

Erfahrungsbericht – Miriam Weiß  
Forschungsaufenthalt  
Department of Anesthesia, University of California, San Francisco  
11/2016-04/2017 (6 Monate)

### **Vorgeschichte**

Im Folgenden möchte ich meine Erfahrungen zu einem Forschungsaufenthalt in einem neurowissenschaftlichen Labor an der University of California in San Francisco schildern. Als Medizinstudentin an der RWTH Aachen arbeite ich seit Ende 2014 im vaskulären Team der Klinik für Neurochirurgie der RWTH an meiner klinischen Doktorarbeit zu Therapiemaßnahmen beim refraktären Vasospasmus nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung. Obwohl ich zu dem Zeitpunkt keine gefestigte Meinung zum Thema Forschung hatte, ergab sich schnell ein gesteigertes Interesse und Mitarbeit an weiteren klinischen Projekten aus dem Themenbereich. Mittlerweile dreht sich ein großer Teil meiner (Arbeits-)Zeit um neurovaskuläre Forschung und im Rahmen dessen entstand auch die Motivation, dies im Ausland auszubauen. Dazu kam ein doch eher ausgeprägtes Fernweh, dem ich im Freisemester, welches die RWTH Studenten im 8. oder 9. Semester zuteilt, aufgrund der Forschung in Aachen noch nicht nachgegeben hatte. Viele Zentren in den USA sind für exzellente Forschung bekannt und zudem hatte ich dort schon einmal im Rahmen eines Austauschprogramms ein Schuljahr verbracht und hatte demzufolge eine gewisse Affinität für das Land. Nach Bewerbungen an weiteren Zentren in den USA fiel die Entscheidung nach der Zusage recht schnell auf das Center for Cerebrovascular Research (CCR) an der UCSF, das interdisziplinär unter der Leitung der Klinik für Anästhesie mit den Kliniken für Neurochirurgie und Neurologie geführt wird. Mir gefiel der spezialisierte Themenbereich, der hohe Anspruch der Projekte, und die Assoziation mit der im Neurobereich exzellenten Universität und Klinik für Neurochirurgie.

### **Vorbereitung**

Der Wohnungsmarkt in San Francisco ist hart umkämpft, weswegen horrenden Preise für kleinste Zimmer und Konkurrenz durch viele Mitbewerber leider die Regel sind. Glücklicherweise konnte ich vor meiner Anreise ein Zimmer über craigslist finden, bei dem die Chemie mit den Mitbewohnern sofort stimmte und die mir eine Zusage für das Zimmer erteilten. Ein J1-Visum war über die amerikanische Botschaft in Frankfurt problemlos zu bekommen.

### **Leben**

Von der Lebensqualität, dem Stadtbild, dem Wetter und der offenen Mentalität hätte es mich sicherlich nicht viel besser treffen können. Was bei der Freizeit an Quantität fehlte, wurde durch Qualität mehr als wieder gut gemacht. Auch politisch war es durch die aktuelle personelle Besetzung in der amerikanischen Regierung eine sehr interessante Zeit mit San Francisco als einem politisch sehr aktiven Zentrum.

### **Labor**

Die UCSF stellt für assoziierte Personen kostenlose shuttles zwischen ihren Standorten zur Verfügung, welche ich für die tägliche einstündige Fahrt zum Labor nutzen konnte. Das Laborgebäude selbst ist angegliedert an das San Francisco General Hospital, das zur UCSF gehört. Im CCR haben mehrere Hauptprüfer aus demselben Themenbereich ihre Labore und

Räumlichkeiten für Mitarbeiter. Das Funding erfolgt über die Universität und aus öffentlichen Mitteln wie dem NIH. Unser Labor hatte Kapazitäten für ca. 12-15 Mitarbeiter, von denen manche als Postdoktoranden fest angestellt waren und einige als visiting scholar temporär anwesend waren. Die Mitarbeiter sowie auch ich haben einen Büroplatz sowie einen Laborplatz und sind in ihrer Arbeit flexibel, jedoch waren Zeiten von 9-5 Uhr üblich. Jeden Dienstag wird der aktuelle Stand der Projekte in einem lab meeting präsentiert und besprochen sowie gelegentlich extern präsentiert.

Meine dortige Mentorin und Leiterin der Arbeitsgruppe (Prof. Hua Su) legt den Fokus der Projekte speziell auf die Pathophysiologie von zerebralen arteriovenösen Malformationen (brain AVM = bAVM), die noch weitestgehend ungeklärt ist. Verschiedene Therapieansätze (chirurgisch, endovaskulär, radiotherapeutisch) kommen in der Klinik zum Einsatz, einen Goldstandard gibt es jedoch nicht. Funktionierende Tiermodelle existieren zum aktuellen Zeitpunkt nicht. Einige Fälle von bAVM sind auf die Hereditäre Hämorrhagische Teleangiektasie (HHT) zurückzuführen, für deren Haupttypen eine einzige Mutation (Endoglin bzw. Alk1) als Ursache erwiesen ist. Es handelt sich um Gene in der TGF- $\beta$  Kaskade, einem Wachstumsfaktor, die insbesondere in Endothelialzellen eine wichtige Rolle spielen. Da bAVM durch eine vermehrte Neubildung von (pathologischen) Gefäßen gekennzeichnet ist, setzen die Modelle in der Arbeitsgruppe an dieser Stelle an.

### **Labor-Projekte**

#### **Bone Marrow Transplantation in a bAVM mouse model:**

Diese Fragestellung ist primär als mein dortiges Hauptprojekt anzusehen. Die Arbeitsgruppe hatte in Vorarbeiten durch knockout von Endoglin bzw. Alk1 in verschiedenen Zelltypen, die vermutlich an der AVM Pathogenese beteiligt sind, herausgefunden, dass insbesondere Endothelialzellen zur Formation der pathologischen Gefäße beitragen. Da Endothelialzellen einen Ursprung auch im Knochenmark haben, sollte im nächsten Schritt geklärt werden, ob ein Gen-knockout in Knochenmarkszellen ebenfalls eine AVM Formation zur Folge hat.

Die Grundlage für das Modell bildet das Cre-LoxP System, bei dem das Cre-Enzym zu einem beliebigen Zeitpunkt durch externe Medikamentengabe aktiviert werden kann, und den Gen-knockout aktiviert. Durch Kopplung des Cre-Gens an ein weiteres Gen, welches vorwiegend in Endothelialzellen exprimiert wird, kann so ein zeitlich und zelltypspezifischer knockout induziert werden.

In der eigentlichen Versuchsgruppe werden Wildtyp-Mäuse ganzkörperbestrahlt und bekommen Knochenmark von Mäusen mit oben geschilderter Genveränderung transplantiert. Es wird ein viraler Vektor, der VEGF exprimiert, in eine Gehirnhemisphäre injiziert um die AVM-Bildung anzuregen (auch in menschlichen AVMs wird VEGF vermehrt exprimiert) und der Gen-knockout induziert. Es werden Farbstoffe injiziert, um die Gehirngefäße makroskopisch und mikroskopisch zu untersuchen. Zuletzt wird Immunhistochemie zur Darstellung von spezifischen Zelltypen verwendet.

Zu meinen Aufgaben gehörten alle Schritte dieses Versuchs, angefangen von der Züchtung und Genotypisierung der Mäuse mittels PCR und Gelelektrophorese, über die (seltene) KM-transplantation, die stereotaktische Vektorinjektion, die Terminierung mittels kardialer Injektion, Bearbeitung, Sektionierung und Auswertung der Schnitte, sowie die Immunhistochemie.

Das Projekt war zuvor schon von einem Kollegen begonnen worden und befindet sich nun in der Endphase, wird aber von einer weiteren Kollegin noch weiterbearbeitet.

### **Behavior of inflammatory cells in AVM mouse model:**

Ich nahm des Weiteren an einem Projekt teil, das auf demselben Modell beruht, in dem jedoch kein Knochenmark transplantiert wird. Hier wird die Beteiligung von Makrophagen bzw. Mikroglia an der AVM Pathogenese durch zeit- und zelltypspezifische Inhibition untersucht.

### **CRISPR/Cas9 mediated gene mutation to cause bAVM:**

Als recht neue Methode kommt die CRISPR/Cas9 Methode als weitere Möglichkeit, kontrollierte Gen-knockouts zu verursachen, zum Einsatz. Das Modell wird aktuell etabliert und soll für weitere Fragestellungen genutzt werden.

Aufgrund der Vielfalt der Projekte der anderen Mitarbeiter konnte ich weitere Einblicke in noch einmal sehr unterschiedliche Projekte und Methoden gewinnen. Dazu gehörten auch Zellkulturversuche oder Schlaganfall-Modelle mit zugehörigen Operationen und Verhaltenstests. Es gab regelmäßige Fortbildungen und zudem ein breites Angebot an Weiterbildungsmöglichkeiten von der UCSF.

### **Klinik**

Meine Bewerbung war ursprünglich an den leitenden vaskulären Neurochirurgen der UCSF gegangen, der in einschlägigen Fachgesellschaften für seine Expertise in der chirurgischen Behandlung neurovaskulärer Erkrankungen bekannt ist. Einen Tag der Woche verbrachte ich in seinen Operationssälen, in denen hochfrequent komplizierte vaskuläre Operationen durchgeführt wurden, was sehr spannend war. Es war mir zudem möglich, mich an einigen klinischen Projekten zu beteiligen. Der Fokus lag auf wie bei den Aachener Projekten auf der Subarachnoidalblutung.

### **Klinische Projekte**

#### **Validation of BEHAVIOR score for cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage**

Wie für viele Erkrankungen gibt es einige Scores, die die Risiken für verschiedene Faktoren wie das Auftreten von Komplikationen oder die Mortalität einschätzen. 2015 wurde der BEHAVIOR score publiziert, der mithilfe früh zu bestimmender Kriterien Patienten herausfiltert, die ein besonders hohes Risiko haben, einen zerebralen Infarkt zu erleiden. Der Score hat sich in der Originalpublikation als zuverlässiger herausgestellt als herkömmliche Kriterien. Zu meinen Projekten gehörte die retrospektive Validierung des Scores an einer großen Patientenkohorte der UCSF.

#### **Long-term follow up for cerebral aneurysm clipping**

Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung bedarf es meist hohem Aufwand adäquate Patientenkohorten für Studien zu rekrutieren. Durch die Größe und Expertise des Zentrums war es möglich, eine größere Kohorte für die statistisch valide Auswertung von Langzeit follow-ups von Aneurysmaclippings zusammen zu stellen. Dabei sind insbesondere Verschlussraten, Neubildung von Aneurysmen und klinisches Outcome untersucht worden.

#### **DSA color-coded postprocessing in context of cerebral vasospasm (iFlow)**

Ein großes Problem nach aneurysmatischer SAB sind verzögerte Ischämien, zu deren Pathogenese auch Vasospasmen gehören. Diese zu detektieren und zu therapieren ist häufig kompliziert und die Stratifizierung von Hochrisikopatienten deswegen von großer Bedeutung.

Die Studie mit der iFlow Software zur farb-basierten Nachbearbeitung von DSAs korreliert Flussveränderungen in der initialen DSA, die bei SAB zur Standardprozedur gehört, mit dem späteren Auftreten von Vasospasmus.

### **Resümee & Danksagung**

Das Ende der Zeit wurde von der Teilnahme am jährlichen Kongress der American Association of Neurological Surgeons gekrönt. Nach meiner Rückkehr gilt es nun, die klinischen Projekte abzuschließen und die Laborprojekte weiter zu verfolgen, da sie noch mehr Zeit zur Publikation benötigen werden. Zwei der klinischen Projekte (aneurysm follow up, iFlow) sind bei designierten Journals eingereicht, das Manuskript für das dritte befindet sich aktuell in Arbeit (BEHAVIOR).

Die Zeit in San Francisco war insgesamt extrem produktiv und meines Erachtens nach einzigartig. Der Lernerfolg und auch der voraussichtliche Publikationsertrag sind höher als zu erwarten war. Mit der Kombination aus hoher Motivation und den tollen Voraussetzungen vor Ort konnte ich mich glücklich schätzen, dass sich die Arbeit auch an Abenden und Wochenenden kaum wie Arbeit anfühlte, und die Zeit verging leider wie im Flug. Die Erfahrungen, gewonnenen Fähigkeiten und auch Kontakte sind unersetzbar und werden sicherlich auch weiterhin ihren Wert entfalten. Professionell, aber auch persönlich, sind einige Hürden überwunden und die Motivation für weitere Forschung und größere Aufgaben greifbar. Zusammengefasst war der Aufenthalt war ein voller Erfolg und hat meine Erwartungen weit übertroffen!

Die Finanzierung meines Aufenthalts war aufgrund der Dauer und der hohen Lebenshaltungskosten kein Leichtes. Der FdMSA-Verein gewährte mir nicht nur das AEXMED-Stipendium, sondern war auch bereit, die Förderung aufgrund der besonderen Umstände auszudehnen. Das Stipendium hat zu großem Teil zu der Finanzierung meines Aufenthalts beigetragen. Ich möchte mich für die Unterstützung bei Herrn Dr. Gröning sowie allen Mitgliedern der FdMSA sehr, sehr herzlich bedanken!