkindern, sind, bedeutet diese Therapie auch großen Stress für das Gehirn und resultiert häufig in enormen Nebenwirkungen die auch das Gehirn betreffen. Da Curcumin die Zellen des Kleinhirns vor dem Zelltod beschützen kann (bei der Administration mit den getesteten Medikamenten über den Zeitraum von 72 Stunden, Maus), kann es möglicherweise die negativen Nachwirkungen einer Chemotherapie dämpfen.

Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass Curcumin effektiv das Wachstum von aggressiven, Myc-amplifizierten Medulloblastomzellen (MB Zellen) dämpfen kann. Die Überprüfung der Zellvitalität der MB Zellen nach der Behandlung mit den Medikamenten zeigt durchwachsene Ergebnisse. Alle getesteten Kombinationen konnten das Zellwachstum signifikant verringern. Die CO-Administration mit Curcumin führte jedoch sowohl zu den erfolgreichsten als auch den schwächsten Behandlungen. Interessanter Weise, scheinen Curcumin und Navitoclax ähnliche Effekte auf die Zellvitalität zu haben. Der genaue Mechanismus muss jedoch noch erforscht werden. Die statistische Analyse der Effektivität der einzelnen Behandlungen ergab, dass wenn eine Co-Administration entweder Curcumin oder Navitoclax enthält, die Zugabe des jeweils anderen Stoffes keine signifikante Steigerung der Effektivität zu Folge hatte.

Curcumin besitzt die Fähigkeit, spezifisch auf MB Zellen einzuwirken. Die mRNA Analyse ergab, dass Curcumin Caspase 9 und Caspase 3 aktivieren kann. Es ist auch in der Lage, Bcl-XL herunter zu regulieren, welches für das Überleben der MB Zellen von Bedeutung ist. Curcumin ist nicht in der Lage, Bax, CCND1, Ncad oder CDK4 signifikant zu beeinflussen. Trotzdem besitzt Curcumin die Fähigkeit, TGF- β zu aktivieren, welches als Tumorsuppressor fungiert. Curcumin zeigte keinen signifikanten Effekt bei der Analyse der primären Zellen des Cerebellums.

Die Auswertung des Stammzellensystems zum Organoid ergab, dass es uns bisher nicht gelungen ist, ein zuverlässiges System zu Erforschung von G4 Medulloblastoma zu erstellen. Es wurden neue Ansätze entwickelt, um mit Hilfe von weiteren/ anderen Wachstumsfaktoren die Tumorentwicklung zu fördern.

4. Bewertung der im Praktikum erworbenen praktisch-fachlichen Kompetenzen und Reflexion über den Praktikumsverlauf

Das CMMT Vancouver ist eine hervorragende Forschungseinrichtung. Es ist ein Komplex mit mehreren Forschungsgruppen. Alle pflegen einen freundlichen Umgang und sind sehr hilfsbereit. Es gibt viele Möglichkeiten zur persönlichen Weiterbildung und der Austausch zwischen den Gruppen wird gewünscht und durch zahlreiche Events gefördert.

Es gibt eine individuelle Betreuung, die je nach Wunsch intensiver gestaltet werden kann. Der Bereich der Neurobiologie ist in hohem Maße vertreten und die Forscher sind sehr gut über die Thematik informiert. Man wird freundlich aufgenommen und als gleichwertiges Mitglied behandelt. Weiterhin sind Forscher aus der ganzen Welt vertreten und man kann leicht Freunde finden. Die Arbeitsmoral in Kanada ist entspannter als in Deutschland, weshalb man manchmal etwas Geduld haben muss.

Da mein Forschungspraktikum sehr ambitioniert war, war ich häufig am Wochenende arbeiten. Ich wurde nicht dazu gezwungen, wollte aber eine Vielzahl an Ergebnissen vorweisen. Die Aufgaben, die ich mir gestellt habe konnten alle erfüllt werden. Durch Gespräche mit der Laborgruppe, wurde ich zu weiteren Experimenten inspiriert, die meine vorangegangenen Ergebnisse untermauern konnten. Wir haben neuartige Ergebnisse erhalten, die es wert sind, publiziert zu werden.

Aufgrund des engen Zeitplans habe ich deutlich mehr gearbeitet als ich erwartet hatte, konnte so jedoch auch eine Vielzahl von Ergebnissen sammeln. Alle meine Erwartungen wurden soweit erfüllt und ich war begeistert, wie schnell ich Teil der Gruppe wurde. Ich durfte meine Ergebnisse auf mehreren Tagungen präsentieren und so meine Fähigkeiten Daten kurz und prägnant zu präsentieren verbessern.

Ich habe sehr positives Feedback zu meiner Arbeitsmoral bekommen und wurde konstant für Fortschritte und Ergebnisse gelobt. Mir wurde sogar die Betreuung einer Bachelorstudentin aus Kolumbien anvertraut, nachdem ich mich für diese Position bereit erklärt hatte.

Somit konnte ich meine Fähigkeiten und mein Wissen weitergeben, mich auf meine berufliche Zukunft vorbereiten und auch mein fachliches Englisch verbessern. Ich habe eine Vielzahl an neuen Methoden kennengelernt und mich auch interdisziplinär weiterbilden können. Weiterhin habe ich mit bereits bekannten Methoden gearbeitet und konnte mein theoretisches Wissen praktisch festigen. Mir bekannte Methoden und Tipps konnte ich auch mit den Labormitarbeitern teilen. Das Arbeiten im internationalen Raum hat mich in meinen Fähigkeiten bestärkt und mir neue Arbeits- und Denkweisen gezeigt, die ich in Zukunft in Betracht ziehen werde. Ich bin fest davon überzeugt, dass mir die Erfahrungen in meiner beruflichen Laufbahn weiterhelfen werden.

Ich habe mich auch mit der Entwicklung des menschlichen und murinen Gehirns befasst und meine Leidenschaft für dieses Thema entdecken können.

Die Praktikumsstelle erfordert viel Eigeninitiative und eigenes Denken. Obwohl man in jedem Punkt unterstützt wird, wird die Themenfindung, Ausarbeitung und Durchführung als Eigeninitiative angesehen. Außerdem ist Vancouver sehr teuer. Trotzdem würde ich es jederzeit Weiterempfehlen, da man mit seinen Aufgaben wächst.