

Überwachung der Wirksamkeit von Krebstherapien

Das Maintrac-Verfahren: In-vitro-Vitalitätsreduktion zirkulierender Tumorzellen

Anton Kellner

Mit dem Maintrac-Verfahren wurden bei zwei Patientinnen mit fortgeschrittener metastasierter Tumorerkrankung zirkulierende disseminierte Tumorzellen (DTZ) aus dem Blut extrahiert. Diese Zellen zeigten bei einer in vitro-Chemosensitivitätstestung eine sehr hohe Absterberate bei Inkubation mit Pro Sirtusan und ProCurmin Complete II. Dies bestätigt die Forschungsergebnisse von Dr. Heinrich Kremer in anschaulicher Weise. Im Folgenden werden die beiden Fallbeispiele exemplarisch dargestellt und diskutiert.

Fall 1 – Frau K, 71 Jahre: Anamnese und Verlauf

07-2008	Diagnose eines mäßig differenzierten Adenocarcinoms des Coecum mit synchroner hepatischer Metastasierung (Lebermetastase im Segment IV, 2,5 cm) (St. pT3 pN2 (4/22) pM1 G2 R1 (Leber))
08-2008	rechtsseitige Hemicolektomie, Lebersegmentresektion
09-2008 – 03-2009	6 Zyklen Chemotherapie nach dem FolFOX-Bevacizumab-Schema (Oxaliplatin, 5-FU, Na-Folinat, Bevacizumab), schlechte Verträglichkeit (Neuropathie, schwere Mucositis, Immunschwäche)
08-2010	erneute Resektion einer Lebermetastase (Segment V, 2,6 cm)
12-2010	Diagnose einer erneuten Lebermetastase (Segment VI, 2 cm)
01-2011 – 08-2011	Ganzkörperhyperthermie, Onkothermie (15 Zyklen), Mistel, Thymus (externe Therapeuten)
06-2011	Größenzunahme der Metastase auf 4 cm
08-2011	Resektion der Metastase (Segment VI), Adhäsionslyse, präoperativ Röntgen Thorax oB
10-2011	30 x Infusion mit Amygdalin (B17) durch externen Therapeuten
12-2011	MRT Abdomen oB
04-2012	Coloskopie: oB
05-2012	MRT Abdomen oB, als Nebenfund disseminierte pulmonale Metastasierung (bis 1 cm große Herde), Bestätigung durch Thorax – CT

Die Erstvorstellung in meiner Praxis erfolgte im März 2011 zur begleitenden Labordiagnostik bei Hyperthermie. Seither nahm die Patientin eine Vielzahl homöopathischer Präparate und Pflanzenstoffe ein, die von externen Therapeuten verordnet wurden, u. a. Amygdalin, Algen, Pilze, Carcinosinum. Nach Eintritt der pulmonalen Metastasierung wünschte Frau K. nun einen neuen Therapieplan. Eine erneute Chemotherapie lehnte die Patientin kategorisch ab. Daraufhin habe ich eine Maintrac-Untersuchung mit Chemosensitivitätsbestimmung für Pro Sirtusan und ProCurmin Complete II (Fa. Tisso) sowie Amygdalin vorgeschlagen [1]. Nach Erhalt der Ergebnisse begannen wir mit der Cellsymbiosistherapie®, was in diesem Fall folgende Handlungsschritte umfasste:

- kohlenhydratreduzierte antiinflammatorische Ernährung nach Pro Immun M, d.h. Ausschluss IgG 1-4 positiv getesteter Nahrungsmittel

- Supplementierung von Mikro- und Makronährstoffen sowie Polyphenolen: Pro Sirtusan 2 x 3 Kps., ProCurmin Complete II 2 x 2 Kps., Pro Omega Plus 2 x 1 Kps., Pro Dialvit44 3 x 1 Kps., Pro Vita D3 Öl 30 Trpf.

- Regeneration und Stärken des darmassoziierten Immunsystems mit Pro EM san (Dickdarmtherapeutikum) 30 ml und Probasan Complete (Dünndarmtherapeutikum) 2 g, Pro Digeston (Unterstützen der Darmperistaltik und Entgiften des Intestinaltrakts) 2 x 1 TL

➤ Protokoll-Infusionen, Immun-Komplex

➤ Blutlaser, Oxyvenierung

Das Maintrac-Verfahren im Allgemeinen

Die Erforschung von Oberflächenantigenen von Tumorzellen reicht in die 90er-Jahre des vergangenen Jahrhunderts zurück. Zu den definierten Antigenen zählt zum Beispiel das Thomsen-Friedenreich-Antigen, das zunächst als spezifisch für Lebertumore eingestuft wurde und nun eher als embryonaler Zellmarker gilt. Ein weiterer etablierter Oberflächenmarker ist das HEA (human epithelial antigen), das von 96 % aller soliden Tumoren exprimiert wird. Der Nutzen dieser Untersuchungen liegt in einer Detektion von Tumorzellen außerhalb des Primärtumors. Damit ist es möglich, das metastatische Potenzial eines Tumors abzuschätzen. Bildgebende Verfahren einschließlich PET-CT greifen bestenfalls beim Auftreten von Mikrometastasen.

Erste Nachweise von disseminierten Tumorzellen (DTZ) gelangen im Knochenmark von Patientinnen mit Brusttumoren. Nächste Ansätze zielten auf eine Isolation von zirkulierenden Tumorzellen aus dem peripheren Blut. Hierfür werden die Antigene mit Antikörpern markiert und mit verschiedenen Verfahren konzentriert. Für die Extraktion der Zellen kamen Verfahren wie Cell Search zum Einsatz. Der Nachteil dieser Verfahren war die geringe Ausbeute an vitalen Tumorzellen. Mit dem von Katharina und Ulrich Pachmann entwickelten Maintrac-Verfahren gelang eine vielfach höhere Isolationsrate. Die Stabilität der Zellen in der EDTA-Blutprobe ist für einen Zeitraum von sieben Tagen bei Raumtemperatur gewährleistet.

Zur Bedeutung des Nachweises zirkulierender Tumorzellen gibt es eine Fülle von Studien von Pachmann und Pachmann. Beim Gesunden werden im Rahmen von Operationen auch große Mengen an epithelialen Zellen in die Zirkulation geschwemmt. Kurze Zeit nach dem Eingriff geht die Zahl wieder auf den minimalen Ausgangswert vor der OP zurück. Bei malignen Tumoren bleibt die Zahl erhöht. Durch Chemotherapie, die zum Zerfall von Tumoren führt, ist ebenfalls ein kurzfristiger Anstieg der Zellzahl möglich. Bei erfolgreicher Therapie sollte die Zahl der Zellen dann abnehmen. Dies ist ein Hinweis auf eine günstige Situation mit geringem Rezidivrisiko. Steigen die Zellzahlen im Verlauf wieder an oder bleiben sie erhöht, ist dies ein ungünstiges Zeichen.

Prinzipiell ist der Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen nicht mit einem zwangsläufigen Auftreten von Metastasen assoziiert. Man spricht auch von Schläferzellen (dormant cells), die in einem für sie günstigen Milieu (vernarbtes, z.B. bestrahltes Gewebe, chronisch inflammatorisch belasteter

Organismus, mitochondriopathisch übersäuerte extrazelluläre Matrix) ihr metastatisches Potenzial entfalten können. Mit den isolierten Zellen können weitere Untersuchungen durchgeführt werden wie Rezeptorbestimmungen (Östrogen-, Progesteron-, Herceptin – Rezeptor). Pachmann und Koll. konnten nachweisen, dass zirkulierende Tumorzellen andere Rezeptorausprägungen als der Primärtumor aufweisen können. Auch eine Untersuchung auf das Vorliegen von Tumorstammzellen wird angeboten. Die spontane Apoptoserate der isolierten Zellen kann mikroskopisch über eine Verplumpung von Zellorganellen erfasst werden. Spezifischer und aufwändiger ist der sogenannte Tunnel-Assay, mit dem die Zerhackung (das Shreddern) der Kern-DNA nachgewiesen werden kann.

Das Maintrac-Verfahren im Besonderen

Bei der Chemosensitivitätsbestimmung werden die Tumorzellen in vitro mit dem zu testenden Medikament / Pflanzenstoff inkubiert. Hierbei wird eine einfache Tagesdosis angesetzt, ferner die 10-fache und 0,1 fache Tagesdosis. Dies waren bei Pro Sirtusan und ProCurmin Complete II jeweils 4 Kapseln, bei Amygdalin 15 Ampullen á 5 ml. Der Ansatz wird auf 6 Liter Blutvolumen bei 37 ° standardisiert. Dann wird die Aufnahme eines Farbstoffs in den Zellkern mittels mikrofluorimetrischer Bildanalyse gemessen. Dies wird als Parameter, der das Absterben der Tumorzellen anzeigt, gewertet. Die Zellkultur wird dann üblicherweise 9 Stunden beobachtet. Bei Pro Sirtusan und ProCurmin Complete II war der Haupteffekt in den ersten 3 Stunden zu beobachten, nach 9 Stunden war die Wirkung beendet. Neben der Testreihe mit der Prüfsubstanz läuft eine Leerprobe mit, bei der der spontane Vitalitätsverlust der Tumorzellen ohne Medikamentenzusatz gemessen wird. Diese Kinetik wird mit dem substanzinduzierten Effekt in Korrelation gebracht.

Befundbericht zirkulierender Tumorzellen

Die Laserscanning-Mikrofluorimetrie der Epithelzellantigen (HEA)-positiven Zellen mit visueller Kontrolle (Maintrac) aus 1 ml EDTA-Blut ergab nachfolgende Befunde (die Nachweisgrenze liegt bei 10 Zellen/ml, Zusatzuntersuchung: TF=Thomsen-Friedenreich-Antigen):

Untersuchungsparameter	Anzahl tumorverdächtiger Zellen			Apoptosezeichen	Zellfragmente
	In der Probe	Im Kreislauf, 5 Liter (in Millionen)	Bei Zusatzuntersuchungen: % der -HEA-pos. Zellen		
HEA	550	2,75		keine	wenig
TF	0	0	0 %		

Konzentrations- und zeitabhängige spezifische in-vitro-Vitalitätsreduktion (%) in Gegenwart eutherapeutischer Konzentrationen von	
Amygdalin	< 10 %
ProCurmin Complete II	> 90 %
Pro Sirtusan	> 90 %

Ergebnis (29.05.2012)

Das eingesandte Untersuchungsmaterial war gut beurteilbar. Es fand sich eine mäßig erhöhte Anzahl im Blut zirkulierender, vitaler tumorverdächtiger Zellen. Daneben waren einige spezifische Zellfragmente nachweisbar. Spezifische Zellfragmente treten zum Beispiel nach Chemotherapie, Bestrahlung oder im Rahmen immunologischer Abwehrreaktionen als Zeichen der Zellschädigung auf. Das Thomsen-Friedenreich-Antigen, als eines der wenigen chemisch definierten tumorassoziierten Antigene, war nicht auf den Zellen nachweisbar. Die automatische mikrofluorimetrische Bildanalyse

der absterbenden Epithelzellantigen(HEA)-positiven Zellen (zeit- und konzentrationsabhängig) ergab eine in-vitro-Vitalitätsreduktion bei Pro Sirtusan und bei ProCurmin Complete II. Im Zusammenhang mit einem nachgewiesenen Tumor handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um Zellen aus dem Tumor. Ein Rückgang der Zellzahl unter Therapie korreliert mit Therapie-Ansprechen.

Fall 2 – Frau G, 68 Jahre: Anamnese und Verlauf

12-2010	Diagnose eines wenig differenzierten Adenocarcinoms des Ovars (verbreitetes Zystadenofibrom) mit Durchbruch durch die Ovarialrinde, herdförmige Peritonealkarzinose; explorative Laparotomie, Adnexektomie bds., Omentektomie, pelvine und paraaortale Lymphknotenexstirpation; pT 2c, G3, pNO, pRx, FIGO 2c
02-06-2011	6 Zyklen Chemotherapie mit Carboplatin und Taxol
07-2011	Punktion einer Peritonealzyste ohne Nachweis eines Rezidivs; Ca 12-5 = 8 E/ml (bis 35)
08-2011	Anschlussheilbehandlung
01-2012	schwerer Atemwegsinfekt, beginnende Pneumonie; Ca 12-5 = 28 E/ml
02-2012	Diagnose einer ausgedehnten Lebermetastasierung, paraaortale Lymphome; Ca 12-5 = 54 E/ml
ab 03-2012	erneute Chemotherapie mit Carboplatin, Gemcitabin und Bevacizumab (Avastin) (OCEAN – Schema), 6 geplante Zyklen
03-2012	1. Maintrac-Untersuchung mit Chemosensitivitätstestung
05-2012	CT-Kontrolle, mäßige Größenabnahme der Lebermetastasen, Rückgang der Lymphome
06-2012	2. Maintrac-Untersuchung mit Chemosensitivitätstestung einschließlich Testung von Pro Sirtusan und ProCurmin Complete II, Zunahme der Zahl der zirkulierenden Tumorzellen; Ca 12-5 = 99 E/ml
07-2012	Beendigung der Chemotherapie nach dem 6. Zyklus

Begleitende Cellsymbiosistherapie®:

09-2009	Pro Immun M-Test; Umsetzung der Empfehlungen seither zu 60 %
seit 09-2009	Intermittierend Einnahme von Pro EM san und Probasan Complete wegen Leaky Gut
11-2010	Schwermetallscreening nach Ausleitung mit Ca-Na EDTA und DMSA i.v.: Blei 7,8 µg/g Kreat., sonst oB
ab 03-2011	1. Chemotherapie: durchgehend Pro EM san 30 ml und Probasan Complete 2 g, ProCurmin Complete II 2 x 1 Kps. mit Öl, Pro Sirtusan 2 x 1 Kps. mit Pause an Tagen der Chemotherapie, Vitamin D 40.000 E. pro Woche, Protokoll-Infusion 1 – 2 x pro Woche (Zusatz von Glutathion nach Spiegel im Lymphozyten), Immunkomplex 1 x pro Woche, unmittelbar vor Chemotherapie jeweils 1.200 µg Natriumselenit i.v., Optimierung des Schlafplatzes, Reduktion von Elektrosmog, Funkstrahlung
ab 07-2011	Protokoll-Infusion 1 x pro Woche, alpha Liponsäure 600 mg i.v. 1 x pro Woche, Immunkomplex im Wechsel mit Aufbau ZNS 1 x pro Woche, Vitamin D 20.000 E. pro Woche, Natriumselenit 100 µg oral, sonst wie oben
ab 11-2011	plus Pro Carnitin 2 x 1 Kps., Pro Q 10 Plus 2 x 1 Kps., Pro Base 3 x 2 Kps., sonst wie oben
ab 03-2012	2. Chemotherapie: Pro Sirtusan 3 x 2 Kps. (durchgehend), ProCurmin Complete II 2 x 2 Kps. (durchgehend), plus Pro Omega Plus 2 x 2, Pro Sango Vital II 1 x 5 Kps., minus Pro Carnitin, Pro Q 10, Pro Base, sonst wie oben
ab 07-2012	nach Erhalt des 2. Maintrac-Befundes: Pro Sirtusan 2 x 4 Kps., ProCurmin Complete II 2 x 3 Kps., sonst wie oben

Befundbericht zirkulierender Tumorzellen (Maintrac)

Die Laserscanning-Mikrofluorimetrie der Epithelzellantigen (HEA)-positiven Zellen mit visueller Kontrolle (Maintrac) aus 1 ml EDTA-Blut, ergab folgende Befunde (die Nachweisgrenze liegt bei 10 Zellen/ml, Zusatzuntersuchungen: Östrogenrezeptor (ER), Progesteronrezeptor (PR), Tumorstammzellen, Chemosensitivitätsmessung):

Unter-suchungs-parameter	Anzahl tumorverdächtiger Zellen							
	In der Probe		Im Kreislauf, 5 Liter (in Millionen)		Bei Zusatzunter-suchungen: % der HEA-pos. Zellen		Apopto-serate	Zellfrag-mente
	27.03.12	18.06.12	27.03.12	18.06.12	27.03.12	18.06.12	27.03.12	27.03.12
HEA	200	1.250	1,00	6,25			keine	viele
ER	86	417	0,43	2,08	42,9 %	33,3 %		
PR	33	349	0,17	1,74	16,7 %	27,9 %		
T-Stamm-zellen	0		0					

Konzentrations- und zeitabhängige spezifische in-vitro-Vitalitätsreduktion (%) in Gegenwart eutherapeutischer Konzentrationen von			
	27.03.2012	18.06.2012	Optimal ist eine Reduktion von 100 % in der Kurzzeit-Kultur
Bevacizumab	85 %	65 %	
Carboplatin	95 %	90 %	
Gemcitabine	65 %		
ProCurmin Complete II		95 %	
Pro Sirtusan		99 %	

Ergebnis (27.03.2012)

Das eingesandte Untersuchungsmaterial war gut beurteilbar. Es fand sich nur eine gering erhöhte Anzahl im Blut zirkulierender, vitaler tumorverdächtiger Zellen, wohl als Folge der aktuellen Therapie, die die zirkulierenden Tumorzellen als Erste eliminieren. Jedoch kann es bei Ovarialkarzinomen vorkommen, dass nur wenige Zellen aus dem Bauchraum ins Blut gelangen.

Diese Restzellen exprimieren zu über einem Drittel den Östrogenrezeptor und zum kleinen Teil den Progesteronrezeptor. Mutmaßliche Tumorstammzellen mit deutlich erhöhter Aldehyddehydrogenase-Aktivität wurden nicht nachgewiesen.

Daneben waren viele spezifische Zellfragmente nachweisbar. Spezifische Zellfragmente treten zum Beispiel nach Chemotherapie als Zeichen der Zellschädigung auf. Die automatische mikrofluorimetrische Bildanalyse des Prozentsatzes der absterbenden Epithelzellantigen(HEA)-positiven Zellen (zeit- und konzentrationsabhängig) ergab eine in-vitro-Vitalitätsreduktion bei Carboplatin, Bevacizumab und Gemcitabine. Im Zusammenhang mit einem nachgewiesenen Tumor handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um Zellen aus dem Tumor. Die jetzt bestimmte Zahl stellt einen Basiswert dar, ein Anstieg der Zellzahl ist krankheitsrelevant.

Ergebnis (18.06.2012)

Das eingesandte Untersuchungsmaterial war gut beurteilbar. Es fand sich jetzt eine mäßig erhöhte Anzahl im Blut zirkulierender, vitaler tumorverdächtiger Zellen, die sich im Vergleich zum Vorbefund vom März 2012 auf das 6-fache erhöht hat. Diese Zellen exprimieren zu einem Drittel den Östrogenrezeptor und zu über einem Viertel den Progesteronrezeptor.

Daneben waren viele spezifische Zellfragmente nachweisbar. Die automatische mikrofluorimetrische Bildanalyse des Prozentsatzes der absterbenden Epithelzellantigen(HEA)-positiven Zellen (zeit- und konzentrationsabhängig) ergab eine in-vitro-Vitalitätsreduktion bei Pro Sirtusan, ProCurmin Complete II, Carboplatin und Bevacizumab. Im vorausgegangenen Befund war 12 Tage nach Beginn des 1. Zyklus nach dem Ocean Schema nur eine ganz gering erhöhte Zahl zirkulierender tumorverdächtiger Zellen nachweisbar gewesen. Jetzt 14 Tage nach dem 4. Zyklus zeigt sich demgegenüber ein Anstieg der peripher zirkulierenden Zellen. Dabei kann es sich um Ausschwemmung von Zellen aus occulten Residuen im Rahmen der Therapie handeln, dann müsste es aber wieder zu einer Reduktion der Zellzahl kommen.

Zusammenfassung

Die Maintrac-Befunde beider Patientinnen können als eindeutiges Indiz einer in-vitro-Überlegenheit der Naturstoffe ProCurmin Complete II und Pro Sirtusan im Vergleich zu Amygdalin in Fall 1 sowie den Zytostatika Carboplatin und Gemcitabin und dem Angiogenesehemmer Bevacizumab in Fall 2 gedeutet werden. Die Testergebnisse werfen verschiedene Detailfragen auf, etwa bezüglich des Verhaltens der Tumorzellen in vivo, der Repräsentativität der isolierten Zellen bezogen auf die gesamte Tumorzellmasse, der Unterschiede bei Bioverfügbarkeit und Resorption der Pflanzenstoffe etc. Dennoch sind die Ergebnisse aus meiner Sicht ein Beweis für die Möglichkeit einer individualisierten, nichttoxischen, labordokumentierten und -kontrollierten Tumorthherapie. Weitere Testung der Methoden scheint somit wünschenswert und sinnvoll.

Autor:
Anton Kellner, Facharzt für Innere Medizin
Talstr. 17
66119 Saarbrücken

Literatur

[1] Detaillierte Fachinformationen zu allen Mikro-/Makronährstoffen von Tisso, die im Rahmen der Cellsymbiosistherapie® nach Dr. med. Heinrich Kremer eingesetzt werden, finden Sie im geschützten Bereich der Internetpräsenz der Akademie Cellsymbiosistherapie unter www.akademie-cst.de.

- Hekimian, K., Pachmann, K. et al. - Epithelial cell dissemination and readhesion: Analysis of factors contributing to metastasis formation in breast cancer, ISRN Oncology 2012, 1-8.
- Pachmann, K. – Tumor cell seeding during surgery -possible contribution to metastasis formation, Cancers 2011, 3: 2540 – 2553.
- Pachmann, K., Pachmann, U. et al – An increase in cell number at completion of therapy may develop as an indicator of early relapse, J Cancer Res Clin Oncol 2008, 134: 59 – 65.
- Pachmann, K., Oumar, C. et al – Assessing the efficacy of targeted therapy using circulating epithelial tumor cells (CETC): the example of SERM therapy monitoring as a unique tool to individualize therapy, J Cancer Res Clin Oncol 2010, 1-8 (published online).
- Pachmann, K., Oumar, C. et al – Quantification of the response of circulating epithelial cells to neoadjuvant treatment for breast cancer: a new tool for therapy monitoring, Breast cancer research 2005, 7: R975 – 979.
- Pachmann, K. – Longtime recirculating tumor cells in breast cancer patients, Clin Cancer Res. 2005, 11: 5657.