

01.06.2014 **Fachübergreifend**

Diagnostisch und metabolisch optimierte Tumorchirurgie

J. F. Coy



Die operative Tumorentfernung kann nach wie vor eine sehr erfolgreiche kurative Therapieform sein, sofern die Operation frühzeitig und radikal erfolgt und keine Mikro- oder Makrometastasierung vorliegt. Neben der Mikro- und Makrometastasierung wird der Eingriffserfolg durch weitere oft schicksalhafte Ereignisse bestimmt. Beispielsweise die Wundheilungsstörung, bei Diabetes mellitus eine häufige Begleiterscheinung sowie andere entzündliche Prozesse können die Ausheilungschancen deutlich reduzieren. Bekanntlich ist jedoch abhängig vom Ausbreitungsgrad auch bei

radikalem Vorgehen unter Umständen kein kurativer Erfolg erzielbar.

Damit entsteht der Wunsch, mit diagnostischen Verfahren festzustellen, ob eine noch nicht sichtbare Metastasierung vorliegt, da ja in diesem Fall die Tumorentfernung durch eine Strahlen- und/oder medikamentöse Therapie ergänzt werden sollte. Zur Unterstützung der persönlichen Einschätzung greift der Operateur intraoperativ auf diagnostische Verfahren zurück, die ihm intraoperativ die Tumorklassifizierung erleichtert, um so eine optimale Stratifizierung des Eingriffes durchführen zu können, z. B. über Schnellschnitte, Visualisierung des Tumors mit Lumineszenz oder Abgrenzung des Tumorgewebes durch farbgebende Stoffwechseluntersuchungen [Diez et al., 2014].

Ein neues perioperatives Verfahren

In Ergänzung zur üblichen intraoperativen Tumorklassifizierung besteht nun die Möglichkeit, mit einer Blutprobe den Malignitätsgrad eines Tumors vor der Operation zu erfassen, um damit die operative Strategie patientenindividuell anzupassen. Basis dieses neuen Verfahrens ist die sogenannte Epitop Detektion in Monozyten (EDIM) (Abb. 1), bei der mit einem Laserverfahren intrazelluläre Epitope in Immunzellen detektiert werden, die Aufschluss über die Phagozytose von Fresszellen (aktivierte Monozyten = Makrophagen) geben [Feyen et al., 2012; Grimm et al., 2013]. Im Gegensatz zur Bestimmung von im Blut löslichen Tumormarkern im ELISA-Verfahren werden die Tumormarker mit der EDIM-Technologie innerhalb von Fresszellen (Makrophagen) und damit als Folge der Phagozytose nachgewiesen. Dadurch ist der Nachweis von Tumormarkern über die EDIM-Technologie sensitiver und spezifischer als der Nachweis im Serum [Leers et al., 2008; Japink et al., 2009].

Abb. 1: Epitop Detektion in Monozyten (EDIM)

Die EDIM-Technologie ermöglicht, Epitope von zwei Tumormarkern/Biomarkern in Fresszellen zu detektieren, mit denen der Malignitätsgrad der Tumore identifiziert werden kann [Grimm et al., 2013]. Beide Marker sind Biomarker für fundamentale biophysikalische Mechanismen in Säugetierzellen, die eine Detektion und Charakterisierung von Krebserkrankungen jeder Form ermöglichen, sowohl solide als auch nichtsolide Tumoren.

Beide Marker wurden retrospektiv, aber auch in einer multizentrischen prospektiven Studie an der Universität Tübingen, dem Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg und dem Clemenshospital der Universität Münster erfolgreich klinisch getestet [Grimm et al., 2013]. Die Basis für eine spezifische und sensitive Detektion von Tumoren und der Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren ist die Blockade der Endonuklease DNaseX. Ein gegen die DNaseX gerichteter monoklonaler Antikörper markiert das sogenannte Epitop Apo10, das spezifisch ist für die Akkumulation der inhibierten Endonuklease DNaseX im Kern von Tumorzellen. Die Akkumulation des Apo10-Epitops im Kern von Tumorzellen korreliert mit dem Malignitätsgrad des Tumors und geht mit einer verkürzten Überlebenszeit von Krebspatienten einher [Grimm et al., 2013]. Durch die Inhibition der Endonuklease DNaseX im Kern entziehen sich Tumorzellen der Elimination der Kern-DNA durch die Endonuklease DNaseX, sodass die Tumorzellen nicht mehr durch den finalen Schritt der Apoptose eliminiert werden. Die Blockade der Apoptose über die Inhibition der DNaseX ist ein universeller und entscheidender Schritt in der Tumorgenese, der nun für die Detektion und Charakterisierung von Tumoren mit der EDIM-Technologie genutzt werden kann.

Das Maß von Invasivität und Metastasierung des Tumors kann über den Biomarker Transketolase-like-1 (TKTL1) nachgewiesen werden [Kayser et al., 2011]. Gleichzeitig zeigt TKTL1 auch das Maß der Resistenz gegenüber Strahlen- und Chemotherapien an, wodurch bereits frühzeitig Resistenzen festgestellt werden können [Schwaab et al., 2011]. Die Aktivierung des TKTL1-Gens ist in einer Subgruppe von Tumoren nachweisbar. Patienten mit solchen TKTL1-positiven Tumoren sind deutlich schneller verstorben [Grimm et al., 2013] – auch bei neoadjuvanter Behandlung mit Strahlen- und Chemotherapie [Schwaab et al., 2011]. Während 90% der Mundhöhlenkarzinompatienten das Apo10-Epitop aufwiesen, waren nur 42% der Tumoren TKTL1-positiv [Grimm et al., 2013]. Dies unterstreicht, dass die TKTL1-Aktivierung ein relativ später, aber therapieentscheidender Schritt in der Tumorgenese ist und erst nach der Blockade der Endonuklease DNaseX (Apo10) auftritt.

Bekanntlich hatte bereits 1924 der Nobelpreisträger Otto Warburg nachgewiesen, dass der Zuckerstoffwechsel von Karzinomen durch eine Vergärung von Glukose zu Milchsäure auch in Anwesenheit von Sauerstoff (aerobe Glykolyse/Warburg-Effekt) charakterisiert ist [Warburg et al., 1924]. Er vermutete als Ursache dieser durch Sauerstoff nicht unterdrückten Vergärung eine mitochondriale Störung und sah darin den Auslöser für Krebs. Bis zu seinem Tod wurde seine Theorie zu Krebs von den meisten Krebsforschern negiert. Über viele Jahrzehnte wurde der Warburg-Effekt von der Krebsforschung nicht beachtet und „überlebte“ aber in der Komplementärmedizin. Dies änderte sich, als das TKTL1-Gen als biochemische Basis des Warburg-Effektes (aerobe Glykolyse) identifiziert und der Warburg-Effekt re-interpretiert wurde [Coy et al., 2005]. Das TKTL1-Gen wurde bereits 1995 im Rahmen eines Genomanalyseprojektes, das von Nobelpreisträger Prof. Harald zur Hausen initiiert wurde, am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg entdeckt [Coy et al., 1996]. TKTL1 ist eine Genkopie des normalen Transketolase-Gens (TKT), das sich im Laufe der Evolution einschneidend mutiert hat. Dadurch wurde eine Stoffwechselreaktion möglich, bei der aus Glukose Milchsäure und Acetyl-CoA entsteht. Im Gegensatz zu Warburg sieht Coy das TKTL1-Gen und die von ihm gesteuerten biochemischen Reaktionen als Basis eines Stoffwechsels, der sowohl in Karzinomen als auch in gesunden Zellen eine Schutzfunktion ausübt, indem die Radikalbildung und Apoptose unterdrückt wird.

Die schützende Rolle des TKTL1-Gens wurde nun durch weitere Studien nachgewiesen. So führt ein Fehlen des TKTL1-Stoffwechsels zu erhöhter Radikalproduktion und DNA-Schäden und in Folge dessen zu einer schnellen Alterung des Menschen [Werner-Syndrom: Li et al., 2013]. TKTL1 spielte ferner eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der kognitiven Fähigkeiten des Homo sapiens. Im Vergleich zum Neanderthaler und Affen traten in wenigen Genen des Homo sapiens Mutationen auf, die von so großem Vorteil waren, dass diese neuen Genvarianten die alten Genvarianten des Affen und Neandertalers vollständig in der Homo sapiens-Population verdrängten. In einer im Januar 2014 in der Zeitschrift Nature publizierten Studie wurde TKTL1 als eines der fünf wichtigsten Gene des modernen Menschen identifiziert [Prüfer et al., 2014].

Neben der Rolle für die kognitive Leistungsfähigkeit des Gehirns und das Überleben von Nervenzellen ist das TKTL1-Gen auch von entscheidender Bedeutung für das Überleben von Tumorzellen. Wird in Tumorzellen das TKTL1-Gen aktiviert, kommt es zu einer verminderten Radikalproduktion und einer Unterdrückung der Apoptose [Xu et al., 2009]. Dies wiederum verhindert die Wirksamkeit von Strahlen- und Chemotherapien sowie von zielgerichteten Therapien wie Imatinib [Zhao et al., 2010]. Da TKTL1 eine sauerstoffunabhängige Energiefreisetzung möglich macht, führen auch Therapiemaßnahmen, die die Sauerstoffversorgung des Tumors reduzieren und damit die Hypoxie verstärken, zu einer Aktivierung des TKTL1-Gens in Tumoren und einer damit verbundenen Resistenz gegenüber Anti-Angiogenesetherapien. Da Milchsäure als Endprodukt des TKTL1-Stoffwechsels den Angriff des Immunsystems blockiert (Säurearrest der Killerzellen), werden auch körpereigene Abwehrmechanismen ausgehebelt, der Tumor wächst weiter [Fischer et al., 2007].

Für die chirurgische Entfernung von Tumoren ist nun von entscheidender Relevanz, die von der Milchsäure ausgelöste, säurebasierte Matrixdegradation [Baumann et al., 2009], die zu invasivem Wachstum und Metastasierung führt, zu hemmen, da ansonsten der Erfolg der chirurgischen Entfernung des Tumors reduziert oder aufgehoben wird. Bei erhöhten TKTL1-Werten sollte während der Operation ganz besonders auf die Invasivität des Tumors und den damit verbundenen großzügigen Sicherheitsabstand zum gesunden Gewebe geachtet werden.

Mit der Entdeckung des TKTL1-Zuckerstoffwechsels wurde zudem eine weitere Option zur Optimierung der chirurgischen Entfernung von Tumoren eröffnet. Bisher ging man meist davon aus, dass malignes Zellwachstum, seine Invasivität und Metastasierung nicht unbedingt über eine gezielte Ernährung beeinflusst werden kann. Eine neue Studie des Universitätsklinikums Lübeck konnte jedoch eindrucksvoll zeigen, dass eine Ernährung, die zu einer ketogenen Stoffwechsellage beim Patienten führt, den Stoffwechsel des Tumors so sehr beeinträchtigt, dass es zu einer Hemmung der Milchsäureproduktion im Tumor kommt [Schroeder et al., 2013]. Milchsäure ist die Basis der säurevermittelten Matrixdegradation des umgebenden gesunden Gewebes und ermöglicht damit die Invasivität des Tumors wie auch die Besiedelung neuer Organe (Fernmetastasen). Dies eröffnet nun die Option, die Invasivität des Tumors gezielt vor einer Operation zu reduzieren als auch die von disseminierten Tumorzellen ausgelöste Bildung von Fernmetastasen zu hemmen.

Die ketogene Stoffwechsellage kann über eine kurzzeitige Ernährungsumstellung unter Verwendung herkömmlicher öl-/fettreicher Lebensmittel erreicht werden. Ein weiterer Weg zur ketogenen Stoffwechsellage ist das Fasten vor der Operation, wodurch es allerdings zu einem unerwünschten Gewichtsverlust mit präoperativer Schwächung der körperlichen Widerstandsfähigkeit des unter Umständen ohnehin kachektischen Krebspatienten kommen kann. Daher wurden zuckerfreie Trinknahrungen entwickelt, die eine kurzfristige ketogene Ernährung ermöglichen und zugleich die Auszehrung und Gewichtsreduktion verhindern. Neben der Versorgung mit ausreichend Energie, Vitaminen und Mineralstoffen enthalten diese Trinknahrungen zudem mit Omega-3-Fettsäuren und einer besonderen Form des Vitamin E (Tocotrienolen) wichtige Inhaltsstoffe, die vermeiden sollen, dass es, insbesondere bei kachektischen Patienten, zu gefährlichen Entzündungsreaktionen kommt [Jiang et al., 2008; Jiang, 2014]. Dies trägt

zum Erfolg des chirurgischen Eingriffs bei, indem Komplikationen reduziert und die Wundheilung verbessert werden. Gleichzeitig wird der Patient optimal auf die unter Umständen nachfolgende Strahlen- und Chemotherapie vorbereitet, weil die Wirksamkeit der Radikalbildung durch Strahlentherapie als auch die Wirksamkeit der Apoptoseauslösung durch eine ketogene Stoffwechsellage gesteigert wird und so die Heilungschancen erhöht werden.

Neben der entzündungshemmenden Wirkung von Tocotrienolen wird zudem die radioprotektive Wirkung von Tocotrienolen in Bezug auf gesunde Zellen in den Trinknahrungen genutzt, um das gesunde Gewebe bei einer Strahlentherapie maximal zu schonen [Ghosh et al., 2009]. Aufgrund der durch die EDIM-Technologie und der beiden Marker Apo10 und TKTL1 möglich gewordenen nichtinvasiven Detektion und Charakterisierung von Tumoren können Tumorpatienten identifiziert werden [Grimm et al., 2013], die von einer supportiven metabolischen Maßnahme in Form der ketogenen, anti-entzündlichen Ernährung zur Optimierung der chirurgischen Entfernung des Tumors profitieren.

Unabhängig von dieser neuen Form, mit der metabolischen Maßnahme Einfluss auf den chirurgischen Erfolg zu nehmen, eröffnet der EDIM-TKTL1/Apo10-Bluttest die Möglichkeit, die chirurgische Entfernung von Tumoren generell zu monitorieren, indem präoperative und postoperative Werte bestimmt und verglichen werden. Normale postoperative Werte zeigen an, dass das gesamte Tumormaterial beim chirurgischen Eingriff entfernt werden konnte. Bei erhöhten bzw. steigenden postoperativen Werten kann ein optimaler Zeitpunkt eines erneuten Eingriffs zur Beseitigung eines Rezidivs oder von Metastasen identifiziert werden.

Zusammenfassung

Die Tumorchirurgie ist eine sehr erfolgreiche, oftmals kurative Therapieform bei Tumorerkrankungen. Der Erfolg der Tumorchirurgie wird maßgeblich vom Zeitpunkt der Entfernung des Tumors und dessen Invasivität bzw. Metastasierung bestimmt. Mit Hilfe des EDIM-TKTL1/Apo10-Bluttests ist es nun möglich, eine nichtinvasive Detektion und Charakterisierung aller Tumorformen vor der Operation vorzunehmen, um die chirurgische Entfernung des Tumors zu optimieren und an die individuelle Situation des Patienten anzupassen. Gleichzeitig eröffnet dies nun auch die Möglichkeit, dass der Patient durch eine gezielte, wenige Tage andauernde Ernährungsumstellung (ketogene Ernährung) vor der Operation den Stoffwechsel des Tumors so beeinflusst, dass die Invasivität des Tumors und die Dissemination von Tumorzellen gehemmt werden, wodurch die Bildung von Fernmetastasen supprimiert wird. Gleichzeitig kann mit der Ernährungsumstellung der oftmals bei Tumorpatienten vorliegenden Tumorkachexie und der damit einhergehenden lebensgefährlichen, entzündlichen Stoffwechselsituation entgegengewirkt werden. Der EDIM-TKTL1/Apo10-Bluttest und die gezielte Beeinflussung des Tumorstoffwechsels mittels Ernährung eröffnen neue Optionen für die Optimierung des Erfolges der Tumorchirurgie.

Literatur

Baumann F et al.: Lactate promotes glioma migration by TGF-beta2-dependent regulation of matrix metalloproteinase-2. *Neuro Oncol.* 2009 Aug;11(4):368-80.

Coy JF et al.: Molecular Cloning of Tissue-Specific Transcripts of a Transketolase-Related Gene: Implications for the Evolution of New Vertebrate Genes. *GENOMICS* 32, 309–316 (1996)

Coy JF et al.: Mutations in the transketolase-like gene TKTL1: clinical implications for neurodegenerative diseases, diabetes and cancer. *Clin Lab* 2005, 51: 257– 273

Diez Valle R et al.: Observational, retrospective study of the effectiveness of 5-aminolevulinic acid in malignant glioma surgery in Spain (The VISIONA study). *Neurologia* 2014 Apr;29(3):131-138

Feyen O et al.: EDIM blood test: a non-invasive method to detect up-regulated glucose metabolism in patients with malignancies, *Future Oncol.* (2012) 8(10), 1349–1359

Fischer K et al.: Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *BLOOD*, 1 MAY 2007 VOLUME 109, NUMBER 9

Gosh SP et al.: Gamma-tocotrienol, a tocol antioxidant as a potent radioprotector. *Int J Radiat Biol.* 2009 Jul;85(7):598-606.

Grimm et al.: A biomarker based detection and characterization of carcinomas exploiting two fundamental biophysical mechanisms in mammalian cells. *BMC Cancer* 2013 13:569

Japink et al.: CEA in activated macrophages. New diagnostic possibilities for tumor markers in early colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2009 Aug;29(8):3245-51

Jiang Q et al.: Long-chain carboxychromanols, metabolites of vitamin E, are potent inhibitors of cyclooxygenases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Dec 23;105(51):20464-9

Jiang Q: Natural forms of vitamin E: Metabolism, antioxidant and anti-inflammatory activities and the role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med.* 2014 Apr 3. pii: S0891-5849(14)00152-X

Kayser G et al.: Poor outcome in primary non-small cell lung cancers is predicted by transketolase TKTL1 expression. *Pathology.* 2011 Dec;43(7):719-24

Leers MP et al.: Circulating PSA-containing macrophages as a possible target for the detection of prostate cancer: a three-color/five-parameter flow cytometric study on peripheral blood samples. *Am J Clin Pathol.* 2008 Apr;129(4):649-56

Li B et al.: Downregulation of the Werner syndrome protein induces a metabolic shift that compromises redox homeostasis and limits proliferation of cancer cells. *Aging Cell* (2013) pp1–12

Prüfer K et al.: The complete genome sequence of a Neanderthal from the Altai Mountains. *Nature* 505, 43–49 (02 January 2014)

Schroeder U et al.: Decline of Lactate in Tumor Tissue After Ketogenic Diet: In Vivo Microdialysis Study in Patients with Head and Neck Cancer. *Nutr Cancer.* 2013;65(6):843-9

Schwaab J et al.: Expression of Transketolase like gene 1 (TKTL1) predicts disease-free survival in patients with locally advanced rectal cancer receiving neoadjuvant chemoradiotherapy. *BMC Cancer.* 2011 Aug 19;11:363

Warburg et al.: Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. Biochem Z 152: 309–344 (1924)

Xu X et al.: Transketolase-like protein 1 (TKTL1) is required for rapid cell growth and full viability of human tumor cells. Int J Cancer. 2009 Mar 15;124(6):1330-7

Zhao F et al.: Imatinib resistance associated with BCR-ABL upregulation is dependent on HIF-1alpha-induced metabolic reprogramming. Oncogene. 2010 May 20;29(20):2962-72

Coy J. F. Diagnostisch und metabolisch optimierte Tumorchirurgie. Passion Chirurgie. 2014 Juni, 4(06): Artikel 02_02.