

Neue Behandlungsmethoden zur Bekämpfung von schwarzem Hautkrebs

Carmen Marrucchiello, Kantonsschule Stadelhofen, Zürich. Betreut durch: Dr. Tobias Alther

Einleitung: Warum?

Ich habe dieses Thema als meine Maturitätsarbeit gewählt, weil, als wir das Themengebiet Genetik im Unterricht durchgenommen haben, ich davon höchst fasziniert war und unbedingt mehr darüber in Erfahrung bringen wollte.

Fragestellung:

- Was ist die Wirkung der Inhibitoren LGX 818 und MEK162 auf die Krebszellen?
- Können auch NRAS mutierte Zellen mit dem Inhibitor LGX 818 gehemmt werden?
- Wie können BRAF mutierte Krebszellen besser gehemmt werden und mit einer höheren Wahrscheinlichkeit die Formation einer Resistenz und Ausweichung über andere Wege verkleinert werden?

Grundlage

Krebs: Melanom ist die gefährlichste Hautkrebsart. Krebs ist ein autonomes, ungesteuertes und invasives Wachstum der körpereigenen Zellen. Hautkrebs entsteht durch Risikofaktoren nur in der Haut und dann zur Metastasierung mutieren.

Gestörte Pathways: bei Krebs werden intrazelluläre Signalkaskaden (Pathways) nicht mehr korrekt reguliert.

Inhibitoren: Die Inhibitoren, die ich bei den Versuchen verwendet habe, sind ein BRAF Inhibitor LGX818 und MEK162, der zur Kinasehemmung verwendet wird.

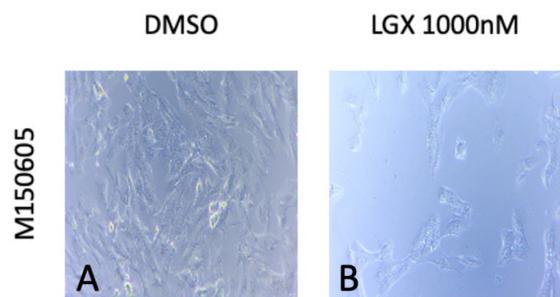


Abbildung 1: A) Mikroskopbild der Zellen bei DMSO Aussetzung. B) Mikroskopisches Bild der Zellen, wenn sie bei 1000nM LGX 818 ausgesetzt werden.

Vorgehensweise

Durch verschiedene medizinisch-biologische Tests habe ich im Labor des USZ fünf verschiedenen Zelllinien untersucht. Drei dieser Zellen sind BRAF mutiert und die anderen zwei sind NRAS mutiert. Ich habe auf allen Zellen die zwei Inhibitoren LGXi und MEKi angewendet.

Zur Absicherung und zum Beweis, dass ich mit BRAF und NRAS mutierten Zellen gearbeitet habe, führte ich noch eine PCR durch und schickte das gereinigte PCR-Produkt zur DNA Sequenzierung ein.

Als nächsten Schritt habe ich die Messwerte der Zellassays im Computer ausgewertet, Tabellen und Graphen erstellt zu "Figures" zusammengesetzt.

Als Abschluss und Ergänzung zu meiner überwiegend medizinischen und komplexen Arbeit habe ich zwei Interviews mit von Hautkrebs betroffenen Personen geführt.



Zellassay (Tests) im Labor



DNA Sequenzieren



Resultate auswerten



Interviews

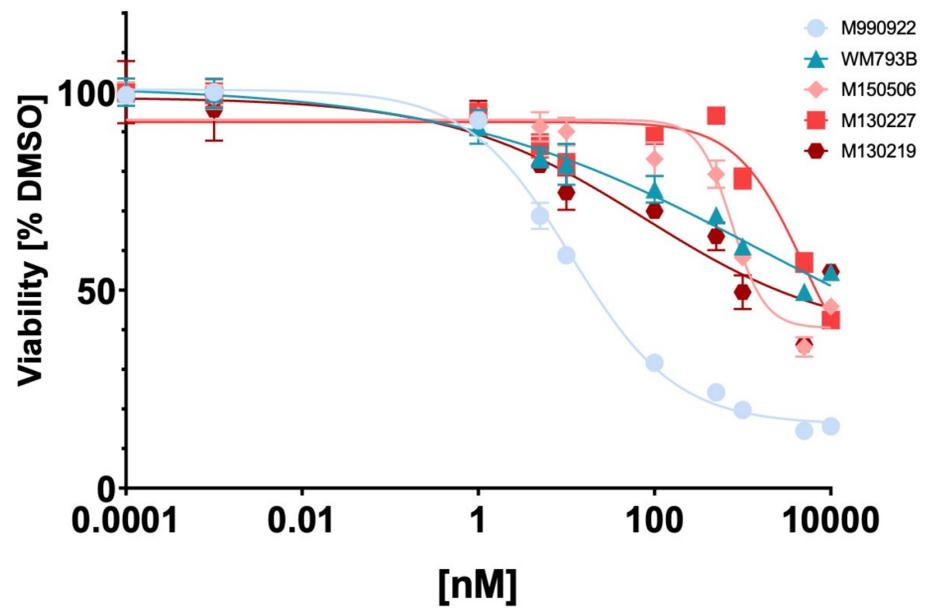
Glossar:

- LGX818: Ein spezifischer Inhibitor, der eine BRAF mutierte Zelle hemmt.
- MEK162: Ein Kinasehemmer zur Behandlung von nicht metastasierenden

Mutationen.

- BRAF-mutiert: eine Mutation im BRAF Gen. Ausgetauschte Aminosäure.
- NRAS-mutiert: Ein kleines, GTP-bindendes Protein.

LGX



	M990922	WM793B	M150506	M130227	M130219
IC50	11.45	1475	755.1	4886	76.82

Abbildung 2 : Gesamtübersicht der Wirkungsweise des Inhibitors LGX818 auf die Zellen

Resultate

Durch die durchgeführten Test habe ich Figures erstellen können und dadurch ist klar geworden, dass die BRAF mutierten Zellen auf den LGXi reagieren und damit gehemmt werden können. Hinzu kommt, dass wenn man die BRAF-mutierten Zellen mit dem MEKi zusätzlich zum LGXi behandelt, wird die Zellteilung besser gehemmt. Die NRAS mutierten Zellen hingegen können mit dem MEKi leicht gehemmt werden.

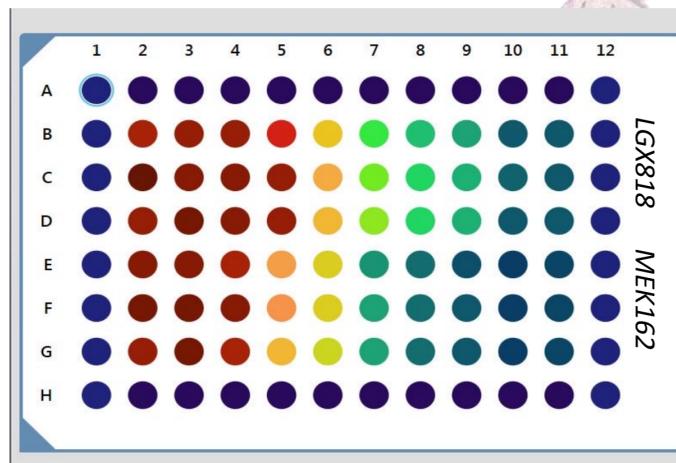


Abbildung 3: 96-well-plate der Wirkung des Inhibitors LGX818 und MEK162 auf die Zelllinie M990922

Zusammenfassung

In meiner Arbeit habe ich anhand eines Resazurin-Resorufin Assays versucht zu beweisen, dass BRAF mutierte Melanomzellen mit dem LGX 818 Inhibitor gehemmt werden können. Ich habe mit Hilfe Zellwachstumsexperimenten bewiesen, dass die NRAS mutierten Zellen nicht optimal mit dem LGXi inhibiert werden können. Zusätzlich habe ich getestet, ob die BRAF mutierten Zellen besser gehemmt werden können, wenn ein MEKi angewendet wird. Auf den MEK Inhibitor haben alle fünf Zellen reagiert.

Zudem habe ich mit den gleichen fünf Zelllinien spheroids gebildet und anhand diesen, meine Ergebnisse bestätigt. Die spheroids gaben auch schöne Bilder und live/dead ratios.

Zur Bestätigung, dass die Zellen wirklich BRAF und NRAS mutiert sind, habe ich zusätzlich einen PCR-Versuch durchgeführt und anschliessend das gereinigte PCR-Produkt zum Sequenzieren in ein anderes Labor eingeschickt. Die Sequenzen haben alle den vorgängig bestimmten Mutationen entsprochen. Neben der Arbeit im Labor habe ich mich mit zwei Personen getroffen, welche selbst von Hautkrebs betroffen waren. Dies ermöglichte mir einen anderen Blick auf das Thema zu werfen. Ich habe erfahren, dass auch wenn es eine hohe Überlebenschance für die tiefen Stadien von Hautkrebs gibt, sich die Patienten trotzdem die Gedanken machen, ob man den Eingriff überleben wird.

Schlusswort

Die Arbeit hat mir sehr gefallen. Ich konnte vieles Neues dazulernen und der Einblick hat mich weiter in meiner Studienwahl weitergebracht.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Dr. Andreas Dzung der mir die tolle Arbeit im Labor möglich gemacht hat. Auch ein riesiges Dankeschön an meinen Betreuer Dr. Tobias Alther ohne ihn ich die Arbeit nie zusammenstellen hätte können. Ein Dankeschön auch an alle die mir geholfen haben, diese Arbeit zu realisieren.

- Zellassay: Untersuchung zum Nachweis einer bestimmten Substanz. In meinen Versuchen: Resazurin Zell-Viabilitäts-Assay.

