

Diplomarbeit

**Effekte des Short-term Fasting und Fasting-mimicking
Diets auf Patientinnen und Patienten, die sich einer
Chemotherapie unterziehen**

eingereicht von

Kai-Bennett Fabian Thranitz

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Lehrstuhl für Pharmakologie

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. i.R. Mag. pharm. Dr. Eckhard Beubler

und

und Ao. Univ.-Prof. Dr. phil. Dr. h.c. Irmgard Lippe

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 12.11.2021

Kai-Bennett Fabian Thranitz eh.

Vorwort

Die im Einleitungsteil vorgestellten Merkmale (1.4) und Ursachen (1.5) von Neoplasien sowie die Auswahl der hier vorgestellten Studien erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, es soll vielmehr in prägnanter Form ein Überblick über das Thema vermittelt werden.

Es wäre positiv, wenn meine Stellungnahmen Impulse zur Diskussion geben könnten. In einer Lebenssituation, in der Patientinnen/Patienten sich oft ausgeliefert fühlen, könnte eine aktive Partizipation am Therapiegeschehen die Therapie unterstützen.

Die klinische Forschung zu den Auswirkungen der Nahrungsrestriktion bei gleichzeitiger Chemotherapie steht noch am Anfang.

Ich hoffe, dass viele Fragen, die während des Verfassens meiner Diplomarbeit auftauchten, in der Zukunft beantwortet werden.

Ich glaube, je eingehender man sich mit einem Sachverhalt wissenschaftlich beschäftigt, desto mehr Demut legt man am Ende an den Tag.

Danksagung

Mein aufrichtiger Dank geht an Herrn Univ. Prof. Beubler sowie Frau Univ. Prof.in Dr.in phil. Dr.in h.c. Irmgard Lippe, die mir die Erarbeitung eines für mich interessanten und relevanten Diplomarbeitsthemas ermöglicht haben.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	1
Danksagung	2
Abkürzungen und deren Erklärung.....	5
Zusammenfassung in Deutsch	12
Abstract in Englisch	14
Einleitung	16
1.1 Krebsentstehung.....	16
1.2 Ursprung einer Krebszelle	18
1.2.1 Tumorsuppressoren	18
1.2.2 Proto-Onkogene und Onkogene	19
1.2.3 Promotor Mutation	19
1.2.4 Punktmutation innerhalb eines Protoonkogens	20
1.2.5 Amplifikation	21
1.2.6 Translokation.....	22
1.2.7 Virale Infektionen und virale Transduktion	22
1.3 Hallmarks of Cancer	27
1.3.1 Autarke Aufrechterhaltung von Signalwegen regt Zellwachstum und Zellteilung an.....	27
1.3.2 Umgehung oder Ausschaltung von Tumorsuppressoren.....	28
1.3.3 Tumorzellen entziehen sich dem strukturierten Zelltod.....	29
1.3.4 Unsterblichkeit durch unbegrenzte Replikation	30
1.3.5 Induktion der Angiogenese.....	31
1.3.6 Invasion und Metastasierung	32
1.3.7 Dereglulation des Zellmetabolismus	34
1.3.8 Austricksen des Immunsystems	35
1.4 Chemotherapeutika	36
1.4.1 Zytostatika	37
1.5 Übersicht über die diätären Ansätze	37
1.5.1 Fasten.....	37
1.5.2 Short-term Starvation (STS).....	38
1.5.3 Short-term Fasting (STF)	38
1.5.4 Fasting-mimicking Diets (FMDs)	39
1.5.5 Ketogene Diät.....	39
1.5.6 Kalorienreduzierte Diät oder Calorie Restriction.....	39
1.6 Physiologie des Fastens	40
1.7 Theorie, warum Fasten oder FMDs unter Chemotherapie Sinn machen könnten	43
1.8 IGF-1.....	43
2 Material und Methoden	44
3 Ergebnisse.....	44
3.1 Glucose und der Krebs.....	44
3.1.1 Glucose dient in Krebszellen unter Normalbedingungen zum Biomasseaufbau.....	44
3.1.2 Glucose bewirkt in Krebszellen über gestörte PI3K Signalkaskaden Proliferation und Wachstum.....	45
3.2 Differential Stress Resistance (DSR).....	46
3.3 Zytotoxizität gegen Krebszellen nur unter Nährstoffrestriktion.....	47
3.3.1 Phosphoinositid-3-Kinase/Akt Pathway.....	47

3.3.2	Akt-Hemmung in Nacktmäusen durch Kigamicin unter Nährstoffentzug	48
3.4	Reaktive Sauerstoffspezies und Krebszellen	48
3.4.1	Hohe Glucoseaufnahme neoplastischer Zellen und die Auswirkung auf deren Redox-System.....	48
3.4.2	Das Protoonkogen KRAS und der RAS Signalweg	49
3.5	Humane Pankreaszellen werden unter Nahrungsentzug sensibel für Redox-System-Inhibitoren	51
3.5.1	Redox-System-Inhibitoren	51
3.5.2	Versuchsbedingungen des Zellversuchs	51
3.5.3	Ergebnisse des Versuchs	52
3.5.4	Die dahinterliegende (teils hypothetische) Physiologie	53
3.5.5	Bewertung der Ergebnisse	55
3.6	Mausversuch – Fasten oder nicht fasten?	56
3.6.1	In normalen Zellen, aber nicht in Tumorzellen steigt durch Short-Term-Starvation die Resistenz gegenüber Chemotherapeutika.....	56
3.6.2	Einfluss einer kalorienreduzierten Diät auf die Effektivität von Chemotherapeutika.....	60
3.6.3	Short-Term-Fasting im Unterschied zu lang praktizierter Kalorienrestriktion.....	60
3.7	STF während der Zytostatikatherapie beim Menschen	60
3.7.1	University of Southern California 2009 – Safdie et al.	61
3.7.2	Studie am Leiden University Medical Center 2015 - De Groot et al.	63
3.7.3	University of Southern California Davis School of Gerontology 2016 – Dorff et al.	65
3.7.4	Charité Studie 2018 – Bauersfeld et al.	68
3.8	Grenzgänge zwischen STF und FMDs beim Menschen.....	72
3.8.1	Universität Freiburg 2020 – Zorn et al.	72
3.9	Fasting-Mimicking-Diet und Chemotherapie beim Menschen	78
3.9.1	Dutch Breast Cancer Research Group – 2020 und 2021 Lugtenberg and Stefanie de Groot et al.	78
3.10	Kontraindikationen gegen eine klinische Teilnahme am STF/FMDs-Regime .	80
3.11	Gefahren durch STS	82
3.12	Kann Fasten allein als Karzinomtherapie in Betracht gezogen werden?	82
3.12.1	Einfluss von Low-Protein Diäten auf die Tumorprogression.....	83
4	Diskussion	83
	Literaturverzeichnis	89

Abkürzungen und deren Erklärung

Abkürzung	Englische Bezeichnung	Deutsche Bezeichnung
ATP		Adenosintriphosphat
¹⁸ F-FDG		Fluorodeoxyglucose (¹⁸ F)
5-HT3-Rezeptor		5-Hydroxytryptamin-3-Rezeptor
ABL1	abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1	Tyrosinkinase ABL1
Acetyl-CoA		Acetyl-Coenzym
AKT		Serin/Threonin-Kinase
ALP		alkalische Phosphatase
ALT		Alaninaminotransferase
ANG-1		Angiopoietin 1
ARE	antioxidative response elements	
BC	breast cancer	
BCR	breakpoint cluster region	
BIPQ	brief illness perception questionnaire	
BMI		Body-Mass-Index
BRAF	serine/threonine kinase	Eigenname
bzw.		beziehungsweise
CAF	cancer-associated-fibroblasts	
cAMP		Cyclisches Adenosinmonophosphat
CAR-T	chimeric antigen receptor	chimärer Antigenrezeptor
CBP	CREB-binding protein	
CDK	cyclin-dependent kinase	Cyclin-abhängige Kinase
CIPN		Chemotherapie induzierten Polyneuropathien
cMyc		Eigenname mit Bezug zu Myelocytomatose
CR	calory restriction	
CREB	cAMP response element-binding	

	protein	
CRP		C-reaktives Protein
CRTC2	CREB-regulated transcription coactivator 2	
CSF	colony-stimulating factor	
CSF-1	colony-stimulating factor 1	
CTC	common toxicity criteria	
CTCAE	common terminology criteria for adverse events of national cancer institute	
CXCL12		CXC-Motiv-Chemokin 12
DHFR		Dihydrofolatreduktase
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium	
DNA	deoxyribonucleic acid	Deoxyribonucleinsäure
DNAPKcs		DNA-abhängige Proteinkinase, katalytische Untereinheit
DSR	differential stress resistance	
DUBs		Deubiquitinasen
DXR		Doxorubicin
EBNA-1		EBV nukleäres Antigen 1
EBV		Ebstein-Barr Virus
ECM	extracellular matrix	
EGF	epidermal growth factor	Epidermealer Wachstumsfaktor
EMT	epithelial-mesenchymal transition	epithelial-mesenchymale Transmission
EORTC	european organisation for research and treatment of cancer	
ERK	extracellular-signal regulated kinasen	
etc.	et cetera	und die übrigen [Dinge]
Ets	e twenty-six	
FACIT©	functional assessment of chronic	

	illness therapy	
FACT-G©	Functional Assessment of Cancer Therapy-General-General	
FAD		Coenzym Flavin-Adenin-Dinukleotid
FADH ⁻		Flavin-Adenin-Dinukleotid-Anion
FBS	fetal bovine serum	
FGF-2	fibroblast growth factor-2	Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2
FMD	Fasting-mimicking Diet	
FOXO1	forkhead box protein O1	
FT4		freies Thyroxin
GAP	GTPase-activating proteins	
G-CSF	granulocyte-colony stimulating factor	Granulozyten-Kolonie-stimulierende Faktor
GDP		Guanosindiphosphat
GEF	guanine-nucleotide exchange factor	
GEF	guanosine exchange factor	
GGT		Gammaglutamyltransferase
GLUT1		Glucosetransporter 1
GR		Glutathionreduktase
GSH		Glutathion
GSH		Glutathion
GSSG		Glutathiondisulfid
GSSG		oxidiertes Glutathion
h		Stunde(n)
H2O		Wasser
H2O2		Wasserstoffperoxid
HCC	Karzinoma hepatocellulare	Hepatozelluläre Karzinom
HER2	human epidermal growth factor receptor 2	
HGF	hepatic growth faktor	Hepatischer Wachstumsfaktor

Hh	hedgehog	
HHV		humanes Herpes Virus
HIF		Hypoxie-induzierter Faktor
HIV	human immunodeficiency virus	
HLA	human leukocyte antigen	
HO1		Häm Oxygenase 1
HPV		humanes Papillomavirus
HS ⁻		Hydrosulfid-Anion
HSe ⁻		Selenid
hTERT	human telomerase reverse transcriptase	
IGF-1	insulin-like growth factor 1	
IGFBP1	IGF-1 binding protein 1	
IGF-BP3	insulin-like growth factor binding protein 3	
IL-1 β		Interleukin-1 β
kcal		Kilokalorien
KD	ketogenic diet	
kg		kilogramm
Kras	Kirsten rat sarcoma virus	
KSHV	Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus	
LCHP	low carb & high-protein	
LCR	locus control region	
LID	liver IGF-1 deficient	
LMP-1	EBV latent membrane protein 1	
MAPK	mitogen-activated protein kinase	
MEK	serine/tyrosine/threonine kinase	Synonym: MAP-Kinase
MEM	Modified Eagle's Medium	
MET		mesenchymal-epidermale Transmission
mg		milligramm
MHC	major histocompatibility complex	Haupthistokompatibilitätskomplex

mSTF	modified Short-term Fasting	
mTOR	mammalian target of rapamycin	
mTPORC1	mechanistic target of rapamycin complex 1	
MTX		Methotrexat
NADH		Nicotinamidadenindinukleotid
NC	normocaloryc diet	
NCI CTCAE	National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events	
NDM	nutrient-deprived medium	
NF-kB	nuclear factor 'kappa-light-chain- enhancer' of activated B-cells	
NK-Zellen	natural killer cells	
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	
NRS	nutritional risk screening	
O ₂		Sauerstoff
O ₂ ⁻		Superoxidanion
p53		humaner Tumorsuppressor p53 (Eigenname)
PAH		Polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe
PARP		Poly (ADP-ribose) Polymerase
Pathway		Signalweg
PBMCs	peripheral blood mononucleated cells	
PBS	phosphate-buffered saline	Phosphatgepufferte Salzlösung
PC	pyruvatecarboxylase	
PCA	penicillin acid	
PDGF	platelet-derived growth factor	
PDGF	Platelet-derived growth factor	Thrombozytenwachstumsfaktor
PDK-1	phosphoinositide-dependent	

	kinase-1	
PEPCK-C	phosphoenolpyruvatcarboxykinase	
PET		Positron Emission Tomographie
PI3K		Phosphoinositid-3-Kinasen
PIP ₃		Phosphatidylinositol-3,4,5-Triphosphat
PPA	papyracillic acid	
pRb		Retinoblastom-Protein
PTEN	phosphatase and tensin homolog	
PTHrP	parathyroid hormone-related peptide	
QoL	quality of life	
RAF	rapidly accelerated fibrosarcoma	
RalGDS	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator	
RAS	Rat sarcoma virus	
RB	retinoblastoma-associated	
REDOX		Reduktions-Oxidations-Reaktion
Rheb	Ras homolog enriched in brain	
ROS	reactive oxygen species	
SCGE	single cell gel electrophoresis	
Shh	sonic hedgehoc	
SOD		Superoxid Dismutase
STF	Short-term Fasting	
STS	Short-term Starvation	
T3		Triiodothyronin
TCA	tricarboic acid	Trikarbonsäue
TCH		TCH-Regime (Taxotere, Carboplatin, Herceptin)
TERT	telomerase reverse transcriptase	
TGF-beta	transforming growth factor beta	
TNF		Tumornekrosefaktor
TP53		TP53-Tumorsuppressor-Gen

Trx		Thioredoxin
TrxR		Thioredoxinreduktase
TSH		Thyroidea-stimulierendem Hormone
UPR	unfolded protein response	
UPS		Ubiquitin-Proteasom-System
VEGF	vascular endothelial growth Factor	
WHO	World Health Organization	
Wnt	Wg für wingless + int-1	
γ -H2AX	H2A histone family member X (phosphorylated form)	

Zusammenfassung in Deutsch

Gesunde Zellen verfallen in Zell- und Tierversuchen unter Nährstoffdeprivation in einen zytoprotektiven Stoffwechsel, während bei malignen Zellen die Schwächung einiger ihrer Schutzmechanismen beobachtet wird. Im Zell- und Tierversuch führt Nährstoffdeprivation zu einer erhöhten Überlebensrate nach hochdosierter Chemotherapeutikaapplikation.

Short-term Fasting (STF) und Fasting-mimicking Diets (FMDs) verursachen deutliche metabolische Veränderungen. Die Frage ist, ob durch STF oder FMDs ein Vorteil für Patientinnen/Patienten, die einer Chemotherapie unterzogen werden, erwächst.

Diese Diplomarbeit soll unter Zusammenfassung von Grundlagen, anhand von Beispielen ausgewählter Zell- und Tierversuche, sowie rezenten klinischen Studien einen Überblick über den aktuellen Wissensstand geben, ob es Patientinnen/Patienten bei spezifischen Tumorerkrankungen von Nutzen sein kann, eine Chemotherapie in Kombination mit STF oder FMDs anzuwenden.

Aufgrund gesichteter Ergebnisse aus Zell- und Tierversuchen wurde bezüglich klinischer Studien eine stärkere Gewichtung auf STF als auf FMDs gelegt.

Für die Literaturrecherche wurde die Datenbank Pubmed, sowie Fachbücher und Fachzeitschriften verwendet.

Gesunde Zellen werden im Zellversuch unter Nährstoffrestriktion resistenter gegen Chemotherapeutika. Antioxidative Signalwege werden verstärkt, Autophagie und die DNA-Reparatur angeregt. Pankreaskarzinomzellen werden im Zellversuch unter Nährstoffdeprivation besonders sensibel für Redox-System-Inhibitoren. Dies weist darauf hin, dass Nährstoffdeprivation die hoch entwickelten Redox-Systeme von Krebszellen empfindlich stört, was bei gesunden Zellen nicht der Fall ist. Eine Ursache könnte ein Mangel an Edukten der GSH-Synthese, also den Aminosäuren Gln, Gly und Cys sein. Ob entsprechend niedrige Spiegel dieser Aminosäuren durch Fasten oder Nahrungsdeprivation beim Menschen erreicht werden können ist bisher ungeklärt. An Mäusen konnte eine deutliche Steigerung des Überlebens nach Verabreichung einer einmaligen High-Dose-Chemotherapie nach 60-stündiger Short-term Starvation vor der Injektion nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Schutzwirkung scheint mit dem Absinken bestimmter Signalmoleküle wie IGF-1 zu korrelieren. Eine Senkung der IGF-1-Baseline um ca. 70 % konnte möglicherweise im Tierversuch einen signifikanten Schutz gesunder Zellen vor Toxinen anzeigen.

Klinische Studien zeigen ein gemischtes Bild bezüglich des Ausmaßes der Verbesserung des Nebenwirkungsschemas durch STF oder FMDs unter Chemotherapie und können die

Ergebnisse aus Zell- und Tierversuchen bezüglich protektiver Effekte nicht im selben Ausmaß bestätigen. Die bisherigen Studienmodelle waren sehr unterschiedlich strukturiert. Die Fastendauer vor der Chemotherapieanwendung, als auch die erlaubte Kalorienaufnahme unterschieden sich deutlich voneinander. γ -H2AX- und Comet-Assay-Messungen weisen auf einen DNA-protektiven Effekt des Kurzzeitfastens während und nach einer chemotherapeutischen Behandlung hin. Dessen Ausmaß steigt wohl mit der Fastendauer vor der Chemotherapieapplikation. Ein protektiver Effekt auf das Knochenmark ist wahrscheinlich. In einzelnen Studien konnten unter anderem Nausea, Erbrechen, Diarrhö durch STF signifikant reduziert werden. Häufig angegebene unerwünschte Wirkungen des Fastens sind unter anderem Kopfschmerzen, Hungergefühl und Schwindel. Anhand der vorliegenden klinischen Studien lässt sich keine pauschale Empfehlung zum Fasten oder zu FMDs bei Chemotherapie geben. Bei bestehendem Patientinnenwunsch/Patientenwunsch ist eine durch STF begleitete Chemotherapie aus Sicht der Patientinnensicherheit/Patientensicherheit, unter strenger Observation und unter Berücksichtigung von Gegenanzeigen jedoch anwendbar. Um valide Aussagen bezüglich der Protektion gegenüber der Toxizität von Chemotherapeutika beim Menschen, die einer Chemotherapie unterzogen werden, treffen zu können, sind jedoch deutlich umfangreichere Studien nötig.

Abstract in English

Cell- and animal trials show that healthy cells react differently to nutrient deprivation compared to tumor cells. Under these conditions healthy cells enter a cytoprotective state, while cancer cells develop a state of reduced protection capacities. Cell- as well as animal trials show higher survival rates in individuals exposed to nutrient deprivation after high-dose chemotherapy application. Short-term Fasting (STF) und Fasting-mimicking Diets (FMDs) cause metabolic changes. An important question is whether STF or FMDs show an advantage for patients undergoing chemotherapy.

The aim of this thesis is to give an overview of current knowledge whether patients with specific tumors might profit from chemotherapy combined with STF or FMDs, by pointing out basic knowledge and furthermore presenting detailed results from selected cell-, animal- and recent clinical trials. Due to findings within preclinical trials the main emphasis of this thesis is put on STF regarding clinical trials.

For the conduction of Literature research Pubmed, reference books and Journals were used. In cell trials healthy cells developed higher resistance against chemotherapeutics after being exposed to nutrient deprivation. Antioxidative pathways, autophagy and DNA-repair are enhanced. In opposite to healthy cells, Pancreas carcinoma cells develop a sensitivity against redox inhibitors after nutrient deprivation. This might be due to a severe disruption of their highly developed Redox Systems, which could be caused by the lack of educts of glutathionesynthesis, precisely Gln, Gly und Cys. Whether STF or FMDs can lead to similarly low levels of amino acids as in these cell trials is still unclear. Survival in mice after high dose chemotherapy injection was significantly increased when mice were starved 60 hours before injection. The extent of protection might correlate with the reduction of signal molecules as for example IGF-1. A 70 % IGF-1 reduction in plasma compared to baseline might result in a protection of healthy cells against toxicity.

Clinical trials show a mixed picture regarding protection against toxicity related to the implementation of STF or FMDs during chemotherapeutic treatment.

Compared to the presented mouse model experiments, clinical trials show significant differences regarding the amount of permitted calory intake per day, supportive medication, as well as time fasted before chemotherapeutic injection.

γ -H2AX- and Comet Assay measurements implicate DNA-protection by introducing STF during chemotherapeutic treatment. The extent of this effect might increase the longer an individual fasts prior to chemotherapeutic injection. A protective effect on bone marrow through STF is likely. Individual studies show significant reduction of chemotherapeutic

side effects like nausea, diarrhea and vomiting related to STF. As for side effects concerning STF headache, hunger and dizziness are often noted.

Taking all investigated clinical trials into consideration, it is not possible to give a general recommendation concerning STF or FMDs for patients undergoing chemotherapy, due to low quantity of study results.

Einleitung

Die Krebserkrankung gehört zu den am meisten gefürchteten Krankheiten (1). Krebserkrankungen oder direkt damit in Verbindung stehende Krankheiten sind die zweithäufigste Todesursache weltweit (2). Die Diagnose bedeutet einen Einschnitt im Leben erkrankter Menschen und deren Angehörigen. Mit geschätzten 492.000 Neuerkrankungen im Jahr 2016 innerhalb der Bundesrepublik-Deutschland und einem durch den demographischen Wandel bedingten geschätzten Anstieg um 23 % zwischen 2015 und 2030 (3), wird die Krebserkrankung auch in Zukunft eine bedeutende Rolle in der Gesellschaft und deren medizinischer Versorgung spielen. Die Säulen der Krebstherapie bilden, abhängig von den spezifischen genetischen Eigenschaften der Tumorzellen in Kombination, in variabler Kombination oder alternativ, die chirurgische Resektion, die Strahlentherapie, die Chemotherapie und sich fortschreitend und vielversprechend etablierend die CAR-T Zelltherapie (4-7).

Seit der ersten durchgeführten Chemotherapie mit Senfgas im Jahr 1949 gilt die Chemotherapie als eine über die Jahre sehr etablierte Therapieform (8). Aufgrund der Tragweite einer Krebserkrankung für die unmittelbar und indirekt Betroffenen ist jede Therapieverbesserung wünschenswert.

In den letzten Jahren stieg die Zahl publizierter wissenschaftlicher Studien und Reviews auf Pubmed stetig an, die einen Zusammenhang zwischen Short-term Fasting bzw. Fasting-mimicking Diets und einer verbesserten Verträglichkeit für Krebspatientinnen/Krebspatienten, die eine Chemotherapie durchlaufen, bei bestimmten Tumorerkrankungen und Patientinnengruppen/Patientengruppen nahelegen.

Diese Diplomarbeit soll dem Leser unter Zusammenfassung von Grundlagen und der Behandlung von Beispielen einen Überblick über den aktuellen Wissensstand geben, inwiefern es Patientinnen/Patienten bei spezifischen Tumorerkrankungen, bei denen eine Chemotherapie in Kombination mit Short-term Fasting oder Fasting-mimicking Diets in Bezug auf Wohlbefinden, oder Dosiserhöhung eine solche Therapie von Nutzen sein könnte.

1.1 Krebsentstehung

Doch wie entsteht Krebs? Was ist der Unterschied zwischen „normalen“ körpereigenen Zellen und maligne entarteten? Der Abschnitt, den eine vorerst gesunde Zelle bis zur Krebsentstehung durchlebt, wird als maligne Transformation und die Entstehung von malignen Tumoren als Karzinogenese bezeichnet. Laut Mehrschritthypothese beginnt alles

mit einer anfänglichen Beschädigung der DNA. Dieser erste Schaden wird als Initiation bezeichnet. Es gibt mehrfach redundante zelleigene Reparaturmechanismen, welche diesen Defekt reparieren oder Signalwege, welche, falls der Schaden irreparabel ist, eine Apoptose einleiten. Entsteht bei der Zellteilung eine Mutation beispielsweise durch einen Ablesefehler und entfallen sowohl Reparatur als auch Apoptose, wird im krebsbegünstigenden Fall diese Mutation in einem oder mehreren Proto-Onkogenen, Reparaturgenen, Tumorsuppressorgenen oder Apoptose-regulierenden Genen weitergegeben. Diese Mutation führt zur Funktionseinschränkung oder zum Funktionsausfall des entsprechenden Proteins in den folgenden Zellen. Kommt es in Folge zur klonalen Vermehrung dieser mutierten Gene wird dies Promotion genannt. Die darauffolgende Periode wird als Latenz bezeichnet. Während der Latenz ist die betroffene Zelle klinisch makroskopisch unauffällig, es findet kein relevantes Tumorwachstum statt, allerdings laufen weitere Mutationen, die zu einer „weiteren Transformation, zu Hyperplasie, veränderter Zellmorphologie und Aneuploidie“ (9) führen, ab (10). Sobald erste klinisch abnorme Phänotypen auftreten, ist die Mutationsrate gesteigert. Es ist nicht unbegründet anzunehmen, dass je mehr die DNA, insbesondere die Sequenzen von Reparaturproteinen, Apoptose-induzierenden Signalproteinen, immunmodulierenden Proteinen etc. mutiert sind, desto weniger können Mutationen durch Reparatur, Apoptose oder Zelltod durch das körpereigene Immunsystem unterbunden werden. Zuletzt kommt es zur ungebremsten Proliferation der betroffenen Zellen. Der Tumor wächst. Diese Phase wird Progression genannt (11). Während dieser Wachstumsphase bilden sich nun verschiedenste Mutationen in Zellen aus. Es kommt zu Aneuploidien. Ihr Ausmaß korreliert mit der Malignität der Zellen (9). Der Grad der Aneuploidie ist auch ausschlaggebend für das Ausmaß der Instabilität des Karyotyps der Krebszelle. Anfangs nicht messbar, steigert sich die Rate von der Addition oder Subtraktion ganzer Chromosomen mit Zunahme des Ausmaßes der Aneuploidie auf wenige Prozent (9, 12-14). Das bedeutet: der Tumor besteht im Laufe seiner Entwicklung immer weniger aus einer homogenen gleichartigen Zellmasse, sondern ist ein ausgesprochen heterogenes Gemisch unterschiedlichster Karzinomzellen, welche miteinander interagieren. Karzinomzellen rekrutieren auch normale Zellen, wie das Tumor-assoziierte Stroma (15). Dieses Tumor-assoziierte Stroma trägt entscheidend zum Wachstum von Tumoren bei.

1.2 Ursprung einer Krebszelle

Hypothetisch wäre folgendes Modell denkbar: Am Anfang wird ein DNA-Schaden hervorgerufen. Die Möglichkeiten, wie so ein Schaden hervorgerufen werden kann, sind sehr unterschiedlich.

Dies kann durch eine direkte Schädigung mittels reaktiver Verbindungen, Noxen wie beispielsweise UV- und γ -Strahlen, oder indirekt durch Metabolite onkogener Substanzen, durch physische mechanische Irritation mit folgendem dauerhaftem lokalem Entzündungsgeschehen wie beispielsweise bei Asbestfasern erfolgen.

Auch kann dies durch chemische Verbindungen (16), wie die Gruppe der Polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAH) (17), Aromatischen Amininen (18), Nitroaromaten (19), Chrom-, Nickel- und Arsenverbindungen (20), Vinylchlorid (21), Aflatoxinen (22) oder auch Physische Noxen wie UV-Licht (23) und Gammastrahlung (24) entstehen (25). Nebenbei bemerkt können auch Retroviren unsere DNA verändern. Hierbei kommt es nicht primär zur Mutation. Das Virus-Genom wird über Reverse Transkriptase und Integrase in die menschliche DNA eingebaut und kann dann sekundär mutieren oder andere Gene beeinflussen (26, 27).

Des Weiteren können noch die direkten Folgen des eingetretenen DNA-Schadens unterschieden werden. Sie kann in der Umwandlung von Protoonkogenen zu Onkogenen, dem Ausschalten von Tumorsuppressorgenen, im genaueren der Etablierung von Immune-Escape-Mechanismen, der Apoptosevermeidung, dem Aufrechterhalten von Zellwachstum, auch unabhängig von Wachstumsfaktoren, ungehemmter Replikation, der Angiogenese, dem Verhindern des natürlichen Zelltodes durch Alterung, dem Ermöglichen von Metastasierung als auch dem Rekrutieren anderer, nicht mutierter physiologischer Körperzellen zur Aufrechterhaltung des Tumorwachstums liegen (15).

Aus der Akkumulation solcher DNA-Schäden, die zu Mutationen führen und epigenetische Veränderungen hervorrufen, in deren Folge es aus verschiedenen Gründen nicht zur Apoptose kommt, resultiert am Ende ein vom Körper weitgehend unreguliertes Wachstum, lokale Invasion in andere Gewebe und Metastasierung (28).

Die Art und Weise, wie solche Schäden auf genetischer Ebene hervorgerufen werden, soll in den folgenden Abschnitten besprochen und mit Beispielen verdeutlicht werden.

1.2.1 Tumorsuppressoren

Nicht jede Mutation löst eine Neoplasie aus. Im normalen Zellteilungszyklus existieren dutzende sogenannter „Gatekeeper“ bzw. Tumorsuppressorgene. Zwei sehr bekannte Tumorsuppressorgene sind das RB (Retinoblastoma-associated) sowie Tp53. Tp53 kodiert

für das Protein p53. Proteine beider Gene agieren als zentrale Kontrollpunkte des Zellzyklus. Kommt es währenddessen zu fehlerhafter Transkription oder DNA-Schäden, wird im Zusammenspiel mit anderen Proteinen der Zellzyklus angehalten oder bei nicht reparabler Schädigung die Apoptose eingeleitet.

1.2.2 Proto-Onkogene und Onkogene

Gene, welche das Potential haben Krebs hervorzurufen, heißen Onkogene (28, 29). Ihren Ursprung haben sie unter anderem in sogenannten Proto-Onkogenen, welche Teil des genetischen Codes des Menschen sind. Proto-Onkogene induzieren im physiologischen Ablauf Zellwachstum, treiben die Zellteilung voran und verhindern eine Apoptose, wenn diese nicht indiziert ist. Mutieren Proto-Onkogene, werden diese beispielsweise durch Mutation ihrer Promotorsequenz überdurchschnittlich häufig transkribiert und letztlich translatiert, werden sie zu Onkogenen (25). Auch durch Mutation eines Startcodons, bzw. eines Basenpaares innerhalb des Startcodons, falls sie in einer „Gain-of-function“ resultiert, wird die Wahrscheinlichkeit einer malignen Entartung erhöht.

Es gibt also eine Vielzahl an Möglichkeiten, wie ein Proto-Onkogen zu einem Onkogen werden kann. Mehrere Möglichkeiten werden zur Veranschaulichung folgend aufgeführt.

1.2.3 Promotor Mutation

Wie bereits beispielhaft erwähnt, können die regulatorischen Bereiche vor dem eigentlichen Proto-Onkogen mutieren, und dieses dann vermehrt abgelesen werden. Zu den regulatorischen Bereichen zählen unter anderem Promotoren, Enhancer und Silencer. Eine Promotormutation hätte im malignitätsbegünstigenden Fall eine erhöhte Konzentration des Proteins und somit eine Misregulation zur Folge.

Ein gutes Beispiel, bei dem eine Mutation eines Promotors die Krebsentstehung entscheidend beeinflusst, stellt die TERT-Promotor-Mutation dar (30). Diese „Telomerase reverse transcriptase“ (TERT) ist ein katalytischer Subkomplex des Enzyms Telomerase. Die Telomerase, im Menschen die hTERT (31), ist ein Ribonukleoprotein, welches die De-novo-Addition von tausenden 5' TTAGG-3' Nukleinbasen an die Telomere der Chromosomen katalysiert. Nach jeder Replikation kommt es an den Enden der Chromosomen, den Telomeren, zu einer Verkürzung des DNA-Stranges. Mit zunehmendem Alter büßt das Genom durch diese unvollständige Replikation des diskontinuierlichen Folgestranges an Stabilität ein. Ist ein spezifischer Punkt erreicht, geht die Zelle entweder in Seneszenz über, stirbt oder entartet. Physiologischerweise ist die Telomerase in den meisten somatischen Zellen inaktiv oder in vivo nicht nachweisbar.

Eine erhöhte Aktivität findet sich physiologischerweise in Keimbahn-, Knochenmarks- und Embryonalzellen (32). Bezüglich der malignen Transformation ist ein Ausbleiben des Apoptosesignals entscheidend, welches normalerweise durch verkürzte Telomere ausgelöst wird. Es gibt nun verschiedene Mutationsmöglichkeiten für Promotoren, die einer TERT vorgeschaltet sind. Beispielhaft zu nennen wäre ein Nukleotidaustausch in der Sequenz CCTGAA>CCGGAA. Diese neue Sequenz erzeugt eine Bindungsstelle für Ets (E twenty-six) Domäne-Transkriptionsfaktoren, welche an GGA(A/T) ansetzen um zu transkribieren (30). Diese zusätzliche Bindungsmöglichkeit sorgt für eine verstärkte Transkription der TERT in betroffenen Zellen, und kann malignitätsbegünstigend Seneszenz und Apoptose hinauszögern. Dadurch ist die TERT-Aktivierung ein fundamentaler Schritt der Tumorgenese, da sie bei ausreichender Translation der Telomerase eine durch Onkogene beschleunigte, unbegrenzte Zahl an Zellteilungen erlaubt (33). In einer Untersuchung von Horn et al., welche 2013 in Science veröffentlicht wurde, fanden sich in 85 % der 53 untersuchten metastasierten malignen Gewebe Mutationen des TERT Promotors (30). Promotor-Mutations-bedingte-TERT-Aktivierung konnte in den darauffolgenden Jahren (Stand 2016) in über 50 unterschiedlichen Tumorarten nachgewiesen werden (33).

1.2.4 Punktmutation innerhalb eines Protoonkogens

Ebenso ist eine Mutation der DNA-Sequenz des Proto-Onkogens möglich, wodurch entweder seine enzymatische Aktivität oder seine Stabilität innerhalb der Zelle und somit seine Halbwertszeit erhöht würde. In beiden Fällen würde der Anteil der Enzymaktivität des durchs Onkogen codierten Enzyms am Zellhaushalt steigen. Bereits eine einzelne Punktmutation, bei der ein einzelnes Nukleotid der DNA vertauscht wird, und dadurch potenziell den Einbau einer anderen Aminosäure zur Folge hat, kann aus einem Proto-Onkogen ein Onkogen machen. Das klassische Beispiel hierfür ist die Punktmutation im RAS-Protoonkogen, das für ein kleines G-Protein codiert und mit Wachstumsfaktoren wie PDGF oder EGF den Zellzyklus in die S-Phase leitet. Somit ist es essenziell für die Zellteilung. Bei den Untergruppen RasH, RasK und RasN codieren alle für ein membranassoziertes Protein, welches eine hohe Bindungsaffinität für GTP und GDP aufweist. Bindet GTP an RAS, wird es aktiviert und bildet den Zustand RasG. Dabei wird GTP durch RasG zu GDP hydrolysiert, wodurch Ras in einen inaktiven Zustand versetzt wird. Diese beiden Konformationsänderungen zwischen stabilem inaktiven und aktivem Zustand werden dabei von Nukleotid-Austauschfaktoren GEF (guanine-nucleotide exchange factor) und vom aktiven in den inaktiven Zustand durch GAP (GTPase-activating proteins) gesteuert (34).

Durch nur eine einzige Punktmutation auf Codon 12, oder 13, durch welche bei der Translation anstelle der Aminosäure Glycin Valin eingebaut wird, wird diese recht strenge Regulierung aufgehoben. Untersuchungen legen nahe, dass durch eine Konformationsänderung ein sterischer Block den Arginin-Finger von GAP blockiert und GAP die GTPase nicht zur Hydrolyse bewegen kann (35). Dadurch bindet also die GTPase nicht mehr an RasG, was zu einer deutlichen Verlängerung des Verbleibens von Ras in seiner aktiven Form und somit zum Konzentrationsanstieg von RasG führt. Nebenbei bemerkt gibt es die Gruppe der „Ras-related Diseases“. Dieser Oberbegriff umfasst die Krebserkrankungen, Rasopathien und einige psychiatrische Erkrankungen, die mit einer Ras-Mutation assoziiert sind (36).

1.2.5 Amplifikation

Liegt eine bestimmte Gensequenz, in der Regel intrachromosomal, häufiger vor als physiologisch ursprünglich determiniert, spricht man von „Amplifikation“.

Der Mechanismus der Amplifikation ist ein physiologisch vorkommender Prozess (37). Die dadurch herbeigeführte Überexpression bestimmter Gene dient der Anpassung von Säugetierzellen an erhöhten Zellstress und somit deren Überleben. Dieser Zellstress kann beispielsweise durch Toxine oder zytotoxische Medikamente wie Zytostatika hervorgerufen werden. Diese Amplifikationsmechanismen werden jedoch auch von Tumorzellen vollzogen (38, 39). Insgesamt existieren (Stand 2013) vier Entstehungstheorien. Bereits in den 1980er Jahren konnte die Amplifikation des Dihydrofolatreduktase (DHFR) Gens innerhalb der AT3000 Linie der Methotrexatresistenten Zellen, (MTX)-Resistant murine sarcoma 180 nachgewiesen werden (38, 39). Dihydrofolatreduktase katalysiert die Reaktion, bei der Dihydrofolat unter Aufnahme von Elektronen zu Tetrahydrofolat hydriert wird. Tetrahydrofolat ist Bestandteil der Glycin-, Purin- und Thymidinsynthese. Diese Produkte sind von großer Wichtigkeit für die DNA-Synthese, und somit auch für die Zellteilung, werden also für das Funktionieren einer erhöhten Teilungsrate benötigt (40). Methotrexat ist ein strukturelles 4-amino Analogon der Folsäure und hemmt diese kompetitiv. Außerdem hemmt Methotrexat reversibel die besagte Dihydrofolatreduktase (DHFR), wodurch es unter anderem Zellen an der DNA-Replikation hindert und zytostatisch wirkt (39). Zusätzlich wirkt es zytotoxisch. Daher findet es unter anderem Anwendung in der (Basis-)Therapie von rheumatischen Erkrankungen, und eben auch in der Chemotherapie als Zytostatikum bzw. als Antimetabolit (40, 41). Werden Zellen einer spezifischen Konzentration Methotrexat ausgesetzt, kommt es zu einem Selektionsdruck, wonach bei überlebenden Zellen eine

erhöhte Menge an Dihydrofolatreduktase-Gensequenzen, also eine stattgefundene Amplifikation, festgestellt werden kann (42). Diese spezifische Amplifikation des DHFR-Gens konnte bereits in verschiedenen Zelllinien beobachtet werden (39). Sie soll hier lediglich als Beispiel dienen. Es ist naheliegend, dass Methotrexatresistente Zellen keine Ausnahme darstellen, sondern sich durch Amplifikation verschiedenste Resistenzen ausbilden können (43).

1.2.6 Translokation

Eine Translokation der Gensequenz eines Proto-Onkogens kann entweder an eine Stelle mit erhöhter Ableserate oder innerhalb einer anderen 2. Gensequenz mit der Möglichkeit der Ausbildung eines Hybridproteins erfolgen. Solche Hybrid- oder Fusionsproteine können ein erhöhtes onkogenes Potential besitzen. Ein Beispiel wäre das Philadelphia Chromosom, bei welchem ein Teil des Chromosom 9 mit einem Bruchstück des Chromosom 22 verbunden wird. Das Chromosom 9 enthält das „tyrosine-proteine kinase 1 ABL“ oder „ABL1“-Gen welches mit dem „BCR“-Gen auf Chromosom 22 verschmilzt und das Onkogen „BCR-ABL“ bildet, welches unter anderem für eine erhöhte Protein-Kinase-Aktivität sorgt. Das Philadelphia Chromosom ist unter anderem mit chronisch myeloischer Leukämie assoziiert.

Bei der Zellteilung kann es auch zu einer Chromosomenaberration kommen, sodass ein Chromosomensatz doppelt vorhanden ist, und folglich die darauf liegenden Proto-Onkogene doppelt so häufig abgelesen werden.

1.2.7 Virale Infektionen und virale Transduktion

Ca. 15 % der malignen Erkrankungen sind viral bedingt. Für einige Viren konnte eine direkte oder indirekte Beteiligung an der Onkogenese nachgewiesen werden. Bekanntere Vertreter wären unter anderem Herpesviren wie das Epstein-Barr-Virus oder das „Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus“ (KSHV) und Viren anderer Gruppen wie Humane Papillomaviren, HI-Viren, Hepatitis B und C Virus oder das Merkel Zell Polyomavirus (44). Zwischen Infektion mit dem Virus und dem Auftreten einer malignen Erkrankung können Jahrzehnte vergehen. Virusbeeinflusste Malignome treten häufiger bei immunsupprimierten Individuen auf.

Es sind über 200 Vertreter der Herpesviridae bekannt, von denen neun spezifisch für den Menschen sind (45). Es handelt sich um vergleichsweise größere, 100-140 Kilobasenpaare zählende DNA-Viren mit zirkulär angeordneten doppelsträngigem Genom (44).

1.2.7.1 Ebstein-Barr-Virus

Das Ebstein-Barr-Virus ist ein mutationsfreudiges Gammaherpesvirus, welches Vorläufer B-Zellen infiziert und deren Differenzierung induziert. EBV infizierte B-Zellen sind sehr immunogen und vermitteln ausgesprochen ausgeprägte immunologische Reaktionen zytotoxischer T-Zellen. Spezifische CD8⁺ T-Zellen binden gezielt an „HLA class 1-associated peptides“ von EBV „latent Proteins“. Dennoch schafft es EBV nach der Infektion latent in B-Lymphozyten zu verweilen. Etwa 90 % der Weltbevölkerung sind EBV positiv, ohne dass die Mehrheit der Betroffenen Symptome zeigt (46). Dies ist möglich, da infizierte Zellen während einer „Ruhephase“ die Produktion sämtlicher viraler wachstumsfördernder Proteine, ausgenommen EBV nukleäres Antigen 1 (EBNA-1), herunterregulieren. EBV nukleäres Antigen 1 ist essenziell für die Aufrechterhaltung der Stabilität des viralen Episoms. Jedoch sorgt es nicht für eine Virus-Proliferation und verursacht keine Immunreaktion, wodurch einer unbehelligten Ruhephase vordergründig nichts im Wege steht (44).

Aber genau dieses EBNA-1 wird in Zellen des Burkitt-Lymphoms produziert. Dies deutet darauf hin, dass dies mit EBV infizierte, ruhende, mutierte B-Zellen sind. Eine für Burkitt-Lymphom-Zellen typische Translokation ist die des c-MYC Gens, welches dadurch abhängig von einem Immunglobulin Enhancer wird. Die Verbindung der Translokation mit hohen Spiegeln des Antigens sorgt in der Folge für eine Proliferation der EBNA-1 exprimierenden B-Zellen.

EBV gelangt über infizierte Lymphozyten, welche in nasopharyngealem Epithel patrouillieren und sich dort verstärkt anreichern, in das dortige Epithel. Dies scheint, neben einer genetischen Disposition von HLA Sequenzen der MHC Region auf Chromosom 6p21, sowie HLA unabhängigen Loci wie beispielsweise TNFRSF19 auf 13q12, MECOM auf 3q26, CDKN2A/2B auf 9p21, CLPTM1L/TERT auf 5p151 (47-51), sowie zahlreichen loss-of-function Mutationen der NFκB-negativen Regulatoren, darunter CDKN2A/CDKN2B locus, CCND1 Amplifikation, TP53 Mutation, Mutationen des PI3K/MAPK Signalweges, der Chromatin Modifikation, und von DNA Reparaturgenen (52-56), ein signifikanter Faktor der Onkogenese zu sein (44). In den Zellen nasopharyngealer Karzinome wird LMP-1 (EBV latent membrane protein 1) exprimiert. LMP-1 induziert wiederum den Transkriptionsfaktor NF-κB, was zur Zellproliferation führt (54, 56).

Auch in 30 bis 50 % der Reed-Sternberg-Zellen des Hodgkin Lymphoms finden sich klonale EBV-Genome und betroffene Zellen zeigen eine latente virale Genexpression. Daher wird ein kausaler Zusammenhang vermutet (44, 57).

Kommt es zu einem Lymphom im Gehirn, kann man zu 100 % EBV-DNA nachweisen (44).

1.2.7.2 Bösartige Neubildungen infolge einer HIV-Infektion

Hat ein Mensch sich sowohl mit HIV, als auch mit Humanem Herpesvirus 8 infiziert, besteht für ihn das Risiko, die epidemische Variante des Kaposi-Syndroms zu entwickeln (58). Dabei handelt es sich um eine multizentrische Neoplasie aus vom lymphatischen Endothel abstammenden Zellen. Die nach einem ungarischen Dermatologen benannte Erkrankung präsentiert sich in etwa 90 % mit dunkel-pigmentierten bis rötlich-bläulichen Plaques und submukösen, schmerzhaften Knoten der Haut bzw. Submukosa. Durch Abflussstörungen bedingt können durch das Wachstum der Plaques Lymphödeme auftreten. Die Plaques können bei mechanischer Beanspruchung ulzerieren. Die disseminierten Plaques treten auch viszeral auf. Insgesamt werden vier Subtypen unterschieden. Darunter die hier kurz vorgestellte epidemische Variante, eine endemische Variante vornehmlich in der Subsahara auftretend, der klassische oder sporadische Subtyp, welcher ursprünglich vom ungarischen Dermatologen Kaposi beschrieben wurde und der iatrogene Subtyp, welcher nach Immunsuppression, insbesondere im Rahmen von Organtransplantationen auftritt (59). Nicht für alle vier Subtypen muss eine HIV-Infektion vorliegen (nur für die epidemische), allerdings ist die Voraussetzung für ein Kaposi-Sarkom jedweden Subtyps eine Infektion mit dem humanen Herpes Virus 8 [=Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV)]. HHV-8 infiziert Endothelzellen. Die durch HHV-8 codierten Proteine bieten der infizierten Zelle einen Selektionsvorteil sowie initiieren in der Zelle Immune-Escape Mechanismen. Außerdem initiiert HHV-8 in der Wirtszelle eine verstärkte Produktion von Zytokinen und weiterer inflammatorischer Signalmoleküle, wodurch das Tumor-assoziierte Gewebe zur Angiogenese und Proliferation angeregt wird. Wenn man betroffene Patienten und Patientinnen einer adäquaten antiviralen HIV-Therapie zuführt, führt dies zu Tumorregression. Dieser Zusammenhang macht es sehr wahrscheinlich, dass das zelluläre Immunsystem eine entscheidende Rolle bei der Verhinderung des Kaposi-Sarkoms spielt (44). Gleichzeitig ist festzuhalten, dass HHV-8 unter Immunsuppression ein klar onkogenes Potential zeigt, und zumindest 3 der in Folge erwähnten Hallmarks zuträglich ist (Entzündung („inducing

sustained angiogenesis“), Immune-Escape-Mechanismen, Proliferation („sustained proliferative signaling“).

1.2.7.3 Humanes Papillomavirus

Bei Papillomaviren handelt es sich um relativ kleine, ca. 8 kilo-Basenpaare umfassende DNA mit sich tragende, unbehüllte, 50 bis 55 nm im Durchmesser zählende Viren. Ihr Genom ist doppelsträngig zirkulär organisiert (60). Diese ist von einem ikosaedrischen Capsid umschlossen und beheimatet L1- und L2-Strukturproteine. HPV ist in Bezug auf seine Wirtszelle sehr gewebsspezifisch und befällt die basalen Keratinozyten des kutanen als auch mukosalen Epithels. Es synchronisiert seine Virenexpression mit der Zelldifferenzierung seiner Wirtszelle (61). Das Virus wird durch Hautkontakt, meist sexueller Natur übertragen. Der Großteil der Infektionen, mit Low-Risk HPV-Varianten wie 6, 11, 42, 43, 54, 57, 70, 72 und 90, gipfelt in der dermatologischen Präsentationsform der (Feig-)Warze. Allerdings gibt es High-Risk Viren, explizit die Virustypen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 und 82, welche onkogen wirken (62). Insgesamt wurden (Stand 2015) 200 verschiedene Humane-Papillomavirus-Genotypen sequenziert (63). Zu den direkt mit HPV in Verbindung gebrachten Karzinomen gehören das Zervixkarzinom, bei dem eine beinahe hundertprozentige Korrelation ausgemacht werden kann, als auch eine erhöhte Anzahl oropharyngealer Karzinome. Außerdem stehen anogenitale Karzinome wie das Vaginal- und Peniskarzinom, Vulvakarzinom und Analkarzinom im direkten Zusammenhang mit HPV-High-Risk-Virenstämmen. HPV induziert sowohl die Bildung der frühen Nebenkapsidproteine E1, E2, E4, E5, E6 und E7 als auch die späten Hauptkapsidproteine und Nebenkapsidproteine L1 and L2 (64). Eine ausreichend lange LCR-Region ist essenziell zur Regulation der viralen Expression (65). Die HPV-Onkoproteine E6 und E7 führen zu einer Suppression von den Tumorsupressor-Proteinen p53 und pRb, wodurch befallene Zellen ohne G1-Arrest in die S-Phase eintreten. High-Risk-HPV-Onkogene sind in der Lage, verschiedenste zelluläre Signalwege und Prozesse zu beeinflussen. Darunter fallen DNA-Reparatur, Angiogenese sowie Apoptose (66). Bezüglich der DNA-Reparatur ergibt sich eine inverse Korrelation von erniedrigten DNAPKcs (DNA-abhängige Proteinkinase, katalytische Untereinheit)-Spiegeln und erhöhten Spiegeln der Onkoproteine E6 und E7. Bei der DNAPKcs handelt es sich um ein Schlüsselenzym der DNA-Reparatur, es ist über Downstream-Pathways für die Bindung und Wiederverknüpfung von Doppelstrangbrüchen verantwortlich (67).

Die Unterdrückung von Tumorsuppressoren, als auch eine angehobene Angiogenese, eine verminderte strikte DNA-Reparatur und eine verminderte Apoptose sind als Onkogenesebegünstigende Faktoren zu werten.

1.2.7.4 Hepatitis B Virus

Hepatitis-B-Viren besitzen ein teilweise doppelsträngiges, teilweise einzelsträngiges Genom bestehend aus DNA. Das Hepatitis-B-Virus kann direkt und indirekt zur Onkogenese beitragen. Der Verlauf der Erkrankung ist sehr individuell. 90 % der Betroffenen bekämpfen das Virus bei Primärinfektion bis zur Heilung. Der Verlauf erstreckt sich von mild bis subklinisch. 10 % der Infizierten schaffen es nicht, virusfrei zu werden. Bei diesen stellt sich eine dauerhafte Antigenproduktion der infizierten Zellen ein, welche letztendlich in einer chronischen Hepatitis mit potentieller Leberzirrhose enden kann. Durch die dauerhafte Antigenproduktion wird bei Hepatitis B Virusträgern mit chronischer Hepatitis eine immerwährende Immunantwort provoziert. Durch diese wird eine chronische Inflammation mit oxidativer DNA-Schädigung und kontinuierlichem Zelltod mit konsekutiv dauerhaft angeregter Zellproliferation hervorgerufen. Dieser Umstand wird durch exogene karzinogene Faktoren wie beispielsweise Aflatoxin und Alkohol noch einmal potenziert (68). Lange Zeit hat man vermutet, unterstützt durch die lange Latenzzeit zwischen Infektion und Ausbildung eines hepatozellulären Karzinoms, dass HBV nur eine indirekte Rolle in der Onkogenese einnehme. Nach aktuellem Stand der Forschung wird allerdings angenommen, dass Virusproteine wie HBx und Versionen des preS/S „Large Envelope Proteins“ zu einer Dysregulation der Zelltranskriptions- und Proliferationskontrolle der infizierten Zelle führen. Akkumuliert beispielsweise das preS1 „Large envelope Protein“, oder das preS2/S „Mutantprotein“, wird eine UPR (unfolded protein response) ausgelöst, welche zu einer Transformation der betroffenen Hepatozyte führen kann.

Des Weiteren kann das Virusprotein HBx durch die Chromatinmodulation an verschiedenen Genloci epigenetische Veränderungen auslösen, welche einem HCC erheblichen Vorschub leisten. So haben hepatozelluläre Tumore, welche mit einer HBV-Infektion assoziiert sind, im Gegensatz zu Tumoren anderer Assoziation, signifikant häufiger chromosomale Veränderungen, p53 Inaktivierung durch Mutationen und erhöhte Expression von Genen hepatischer Vorläuferzellen (68, 69).

1.3 Hallmarks of Cancer

In „hallmarks of cancer the next generation“ begründen Hanahan D, Weinberg RA. et al. insgesamt acht Merkmale, welche spezifisch auf Krebszellen zutreffen. Diese lauten „sustained proliferative signalling“, „evasion of growth suppressors“, „activating invasion and metastasis“, „enabling replicative immortality“, „inducing sustained angiogenesis“, „resisting cell death“, „avoid immune destruction“ und „reprogramming (of) cell metabolism“ (15). Außerdem werden sogenannte „enabling hallmarks“, also aktivierende Merkmale definiert, welche den Grundstein für die Entstehung der eigentlichen Krebsentstehung legen. Diese lauten „genome instability“ und „inflammation“ (15, 44).

1.3.1 Autarke Aufrechterhaltung von Signalwegen regt Zellwachstum und Zellteilung an

„Hallmark 1 - sustaining proliferative signalling“

Ein grundsätzliches Definitionsmerkmal von malignen Zellen ist, dass sie losgelöst von physiologischen Steuerungsmechanismen, ein dauerhaftes, unangemessenes Wachstum und eine dauerhafte, unangemessene Proliferation aufweisen. Durch sogenannte Driver-Mutationen wie genetische Alteration oder Amplifikation, werden Proto-Onkogene zu Onkogenen umgewandelt und sorgen anschließend für dauerhafte Wachstums- und Zellteilungskreisläufe. In der Regel sind gleich mehrere Kontrollpunkte innerhalb der Signaltransduktionskette bzw. des Zyklus gestört. Dabei ist die Signaltransduktion von extrazellulär in den Nukleus gestört. Ein Großteil dieser Mutationen betrifft also den regulatorischen Signaltransduktionsweg vom wachstumshemmenden oder wachstumsfördernden übermittelnden Molekül was an den Rezeptor auf der Zelloberfläche bindet, bis dies über Kaskaden von Protein-Protein-Bindungen und Phosphorylierungen in den Nukleus und dort zu Transkription und in weiterer Folge zur Translation führt. Der bisher bekannteste wachstumsfördernde und mitoseauslösende Signalweg ist der RAS-RAF-MEK-MAPK Pathway. Falls es durch Mutationen von Genen, welche für Teile dieses Signalweges codieren, zu einer inadäquaten Aufrechterhaltung oder Überstimulation innerhalb der Signaltransduktionskaskade kommt, sorgt dies für überschießendes inadäquates Wachstum und inadäquate Zellteilungen betroffener Zellen. Der RAS-RAF-MEK-MAPK Pathway ist häufig in irgendeiner Form bei einer Großzahl verschiedenster Malignome mutiert (15, 44).

Bezugnehmend auf die bisher besprochene Mutation der Sequenzen, die für diesen Pathway codieren, gibt es noch andere Möglichkeiten, wie dieser gestört sein kann. Beispielsweise können, ohne Mutation, durch epigenetische Dysregulation autokriner und

somit autostimulierender sowie parakriner Signalwege, Krebszellen mit Wachstumsreizen versorgt werden, ohne dass somatische Mutationen in den Sequenzen des RAS-RAF-MEK-MAPK Pathway vorliegen (15, 44).

1.3.2 Umgehung oder Ausschaltung von Tumorsuppressoren

„Hallmark 2: evading growth suppressors“

Für einen gesunden Organismus ist die Steuerung und Anpassung seines Wachstums, seiner Proliferation, sowie anaboler und kataboler Stoffwechsellage an den Bedarf, essenziell. So müssen bei jedem dauerhaft lebensfähigen physiologischen Organismus neben Wachstumsreizen auch wachstumshemmende beziehungsweise proliferationsinhibierende Mechanismen etabliert sein. Dies ist bei normalen Körperzellen der Fall. So gibt es Tumorsuppressoren, wie Retinoblastom-Protein (pRb) und zahlreiche CDK-Inhibitoren, die regulatorisch und inhibierend auf den Wachstums- und Teilungszyklus von Zellen einwirken. Dieses System wird größtenteils durch extrazelluläre Signalmoleküle dirigiert, welche an Rezeptoren in der Zellmembran binden, die bei sinngemäßer Funktion zu einer physiologischen Homöostase führen.

Zusätzlich existiert durch den Tumorsuppressor p53 ein intrazellulär dirigiertes System, welches Zellen nur dann den Weg zur Proliferation freigibt, wenn der Zellstatus dies erlaubt. Genauer bedeutet dies: Sind relevante DNA-Schäden am Genom entstanden oder andere Abnormalitäten im Zellzyklus aufgetreten, stoppt p53 die Teilung. Entweder bis der DNA-Schaden erfolgreich repariert ist, oder im Falle eines irreparablen DNA-Schadens, eine Apoptose eingeleitet wird.

Wenn diese essenziellen Tumorsuppressoren beziehungsweise Teile der Signalkaskade aufgrund einer loss-of-function-Mutation ihrer Tumorsuppressorgene einen Ausfall erleiden, hat dies weitreichende Konsequenzen für die Zelle und bedeutet einen großen Schritt Richtung Malignität. Auch ist eine epigenetische Ausschaltung von Tumorsuppressorsequenzen durch DNA-Methylierung beziehungsweise Histon-Methylierung möglich. Beispielsweise ist Tp53, das für Tumorsuppressor p53 codierende Tumorsuppressorgen, nur in ca. 40 % aller Krebsfälle direkt mutiert, allerdings in beinahe allen malignen Tumoren in irgendeiner anderen Weise zumindest indirekt in seinem Regelkreislauf kompromittiert. So ist eine direkte oder indirekte Ausschaltung von Tumorsuppressoren für maligne Zellen essenziell, da ansonsten ein ungebremstes Zellwachstum nicht von statten gehen kann (15, 44).

1.3.3 Tumorzellen entziehen sich dem strukturierten Zelltod

„Hallmark 3: resisting cell death“

Ebenfalls thematisch mit dem vorangehenden spezifischen Merkmal verbunden, aber aufgrund der immensen Bedeutung für die Onkogenese einer gesonderten Nennung wert, ist das Umgehen von selbst- und fremdinduzierter Apoptose. Der induzierte Zelltod ist eine drastische und wirksame Maßnahme des Körpers gegen inadäquate Zellteilungen.

Dieser strukturierte Zelltod kann unter physiologischen Bedingungen sowohl zell-intrinsisch durch Tumorsuppressoren oder das endoplasmatische Retikulum, als auch von „außen“, durch Ligandenbindung von Signalmolekülen an Todesrezeptoren der TNF-Rezeptorfamilie ausgelöst werden.

Diese Signalmoleküle können beispielsweise von Immunzellen wie den T-Lymphozyten abgesondert werden. Das gesamte Zelltod-Programm der Apoptose, welches in der Regel in unter einer Stunde abläuft, umfasst grob zusammengefasst den Abbau kritischer Zellorganellen, das daraufhin erfolgende Schrumpfen der Zelle, sowie die Phagozytose durch phagozytosefähige Zellen. Dies sind dann häufig benachbarte Zellen oder patrouillierende Makrophagen. Diese Phagozytose bedarf im Vergleich nur sehr kurzer Dauer. Durch die bei der Apoptose geregelten Abläufe, und auch deren schnelle Aufnahme in phagozytierende Zellen wird verhindert, dass es wie bei einer Nekrose durch massenhaft freiwerdende intrazelluläre Moleküle und Zellorganellen zu einer ausgeprägten Immunreaktion und Zellschädigung der Nachbarzellen kommt.

Eine Nekrose wiederum, kann durch verschiedene Faktoren wie Sauerstoffentzug oder Energieentzug ausgelöst werden. Nekrotisierende Zelle entleeren ihre Zellkonkremente einfach unverpackt in die Umgebung und hinterlassen leere Zellhüllen. Dies löst eine Immunantwort aus.

Bei der Autophagie reagieren Zellen adäquat auf einen für sie herrschenden Energie- oder „Nahrungsmangel“. Es werden Zellorganellen recycelt, wodurch die Zelle Energie, Metabolite und Edukte zur Verfügung hat, welche sie zum akuten Zeitpunkt nicht aus ihrer Umgebung erhält. Dabei spielt das Ausmaß des Energieentzugs eine entscheidende Rolle. Ein mittelgradiger Energieentzug löst die Autophagie aus.

Kommt es zu einem besonders drastischen, und/oder langanhaltenden Nährstoffentzug, geht daraus eine Hyperaktivierung der Autophagie hervor, welche zu einem Autophagiebedingten Zelltod führt. Nebenbei bemerkt: der Begriff Autophagie bedingter Zelltod mag umstritten sein (70), dies wird hier jedoch nicht weiter behandelt.

Alle dieser vorgestellten Zelltode, also Apoptose, Nekrose und Autophagie bedingter Zelltod, können von Krebszellen je nach Ausmaß ihrer Malignität besser oder schlechter umgangen oder abgemindert werden (15, 44).

1.3.4 Unsterblichkeit durch unbegrenzte Replikation

„Hallmark 4: enabling replicative immortality“

Ein sehr wichtiges Werkzeug gegen chronische Zellproliferation findet sich auf dem menschlichen Chromosom selbst. Bei jeder Zellteilung wird ein Teil der Telomere am Ende der Chromosomen abgebaut. Telomere sind mehrere Kilobasenpaaren lange Wiederholungen einer bestimmten Hexanukleidsequenz. Sie stabilisieren entscheidend das Chromosom.

Sobald eine bestimmte Grenzlänge unterschritten ist, wird über p53 der Zellarrest oder eine Apoptose eingeleitet.

Ist nun das TP53 Gen mutiert, oder p53 in irgendeiner anderen Weise kompromittiert, heißt dies nicht gleich, dass diese Zelle nun unendlich lange unendlich viele Teilungen ausführen kann. Denn wie bereits erwähnt, tragen Telomere entscheidend zur Chromosomenstabilität bei. Das bedeutet: Sind diese nicht mehr durch Telomere geschützt, führt dies zu einer erhöhten Rate an chromosomalen Translokationen und „chromosomal rearrangements“ wie Deletionen, Duplikationen, Inversionen. Dies kann in der Folge zu einer „Mitotic Catastrophe“ mit einem damit einhergehenden Mitose bedingten Zelltod führen.

Bei Krebszellen sind zwei verschiedene Systeme bekannt, die sie „nutzen“, um diese Begrenzung durch die chronische Telomerverkürzung zu umgehen.

Die am häufigsten vorkommende ist die an den Bedarf angepasste Translation von Telomerasen. Dieses Enzym dient in Embryonal- und Gewebstammzellen dazu, deren replikatives Potential über die Länge des Lebens des Organismus mehr oder weniger aufrecht zu erhalten. Die Telomerase ist in der Lage, die Telomere wieder aufzubauen beziehungsweise wieder zu verlängern.

Ein kleinerer Anteil der Krebszellen nutzt eine inter-chromosomale Rekombination, um ihre Telomerlänge auf einem für die unbegrenzte Zellteilung ausreichenden Niveau zu erhalten.

Über diese beiden Mechanismen gelingt es malignen Zellen, ein unbegrenztes replikatives Potential zu erreichen, das nicht durch erodierte Telomere begrenzt wird. Somit können sie große Tumormassen bilden (15, 44).

1.3.5 Induktion der Angiogenese

Hallmark 5: inducing angiogenesis

Die Aufrechterhaltung von Zellstrukturen und ganz besonders auf Expansion ausgerichtete Zellverbände, benötigen eine suffiziente Versorgung mit Sauerstoff, Glucose und weiteren Nährstoffen. Des Weiteren kommt es bei malignen Tumoren aufgrund von absterbenden Zellen und hohem Energieumsatz zu metabolischen Abfallstoffen, welche zur Lebensfähigkeit und Proliferation der Zellen aus dem Zellverband entsorgt werden müssen. Liegt die nächste Kapillare mehr als 200 Mikrometer von der betreffenden Zelle entfernt, können die genannten Kriterien in der Regel nicht mehr ausreichend erfüllt werden. Ausgeprägte Hypoxie führt zu dauerhaften Organschäden mit Nekrosen oder Apoptosen, wodurch ein adäquates Aufrechterhalten von Zellfunktionen unmöglich gemacht wird.

Daher ist es für maligne Tumore, die wir vielmehr als einander zuarbeitende, heterogene Zellverbände ansehen können, von großer Wichtigkeit, die Gefäßneubildung innerhalb ihrer Zellverbände voranzutreiben.

Zellen unter Sauerstoffmangel können mit verschiedenen Stress-induzierten Systemen reagieren. Das bekannteste hiervon ist das Hypoxie-induzierter Faktor (HIF) System. Wird dieses aktiviert, setzt es im weiteren Verlauf die Translation mehrerer hundert Gene in Kraft. Darunter befinden sich jene, die die Angiogenese vorantreiben. Dieses Gensequenzsammelsurium kann die Zelle gegen andere Zellstressfaktoren wappnen. Erfahren maligne Tumore aufgrund einer bis zu diesem Zeitpunkt nicht ausreichend bestehenden Gefäßversorgung eine Ischämie, sterben diejenigen Zellen, die nicht mehr per Diffusion mit Sauerstoff oder Glucose versorgt werden können. Dieser Zelltod kann Apoptose-, Nekrose- und Autophagie-bedingt erfolgen.

Unter anderem wird durch diese ausgeprägte Hypoxie die Angiogenese angestoßen.

Der Grad der Angiogenese unterscheidet sich drastisch von Tumorart zu Tumorart.

Beispielsweise sind Nierenkarzinome eher stark vaskularisiert, während duktile Adenokarzinome des Pankreas einen niedrigen Vaskularisationsgrad aufweisen.

Diese Gefäßarchitektur ist häufig aberrant aufgebaut. Das bedeutet, dass sie nicht völlig funktionell oder morphologisch die Ansprüche aller Tumorzellen decken kann, allerdings genau das Gebilde darstellt, welches unter herrschenden Bedingungen, mit VEGF und HIF Signalwegen durch tumorassoziiertes Stroma ausgebildet wird.

Typische Tumorgefäße sind dilatiert, weisen unterschiedliche Strömungsmuster und Strömungsgeschwindigkeiten auf, und bluten häufig ins umliegende Gewebe ein. Dabei

kommen auch Bereiche ohne messbare Strömungsgeschwindigkeit vor. Dies steht in deutlichem Kontrast zu physiologischen Bedingungen entstehenden Gefäßen.

Dieses „Hallmark“ weist Verbindungen zur Metastasefähigkeit und der Fähigkeit, Tumorassoziertes Gewebe zu „rekrutieren“ auf. Der Grad der Ausprägung, welche Signalbotenstoffe oder Wege beschränkt werden, ist tumorspezifisch.

So gibt es Krebsarten, die typischerweise entlang von normalen Blutgefäßen wachsen und andere nicht.

Grundsätzlich muss jeder maligne Tumor, welcher ein expansives Wachstum aufweist, dieses durch eine chronische, verstärkte Angiogenese unterstützen (15, 44).

1.3.6 Invasion und Metastasierung

„Hallmark 6: activating invasion and metastasis“

High-Grade Krebszellen werden invasiv und immigrieren in weitere Körperregionen. Dies kann lokal, lymphogen oder hämatogen erfolgen. Ab einem bestimmten Mutationsstadium sind Krebszellen in der Lage, die Zellverbindungen, welche zu ihren Nachbarzellen bestanden zu lösen und durch die Basalmembran in Gefäße einzutreten. Diese Gefäße nutzen sie als eine Art „Autobahn“, um sich anschließend in einem Lymphknoten niederzulassen, oder sich durch die Gefäßwand von Kapillaren, per Extravasation, ins extravasale Parenchym zu begeben.

An diesem neuen Gewebsparenchym kommt es häufig vor, dass die Mikrometastase aufgrund von Anpassungsschwierigkeiten abstirbt, oder sich in ein Ruhestadium begibt.

In seltenen Fällen adaptieren sich die malignen Zellen an die ektopen Gewebe, bauen erneute Zellverbindungen und Interaktion zu „neuen“ Nachbarzellen auf und entwickeln proliferationsfähige Mikrometastasen, welche sich zu makroskopischen Metastasen entwickeln. Dieser Vorgang wird Kolonisation genannt.

Dass einer Zelle der Schritt der Kolonisation gelingt, ist von komplexen intrinsischen Programmen und extrinsischen Faktoren wie ein für diese Zelle geeignetes, kolonisationsfreundliches Parenchym abhängig. Manche Parenchyme scheinen von Grund auf eher eine Kolonisation von bestimmten Krebszellen zuzulassen als andere. Ein zu den intrinsischen Faktoren zählendes Zellprogramm ist die Epithelial-mesenchymale Transition [EMT (epithelial-mesenchymal transition)]. Die EMT läuft physiologisch beispielsweise während der Embryogenese sowie der Gewebsheilung ab. Sie wird orchestriert über Wachstumsfaktoren wie dem Epidermale Wachstumsfaktor (EGF- epidermal growth), Wachstumsfaktor aus Thrombozyten (PDGF - platelet-derived growth factor), Hepatischem Wachstumsfaktor (HGF- hepatic growth factor) oder anderen Signalproteinen

wie Shh (sonic hedgehog), TGF-beta und Wnt/Beta-Catenin und weitere extracellular matrix (ECM) Komponenten, die Wachstum und Migration von Zellen steuern.

Pluripotente embryonale Stammzellen im inneren der Blastozyste zeigen epitheliale Merkmale. Während der Gastrulation durchlaufen pluripotente epitheliale Zellen des Epiblast die EMT und bilden das primäre Mesoderm. Die EMT ist also für die initiale Differenzierung pluripotenter Zellen, um die drei Keimblätter Entoderm, Mesoderm und Ektoderm zu bilden verantwortlich.

Gleichzeitig kann in Zellkulturen embryonaler Stammzellen, als auch in Kolonien aus Epiblast-Zellen, eine Ausbildung von Zellen mesenchymalen Phänotyps beobachtet werden. Dies wird darauf zurückgeführt, dass diese die Zellen E-Cadherine, Vimentin sowie Neural-Cadherin aufgrund einer abgelaufenen EMT nicht mehr ausbilden.

Pluripotente Stammzellen können zwischen EMT und Mesenchymal-Epidermalem Transmission (MET) Programm wechseln. Also EMT- und MET-fähige Stammzellen können potenziell zwischen epidermalem und mesenchymalem Phänotyp wechseln.

Es werden drei verschiedene Typen der Epidermal-mesenchymalen Transmission unterschieden. Typ 1 beschreibt die hier bereits thematisch angeschnittene EMT, die während der Embryogenese und der Organentwicklung eine entscheidende Rolle spielt.

Als Typ 2 wird die EMT bezeichnet, die für Gewebsregeneration und in der Fibrosierung eine Rolle spielt. Typ 3 EMT ist assoziiert mit der Progression maligner Tumoren sowie Stammzellassoziiert.

Epithelial-mesenchymale Transition (EMT) und mesenchymal-epitheliale Transition (MET) sind essenziell zur Kolonisation maligner Zellen. Vereinfacht ausgedrückt vollziehen maligne Zellen während der Auflösung ihrer Zellverbindungen am Ort des Primärtumors eine EMT und gelangen dann über Gefäße an einen anderen Ort im Organismus, wo sie wieder eine EMT vollziehen und erneut Verbindungen ausbilden und sich niederlassen (71-75).

Bei metastasierenden Zellen sind Transkriptionsfaktoren wie HIF1a und HIF2a häufig hochaktiv. Diese werden physiologischerweise aufgrund von Sauerstoffmangel verstärkt gebildet und regen wiederum die Transkription hunderter Gene an. Darunter befinden sich Gene, welche invasive Migration als auch das Überleben von Krebszellen im Blut-, Lymphstrom sowie in ektopem Gewebe unterstützen.

Es gibt Tumoren, welche schon sehr früh metastasieren, bei vielen wird diese Fähigkeit erst in späteren Stadien auffällig (44).

Metastatische Zellen dieser Fernmetastasen können wohl in andere Metastasen und möglicherweise auch wieder in den Primärtumor siedeln (76). Noch nicht klar ist, ab welchem Punkt der Tumorgenese dies geschieht, also ob Mikrometastasen vieler maligner Krebsarten eventuell früher entstehen als angenommen (Paralleles Tumor-Progressionsmodell) (77).

1.3.7 Deregulation des Zellmetabolismus

„Hallmark 7: deregulating cellular energetics and metabolism“

Krebszellen zeigen eine ausgesprochen hohe Glucoseaufnahme. Ein großer Teil dieser aufgenommenen Glucose wird anschließend der Glykolyse zugeführt. Die Glykolyse läuft auch in normalen Zellen ab, jedoch beschreiten Krebszellen nach diesem Stoffwechselschritt einen Stoffwechselweg ohne O₂-Bedarf, der der Zelle bezogen auf das Glucosemolekül eine geringere ATP-Ausbeute beschert als die in den Mitochondrien ablaufende oxidative Phosphorylierung. Bei dieser von Warburg als „aeroben Glykolyse“ bezeichneten Verstoffwechslung werden allerdings zahlreiche, für die Zellproliferation wichtige Edukte von intrazellulären Makromolekülen gebildet.

Dies kommt wachstums- und teilungsfreudigen Zellen zu denen auch Krebszellen gehören sehr zugute, weshalb sie in vielen Fällen die oxidative Phosphorylierung einsparen. In Bezug auf Glucose, nutzen Krebszellen aber alle bekannten Wege der Verstoffwechslung, jedoch passen sie deren Anteile ihrem Bedarf an (44).

Gleichzeitig entsteht Lactat, welches dem Tumor in mehreren Punkten nachgewiesenermaßen nützlich sein kann. Es dient zum einen als Radikalfänger, und kann somit der Tumorzelle gegenüber Therapien mit verstärkter Radikalbildung eine gewisse Protektion verschaffen (78). Außerdem kann Lactat, im Falle einer insuffizienten Glucoseversorgung der Zelle, ebenfalls zur ATP Regeneration und als Edukt zahlreicher Biomoleküle dienen. Manche Tumorzellen exportieren dieses Lactat auch für andere Tumorzellen, mit denen sie wiederum in Symbiose stehen.

Tumorzellen können vermehrt Lactattransporter ausbilden, um ihrem Energiebedarf gerecht werden zu können. Zudem können einige Zellen des tumorassoziierten Stromas, wie beispielsweise CAF (cancer-associated-fibroblasts) Lactat verstoffwechseln. Das Lactat bildet also einen Teil der Symbiose zwischen Karzinomzellen und tumorassoziierten Stroma. Mutationen in den Genen Kras, cMyc, and p53 sind unter anderem mit einem onkogenen Zellmetabolismus assoziiert (44).

Eine weitere Möglichkeit der Energieumwandlung in neoplastischen Zellen bietet Glutamin, das diese alternativ, bei „Glucosemangel“ nutzen können, und das zusätzlich zur Lipid- und Proteinsynthese genutzt wird.

1.3.8 Austricksen des Immunsystems

„Hallmark 8: avoiding immune destruction“

Im Alltag eines Menschen schützt ihn auch sein Immunsystem entscheidend vor der Entwicklung maligner Neoplasien. Menschen mit Defiziten an CD8⁺ zytotoxischen T Lymphozyten (cytotoxic T lymphocytes = CTLs), CD4⁺ Th1 T Helferzellen, oder NK-Zellen (natural killer cells) haben eine höhere Inzidenz bezüglich maligner Tumore. Unter diesen Umständen sich bildende neoplastische Zellen können gemäß ihrer Selektionskriterien eine höhere Immunogenität aufweisen, als diejenigen welche in immunkompetenten Individuen proliferieren.

Der Großteil sich manifestierender maligner Zellen besitzt aber eine geringe Immunogenität, die Tumore besitzen also eine Immuntoleranz. Maligne Zellen entwickeln, wenn sie nicht durch das Immunsystem eradiziert werden, sogenannte „Immune Escape“ Mechanismen. Gerade durch die Selektion, dass hoch immunogene Krebszellen vom Immunsystem erkannt und zerstört werden, überleben nur die niedrig immunogenen neoplastischen Zellen. Dieser Vorgang wird als „Immunoediting“ bezeichnet. Das Ausmaß dieses Phänomens kann an Säugetieren veranschaulicht werden.

Maligne Tumoren, die zwischen immunkompetenten Mäusen wechselnd verpflanzt wurden, zeigten auch nach der Transplantation eine Größenzunahme (15, 79, 80).

Immune Escape Mechanismen können in verschiedener Form zur Ausprägung kommen. Neoplastische Zellen sind nicht nur „wenig immunogen“, sondern können auch aktiv an ihrer „Verschonung“ durch das Immunsystem mitwirken. Durch die Sekretion immunsupprimierender Signalmoleküle wie TGF- β können sich Krebszellen der Zerstörung durch den Tumor infiltrierender zytotoxischer T Zellen oder NK Zellen entziehen. (15).

Tumoren weisen weitere Eigenschaften auf, welche nicht selbst als „Hallmarks“ bezeichnet werden, aber auch typisch für Neoplasien sind. Dazu gehört eine stetig ablaufende Entzündung, innerhalb des Tumorgewebes, unter anderem durch stetig untergehende Zellen, oder das tumorassoziierte Gewebe.

Die stetig ablaufenden Nekrosen der Tumorzellen innerhalb des Tumors helfen ein dauerhaftes Entzündungsgeschehen aufrechtzuerhalten. Diese Bedingungen kommen beispielsweise der Angiogenese zugute, und tragen somit zur besseren Durchblutung des Tumors bei.

Das tumorassoziierte Gewebe besteht aus nicht malignen, den Tumor aber durch ihre hormonelle „Rekrutierung“ unterstützenden Zellen. So stimulieren sich Krebszellen und Tumorassoziiertes Gewebe wechselseitig. Unter besagten Zellen befinden sich unter anderem Endothelzellen, Perizyten, Fibroblasten, glatte Muskelzellen, Knochenmarkszellen und Immunzellen.

Für diese „Rekrutierung“ sind von neoplastischen Zellen sekretierte Botenstoffe wie VEGF zur Stimulation der Endothelzellen zum Gefäßaufbau, CSF-1 und IL-1 β zur Stimulation von Immunzellen welche selbst wiederum EGF mit wachstumsstimulierenden Eigenschaften für Krebszellen sekretieren. Zudem regen sich die tumorassoziierten Zellen untereinander an. So sezernieren die von Krebszellen stimulierten Zellen auch VEGF, das die assoziierten Endothelzellen anregt und die Vaskularisierung des Tumorgewebes vorantreibt. Des Weiteren kommen Proteasen, CXCL12, FGF2, Hh, PDGF, ANG-1 und weitere Botenstoffe seitens der Zellen untereinander zum Einsatz (15).

1.4 Chemotherapeutika

Der Begriff Chemotherapeutika ist ein Sammelbegriff, welcher ein weites Spektrum niedermolekularer Substanzen mit „(weitgehend) selektiv schädigender Wirkung auf Krankheitserreger oder Tumorzellen durch Blockade des Stoffwechsels“ (81) umfasst. Diese Substanzen können natürlich vorkommen oder synthetisch hergestellt worden sein. Antiinfektive Chemotherapeutika, auch Antiinfektiva genannt, umfassen als Untergruppe der Chemotherapeutika wiederum die Gruppen der zur Therapie bakterieller Infektionen eingesetzten Antibiotika, zur Hemmung der Virusvermehrung eingesetzte Virostatika, die fungostatisch oder fungizid wirkenden Mykostatika, die zur Behandlung von Parasiten eingesetzten Antiparasitika, Desinfektionsmittel, als auch eben die antineoplastisch wirkenden Zytostatika.

Zytostatika, auch Antineoplastika genannt, sind also eine Untergruppe der Chemotherapeutika.

Diese genaue Abgrenzung ist von Vorteil, da es bei den Begrifflichkeiten schnell zu Ungenauigkeiten und Begriffsverwechslung kommen kann.

Der Begriff Chemotherapie beschreibt also die medikamentöse Therapie von Krebserkrankungen oder Infektionen. Hierbei kann nach dem Behandlungsgrund zwischen antineoplastischer Chemotherapie und antiinfektiöser beziehungsweise antimikrobieller Chemotherapie unterschieden werden.

Im klinischen als auch im umgangssprachlichen Sprachgebrauch ist mit der „Chemo“, beziehungsweise der Chemotherapie in der Regel die zytostatische Behandlung neoplastischer Zellen gemeint.

1.4.1 Zytostatika

Die Gruppe der Zytostatika umfasst viele verschiedene zytotoxische Substanzen großer chemischer Heterogenität, deren Wirkprinzip auf der Verhinderung oder signifikanten Verlangsamung der Zellteilung beziehungsweise des Zellwachstums beruht.

Zytostatika wirken laut Pschyrembel „ausschließlich auf proliferierende Zellen“, die sich außerhalb der Ruhephase, der G₀-Phase des Zellzyklus, befinden.

Daraus ließe sich im Umkehrschluss vermuten, dass, angenommen eine unerwünschte Arzneimittelwirkung eines spezifischen Zytostatikums schädige nicht explizit Zellen, welche sich in der G₀-Phase befänden, dass Zellen, die sich in der G₀-Phase befinden, vor zytotoxischen Wirkungen von Zytostatika mehr oder weniger geschützt sind.

Die Einteilung erfolgt in der Regel nach dem Wirkmechanismus.

1.5 Übersicht über die dietären Ansätze

Im wissenschaftlichen Bereich ist eine sehr eng gefasste Definition der relevanten Verfahrensweisen von immenser Wichtigkeit, um nicht fälschlicherweise völlig verschiedene Verfahren als gleichwertig anzusehen. Daher wird hier der Versuch unternommen die relevanten dietären Ansätze, die in den letzten Jahren im Zusammenhang mit Chemotherapie-Applikationen erforscht wurden, übereinstimmend mit einer Auswahl an betreffenden Publikationen aufzuzeigen. Eine einheitliche klare Definition bezüglich Parametern wie einer Kalorienobergrenze existiert aber nicht für alle Begriffe.

1.5.1 Fasten

Der Pschyrembel definiert Fasten als „freiwilligen, vollständigen oder teilweisen Verzicht auf (bestimmte) Nahrung, Getränke oder Genussmittel über einen begrenzten Zeitraum.“

Dabei wird im Pschyrembel die Unterscheidung zwischen dem „kompletten Verzicht auf Nahrung“, dem Verzicht auf „bestimmte Nahrungsmittel“ sowie dem zeitlich limitierten Nahrungsverzicht, wie dem Intervallfasten getroffen (82).

In den Consensus Guidelines „Fasting Therapy – an Expert Panel Update of the 2002“ von 2013 wird Fasten als freiwilliger, zeitlich begrenzter „Verzicht fester Nahrung und Stimulantien (Koffeine, Nikotin)“ definiert (83). Es dürfen noch kalorienfreie Getränke wie Kräutertees oder Wasser (Empfehlung 2,5l), Gemüsebrühe, Frucht- oder Gemüsesäfte und Honig zum Süßen der Tees (maximal 2-3 Teelöffel/Tag) konsumiert werden. Die

Tages-Energieaufnahme sollte 1,500–2,100 kJ (250–500 kcal/24h) nicht überschreiten (83).

Necioni et al. definieren zum einen „Water Fasting“ als absoluten Verzicht auf Nahrung unter Erhalt der Flüssigkeitszufuhr.

Mit Fasting-mimicking Diets soll mit einer immer noch stattfindenden Aufnahme solider Nahrung eine fastenähnliche Stoffwechsellage hervorgerufen werden.

Die Grenze zwischen absolutem oder teilweisem Verzicht wird häufig durch zusätzliche Bezeichnungen getroffen und ist mit dem eigentlichen Begriff Fasten nicht sofort klar definiert.

Ein absoluter, aber zeitlich begrenzter Nahrungsverzicht wird durch den Begriff Short-term Starvation beschrieben.

Die Obergrenze der Kalorienaufnahme/24h welche zwischen STF und FMD unterscheidet ist nicht einheitlich klar definiert, kann aber im Bereich um 500kcal angenommen werden (83).

1.5.2 Short-term Starvation (STS)

Short-term Starvation beschreibt den totalen Verzicht auf Nahrungszufuhr, ausgenommen Wasser und essenzielle Mikronährstoffe. Die Dauer erstreckt sich für gewöhnlich über 3 bis 5 zusammenhängende Tage. Es können ein Abfall der IGF-1-Werte, des Glucoselevels im Blut als auch ein Anstieg der Ketonkörper im Blut festgestellt werden (siehe Abschnitt „Physiologie des Fastens“). Für diese Art der Nahrungsrestriktion konnte analog zum kompletten Nahrungsverzicht eine verstärkte Regeneration des hämatopoetischen Systems, des zentralen Nervensystems und der β -Zellen des Pankreas im Mausmodell nachgewiesen werden (84-87). Außerdem ergab sich ein zytoprotektiver Effekt in Bezug auf chemotherapeutische Interventionen.

1.5.3 Short-term Fasting (STF)

Das Short-term Fasting oder Kurzzeitfasten beschreibt den freiwilligen, vollständigen oder teilweisen Verzicht auf (bestimmte) Nahrung, Getränke oder Genussmittel über einen begrenzten Zeitraum. Wasser darf in der Regel unbegrenzt konsumiert werden. Häufig sind bestimmte, kalorienarme Getränke wie Kräutertees oder Gemüsesäfte in einer klar begrenzten Menge (z.B. 2x100ml pro Tag) erlaubt. Auch werden in stark begrenztem Maße niedrigkalorische Gemüsebrühen toleriert. In der Regel gibt es aber eine klare Grenze an gezählten Kalorien, welche an keinem Tag überschritten werden darf (beispielsweise 350kcal). Es besteht bezüglich einer genauen Kalorienobergrenze/24h

keine einheitliche Grenze. Häufig liegt der Unterschied zwischen STF und FMD bei ca. 500-600 kcal/24h.

1.5.4 Fasting-mimicking Diets (FMDs)

Bei der Fasting-mimicking Diet handelt es sich in der Regel um ein diätetisches Verfahren, bei dem möglichst die physiologischen Effekte eines kompletten Nahrungsverzichtes erreicht werden, ohne die Patientin/den Patienten einen kompletten Nahrungsverzicht auszusetzen. Die Nahrungsaufnahme wird typischerweise auf 300 bis 1100 kcal pro 24 Stunden begrenzt. Diese Reduktion wird dann über einen zusammenhängenden Zeitraum von zwei bis fünf Tagen aufrechterhalten. Häufig setzt sich der Anteil der Nahrung, welchen die Betroffenen noch zu sich nehmen, aus veganen, zucker- sowie proteinarmen Nahrungsmitteln mit hohem pflanzlichen Fettanteil zusammen. Dabei werden potenziell fehlende, essenzielle Mikronährstoffe substituiert. Bei diesen Diäten lässt sich bei menschlichen Probanden eine Reduktion von IGF-1 sowie des Blutglucosewertes, als auch ein Ketonkörper-Anstieg feststellen. Für diese Art der Nahrungsrestriktion konnte ebenfalls wie beim kompletten Nahrungsverzicht eine verstärkte Regeneration des hämatopoetischen Systems, des zentralen Nervensystems und der β -Zellen des Pankreas im Mausmodell nachgewiesen werden (84-87). Außerdem ergab sich ein zytoprotektiver Effekt in Bezug auf chemotherapeutische Interventionen.

1.5.5 Ketogene Diät

Im Gegensatz zu den anderen hier vorgestellten Diäten ist die ketogene Diät isokalorisch konzipiert. Ihr liegt ein hoher Fettanteil sowie ein niedriger Kohlenhydratanteil kombiniert mit einem normalen Proteinanteil zugrunde. Vitamine und Mineralien werden weiterhin dem normalen Bedarf entsprechend zugeführt. Es gibt keine grundsätzlich festgelegte zeitliche Begrenzung. Es kann beim Menschen ein Abfall von IGF-1-Werten sowie ein Anstieg von Ketonkörpern im Blut detektiert werden. Bei Ratten postulieren Liskiewicz et al. einen regenerativen Effekt auf periphere Nerven (88). Ein schützender Einfluss vor Chemotherapeutika konnte bisher nicht festgestellt werden.

1.5.6 Kalorienreduzierte Diät oder Calorie Restriction

Bei der Calorie Restriction (CR) handelt es sich um eine Reduktion des Kalorienzufuhr um 20 bis 40 % des Grundbedarfs. Dabei werden Proteine, Fette und Kohlenhydrate zu gleichen Anteilen reduziert. Der prozentuale Anteil eines jeden Nahrungsbestandteils bleibt also gleich. Vitamine und Mineralien werden weiterhin dem normalen Bedarf entsprechend zugeführt. Hierbei gibt es keine grundsätzlich festgelegte zeitliche

Begrenzung. Begrenzungen sind grundsätzlich durch die physiologische Konstitution der Patientinnen/Patienten, beispielsweise bei starkem Untergewicht, gegeben.

Durch eine CR kommt es zeitnah (innerhalb weniger Tage) weder zu einem signifikanten Absinken des Blutglucosewertes noch zu einem relevanten Absinken der Ketonkörper im Blut. Einen Rückgang des IGF-1 wird bei einer mit der CR verbundenen Proteinrestriktion erzielt, ist aber in keinem Fall so ausgeprägt wie bei einer STS (89-91).

1.6 Physiologie des Fastens

Das Verhalten normaler Zellen während einer Fastenperiode ist ein evolutionär entwickelter und konservierter Prozess, der in Zellkultur zur Zellprotektion beiträgt, sowie die Lebenserwartung von Zellen im Modellversuch erhöht (84, 85, 92-94).

Der komplette Nahrungsverzicht verändert viele Signalwege und metabolische Prozesse, was zu einer veränderten Sensibilität gegenüber Stress und zu Autophagie führt. In gesunden Zellen werden zahlreiche anabole Stoffwechselwege (Proliferation, Zellwachstum etc.) verringert angesteuert, was sich in einer Downregulation von IGF-1 und somit Akt, „mammalian Target of Rapamycin“ (mTOR) und Ras bemerkbar macht (85, 93, 95-97). Intermittent Fasting ist bei Säugetieren mit einem verringerten Krebsrisiko und höherer Lebenserwartung assoziiert (98, 99).

Eine einsetzende Hemmung von IGF-1/Akt und mTOR sorgt unter anderem für verstärkte DNA-Reparatur (100).

Hört ein Mensch auf Nahrung zu sich zu nehmen, beginnt die ca. 6 bis 24 Stunden andauernde post-absorptive Phase. Während das Insulinlevel des Blutes rückgekoppelt durch den fallenden Blutzuckerspiegel sinkt, wird vermehrt Glukagon aus der Bauchspeicheldrüse ausgeschüttet und dessen Konzentration im Blut steigt folglich an, um den Stoffwechsel in glucoseabhängigem Zellgewebe wie neuronalen- und roten Blutzellen aufrecht zu erhalten. Stimuliert ein Ligand den Glukagonrezeptor von Hepatozyten wird außerdem darüber Adenylatcyclase aktiviert, was zur Produktion von cAMP und verstärkter Proteinkinase A (PKA)-Aktivität führt. Proteinkinase A phosphoryliert anschließend den Transkriptionsfaktor cAMP response element-binding protein (CREB), welcher zusammen mit dem CREB-binding protein (CBP) für eine verstärkte Transkription einer ganzen Reihe an der Glukoneogenese beteiligter Enzyme sorgt. Darunter befinden sich die Pyruvatcarboxylase (PC), Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (PEPCK-C) und Glucose-6-Phosphatase (101-104). Der CREB-Regulated Transcription Coactivator 2 (CRTC2 oder TORC2) wird in Gegenwart von Glukagon dephosphoryliert. Anschließend

gelangt der Coaktivator in den Zellkern wo er zusammen mit CREB an relevante Promotoren bindet und dessen Wirkung verstärkt (105). Bei länger anhaltenden Fastenperioden werden Gene der Glukoneogenese verstärkt über den Transkriptionsfaktor Forkhead Box Protein O1 (FOXO1) transkribiert (106).

Bei der Glykogenolyse wiederum wird Glykogen zu Glucose-1-phosphat und Glucose gespalten, und der Glucosespiegel im Blut aufrechterhalten.

Der Glykogenvorrat in der Leber, der durch die Glykogenolyse aufgebraucht wird, reicht ohne weitere Glucosezufuhr für etwa 24 Stunden.

Gleichzeitig befeuern Glukagon, erhöhte Adrenalinpiegel und niedrige Insulinpiegel, und im späteren Verlauf der ketogenen Phase auch Glucocorticoide die Lipolyse, bei welcher verschiedene Lipasen in mehreren Schritten Glycerol und freie Fettsäuren vom Edukt abspalten, welche anschließend über den Blutkreislauf verteilt werden, und beispielsweise in der Muskulatur über β -Oxidation verstoffwechselt, oder in der Leber zur Ketogenese verwendet werden können.

In einem der hauptsächlichen Langzeitenergiespeicher des Körpers, dem weißen Fettgewebe, setzt die sympathomimetische Innervation, welche unter anderem durch Katecholamine, die über β -adrenerge Stimulation zu einem intrazellulären cAMP führt, die Lipolyse in Gang (107, 108).

So ist die Verwendung von freien Fettsäuren zur Energiebereitstellung für die meisten Gewebe das Mittel der Wahl, wenn eine Fastenperiode einsetzt.

In der Leber wird von den aus der Lipolyse stammenden freien Fettsäuren über β -Oxidation Acetyl-CoA abgespalten und zum Aufbau von Ketonkörpern genutzt. Diese werden anschließend ins Blut abgegeben. Ketonkörper können auch von ketogenen Aminosäuren abgespalten werden.

Während einer Hungerphase decken Nervenzellen ihren Energiebedarf, im Gegensatz zu anderen Geweben, über Glucose und Ketonkörper.

Auf die post-absorptive Phase folgt ab etwa zwei bis drei Tagen ab Nahrungsverzicht die ketogene Phase des Fastens, in welcher Ketonkörperkonzentrationen des Blutes im millimolaren Bereich erreicht werden.

In dieser werden Glycerol, Aminosäuren und Ketonkörper zum Aufbau von Glucose verwendet, deren Blutkonzentration sich im Bereich um die 60 bis 70 mg/dl einpendelt. Dies wird nicht zuletzt auch direkt durch einen Anstieg von Glucocorticoiden und Adrenalin unterstützt, welcher für eine verstärkte Lipolyse und somit zur Bereitstellung zusätzlicher Ketonkörper beiträgt.

Während dieser Phase steigt der Wachstumshormonspiegel zum Zweck einer verstärkten Lipolyse und Gluconeogenese temporär an. In Bezug auf IGF-1 führt verstärkte Proteinzufuhr oder ein Anstieg von Aminosäuren zu erhöhten IGF-1-Spiegeln, welches in diesem Fall AKT und mTOR aktiviert und eine verstärkter Proteinsynthese auslöst. Fasten führt aber zu einem Abfall des Insulin-like-Growth-factor-1 (IGF-1). Dies führt wiederum zu einem Abfall von AKT, und somit zu einer Aufhebung der AKT-bedingten Inhibition der Transkriptionsfaktoren der Forkhead-Box-Protein O (FOXO) Familie. Die Aktivierung dieser Transkriptionsfaktoren führt über weitere Schritte unter anderem zu verstärkten Enzymaktivitäten von Häm Oxygenase 1 (HO1), Katalase und Superoxid Dismutase (SOD). In dieser Kette ist ein erhöhter antioxidativer Schutz, und dadurch eine erhöhte Resistenz gegenüber Zellstress als auch weitere langlebigkeitsbegünstigende Faktoren begründet (97, 109). So gibt es deutliche Anhaltspunkte, dass Superoxid-Dismutase zur Protektion vaskulärer Strukturen beiträgt (110, 111).

Dem aufmerksamen Leser wird die Wichtigkeit dieses Prozesses aufgefallen sein, da wie bisher besprochen ein Abfall in IGF-1 und Blutglucose mit einer verbesserten Resistenz normaler Zellen gegen die Toxizität von Chemotherapeutika assoziiert sein könnte.

Zusätzlich kommt es zu einem fastenbedingten Anstieg des IGF-1 Binding Proteins 1 (IGFBP1), welches, wie der Name verrät, IGF-1 bindet. Je nach Untergruppe des IGFB1 und Bindungsrezeptor der Zielzelle verändern IGFBP und IGF-1 den Effekt, wenn sie als Komplex mit an einen Rezeptor einer Zielzelle binden.

Hungerauslösend sinkt das vornehmlich von Adipozyten gebildete Leptin und das ebenfalls von Adipozyten gebildete Adiponektin wird vermehrt gebildet. Der Anstieg von Adiponektin sorgt zusätzlich für eine verstärkte Fettsäureoxidation in den Zellen (112-114). Adiponektin und Leptin haben auch weitere wichtige Funktionen.

Konzentrationsänderungen dieser Hormone haben weitreichendere Änderungen im Körper zur Folge. Beispielsweise spielt Adiponektin eine entscheidende Rolle im Reproduktionsprozess (115, 116) und beeinflusst den Glucosespiegel im Blut.

Zusammenfassend präsentiert sich eine durch Fasten bedingte Stoffwechsellage nach wenigen Tagen mit niedrigen Blutglucosewerten und Insulinwerten, verminderten Werten von IGF-1 und Leptin sowie hohen Werten von Ketonkörpern und Adiponektin (91).

Objektivierbare Botenstoffe wie IGF-1, Insulin, Glucose, IGFBP1, und Ketonkörper pendeln sich möglicherweise in einem Bereich ein, in welchem gesunde Zellen vor Toxizität und Stress geschützt und Krebszellen einiger protektiver Systeme beraubt werden, wodurch sie angreifbar werden (85, 88, 89, 92, 96, 110, 117-123).

1.7 Theorie, warum Fasten oder FMDs unter Chemotherapie Sinn machen könnten

Aufgrund der im Gegensatz zu normalen Zellen stark anabolen Stoffwechsellage, in welcher sich Krebszellen definiert durch ihre Hallmarks befinden, liegt der Verdacht nahe, dass sie auch anders als normale Zellen auf reduzierte Stoffwechsellagen des Körpers reagieren als normale Zellen. Tumorzellen leben, wie normale Zellen mit den Nährstoffen, die der Organismus aufnimmt. In den letzten Jahren konnte ein Einfluss von Nährstoffentzug auf spezifische maligne Zellen nachgewiesen werden (124, 125).

Fasten, als auch FMDs führen zu deutlichen Änderungen des Wachstumshormonhaushalts, als auch stark veränderten Metabolit-Spiegeln.

Reduzierte Nahrungszufuhr kann zu einem Umfeld führen, in welchem Tumorzellen bestimmter Krebsarten vor Adaptationsschwierigkeiten gestellt, und ihre Sensibilität gegenüber Chemotherapien verbessert werden (121).

Viele Krebszellen haben mutationsbedingt keine adäquat funktionierenden Anti-Wachstums-Signalwege mehr (15).

So sind in malignen Zellen häufig Tumorsuppressorgene mutiert, sodass diese Tumorsuppressorproteine nicht ihrer eigentlichen Aufgabe nachgehen können. Da aber Tumorsuppressorgene mitunter als wichtigste Auslöser zellschützender Faktoren in Bezug auf das Herunterfahren anaboler Zellstoffwechselwege gelten, sind sie in Anbetracht ihrer Regulierbarkeit durch Nahrungsverzicht besonders interessant. Objektivierbare Werte scheinen IGF-1- und Glucosewerte im Blut zu sein. Sinken beide Werte auf 50 % des mittleren Ausgangswertes stellt sich eine Zellprotektion durch verstärkte Tumorsuppressor-Wirkung ein (119). Somit könnten normale Zellen von dieser Schutzfunktion besser profitieren als Krebszellen, bei denen Tumorsuppressorgene funktionseinschränkend mutiert sind.

1.8 IGF-1

Insulin-like growth factor 1, auch Somatomedin C genannt, ist ein insulinähnliches, aus 70 Aminosäuren bestehendes Protein. Es wird an verschiedenen Stellen des Körpers wie der Leber oder dem Gehirn synthetisiert und im Plasma, überwiegend an Insulin-like growth factor binding proteins gebunden, transportiert. Die Freisetzung von IGF-1 aus der Leber wird unter anderem durch Growth Hormone stimuliert.

IGF-1 ist Teil des Hypothalamus-Hypophysen-Systems bzw. der Growth Hormone/IGF-1 Axis und nimmt eine Schlüsselrolle im anabolen Zellwachstum, der neuronalen Entwicklung, der Zelldifferenzierung, dem Zellüberleben, der Inhibierung der Apoptose,

der Myogenese, der Zellproliferation und eine immunmodulierende Funktion ein. Es wird angenommen dass IGF-1 seine proliferative Wirkung über den MAPK/Erk Pathway und seine antiapoptotische Wirkung über den Phosphatidyl-Inositol 3-Kinase (PI3K)/Akt Kinase Pathway entfaltet. IGF-1-Spiegel sind bei zahlreichen neurodegenerativen, metabolischen und kardiovaskulären Erkrankungen verändert und werden direkt zur Abklärung von Wachstumsstörungen, bei Verdacht auf Wachstumshormonmangel oder zur Beurteilung des Ernährungsstatus bestimmt (126).

2 Material und Methoden

Für die Literaturrecherche wurden die Datenbank Pubmed, sowie Fachbücher und Fachzeitschriften verwendet. Der Zusammenhang zwischen Nahrungsrestriktion unter Chemotherapie ist ein relativ junges Forschungsfeld, allerdings lieferte die einfache Kombination der Suchbegriffe „fasting“, „cancer“ und „chemotherapie“ 2009 noch 62 Suchergebnisse, waren es Ende 2020 in Pubmed 303 Resultate. Im September 2021 waren es bereits 333. Hierbei habe ich die Annahme getroffen, dass ein Textverfasser, sollte er ausschließlich Fasting-mimicking Diets in Kombination mit Krebs sowie Chemotherapie untersucht haben, diese Begrifflichkeit mindestens einmal ausschreiben würde, und somit in meiner Suche Fasting-mimicking Diets ebenfalls inbegriffen wären. Um die Suche auf sehr relevante Ergebnisse zu beschränken, habe ich verschiedene MeSH Terms angefertigt.

3 Ergebnisse

3.1 Glucose und der Krebs

3.1.1 Glucose dient in Krebszellen unter Normalbedingungen zum Biomasseaufbau

Krebszellen haben aufgrund ihres auf Wachstum und Teilung ausgerichteten Stoffwechsels einen sehr großen Bedarf an Molekülen zum Biomasse-Aufbau.

Neben Glutamin ist Glucose eine der grundlegenden Nährstoffe. Sie ist im allgemeinen physiologischen Zellhaushalt eine wichtige Energiequelle, Bestandteil vieler Signalkaskaden, Stoffwechselwege und Ursprung/Edukt zahlreicher Moleküle und somit auch entscheidend für die Addition von Biomasse. Sie wird in hohen Mengen von Tumoren aufgenommen und verstoffwechselt, um eine hohe Wachstums- und Proliferationsrate aufrecht zu erhalten (127, 128).

In der Regel verstoffwechseln Krebszellen nach der Aufnahme der Glucose in die Zelle diese zuerst über die Glykolyse, bei welcher unter anderem NADH, ATP sowie Pyruvat entstehen.

Ein geringerer Anteil als bei gesunden Zellen des aus der Glykolyse hervorgehenden Pyruvats wird zu Acetyl CoA umgewandelt und dem Trikarbonsäure (TCA = Tricarboic Acid) Zyklus zugeführt.

Die Beobachtung, dass viele Tumorzellen Glucose auch unter ausreichendem Sauerstoffangebot letztendlich zu Lactat verstoffwechseln und das Produkt der Glykolyse Pyruvat nicht in ihren Mitochondrien weiter oxidieren, wird Warburg-Effekt bezeichnet (129). Ein anderer Begriff für den Warburg-Effekt lautet aerobe Glykolyse. Nebenbei bemerkt macht diese Eigenschaft von Tumorzellen die „2-(18 F) Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose (¹⁸F-FDG)-Positron Emission Tomographie“ (PET) erst für den Zweck der Suche nach neoplastischen Zellen anwendbar.

Diese Verhaltensweise steht im Gegensatz zu gesunden Zellen und verdeutlicht, wie in Tumorzellen Stoffwechselwege im Sinne ihrer eigenen Wachstumsmaximierung umgemünzt werden (128, 130). Der Warburg-Effekt variiert von Tumor zu Tumor (123, 131).

3.1.2 Glucose bewirkt in Krebszellen über gestörte PI3K Signalkaskaden Proliferation und Wachstum

Nimmt ein Mensch Glucose zu sich, steigt nach der Aufnahme über den Darm der Blutzuckerspiegel. Dies wiederum wird von den β -Zellen der Pankreas wahrgenommen und sie sezernieren Insulin, welches wiederum den Blutzuckerspiegel senkt, indem es unter anderem die Glucoseaufnahme von primär Muskelzellen quergestreifter Muskulatur und Leberzellen erhöht.

Menschen welche dauerhaft erhöhte Insulinspiegel aufweisen, haben ein erhöhtes Risiko an Krebs zu erkranken (132).

Maligne Zellen weisen so häufig eine gestörte Phosphoinositid-3-Kinasen-Aktivität (PI3K-Aktivität) auf, dass diese bereits als Kennzeichen für Malignität gehandelt wird (133). Die Bedingungen für eine abnormale PI3K Signalkaskade sind eine inhibierende Mutation des PTEN (Phosphatase and Tensin homolog) Tumorsuppressors, und aktivierende Mutationen in PIK3CA (zwei „Mutationshotspots“ sind H1047R und E542K/E545K) und der AKT Kinase-Gruppe (123, 133).

Die Insulinrezeptoren auf der Zelloberfläche der Krebszellen stellen den Anfangspunkt der abnormal erhöhten PI3K-Signalkaskade dar. Diese können auch ohne Insulin durch

Mutation eine konstitutive Aktivierung erfahren haben. Bindet Insulin wird die PI3K-Signalkaskade aktiviert, was zur Aktivierung von mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) führt. Die Folge sind eine verminderte Autophagie und ein Anstieg anaboler Stoffwechselwege, der Zellproliferation und der Proteinsynthese (134).

3.2 Differential Stress Resistance (DSR)

Differential Stress Resistance beschreibt die Hypothese (oder Beobachtung), dass gesunde Zellen und Krebszellen unter Fastenbedingungen unterschiedlich anfällig für Zellgifte und Zellstress sind. Gesunde Zellen werden resistenter und Krebszellen nicht (92, 119-122). Als ein Prädiktor für ihr Ausmaß wird unter anderem IGF-1 angenommen (135). An LID (liver IGF-1 deficient) Mäusen, welche etwa 70 % geringere Konzentrationen an zirkulierendem IGF-1 aufweisen, konnte eine sehr viel geringere Toxizität von Chemotherapeutika im Gegensatz zu anderen Mäusen mit „normalen“ IGF-1-Spiegeln beobachtet werden (136).

DSR beruht auf der Hypothese, dass gesunde Zellen in einem Organismus unter Nahrungsdeprivation in eine besonders stressresistente Stoffwechsellage übergehen. Während dieser finden weniger oder keine Zellteilungen statt, und dringend benötigte Energie, beziehungsweise Moleküle werden aus der Verarbeitung von Proteinen, Fetten und „recyclten“ Zellorganellen gewonnen. Allgemein werden anabole Protoonkogene wie Ras, Akt, mTOR supprimiert und Tumorsuppressorgene wie Rb, p53, PTEN verstärkt transkribiert (122).

Krebszellen, deren Merkmale das Ausschalten von Signalwegen der Tumorsuppressoren und verstärkte, nicht rückgekoppelte onkogene Signalwege sind, reagieren also nicht (adäquat) auf antiproliferative Signale (122). Sie passen sich also nicht vollständig an eine nahrungsarme Stoffwechsellage an, auch wenn sie in hohem Maße zur Autophagie fähig sind (137). Unter den Standard-Hungerbedingungen brauchen sie diese „normalzellige“ Anpassung auch nicht um zu überleben, da sie durch den vermehrten Einbau von Glucosetransportern stets versorgt sind (138, 139).

Daher verfallen Krebszellen unter Nahrungskarenz nicht in gleichem Maß in einen antiproliferativen Stoffwechsel mit einhergehender Zytoprotektion gegen Toxine und ohne Zellteilungen (122).

Dieses unterschiedliche Verhalten zwischen malignen und gesunden Zellen unter Fastenbedingungen eröffnet theoretisch einen neuen Ansatz, in welchem Fasten als Additiv zur Chemotherapie in Frage kommt.

3.3 Zytotoxizität gegen Krebszellen nur unter Nährstoffrestriktion

Innerhalb der Tumormasse vieler maligner Neoplasien herrschen nährstoffarme sowie sauerstoffarme Bedingungen. Um dennoch überleben zu können, nutzen betroffene Tumorzellen den Phosphoinositid-3-Kinase/Akt-Pathway. Dieser ermöglicht ihnen eine verstärkte Energieaufnahme, Zellproliferation und Apoptose-Inhibition trotz Energieknappheit (140, 141). Polyzyklische Xathonverbindungen wie Kigamicin hemmen die Proteinkinase-B (auch AKT) innerhalb des AKT/PKB signaling Pathways.

3.3.1 Phosphoinositid-3-Kinase/Akt Pathway

Die genauen Aktivierungsmechanismen dieses Signalweges sind Gegenstand intensiver Forschung, jedoch ist ein Zusammenspiel von Hormonen, Wachstumsfaktoren und Komponenten der extrazellulären Matrix wahrscheinlich. Bei AKT handelt es sich um eine Serin/Threonin-Kinase, wobei bisher 3 nahezu homologe Untergruppen bekannt sind (PKBa (auch Akt1), PKBb (auch Akt2) und PKBg (auch AKT3)). Innerhalb des AKT Signalweges, auch „PI3k-AKT Signaling Pathway“, befindet sich die AKT downstream der Phosphoinositid-3-Kinasen (PI3K). Dabei bildet PI-3k Phosphatidylinositol-3,4,5-Triphosphat (PIP₃), welches dazu führt, dass PKB/Akt im Bereich der Plasmamembran phosphoryliert, und durch PDK-1 (phosphoinositide-dependent kinase-1) und eventuell weiteren Kinasen aktiviert wird. Ein Antagonist dieses Signalweges ist die Phosphatase „PTEN“ (Phosphatase and Tensin homolog), die in der Lage ist PIP₃ zu PIP₂ zu dephosphorylieren und somit die Aktivierung von Akt zu unterbinden. Akt ist zentral an der Phosphorylierung und Aktivierung zellulärer Proteine des Zellmetabolismus, der Kontrolle der Proliferation sowie der Inhibierung der Apoptose beteiligt. Es handelt sich hierbei also um ein Protoonkogen, welches in zahlreichen malignen Tumoren konstitutiv aktiviert ist. Dies kann beispielsweise durch die Amplifikation des PKB/Akt Gens oder durch eine Mutation der AKT aktivierenden Teile des Signalweges geschehen. Es kann auch zu einer „Loss-of-Function-Mutation“ im PTEN-Gen kommen, wodurch eine Hemmung des PI3k-AKT Signaling Pathways entfällt. In diesem Fall kann Sie antiapoptotisch, aktivierend auf mTOR und „Ras homolog enriched in brain“ (Rheb) und somit beschleunigend auf die Proteintranslation wirken. Außerdem phosphoryliert es FOXO, wodurch dieses schneller abgebaut wird, was indirekt Proliferationssteigernd wirkt (142).

3.3.2 Akt-Hemmung in Nacktmäusen durch Kigamicin unter Nährstoffentzug

Onodera et al. konnten anhand verschiedener in Nacktmäuse verpflanzten Pankreas-Karzinom-Ziellinien aufzeigen, dass unter Nährstoffentzug die von Amycolatopsis sp. ML630-mF1 produzierte polyzyklische Xathonverbindung Kigamicin D (C(48)H(59)NO(19)) präferiert auf betreffende Karzinomzellen zytotoxisch wirkt, was unter normalem Nährstoffangebot nicht der Fall ist. So unterdrückte sowohl die orale als auch die subkutane Applikation das Tumorwachstum signifikant. Die Autoren beobachteten, dass Kigamicin die Aktivierung von Akt hemmt und sprechen sich für eine Implementierung von Kigamicin in das Therapiekonzept von Karzinomen mit entsprechender Resistenz gegen Nährstoffentzug aus (143).

3.4 Reaktive Sauerstoffspezies und Krebszellen

Auf die Durchleuchtung des gesamten Spektrums der reaktiven Sauerstoffspezies als Signalmoleküle oder ihre Assoziation mit verschiedensten Erkrankungen wird hier aus Praktikabilitätsgründen verzichtet.

Neoplastische Zellen stehen vor dem Dilemma, dass einige Mutationen von Onkogenen zu unbegrenztem Wachstum verhelfen, dabei aber für die Zelle potenziell zerstörerische reaktive Sauerstoffspezies entstehen. Um dies zu überleben, benötigen neoplastische Zellen extrem ausgeprägte Redox-Systeme.

Im Folgenden soll der Zusammenhang erhöhter ROS-Level in neoplastischen Zellen abhängig der Mutation eines bestimmten anabolen Signalweges aufgezeigt werden, da hier gleichzeitig ein therapeutischer Ansatz eröffnet werden könnte. KRAS und der RAS/MAPK Pathway spielen eine zentrale Rolle in der Entstehung von Superoxidionen.

3.4.1 Hohe Glucoseaufnahme neoplastischer Zellen und die Auswirkung auf deren Redox-System

Die in gesunden Zellen arbeitenden bisher bekannten wichtigsten antioxidativen Enzyme sind unter anderem Superoxid-Dismutase (SODs), welche Superoxid ($O_2^{\bullet-}$) zu H_2O_2 umwandelt und außerdem die Katalase, welche dieses H_2O_2 zu Wasser H_2O und O_2 reduziert. Außerdem gibt es die Glutathion-Peroxidase, welche die Reduktion von H_2O_2 zu H_2O katalysiert. Dabei wird Glutathion oxidiert (144).

Ein Effekt der hohen Glucoseaufnahme von Tumorzellen ist die Protektion gegen endogen und exogen hohe Spiegel an reaktiven Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species – ROS). Dies ist einem Nebenprodukt des oxidativen Pentosephosphatwegs geschuldet, dem Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH). NADPH kann Glutathiondisulfid

(GSSG) zu Glutathion (GSH) reduzieren. Dies entspricht einer Regeneration des Glutathions. Dabei bindet NADPH an das oxidierte Enzym Glutathionreduktase (GR). Ein zweites NADPH reduziert das Coenzym Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) zu einem Flavin-Adenin-Dinukleotid-Anion (FADH⁻), welches dann wiederum ein Cys58-Cys63-Disulfid bildet. Im nächsten Schritt bindet das oxidierte Glutathiondisulfid an das nun reduzierte FADH⁻, wobei es ein gemischtes Disulfid mit dem Cys58 bildet und ein reduziertes Glutathion entsteht. Wenn Cys63 mit dem gemischten Disulfid an Cys58 reagiert wird ein weiteres reduziertes Glutathion freigesetzt.

Ein aktivierter beziehungsweise amplifizierter Pentosephosphatweg ist ein Kennzeichen vieler maligner Neoplasien. Das entstehende Ribose-5-Phosphat ist ein Baustein zur NADH Bildung, der Nukleotidsynthese und an vielen anabolen Prozessen maßgeblich beteiligt (144-150).

3.4.2 Das Protoonkogen KRAS und der RAS Signalweg

Zahlreiche Neoplasien weisen eine Mutation des „Kirsten Rat Sarcoma Virus“ (KRAS) Gens auf, dessen translatiertes monomeres G-Protein K-Ras Teil des RAS/MAPK Pathways ist. KRAS ist eine RAS Isoform. Zu den Tumoren, bei denen KRAS-Mutationen gehäuft vorkommen, gehören unter anderem das Lungenkarzinom, das kolorektale Karzinom, das Schilddrüsenkarzinom und die akute myeloische Leukämie (44).

In etwa 90 % der Pankreaskarzinome, und etwa 95 % der duktaalen Pankreaskarzinome zeigt sich eine onkogene Mutation des KRAS-Gens (151).

Das KRAS-Gen ist ein Protoonkogen, welches sich an Guanosindiphosphat (GDP) gebunden in einem inaktiven und an Guanosintriphosphat (GTP) gebunden in einem aktiven Stadium befindet. Der Shift zwischen inaktiver und aktiver Form erfolgt durch das GEF (Guanosine triphosphate Exchange Factor) Protein. In diesem aktiven Stadium kann KRAS an Effektorproteine binden, und diese aktivieren. Bekannte Effektorproteine sind die RAF-Kinasen, PI3K und RalGDS (Ral Guanine Nucleotide Dissociation Stimulator). Unter physiologischen Bedingungen wird die Aktivität von KRAS durch das Angebot an GTP gesteuert. Ist also viel Energie vorhanden, wird KRAS aktiviert und in der Zelle ein Wachstumsreiz ausgelöst. Ist der Energiegehalt niedrig (wenig GTP, viel GDP), liegt KRAS nur noch in inaktiver Form vor. GTP wird durch Phosphatabspaltung zu GDP hydrolysiert. Dies geschieht (unter anderem) durch KRAS selbst, da es eine eigene geringgradige intrinsische GTPase-Aktivität besitzt. Die Hydrolyseaktivität von KRAS wird durch GAPs (GTPase activating Proteins) stark katalysiert (152-154). Die onkogene Mutation kann also im KRAS-Gen direkt, oder innerhalb des RAS Signalwegs liegen.

Liegt solch eine erhöhte KRAS Aktivität vor, erhöht dies signifikant die intrazelluläre ROS-Produktion. Ein bekannter Mechanismus ist die durch KRAS induzierte Aktivierung der NADPH-Oxidase-1, welche ein nach extrazellulär gerichteter Membrankomplex ist und O_2 mithilfe von NADPH zu Superoxidanionen O_2^- reduziert, sowie eine durch KRAS induzierte mitochondriale Dysfunktion (155, 156). Reaktive Sauerstoffspezies werden unter physiologischen Bedingungen dauerhaft stoffwechselbedingt gebildet und unterliegen dabei einer stetigen Kontrolle. Sie dienen als wichtige Signalmoleküle bezüglich Entzündungen, der Immunabwehr, der Autophagie, der adäquaten Antwort auf Zellstress und Zellteilungen (157).

In massiv gesteigerter Menge führen sie zu DNA-Schäden, RNA-Schäden und „Genome Instability“. Außerdem können sie Reaktionen mit Lipiden oder Proteinen eingehen, wodurch Stoffwechselwege zusätzlich gestört werden. Diese weitreichenden Reaktionsmöglichkeiten führen in gesunden Zellen zur Apoptose und zu Zelltod. Des Weiteren sind die durch ROS resultierenden dysfunktionalen Schäden, können diese nicht behoben werden oder der Zelltod eingeleitet werden, kanzerogen.

In präkanzerösen Pankreaszellen wird durch eine erhöhte intrazelluläre ROS-Konzentration die maligne Transformation begünstigt, wobei betroffene Zellen gleichzeitig ein verstärktes Growth Factor- und Survival Signaling aufweisen. Die mitochondriale Dysfunktion führt nicht nur zu einer verstärkten ROS-Produktion, sondern auch zu verstärkter Expression von EGFR (156).

Theoretisch müssen diese präkanzerösen Zellen, um weiter proliferieren zu können also die Balance zwischen einem hohen ROS-Level, welches onkogene Mutationen begünstigt, und einer drohenden Apoptose beziehungsweise einem induzierten Zelltod halten. Diejenigen Zellen, die Gene antioxidativer Systeme verstärkt transkribieren und translatieren, haben unter diesen Umständen einen evolutionären Vorteil (156, 158).

Zelluläre Redoxsysteme sind unter anderem GSH, Thioredoxin (Trx) und Pyridinnukleotide (159). Auch KRAS selbst, wie auch andere Onkogene (Braf und Myc), induziert die Nrf2-Transkription. Nrf2 ist ein Transkriptionsfaktor, der selbst über Bindung des „Antioxidative Response Elements“ (ARE) die Expression zahlreicher antioxidativer Enzyme in Gang setzt.

Sowohl präkanzeröse Zellen als auch maligne, die eine massiv gesteigerte intrazelluläre ROS-Produktion und -Konzentration aufweisen (160), müssen massiv ausgestattete Redoxsysteme besitzen, um ihren eigenen Zelltod zu vermeiden.

Schafft man es diese Redoxsysteme therapeutisch zu blockieren und steigert ihren Zellstress durch weitere Substanzen, könnten die reaktiven Sauerstoffspezies betreffende Zellen in einem Maße schädigen und die zusätzliche Zellschädigung zum Zelltod führen (161, 162).

3.5 Humane Pankreaszellen werden unter Nahrungsentzug sensibel für Redox-System-Inhibitoren

In einer weiteren Studie stellten Onodera et al. die Hypothese auf, dass kleine Moleküle, welche unter verminderter Energiezufuhr die Überlebenswahrscheinlichkeit neoplastischer Zellen reduzierten, unter diesen Bedingungen als therapeutische Option in Frage kommen. Daher durchsuchten sie Datenbanken und Büchereien nach infrage kommenden Molekülen, und bestimmten Penicillinsäure (Penicillin acid; PCA), Papyracillinsäure (papyracillic acid; PPA) und Auranofin (125).

3.5.1 Redox-System-Inhibitoren

Penicillinsäure ist ein Mykotoxin welches von *Penicillium verrucosum*, *Penicillium puberulum* und *Penicillium stoloniferum* oder auch *Aspergillus* gebildet wird. Penicillinsäure ist ähnlich wie Aflatoxine ein potentiell Kanzerogen, das Chromosomenaberrationen auslösen kann (163).

Penicillinsäure kommt häufig in Brot, Mehl oder Tierfutter vor (164).

Papyracillic acid ist ein aus beispielsweise *Ascochyta agropyrina* Var. *Nana* isoliertes Penicillinsäureanalog (165).

Bei Auranofin handelt es sich um eine organische Goldverbindung, welche vor mehreren Jahrzehnten als orales Therapeutikum gegen rheumatoide Arthritis auf den Markt gebracht wurde. Heute führt es aus klinischer Sicht ein Nischendasein, es gibt allerdings neuere Untersuchungen um zu überprüfen, ob sich der Wirkstoff zur Bekämpfung von Krebs, Parasiten oder bakteriellen Infektionen eignen könnte (166).

3.5.2 Versuchsbedingungen des Zellversuchs

Es wurden zwölf verschiedene Pankreaskarzinomzelllinien aus drei verschiedenen Zellbanken in standardisiertem Nährmedium Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) mit zusätzlich zugeführtem 10-prozentigen fetalem Kälberserum (fetal bovine serum = FBS) kultiviert.

Zu den verwendeten Zelllinien zählen PANC-1, Capan-1, MIA Paca-2, BxPC-3, KP-2, KP-3 Zellen, PSN-1, KLM-1, PK-45H, PK-59, KP-4, und PK-8 Zellen. Die Zellen stammten aus europäischen und japanischen Zellbanken.

Nach einer jeweiligen Überprüfung der Zellqualität wurden die Zellen sowohl in einem Nutrient-deprived Medium (NDM) als auch einem ausreichend Nährstoffe beinhaltenden Medium (DMEM) kultiviert. Das NDM diente hierbei zur Simulation eines Nahrungsentzugs, bzw. einer deutlichen Reduktion der Nahrungszufuhr. In NDM sind 15 Aminosäuren weniger vertreten als in DMEM. Die Verwendung des Dulbecco's Modified Eagle's Medium simuliert eine normale, fortbestehende Nahrungsaufnahme. In beiden Fällen wurde für eine ausreichende Menge essenzieller Mikronährstoffe und einen PH von 7,4 gesorgt. Nach 24 Stunden wurden alle Platten mit PBS gewaschen und mit neuem, demselben Nährmedium wie zuvor versorgt.

Anschließend wurden 4 µg PCA (isoliert von Pilzstamm CR44035) und PPA 6 µg (isoliert vom Pilzstamm CR45365) getrennt voneinander den verschiedenen kultivierten Pankreaskarzinomzellen zugesetzt, und die Zellkulturen für 24 Stunden inkubiert. Daraufhin erfolgte eine letzte Waschung mit PBS und alle Zellen wurden mit einem DMEM-Nährmedium versorgt und für weitere 10 Tage inkubiert. Danach wurden die Kolonien zweimal mit PBS gewaschen, mit 2,5 % Glutaraldehyd in PBS-Lösung fixiert und mit 0,4 % Kristallviolett in 20 % MeOH-Lösung gefärbt (125).

3.5.3 Ergebnisse des Versuchs

Während sich bei den PANC-1-Zellen im durchgehend mit DMEM ernährten Medium keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Menge der Kolonien feststellen ließ, waren in den zuvor und während der Applikation mit PCA und PPA mit NDM genährten PANC-1-Zellen eine signifikante Verringerung der Kolonien zu erkennen. Daraus folgerten die Forscherinnen und Forscher eine unter Nahrungsmangel entstehende Toxizität der REDOX Inhibitoren PCA und PPA für PANC-1-Zellen.

Um den Apoptosenverlauf kenntlich zu machen, bediente man sich des Annexin V/Propidiumiodid „Double Stainings“ und der Durchflusszytometrie.

Die Annexin-V-positive und Propidiumiodid-negative Detektion zeigt hierbei eine frühe Apoptose, die Annexin-V-negative und Propidiumiodid-positive Detektion eine späte Apoptose an. Beide Apoptoseformen wurden unter Nahrungsrestriktion und PCA- sowie PPA-Zusatz signifikant erhöht.

Auch konnte eine durch PCA und PPA signifikant gesteigerte Caspase 3/7 Aktivität per Lumineszenzmessung bei nährstoffarmer Umgebung, aber nicht in Zellen mit nährstoffreichem Nährmedium gemessen werden.

Caspase 3/7 ist ein wichtiger Biomarker für ablaufende Apoptosen von Tumorzellen (167).

Um näher an die Wirkweise von PCA und PPA heranzukommen, wurde per Kapillarelektrophorese bestimmt, welche Metabolite in den mit PCA und PPA behandelten PANC-1-Zellen im Gegensatz zu den PANC-1-unbehandelten Zellen verändert waren. Dabei war der starke Abfall von dem als Antioxidans wirkenden Glutathion bei zwischenzeitlich mit NDM ernährten PANC-1-Capan-1, MIA-Paca-2, und KP-3-Zellen auffällig. GSH fällt eine Stunde nach PCA- oder PPA-Applikation auf die Hälfte seines normalen Levels. Gleichzeitig vermindert sich nach PCA- und PPA-Gabe das Verhältnis zwischen Glutathion und oxidiertem Glutathion (GSSG) stetig (125).

3.5.4 Die dahinterliegende (teils hypothetische) Physiologie

Anscheinend formen PCA und PPA auf nicht enzymatisch katalysiertem Weg ein Additionsprodukt. Es wird vermutet, dass die Exo-Methylengruppen von PCA und PPA mit der Thiolgruppe des GSH kovalent binden und dies zu einem Konzentrationsabfall antioxidativ wirkenden freien GSHs führt. Theoretisch gibt es auch weitere intrazelluläre Moleküle mit freien Thiolgruppen, die potenziell mit PCA und PPA über die Exo-Methylengruppe kovalent binden können, was bis dato unbekanntes Folgen für den Zellstoffwechsel haben könnte.

Durch den Abfall freien GSHs kommt es zu einem intrazellulären Anstieg reaktiver Sauerstoffspezies, da das verbleibende GSH nicht mehr in der Lage ist, die ROS „abzupuffern“, folglich setzt eine Schädigung und potenziell eine Apoptose der betreffenden Zelle ein. Mit der geschilderten Annahme bezüglich der ablaufenden Reaktion übereinstimmend, steigt nach PCA- und PPA-Applikation die H_2O_2 -Konzentration dosiszeitabhängig an.

In Zellen mit reduzierter Nährstoffzufuhr lassen sich basal signifikant höhere ROS-Konzentrationen messen als in Zellen mit normalem Nährstoffangebot. Dies lässt die Vermutung zu, dass Nahrungsentzug in Krebszellen zu erhöhten intrazellulären ROS-Spiegeln führt, und somit ein zusätzlicher Wegfall „antioxidativer Werkzeuge“ verheerende Konsequenzen für diese Zellen hat. Diese Annahme wäre mit der Beobachtung konform, dass Pankreaskarzinomzellen, denen zuvor Nahrungsstoffe verweigert wurden, nach der Applikation der Redox-Inhibitoren vermehrt in die Apoptose gehen, dies bei Pankreaskarzinomzellen mit ausreichendem Nährstoffangebot aber nicht der Fall ist.

Dies scheint auch an einem Mangel an Edukten zur GSH-Synthese zu liegen. Die NDM-Nährstofflösung besitzt 15 Aminosäuren weniger. Lediglich die zeitgleiche zusätzliche

Substitution der Aminosäuren Gln, Gly, und Cys führte zu einer ausbleibenden Zytotoxizität von PCA und PPA gegenüber in NDM inkubierten Zellen (125).

Das bereits erwähnte Auranofin besitzt auf molekularer Ebene einen von PCA und PPA zum Teil verschiedenen Wirkmechanismus. Die organische Goldverbindung besitzt einen für Selenol- und Thiolgruppen hochaffinen Thiol-Liganden. Dadurch formt Auranofin mit besagten Molekülen, die solche Gruppen tragen, stabile, irreversibel Addukte. Zur Erinnerung sei bemerkt, dass eben Glutathion eine solche freie Thiolgruppe besitzt. In dieser Reaktionsweise besteht kein erkennbarer Unterschied zu PCA und PPA. Es könnte möglich sein, dass eine Kombination aus dem Zytostatikum Cisplatin und Auranofin eine höhere Effektivität in der Therapie aufweist, da Cisplatin von GSH inaktiviert wird (168), aber GSH durch Auranofin bei gleichzeitigem Nahrungsverzicht effektiv gesenkt wird. Dies könnte möglicherweise ebenfalls für PCA und PPA gelten.

Auranofin ist zusätzlich hochaffin gegenüber organischem Selenium in Form von Selenid (HSe^-). Durch den Austausch des Schwefelatoms aus der Thiolgruppe des Auranofins mit dem Selenatom aus HSe^- entsteht ein Hydrogensulfid-Anion (HS^-) als Nebenprodukt sowie eine fest gebundene Auranofin-Selen-Verbindung (169, 170). Damit sind Selenproteine wie die Thioredoxinreduktase (TrxR) Reaktions-, beziehungsweise Bindungspartner. Die TrxR wird durch die Bindung in ihrer Funktion gestört. Thioredoxinreduktase katalysiert die Reduktion von Thioredoxin (Trx), und ist damit ein essenzielles Glied des Thioredoxin-Systems. Bestehend aus Thioredoxinreduktase, Thioredoxin und NADPH formt dieses System intrazellulär reduzierte Disulfidbrücken. Dabei werden Elektronen von NADPH über die Thioredoxinreduktase auf Trx übertragen. Dieses reduziert dann weitere Moleküle. Es arbeitet über thiolgruppenabhängige Thiol-Disulfid-Austauschreaktionen. Außerdem induziert beispielsweise reduzierte Thioredoxinreduktase die DNA-Bindung von Transkriptionsfaktoren. Somit werden Proteine transkribiert, welche oxidativ geschädigte Proteine reduzieren. Letztendlich ist das System und somit auch Thioredoxinreduktase essenziell für die Kontrolle des intrazellulären Redoxsystems, des Zellwachstums, der Abwehr von oxidativem Stress, sowie der Kontrolle von Apoptosen und ist häufig in Krebszellen in irgendeiner Form überaktiv.

Auranofin hemmt dieses System durch die Bindung der Thioredoxinreduktase (166, 171, 172).

Zusätzlich inhibiert Auranofin das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS). Dieses System nimmt eine Schlüsselposition bezüglich der Kontrolle der korrekten Faltung von Proteinen ein. Es ist außerdem an der DNA-Reparatur, der Regulation des Zellzyklus und der

Genexpression beteiligt. Chaperone unterstützen zu faltende Proteine bei der korrekten Faltung. Schlägt die Faltung fehl, kann ein Protein-Chaperon-Ubiquitin-E3-Ligase-Komplex ausgebildet werden, und das Protein wird poly-ubiquitiniert. Durch den „Poly-Ubiquitin-Tag“ ist es praktisch für das Proteasom zur Degradation markiert und wird in Oligopeptide zerlegt (173). Dieser Vorgang ist essenziell für eine funktionierende Proteinproduktion, da mit der Größe der Proteine häufig auch die Komplexität der Faltung zunimmt, und somit eine potenziell deutlich höhere Fehlerrate besteht.

Besteht eine sehr ausgeprägte Proteinproduktion, ist für das Überleben der Zelle auch ein ausgeprägtes Ubiquitin-Proteasom-System notwendig. So ist es kaum verwunderlich, dass auch Krebszellen, die ja die ausgeprägte Biomassezunahme praktisch in ihren Genen tragen, hochregulierte Ubiquitin-Proteasom-Systeme besitzen. Die Ausprägung der Hochregulation hängt von der jeweiligen Tumorzellart ab (174).

Das UPS besteht vereinfacht dargestellt aus sechs „Teilen“: Ubiquitin (Ub), Das Ub-Activating Enzyme (E1), mehrere Ub-Conjugating Enzymes (E2s), viele Ub-Ligasen (E3), dem Proteasom und den Deubiquitinasen (DUBs) (174).

Auranofin hemmt anscheinend die Deubiquitinasen des UPS (170).

Die organische Goldverbindung erhöht unter Nahrungsentzug in PANC-1, MIA Paca-2, und PSN-1 Zellen die ROS-Level.

Die parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) sezernierenden KP-4 Zellen zeigten als einzige keine signifikanten Unterschiede in den ROS-Leveln zwischen Nahrungsentzug und normaler Nährstoffzufuhr nach der Auranofin-Zugabe.

Dieser Aspekt deutet an, dass nicht jede Tumorzellart in gleichem Maße affin für eine STS in Kombination mit Zytostatikatherapie sein könnte. Unter Nahrungsdeprivation erhöht Auranofin in Pankreaskarzinomzellen signifikant die intrazelluläre Caspase-3/7-Aktivität und aktiviert die Poly-(ADP-ribose)-Polymerase (PARP), was sich auf die betreffende Zelle proapoptotisch auswirkt (125).

3.5.5 Bewertung der Ergebnisse

Keine der in diesem Abschnitt besprochenen Substanzen wird aktuell (Stand 2020) in der Zytostatikatherapie eingesetzt. Das Mykotoxin Penicillinsäure selbst kann Chromosomenabberationen auslösen und ist damit selbst kanzerogen. Es verhält sich aflatoxinähnlich und wird nicht als Medikament eingesetzt. Lediglich Auranofin wird selten in der Therapie der rheumatoiden Arthritis angewandt.

Aufgrund der möglichen Toxizität sowie potenziellen Kanzerogenität bedarf es, außer für Auranofin, weiterer Tierversuche, bis es zu klinischen Case Studies kommen könnte. Hier

ist anzumerken, dass der Mausversuch von Onodera et al. zwar eine Wachstumsreduktion um etwa 30 % nach Applikation der Redox-Inhibitoren hervorrief, der in der Theorie angenommene Kombinationseffekt von GSH-senkenden Redox-Inhibitoren und Cisplatin aber keinen signifikanten Erfolg zeigte. Es geht bei diesem Abschnitt also nicht darum, aktuelle klinische Behandlungen vorzustellen, sondern den deutlichen Unterschied zwischen normalem Nährstoffangebot und Nahrungsentzug und die damit unterschiedlichen intrazellulären Gegebenheiten aufzuzeigen, welche dafür verantwortlich sein können, dass eine zeitlich begrenzte Nahrungsrestriktion während einer medikamentösen Behandlung erfolgreich sein könnte. Zudem präsentiert der Einsatz von Redox-Inhibitoren in Kombination mit einer Nahrungsrestriktion, zumindest in der Theorie, eine interessante zusätzliche Therapieoption, deren weitere Erforschung wünschenswert wäre (125).

3.6 Mausversuch – Fasten oder nicht fasten?

3.6.1 In normalen Zellen, aber nicht in Tumorzellen steigt durch Short-Term-Starvation die Resistenz gegenüber Chemotherapeutika

Dies ist nicht nur in Anbetracht einer geringeren Anzahl unerwünschter Arzneimittelwirkungen bei beibehaltener Chemotherapeutika-Dosis, sondern auch in Bezug auf eine mögliche Dosiserhöhung bei gleicher Verträglichkeit interessant, um den Tumor „so hart wie möglich“ zu treffen.

An Mäusen, welche einer kurzzeit-Fastenkur unterzogen und anschließend einer High-Dose-Chemotherapie ausgesetzt wurden, konnten Brandhorst et al. aufzeigen, dass dieses Setting zu einem Schutz der normalen Zellen, nicht aber der Tumorzellen führte.

Dabei wurden den unterschiedlichen Mausgruppen insgesamt sechs unterschiedliche, streng reglementierte Diäten verabreicht. Dies geschah, um herauszufinden, ob ein bestimmter Makronährstoff-Mix bzw. eine Diät in der Lage ist, in Bezug auf Blutglucose und IGF-1-Werte, einen annähernd gleichen Effekt wie bei der Short-term Starvation zu erzielen. Dies würde dann nach der Theorie der Differential Stress Resistance ebenfalls einen Schutz normaler Zellen vor Chemotherapeutika herbeiführen.

Für Patientinnen/Patienten, die eine Krebstherapie durchlaufen, ist es durch die zahlreichen Belastungen wichtig, unangenehme Anteile so tolerabel wie möglich zu gestalten. Eine spezifische Diät wäre für Betroffene wahrscheinlich leichter zu akzeptieren als ein vollständiger Nahrungsverzicht.

Drei Diätgruppen („20%P-1“, „20%P-2“, „0%P“) waren isokalorisch zur AIN93G-Nagetier-Diät, unterschieden sich aber in ihrer Zusammensetzung bezüglich der Anteile

von Proteinen, Fett und Kohlenhydraten sowie ihrer Fettquellen (20 %P-1 Sojabohnenöl; 20%P-2 Kokosnussöl). Zusätzlich wurden zwei weitere Gruppen mit Low-Carb-Diäten versorgt (60 %HF - ketogenic high (60 %) Fett, Protein und Kohlenhydrate proportional reduziert; 90 % HF - ketogenic high (90 %) hoher Fettgehalt 1 % Kohlenhydrate, 9 % Protein). Eine Mausgruppe wurde zum vollständigen Fasten gezwungen, und sollte das Patientinnengut/Patientengut, das eine STS durchführt repräsentieren. Eine Mausgruppe bekam eine Standard AIN93G-Diät. Diese diente als Kontrollgruppe, für eine normale Ernährung. Genannte Prozentzahlen beziehen sich immer auf prozentuale Anteile an der AIN93G-Diät. Einmal täglich wurde den Versuchstieren Blut entnommen. Die Verfasser stellten fest, dass die Zeit, um eine 20-prozentige Reduktion des Körpergewichts zu erreichen, linear mit dem Ausmaß der Kohlenhydratreduktion korrelierte. Keine Mausgruppe erreichte unter 9 Tagen so niedrige Blutglucosewerte wie die absolut fastende Gruppe, anschließend näherten sich die Werte bis zum 13. Tag in gleichliegende Bereiche an. Insgesamt war bezüglich der Blutglucosewerte egal, welches Öl als Fettanteil des Nahrungsmix diente.

Des Weiteren sollte festgestellt werden, inwiefern die verschiedenen Diäten und somit das jeweilige Ausmaß der Kalorienreduktion zu welchem Zeitpunkt den IGF-1-Wert beeinflusst. Dazu wurden diese Werte in den verschiedenen Maus-Diätgruppen über 13 Tage gemessen. Die Forscher stellten fest, dass im Gegensatz zum Blutglucosewert, die Fettquelle einen Unterschied auf die IGF-1-Produktion bewirkt. Während die IGF-1-Werte unter den Mäusen mit Sojaöl als Fettquelle und einer Proteinreduktion um 20 % im Gegensatz zur AIN93G (20%P-1 [Fettquelle: Sojaöl]) gleichblieben, sanken sie bei der Low-Protein-Diet 20%P-2 (Fettquelle: Kokosnussöl) signifikant. Die mit Abstand stärkste IGF-1-Reduktion erreichten Mäuse durch die 60-Stunden-Fastenperiode und die Diät mit einem beinahe absoluten Proteinverzicht 0%P. Bei beiden Mausgruppen reduzierten sich die im Blut zirkulierenden IGF-1-Werte nach 9 Tagen im Schnitt um 30 % im Gegensatz zur Kontrollgruppe.

Diese Messungen sind entscheidend, da Blutglucosewert und IGF-1 maßgeblich den Zellstoffwechsel in anaboler Hinsicht beeinflussen. Kommt es zur Absenkung, werden anabole Prozesse heruntergefahren. Somit würden in gesunden Zellen weniger Zellteilungen, sowie weniger DNA- und Proteinsynthese stattfinden. Folglich würden diese nicht in dem Maße von Antimetaboliten etc. getroffen werden, wie bei normal hohen oder erhöhten Blutglucose- und IGF-1-Werten. Es gibt noch zahlreiche weitere Wachstumshormone, die man messen könnte. Die verschiedenen Messzeiten lassen einen

Rückschluss zu, ab welcher Fastendauer, in diesem Fall bei Mäusen, mit einem signifikanten Absinken von Wachstumsfaktoren, und somit einem angenommenen Schutz gesunder Zellen vor Chemotherapeutika zu rechnen ist. Dies sind eher grobe Indizien. Es wäre erstrebenswert, Blutlevel genannter Signalmoleküle und Wachstumshormone an verschiedenen Tagen während der Fastenperiode zu messen, und zeitgleich per histologischer Untersuchung die Zellteilungs- und Apoptoserate zu bestimmen. Ziel dieser Messungen wäre, eine Korrelation zwischen gemessenen Signalmolekülen und der Zellteilungsrate herstellen zu können, um in Zukunft anhand alleiniger Messung der Signalmoleküle einen Rückschluss auf die Zellteilungsrate zu ermöglichen. Nach der Theorie der Differential Stress Resistance würde eine verringerte Zellteilungsrate, sowie ein erhöhter Anteil ruhender Zellen mit einem erhöhten Schutz vor Toxinen einhergehen. Die Forscherinnen/Forscher wollten in dieser Arbeit erörtern, ob eine Diät, welche eher von Patientinnen/Patienten akzeptiert wird, mit der STS vergleichbare IGF-1-Reduktionen bzw. eine ähnliche zytoprotektive Wirkung bei normalen Zellen bewirkt.

Insgesamt wurden 7 verschiedene Mausgruppen eines Mausgewichts von 25-32 g aus CD-1-Mäusen einer High-Dose Doxorubicininjektion, die aus einer Injektion von 24 mg/kg Mausgewicht Doxorubicin bestand unterzogen. Die STS-Gruppe wurde 60 Stunden vor der Injektion mit einem völligen Nahrungsentzug konfrontiert. Die anderen 6 Mausgruppen wurden 3 Tage vor der gleichen Injektion einer um 50 % kalorienreduzierten Diät (gemessen an der AIN93G Standardnahrung) mit vollwertigem Ersatz der essenziellen Mikronährstoffe unterzogen. Nach der Injektion der High-Dose-Therapie wurden beide Gruppen mit AIN93G Standardnahrung versorgt. Anschließend wurden täglich Glucose sowie IGF-1, der einen wesentlichen Faktor für die Steuerung des Zellwachstums darstellt, gemessen. Auch wurden die Mäuse auf etwaige toxische Anzeichen der High-Dose Therapie untersucht, sowie das Mausgewicht gemessen.

Eine High-Dose-Injektion ist für Mäuse ein potenziell tödliches Ereignis. Die hier beobachteten Mäuse galten als überlebend, wenn sie 25 Tage nach Injektion noch lebten. Der prozentuale Anteil der überlebenden Mäuse einer Mausgruppe dient als wichtiger Parameter für die Protektion gegen die Toxizität der chemotherapeutischen Intervention. Die 50 % kalorienreduzierten ernährten Mäuse verloren in den ersten 60 Stunden 12-15 % Mausgewicht. In der STS Gruppe teilnehmende Mäuse verloren in den ersten 60 Stunden vor Injektion 20 % Körpergewicht.

Nach der Doxorubicininjektion bekamen alle Mäuse die Standard-AIN93G-Nahrung mit normaler Kalorienmenge und bauten wieder Gewicht auf, bis ein chemotoxizitätsbedingter

erneuter Gewichtverlust einsetzte, welcher bis zum 8. Tag andauerte. Anschließend legten wieder alle Mäuse, bis auf die 0 % P Gruppe an Gewicht zu.

Auffällig waren die unterschiedlichen Überlebensraten zwischen den Mausgruppen.

Während die vor der Doxorubicin-Injektion „normal“ ernährte Mausgruppe die niedrigste Überlebensrate von nur 16 % aufwies, überlebten 89 % in der STS Gruppe, in der über 60 Stunden vor DXR-Injektion gefastet wurde. Bei Gruppen mit kalorienreduzierter Fütterung betrug die Überlebensrate, ausgenommen der Gruppe mit hohem Proteinanteil der Nahrung, zwischen 45 bis 55 %. Unterschiede zwischen den verschiedenen Kohlenhydrat-Protein-Fett-Zusammensetzungen zeigten diesbezüglich keinen signifikanten Unterschied. Die Daten könnten einen linearen Zusammenhang zwischen prozentuaalem Anteil der Kalorienreduktion und der Stressresistenz gegenüber Toxizität bestimmter Chemotherapeutika widerspiegeln, was mit weiteren Tests untersucht werden könnte.

Nicht klar ist, ob sich diese vermutete Linearität bei länger gestreckter Diät- bzw. Fastenintervall ändert. Hierbei wären hundert Prozent der „Grundbedarf“ des Individuums und null Prozent „keine Nahrungsaufnahme“.

Die 50%-CR-LCHP-Gruppe (kalorienreduzierte aber stark proteinhaltige Nahrung) zeigte beinahe eine gleich hohe Sterblichkeitsrate wie die Kontrollgruppe. Die Forscherinnen/Forscher vermuteten einen Zusammenhang zwischen proteinhaltiger Nahrung und höheren IGF-1-Leveln.

In Bezug auf sichtbare Toxizitätszeichen zeigte die normal ernährte Kontrollgruppe verminderte Bewegung, auffällig zerzaustes Haar sowie eine gekrümmte Rückenhaltung. In der fastenden Gruppe konnten diesbezüglich keine sichtbaren Veränderungen festgestellt werden.

Die STS führte innerhalb von 60 Stunden zu einem durchschnittlichen Absinken der Blutglucose um 70 % und senkte die IGF-1-Blutkonzentration bis zu 75 %.

Die Labormessungen zeigten, dass bis auf die 50%-CR-ketogene-90%-HF-Diät keine Diät im Stande war, den Blutglucosewert signifikant zu reduzieren. Im Fall der 50%-CR-ketogenen-90%-HF-Diät führte dies nicht zu einem erhöhten Überleben. Keine Diät reichte in Bezug auf die Verminderung der Blutglucosewerte auch nur annähernd an die STS heran. Erst nach 96 Stunden durchgeführter kalorienreduzierter Diät stellte sich eine Reduktion der Blutglucose um 40 % ein (92, 121).

Die Daten legen nahe, dass keine der durchgeführten Diäten eine vergleichbare Resistenz normaler Zellen gegen Chemotherapeutika induziert, wie die 60 Stunden Kurzzeitfastenperiode vor Doxorubicin-Injektion.

Auch scheint STS Nebenwirkungen bei den Versuchstieren signifikant reduziert zu haben (89).

3.6.2 Einfluss einer kalorienreduzierten Diät auf die Effektivität von Chemotherapeutika

Brandhorst et al. konnten an BalB/C Mäusen, denen sie subkutan 4T1-Brustkrebszellen implantierten und die sie anschließend mit 50 % kalorienreduzierter AING92G-Diät ernährten, keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Größenprogression des Tumors nach einer Cisplatin-Behandlung zur normal ernährten Kontrollgruppe feststellen. Der gesamte Beobachtungszeitraum ab dem Tag der Tumorimplantation betrug 53 Tage (89).

3.6.3 Short-Term-Fasting im Unterschied zu lang praktizierter Kalorienrestriktion

Langfristig angewandte Kalorienrestriktion kann das Tumorwachstum verlangsamen, aber nicht verhindern (175). Es scheint bestimmte Tumoren zu geben, welche sensibler auf Kalorienrestriktion reagieren und andere nicht. Tumoren mit einem überaktiven PI3K-Signalweg reagieren beispielsweise nicht sensibel auf Kalorienrestriktion (139).

Ein grundlegendes Problem der langfristigen Kalorienreduktion kann in der damit einhergehenden chronischen Gewichtsabnahme liegen. In Bezug auf spezielle Pankreaskarzinomzellen zeigte sich im Zellversuch bei gezieltem vorübergehendem Verzicht auf bestimmte Aminosäuren ein Ansprechen der Zellen auf Redox-Inhibitoren (125).

Patientinnen/Patienten mit drohender oder bestehender Kachexie könnten aufgrund erschwerten Muskelaufbaus, verlängerter Wundheilung, des Abbaus von Fettreserven und verzögerter Wundheilung eher Schaden nehmen als von langfristiger Kalorienrestriktion zu profitieren (118, 119, 122, 176).

Der Punkt der verzögerten Wundheilung ist insbesondere bei operierten Personen als kritisch anzusehen.

Insgesamt scheint eine Short-term Starvation deutlich geeigneter, um Glucosewerte und IGF-1-Werte signifikant zu senken und Patientinnen/Patienten vor unerwünschten Arzneimittelwirkungen verabreichter Chemotherapeutika zu schützen (89).

3.7 STF während der Zytostatikatherapie beim Menschen

Insgesamt gibt es weltweit nur eine geringe Anzahl klinischer Studien zum Einfluss von STF auf die Nebenwirkungen, Lebensqualität, und den Erfolg von

Zytostatikaapplikationen. Nach Kenntnis des Autors wurde bisher nicht klinisch untersucht, ob aufgrund einer angenommenen erhöhten Resistenz gesunder Zellen gegenüber Chemotherapeutika eine höhere Zytostatikadosis in der Praxis applizierbar ist, und wie sich dies auf die 5-Jahres-Überlebenszeit der Betroffenen auswirkt.

3.7.1 University of Southern California 2009 – Safdie et al.

Beruhend auf vorangegangenen Versuchen an Mäusen starteten Safdie et al. eine Case Study mit 10 Teilnehmern und Teilnehmerinnen mit unterschiedlichen malignen Erkrankungen, welche jeweils unterschiedliche Zeitspannen (mindestens 48 Stunden) vor und nach ihrer jeweiligen Zytostatikainjektion fasteten. Ziel war es, die Anwendbarkeit und Sicherheit von STF in einem kleinen Rahmen zu testen, und dessen Auswirkungen auf die Toxizität der Zytostatikatherapie zu dokumentieren (95).

3.7.1.1 Verwendete Chemotherapeutika

Aufgrund der unterschiedlichsten zu behandelnden Karzinome wurden auch verschiedenste Chemotherapeutika angepasst an das jeweilige Behandlungsregime verabreicht. Darunter befanden sich 5-FU, Cisplatin, Carboplatin, Bevacizumab, das damals in einer Phase III Trial getestete Abirateronacetat, Cyclophosphamid, Docetaxel, Doxorubicin, Gemcitabin, Ifosfamid, Paclitaxel und Trastuzumab. Supportiv wurde gegen Leukopenien G-CSF verabreicht (95).

3.7.1.2 Die Teilnehmerinnen und Teilnehmer

Insgesamt wurden 7 Frauen und 3 Männer mit einem Durchschnittsalter von 61 Jahren (Range: 44-68 Jahre) in die Fallstudie eingebunden. 4 Teilnehmerinnen litten an Brustkrebs, 2 Männer an Prostatakarzinom. Ebenfalls waren ein Ovarialkarzinom, ein Uteruskarzinom, ein Ösophaguskarzinom sowie ein kleinzelliges Lungenkarzinom vertreten (95).

3.7.1.3 Das Fastenprotokoll

Es gab kein einheitliches Fastenprotokoll. Die Teilnehmenden fasteten individuell unterschiedlich, mindestens aber 48 bis 148 Stunden vor, und/oder 5 bis 56 Stunden nach der Chemotherapeutikaapplikation. 4 Teilnehmende fasteten während jedem ihrer Chemotherapiezyklen. Die 6 weiteren ernährten sich während einiger Zyklen ad libitum. Dieser Zyklus wurden dann mit dem Zyklus unter STF-Bedingungen verglichen (95).

3.7.1.4 Kontrolle der Compliance

Die Kontrolle der Compliance beruht auf den Aussagen der Studienteilnehmerinnen und deren ausgefüllten Fragebögen. Die Fragebögen (Common Terminology Criteria for

Adverse Events of National Cancer Institute, Version 3.0) mussten innerhalb von 7 Tagen post chemotherapeutischer Anwendung ausgefüllt werden (95).

3.7.1.5 Die Nebenwirkungen

STF wurde für häufig angegebenen Schwindel, Hungergefühl und Kopfschmerzen als ursächlich erachtet. Diese Symptome waren jedoch nicht limitierend für die täglichen Aktivitäten der Probandinnen und Probanden (95).

3.7.1.6 Auswirkungen auf die Toxizität der Zytostatikatherapie

Während und nach sämtlichen Chemotherapeutikaawendungen kam es bei Patientinnen/Patienten, hatten sie zuvor und kurz danach gefastet, zu keinen schweren unerwünschten Arzneimittelwirkungen. Außerdem kam es unter den genannten Fastenbedingungen zu einer massiven Reduktion von Nausea, Erbrechen, Diarrhö, abdominalen Krämpfen und Mukositis. Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen traten unter ad-libitum-Ernährungsbedingungen dahingegen bei 5 von 6 Fällen dieser Patientinnengruppe/Patientengruppe auf.

Die 4 Personen, die durchgehend bei jeder ihrer Chemotherapieanwendungen gefastet hatten, gaben durchweg geringere Nebenwirkungserscheinungen an, als laut vorherigen Studien bezüglich dieser Medikamente zu erwarten gewesen wäre. In der Gruppe der teils Fastenden, teils ad libitum Praktizierenden wurde während der Zyklen mit Fasten eine signifikante Reduktion der Fatigue und des Schwächegefühls erfasst. Diarrhöe und Vomitus wurden am deutlichsten durch STF reduziert.

Die Autorinnen und Autoren geben als limitierend an, dass eine positive Erwartungshaltung der Patientinnen/Patienten gegenüber dem Fasten die Ergebnisse verfälschen könnte. Gleichzeitig führen sie an, dass ihre Ergebnisse mit bisher erhobenen Zell- und Tierversuchen vereinbar seien. Die Forscherinnen und Forscher sehen ihre Ergebnisse als Indiz, dass STF in Kombination mit Chemotherapie ein geeignetes, anwendbares und sicheres Verfahren sei, um die Toxizität einer Chemotherapie auf gesunde Körperzellen zu reduzieren. Gleichzeitig betonen sie, dass es deutlich größerer, klinischer Studien bedarf, um eine adäquate Aussage über diese Frage zu treffen (95).

Ein wichtiger Punkt, welchen Safdie et al nicht erwähnen, wäre eine positive Erwartungshaltung der Ärzte.

Außerdem könnte das häufigere Wechseln zwischen ad-Libitum-Ernährung und STF bei betreffenden Patientinnen einen kumulierten Toxizitätseffekt in den jeweils nächsten Zyklen mit eingeschleppt haben.

3.7.2 Studie am Leiden University Medical Center 2015 - De Groot et al.

In der 2011 beginnenden und 2015 in BMC publizierten Pilotstudie wollten die Autoren die Durchführbarkeit von STF an einem heterogenen Patientinnengut/Patientengut mit Brustkrebs im Frühstadium während deren Zytostatikatherapie, sowie den Effekt von STF auf die Toleranz der Patientinnen/Patienten gegenüber der Toxizität der Ihnen verabreichten Chemotherapeutika untersuchen. Dazu unterteilten sie die Teilnehmer in zwei Gruppen, von denen eine um die Zytostatikaapplikation herum fastete, und eine sich lediglich gesund ernährte (177).

3.7.2.1 Die Teilnehmerinnen

Insgesamt 13 volljährige Frauen mit einer bestätigten HER2-negativen, Stage II/III BC Diagnose wurden in die Studie eingeschlossen. Um mitmachen zu dürfen, mussten alle Personen einen Body Mass Index ≥ 19 besitzen, einen WHO Performance Status von 0 bis 2 aufweisen, eine von ärztlicher Seite geschätzte Lebenserwartung über oder gleich 3 Monaten sowie eine adäquate Knochenmarksfunktion haben. Außerdem wurden nur Frauen mit einer renalen Clearance über 50 ml/min, einer ausreichenden Herzfunktion und ohne Diabetes Mellitus oder akuter Lactation eingeschlossen (177).

3.7.2.2 Das Fastenregime

Die Probandinnen, die in die Fastengruppe eingeteilt wurden, sollten 24 Stunden vor und 24 Stunden nach dem Start der Zytostatikainfusion keine Nahrung zu sich nehmen. Als Getränke waren Wasser, Kaffee oder Tee ohne Zucker unbegrenzt erlaubt. Die Patientinnen dokumentierten ihre oralen Aufnahmen schriftlich (177).

3.7.2.3 Die Nicht-Fastengruppe

Die Patientinnen der Kontrollgruppe sollten einer den „guidelines for healthy nutrition“ adäquaten Ernährung nachgehen und mindestens zwei Früchte pro Tag konsumieren (177).

3.7.2.4 Die verabreichten Chemotherapeutika

Insgesamt wurden die Patientinnen sechs 3-Wochen-Zyklen unterzogen. Am ersten Tag des 3-Wochen-Zyklus erhielten die Probandinnen 75 mg/m² Docetaxel über eine Stunde, über 15 Minuten 50 mg/m² Adriamycin sowie 500 mg/m² Cyclophosphamid über eine Stunde. Supportiv wurden gegen den Brechreiz ein Serotonin-5-HT₃-Rezeptor-Antagonist kurz vor sowie zur Bekämpfung der Leukopenie G-CSF (Pegfilgrastim 6 mg), einen Tag nach der Zytostatikainfusion verabreicht. Jeweils am Vortag, am Tag der Zytostatika-Infusion und am Folgetag wurde zur Vermeidung von Überempfindlichkeitsreaktionen sowie gegen Flüssigkeitsretention Dexamethason (jeweils 8 mg) verabreicht (177).

3.7.2.5 Laborparameter

Sowohl bis zwei Wochen vor der Zytostatikabehandlung als auch direkt davor wurden venöse Blutproben entnommen, die umfassend untersucht wurden. Zu den detektierten Parametern gehörte das metabolische Panel aus Insulin, Glucose, IGF-1 und IGF3-B, das endokrine Panel aus Thyroidea-stimulierendem Hormon (TSH), Triiodothyronin (T3) und freiem Thyroxin (FT4), als auch hämatologische Parameter wie Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl und Leukozytenzahl. Die inflammatorische Reaktion wurde anhand des CRPs überwacht. Um die DNA-Schädigung zu messen, wurde nochmals kurz nach der Chemotherapieanwendung sowie sieben Tage danach venöses Blut entnommen und mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (Peripheral Blood Mononucleated Cells = PBMCs) isoliert. Anschließend wurde deren γ -H2AX-Akkumulation gemessen. Die Messung von γ -H2AX zur Beurteilung des Grades der DNA-Schädigung nach Bestrahlung ist anerkannt. Im Zusammenhang mit der Quantifizierung einer DNA-Schädigung durch Chemotherapeutika, gab es bis dato laut Studienautoren noch keine Erkenntnisse (177).

3.7.2.6 Kontrolle der Compliance

Da Blutproben in definierten Zeitabständen genommen wurden, kann man anhand der Glucose- und IGF-1-Werte die Einhaltung des Fastens kontrollieren. Außerdem wurde den Patientinnenaussagen/Patientenaussagen vertraut (177).

3.7.2.7 Die Nebenwirkungen

2 Patientinnen aus der STF-Gruppe wechselten nach dem dritten Chemotherapiezyklus zur Nicht-Fasten-Prozedur. Grund dafür waren bei einer Patientin Sodbrennen und bei der anderen wiederkehrende febrile Neutropenie. Diese Symptome, die als Grund für das Beenden des STF angegeben wurden, persistierten bei beiden Teilnehmerinnen jedoch noch über die folgenden 3 durchgeführten Zyklen bis zum Ende (177).

3.7.2.8 Die Ergebnisse

Zusammenfassend betrachtet gab es in der STF Gruppe vergleichbar viele zytostatikaassoziierte unerwünschte Wirkungen wie in der nicht-STF Gruppe. Somit zeigte die STF Intervention 24 Stunden vor und 24 Stunden nach Chemotherapieanwendung in dieser Studie keinen Vorteil bezüglich des Nebenwirkungsprofils.

Die Blutuntersuchungen enthüllten, dass die Blutglucosewerte in der STF-Gruppe am Tag der chemotherapeutischen Anwendung im Gegensatz zum Baseline-Wert (außerhalb der Fastenzeit) sogar gestiegen waren (von 5,2 mmol/L auf 6,8 mmol/L). Insulin blieb in der STF-Gruppe beinahe identisch (von 14,0 mU/L auf 13,0 mU/L). Auch der IGF-1-Wert war im Gegensatz zur Baseline im Schnitt lediglich marginal um 17,3 % auf 19,6 nmol/L (5.4-

24.3 nmol/L) gesenkt worden. IGF-BP3, TSH und FT4 waren in etwa gleichbleibend in der STF-Gruppe. In der nicht STF-Gruppe waren die Durchschnittswerte am Tag der Chemotherapie im Gegensatz zur Baseline bezüglich des Insulin- und Glucosewertes gestiegen und TSH im Gegensatz zur Baseline gefallen. Die anderen Werte blieben in etwa gleich. Für das nicht signifikante Herabsinken des IGF-1-Wertes, für den in vorangegangenen Studien eine Korrelation für das Ausmaß der differentiellen Stressresistenz postuliert wurde, vermuteten De Groot et al. zum einen die relativ kurze Fastendauer (lediglich 24 Stunden bis zur Messung bzw. Injektion), als auch die um die Chemotherapeutikaapplikation erfolgte Gabe von Dexamethason als ursächlich. Auch wurde über das Auftreten von „symptom clusters and pharmacogenomics“ spekuliert. Aus den untersuchten PBMCs ging hervor, dass γ -H2AX in CD45 + CD3+ Lymphozyten 30 Minuten nach Chemotherapieeinleitung in beiden Gruppen erhöht war, 7 Tage nach der Chemotherapieapplikation jedoch ausschließlich in der STF Gruppe abfiel, was auf eine verbesserte DNA-Reparaturfähigkeit unter Fasten hinweist. In CD45 + und CD3-myeloischen Zellen stieg γ -H2AX 30 Minuten nach Chemotherapeutikaapplikation im Gegensatz zur nicht-STF Gruppe nicht an. Dies implementiert einen Schutz dieser Zellen vor DNA-Schäden durch Chemotherapeutika unter Fastenbedingungen. In beiden Gruppen blieben Erythrozyten und Thrombozyten signifikant hoch. Dies war mit der Gabe von Pegfilgrastim vereinbar, welches als humaner Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (G-CSF) die Produktion der weißen Blutkörperchen anregt (177).

Die Fastendauer, besonders vor der Applikation der Zytostatika, ist in diesem Fall wahrscheinlich zu kurz gewählt. Bisher konnte im Mausmodell ein definitiver zytoprotektiver Effekt gegen Toxine nach 60 Stunden Fastendauer vor Applikation nachgewiesen werden (89). Auch in der Pilotstudie von 2009 von Safdie et al. fasteten die Probandinnen und Probanden im Schnitt deutlich länger (95).

Die Studie zeigt aber, dass STF in der Klinik bei Krebspatientinnen/Krebspatienten sicher anwendbar ist, und von den Patientinnen und Patienten akzeptiert wird.

3.7.3 University of Southern California Davis School of Gerontology 2016 – Dorff et al.

In dieser Pilotstudie wollten Dorff et al. an Patientinnen/Patienten mit Karzinomen in fortgeschrittenen Stadien überprüfen, ob die Etablierung einer STF-Periode von bis zu 72 Stunden (24h, 48h und 72 h) um die Applikation kombinierter platinhaltiger Zytostatika machbar und sicher ist. Außerdem sollte überprüft werden, ob das Fasten in diesem Fall eine erkennbare Differential Stress Resistance hervorruft. Zudem sollte in zusätzlichen

Studien überprüft werden, ab welcher Fastendauer diese Differential Stress Resistance einsetzt und welche Biomarker am ehesten mit dieser korrelieren (178).

3.7.3.1 Die Teilnehmerinnen und Teilnehmer

Es wurden 20 Patienten/Patientinnen, davon 17 Frauen, mit kurativer oder palliativer Einstufung, einer vorgesehenen Kombinationstherapie platinhaltiger Zytostatika, ohne vorgesehene zusätzliche Bestrahlung in die Studie eingeschlossen. Das Durchschnittsalter betrug 61 Jahre (range 31–75). Zudem wurden Patientinnen/Patienten ausgeschlossen, bei denen eine Verabreichung der Medikamente über einen zusammenhängenden längeren Zeitraum (>2 Tage) angedacht war, da das Fastenregime „um“ die Applikation herum erfolgen sollte. Es wurden auch Patientinnen/Patienten in die Studie miteingeschlossen, die bereits bis zu zwei Zyklen durchlaufen hatten, solange noch mindestens zwei Zyklen ausstanden. Zudem wurden Patientinnen/Patienten mit einem Body Mass Index <20.5, Diabetes oder die mehr als 10% Körpergewicht im vorangegangenen Jahr verloren hatten, nicht in die Studie aufgenommen. Es waren 6 Urothelkarzinome, 6 Ovarialkarzinome, 5 Mammakarzinome, 2 Uteruskarzinome und 1 non-small cell Lung Karzinoma vertreten (178).

3.7.3.2 Die Chemotherapeutika

Insgesamt wurden Cisplatin, Carboplatin, Gemcitabin, Paclitaxel, nab-Paclitaxel, TCH (Docetaxel, Carboplatin, Trastuzumab) in verschiedenen Kombinationen eingesetzt.

Patientinnen/Patienten mit platinhaltigen Zytostatika im Therapieplan, deren Verabreichungsdauer 2 Tage am Stück überschreiten, wurden ausgeschlossen.

Supportiv wurden Standardantiemetika (5-HT₃-Rezeptorantagonisten) und Dexamethason verabreicht (178).

3.7.3.3 Das Fastenregime

Die Patientinnen/Patienten wurden angehalten, während der ihnen zugeteilten Fastendauer lediglich kalorienfreie Getränke zu konsumieren. Beim Auftreten von fastenassoziierten Nebenwirkungen wie einem Schwächegefühl, Schwindel oder orthostatische Beschwerden war es ihnen gestattet, geringe Mengen Fruchtsaft oder Nahrung unter 200kcal/24h zu konsumieren. Insgesamt wurden 6 Personen in die 24h-, 7 in die 48h- und 7 Personen in die 72h-Kohorte eingeteilt. Die Patientinnen/Patienten führten Tagebuch über ihre oralen Aufnahmen, um die Kalorienaufnahme bemessen zu können.

Auf Basis der Einhaltung des Fastenregimes wurden die Probandinnen/Probanden in „compliant“ eingeteilt, falls sie in 2 aufeinanderfolgenden Zyklen die Grenze von

200kcal/24h während der definierten STF-Zeit nicht überschritten. Die Autoren erachteten das Fastenregime als anwendbar („feasible“), sobald 3 oder mehr Probandinnen/Probanden einer Kohorte keine hospitalisierungspflichtigen Ereignisse, welche außerhalb des bekannten Nebenwirkungsschemas der Zytostatika, Krankheitsfolgen oder den Folgen einer stattgehabten Operation lagen, zeigten.

Die 24h-Kohorte wurde angehalten, zuerst 24 Stunden vor der Chemotherapeutikaapplikation zu fasten. Wurde dies für anwendbar und sicher beurteilt, wurde für die nächste Kohorte die Dauer auf 48 Stunden vor der Applikation ausgeweitet. War dies ebenfalls noch „feasible“ und sicher, wurde auf insgesamt 72 Stunden STF-Dauer für die nächste Kohorte erhöht, aufgeteilt in 48 Stunden vor-, und 24 Stunden nach Zytostatikaapplikation.

Außerhalb der STF-Phase sollten sich die Probandinnen/Probanden normal ernähren (178).

3.7.3.4 Gemessene Laborparameter

Zu Beginn der Studie wurden die Baselinewerte der Probandinnen/Probanden von Glucose, Insulin, und IGF-1, IGFBP und β -Hydroxybutyrat bestimmt. Die folgenden Blutabnahmen während der Zyklen wurden kurz vor Applikation der Prämedikation, beziehungsweise der Zytostatika, sowie 24 h nach deren Abschluss abgenommen. Zusätzlich wurde mithilfe des Comet Assay (single cell gel electrophoresis = SCGE) die DNA-Schädigung der Probandinnen/Probanden gemessen, die sich compliant zeigten (178).

3.7.3.5 Die Nebenwirkungen

Als fastenassoziierte, unerwünschte Wirkungen nannten 10 Personen Fatigue (6 Grad 1 und 4 Grad 2), 6 Personen gaben Kopfschmerzen 1. Grades an, 6-mal beklagten Probandinnen/Probanden Schwindel, 3 Personen entwickelten eine Hypoglykämie, 2 Personen einen Grad 1 Gewichtsverlust, 2 Personen entwickelten eine Hyponatriämie und ein Teilnehmer entwickelte eine Hypotension. Es wurde keine Grad 3 oder 4 fastenassoziierte Nebenwirkung dokumentiert (178).

3.7.3.6 Die Ergebnisse

Da es keine Kontrollgruppe gab, gibt es Einschränkungen in der Aussagefähigkeit, inwiefern sich dasselbe Therapiekonstrukt bei nicht fastenden Individuen ausgewirkt hätte. 72-stündiges Fasten um eine Chemotherapieanwendung mit platinhaltigen Chemotherapeutika ist sicher und klinisch durchführbar. Fastenbedingt kam es zu keinen

dritt- oder höhergradigen unerwünschten Wirkungen. Fasten erzeugte bei den Probandinnen/Probanden keine Mangelerscheinungen.

Der stärkste prozentuale IGF-1-Abfall wurde bei allen Probandinnen/Probanden 24 Stunden nach Fastenbeginn festgestellt. Die mit dem Fasten über diesen Zeitpunkt Fortfahrenden zeigten teils steigende Werte an Insulin, und teils keine signifikant weiter sinkenden IGF-1-Spiegel. Hinter diesem unerwarteten Verlauf mutmaßten die Autoren Incompliance oder die Auswirkung der supportiven Maßnahmen wie Dexamethasongaben. Trotzdem zeigte die 72h-STF-Gruppe mutmaßlich geringere DNA-Schädigung in Leukozyten nach der Chemotherapieverabreichung im Gegensatz zur 24h-STF-Gruppe. In den 48- und 72h-STF-Gruppen erlebten weniger Patientinnen/Patienten Grad 3 und 4 Neutropenien, als auch weniger Grad 1 oder 2 Trombozytopenien. Da allerdings mehr Teilnehmerinnen/Teilnehmer in der 24h-STF-Gruppe Gemcitabine/Cisplatin verabreicht bekamen, könnte die stärkere Myelosuppression in dieser Gruppe (24h-Gruppe) darin begründet sein. Eine weitere Einschränkung ergibt sich dadurch, dass manche Patientinnen/Patienten bereits Chemotherapeutika verabreicht bekommen hatten, bevor sie in die Studie aufgenommen wurden. Dies bedeutet, dass sie bei Blutabnahme bereits vorgeschädigt sein konnten, während andere, die noch keinen Zyklus bekommen hatten, zu diesem Zeitpunkt noch geringere Myelosuppression erfuhren.

Als limitierende Faktoren merken die Autoren die bei einigen Probandinnen/Probanden nicht mit der Fastendauer korrelierenden Glucose- und Ketonkörperspiegel an. Diese deuten auf ein Brechen der Kalorienrestriktion von maximal 200 kcal/24h hin. Auch ein unterschiedlicher Proteinanteil der „Notnahrung“ könnte die Unterschiede verursachen. Außerdem könnten Dexamethason und weitere supportive Medikamente den Glucose- und Hormonspiegel beeinflusst haben, und die Ergebnisse so limitiert haben (178).

3.7.4 Charité Studie 2018 – Bauersfeld et al.

Für eine 2018 publizierte Studie wurden an der Charité insgesamt 50 Frauen in diese eingebunden und die Wirkung von STF auf die Lebensqualität und dessen Einfluss auf die Toleranz gegenüber Chemotherapeutika untersucht. Es handelt sich hierbei um eine individuell randomisierte Cross-over-Studie. Alle Studienteilnehmerinnen hatten entweder ein Ovarial- oder Mammakarzinom, mit 4 bis 6 geplanten Zytostatikazyklen. Alle erhielten ein leitliniengerechtes Therapieprotokoll (179).

3.7.4.1 Verwendete Chemotherapeutika

Verwendete Chemotherapeutika waren Taxane (Docetaxel, Paclitaxel), platinhaltige Substanzen (Carboplatin, Cyclophosphamid), Anthracycline (Epirubicin, Doxorubicin),

Methotrexat, Fluorouracil, der IgG1-Antikörper Bevacizumab (Avastin) sowie bei nachgewiesener HER2/neu Überexpression Pertuzumab oder Trastuzumab in verschiedensten leitliniengerechten Kombinationen.

Supportiv wurden die Standardantimetika wie 5-HT3-Rezeptorantagonisten und, um Unverträglichkeitsreaktionen gegenüber den Medikamenten vorzubeugen, Dexamethason verabreicht (179).

3.7.4.2 Die Teilnehmerinnen

Von den anfänglich 50 eingebundenen Teilnehmerinnen blieben insgesamt 34 bis zum Ende (der Analyse) dabei. Alle aufgenommenen zeigten einen WHO Performance Status von 2 oder besser, konnten also mindestens 50 % ihrer Wachzeit aufstehen, gehen und sich selbst versorgen. Außerdem war das Patientinnenkollektiv volljährig, hatte einen BMI > 19 und die von ärztlicher Seite erwartete Lebenserwartung lag über 3 Monate. Patientinnen mit Diabetes Mellitus 1 oder anderweitiger intensivierter medikamentöser Insulingabe, dokumentierter Essstörung, Psychosen, Immobilität, Demenz oder Niereninsuffizienz wurden von der Studie ausgeschlossen. Außerdem ausgeschlossen wurden Menschen, die in den letzten 3 Monaten von Infarkten oder Pulmonalembolien betroffen waren.

Eine Person schied aus, da sie die Zytostatikatherapie grundsätzlich ablehnte, eine weitere Person zeigte eine Aversion gegen die Fastengetränke, 2 Personen gaben persönliche Gründe an, 8 Personen waren non-adhärenz und insgesamt 5 Teilnehmerinnen brachen die Studie aufgrund von Nebenwirkungen des Fastens ab. Die Altersspanne der 34 bis zur Analyse der Ergebnisse verbliebenen Teilnehmerinnen reichte von 28 bis 69 Lebensjahre, mit einem Durchschnittsalter von 51 Jahren (179).

3.7.4.3 Das Fastenprotokoll

Das Kurzzeitfasten begann 36 Stunden vor und endete 24 Stunden nach der Zytostatikaapplikation. Dabei war es den Teilnehmerinnen erlaubt, soviel Wasser wie gewünscht zu sich zu nehmen. Begrenzte Mengen an Gemüsesaft (2x100ml), Kräutertees und begrenzte Mengen an kalorienarmer Gemüsebrühe durften konsumiert werden, solange die Kalorienaufnahme 350 kcal täglich nicht überschritt (179).

3.7.4.4 Die isokalorische Diät

An allen Nicht-Fasten-Tagen sollten die Patientinnen eine mediterrane isokalorische Diät zu sich nehmen. Dies galt auch für die zweite Gruppe, die sich während der ersten Hälfte der Zytostatikaanwendungen isokalorisch ernähren sollte (179).

3.7.4.5 Kontrolle der Compliance

Die korrekte Durchführung des Fastenregimes wurde seitens der Studienverantwortlichen mündlich bei den Patientinnen immer am Ende eines Chemotherapiezyklus erfragt (179).

3.7.4.6 Die Nebenwirkungen

Als Nebenwirkungen des Fastens wurden Minor Side Effects wie Kopfschmerzen, Hyperventilation während der ersten Zytostatikaaanwendung oder subjektive generelle körperliche Abgeschlagenheit dokumentiert. 5 Personen der anfangs 50 brachen wegen solch unerwünschter Wirkungen ihre Teilnahme an der Studie ab (179).

3.7.4.7 Die Ergebnisse

Die Datenerhebung bezüglich der Lebensqualität während der Zeit um die Zytostatikaaanwendungen erfolgte mithilfe von Fragebögen wie dem „Functional Assessment of Chronic Illness Therapy“ (FACIT©) bzw. dem „Functional Assessment of Cancer Therapy-General“ (FACT-G©) sowie weiteren Skalen und Scores. Außerdem wurden die Patientinnen klinisch regelmäßig untersucht.

Sämtliche durch das Fasten hervorgerufenen unerwünschten Wirkungen waren von geringerer Schwere. Die meisten unerwünschten Wirkungen wurden während der ersten STF-Phase verzeichnet. Dazu gehörten häufig leichte Nausea nach der Aufnahme von Gemüsebrühe oder Gemüsesäften (11x), Hunger (5x) oder Kopfschmerzen (5x). Außerdem wurde eine orthostatische Dysregulation verzeichnet. Die unerwünschten Wirkungen hatten keinen Einfluss auf den Tagesablauf und stellten keine Beeinträchtigung ihrer täglichen Aktivitäten dar.

Bezüglich der allgemeinen Toxizitätskriterien (Common Toxicity Criteria = CTC) kam es durch die Zytostatikaaanwendungen in der Fastengruppe zu keinen Grad-III- oder IV-Events. Dies bedeutet, dass es bei dem Patientinnengut/Patientengut zu keinen schweren unerwünschten Arzneimittelwirkungen kam, die einer stationären Aufnahme bedurft hätten.

Beim Gewicht der Probandinnen gab es keine signifikanten Veränderungen, explizit keinen relevanten Gewichtsverlust durch die 60-Stündigen Fastenzyklen. Das durchschnittliche Körpergewicht bei Gruppe A betrug zu Beginn 73 kg und am Ende der Studie 72,3 kg und in Gruppe B stieg das durchschnittliche Körpergewicht dezent von 67,9 kg am Anfang auf 68,5 kg am Ende. Insgesamt wurden 102 befastete Chemotherapiezyklen und 74 isokalorische Chemotherapiezyklen dokumentiert. Der Umstand, dass während mehr Chemotherapiezyklen gefastet wurde ist darin begründet,

dass einige Probandinnen in Gruppe A nicht mehr ohne zu Fasten ihre Zytostatikaapplikation erhalten wollten.

In Gruppe A gab es während der ersten 3 Zytostatikazyklen laut FACT-G einen signifikanten statistischen und klinischen Benefit bezüglich der Lebensqualität und Fatigue, im Gegensatz zu den Zytostatikazyklen 4 bis 6, welche dieselben Probandinnen mit normokalorischer Diät durchliefen.

Bemerkenswert ist, dass in Gruppe B zwischen den Zytostatikazyklen, die unter isokalorischer Diät durchgeführt wurden und den darauffolgenden Zyklen mit gleichzeitigem Fasten keine signifikante Verbesserung im FACT-G bezogen auf Fatigue und Lebensqualität eintrat. Dazu sei bemerkt, dass aber auch keine signifikante Verschlechterung bezogen auf diese Punkte vermerkt wurde.

Im direkten Gespräch am Ende der Studie gaben die Patientinnen mehrheitlich an, die Chemotherapien mit durchgeführtem STF besser vertragen zu haben. Insgesamt bewerteten 28 Patientinnen die Kombination aus STF und Zytostatikaapplikation als „gut“ oder „sehr gut“, 5 Patientinnen den Effekt von STF auf die Verträglichkeit als moderat und eine Patientin den Effekt als „nicht vorhanden“. 31 Patientinnen würden während einer Chemotherapie erneut fasten und 3 nicht. Es konnten klinisch keine Malnutrationszeichen festgestellt werden.

Bauersfeld et al. folgerten, STF sei eine durchführbare und adäquate Maßnahme, um bei Patientinnen, die einer Chemotherapie unterzogen werden die Lebensqualität zu erhöhen, die Fatigue zu reduzieren und das Wohlbefinden der betroffenen Patientinnen zu erhöhen. Dabei seien klare Kontraindikationen, wie sie in der Studie als Ausschlusskriterium genutzt wurden zu definieren.

Außerdem habe die durchgeführte Studie zahlreiche Limitationen wie die geringe Teilnehmerinnenzahl, welche zu einer geringeren statistischen Aussagekraft führe. In einer solch kleinen Gruppe tragen Unterschiede bezüglich des Behandlungsregimes oder der körperlichen Verfassung eher zur Verfälschung eines einheitlich definierten und möglichst isoliert betrachteten Zielwertes bei.

Zudem bedingten Cross-over-Studien grundsätzlich die Gefahr des Cross-Over-Effekts. Dieser Aspekt ist, wegen einer möglichen kumulativen Toxizität verschiedener Zytostatika, nicht von der Hand zu weisen.

Eine weitere Limitation ist durch das grundsätzlich positive Bild des Fastens in der Deutschen Gesellschaft gegeben, wodurch das Probandinnengut voreingenommen sein

kann. Ein solcher Effekt, könne nur mit einer Doppelblindstudie ausgeschlossen werden, was bei einer Fastenanwendung aber schlecht möglich ist.

Auch könnten Patientinnen aufgrund von Scham ein Fastenbrechen verschwiegen haben, da die Überwachung der Patientinnencompliance lediglich auf Aussagen beschränkt war. Der Unterschied zwischen Gruppe A und Gruppe B könnte darin liegen, dass Fasten zu Toleranz gegenüber Zytostatika womöglich besser beiträgt, wenn noch kein toxizitätsbedingter Schaden zuvor eingetreten ist (179).

3.8 Grenzgänge zwischen STF und FMDs beim Menschen

Die erste der hier vorgestellten Studien trifft nach ihrem Diätregime eher eine Grenze zwischen STF und kalorienreduzierter ketogener FMD. Da keine einheitliche Grenze zwischen STF und FMD bezüglich der maximalen zuzuführenden kcal/24h definiert ist, wird dieses in der Studie selbst als modifiziert Short-term Fasting bezeichnete Regime als „Grenzgang“ zwischen STF und FMD eingeordnet.

3.8.1 Universität Freiburg 2020 – Zorn et al.

In dieser open label Cross-over-Studie wollten die Studienatorinnen/Studienautoren klären, ob modified Short-term Fasting (mSTF), welches mit einer angegebenen 24-stündigen Kalorienzufuhr von bis 600 kcal nach der Definition in dieser Diplomarbeit zwischen kalorienreduzierten ketogenen FMDs und STF liegt, mit optional vorausgehender ketogener Diät die chemotherapieinduzierten unerwünschten Nebenwirkungen, explizit CTCAE grade III und höher, bei Brustkrebspatientinnen reduziert. Außerdem sollte eruiert werden, ob sich eine initiale ketogene Diät positiv auf die Compliance der Patientinnen und die fastenverursachten unerwünschten Wirkungen reduziert. Zusätzlich sollte der Einfluss auf das subjektive Lebensgefühl, die von den Patientinnen angegebenen unerwünschten Wirkungen der Chemotherapeutika und Blutparameter eruiert werden. Dazu wurden vier verschiedene Gruppen (A; B; C; D) mit verschiedenen vorgeschriebenen Diätregimen entworfen. Diese Diätregime wechselten nach der Hälfte der anberaumten Chemotherapiezyklen. Für die Teilnehmenden waren individuell unterschiedlich insgesamt 4 bis 6 Zyklen geplant. Das Cross-over erfolgte also jeweils nach 2 beziehungsweise 3 Zyklen. Die Zahlen bezüglich der Teilnehmenden beziehen sich auf jene, die bis zum Abschluss dabeigeblichen sind. Die Teilnehmerinnen wurden mit zahlreichen Fragebögen konfrontiert.

Die Zytostatikaauswirkungen bezüglich der Toxizität wurden anhand des National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI CTCAE v4.0) auf einer

Skala von 1 bis 5 eingeteilt, wobei 1 Punkt milde Nebenwirkungen darstellten und 5 Punkte den Tod bedeuteten. Auch FACIT kam wieder zum Einsatz. Zusätzlich wurden „validated questionnaires issued by the European Organisation for Research and Treatment of Cancer“ (EORTC) erhoben. Chemotherapie induzierte Polyneuropathien (CIPN), die Lebensqualität (QoL) und die Fatigue wurden per Fragebögen erfasst. Zusätzlich sollten die Teilnehmerinnen die Schwere der unerwünschten Nebenwirkungen auf einer Skala von 0 bis 3 täglich selbstständig eintragen (180).

3.8.1.1 Die Teilnehmerinnen

Insgesamt 30 Patientinnen mit einem Durchschnittsalter von 54 Jahren (Range 30 -74 Jahre) von den anfangs 51 Frauen vollendete die Studie. Der BMI lag durchschnittlich bei 26. Von den 21 Teilnehmerinnen, welche die Studie nicht vollendeten, brachen 2 Personen aufgrund von „fasting-related discomfort“ ab, 4 Frauen nahmen ihre Einwilligung ohne die Nennung von Gründen zurück. Die weiteren Abbrüche waren eher organisatorischer Natur und unabhängig vom Unwillen zu fasten. Alle Teilnehmenden hatten eine gynäkologische maligne Erkrankung, die einer chemotherapeutischen Behandlung bedurfte.

22 (73,3 %) der Teilnehmerinnen litten am Mammakarzinom. Zudem besaßen 4 ein Cervixkarzinom, 2 Teilnehmerinnen waren an Endometriumkarzinom und 2 an Ovarialkarzinom erkrankt.

Nach dem nutritional risk screening (NRS) wies eine Person ein NRS3 Risiko für Mangelernährung auf. Den restlichen Personen lagen beim $NRS \leq 2$.

Ausschlusskriterien waren eine manifeste Mangelernährung (Gewichtsverlust über mehr als 5 % in den letzten 3 Monaten, ein $BMI < 18,5$), eine Gichterkrankung, Essstörungen, eine schwere kardiovaskuläre Erkrankung, Schwangerschaft oder Lactation und eine Steroidmedikation oder eine verordnete Einnahme von IGF-1-Inhibitoren (180).

3.8.1.2 Die verschiedenen Kohorten

Insgesamt wurden vier verschiedene Gruppen, A, B, C, D gebildet.

Gruppe A, aus welcher 7 Teilnehmerinnen die Studie beendeten, begann mit einer mSTF und ernährte sich in der zweiten Hälfte normokalorisch (NC).

Die aus 9 Teilnehmerinnen bestehende Gruppe B begann die erste Zyklus-Hälfte mit einer normokalorischen Diät und bestritt die zweite Hälfte modifiziert fastend.

In Gruppe C wurde vor das modifizierte Kurzzeitfasten eine ketogene Diät geschoben und anschließend gefastet. Nach der ersten Hälfte der Zyklen ernährte sich die insgesamt aus einer Person bestehende „Gruppe“ normokalorisch.

Die letzte aus insgesamt 13 „Vollendern“ bestehende Gruppe ernährte sich die ersten 2 bzw. 3 Zyklen normaokalorisch, um die Chemotherapieanwendung per ketogener Diät mit anschließendem mSTF (180).

3.8.1.3 Verwendete Chemotherapeutika

Die an Mammakarzinom erkrankten Teilnehmerinnen bekamen eine neoadjuvante Therapie mit Epirubicin und Cyclophosphamid verabreicht.

Insgesamt 7 Patientinnen bekamen Paclitaxel/Carboplatin. 22 Teilnehmerinnen wurde Epirubicin und Cyclophosphamid verabreicht und eine Person erhielt Docetaxel und Cyclophosphamid.

Supportiv wurden Medikamente gegen Nausea und Emesis verabreicht, welche in der Veröffentlichung nicht näher definiert wurden (180).

3.8.1.4 Das Fastenprotokoll/Diätregime

Das mSTF wurde 72 Stunden vor der Zytostatikaapplikation begonnen und 24 Stunden nach dieser wieder beendet. In den Gruppen, in denen eine ketogene Diät dem mSTF vorgeschaltet war, begann die ketogene Diät 6 Tage vor Beginn der mSTF. In jeder der vier Gruppen war mSTF sowie eine NC-Diät vorgesehen. Jede Studienteilnehmerin wurde von erfahrenem ernährungswissenschaftlich ausgebildetem Fachpersonal geschult.

Während des mSTF wurde die Kalorienzufuhr auf maximal 25 % des täglichen individuellen Energiebedarfs begrenzt. Dieser wurde aus dem Grundbedarf, geschätzt mithilfe der „improved“ Harris-Benedict-Formel, multipliziert mit dem individuellen „overall physical activity level“ berechnet. Somit ergab dies für die meisten Teilnehmerinnen eine Energiezufuhr von 400 bis 600 kcal pro 24 Stunden. Die Zusammensetzung besagter 25 % setzte sich zu 75 % aus Fett, zu 15 % aus Proteinen und 10 % aus Kohlenhydraten zusammen.

Probandinnen sollten mindestens 2,5 Liter pro Tag kalorienfreie und koffeinfreie Getränke wie Wasser oder Kräutertees zu sich nehmen. Alkoholische Getränke waren untersagt.

Die NC-Diät bestand aus 17 % Fettanteil, 17 % Proteinanteil und 44 % Kohlenhydratanteil (180).

3.8.1.5 Kontrolle der Compliance

Die Patientinnen waren verpflichtet, ihre Nahrungsaufnahme, als auch die Ergebnisse ihrer Ketonkörper-Selbstteststreifen täglich zu dokumentieren. Zudem wurden die Ketonkörper per „blood β -ketone test strips“ bei jeder Chemotherapie vom Studienpersonal gemessen (180).

3.8.1.6 Erhobene Laborparameter

Es wurden hämatologische (Differentialblutbild), inflammatorische (CRP), endokrine Werte (TSH, fT3, fT4) und metabolische Werte (Insulin, IGF-1) vor jeder Chemotherapieanwendung venös abgenommen und zwischen den Zeiten der verschiedenen Diäten verglichen.

Außerdem wurden gemäß des 2013 publizierten „Expert Panel Update of the 2002 Consensus Guidelines for Fasting Therapy“ aus den Blutabnahmen Elektrolyte (Calcium, Natrium, Kalium, Magnesium), renale Parameter (Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure und Stickstoff) und die Leberfunktion [Billirubin, Alaninaminotransferase (ALT), alkalische Phosphatase (ALP), Gammaglutamyltransferase (GGT)] überprüft.

Ketonkörper wurden sowohl vor der Chemotherapieapplikation, als auch von den Patientinnen/Patienten selbst zu Hause per Urintest gemessen (180).

3.8.1.7 Die Nebenwirkungen des Fastens

Es wurden unter den gängigsten Nebenwirkungen des Fastens 8-mal Hunger, 5-mal Schwindel, 4-mal allgemeine Schwäche als auch 4-mal Kopfschmerzen angegeben (180).

3.8.1.8 Ergebnisse und deren Bewertung

Während der Studie wurde bei 56 von insgesamt 118 Chemotherapiezyklen mSTF praktiziert. Während der NC wurden täglich im Schnitt 1631 ± 566 kcal (vorher geschätzt 1933 ± 178 kcal/Tag), während der mSTF durchschnittlich 493 ± 157 kcal (vorher geschätzt $484 (\pm 44)$ kcal/Tag) pro Tag konsumiert. Das Fasten während der Chemotherapie war sicher und anwendbar, bedurfte allerdings einer hohen Motivation der Studienteilnehmerinnen. Die wahlweise zusätzlich dem mSTF vorgeschaltete ketogene Diät zeigte keine Vorteile oder positiven Effekte.

Insgesamt wurde das modifizierte Kurzzeitfasten gut angenommen und „23 Teilnehmerinnen beurteilten den Effekt auf ihre Gesundheit mit „sehr gut“ oder „gut“. Dagegen stand, dass 11 Patientinnen die Prozedur als „eher schwierig“, eine Person die es als „schwierig“ durchzuführen einstufte und nur 9 Patientinnen diese als „einfach“ oder „eher einfach“ einordneten. 24 Patientinnen gaben an, erneut während einer Chemotherapie fasten zu können, falls diese nötig werde.

Die mSTF praktizierenden erreichten alle eine deutliche Steigerung ihrer Ketonkörperkonzentrationen im Blut (mSTF $1,27 \pm 1,18$ mmol/l, NC $0,21 \pm 1,98$ mmol/l; $P < 0,001$), und somit eine deutliche Steigerung ihrer Ketonkörper und Fettoxidation ($1,47 \pm 1,06$ mmol/l). Dies weist auf eine gute Compliance bezüglich des Fastens hin.

In Bezug auf die Chemotherapie induzierten Polyneuropathien (CIPN), die Lebensqualität (QoL) und die Fatigue gingen nach Auswertung der Fragebögen keine Unterschiede zwischen NC, mSTF oder KD + mSTF hervor.

Insgesamt traten bei sämtlichen Studienteilnehmerinnen relativ wenige CTCAE III. Grades oder höher auf, weshalb die Studienautorinnen und Autoren statistisch gesehen ihr Hauptziel verfehlten und sich an Häufigkeiten aus älteren Statstiken bedienten.

Nach den Chemotherapieapplikationen, um welche herum mSTF betrieben wurde, traten signifikant weniger Stomatitiden I. und II. Grades, weniger Kopfschmerzen, ein reduziertes Schwächegefühl und weniger Nebenwirkungen insgesamt auf.

In den mSTF Gruppen trat insgesamt eine Grad-III-Nausea auf. Die Studienautorinnen/Studienautoren verglichen die Tage, um die ein geplanter Chemotherapiezyklus nebenwirkungsbedingt verschoben werden musste und kamen auf eine signifikant geringere Verschiebedauer von im Schnitt 0,8 Tagen im Gegensatz zur NC-Diät.

Bezüglich der Laborparameter machte es keinen Unterschied, ob der mSTF eine ketogene Diät voranging. Modifiziert Fastende wiesen bezogen auf Elektrolyte geringere Natriumwerte auf.

Die Harnsäure im Blut stieg an, während sich Entzündungs-, Nieren- oder Leberparameter nicht von den NC-Zyklen unterschieden.

Die Schilddrüsenparameter fT3 wurde durchs Fasten signifikant verringert, während erhöhte fT4-Level detektiert wurden.

Insulin „ $[-169,4 \pm 44,1; 95\% \text{ CI } -257,1 - (-81,8); P < 0,001]$ “ und IGF-1 „ $[-33,3 \pm 5,4; 95\% \text{ CI } -44,1 - (-22,5); P < 0,001]$ “ waren deutlich erniedrigt.

Bezüglich des Blutbildes waren MCH und MCV erniedrigt.

Während der mSTF nahmen die Teilnehmerinnen, die zu Beginn der Studie bereits einen Durchschnitts-BMI entsprechend einer Präadipositas aufwiesen, signifikant im Gegensatz zur NC-Diät ab ($-0,63 \pm 0,23$). Diese Gewichtsverluste, größtenteils auf eine Verringerung von Fettgewebe zurückzuführen, blieben bis zum Abschluss der Studie erhalten.

Die Autoren hielten fest, dass sich die Vorteile des mSTF in Bezug auf das Nebenwirkungsschema und auch einigen gemessenen hämatologischen Parametern im Gegensatz zu vorangegangenen klinischen Studien deutlich unterschied. Den Unterschied in Bezug auf Übelkeit und Erbrechen führten die Autorinnen darauf zurück, dass eventuell präventiv Antiemetika verabreicht wurden. In Zukunft sollte bei ähnlichen Studien Glucose mitgemessen werden.

Es ist unabdingbar, den Zusammenhang und das Verhalten von Ketonkörpern, Insulin, und IGF-1 auf Fastenbedingungen besser zu verstehen.

Im Gegensatz zur vorgestellten Studie von Bauersfeld et al. zeigten die Ergebnisse hier keine Verringerung der Fatigue oder eine Verbesserung der Lebensqualität durch mSTF im Gegensatz zur NC-Diät. Hier ist kritisch anzumerken, dass die Fragebögen zur Erhebung dieser Parameter eine Woche vor der Chemotherapieapplikation ausgeteilt wurden, also nicht in der Zeit der erwartbaren maximalen Ausprägung erwartbarer Toxizitäten, sondern mit einem deutlichen Verzug. Andere Studien achteten eher darauf, dass die Fragebögen innerhalb von 7 Tagen post Chemotherapieanwendung fertig ausgefüllt waren. Somit könnte hier ein zeitlicher Verzug zu ungenauen Erinnerungen und somit Angaben der Teilnehmerinnen führen. Dies erwähnten auch die Studienautorinnen.

Zusammengefasst brachte die ketogene Diät, dem mSTF vorgeschaltet, keinen positiven Effekt in Bezug auf Patientinnencompliance, Nebenwirkungsschema oder irgendwelche anderen Werte.

Patientinnen empfanden die Kombination aus KD + mSTF als schwerer durchführbar als das ausschließliche mSTF.

Als Einschränkungen gaben die Autorinnen die geringe Teilnehmerzahl, eine erschwerte Randomisierung sowie potenziell nicht vollständig fastende Gruppen an.

Die Autorinnen gaben an, Carry-over Effekte einer Cross-over-Studie könnten aufgrund der relativ schnellen metabolischen Umstellung bei erneuter normaler Nahrungsaufnahme ausgeschlossen werden, da die neue Chemotherapeutikaapplikation ja erst in 3 Wochen erfolge (180). Dieser Punkt kann nach persönlicher Meinung des Verfassers dieser Arbeit kritisch gesehen werden, da potenziell eine nichtvorhandene Differential Stress Resistance während der ersten Zyklen bei normokalorischer Ernährung eine Akkumulation chemotherapieinduzierter Toxizitäten bedingt. Somit wären Die Studienteilnehmerinnen, die während ihrer ersten Chemotherapieapplikationen nicht fasten, nach dieser Theorie sozusagen „ungeschützt“ und könnten Schädigungen und somit Beschwerden in die folgenden Zyklen mit Fastenprozedur „mitschleppen“.

Einer der kritischsten Punkte, welchen die Autorinnen/Autoren auch erwähnen, ist das Nicht-Dokumentieren der supportiven Medikation.

Aufgrund der blutglucosesteigernden Wirkungen einiger standardmäßig supportiv verabreichter Medikamente wie Corticosteroiden oder 5HT-1-Rezeptor-Antagonisten ist deren etwaige Dokumentation von entscheidender Wichtigkeit.

3.9 Fasting-Mimicking-Diet und Chemotherapie beim Menschen

3.9.1 Dutch Breast Cancer Research Group – 2020 und 2021 Lugtenberg and Stefanie de Groot et al.

In der im November 2020 publizierten multicenter, open label, Phase-II-Studie untersuchten de Groot et al. an insgesamt 129 Teilnehmerinnen den Einfluss einer 4-tägigen Fasting-mimicking Diet im Gegensatz zu einer normokalorischen Diät (regular Diet =RD) auf das klinische Ansprechen einer (neoadjuvanten) Chemotherapiebehandlung als auch den Einfluss der FMD auf die Toxizität der Zytostatika. Als sekundäre Endpunkte wurden die Auswirkung der FMDs auf die Lebensqualität (QoL) und die Krankheitswahrnehmung in Bezug auf mögliche Nebenwirkungen der Chemotherapie untersucht.

Die Hypothese der Studienautorinnen/Studienautoren war, dass durchgeführte FMDs bei betreffenden Patientinnen zu einer geringeren Toxizität für gesunde Zellen führen würde und diese folglich weniger Nebenwirkung erlitten. Dies würde zu einer höheren Lebensqualität und positiveren Erwartungshaltung in Bezug auf die erwarteten chemotherapiebedingten Nebenwirkungen führen.

Alle Teilnehmerinnen besaßen zu therapierende HER2-negative stage II/III Mammakarzinome und wurden einer neoadjuvanten Chemotherapie und einer Operation unterzogen.

Zur Objektivierung der Lebensqualität mussten die Probandinnen Fragebögen der European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) (EORTC-QLQ-C30 und EORTC-QLQ-BR2) und zur Objektivierung der Krankheitswahrnehmung Fragebögen wie Brief Illness Perception Questionnaire (BIPQ) sowie bezüglich des Disstress das „Distress Thermometer“ zum Anfang der Studie, genau in der Mitte der Studie und vor dem letzten Zyklus sowie 6 Monate nach ihrer Operation ausfüllen. Damit sollten in einer klinischen Studie bezüglich Chemotherapie und FMD auch Langzeitwirkungen erfasst werden. Die Studienautoren legten einen Unterschied von 10 Punkten in den Fragebögen QLQ-C30 und QLQ-BR23 als signifikanten klinischen Unterschied in Bezug auf die Lebensqualität fest. In Bezug auf Disstress wurde ein Score ab 5 Punkten im „Distress Thermometer“ (DT) mit einem Range von 0-10 als klinisch signifikant festgelegt (181, 182).

3.9.1.1 Die Teilnehmerinnen

Insgesamt nahmen 129 Patientinnen an der Studie teil und wurden in 2 Gruppen eingeteilt. 65 Studienteilnehmerinnen mit einem Durchschnittsalter von 49 Jahren wurden der FMD-Gruppe und 64 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 51 Jahren der regular-Diet-Gruppe zugewiesen. Beide Gruppen zeigten eine ähnliche Altersverteilung und wiesen einen ähnlichen BMI (FMD:25,7/NC:26,0) auf. Insgesamt waren die Patientinnencharakteristika zwischen beiden Gruppen ausbalanciert (181, 182).

3.9.1.2 Das Diätregime

Die in die FMD Gruppe eingeteilten Frauen sollten 3 Tage vor und einen Tag nach der Chemotherapieapplikation eine pflanzenbasierte Diät mit geringer Aminosäuresubstitution verfolgen. Diese sollte aus Gemüsebrühen, Suppen, Wasser und Tee bestehen. Vitamine wurden oral substituiert.

Durften die Teilnehmenden am ersten Tag (3. Tag vor Chemotherapieapplikation) noch 1200 kcal konsumieren, waren an den Tagen 2 bis 4 200 kcal angesetzt (181, 182).

3.9.1.3 Kontrolle der Compliance

Die Kontrolle des Diätregimes als auch der normokalorisch Essenden erfolgte über Messung von Glucose, Insulin, IGF-1 vor jeder Chemotherapieinfusion. Diese Werte wurden auf Plausibilität bezüglich der durchgeführten FMD überprüft. Zusätzlich wurden Selbstauskünfte der Studienteilnehmerinnen dokumentiert (181, 182).

3.9.1.4 Erhobene Laborparameter

Vor jeder Chemotherapieapplikation wurden im Plasma Glucose, Insulin und IGF-1 bestimmt. Außerdem wurden zum gleichen Zeitpunkt Ketonkörper im Urin bestimmt (181, 182).

3.9.1.5 Die verabreichten Chemotherapeutika

Die Patientinnen erhielten FEC-T und 99 AC-T. AC-T ist eine Therapie aus Doxorubicin und Cyclophosphamide gefolgt von Docetaxel. FEC-T ist eine Therapie aus Fluorouracil und Epirubicin und Cyclophosphamide gefolgt von Docetaxel.

Es erfolgte, im Gegensatz zu den meisten zuvor vorgestellten Studien bei der FMD-Gruppe keine Prämedikation mit Corticosteroiden (181, 182).

3.9.1.6 Die Ergebnisse

Der Anteil der durch die gesamte Studiendauer adhärennten Teilnehmerinnen lag bei 21,5 %. Wurde der erste Zyklus noch von 81,5 % (65 Teilnehmende) mit korrektem Diätverhalten bestritten, blieben über 4 Zyklen noch 33,8 % (22 Teilnehmende) adhärennt.

Am häufigsten führte eine „Aversion gegen bestimmte Komponenten der Diät“ zur non-Compliance.

Allerdings begingen auch 5 Personen aus der RD-Gruppe „Fahnenflucht“ und fasteten über ein bis zwei Zyklen.

Die FMD Gruppe verzeichnete über die Studiendauer bezüglich des BMI einen milden Gewichtsverlust von im Schnitt 0,38 kg/m². Die Kontrollgruppe legte im Schnitt 0,64 kg/m² zu. In der Folgekontrolle 6 Monate nach der Operation hatte die FMD-Gruppe ihr Anfangsgewicht wiedererlangt, die RD-Gruppe hatte im Gegensatz zum Studienbeginn an Gewicht zugelegt.

24 Stunden und kurz vor der Chemotherapieapplikation wurden in der FMD-Gruppe venös niedrige Insulinspiegel und ein Trend zu niedrigeren Glucosespiegeln gemessen. Bei dem Teil der FMD mit beständiger Compliance fielen die IGF-1-Werte zwischen 1. und 3./4. Zyklus deutlich ab. Beim Teil der FMD der sich inkompliant zeigte, stiegen die IGF-1-Werte zwischen dem 1. und 3./4. Zyklus, wodurch in der Auswertungsgrafik eine Ähnlichkeit zur RD-Gruppe bestand.

Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen in der Auswertung der Fragebögen zur Lebensqualität.

Auch bezüglich des Auftretens von Toxizitäten 3. und 4. Grades gab es zwischen FMD- und RD-Gruppe keinen signifikanten Unterschied [FMD:14 (21,5 %); RD: 15 (23,4 %)]. Die 22 Teilnehmerinnen mit vollständiger Compliance zeigten leicht bessere Ergebnisse bezüglich der physischen, emotionalen, kognitiven und sozialen Selbsteinschätzung, dem eigenen Selbstbild als auch weniger Beschwerden bezüglich auftretender Fatigue, Nausea und Insomnie als nichtadhärente Personen.

Als Einschränkung für die Studie nannten die Autoren vor allem die hohe Rate non-adhärenter Teilnehmerinnen. Da diese seltener die Fragebögen ausfüllten, würden eher negative Erfahrungen unter Umständen nicht erfasst. Auch dass eine Doppelverblindung schwer möglich sei, habe unter Umständen Einfluss auf die Erwartungshaltung und das Verhalten der Patientinnen in der FMD Gruppe.

Die Autorinnen und Autoren halten einen möglicherweise positiven Effekt von FMDs auf die Lebensqualität und subjektiv positiver Erwartungshaltung von Patientinnen bei neoadjuvanten Therapien für möglich (181, 182).

3.10 Kontraindikationen gegen eine klinische Teilnahme am STFIFMDs-Regime

Einige Kontraindikationen lassen sich bereits theoretisch ermitteln.

Menschen, die zu geringe Energiereserven besitzen, als dass sie eine entsprechende Kalorienreduktion überleben könnten, müssen von dieser Prozedur ausgeschlossen werden (Kachexie).

Dies gilt auch für Patientinnen und Patienten mit einem ungewollten drastischen, potenziell voranschreitenden Gewichtsverlust. Jede Kalorienreduktion unter den Grundbedarf hat eine Gewichtsabnahme zur Folge, sodass individuell beurteilt werden muss, ob ein kritischer Energiemangel während der Fastenprozedur erreicht werden könnte.

So hatten viele der hier vorgestellten Studien einen Gewichtsverlust von mehr als 5 % (180) bzw. 10 % innerhalb der letzten 3 Monate als ein Ausschlusskriterium festgelegt. Eine Einwilligung ist aus ethischer, moralischer und rechtlicher Sicht immer zwingend notwendig.

Bei einem hepatischen Fructose-1,6-Bisphosphatase-Mangel sollten Hunger- und Fastenphasen vermieden werden (Siehe 4.12)! Menschen mit einer Essstörung (mit dem Ziel der Gewichtsabnahme), sollten aus Studien dieser Art ausgeschlossen werden (Anorexia nervosa).

Sollten Diagnosen bestehen oder Medikamente eingenommen werden, die in einer erwartbaren starken Beeinträchtigung der Wirkung des Fastens auf Glucose, Insulin-, IGF-1-Spiegel etc. resultieren, könnten somit künstlich erhöhte Glucose, Insulin und IGF-1-Spiegel den Effekt des Fastens konterkarieren. Darunter könnten theoretisch auch Corticosteroide oder IGF-1-Rezeptorantagonisten fallen.

Fasten hat einen Einfluss auf die Schilddrüsenhormonspiegel. In den Consensus Guidelines wird ein unkontrollierter Hyperthyreoidismus als Kontraindikation genannt (83).

Menschen mit psychiatrischen oder neurologischen (Demenz-) Erkrankungen, die sie daran hindern, sich des potenziellen Sinns und Zusammenhangs dieser Prozedur zu jeder Zeit bewusst zu sein, sollten nicht in solche Studien aufgenommen werden. Die Einwilligungsfähigkeit muss also stets gegeben sein.

Bereits bestehende, nicht beherrschbare Elektrolytstörungen können ein Ausschlusskriterium für eine Fastenprozedur sein.

Eine Schwangerschaft sollte zur Sicherheit für das Kind und mit Hinblick auf den erhöhten Bedarf der Schwangeren ohne Fasten durchlebt werden (83). Eine manifeste Leber- oder Niereninsuffizienz sind ebenfalls Ausschlusskriterien (83).

Weitere Kontraindikationen können aus den hier vorgestellten Studien entnommen werden.

3.11 Gefahren durch STS

Bei einem hepatischen Fructose-1,6-Bisphosphatase-Mangel kann es aufgrund der Schlüsselrolle dieses Enzyms in der Glukoneogenese, durch längere Fastenperioden zu einer Hypoglykämie mit Lactatazidose und Ketonkörperbildung kommen. Daher wäre es sinnvoll, Patientinnen/Patienten, denen man eine Fastenkur nahelegt, zuvor auf diesen seltenen Defekt zu untersuchen.

Durch Fasten kann es zu Elektrolytstörungen kommen. So führen eine unerkannte Dehydratation sowie Ketonkörperausscheidung zu einer verstärkten Ausscheidung von anfangs Natrium und bald darauf Ammonium (180, 183, 184).

Es kommt zu einem Anstieg der Harnsäure im Blut. Dies ist in einer „Konkurrenz“ mit den ansteigenden Mengen an Ketonkörpern um die tubuläre Sekretion in den Nieren begründet (180, 184, 185).

Bei Fastenden sollten daher regelmäßige Laborkontrollen der Elektrolyte, als auch der Nieren- und Leberparameter erfolgen (83).

Einige Medikamente müssen während einer Fastenphase angepasst werden, darunter Antihypertensiva und Diuretika (siehe Elektrolytstörungen), Antidiabetika (Hypoglykämie), Neuroleptika und Lithium sowie weitere Psychopharmaka (siehe Elektrolytstörungen), Antiemetika und weitere Medikamente (83).

Bei Menschen mit einer medikamentösen Ergänzung von Insulin wäre die Gefahr gegeben, dass diese während einer Fastenperiode trotz niedriger Glucosespiegel „Macht der Gewohnheit“ Insulin spritzen, und somit einen hypoglykämischen Schock riskieren. Diese bedürften einer besonders eingehenden Therapieanpassung.

3.12 Kann Fasten allein als Karzinomtherapie in Betracht gezogen werden?

Nein!

Sobald die betreffenden neoplastischen Zellen in irgendeiner Form eine Mutation der für den Phosphoinositide 3-Kinase/Akt Pathway codierenden Gene aufweisen, welche dessen Verstärkung zur Folge hat, würden diese Zellen immer einen „Konsumvorteil“ beziehungsweise Überlebensvorteil gegenüber anderen, gesunden Körperzellen haben (139, 186). Auch sorgen BRAF- und KRAS-Mutationen für eine verstärkte Transkription der Gensequenz GLUT1, die für den Glucose-Transporter-1 codiert. Dadurch nehmen Krebszellen mehr Glucose aus ihrer Umgebung auf als gesunde Zellen. Folglich befähigt sie diese Eigenschaft zur Aufnahme von adäquaten Glucosemengen, auch in Hungerzeiten.

Sollte ein Teil der Tumorzellen nicht genügend KRAS oder BRAF betreffende Mutationen aufweisen, würden diese untergehen.

Gleichzeitig wird die Tumormasse, sprich die überlebenden Zellen, einem Selektionsdruck ausgesetzt, unter dem die Zellen, die eine ausreichende Hyperaktivität von BRAF und KRAS aufweisen, und somit genügend Glucosetransporter ausbilden, überleben (138). Der nicht-neoplastische Teil des Körpers würde also eher in Autophagie und die Apoptose gehen, als die letztendlich wohlselektierten neoplastischen Zellen.

3.12.1 Einfluss von Low-Protein Diäten auf die Tumorprogression

Eine Low-Protein-Diät scheint bei einem bereits bestehenden GL26-Gliom keinen nennenswerten Einfluss auf dessen Progression zu haben. Dies legen Untersuchungen an Mäusen durch Brandhorst et al. nahe, denen GL26 Zellen implantiert wurden, und folgend mit zwei verschiedenen Diäten, einmal der AIN93G-Standard-Nahrung und einmal mit einer low-Protein-Diät ernährt wurden. Bei beiden Gruppen bestand nach 10 Tagen kein nennenswerter Unterschied bezüglich des Größenzuwachses (89).

4 Diskussion

Versuche an Zellen (92, 100, 119-121, 125, 187-190) und an Mäusen (89, 187, 189) wecken sehr hohe Erwartungen an eine starke klinische Wirksamkeit einer durch Nährstoffrestriktion hervorgerufenen Differential Stress Resistance.

Im Zellversuch konnte nachgewiesen werden, dass gesunde Zellen unter Nährstoffrestriktion resistenter gegen Toxine, insbesondere gegen Chemotherapeutika werden. Des Weiteren werden antioxidative Signalwege verstärkt, Autophagie angeregt und die DNA-Reparatur angeregt (85-87, 96, 100, 110, 185, 188).

Krebszellen weisen durch Onkogene wie bei einem verstärkten KRAS-/ bzw. RAS/ MAPK Signalweg, eine höhere Produktion reaktiver Sauerstoffspezies auf. Gleichzeitig sind unter anderem durch eine hohe Glucoseaufnahme und deren Verstoffwechslung, über NADPH und Glutathion-Synthese ihre antioxidativen Systeme verstärkt ausgebildet (140, 151, 153-155, 158, 160, 162, 173).

Bestimmte Krebszellen, wie Pankreaskarzinomzellen, werden im Zellversuch unter Nährstoffdeprivation besonders sensibel für Redox-System-Inhibitoren. Dies weist stark darauf hin, dass Nährstoffdeprivation die normalerweise hoch entwickelten Redox-Systeme von Krebszellen empfindlich stört, was bei gesunden Zellen nicht der Fall ist (125, 142, 158, 159, 161, 162, 166, 170, 174). Eine Ursache der geschwächten antioxidativen Potenz der Krebszellen könnte ein Mangel an Edukten der GSH-Synthese,

also den Aminosäuren Gln, Gly und Cys sein. Nach Zugabe dieser Aminosäuren wird die Toxizität der Redox-Inhibitoren trotz Mangelernährung aufgehoben (125). Ob entsprechend niedrige Spiegel dieser Aminosäuren durch Fasten oder Nahrungsdeprivation beim Menschen erreicht werden können, wäre mit Sicht auf eine mögliche Ergänzung der Chemotherapie durch Redox-Inhibitoren wichtig und entscheidend zu erforschen. Der Umstand, dass der menschliche Organismus unter Hungerbedingungen über beispielsweise Muskelgewebe Aminosäuren bereitstellt, ist ein entscheidender Unterschied zum Zellversuch.

An weiblichen Mäusen konnte eine deutliche Steigerung des Überlebens nach Intervention mit einer 60-stündigen STS vor der Injektion einer einmaligen High-Dose-Chemotherapie nachgewiesen werden (Überleben Kontrollgruppe 16 % gegenüber 89 % STS Gruppe). Nach 60-stündigem kompletten Nahrungsentzug sanken Glucoselevel der Labormäuse „um bis zu 70 %“ und IGF-1-Level um „bis zu 75 %“ (89). Die genauen Blutmessungen bezüglich des IGF-1 Verlaufes über die Tage sind bei Pubmed nicht einsehbar. Eine „um bis zu“ Angabe ist nicht sehr genau. Dennoch kann festgehalten werden, dass eine Reduktion des IGF-1 um etwa 70-75 % gegenüber den Baselinewerten möglicherweise mit einer bestehenden Differential Stress Resistance einhergeht.

2009 publizierten Safdie et al. in einer Case Study von 10 Teilnehmerinnen/Teilnehmern vielversprechende Ergebnisse. Nausea, Erbrechen, Diarrhö, abdominellen Krämpfe und Mukositis wurden im Gegensatz zu unbefasteten Zyklen durch Fasten deutlich reduziert. Außerdem traten im Gegensatz zu unbefasteten Zyklen, keine schweren unerwünschten Arzneimittelwirkungen auf (95). Die insgesamt sehr für das Fasten während einer Chemotherapie sprechenden Ergebnisse konnten die in späteren Jahren folgenden klinischen Studien nicht vollumfänglich reproduzieren.

Die 2015 von de Groot et al. publizierte Studie mit 13 Probandinnen stellte keinen signifikanten Unterschied zwischen STF-Gruppe und NC-Gruppe bezüglich des Nebenwirkungsprofils fest. Die STF-Gruppe zeigte vergleichbar viele Zytostatika assoziierte unerwünschte Wirkungen wie die Kontrollgruppe. Aufgrund der γ -H2AX-Messungen wurde allerdings ein DNA-protektiver Effekt des Kurzzeitfastens vermutet (95, 177).

Dorff et al. vermuteten 2016 basierend auf Messungen mit dem Comet Assay eine geringere DNA-Schädigung in Leukozyten nach der Chemotherapieverabreichung bei länger andauernder Fastendauer. Dabei wurden die 24- und 72- Stunden-STF-Gruppe miteinander verglichen. Den stärksten prozentualen IGF-1-Abfall verzeichneten

Patientinnen/Patienten nach 24-stündiger Fastendauer. Allerdings wurden supportiv Corticosteroide verabreicht, und die Compliance der Patientinnen wurde teils in Frage gestellt.

In den 48- und 72h-STF-Gruppen erlebten weniger Patientinnen/Patienten Grad 3 und 4 Neutropenien, als auch weniger Grad 1 oder 2 Thrombozytopenien.

Dorff et al. merken als limitierenden Faktor ihrer Studie an, dass Zytostatikaregime der verschiedenen Gruppen der Studie ungleich verteilt sind (178).

Bauersfeldt et al. stellen in ihrer 2018 publizierten Studie fest, STF während der Chemotherapie sei dazu geeignet die Lebensqualität zu erhöhen, die Fatigue zu reduzieren und das Wohlbefinden der betroffenen Patientinnen zu erhöhen. Als Limitation dieser Studie sehen sie die geringe Teilnehmerzahl ihrer Studie. Subjektiv gaben Patientinnen mehrheitlich an, die Chemotherapien mit durchgeführtem STF besser vertragen zu haben (179).

Zorn et al. hielten in ihrer 2020 publizierten Studie fest, dass eine maximale Kalorienaufnahme von 600 kcal (mSTF) im Vergleich zu NC oder KD + mSTF das Potential besitzt, unerwünschte Wirkungen von Chemotherapeutika zu reduzieren und sich positiv auf die Toleranz der Probandinnen gegenüber Chemotherapeutika auszuwirken. Aus subjektiver Sicht der Patientinnen zeigte mSTF bezüglich Chemotherapie induzierter Polyneuropathien (CIPN), der Lebensqualität (QoL) und der Fatigue während bzw. nach einer Chemotherapie keine Unterschiede.

Klinisch dokumentiert traten bei der mSTF Gruppe weniger Stomatitiden I. und II. Grades, weniger Kopfschmerzen, ein reduziertes Schwächegefühl und weniger Nebenwirkungen insgesamt auf. Die Verschiebedauer des jeweils folgenden Chemotherapiezyklus konnte durch die Kalorienrestriktion um durchschnittlich 0,8 Tage verkürzt werden.

Der Schilddrüsenparameter fT3 wird durch ausgeprägte Kalorienrestriktion von maximal 600 kcal/24h anscheinend signifikant verringert, während fT4-Level ansteigen.

Eine dem mSTF vorangehende ketogene Diät zeigte in der Studie von Zorn et al. keine Vorteile (180).

In der Studie von de Groot et al. zeigte sich nur eine Minderheit der Teilnehmenden (21,5 %) vollständig compliant mit dem Diätregime. Je mehr Chemotherapiezyklen mit einer FMD bestritten werden mussten, desto häufiger wurde die Diät abgebrochen.

Eine möglicherweise durch Zytostatika hervorgerufene Aversion gegen bestimmte Diätanteile erschwerte die Adhärenz bezüglich einer FMD.

Eine FMD kann während einer Chemotherapie möglicherweise in dezenterem Ausmaß zu einer verbesserten physischen, emotionalen, kognitiven und sozialen Selbsteinschätzung führen. Im Gegensatz zu nichtadhärenten Teilnehmerinnen gaben Patientinnen weniger Beschwerden bezüglich auftretender Fatigue, Nausea und Insomnie an (182).

Einvernehmlich gaben die Studien an, dass Fasten während chemotherapeutischer Zyklen für die Probandinnen/Probanden sicher und im klinischen Setting anwendbar ist. Zu den häufigsten erwartbaren unerwünschten Wirkungen des Fastens zählen Hunger, Schwindel und Kopfschmerzen. Ein protektiver Einfluss auf Teile des Knochenmarks ist wahrscheinlich (95, 135, 177-179, 181).

Insgesamt zeigen die klinischen Versuche beim Menschen ein gemischtes Bild bezüglich des Ausmaßes der Verbesserung des Nebenwirkungsschemas durch Fasten oder FMDs unter Chemotherapie.

Welche Limitationen könnten die hier vorgestellten Studien aufweisen?

Eine Möglichkeit wäre die voreingenommene Rolle der Forschenden, die zu viel zu positiven Outcomes ihrer Studienziele führte. Auch kann ein positiver Erwartungseffekt bei fastenden Patientinnen/Patienten zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen.

Brechen Patientinnen/Patienten aufgrund von Schwierigkeiten mit dem Diätregime oder Nebenwirkungen die Studie ab, fallen sie aus der per-Protokoll-Analyse heraus. Da viele Studien mit Fragebögen arbeiten, werden die Fragebögen der Abbrecher nicht mehr ausgefüllt und damit nicht ausgewertet.

Eine weitere Limitation ergibt sich durch die geringe Teilnehmerzahl der Studien. Ein aus Scham oder ähnlichen Gefühlen nicht erwähntes Abweichen vom Diätregime würde bei lediglich auf mündlichen Aussagen beruhender Compliance-Überwachung auch zu verfälschten Ergebnissen führen.

Dem Umstand, dass Zell- und Tierversuche zwar Hinweise auf mögliche klinische Wirkungen geben können, jedoch eine große Distanz in der Aussagekraft in Bezug auf diese bergen (Zellversuche größere Distanz als Säugetierversuche), muss Rechnung getragen werden.

Auch die supportive Medikation könnte einen Einfluss haben.

Bei beinahe allen klinischen Studien (bei Zorn et al. 2020 fraglich) bekamen die Patientinnen und Patienten Corticosteroide verabreicht.

Cortisol bzw. deren Derivate könnten möglicherweise durch ihre modulierenden Effekte auf den Kohlenhydrat-, Eiweiß und Fettstoffwechsel ein die Differential Stress Resistance konterkarierendes Umfeld schaffen.

Eine Dexamethasongabe ist beim Mausversuch von Brandhorst nicht erfolgt. Auch war die Kalorienrestriktion kombiniert mit 60 Stunden Dauer im Vergleich zu den klinischen Studien wohl das strikteste Fastenregime. Dieser Tierversuch legt eine drastisch höhere Resistenz gegen die Toxizität der injizierten Hochdosis durch die 60-stündige STS vor der Chemotherapie-Injektion nahe. Jedoch konnten die Mäuse nicht explizit und differenziert nach unerwünschten Wirkungen befragt werden. Das Geschlecht der Mäuse in diesem Versuch war, wie das der meisten in den hier vorgestellten Studien teilnehmenden Personen weiblich.

Die Fastendauer vor der jeweiligen Chemotherapieanwendung als auch die maximale erlaubte Kalorienaufnahme in den verschiedenen Studien unterschieden sich deutlich voneinander.

De Groot et al. (2015) sahen in ihrer Studie eine Fastendauer von 24 Stunden vor der Injektion vor. Es erfolgte eine supportive Therapie mit Cortison und Antiemetika (177).

Bei Dorff et al. (2016) betrug die maximale Fastendauer vor Chemotherapeutika-Applikation 48 Stunden. Auffällig waren allerdings teils steigende Werte an Insulin und teils keine signifikant weiter sinkenden IGF-1-Spiegel trotz zunehmender Fastendauer. Auch hier erfolgte eine supportive Therapie mit Cortison und Antiemetika (178).

Bauersfeld et al. sahen eine Fastendauer von 36 Stunden vor der Chemotherapeutikaapplikation vor. Außerdem war eine Kalorienaufnahme von bis zu 350 kcal erlaubt (178, 179).

Zorn et al. (2020) sahen zwar 72 Stunden als Fastendauer vor der Injektion vor, allerdings durften Patientinnen bis zu 25 % ihres Tagesbedarfs zu sich nehmen.

Bei Safdie et al. (2009) gibt es keinen Vermerk, dass bis auf G-CSF routinemäßig weitere supportive Medikamente wie Corticosteroide verabreicht worden wären. Auch den Mäusen von Brandhorst et al. wurden keine Corticosteroide verabreicht.

Eine komplette Kalorienrestriktion über mindestens 60 Stunden vor der chemotherapeutischen Applikation ist für Betreffende möglicherweise eine große Herausforderung. Auch in Anbetracht, dass diese bei Mäusen zu einer Differential Stress Resistance führt, diese Säugetiere aber einen zum Menschen unterschiedlich schnell ablaufenden Stoffwechsel besitzen.

Im Gegensatz zu den klinischen Studien war die Nahrungsrestriktion in Zell- als auch Mausstudien besonders strikt. Durch die Hochdosis-Injektion und das Weglassen supportiver Medikation wurden im Mausversuch im Gegensatz zu klinischen Studien unter Umständen Bias eliminiert. Die Eskalation verschiedener Parameter (High-Dose-Injektion,

STS) zeigten, bezogen auf die Überlebensrate einen eindeutigen Vorteil einer der Chemotherapeutikaapplikation vorgeschalteten STS. In den klinischen Studien ist bisher nicht ausreichend überprüft, ob ein dementsprechend strikter Nahrungsverzicht mit dem Verzicht supportiver Medikation, falls ethisch vertretbar, im klinischen Setting deutlichere Unterschiede zur Kontrollgruppe liefert, als die bisher angefertigten Studien. Interessant wäre es auch in Langzeitstudien zu untersuchen, ob STS oder STF während einer Chemotherapie Auswirkungen auf die 5-Jahres-Überlebensrate haben.

Zusammenfassend lässt sich anhand sämtlicher zu diesem Zeitpunkt (Stand 2021) vorliegenden klinischen Studien keine pauschale Empfehlung zum Fasten oder zu FMDs bei Chemotherapie geben, wenn dies für Patientinnen/Patienten als zusätzliche Belastung empfunden wird. Bei Patientinnen/Patienten, die eine sehr positive Grundeinstellung gegenüber Fasten besitzen, und ein Wunsch nach zusätzlichen Maßnahmen besteht, kann dies aus Sicht der Patientinnensicherheit/Patientensicherheit und Anwendbarkeit jedoch unter strenger Observation und unter Berücksichtigung eventueller Gegenanzeigen angeboten werden. Um valide Aussagen bezüglich der Protektion gegenüber der Toxizität von Chemotherapeutika beim Menschen, die einer Chemotherapie unterzogen werden, treffen zu können, sind jedoch deutlich umfangreichere Studien mit höheren Fallzahlen nötig.

Literaturverzeichnis

1. Forsa. Angst vor Krankheiten 5. November 2018 [4. Oktober 2021]. Available from: <https://www.dak.de/dak/download/forsa-umfrage-2112958.pdf>.
2. Egdahl A. WHO: World Health Organization. *Ill Med J.* 1954;105(5):280-2.
3. Prof. Dr. Alexander Katalinic DSH, Dr. Sabine Luttmann, Dr. Mechthild Waldeyer-Sauerland, Dr. Annika Waldmann (Kapitel 1.1). *Krebs in Deutschland für 2015/2016.* Berlin: Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg); 2019, Corrigenda 2020 17.08.2020. Report No.: 12 Contract No.: 12.
4. Jaffee EM, Dang CV, Agus DB, Alexander BM, Anderson KC, Ashworth A, et al. Future cancer research priorities in the USA: a Lancet Oncology Commission. *Lancet Oncol.* 2017;18(11):e653-e706.
5. Ma S, Li X, Wang X, Cheng L, Li Z, Zhang C, et al. Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Solid Tumors. *Int J Biol Sci.* 2019;15(12):2548-60.
6. Neelapu SS. Managing the toxicities of CAR T-cell therapy. *Hematol Oncol.* 2019;37 Suppl 1:48-52.
7. Sermer D, Brentjens R. CAR T-cell therapy: Full speed ahead. *Hematol Oncol.* 2019;37 Suppl 1:95-100.
8. Bonadonna G. Does chemotherapy fulfill its expectations in cancer treatment? *Ann Oncol.* 1990;1(1):11-21.
9. Duesberg P, Li R. Multistep carcinogenesis: a chain reaction of aneuploidizations. *Cell Cycle.* 2003;2(3):202-10.
10. Foulds L. *Neoplastic development.* London, New York,: Academic P.; 1969. v. p.
11. Kufe DW, Holland JF, Frei E, American Cancer Society. *Cancer medicine* 6. 6th ed. Hamilton, Ont. ; Lewiston, NY distributor: BC Decker; 2003.
12. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. DNA methylation and genetic instability in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(6):2545-50.
13. Duesberg P, Rausch C, Rasnick D, Hehlmann R. Genetic instability of cancer cells is proportional to their degree of aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(23):13692-7.
14. Fabarius A, Hehlmann R, Duesberg PH. Instability of chromosome structure in cancer cells increases exponentially with degrees of aneuploidy. *Cancer Genet Cytogenet.* 2003;143(1):59-72.
15. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
16. Triebig G. [Carcinogenic industrial substances--a review of the present information]. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B.* 1987;183(5-6):488-504.
17. Graham TA, Sottoriva A. Measuring cancer evolution from the genome. *J Pathol.* 2017;241(2):183-91.
18. Lutz W, Krajewska B. [Aromatic amines, oncogenes and cancer of the bladder]. *Med Pr.* 1991;42(6):477-84.
19. Purohit V, Basu AK. Mutagenicity of nitroaromatic compounds. *Chem Res Toxicol.* 2000;13(8):673-92.
20. Hayes RB. The carcinogenicity of metals in humans. *Cancer Causes Control.* 1997;8(3):371-85.

21. Bartsch H, Montesano R. Mutagenic and carcinogenic effects of vinyl chloride. *Mutat Res.* 1975;32(2):93-114.
22. Wogan GN. Aflatoxin as a human carcinogen. *Hepatology.* 1999;30(2):573-5.
23. Soehnge H, Ouhtit A, Ananthaswamy ON. Mechanisms of induction of skin cancer by UV radiation. *Front Biosci.* 1997;2:d538-51.
24. Robock A, Toon OB. Local nuclear war, global suffering. *Sci Am.* 2010;302(1):74-81.
25. Basu AK. DNA Damage, Mutagenesis and Cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4).
26. Grandgenett DP, Pandey KK, Bera S, Aihara H. Multifunctional facets of retrovirus integrase. *World J Biol Chem.* 2015;6(3):83-94.
27. Coffin JM, Fan H. The Discovery of Reverse Transcriptase. *Annu Rev Virol.* 2016;3(1):29-51.
28. Gottfried E. Maligne Zelltransformation Pschyrembel online Februar 2020 [4. Oktober 2021]. Available from: <https://www-1pschyrembel-1de-10013b4j318ca.han.medunigraz.at/maligne%20transformation/B0P97/doc/>.
29. Torry DS, Cooper GM. Proto-oncogenes in development and cancer. *Am J Reprod Immunol.* 1991;25(3):129-32.
30. Huang FW, Hodis E, Xu MJ, Kryukov GV, Chin L, Garraway LA. Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science.* 2013;339(6122):957-9.
31. Zhang X, Mar V, Zhou W, Harrington L, Robinson MO. Telomere shortening and apoptosis in telomerase-inhibited human tumor cells. *Genes Dev.* 1999;13(18):2388-99.
32. Berger W. Telomerase Pschyrembel online April 2020 [4. Oktober 2021]. Available from: <https://www-1pschyrembel-1de-10013b41t00d6.han.medunigraz.at/telomerase/K00HR/doc/>.
33. Bell RJ, Rube HT, Xavier-Magalhaes A, Costa BM, Mancini A, Song JS, et al. Understanding TERT Promoter Mutations: A Common Path to Immortality. *Mol Cancer Res.* 2016;14(4):315-23.
34. Cherfils J, Zeghouf M. Regulation of small GTPases by GEFs, GAPs, and GDIs. *Physiol Rev.* 2013;93(1):269-309.
35. Ahmadian MR, Stege P, Scheffzek K, Wittinghofer A. Confirmation of the arginine-finger hypothesis for the GAP-stimulated GTP-hydrolysis reaction of Ras. *Nat Struct Biol.* 1997;4(9):686-9.
36. Simanshu DK, Nissley DV, McCormick F. RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease. *Cell.* 2017;170(1):17-33.
37. Spradling AC, Mahowald AP. Amplification of genes for chorion proteins during oogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980;77(2):1096-100.
38. Savelyeva L, Schwab M. Amplification of oncogenes revisited: from expression profiling to clinical application. *Cancer Lett.* 2001;167(2):115-23.
39. Matsui A, Ihara T, Suda H, Mikami H, Semba K. Gene amplification: mechanisms and involvement in cancer. *Biomol Concepts.* 2013;4(6):567-82.
40. O'Marcaigh AS, Betcher DL. Methotrexate. *J Pediatr Oncol Nurs.* 1993;10(4):158-60.
41. Bannwarth B, Labat L, Moride Y, Schaefferbeke T. Methotrexate in rheumatoid arthritis. An update. *Drugs.* 1994;47(1):25-50.
42. Schimke RT, Kaufman RJ, Alt FW, Kellems RF. Gene amplification and drug resistance in cultured murine cells. *Science.* 1978;202(4372):1051-5.

43. Wahl GM, Padgett RA, Stark GR. Gene amplification causes overproduction of the first three enzymes of UMP synthesis in N-(phosphonacetyl)-L-aspartate-resistant hamster cells. *J Biol Chem.* 1979;254(17):8679-89.
44. Kerr DJ, Haller D, Velde CJHvd, Baumann M. Oxford textbook of oncology. Third edition. ed. Oxford: Oxford University Press; 2016. xxvii, 1007 pages p.
45. rwi j. Herpesviren - eine große Familie Helmholtz - Zentrum für Infektionsforschung 2021 [15. Juni 2021]. Available from: <https://www.helmholtz-hzi.de/de/wissen/wissensportal/keime-und-krankheiten/herpesviren/>.
46. Niederman JC, Evans AS, Subrahmanyam L, McCollum RW. Prevalence, incidence and persistence of EB virus antibody in young adults. *N Engl J Med.* 1970;282(7):361-5.
47. Ng CC, Yew PY, Puah SM, Krishnan G, Yap LF, Teo SH, et al. A genome-wide association study identifies ITGA9 conferring risk of nasopharyngeal carcinoma. *J Hum Genet.* 2009;54(7):392-7.
48. Bei JX, Li Y, Jia WH, Feng BJ, Zhou G, Chen LZ, et al. A genome-wide association study of nasopharyngeal carcinoma identifies three new susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010;42(7):599-603.
49. Fachiroh J, Sangrajrang S, Johansson M, Renard H, Gaborieau V, Chabrier A, et al. Tobacco consumption and genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma (NPC) in Thailand. *Cancer Causes Control.* 2012;23(12):1995-2002.
50. Bei JX, Su WH, Ng CC, Yu K, Chin YM, Lou PJ, et al. A GWAS Meta-analysis and Replication Study Identifies a Novel Locus within CLPTM1L/TERT Associated with Nasopharyngeal Carcinoma in Individuals of Chinese Ancestry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016;25(1):188-92.
51. Cui Q, Feng QS, Mo HY, Sun J, Xia YF, Zhang H, et al. An extended genome-wide association study identifies novel susceptibility loci for nasopharyngeal carcinoma. *Hum Mol Genet.* 2016;25(16):3626-34.
52. Lin DC, Meng X, Hazawa M, Nagata Y, Varela AM, Xu L, et al. The genomic landscape of nasopharyngeal carcinoma. *Nat Genet.* 2014;46(8):866-71.
53. Zheng H, Dai W, Cheung AK, Ko JM, Kan R, Wong BW, et al. Whole-exome sequencing identifies multiple loss-of-function mutations of NF-kappaB pathway regulators in nasopharyngeal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(40):11283-8.
54. Li YY, Chung GT, Lui VW, To KF, Ma BB, Chow C, et al. Exome and genome sequencing of nasopharynx cancer identifies NF-kappaB pathway activating mutations. *Nat Commun.* 2017;8:14121.
55. Zhang L, Maclsaac KD, Zhou T, Huang PY, Xin C, Dobson JR, et al. Genomic Analysis of Nasopharyngeal Carcinoma Reveals TME-Based Subtypes. *Mol Cancer Res.* 2017;15(12):1722-32.
56. Chen YP, Chan ATC, Le QT, Blanchard P, Sun Y, Ma J. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet.* 2019;394(10192):64-80.
57. Piris MA, Medeiros LJ, Chang KC. Hodgkin lymphoma: a review of pathological features and recent advances in pathogenesis. *Pathology.* 2020;52(1):154-65.
58. Radu O, Pantanowitz L. Kaposi sarcoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(2):289-94.
59. Lebbe C, Garbe C, Stratigos AJ, Harwood C, Peris K, Marmol VD, et al. Diagnosis and treatment of Kaposi's sarcoma: European consensus-based interdisciplinary guideline (EDF/EADO/EORTC). *Eur J Cancer.* 2019;114:117-27.

60. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol.* 2015;25 Suppl 1:2-23.
61. Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. *Viruses.* 2015;7(7):3863-90.
62. Institut RK. Erläuterungen zum Befund Ihres HPV-Tests - Informationen für Teilnehmerinnen der HPV-Prävalenzstudie 2017/2018 RKI 2017 [18. Juni 2021]. Available from: <https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/HPV-Befund/FAQ-Liste.html>.
63. Serrano B, Brotons M, Bosch FX, Bruni L. Epidemiology and burden of HPV-related disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;47:14-26.
64. Harden ME, Munger K. Human papillomavirus molecular biology. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017;772:3-12.
65. Graham SV. Keratinocyte Differentiation-Dependent Human Papillomavirus Gene Regulation. *Viruses.* 2017;9(9).
66. Szymonowicz KA, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. *Cancer Biol Med.* 2020;17(4):864-78.
67. Schipler A, Iliakis G. DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(16):7589-605.
68. Guerrieri F, Belloni L, Pediconi N, Levrero M. Molecular mechanisms of HBV-associated hepatocarcinogenesis. *Semin Liver Dis.* 2013;33(2):147-56.
69. Levrero M, Zucman-Rossi J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2016;64(1 Suppl):S84-S101.
70. Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(12):1004-10.
71. Eastham AM, Spencer H, Soncin F, Ritson S, Merry CL, Stern PL, et al. Epithelial-mesenchymal transition events during human embryonic stem cell differentiation. *Cancer Res.* 2007;67(23):11254-62.
72. Ullmann U, In't Veld P, Gilles C, Sermon K, De Rycke M, Van de Velde H, et al. Epithelial-mesenchymal transition process in human embryonic stem cells cultured in feeder-free conditions. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(1):21-32.
73. Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest.* 2009;119(6):1438-49.
74. Gos M, Miloszevska J, Przybyszewska M. [Epithelial-mesenchymal transition in cancer progression]. *Postepy Biochem.* 2009;55(2):121-8.
75. Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol.* 2012;22(5-6):396-403.
76. Lin D. Commentary on "The evolutionary history of lethal metastatic prostate cancer." Gudem G, Van Loo P, Kremeyer B, Alexandrov LB, Tubio JM, Papaemmanuil E, Brewer DS, Kallio HM, Hognas G, Annala M, Kivinummi K, Goody V, Latimer C, O'Meara S, Dawson KJ, Isaacs W, Emmert-Buck MR, Nykter M, Foster C, Kote-Jarai Z, Easton D, Whitaker HC, ICGC Prostate UK Group, Neal DE, Cooper CS, Eeles RA, Visakorpi T, Campbell PJ, McDermott U, Wedge DC, Bova GS, University of Washington-Urology, Seattle, WA. *Nature* 2015; 520(7547):353-7. *Urol Oncol.* 2016;34(11):520-1.
77. Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell.* 2017;168(4):670-91.

78. Sattler UG, Mueller-Klieser W. The anti-oxidant capacity of tumour glycolysis. *Int J Radiat Biol.* 2009;85(11):963-71.
79. Teng MW, Swann JB, Koebel CM, Schreiber RD, Smyth MJ. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *J Leukoc Biol.* 2008;84(4):988-93.
80. Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology.* 2007;121(1):1-14.
81. Friedrich C. Chemotherapeutika Pschyrembel online 2019 [03. August 2021]. Available from: <https://www-1pschyrembel-1de-10013b47r01e0.han.medunigraz.at/chemotherapeutika/K04QK/doc/>.
82. Redaktion. Fasten Pschyrembel Online 2021 [01. August 2021]. Available from: <https://www-1pschyrembel-1de-10013b4ce0069.han.medunigraz.at/fasten/T01LQ/doc/>.
83. Wilhelmi de Toledo F, Buchinger A, Burggrabe H, Holz G, Kuhn C, Lischka E, et al. Fasting therapy - an expert panel update of the 2002 consensus guidelines. *Forsch Komplementmed.* 2013;20(6):434-43.
84. Brandhorst S, Choi IY, Wei M, Cheng CW, Sedrakyan S, Navarrete G, et al. A Periodic Diet that Mimics Fasting Promotes Multi-System Regeneration, Enhanced Cognitive Performance, and Healthspan. *Cell Metab.* 2015;22(1):86-99.
85. Cheng CW, Adams GB, Perin L, Wei M, Zhou X, Lam BS, et al. Prolonged fasting reduces IGF-1/PKA to promote hematopoietic-stem-cell-based regeneration and reverse immunosuppression. *Cell Stem Cell.* 2014;14(6):810-23.
86. Choi IY, Piccio L, Childress P, Bollman B, Ghosh A, Brandhorst S, et al. A Diet Mimicking Fasting Promotes Regeneration and Reduces Autoimmunity and Multiple Sclerosis Symptoms. *Cell Rep.* 2016;15(10):2136-46.
87. Cheng CW, Villani V, Buono R, Wei M, Kumar S, Yilmaz OH, et al. Fasting-Mimicking Diet Promotes Ngn3-Driven beta-Cell Regeneration to Reverse Diabetes. *Cell.* 2017;168(5):775-88 e12.
88. Liskiewicz A, Wlasczuk A, Gendosz D, Larysz-Brysz M, Kapustka B, Laczynski M, et al. Sciatic nerve regeneration in rats subjected to ketogenic diet. *Nutr Neurosci.* 2016;19(3):116-24.
89. Brandhorst S, Wei M, Hwang S, Morgan TE, Longo VD. Short-term calorie and protein restriction provide partial protection from chemotoxicity but do not delay glioma progression. *Exp Gerontol.* 2013;48(10):1120-8.
90. Fontana L, Weiss EP, Villareal DT, Klein S, Holloszy JO. Long-term effects of calorie or protein restriction on serum IGF-1 and IGFBP-3 concentration in humans. *Aging Cell.* 2008;7(5):681-7.
91. Nencioni A, Caffa I, Cortellino S, Longo VD. Fasting and cancer: molecular mechanisms and clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2018;18(11):707-19.
92. Raffaghello L, Lee C, Safdie FM, Wei M, Madia F, Bianchi G, et al. Starvation-dependent differential stress resistance protects normal but not cancer cells against high-dose chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(24):8215-20.
93. Fabrizio P, Pozza F, Pletcher SD, Gendron CM, Longo VD. Regulation of longevity and stress resistance by Sch9 in yeast. *Science.* 2001;292(5515):288-90.
94. Fabrizio P, Liou LL, Moy VN, Diaspro A, Valentine JS, Gralla EB, et al. SOD2 functions downstream of Sch9 to extend longevity in yeast. *Genetics.* 2003;163(1):35-46.
95. Safdie FM, Dorff T, Quinn D, Fontana L, Wei M, Lee C, et al. Fasting and cancer treatment in humans: A case series report. *Aging (Albany NY).* 2009;1(12):988-1007.

96. Mercken EM, Crosby SD, Lamming DW, JeBailey L, Krzysik-Walker S, Villareal DT, et al. Calorie restriction in humans inhibits the PI3K/AKT pathway and induces a younger transcription profile. *Aging Cell*. 2013;12(4):645-51.
97. Brown AK, Webb AE. Regulation of FOXO Factors in Mammalian Cells. *Curr Top Dev Biol*. 2018;127:165-92.
98. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009;325(5937):201-4.
99. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span--from yeast to humans. *Science*. 2010;328(5976):321-6.
100. Lee C, Safdie FM, Raffaghello L, Wei M, Madia F, Parrella E, et al. Reduced levels of IGF-I mediate differential protection of normal and cancer cells in response to fasting and improve chemotherapeutic index. *Cancer Res*. 2010;70(4):1564-72.
101. Quinn PG, Granner DK. Cyclic AMP-dependent protein kinase regulates transcription of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene but not binding of nuclear factors to the cyclic AMP regulatory element. *Mol Cell Biol*. 1990;10(7):3357-64.
102. Chrivia JC, Kwok RP, Lamb N, Hagiwara M, Montminy MR, Goodman RH. Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature*. 1993;365(6449):855-9.
103. Eckner R, Ewen ME, Newsome D, Gerdes M, DeCaprio JA, Lawrence JB, et al. Molecular cloning and functional analysis of the adenovirus E1A-associated 300-kD protein (p300) reveals a protein with properties of a transcriptional adaptor. *Genes Dev*. 1994;8(8):869-84.
104. Herzig S, Long F, Jhala US, Hedrick S, Quinn R, Bauer A, et al. CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. *Nature*. 2001;413(6852):179-83.
105. Koo SH, Flechner L, Qi L, Zhang X, Sreter RA, Jeffries S, et al. The CREB coactivator TORC2 is a key regulator of fasting glucose metabolism. *Nature*. 2005;437(7062):1109-11.
106. Liu Y, Dentin R, Chen D, Hedrick S, Ravnskjaer K, Schenk S, et al. A fasting inducible switch modulates gluconeogenesis via activator/coactivator exchange. *Nature*. 2008;456(7219):269-73.
107. Coppack SW, Jensen MD, Miles JM. In vivo regulation of lipolysis in humans. *J Lipid Res*. 1994;35(2):177-93.
108. Bartness TJ, Liu Y, Shrestha YB, Ryu V. Neural innervation of white adipose tissue and the control of lipolysis. *Front Neuroendocrinol*. 2014;35(4):473-93.
109. Akasaki Y, Alvarez-Garcia O, Saito M, Carames B, Iwamoto Y, Lotz MK. FoxO transcription factors support oxidative stress resistance in human chondrocytes. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(12):3349-58.
110. Faraci FM, Didion SP. Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(8):1367-73.
111. Carillon J, Rouanet JM, Cristol JP, Brion R. Superoxide dismutase administration, a potential therapy against oxidative stress related diseases: several routes of supplementation and proposal of an original mechanism of action. *Pharm Res*. 2013;30(11):2718-28.
112. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-2.

113. Brennan AM, Mantzoros CS. Drug Insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology--emerging clinical applications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006;2(6):318-27.
114. Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, et al. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab.* 2007;6(1):55-68.
115. Han Y, Zhang S, Zhuang H, Fan S, Yang J, Zhao L, et al. The role of the adiponectin system in acute fasting-impaired mouse ovaries. *Reproduction.* 2019;158(5):429-40.
116. Palin MF, Bordignon VV, Murphy BD. Adiponectin and the control of female reproductive functions. *Vitam Horm.* 2012;90:239-87.
117. Barger JL, Kayo T, Vann JM, Arias EB, Wang J, Hacker TA, et al. A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS One.* 2008;3(6):e2264.
118. Mukherjee P, Abate LE, Seyfried TN. Antiangiogenic and proapoptotic effects of dietary restriction on experimental mouse and human brain tumors. *Clin Cancer Res.* 2004;10(16):5622-9.
119. Lee C, Longo VD. Fasting vs dietary restriction in cellular protection and cancer treatment: from model organisms to patients. *Oncogene.* 2011;30(30):3305-16.
120. Laviano A, Rossi Fanelli F. Toxicity in chemotherapy--when less is more. *N Engl J Med.* 2012;366(24):2319-20.
121. Lee C, Raffaghello L, Brandhorst S, Safdie FM, Bianchi G, Martin-Montalvo A, et al. Fasting cycles retard growth of tumors and sensitize a range of cancer cell types to chemotherapy. *Sci Transl Med.* 2012;4(124):124ra27.
122. Brandhorst S, Longo VD. Fasting and Caloric Restriction in Cancer Prevention and Treatment. *Recent Results Cancer Res.* 2016;207:241-66.
123. Kanarek N, Petrova B, Sabatini DM. Dietary modifications for enhanced cancer therapy. *Nature.* 2020;579(7800):507-17.
124. Ahmadiankia N, Bagheri M, Fazli M. Nutrient Deprivation Modulates the Metastatic Potential of Breast Cancer Cells. *Rep Biochem Mol Biol.* 2019;8(2):139-46.
125. Onodera T, Momose I, Adachi H, Yamazaki Y, Sawa R, Ohba SI, et al. Human pancreatic cancer cells under nutrient deprivation are vulnerable to redox system inhibition. *J Biol Chem.* 2020;295(49):16678-90.
126. Sievers C, Schneider HJ, Stalla GK. Insulin-like growth factor-1 in plasma and brain: regulation in health and disease. *Front Biosci.* 2008;13:85-99.
127. Belhocine T, Spaepen K, Dusart M, Castaigne C, Muyille K, Bourgeois P, et al. 18FDG PET in oncology: the best and the worst (Review). *Int J Oncol.* 2006;28(5):1249-61.
128. Locasale JW. The consequences of enhanced cell-autonomous glucose metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(11):545-51.
129. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science.* 1956;123(3191):309-14.
130. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science.* 2009;324(5930):1029-33.
131. Courtney KD, Bezwada D, Mashimo T, Pichumani K, Vemireddy V, Funk AM, et al. Isotope Tracing of Human Clear Cell Renal Cell Carcinomas Demonstrates Suppressed Glucose Oxidation In Vivo. *Cell Metab.* 2018;28(5):793-800 e2.

132. Gallagher EJ, LeRoith D. Minireview: IGF, Insulin, and Cancer. *Endocrinology*. 2011;152(7):2546-51.
133. Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, Bagrodia S, Cantley LC, Abraham RT. The PI3K Pathway in Human Disease. *Cell*. 2017;170(4):605-35.
134. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*. 2017;168(6):960-76.
135. de Groot S, Pijl H, van der Hoeven JJM, Kroep JR. Effects of short-term fasting on cancer treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38(1):209.
136. Kritchevsky D. Diet and cancer: what's next? *J Nutr*. 2003;133(11 Suppl 1):3827S-9S.
137. Mulcahy Levy JM, Thorburn A. Autophagy in cancer: moving from understanding mechanism to improving therapy responses in patients. *Cell Death Differ*. 2020;27(3):843-57.
138. Yun J, Rago C, Cheong I, Pagliarini R, Angenendt P, Rajagopalan H, et al. Glucose deprivation contributes to the development of KRAS pathway mutations in tumor cells. *Science*. 2009;325(5947):1555-9.
139. Kalaany NY, Sabatini DM. Tumours with PI3K activation are resistant to dietary restriction. *Nature*. 2009;458(7239):725-31.
140. Manning BD, Toker A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. *Cell*. 2017;169(3):381-405.
141. Zhu J, Thompson CB. Metabolic regulation of cell growth and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019;20(7):436-50.
142. Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal*. 2002;14(5):381-95.
143. Lu J, Kunimoto S, Yamazaki Y, Kaminishi M, Esumi H. Kigamicin D, a novel anticancer agent based on a new anti-austerity strategy targeting cancer cells' tolerance to nutrient starvation. *Cancer Sci*. 2004;95(6):547-52.
144. Panieri E, Santoro MM. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. *Cell Death Dis*. 2016;7(6):e2253.
145. Untucht-Grau R, Schirmer RH, Schirmer I, Krauth-Siegel RL. Glutathione reductase from human erythrocytes: amino-acid sequence of the structurally known FAD-binding domain. *Eur J Biochem*. 1981;120(2):407-19.
146. Scrutton NS, Berry A, Deonarain MP, Perham RN. Active site complementation in engineered heterodimers of *Escherichia coli* glutathione reductase created in vivo. *Proc Biol Sci*. 1990;242(1305):217-24.
147. Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med*. 1999;27(9-10):922-35.
148. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*. 2003;57(3-4):145-55.
149. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. 2004;134(3):489-92.
150. Franco R, Schoneveld OJ, Pappa A, Panayiotidis MI. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Arch Physiol Biochem*. 2007;113(4-5):234-58.
151. Morris JPt, Wang SC, Hebrok M. KRAS, Hedgehog, Wnt and the twisted developmental biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(10):683-95.
152. Bos JL, Rehmann H, Wittinghofer A. GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins. *Cell*. 2007;129(5):865-77.

153. Hunter JC, Manandhar A, Carrasco MA, Gurbani D, Gondi S, Westover KD. Biochemical and Structural Analysis of Common Cancer-Associated KRAS Mutations. *Mol Cancer Res.* 2015;13(9):1325-35.
154. Pantsar T. The current understanding of KRAS protein structure and dynamics. *Comput Struct Biotechnol J.* 2020;18:189-98.
155. Park MT, Kim MJ, Suh Y, Kim RK, Kim H, Lim EJ, et al. Novel signaling axis for ROS generation during K-Ras-induced cellular transformation. *Cell Death Differ.* 2014;21(8):1185-97.
156. Liou GY, Doppler H, DelGiorno KE, Zhang L, Leitges M, Crawford HC, et al. Mutant KRas-Induced Mitochondrial Oxidative Stress in Acinar Cells Upregulates EGFR Signaling to Drive Formation of Pancreatic Precancerous Lesions. *Cell Rep.* 2016;14(10):2325-36.
157. Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2013;53:401-26.
158. Storz P. KRas, ROS and the initiation of pancreatic cancer. *Small GTPases.* 2017;8(1):38-42.
159. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med.* 2010;48(6):749-62.
160. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett.* 1995;358(1):1-3.
161. Kong Q, Lillehei KO. Antioxidant inhibitors for cancer therapy. *Med Hypotheses.* 1998;51(5):405-9.
162. Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat Rev Drug Discov.* 2009;8(7):579-91.
163. Stoev SD. Long term preliminary studies on toxic and carcinogenic effect of individual or simultaneous exposure to ochratoxin A and penicillic acid in mice. *Toxicol.* 2020;184:192-201.
164. Natori S, Sakaki S, Kurata H, Udagawa S, Ichinoe M. Chemical and cytotoxicity survey on the production of ochratoxins and penicillic acid by *Aspergillus ochraceus* Wilhelm. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1970;18(11):2259-68.
165. Evidente A, Berestetskiy A, Cimmino A, Tuzi A, Superchi S, Melck D, et al. Papyracillic acid, a phytotoxic 1,6-dioxaspiro[4,4]nonene produced by *Ascochyta agropyrina* Var. *nana*, a potential mycoherbicide for *Elytrigia repens* biocontrol. *J Agric Food Chem.* 2009;57(23):11168-73.
166. Onodera T, Momose I, Kawada M. Potential Anticancer Activity of Auranofin. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2019;67(3):186-91.
167. Shim MK, Yoon HY, Lee S, Jo MK, Park J, Kim JH, et al. Caspase-3/-7-Specific Metabolic Precursor for Bioorthogonal Tracking of Tumor Apoptosis. *Sci Rep.* 2017;7(1):16635.
168. Godwin AK, Meister A, O'Dwyer PJ, Huang CS, Hamilton TC, Anderson ME. High resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines is associated with marked increase of glutathione synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(7):3070-4.
169. Jackson-Rosario S, Cowart D, Myers A, Tarrien R, Levine RL, Scott RA, et al. Auranofin disrupts selenium metabolism in *Clostridium difficile* by forming a stable Au-Se adduct. *J Biol Inorg Chem.* 2009;14(4):507-19.
170. Roder C, Thomson MJ. Auranofin: repurposing an old drug for a golden new age. *Drugs R D.* 2015;15(1):13-20.
171. Arner ES, Holmgren A. The thioredoxin system in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2006;16(6):420-6.

172. Arner ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem.* 2000;267(20):6102-9.
173. Nandi D, Tahiliani P, Kumar A, Chandu D. The ubiquitin-proteasome system. *J Biosci.* 2006;31(1):137-55.
174. Shen M, Schmitt S, Buac D, Dou QP. Targeting the ubiquitin-proteasome system for cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets.* 2013;17(9):1091-108.
175. Bonorden MJ, Rogozina OP, Kluczny CM, Grossmann ME, Grambsch PL, Grande JP, et al. Intermittent calorie restriction delays prostate tumor detection and increases survival time in TRAMP mice. *Nutr Cancer.* 2009;61(2):265-75.
176. Kim SK, Demetri GD. Chemotherapy and neutropenia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996;10(2):377-95.
177. de Groot S, Vreeswijk MP, Welters MJ, Gravesteijn G, Boei JJ, Jochems A, et al. The effects of short-term fasting on tolerance to (neo) adjuvant chemotherapy in HER2-negative breast cancer patients: a randomized pilot study. *BMC Cancer.* 2015;15:652.
178. Dorff TB, Groshen S, Garcia A, Shah M, Tsao-Wei D, Pham H, et al. Safety and feasibility of fasting in combination with platinum-based chemotherapy. *BMC Cancer.* 2016;16:360.
179. Bauersfeld SP, Kessler CS, Wischnewsky M, Jaensch A, Steckhan N, Stange R, et al. The effects of short-term fasting on quality of life and tolerance to chemotherapy in patients with breast and ovarian cancer: a randomized cross-over pilot study. *BMC Cancer.* 2018;18(1):476.
180. Zorn S, Ehret J, Schauble R, Rautenberg B, Ihorst G, Bertz H, et al. Impact of modified short-term fasting and its combination with a fasting supportive diet during chemotherapy on the incidence and severity of chemotherapy-induced toxicities in cancer patients - a controlled cross-over pilot study. *BMC Cancer.* 2020;20(1):578.
181. de Groot S, Lugtenberg RT, Cohen D, Welters MJP, Ehsan I, Vreeswijk MPG, et al. Fasting mimicking diet as an adjunct to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer in the multicentre randomized phase 2 DIRECT trial. *Nat Commun.* 2020;11(1):3083.
182. Lugtenberg RT, de Groot S, Kaptein AA, Fischer MJ, Kranenborg EM, Carpentier MD, et al. Quality of life and illness perceptions in patients with breast cancer using a fasting mimicking diet as an adjunct to neoadjuvant chemotherapy in the phase 2 DIRECT (BOOG 2013-14) trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2021;185(3):741-58.
183. Sigler MH. The mechanism of the natriuresis of fasting. *J Clin Invest.* 1975;55(2):377-87.
184. Kerndt PR, Naughton JL, Driscoll CE, Loxterkamp DA. Fasting: the history, pathophysiology and complications. *West J Med.* 1982;137(5):379-99.
185. Mojto V, Gvozdjakova A, Kucharska J, Rausova Z, Vancova O, Valuch J. Effects of complete water fasting and regeneration diet on kidney function, oxidative stress and antioxidants. *Bratisl Lek Listy.* 2018;119(2):107-11.
186. Kohn AD, Summers SA, Birnbaum MJ, Roth RA. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *J Biol Chem.* 1996;271(49):31372-8.
187. Tinkum KL, Stemler KM, White LS, Loza AJ, Jeter-Jones S, Michalski BM, et al. Fasting protects mice from lethal DNA damage by promoting small intestinal epithelial stem cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(51):E7148-54.

188. Di Biase S, Shim HS, Kim KH, Vinciguerra M, Rappa F, Wei M, et al. Fasting regulates EGR1 and protects from glucose- and dexamethasone-dependent sensitization to chemotherapy. *PLoS Biol.* 2017;15(3):e2001951.
189. Lévesque S, Le Naour J, Pietrocola F, Paillet J, Kremer M, Castoldi F, et al. A synergistic triad of chemotherapy, immune checkpoint inhibitors, and caloric restriction mimetics eradicates tumors in mice. *Oncoimmunology.* 2019;8(11):e1657375.
190. Takakuwa T, Nakashima Y, Koh H, Nakane T, Nakamae H, Hino M. Short-Term Fasting Induces Cell Cycle Arrest in Immature Hematopoietic Cells and Increases the Number of Naïve T Cells in the Bone Marrow of Mice. *Acta Haematol.* 2019;141(3):189-98.