

Aus der
Neurologischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Neurologie mit Interdisziplinärem
Schwerpunkt Neuroonkologie

**Untargeted Metabolomics im Tumorgewebe von IDH1-
mutierten versus IDH1-Wildtyp diffusen Gliomen
ZNS WHO Grad 2-4**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Bayer, Björn

2024

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professorin Dr. Dr. G. Tabatabai

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. M. Kneilling

Tag der Disputation: 11.03.2024

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	9
1 Einleitung.....	14
1.1 Gliome.....	14
1.1.1 Epidemiologie.....	14
1.1.2 WHO-Klassifikation	15
1.1.2.1 Einteilung & Diagnose der Gliome nach der WHO- Klassifikation von 2016.....	15
1.1.2.2 Änderungen durch die WHO-Klassifikation von 2021	16
1.1.3 Symptomatik.....	17
1.1.4 Diagnostik.....	17
1.1.5 Therapie nach den EANO-Leitlinien von 2021	18
1.1.5.1 Oligodendrogliome, IDH-mutiert und 1p/19q-kodeletiert, ZNS WHO-Grad 2-3	18
1.1.5.2 Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS WHO-Grad 2-3.....	19
1.1.5.3 Glioblastom, IDH-Wildtyp, ZNS WHO-Grad 4	19
1.1.6 Prognose.....	20
1.1.6.1 Allgemeine Faktoren	20
1.1.6.2 Oligodendrogliome.....	20
1.1.6.3 Diffuses und anaplastisches Astrozytom.....	20
1.1.6.4 Glioblastom, IDH-Wildtyp.....	20
1.2 Tumormetabolismus und Gliomgenese	21
1.2.1 Tumormetabolismus als „Hallmark of cancer“	21
1.2.2 Metabolomics – Untersuchung des Tumormetabolismus.....	22

1.3	Rolle der IDH-Mutation bei der Gliomgenese.....	25
1.3.1	Physiologie.....	25
1.3.2	Mutation und Pathophysiologie.....	25
1.3.3	Rolle von 2-Hydroxyglutarat (2-HG) als Onkometabolit.....	26
1.3.4	Klinische Relevanz der IDH-Mutation.....	27
1.4	Aktueller Forschungsstand: Metabolomics zur Untersuchung der IDH-Mutation bei Gliomen.....	28
1.5	Ziel & Fragestellung.....	32
2	Material und Methoden.....	34
2.1	Darstellung des Patientenkollektivs.....	34
2.2	Untersuchungsmaterial.....	34
2.3	Versuchsdurchführung.....	34
2.3.1	Vorbereitung der Proben für NMR und LC-MS.....	35
2.3.1.1	Pulverisierung.....	35
2.3.1.2	Lyophilisierung (Gefriertrocknung).....	35
2.3.1.3	Aliquotierung & Homogenisierung der gefriergetrockneten Proben.....	35
2.3.1.4	Phasentrennung und Verarbeitung für NMR und LC-MS.....	36
2.4	Statistische Auswertung der Messungen.....	38
3	Ergebnisse.....	39
3.1	Demographie und klinische Daten des Kollektivs.....	39
3.2	Ergebnisse der Messungen.....	43
3.2.1	Metabolite mit signifikant erhöhter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. verminderter Konzentration bei IDH1-Wildtyp.....	47
3.2.2	Metabolite mit signifikant verminderter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. erhöhter Konzentration bei IDH1-Wildtyp.....	49

4	Diskussion	54
4.1	Patientenkollektiv und Untersuchungsmaterial.....	54
4.2	Methodik	54
4.3	Statistische Auswertung	55
4.4	Einschränkungen	55
4.5	Metabolite mit erhöhter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. verminderter Konzentration bei IDH1-Wildtyp	56
4.5.1	Myoinositol.....	56
4.5.2	Cystathionin	59
4.5.3	Glycerophosphocholin (GPC).....	63
4.5.4	Nicotinurat	65
4.5.5	Kreatin	69
4.6	Metabolite mit verminderter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. erhöhter Konzentration bei IDH1-Wildtyp	70
4.6.1	Hypotaurin	70
4.6.2	Sarkosin	72
4.6.3	Asparagin	74
4.6.4	Phosphoethanolamin & Phosphocholin.....	77
4.6.5	Alanin.....	78
4.6.6	Acetylcholin.....	80
4.6.7	Aminoadipinsäure.....	81
5	Zusammenfassung.....	84
6	Literaturverzeichnis.....	87
7	Erklärung zum Eigenanteil.....	114
8	Veröffentlichungen.....	115

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Gegenüberstellung von Untargeted und Targeted Metabolomics.....	24
Tabelle 2:	Übersicht zum aktuellen Forschungsstand bezüglich metabolischer Veränderungen IDH1-mutierter Gliome	29
Tabelle 3:	Herstellerbezeichnung der verwendeten Geräte und Vorgehensweise nach Protokollen.....	37
Tabelle 4:	Patientendaten der final analysierten Kohorte	44
Tabelle 5:	Gemessene Metabolite in NMR und LC-MS und Zuordnung zu deren chemischer Stoffgruppe.....	45

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Diagnostischer Algorithmus der diffusen Gliome	16
Abbildung 2:	„Omics“ und ihre wechselseitigen Beziehungen	23
Abbildung 3:	Covaris ® CP02 cryo PREP ®.....	35
Abbildung 4:	Covaris ® E220 Focused Ultrasonicator	36
Abbildung 5:	Bruker ® AVANCE™ III HD 600 MHz.....	37
Abbildung 6:	Verteilung der Diagnosen nach IDH1-Mutationsstatus	39
Abbildung 7:	Karnofsky Performance Status der Patientenkohorte.....	40
Abbildung 8:	Analyse der Einnahme von Medikamenten vor Resektion oder Biopsie der Gewebeproben	41
Abbildung 9:	Chirurgische Therapie in der Patientenkohorte	41
Abbildung 10:	Adjuvante Erstlinien-Therapie der Patientenkohorte.....	42
Abbildung 11:	Progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben der Patientenkohorte.....	43
Abbildung 12:	2-Hydroxyglutarat als Onkometabolit bei IDH1- mutierten Tumoren.....	47
Abbildung 13:	Konzentration von Glycerophosphocholin im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp	47
Abbildung 14:	Konzentration von Myoinositol im Vergleich IDH1- Mutation vs. IDH1-Wildtyp	48
Abbildung 15:	Konzentration von Kreatin im Vergleich IDH1- Mutation vs. IDH1-Wildtyp	48
Abbildung 16:	Konzentration von Cystathionin im Vergleich IDH1- Mutation vs. IDH1-Wildtyp	49
Abbildung 17:	Konzentration von Phosphoethanolamin im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp	49
Abbildung 18:	Konzentration von Alanin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation	50
Abbildung 19:	Konzentration von Acetylcholin im Vergleich IDH1- Wildtyp vs. IDH1-Mutation	50
Abbildung 20:	Konzentration von Phosphocholin im Vergleich IDH1- Wildtyp vs. IDH1-Mutation	51

Abbildung 21: Konzentration von Hypotaurin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation.....	51
Abbildung 22: Konzentration von Sarkosin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation.....	52
Abbildung 23: Konzentration von Asparagin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation.....	52
Abbildung 24: Konzentration von Amino adipinsäure im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation	53
Abbildung 25: Konzentration von Phosphoethanolamin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation	53
Abbildung 26: Myoinositol-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen durch IDH-Mutation.....	58
Abbildung 27: Cystathionin-Biosynthese, Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-mutierten, 1p/19q-kodeletierten Oligodendrogliomen und mögliche therapeutische Optionen.....	62
Abbildung 28: Cystathionin-Biosynthese, Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-mutierten Astrozytomen und mögliche therapeutische Optionen.....	63
Abbildung 29: GPC-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen durch IDH-Mutation sowie mögliche therapeutische Optionen.....	65
Abbildung 30: NAD-Biosynthese über Preiss-Handler-Weg, De novo-Synthese und Salvage-Weg.....	68
Abbildung 31: NAD-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-Mutation sowie mögliche therapeutische Optionen.....	69
Abbildung 32: Asparagin-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-Mutation sowie mögliche therapeutische Optionen.....	76
Abbildung 33: Amino adipinsäure-Biosynthese und Modell möglicher Veränderungen durch IDH-Mutation.....	83

Abkürzungsverzeichnis

¹ HMRS	¹ H-magnetic resonance spectroscopy
2-AAT	2-Aminoacidat-Transaminase
2-HG	2-Hydroxyglutarat
3-MST	3-Mercaptopyruvat-Transferase
5mC	5-Hydroxymethylecytosin
³¹ PHRMAS	Phosphorous-31 High Resolution Magic Angle Spinning
³¹ PMRSI	Phosphorous-31 magnetic resonance spectroscopy
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ADO	Cysteamin (2-Aminoethanethiol)-Dioxygenase
ADP	Adenosindiphosphat
AKT	Proteinkinase B
AlaRS	Alanyl-tRNA-Synthetase
ALDH	Aldehyd-Dehydrogenase
ALT	Alanin-Aminotransferase
AMPK	AMP-abhängige Kinase
APTs	Acyl-Protein Thioesterasen
ASNS	Asparagin-Synthetase
ATP	Adenosintriphosphat
ATQ	Antiquitin
ATRX	Alpha-thalassemia/mental retardation X-linked
BRAFV600e	Proto-oncogene B-Raf
BCAT	Branched Chain Amino Acid Transaminase
CBS	Cystathionin Beta-Synthase
CCL-20	CC-chemokine ligand 20
CCT	CTP:PC Cytidylyltransferase
CDO	Cystein-Dioxygenase
CE-MS	Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry
CE-TOFMS	Capillary electrophoresis time of flight mass spectrometry
CKA	Cholinkinase α
CKB	Kreatinkinase Brain type
CKM	Kreatinkinase Muscle Type

CKMT1/2	Kreatinkinase Mitochondrial ½
CKMT1B	Kreatinkinase Mitochondrial 1B
CoA	Coenzym A
cPLA2	Zytosolische Phospholipase A2
CSAT	Cysteinsulfinat-Decarboxylase
CT	Computertomographie
DON	6-diazo-5-oxo-l-norleucine
EANO	European Association of Neuro-Oncology
ECT	CTP:PE Cytidyltransferase
EEG	Elektroenzephalogramm
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EGLN	EGL-Nine
EK	Ethanolaminkinase
ER-ASP	Erwinia-Asparaginase
ERK	Extracellular-signal regulated kinases
ETNPPL	Ethanolamin-Phosphat Phospho-Lyase
FASN	Fettsäuresynthase
FET-PET	F-18-Ethyltyrosin-Positronenemissionstomographie
FH	Fumarathydratase
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GATM	Glycin Amidinotransferase mitochondrial
GAMT	Guanidinoacetat N-Methyltransferase
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry
GDH	Glutamatdehydrogenase
GLDC	Glycinderboxylase
GLS	Glutaminase
GLUD1	Glutamatdehydrogenase 1
GLUL	Glutamat-Synthetase
GNMT	Glycin-N-Methyltransferase
GPC-PDE	Glycerophosphocholin-Phosphodiesterase

GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GSCs	Glioblastoma stem cells
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
Gy	Gray
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
H3F3	Histon H3.3
HGG	High Grade Glioma
HIF-1- α	Hypoxie-induzierbarer Faktor 1 alpha
IDH	Isocitratdehydrogenase
ISYNA1	Inositol-3 Phosphate Synthase 1
kDa	Kilo Dalton
KLF-4	Krüppel-like factor 4
KPS	Karnofsky-Perfomance-Status
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry
LGG	Low Grade Glioma
LOH	Loss of Heterozygosity
LOH 1p/19q	Loss of Heterozygosity 1p/19q
LYPLA1	Lysophospholipase A1
MGMT	O6-Methylguanin-DNS-Methyltransferase
MHz	Megahertz
MI	Myoinositol
MOCA	Montreal-Cognitive-Assessment
MRS	Magnetresonanzspektroskopie
MRT	Magnetresonanztomographie
MSI	Mass spectrometry imaging
MSI2	Musashi RNA Binding Protein 2
MTBE	Methyl-tert-butylether
NAA	N-Acetyl-Aspartat
NAAD	Nicotinurat Adenin Dinukleotid
NAAG	N-Acetylaspartyglutaminsäure

nAChR	Nikotinerge Acetylcholinrezeptoren
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NADH	Reduzierte Form von Nicotinamidadenindinukleotid
NADK	NAD-Kinase
NADSYN1	NAD-Synthetase 1
NADP+	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NADPH	Reduzierte Form von Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NAMN	Nikotinurat Mononukleotid
NAMPT	Nikotinamid Phosphoribosyltransferase
NAPRT1	Nikotinat Phosphoribosyltransferase 1
NF- κB	Nuclear factor kappa B
NMN	Nikotinamid Mononukleotid
Nmnat	NMN Adenylyltransferase
NMR	Nuclear magnetic resonance
NMRK1	Nicotinamidribosidkinase 1
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2–related factor 2
PAG	Propargylglycin
PARPs	Poly(ADP-ribose)-Polymerasen
PC	Phosphocholin
PCV	Procarbazin CCNU Vincristin
PCYT2	Phosphat-Cytidylyltransferase 2
PDH	Pyruvatdehydrogenase
PDX	Patient derived xenograft
PE	Phosphoethanolamin
PFS	Progression Free Survival
PHD2	Prolyl Hydroxylase Domain-2
PHGDH	Phosphoglyceratdehydrogenase
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinasen
PIPOX	L-Pipecolinsäure-Oxidase
PSAT1	Phosphoserintransferase 1
PSPH	Phosphoserinphosphatase

PtdC	Phosphatidylcholin
PtdE	Phosphatidylethanolamin
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
QPRT	Chinolinat-Phosphoribosyltransferase
SAM	S-Adenosylmethionin
SARDH	Sarkosindehydrogenase
SHMT2	Serinhydroxymethyltransferase 2
SLC	Solute Carrier
SDH	Succinatdehydrogenase
STACs	Small-molecule Sirt1-activating compounds
TCGA	The Cancer Genome Atlas
tCho	Gesamtcholin
TERT	Telomerase reverse Transkriptase
TET	Ten-eleven Translocation
xCT	Cystin/Glutamat-Antiporter
u.a.	unter anderem
α -AASA	Aminoadipinsemialdehyd
α -KG	α -Ketoglutarat

1 Einleitung

1.1 Gliome

Die Gliome gehören zur Gruppe der neuroepithelialen Tumoren und stammen wahrscheinlich von neuroglialen Stamm- bzw. Vorläuferzellen ab (Weller et al. 2015, S. 1). Histologisch unterscheidet man dabei nach der morphologischen Ähnlichkeit zu den Stützzellen des normalen Gehirns Astrozytome, Oligodendrogliome und Ependymome (ebd.).

1.1.1 Epidemiologie

Gliome stellen die häufigsten malignen hirneigenen Tumore des Erwachsenenalters dar und sind verantwortlich für die meisten Todesfälle in dieser Gruppe (Ostrom et al. 2018b; Weller et al. 2015), wobei in Deutschland ca. 6000 Menschen jährlich neu erkranken (Kraywinkel und Spix 2019). Die weltweite jährliche Inzidenz liegt bei 6 von 100.000 Personen (Weller et al. 2021). Männer sind dabei um den Faktor 1,27-1,59 häufiger betroffen als Frauen (Ostrom et al. 2018b). Mehr als zwei Drittel der Gliome im Erwachsenenalter entfallen auf die astrozytären Tumoren, wobei das Glioblastom als bösartigster Tumor dieser Reihe mit einer Inzidenz von 0,6-3,7 pro 100.000 Personen weltweit den größten Anteil (ca. 60%) ausmacht (Ostrom et al. 2018b; Ostrom et al. 2018a; Kraywinkel und Spix 2019). Diffuse und anaplastische Astrozytome haben einen Anteil von ca. 14% an allen Gliomen, während Oligodendrogliome mit ca. 5% am seltensten sind. Die Inzidenz von Gliomen nimmt dabei mit dem Alter zu, was am stärksten für das Glioblastom gilt (Weller et al. 2015, S. 2).

Den einzigen bekannten Risikofaktor für das Entstehen von Gliomen stellt eine frühere Bestrahlung des zentralen Nervensystems in einer therapeutischen Dosis dar, während ein Zusammenhang mit dem Nutzen von Mobiltelefonen bislang nicht belegt ist (Weller et al. 2015, S. 2; Ostrom et al. 2018a). Allergien oder Asthma scheinen dagegen eine protektive Wirkung zu haben (Schiff et al. 2019, S. 4). Zudem können hereditäre Tumorsyndrome wie Neurofibromatose Typ 1 und 2, tuberöse Sklerose, Lynch-Syndrom, Li-Fraumeni-Syndrom, Turcot-Syndrom, Melanoma-Neural System Tumor Syndrom sowie Ollier/Maffucci-Syndrom jeweils das Risiko für bestimmte Typen von Gliomen erhöhen, wobei diese Syndrome <5% der Fälle ausmachen (Ostrom et al. 2018a). Eine positive Familienanamnese, die in 5-10% der Fälle vorliegt, scheint mit anderen

genetischen Faktoren assoziiert zu sein, die zur Zeit noch erforscht werden (Schiff et al. 2019).

1.1.2 WHO-Klassifikation

1.1.2.1 Einteilung & Diagnose der Gliome nach der WHO-Klassifikation von 2016

Die Einteilung der Gliome erfolgt nach der WHO-Klassifikation, deren neueste Fassung 2021 erschien. Da die Einteilung der in dieser Arbeit untersuchten Gliome nach der Klassifikation von 2016 erfolgte, sollen im Folgenden zunächst die Herangehensweise dieser Version aufgezeigt und im Anschluss daran die wichtigsten Änderungen der neuen Klassifikation erläutert werden.

Mit der Klassifikation von 2016 wurden neben histopathologischen Merkmalen erstmals auch molekulare Marker als fester Bestandteil integriert (Louis et al. 2016). Histopathologisch erfolgt eine Einteilung nach Zelltyp und Beurteilung des Wachstumsverhaltens des Tumors, auf dessen Basis eine Unterteilung in die WHO-Grade I-IV im Sinne einer Malignitätsskala vorgenommen wird (Louis et al. 2007, S. 106–108; Louis et al. 2016). Im Folgenden werden die wichtigsten molekularen Marker der diffusen Gliome vorgestellt und die Vorgehensweise bei der Diagnosefindung erläutert:

Ein Großteil der Astrozytome und nahezu alle Oligodendrogliome mit WHO Grad II bzw. III sowie 5-10% der Glioblastome (Astrozytom WHO Grad IV) weisen Mutationen der Isocitratdehydrogenase (IDH) 1 bzw. 2 auf, wobei Mutationen von IDH1 den größten Anteil ausmachen und kombinierte Mutationen von IDH1 und IDH2 sehr selten sind (Yan et al. 2009; Parsons et al. 2008; Hartmann et al. 2009; Labussière et al. 2010; Aibaidula et al. 2017). Die Mutation IDH1 (R132H) ist dabei am häufigsten (Hartmann et al. 2009). Einer immunhistochemischen Untersuchung dieser Mutation mit einem spezifischen Antikörper folgt eine Sequenzierung von IDH1 (Codon 132) und IDH2 (Codon 172) – bleibt beides negativ, so wird dies als „IDH-Wildtyp“ klassifiziert (Weller et al. 2017, 317; Louis et al. 2016). Während das Glioblastom histomorphologisch gut abgrenzbar ist, ist die Unterscheidung zwischen Oligodendrogliom und Astrozytom schwierig (Schiff et al. 2019). Die Einteilung von Tumoren mit astrozytären und oligodendroglialen Anteilen als Oligoastrozytome entfällt durch die Analyse zusätzlicher molekularer Marker (Sahm et al. 2014). So zeigen Oligodendrogliome charakteristischerweise einen kombinierten Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 (1p) sowie des langen Arms von Chromosom

19 (19q), der durch eine unbalancierte Translokation zustande kommt und zum Verlust der Heterozygotie (LOH) führt (Liu et al. 2012; Sahm et al. 2014; Griffin et al. 2006). Dies wird meistens über FISH oder Mikrosatellitenanalyse nachgewiesen (Weller et al. 2017, 317). Gliome mit IDH-Mutation und 1p/19q-Kodeletion zeigen zudem einen hohen Prozentsatz an TERT-Promotor-Mutationen (Brat et al. 2015). Im Gegensatz dazu zeigen Astrozytome mehrheitlich eine Kombination aus Mutationen in den Genen ATRX und p53, das Vorhandensein dieser Marker schließt eine gleichzeitige 1p/19q-Kodeletion dabei praktisch aus (Reuss et al. 2015b; Brat et al. 2015). Der Verlust der ATRX-Expression wird immunhistochemisch nachgewiesen (Weller et al. 2017, 317-318).

Abbildung 1 zeigt den diagnostischen Algorithmus nach der Klassifikation von 2016:

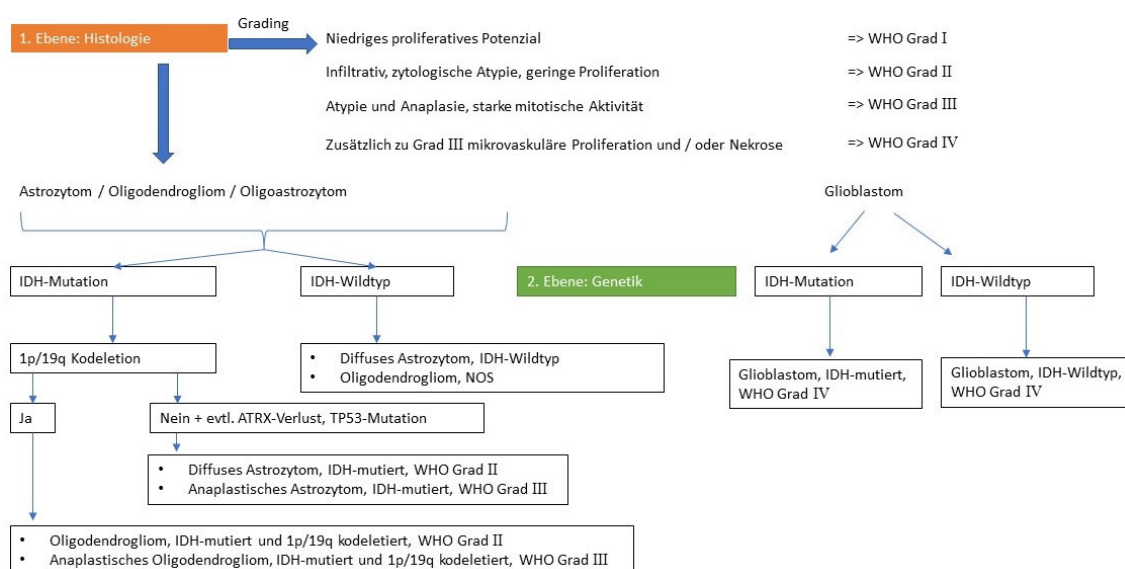


Abbildung 1: Diagnostischer Algorithmus der diffusen Gliome

Eigene Darstellung nach Louis et al. (2016) & Louis et al. (2007)

1.1.2.2 Änderungen durch die WHO-Klassifikation von 2021

Nach der neuen Klassifikation werden für das Grading keine römischen, sondern arabische Zahlen verwendet (Louis et al. 2021). Die diffusen Gliome des Erwachsenenalters werden wie folgt eingeteilt (ebd.):

- Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS WHO-Grad 2-4
- Oligodendrogliom, IDH-mutiert und 1p/19q-kodeletiert, ZNS WHO-Grad 2-3
- Glioblastom, IDH-Wildtyp, ZNS WHO-Grad 4
- Diffuses hemisphärisches Gliom, H3.3 G34-mutiert, ZNS WHO-Grad 4

e) Diffuses Mittelliniengliom, H3 K27M-mutiert, ZNS WHO-Grad 4

Die Unterteilung in „diffus“ oder „anaplastisch“ und die automatisch damit einhergehende Zuordnung eines WHO-Grads fällt ebenso wie die Entität „Glioblastom, IDH-mutiert“ weg. Stattdessen erfolgt das Grading innerhalb der jeweiligen Entität. Der WHO-Grad kann durch molekulare Marker mitbestimmt werden. Ausgehend vom IDH-Status werden die oben genannten Gliome anhand molekularer Marker weiter differenziert. Liegt bei IDH-Mutation ein ATRX-Verlust vor, reicht dies zur Diagnose eines astrozytären Tumors, während bei Erhalt von ATRX eine Untersuchung auf 1p/19q-Kodeletion erfolgen muss. Diffuse, astrozytäre Gliome mit IDH-Wildtyp und mikrovaskulärer Proliferation *oder* Nekrose *oder* TERT-Promotor-Mutation *oder* EGFR-Genamplifikation *oder* Amplifikation von Chromosom 7 und Deletion von Chromosom 10 (7+/10-) werden als „Glioblastom, IDH-Wildtyp“ klassifiziert.

1.1.3 Symptomatik

Gliome können sich je nach Lokalisation und Wachstumsverhalten mit unterschiedlichen neurologischen Ausfällen und Allgemeinsymptomen äußern (Gulden-Sala et al. 2016, S. 331). Die häufigsten initialen Symptome stellen dabei fokale-neurologische Defizite – z.B. Paresen, Parästhesien, Sehstörungen, Sprachstörungen – , kognitive Veränderungen, Kopfschmerzen, Benommenheitsgefühl und epileptische Anfälle dar (Rasmussen et al. 2017, S. 572–573; Ijzerman-Korevaar et al. 2018, S. 490–491). Zudem kann es durch ein perifokales Ödem zu einer Hirndrucksymptomatik mit Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen kommen (Gulden-Sala et al. 2016, S. 331). Dabei treten epileptische Anfälle häufiger bei Gliomen mit WHO Grad II (vor allem bei Oligodendrogliomen) und bei bestehender IDH1-Mutation auf, während höhergradige Gliome sich eher mit fokale-neurologischen Ausfällen und kognitiven Defiziten bemerkbar machen (Berntsson et al. 2018, S. 1432; Rasmussen et al. 2017, S. 577; Chen et al. 2017a, S. 1809).

1.1.4 Diagnostik

Eine Früherkennung von Gliomen anhand von Markern im Serum ist nicht bekannt (Weller et al. 2017). Beim Auftreten von hinweisenden Symptomen wird zunächst eine Bildgebung des Gehirns durchgeführt, wobei die MRT – mit den Wichtungen T2 und FLAIR sowie T1 vor und nach Kontrastmittelgabe – den Goldstandard darstellt, während die CT den Notfällen vorbehalten ist (Gulden-Sala et al. 2016, S. 331). Da zwar eine

diffuse Infiltration umliegender Strukturen erfolgt, eine Ausbreitung jedoch auf das zentrale Nervensystem beschränkt bleibt und Fernmetastasen praktisch nicht existieren, reicht die alleinige Bildgebung des Gehirns als initiale Staging-Untersuchung aus, auch eine Bildgebung der Wirbelsäule oder eine Lumbalpunktion sind nicht Teil der klinischen Routine (Stupp et al. 2014). IDH-mutierte Gliome liegen dabei vor allem im Frontallappen, zeigen weniger Kontrastmittel-Aufnahme und besser definierte Grenzen (Suh et al. 2019). Glioblastome sind charakterisiert durch eine randständige Kontrastmittelaufnahme aufgrund einer Schrankenstörung und zeigen häufig ein vasogenes perifokales Ödem (Wirsching et al. 2016). Moderne Verfahren wie die FET-PET stellen die Stoffwechselaktivität mittels einer radioaktiv markierten Aminosäure dar und können zur Quantifizierung der Tumorlast, zur präzisen Biopsie und Unterscheidung des Malignitätsgrades beitragen (Schiff et al. 2019; Gulden-Sala et al. 2016; Weller et al. 2017). Zur definitiven Diagnosesicherung und Therapieplanung ist stets eine Gewebeentnahme durch stereotaktische Biopsie oder chirurgische Resektion anzustreben, wobei letztere vorzuziehen und die alleinige Biopsie für Fälle reserviert ist, bei denen eine Resektion durch die Tumorlokalisation oder zu diffuses Wachstum mit zu hoher Morbidität verbunden ist (Schiff et al. 2019). Zur Beurteilung des Allgemeinzustands des Patienten und dessen Einschränkungen im Alltag wird zudem der Karnofsky-Performance-Status (KPS) erhoben, zur neurokognitiven Untersuchung kommen häufig der Mini-Mental-Status-Test oder der MOCA-Test zum Einsatz (Weller et al. 2017). Ein EEG kann zur Beurteilung einer tumorbedingten Epilepsie sowie bei unklaren Bewusstseinszuständen sinnvoll sein (ebd.).

1.1.5 Therapie nach den EANO-Leitlinien von 2021

Für alle neu diagnostizierten diffusen Gliome ist eine Resektion mit dem Ziel der maximalen Reduktion der Tumorlast unter Vermeidung permanenter neurologischer Defizite empfohlen (Weller et al. 2021).

1.1.5.1 Oligodendrogliome, IDH-mutiert und 1p/19q-kodeletiert, ZNS WHO-Grad 2-3

Bei WHO-Grad 2 und makroskopisch vollständiger Resektion – bei Patienten unter 40 Jahren auch bei Teilresektion – kann eine „Watch-and-wait“-Strategie verfolgt werden (Weller et al. 2021). Wird eine adjuvante Therapie als nötig erachtet, ist die Kombination von Radiotherapie und nachfolgender Chemotherapie mit Procarbazin, CCNU und Vincristin (PCV) der Standard (ebd.). Bei WHO-Grad 3 – anaplastischem

Oligodendrogliom nach der Klassifikation von 2016 – kommt eine abwartende Strategie bei Patienten unter 40 Jahren nur in Frage bei makroskopisch vollständiger Resektion und ohne bestehende neurologische Defizite (ebd.). Ansonsten erfolgt ebenso die adjuvante Radiotherapie mit sequentieller Chemotherapie nach PCV-Schema (ebd.).

1.1.5.2 Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS WHO-Grad 2-3

Auch hier kann bei jüngeren Patienten zwischen 40-45 Jahren, die asymptomatisch sind oder lediglich epileptische Anfälle zeigen, nach Komplettresektion eine „Watch-and-wait“-Strategie verfolgt werden (Weller et al. 2021). Bei inkompletter Resektion oder höherem Alter erfolgt die adjuvante Radiotherapie mit sequentieller PCV-Chemotherapie (Weller et al. 2017). Für IDH-mutierte Astrozytome WHO-Grad 3 (vormals anaplastische Astrozytome) besteht die postoperative Standardtherapie aus einer Radiotherapie mit 60 Gy in Fraktionen von 1,8-2 Gy und sequentieller Chemotherapie mit Temozolomid (Weller et al. 2021).

1.1.5.3 Glioblastom, IDH-Wildtyp, ZNS WHO-Grad 4

Die bisher als IDH-mutierte Glioblastome diagnostizierten Tumore werden jetzt als IDH-mutierte Astrozytome WHO-Grad 4 bezeichnet und entweder wie ein Glioblastom, IDH-Wildtyp oder ein IDH-mutiertes Astrozytom Grad 3 behandelt (Weller et al. 2021). Die Standardtherapie für Glioblastome mit IDH-Wildtyp richtet sich nach dem Alter und dem Karnofsky-Score: Für Patienten unter 70 Jahren mit einem Score von mindestens 70 erfolgt eine postoperative Radiotherapie mit 60 Gy in Fraktionen von 1,8-2 Gy und konkomitanter Einnahme von Temozolomid mit einer Dosis von 75 mg/m² Körperoberfläche während der Radiotherapie sowie eine anschließende Gabe von 6 Zyklen Temozolomid an 5 von 28 Tagen, was als Stupp-Schema bekannt ist (Weller et al. 2021; Stupp et al. 2005). Bei Patienten über 70 Jahren oder Patienten, die nicht für eine kombinierte Therapie geeignet sind, erfolgt eine Stratifizierung nach dem MGMT-Status: MGMT ist ein DNA-Reparaturprotein, welches bei unmethyliertem Promotor einer Therapie mit Alkylanzien entgegenwirkt (Weller et al. 2015). Zur Untersuchung der Methylierung erfolgt eine methylierungsspezifische PCR (Weller et al. 2017). Patienten mit methyliertem MGMT-Promotor erhalten deshalb eine alleinige Chemotherapie mit Temozolomid bis zur Progression oder für 12 Monate an jeweils 5 von 28 Tagen, während bei fehlender Methylierung eine alleinige, hypofraktionierte Radiotherapie vorgesehen ist (Weller et al. 2021). Bei Patienten unter 70 Jahren mit

gutem KPS und methyliertem MGMT-Status wird im deutschsprachigen Raum alternativ eine kombinierte Radiochemotherapie mit Temozolomid und Lomustin analog der CeTeG-Studie durchgeführt, da hier ein signifikanter Überlebensvorteil gezeigt werden konnte (Herrlinger et al. 2019; Weller et al. 2021).

1.1.6 Prognose

1.1.6.1 Allgemeine Faktoren

Klassische prognostische Faktoren der Gliome stellen ein jüngeres Alter bei Diagnosestellung, ein besserer KPS, die Tumorlokalisation und das Ausmaß der chirurgischen Resektion dar (Louis et al. 2007; Weller et al. 2017). Im Zuge der neuen WHO-Klassifikation sind günstige prognostische Faktoren wie die 1p/19q-Kodeletion und die IDH-Mutation integraler Bestandteil der jeweiligen Diagnose und deshalb nicht mehr als prognostische Faktoren anzusehen (Weller et al. 2021, S. 176). Ein wichtiger prognostischer Faktor ist zudem der MGMT-Status (ebd.).

1.1.6.2 Oligodendrogliome

Oligodendrogliome treten am häufigsten zwischen 35-44 Jahren auf (Ostrom et al. 2018a) und zeigen ein langsames Wachstum mit einem medianen Gesamtüberleben von ca. 8 Jahren (Brat et al. 2015).

1.1.6.3 Diffuses und anaplastisches Astrozytom

Patienten mit IDH-mutierten diffusen und anaplastischen Astrozytomen zeigen beide ein mittleres Alter von 38 Jahren, während in der WHO-Klassifikation von 2007 ein 6-12 Jahre höheres Alter für anaplastische Astrozytome angenommen wurde (Reuss et al. 2015a). Zudem konnte ein medianes Gesamtüberleben von 10,9 Jahren (WHO Grad II) gegenüber 9,3 Jahren (WHO Grad III) gezeigt werden, was ebenfalls einen deutlich geringeren Unterschied als bisher angenommen darstellt (ebd.). Neuere Daten zur Epidemiologie von Astrozytomen mit Einteilung nach der WHO-Klassifikation von 2021 fehlen aktuell noch.

1.1.6.4 Glioblastom, IDH-Wildtyp

Glioblastome treten bei Patienten mit einem medianen Alter von 65 Jahren auf (Ostrom et al. 2020). Sie zeigen bei Standardtherapie ein medianes Gesamtüberleben von 15-18 Monaten und ein 5-Jahres-Überleben unter 10% (Wen et al. 2020).

1.2 Tumormetabolismus und Gliomgenese

1.2.1 Tumormetabolismus als „Hallmark of cancer“

Die Reprogrammierung des Energiemetabolismus zählt zu den zentralen biologischen Fähigkeiten, die zur Tumorphathogenese beitragen (Hanahan und Weinberg 2011). Bereits in den 1950er-Jahren zeigte Otto Warburg, dass Krebszellen auch unter nicht-hypoxischen Bedingungen hohe Mengen an Glucose über die Glykolyse zu Laktat umwandeln (Warburg 1956) – was als Warburg-Effekt bezeichnet wird –, während normale Zellen in Anwesenheit von Sauerstoff die meiste Glukose über Pyruvat und den Citratzyklus zur Energieproduktion in den Mitochondrien verwenden, was zwar bis zu 100-mal langsamer abläuft, jedoch deutlich mehr Energie in Form von ATP zur Verfügung stellt (Martinez-Outschoorn et al. 2017). Heute wird davon ausgegangen, dass dieser Effekt die Konsequenz eines für die Tumorzellen nützlichen metabolischen Phänotyps darstellt, der durch die Aktivierung von Onkogenen und den Verlust von Tumorsuppressorgenen zustande kommt und eine konstitutive Aufnahme von Glukose, Glutamin sowie essentiellen Aminosäuren und damit eine unkontrollierte Proliferation erlaubt (Pavlova und Thompson 2016; Martinez-Outschoorn et al. 2017). Der Warburg-Effekt dient dabei der Generierung von Zwischenprodukten der Glykolyse, die als Substrate für anabole Stoffwechselwege wie die Nukleotidbiosynthese, die Lipidsynthese sowie die Synthese von Aminosäuren wie Serin genutzt werden können (Kalyanaraman 2017). Die metabolische Heterogenität von Tumorgeweben – einige Regionen sind dabei vor allem glykolytisch aktiv, während andere vor allem die oxidative Phosphorylierung zur Energiegewinnung nutzen – erlaubt dabei eine metabolische Kopplung, die unter dem „umgekehrten Warburg-Effekt“ bekannt wurde (Pavlidis et al. 2009; Kalyanaraman 2017). Dabei nehmen maligne Zellen Laktat, freie Fettsäuren und Ketone aus dem umliegenden Tumorstroma auf und nutzen diese zur Energiegewinnung (Martinez-Outschoorn et al. 2017, S. 13). Zudem erfolgt eine symbiotische Zusammenarbeit zwischen aeroben und hypoxischen Bereichen innerhalb des Tumors, wobei das in der Glykolyse hypoxischer Zellen gewonnene Laktat über Monocarboxylat-Transporter in aerobe Zellen aufgenommen, in Pyruvat umgewandelt und als Substrat für die oxidative Phosphorylierung genutzt wird, was Glukose für die hypoxischen Zellen einspart (Kalyanaraman 2017, S. 838). Dieser Mechanismus ist unter anderem auch im Muskel und zwischen Neuronen und Gliazellen aktiv (Martinez-Outschoorn et al. 2017, S. 22).

Zudem nutzen Tumorzellen vermehrt Glutamin als Stickstofflieferant für die Biosynthese von Nukleotiden, Glucosamin-6-Phosphat und Aminosäuren, außerdem kann es über die Glutaminolyse zu α -Ketoglutarat (α -KG) verstoffwechselt werden und zur Auffüllung des Citratzyklus oder als Ausgangspunkt der Fettsäure- und Glutathionsynthese dienen (Vazquez et al. 2016; Pavlova und Thompson 2016). Tumoren zeichnen sich außerdem durch eine erhöhte de novo Synthese von Fettsäuren aus (Kalyanaraman 2017, S. 838). Die Fettsäureoxidation und der Citratzyklus erzeugen Malat und Citrat, die als Substrate der Malatdehydrogenase sowie der Isocitratdehydrogenase (IDH) genutzt werden, um NADPH für die ATP-Produktion, die Redox-Homöostase und Biosynthesereaktionen zur Verfügung zu stellen. Eine wichtige Rolle spielen darüber hinaus Intermediate des Citratzyklus. Bei Tumoren, die die mitochondrialen Tumorsuppressor-Enzyme Succinatdehydrogenase (SDH) oder Fumarathydratase (FH) verloren haben, akkumulieren Succinat bzw. Fumarat und inhibieren den Abbau des Transkriptionsfaktors HIF1- α , welcher unter anderem die Glykolyse stimuliert und gleichzeitig die oxidative Phosphorylierung inhibiert (Vazquez et al. 2016, S. 3371; Martinez-Outschoorn et al. 2017, S. 27).

1.2.2 Metabolomics – Untersuchung des Tumormetabolismus

Neben der Untersuchung des Genoms, des Transkriptom und des Proteoms hat sich die Analyse des Metaboloms als Gesamtheit der in einer Zelle, einem Gewebe oder einem Organismus vorhandenen Metabolite in den letzten Jahren unter dem Namen *Metabolomics* etabliert (Fiehn 2002; Oliver et al. 1998; Dettmer und Hammock 2004). Metaboliten umfassen Moleküle mit einem Molekulargewicht unter 1,5 kDa. Dabei werden endogene Metabolite wie z.B. Kohlenhydrate, Lipide und Aminosäuren von exogenen Metaboliten wie Medikamenten, Nährstoffen und auch Darmbakterien unterschieden (Emwas et al. 2013, S. 1049; Ranninger et al. 2016, S. 14).

Die folgende Abbildung zeigt den Informationsfluss der Zelle vom Genom bis zum Metabolom, welcher keinesfalls linear ist, da sich die verschiedenen Ebenen untereinander beeinflussen (Goodacre 2005). Auch das Metabolom wird durch die Aktivität verschiedener Enzyme – die wiederum Teil des Proteoms sind – beeinflusst und unterliegt somit den komplexen Interaktionen zwischen Genom, Transkriptom und Proteom (Roberts et al. 2012, 14). Umgekehrt sind Metabolite die Ausgangspunkte der RNA- und Proteinsynthese und können die Enzymaktivität, die Proteinfaltung sowie die

Aktivität von Transkriptionsfaktoren allosterisch beeinflussen und damit wiederum die Genaktivität (Buescher und Driggers 2016).

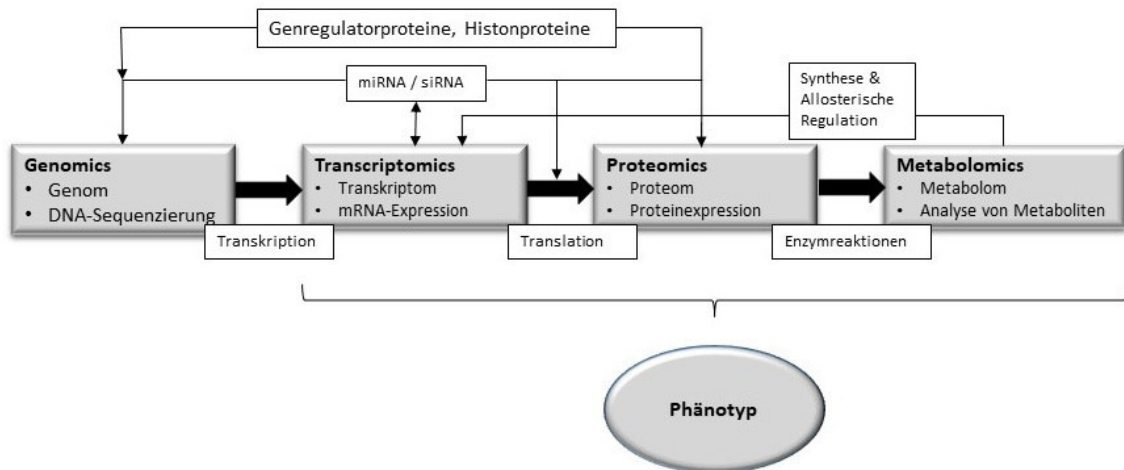


Abbildung 2: „Omics“ und ihre wechselseitigen Beziehungen

Eigene Darstellung nach Frédéric et al. (2016) & Buescher und Driggers (2016)

Für die biomedizinische Forschung ist die Analyse des Metaboloms besonders interessant, da sie dem Phänotyp am nächsten kommt und eine Momentaufnahme des biologischen Status darstellt.

In der Herangehensweise der Metabolomanalyse lassen sich zwei übergeordnete Ansätze unterscheiden: *targeted metabolomics* und *untargeted metabolomics* (Patti et al. 2012).

Targeted metabolomics bedeutet, dass ein festgelegtes Panel an definierten, bereits bekannten und charakterisierten Metaboliten untersucht wird, wodurch zum Beispiel einer oder mehrere bestimmte Stoffwechselwege untersucht werden können (ebd.). Dieser Ansatz kann genutzt werden, um z.B. Auswirkungen von Medikamenten oder genetischen Veränderungen auf bestimmte Stoffwechselwege zu untersuchen oder Biomarker zur Diagnostik einer Erkrankung zu finden (ebd.). Der Ansatz der *untargeted metabolomics* hat dagegen zum Ziel, so viele Metabolite wie möglich zu erfassen, was die Erstellung umfassender Metabolomprofile erlaubt (Patti et al. 2012). Dieser Ansatz ist somit eher Hypothesen-generierend und lässt einen neuen Blick auf bisher unbekannte Stoffwechselwege zu, womit auch neue Ziele für eine mögliche Therapie von

Krankheiten auf molekularer Ebene sowie neue Biomarker entdeckt werden können (Roberts et al. 2012, 2; Patti et al. 2012). Eine Unterform stellt das sogenannte *metabolic fingerprinting* dar: Hier ist das Ziel nicht die umfassende Analyse und Charakterisierung aller Metabolite, sondern der Vergleich von Mustern, um spezifische metabolische Fingerabdrücke zu identifizieren, die sich als Antwort auf Krankheit oder äußere Einflüsse verändern (Dettmer und Hammock 2004).

Tabelle 1: Gegenüberstellung von Untargeted und Targeted Metabolomics

Quelle: Modifizierte Darstellung nach Roberts et al. (2012); Patti et al. (2012); Frédéricich et al. (2016)

	Untargeted Metabolomics	Targeted metabolomics
Ziel	<ul style="list-style-type: none"> • Erfassung aller Metabolite einer Probe 	<ul style="list-style-type: none"> • Untersuchung eines Panels von bekannten Metaboliten
Vorteile	<ul style="list-style-type: none"> • holistischer Ansatz • Vergleich von Metabolomprofilen • Uncharakterisierte Metabolite werden erfasst • generiert neue Hypothesen 	<ul style="list-style-type: none"> • Testung spezifischer Hypothesen • höherer Durchsatz • optimierte Probenvorbereitung • weniger Artefakte
Nachteile	<ul style="list-style-type: none"> • hoher Analyseaufwand der Daten • Niedrigerer Durchsatz • Gefahr der Überrepräsentation häufiger Metabolite 	<ul style="list-style-type: none"> • Einschränkung auf bestimmte Metabolite • Keine Erfassung unbekannter Metabolite
Unterform	<ul style="list-style-type: none"> • Metabolic fingerprinting: Mustervergleich 	
Einsatz in der Medizin	<ul style="list-style-type: none"> • Entdeckung bisher unbekannter, aufgrund von Krankheiten veränderter Metabolite 	<ul style="list-style-type: none"> • Erfassung von metabolischen Signaturen für Krankheiten • Auswirkungen von Medikamenten auf den Stoffwechsel überprüfen

Methodisch haben sich dabei drei Technologien etabliert (Wishart 2016): NMR-Spektroskopie, Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) und Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS). Dabei können sowohl *in vitro* als auch *in vivo* Analysen an Zellen, Flüssigkeiten wie zum Beispiel Blutplasma, Urin oder Liquor sowie an Geweben durchgeführt werden (Spratlin et al. 2009). Die NMR-Spektroskopie nutzt dabei das Verhalten von Molekülen im Magnetfeld, um verschiedene Kerne je nach ihrer Resonanzfrequenz zu identifizieren, während die

Massenspektrometrie geladene Teilchen anhand ihres Verhältnisses von Masse zu Ladung analysiert (ebd.).

1.3 Rolle der IDH-Mutation bei der Gliomgenese

1.3.1 Physiologie

Es existieren drei Isoformen von Isocitratdehydrogenasen (IDH), die von unterschiedlichen Genen kodiert werden: IDH1 und IDH2 sind Homodimere und zeigen eine große Sequenzhomologie von ca. 70% (Al-Khallaf 2017; Dang und Su 2017). Sie katalysieren beide die NADP⁺-abhängige oxidative Carboxylierung von Isocitrat zu α -KG, wobei NADPH frei wird, sowie auch die umgekehrte Reaktion in einer reduktiven Carboxylierung (ebd.). IDH1 befindet sich dabei im Cytosol und den Peroxisomen, während IDH2 und IDH3 im Mitochondrium lokalisiert sind und eine Reaktion des Citratzyklus katalysieren (ebd.).

IDH1 und IDH2 haben zahlreiche zelluläre Funktionen, z.B. in der Regulation der Glukoseaufnahme, des Glutamin-Metabolismus und der Lipogenese (Waitkus et al. 2016). Zudem gehören sie zu einer von drei Enzymfamilien, die NADPH produzieren, wobei IDH1 hierfür die wichtigste Rolle spielt. NADPH stellt einen wichtigen Kofaktor für die Biosynthese von Nukleotiden und Fettsäuren dar und schützt die Zellen durch Reduktion von Glutathion vor oxidativem Stress (Dang et al. 2010; Dang und Su 2017).

1.3.2 Mutation und Pathophysiologie

Mutationen von IDH 1 und 2 treten neben den Gliomen bei einer Reihe von soliden Tumoren und myeloischen Neoplasien wie der akuten myeloischen Leukämie auf (Waitkus et al. 2018a). Dabei wurde in allen Fällen eine einzelne Missense-Mutation gefunden, die durch einen Aminosäureaustausch an aktiven Stellen von IDH1 bzw. IDH2 charakterisiert ist (Dang und Su 2017). Bei den Gliomen ist dabei für IDH1 die Mutation R132H (von Arginin zu Histidin) am häufigsten, für IDH2 die Mutation R172K (Dang und Su 2017, S. 309). Sowohl für IDH1 als auch für IDH2 konnte gezeigt werden, dass diese Mutationen immer heterozygot auftreten. Die Mutation führt dabei zu einer neuen Enzymfunktion, die mit größerer Affinität abläuft und in einer NADPH-verbrauchenden Reaktion α -KG in den Metabolit R-2-Hydroxyglutarat (R-2HG) umwandelt, welches bis zu 100-mal höhere Konzentrationen in IDH-mutierten Tumorzellen zeigt (Dang et al. 2009; Ward et al. 2010; Dang und Su 2017). Die normale Enzymfunktion kommt dabei

praktisch zum Erliegen (ebd.). Zudem ist die umgekehrte Reaktion von α -KG zu Isocitrat nicht mehr möglich (Leonardi et al. 2012). Die Tatsache, dass nur heterozygote Mutationen auftreten und es zu einer neuen Funktion des Enzyms kommt, spricht für die Rolle von IDH1/2 als Onkogen, im Gegensatz zu den Tumorsuppressoren SDH und FH (Dang und Su 2017; Al-Khallaf 2017). Die IDH-Mutationen treten ubiquitär in allen Tumorzellen auf und scheinen frühe, wenn nicht sogar initiale genetische Veränderungen bei Gliomen darzustellen, wobei ausgehend von gemeinsamen Vorläuferzellen weitere Mutationen wie TP53 und die Kodeletion 1p/19q zur weiteren Differenzierung der Zellreihen führen (Watanabe et al. 2009; Yan et al. 2009; Waitkus et al. 2016).

1.3.3 Rolle von 2-Hydroxyglutarat (2-HG) als Onkometabolit

Für R-2HG als Produkt der IDH-Mutation wurde erstmals der Terminus „Onkometabolit“ etabliert (Wishart 2016). Eine physiologische Rolle von 2-Hydroxyglutarat ist nicht bekannt (Dang und Su 2017). Die Akkumulation von 2-HG über das physiologische Level hinaus führt jedoch bei den seltenen genetischen Hydroxyglutarat-Azidurien zu schwerwiegenden Erkrankungen, im Falle der L-2HG-Azidurie teils auch zu Hirntumoren, wobei hierüber bei der R-2HG-Azidurie aufgrund des frühen letalen Verlaufs keine Aussage gemacht werden kann (Dang et al. 2010). Es wurden verschiedene Mechanismen propagiert, über die R-2HG Einfluss auf die Tumorgenese nimmt: Durch die strukturelle Ähnlichkeit mit α -KG kommt es zur Inhibition verschiedener Enzyme, die α -KG als Substrat benötigen, wie der Histon-Demethylase JHDM1A, sowie der TET 5-Methylcytosin Hydroxylasen (Xu et al. 2011). Dies führt zur Dysregulation der DNA -und Histonmethylierung (Xu et al. 2011; Waitkus et al. 2016). Hierdurch kommt es zu einer vorzeitigen Blockade der Zelldifferenzierung, was eventuell die pathologische Selbsterneuerung von Stammzell-ähnlichen Vorläuferzellen fördern könnte und damit zur malignen Transformation beiträgt (Lu et al. 2012; Waitkus et al. 2018a; Dang und Su 2017). Zur Gruppe der α -KG abhängigen Dioxygenasen gehören auch die Prolylhydroxylasen (auch EGLN genannt), die unter normoxischen Bedingungen zum Abbau von HIF1- α führen, einem Transkriptionsfaktor, der bei Hypoxie akkumuliert und in Angiogenese, Zellüberleben, Glukosemetabolismus und Invasion involviert ist (Dang et al. 2010; Dang und Su 2017). Wie genau das Level von HIF1- α durch R-2HG beeinflusst wird und welche Rolle es für die Proliferation von Gliomen spielt, ist noch unklar (Dang und Su 2017). Zudem führt 2-HG zu einer

Unterdrückung der T-Zell-Aktivität bei IDH1-mutierten Tumoren und kann die körpereigene Abwehr gegen Tumorzellen so beeinflussen (Bunse et al. 2018).

1.3.4 Klinische Relevanz der IDH-Mutation

Bezüglich der Auswirkung der IDH-Mutation auf die Proliferation von Gliomzellen gibt es widersprüchliche Resultate (Molenaar et al. 2014). Die Mutation führt zu einem spezifischen CpG-Insel-Methylations-Phänotyp (G-CIMP), der mit einer besseren Prognose einhergeht und so zur Definition neuer methylierungsspezifischer Gliom-Subgruppen geführt hat (Noushmehr et al. 2010; Turcan et al. 2012; Ceccarelli et al. 2016). Die genaue Ursache für den prognostischen Vorteil ist unklar. Eine Möglichkeit stellt ein verbessertes Ansprechen auf Chemotherapeutika wie Temozolomid oder PCV, z.B. durch 2-HG vermittelte Inhibition von DNA-Reparatur-Enzymen, sowie eine erhöhte Radiosensitivität durch Vulnerabilität gegenüber oxidativem Stress dar (Molenaar et al. 2014; Wang et al. 2015). Zudem scheinen IDH-mutierte Tumoren besser auf eine maximale chirurgische Resektion anzusprechen (Beiko et al. 2014). Eine nichtinvasive Diagnostik zur Unterscheidung verschiedener Gliom-Subtypen existiert nicht, zudem sind die genauen Mechanismen der malignen Progression und die Rolle der IDH-Mutation hierbei unklar – auch fehlen Biomarker, die einen Übergang in einen aggressiveren Phänotyp anzeigen könnten (Jalbert et al. 2017; Reifenberger et al. 2017). 2-Hydroxyglutarat als Onkometabolit eignet sich dabei gut als Biomarker, da >99% aller IDH-mutierten Zellen erhöhte Level an 2-HG produzieren und es im gesunden Gewebe kaum vorliegt (Leather et al. 2017). Klinisch wird ein erhöhtes Verhältnis von tCho (Gesamtcholin) / NAA (N-Acetyl-Aspartat) häufig über in vivo MRS als Biomarker für die Tumorlast und Malignität von Gliomen verwendet (Elkhaled et al. 2014). Auch 2-HG kann als Marker für IDH-mutierte Tumoren über die MRS detektiert werden, wobei die Identifikation und Quantifizierung der Konzentration durch spektrale Überlappung mit Glutamat, Glutamin und GABA erschwert wird (Leather et al. 2017).

Auch das Monitoring von Gliom-Patienten ist kompliziert, da therapieinduzierte Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke ein Ansprechen vortäuschen können, während Radio- oder Immuntherapien zur falschen Annahme einer Progression führen können (Weller et al. 2015). Andronesi et al. (2016) konnten zeigen, dass es unter Chemo- und Radiotherapie zu einem MRS-detektierbaren Abfall von 2-HG kommt, der mit der klinischen Performance korreliert, was 2-HG als Monitoring-Parameter interessant

macht. Neue Therapieansätze mit *small-molecule* Inhibitoren des mutierten IDH1-Proteins als auch eine Impfung mit Epitopen des mutierten Proteins haben präklinisch und in Phase-1-Studien vielversprechende Resultate gezeigt (Reifenberger et al. 2017; Mellinshoff et al. 2020; Platten et al. 2021). Auch metabolische Schwachstellen konnten identifiziert werden: so führt die Mutation zu einer erhöhten Sensitivität gegenüber einer Depletion von NAD⁺, welches unter anderem durch das Enzym NAMPT regeneriert wird (Tateishi et al. 2015). Zudem inhibiert 2-HG die Transaminasen BCAT1 und BCAT2, die zur Synthese von Glutamat und damit auch Glutathion beitragen, was bei oxidativem Stress zu einer erhöhten Abhängigkeit von Glutamin als Ausgangsprodukt von Glutamat über die Glutaminolyse führt (McBrayer et al. 2018). NAMPT-Inhibition und Glutaminase-Inhibition in Kombination mit Radiotherapie zeigten präklinisch vielversprechende Resultate (McBrayer et al. 2018; Tateishi et al. 2015).

Eine nichtinvasive Erkennung IDH-mutierter Tumoren schon präoperativ und die Messung von 2-HG könnten zu einer besseren Stratifizierung hinsichtlich der Therapie führen und ein besseres Monitoring von Patienten erlauben, auch im Hinblick auf neue personalisierte Therapieansätze. Jedoch gibt es auch Hinweise dafür, dass eine reine pharmakologische Inhibition der neomorphen IDH1-Aktivität nicht ausreichend sein könnte, um das Tumorwachstum von Gliomen zu hemmen (Waitkus et al. 2018b), zudem könnten metabolische „Schwachstellen“ so verloren gehen, wie zum Beispiel ein besseres Ansprechen auf Radiotherapie (Molenaar et al. 2015).

1.4 Aktueller Forschungsstand: Metabolomics zur Untersuchung der IDH-Mutation bei Gliomen

Durch die veränderte Funktion der mutierten Isocitratdehydrogenase wird α -KG im Cytosol vermehrt zu 2-HG konvertiert, gleichzeitig wird NADPH verbraucht. Izquierdo-Garcia et al. (2015a) konnten zeigen, dass 80% des 2-HG dabei von Glutamin und 20% von Glucose stammen. Zahlreiche Studien haben mit verschiedenen Methoden untersucht, zu welchen metabolischen Veränderungen die IDH1-Mutation neben der Bildung von 2-HG führt. Einen Überblick hierzu zeigt Tabelle Nr.2, im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Studien genauer beleuchtet.

Tabelle 2: Übersicht zum aktuellen Forschungsstand bezüglich metabolischer Veränderungen IDH1-mutierter Gliome

Autoren	Modell	Methode
Reitman et al. (2011)	Oligodendrogliom-Zelllinie mit IDH1R132H Expression & Gewebeproben	(LC)-MS/MS und GC-MS
Ohka et al. (2014)	Gewebeproben (n=33); Gliomzelllinie U87; HEK-293 Zellen mit Expression von mutiertem IDH1R132H	CE-TOFMS
Chesnelong et al. (2014)	Gewebeproben und Tumorstammzellen von IDH- mutierten Tumoren	GC-MS; ¹ HMRS; Microarray
Grassian et al. (2014)	HCT116 und MCF-10A isogene Zelllinien mit IDH- Mutation	Metabolische Flussanalyse
Esmacili et al. (2014)	Xenograft E468 und E473 von menschlichen Glioblastom-Biopsien; E434 und E478 (mit IDH1- Mutation) von Oligodendrogliom Grad 3; U251MG- Zellmodell mit IDH1R132H-Expression; Gewebeproben (n=11)	In vivo ³¹ P MRSI + ex vivo ³¹ P HRMAS
Izquierdo-Garcia et al. (2015a)	U87 (Glioblastom)-Zelllinie und immortalisierte NHA- Zelllinie mit Expression von IDH1R132H	¹ H-MRS & ¹³ C-MRS
Izquierdo-Garcia et al. (2015b)	U87 (Glioblastom)-Zelllinie und immortalisierte NHA- Zelllinie mit Expression von IDH1R132H	¹ H-MRS
Wen et al. (2015)	U87-Zelllinie mit Expression von IDH1R132H	NMR & LC-MS
Jalbert et al. (2017)	Gewebeproben von niedriggradigen Gliomen	Ex vivo ¹ H HR-MAS
Fack et al. (2017)	Xenograft E478, T186, T394 (jeweils mit IDH1- Mutation; von Oligodendrogliom Grad 3; anaplastischem Astrozytom Grad 3 & Glioblastom); Xenograft P3, P8, T434 von Wildtyp-Glioblastomen	MSI; LC-MS; TCGA- Analyse
Khurshed et al. (2017)	In silico Genexpressionsanalyse	
Waitkus et al. (2018b)	Mausmodell (genetisch veränderte neurale Progenitorzellen mit IDH1-Mutation/Wildtyp und TP53- Mutation)	LC-MS/MS

Autoren	Modell	Methode
Viswanath et al. (2018a)	U87&NHA-Zelllinie mit Expression von IDH1R132H sowie daraus erstelltes orthotopes Mausmodell; Tumorgewebe (n=7)	³¹ P-MRS
Zhou et al. (2019)	Tumorgewebe (n=75) von Patienten	GC-MS & LC-MS
(Cano-Galiano 2021)	Tumorgewebe (n=22); Zelllinien von Patienten; PDX-Modell	LC-MS
(Cano-Galiano et al. 2021)	Tumorgewebe (n=22); Zelllinien von Patienten; PDX-Modell	LC-MS
Björkblom et al. (2022)	Tumorgewebe (n=224) von Patienten mit Oligodendrogliomen, Astrozytomen und Glioblastomen	GC-MS & LC-MS

Verschiedene Studien zeigten eine verminderte Konzentration von Glutamin bei IDH1-mutierten Gliomen (Reitman et al. 2011; Ohka et al. 2014; Jalbert et al. 2017). Dabei besteht eine erhöhte Abhängigkeit von der Glutaminolyse, einerseits durch die bereits beschriebene Inhibition der BCAT-Transaminasen (McBrayer et al. 2018), andererseits zur Nutzung von Glutamin für die Lipogenese. Diese läuft unter hypoxischen Bedingungen fast ausschließlich durch die IDH1-abhängige reduktive Carboxylierung von α -KG über Isocitrat, Citrat und Acetyl-CoA (Metallo et al. 2011), was bei IDH1-Mutation nicht möglich ist, wodurch es zu einer höheren Abhängigkeit vom oxidativen Citratzyklus kommt, der durch vermehrte Glutaminolyse aufrechterhalten wird (Grassian et al. 2014). Khurshed et al. (2017) verglichen die Genexpressionsprofile von Gliomen anhand einer Kohorte des TCGA sowie am Zellmodell. Dabei zeigte sich, dass Gliome mit IDH1-Wildtyp Enzyme mit einer Schlüsselrolle für die anaerobe Glykolyse stark exprimieren, während diese bei IDH1-Mutation herabreguliert sind. Hierzu zählt eine verminderte Aktivität der Laktatdehydrogenase A, die normalerweise in Tumoren überexprimiert und für die Glykolyse essentiell ist (Khurshed et al. 2017; Chesnelong et al. 2014; Izquierdo-Garcia et al. 2015a). Passend hierzu konnte eine verminderte Laktatkonzentration festgestellt werden (Izquierdo-Garcia et al. 2015a; Chesnelong et al. 2014). Dagegen ist die Laktatdehydrogenase B stärker exprimiert, was dazu führt, dass bei IDH1-Mutation Glukose zu Pyruvat als Endprodukt katabolisiert wird, um dieses

maximal für den Citratzyklus auszunutzen (Khurshed et al. 2017; Cano-Galiano 2021). Im Gegensatz dazu zeigten Cano-Galiano (2021) eine erhöhte Konzentration von zentralen Metaboliten der Glykolyse, wie z.B. Glukose, Glukose-6-Phosphat und Fruktose-1,6-Bisphosphat. Ohka et al. (2014), Jalbert et al. (2017) und Cano-Galiano (2021) konnten darüber hinaus eine Verminderung von Glutamat im Zellmodell bzw. in Gewebeproben zeigen. Dies könnte durch verminderten Fluss von Glukose zu Glutamat, erhöhtem Verbrauch zur Bereitstellung von Glutamin (Izquierdo-Garcia et al. 2015a) oder der Bereitstellung von α -KG für die 2-HG-Synthese bedingt sein (Cano-Galiano 2021). Fack et al. (2017) untersuchten ein PDX-Modell von Gliomzelllinien mit IDH1-Mutation sowie Gewebeproben und konnten im Zellmodell keinen Unterschied zwischen Glutamat und Glutamin zeigen, während in den Gewebeproben ebenfalls eine deutliche Reduktion von Glutamat bei IDH1-Mutation auffiel, was für eine erhöhte Glutamat-Abhängigkeit spricht. Zudem stellten die Autoren ein vermindertes Verhältnis von NADPH zu NADP⁺ bei IDH1-Mutation fest, während Glutathion und dessen oxidierte Form Glutathiondisulfid (GSSG) keine Veränderungen zeigten. In einer Genexpressionsanalyse konnten die Autoren zeigen, dass die Verminderung an Reduktionsäquivalenten durch verstärkte Nutzung von Cystein, einem Vorläufer von Glutathion, kompensiert werden könnte. Passend hierzu wurde eine erhöhte Konzentration von Cystathionin, einem Vorläufer von Cystein, beschrieben (Cano-Galiano et al. 2021).

Im Gegensatz zu obigen Ergebnissen fanden Wen et al. (2015) ein erhöhtes Laktat im IDH1-mutierten Zellmodell sowie erhöhte Level an Glutamat, Glutathion und weiteren Aminosäuren. Waitkus et al. (2018b) stellten verminderte Konzentrationen von Metaboliten des Citratzyklus wie Aconitat, Fumarat, Citrat und Malat fest. N-acetylierte Aminosäuren wie NAA und NAAG zeigten ebenfalls verminderte Konzentrationen (Reitman et al. 2011; Ohka et al. 2014). Zhou et al. (2019) untersuchten das Gewebe von 75 Gliom-Patienten mittels Massenspektrometrie und fanden reduzierte Level zahlreicher Zwischenprodukte der Glykolyse, u.a. ein vermindertes Pyruvat, sowie eine Verminderung von α -KG und Isocitrat bei IDH-mutierten Tumoren.

Zudem wurden Veränderungen im Phospholipid-Metabolismus wie ein vermindertes Level von Phosphocholin (PC) (Izquierdo-Garcia et al. 2015b; Esmaili et al. 2014; Viswanath et al. 2018a) und Phosphoethanolamin (PE) (Viswanath et al. 2018a) sowie

eine Erhöhung von Glycerophosphocholin (GPC) (Reitman et al. 2011; Zhou et al. 2019) und Glycerophosphoethanolamin (GPE) (Zhou et al. 2019) beschrieben. Viswanath et al. (2018a) konnten zeigen, dass die Veränderungen von PE und PC durch Stabilisierung von HIF-1- α durch 2-HG bedingt sind.

Ballester et al. 2018 untersuchten den Liquor von Gliompatienten und konnten u.a. eine Erhöhung von N-Acetylputrescin, 2-HG und Arginin bei IDH1-Mutation zeigen, während Zhao et al. (2016) im Plasma u.a. eine Verminderung von N-Acetylputrescin und Trimethylamin-N-Oxid bei Patienten mit IDH1-mutierten Tumoren feststellten, wobei über 2-HG im Plasma keine Trennung zwischen IDH-Mutation und IDH-Wildtyp gelang.

1.5 Ziel & Fragestellung

Untersuchungen des Metaboloms erlauben eine Unterscheidung zwischen histologischer Diagnose bzw. WHO-Grad über verschiedene Metabolitenprofile (Zhao et al. 2016; Elkhaled et al. 2014) und bieten zudem die Möglichkeit der genaueren Charakterisierung von IDH-mutierten Tumoren. So könnten metabolische Schwachstellen der Tumoren, Erklärungen für das Ansprechen auf bestimmte Therapien und neue Biomarker für eine nichtinvasive Diagnostik gefunden werden. Ansatzpunkte, die sich aus den oben erwähnten Studien ergeben, sind dabei zum Beispiel Inhibitoren der Glutaminolyse, wie oben bereits dargestellt, sowie Inhibitoren von Cystein, der mitochondrialen Atmungskette sowie der Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase (PDK) oder der Glutamatdehydrogenase 2, die teilweise schon im jeweiligen Zellmodell erfolgreich waren (Grassian et al. 2014; Fack et al. 2017; Izquierdo-Garcia et al. 2015a; Waitkus et al. 2018b). Nagashima et al. (2016) konnten zeigen, dass die Einbeziehung von in ihrer Konzentration veränderten Metaboliten – in diesem Fall ein vermindertes Glutamat – mit 2-HG zusammen eine bessere Sensitivität zur nichtinvasiven Erkennung von IDH-mutierten Tumoren in der MRS erbringt.

Gliomzellen mit endogener IDH-Mutation sind schwierig zu kultivieren und wachsen nur langsam, weshalb bisherige Studien verschiedene Zellmodelle mit Überexpression von IDH1 (R132H) ohne den adäquaten genetischen Hintergrund genutzt haben (Fack et al. 2017). Zudem wird so die Heterozygotie der Mutation nur unzureichend wiedergespiegelt (ebd.). Auch existieren nur wenige PDX-Modelle (ebd.). Ein spezifischer Vergleich der

metabolischen Veränderungen von IDH-mutierten Tumoren gegenüber IDH-Wildtyp-Tumoren an Gewebeproben in höherer Fallzahl wurde bislang nur selten durchgeführt.

In dieser Dissertation soll deshalb mittels *ex vivo* NMR und LC-MS ein Vergleich zwischen Gewebeproben von diffusen Gliomen mit WHO Grad 2-4 und IDH1-Mutation bzw. Wildtyp erfolgen. Das Ziel dieser Arbeit ist eine bessere Charakterisierung der metabolischen Unterschiede zwischen Gliomen mit bzw. ohne IDH1-Mutation. Dabei soll geklärt werden, welche metabolischen Unterschiede die Gewebeproben zusätzlich zu 2-HG zeigen und deren klinische Bedeutung evaluiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Darstellung des Patientenkollektivs

Zur Verarbeitung der Patientendaten und der darauffolgenden Analyse an Gewebeproben lag ein positives Ethikvotum (484/2016B01) vor. Für die Auswahl des Patientenkollektivs erfolgte eine retrospektive Recherche in der Datenbank der Klinik für Neurochirurgie, Hoppe-Seyler-Straße 3, 72076 Tübingen.

Zum Einschluss mussten dabei folgende Kriterien erfüllt werden:

- Erstdiagnose eines diffusen Glioms WHO Grad 2-4
- Vorliegen eines Resektats oder Biopsats
- Vorliegen des IDH1/2-Mutationsstatus durch Untersuchung am Institut für Pathologie und Neuropathologie, Abteilung Neuropathologie, Calwerstraße 3, 72076 Tübingen

Ausschlusskriterien stellten dar:

- Gleichzeitiges Vorliegen einer weiteren aktiven Krebserkrankung
- Bereits erfolgte Ersttherapie
- Keine sichere Zuordnung des IDH1/2-Mutationsstatus

2.2 Untersuchungsmaterial

Zur metabolischen Untersuchung wurden 60 Gewebeproben genutzt, die direkt nach Resektion im Zentrum für Neuroonkologie in flüssigem Stickstoff gefroren wurden und bei -80°C für die weitere Verarbeitung gelagert wurden.

2.3 Versuchsdurchführung

Eine tabellarische Übersicht zur Herstellerbezeichnung sowie Produktnummer der verwendeten Geräte und Protokolle findet sich im am Ende dieses Unterkapitels.

2.3.1 Vorbereitung der Proben für NMR und LC-MS

2.3.1.1 Pulverisierung

Im ersten Schritt wurden die Gewebeproben in TissueTubes (Firma Covaris®) überführt. Die Zwischenlagerung erfolgte auf Trockeneis. Im nächsten Schritt wurden die Tubes mit Hilfe des passenden Insertion Tools (Firma Covaris®) einzeln für jeweils mindestens 30 Sekunden in flüssigem Stickstoff gefroren, danach erfolgte eine Pulverisierung im CP02 cryo PREP® (Firma Covaris®) nach dem Tissue Processing Protocol von Covaris®. Jedes Sample wurde dabei 1-mal bei einem Impact-Level von 2 pulverisiert.



Abbildung 3: Covaris® CP02 cryo PREP®

Quelle: Zur Verfügung gestellt von Covaris®

2.3.1.2 Lyophilisierung (Gefriertrocknung)

Zur besseren Aliquotierung wurden die pulverisierten Gewebeproben im nächsten Schritt über Nacht mit einer Gefriertrocknungsanlage (Firma Christ®) bei -85°C Eiskondensatortemperatur getrocknet (nach Standardprotokoll des Werner Siemens Imaging Center, Dr. Christoph Trautwein, Uniklinik Tübingen).

2.3.1.3 Aliquotierung & Homogenisierung der gefriergetrockneten Proben

Von den getrockneten Pulverproben wurden Aliquote von 5mg Median (1,9-6mg) in Adaptive Focused Acoustics (AFA®) Glasröhrchen überführt (Firma Covaris®). Nach Zugabe von jeweils 400 µL Methanol (Reinheit >99,9%) und 800 µL MTBE (Reinheit >99,8%) wurde das Gewebe mittels fokussiertem Ultraschall bei max. 10°C im gasfreien Wasserbad homogenisiert (Covaris® E220evolution). Dabei wurde jedes Sample mit 2 verschiedenen Programmen, die jeweils 10x wiederholt wurden, behandelt:

- 30 Sekunden 125 Watt Peak Power, 32% Duty Cycle, 400 Cycles pro Burst, insgesamt 40 Watt Average Power
- 30 Sekunden 100 Watt Peak Power, 30% Duty Cycle, 800 Cycles pro Burst, insgesamt 30 Watt Average Power.

Die Homogenisierung erfolgte unter Bewegung des Roboterarms oben/unten mit 3mm/s während der gesamten Prozedur.



Abbildung 4: Covaris ® E220 Focused Ultrasonicator

Quelle: Zur Verfügung gestellt von Covaris®

2.3.1.4 Phasentrennung und Verarbeitung für NMR und LC-MS

Anschließend wurde durch Zugabe von 600 µL Ultra-Reinstwasser zur Metaboliten-Suspension die polare von der lipiden Phase getrennt und die Samples danach für 5 Minuten bei einer Drehzahl von 4000 pro Minute zentrifugiert (Hettich ® Zentrifuge). Von der polaren Phase wurden anschließend 800 µL für die Analyse im NMR genutzt und ein Gemisch aus 100 µL polarer und 100 µL der Lipidphase für die LC-MS. Dazu erfolgte zunächst eine Trocknung der Aliquote im Vakuumkonzentrator (Eppendorf ® Konzentrator 5310). Die anschließende Analyse wurde in einem 600 MHz NMR-Spektrometer (Avance III HD, Bruker BioSpin ®) mit einem ^1H , ^{13}C , ^{15}N Raumtemperatur-Probenkopf operierend bei 283 Kelvin bzw. für die LC-MS in einem kommerziellen Kit (Absolute IDQ p 180, Biocrates Life Sciences ®) nach Standardprotokoll des Zentrums für medizinische Bioanalytik, Janina d'Alvise, Universitätsklinik Tübingen durchgeführt.



Abbildung 5: Bruker ® AVANCE™ III HD 600 MHz

Quelle: Zur Verfügung gestellt von Bruker ®

Tabelle 3: Herstellerbezeichnung der verwendeten Geräte und Vorgehensweise nach Protokollen

Firma	Gerät / Produkt	Produktnummer	Protokoll
Covaris, Inc. 14 Gill Street, Unit H Woburn, Massachusetts 01801-1721 USA	CP02 cryoPREP ® Automated Dry Pulverizer	500001	https://covaris.com/wp-content/uploads/pn_010303.pdf
	MilliTube 2ml	520132	
	E220 Focused- Ultrasonicator	500239	siehe Beschreibung unter Punkt 2.3.1.1
Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, An der Unteren Söse 50, 37520 Osterode am Harz	Alpha 2-4 LSCplus	520132 102142	Standard des Werner Siemens Imaging Centers
Andreas Hettich GmbH & Co. KG Föhrenstraße 12 78532 Tuttlingen Germany	Zentrifuge		
Eppendorf, Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH Peter-Henlein-Straße 2 50389 Wesseling-Berzdorf GERMANY	Concentrator	5301 000.016 / 5301	Standard des Werner Siemens Imaging Centers

Firma	Gerät / Produkt	Produktnummer	Protokoll
Bruker Corporation 40 Manning Road Billerica, MA 01821	AVANCE™ III HD 600 MHz		Standard des Werner Siemens Imaging Centers
Biocrates Life Sciences AG Eduard-Bodem-Gasse 8 6020 Innsbruck Austria	AbsoluteIDQ® p180 Kit		Standard des Zentrums für medizinische Bioanalytik

2.4 Statistische Auswertung der Messungen

Für die statistische Auswertung der Metabolom-Daten wurde eine gemeinsame Kalkulation der ermittelten Metabolite aus der NMR-Untersuchung und der LC-MS erstellt und mit dem Programm MetaboAnalyst 4.0 analysiert (Chong et al. 2018). Die weitere Analyse der Rohdaten erfolgte mittels T-Test bzw. Welch-Test unter Nutzung des Programms IBM® SPSS Statistics 26.0. Das Signifikanzniveau wurde jeweils auf 0,05 festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Demographie und klinische Daten des Kollektivs

Es wurden insgesamt 60 erwachsene Patienten mit neu diagnostizierten diffusen Gliomen WHO Grad 2-4 ausgewählt, davon 30 mit IDH1-Wildtyp und 30 mit IDH1-Mutation. Diese stellten sich im Zeitraum zwischen 2014 und 2017 erstmalig am Zentrum für Neurologie des Universitätsklinikums Tübingen vor. Die letzte Auswertung der Daten erfolgte am 21.02.2019. Zur Differenzierung zwischen Wildtyp und Mutation erfolgten immunhistochemische Untersuchungen für das Vorliegen einer IDH1 (R132H) Mutation bei allen Patienten, 31 davon mit negativem Ergebnis und 29 mit positivem Ergebnis. Bei negativer Immunhistochemie erfolgten zusätzlich Sequenzierungen für IDH1 (n=13) sowie IDH2 (n=14), wobei in einem Fall ein positives Ergebnis für IDH1 vorlag. Gleichzeitige Mutationen von IDH1 und IDH2 lagen nicht vor. In der IDH1-Wildtyp-Gruppe (23 Männer, 7 Frauen) lagen folgende Diagnosen, beruhend auf der WHO-Klassifikation von 2016, vor: Glioblastom n=25 (83,3%), anaplastisches Astrozytom n=3 (10%) sowie diffuses Astrozytom n=2 (6,7%). In der Gruppe mit IDH1-Mutation (13 Männer, 17 Frauen) lagen folgende Diagnosen vor: Glioblastom n=6 (20%), anaplastisches Astrozytom n=5 (16,7%), anaplastisches Oligodendrogliom n=1 (3,3%), diffuses Astrozytom n=6 (20%) sowie Oligodendrogliom n=12 (40%).

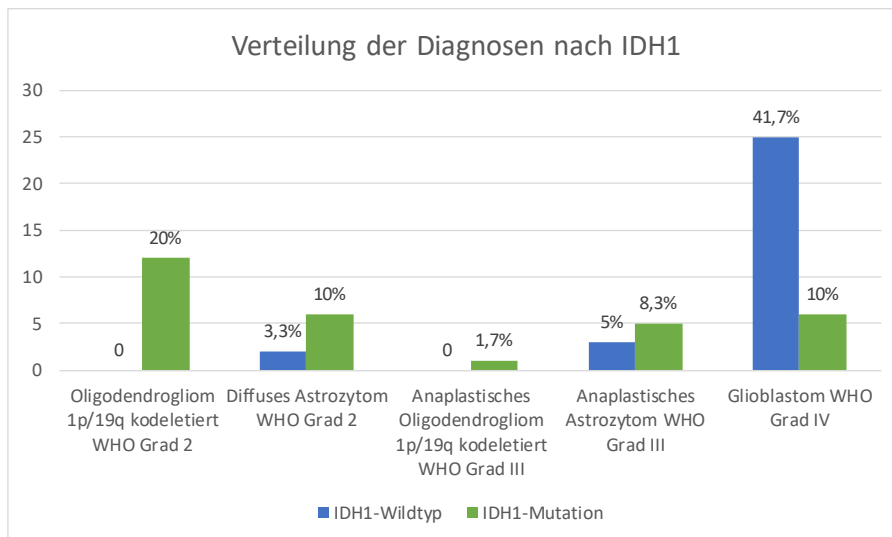


Abbildung 6: Verteilung der Diagnosen nach IDH1-Mutationsstatus

Die Wildtyp-Gruppe wies ein höheres medianes Alter bei Diagnosestellung (59 Jahre, 37-80) und einen schlechteren Karnofsky Performance Status (KPS) gegenüber der Mutationsgruppe (40 Jahre, 21-71) auf.

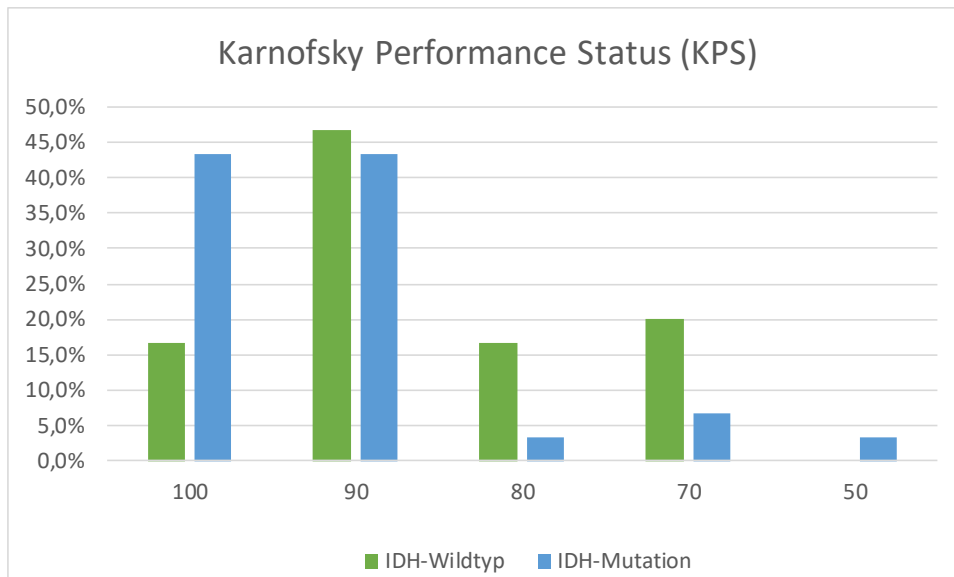


Abbildung 7: Karnofsky Performance Status der Patientenkohorte

In der Wildtyp-Gruppe waren die meisten Tumoren temporal lokalisiert (46,7%), in der Mutationsgruppe vor allem frontal (53,3%). Weitere molekulare Marker, wie MGMT, ATRX, LOH 1p/19q, H3F3, TERT und BRAFV600e wurden ebenfalls ausgewertet, wobei sich die bekannte Assoziation zwischen ATRX und astrozytären Tumoren mit IDH1-Mutation sowie zwischen einem kombinierten LOH 1p/19q und oligodendrozytären Tumoren zeigte. Patienten mit IDH-Mutation erlitten häufiger epileptische Anfälle vor der Operation (76,7% vs. 50%). Diese waren zu 56,5% generalisiert, während beim Wildtyp am meisten komplex-fokale Anfälle auftraten (40%). Oligodendrogliome und diffuse Astrozytome führten dabei häufiger zu Anfällen (83,3% bzw. 87,5%) als anaplastische Astrozytome und Glioblastome (75% bzw. 48,4%). Frontale Tumoren machten dabei mit 39,5% die meisten Anfälle, während zwischen linksseitigen bzw. rechtsseitigen Tumoren kein signifikanter Unterschied bestand. Dabei sprachen Patienten aus der Mutationsgruppe besser auf eine antikonvulsive Behandlung an (94,7% vs. 78,6%), welche insgesamt bei 33 Patienten durchgeführt wurde, wobei 96,9% mit Levetiracetam in Dosen von 500-2000 mg behandelt wurden. Zudem wurden

Daten zur Einnahme von Medikamenten vor Probenentnahme ausgewertet: Dabei nahmen 86,7% bzw. 80% (IDH-Wildtyp/IDH-Mutation) regelmäßig Medikamente ein. Innerhalb 2 Wochen vor der chirurgischen Resektion bzw. Biopsie nahmen 43,3% bzw. 53,3% (IDH-Wildtyp/IDH-Mutation) zudem Glukokortikoide ein, perioperativ erhielten 89,7% bzw. 86,7% Glukokortikoide.

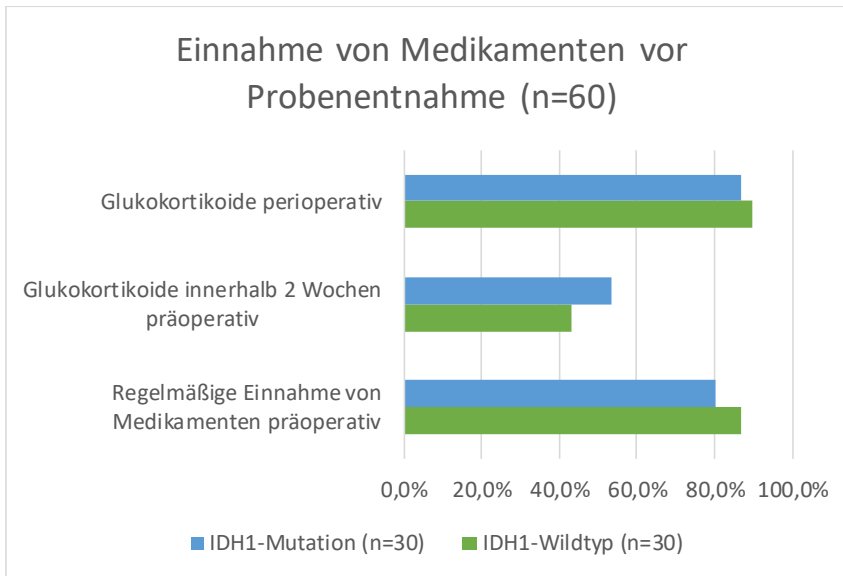


Abbildung 8: Analyse der Einnahme von Medikamenten vor Resektion oder Biopsie der Gewebeprouben

Von der ersten Diagnose im MRT dauerte es im Median 15 Tage bis zur Operation, wobei in der Wildtyp-Gruppe bei 76,7% der Patienten eine Komplettresektion erfolgen konnte und bei 23,3% eine partielle Resektion. In der Mutationsgruppe erfolgte bei 36,7% eine Komplettresektion und bei 60% eine partielle Resektion, bei einem Patienten (3,3%) wurde nur eine Biopsie durchgeführt.

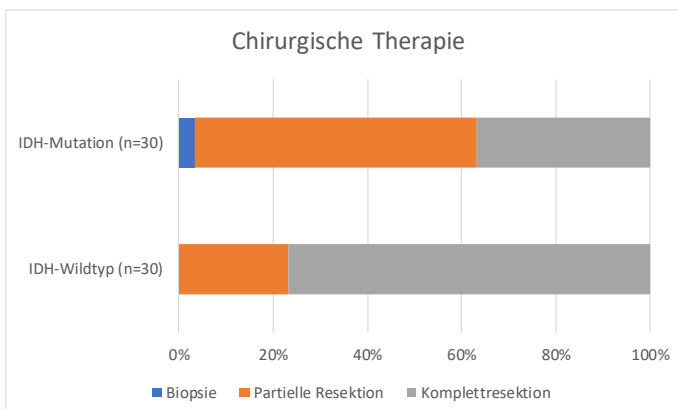


Abbildung 9: Chirurgische Therapie in der Patientenkohorte

Nach chirurgischer Resektion erfolgte bei 91,7% (n=55) der Patienten eine adjuvante Erstlinientherapie. Bei Patienten ohne adjuvante Therapie erfolgte eine „Watch-and-Wait“-Strategie (n=4) oder wurde die Therapie abgelehnt (n=1). 10% (n=6) bzw. 11,7% (n=7) der Patienten erhielten eine alleinige Chemotherapie bzw. Radiotherapie. Bei 26,6% (n=16) wurde eine Radiotherapie mit anschließender Chemotherapie durchgeführt. Bei 41,7% (n=25) der Patienten wurde eine Radiotherapie mit konkomitanter Chemotherapie durchgeführt, davon erhielten 92% eine Erhaltungstherapie, bei 4 Patienten dieser Gruppe wurde zusätzlich eine Therapie mit einer IDH1 Peptidvaccine für IDH-mutierte Tumoren durchgeführt.

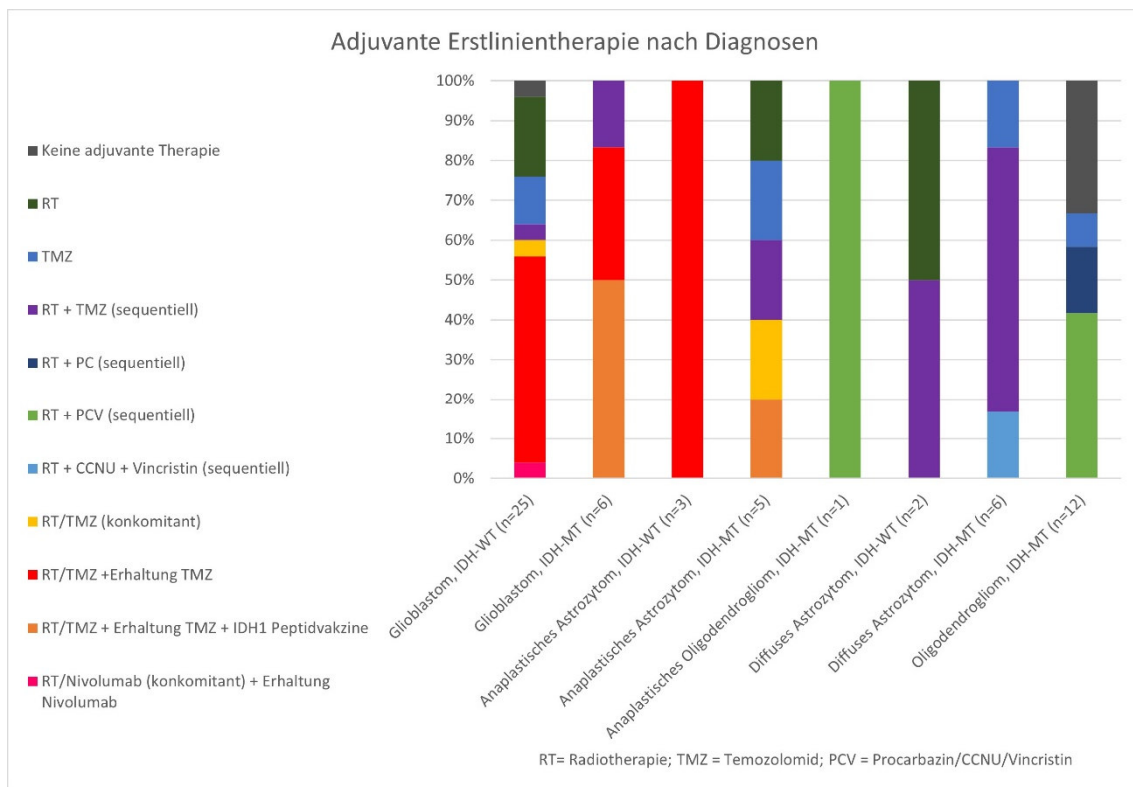


Abbildung 10: Adjuvante Erstlinien-Therapie der Patientenkohorte

Für alle Patienten lagen Folgedaten für mindestens ein Jahr bezüglich einer Progression, definiert als Rezidiv im MRT oder Tod jeglicher Ursache, vor. Hieraus ergab sich ein progressionsfreies Überleben nach 6 Monaten ab der histologischen Diagnose von 80%

(n=24) beim IDH-Wildtyp gegenüber 96,7% (n=29) bei IDH-Mutation¹, das Gesamtüberleben nach 12 Monaten lag in der Wildtyp-Gruppe bei 86,7% (n=26) gegenüber 96,7% (n=29) in der Mutationsgruppe.

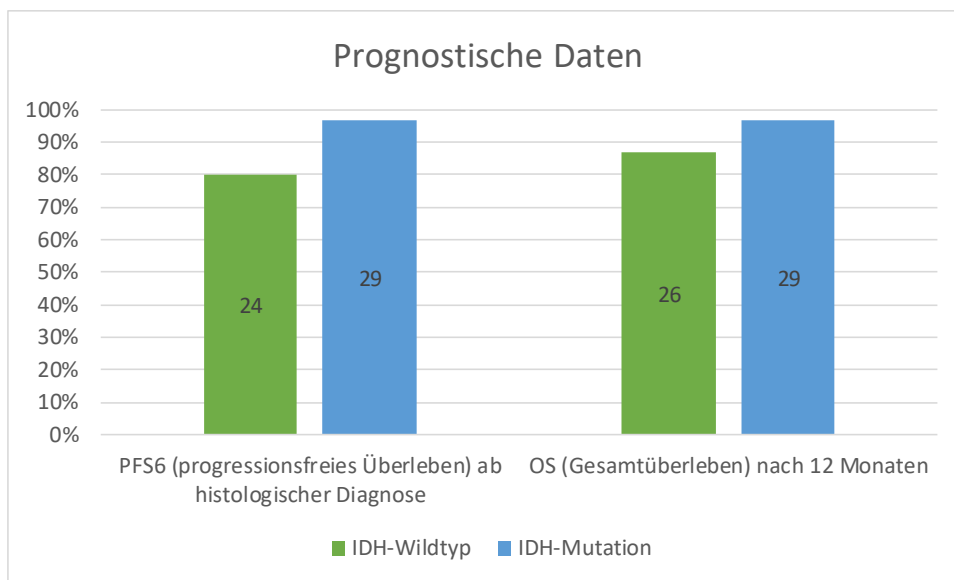


Abbildung 11: Progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben der Patientenkohorte

3.2 Ergebnisse der Messungen

Sieben Extrakte der IDH1-Wildtyp-Gruppe sowie acht Extrakte der IDH1-Mutations-Gruppe zeigten hohe Anteile von HEPES ((4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), einem typischen Puffer und konnten aufgrund nicht ausreichender spektraler Qualität nicht in die statistische Auswertung mit einbezogen werden. Somit wurden 23 Gliome mit IDH1-Wildtyp und 22 Gliome mit IDH1-Mutation für die Auswertung verwendet. Dabei wurden insgesamt mittels NMR und LC-MS 65 Metaboliten gemessen und identifiziert, darunter hauptsächlich Aminosäuren und deren Derivate, Säuren, Nukleotide, Peptide, Cyclohexanole, Lactame, biogene (Poly)amine, Lipide, Phosphocholine und Phosphoethanolamine.

¹ Bei 2 Patienten besteht eine deutliche Differenz zwischen histologischer Diagnose und erster bildgebender Diagnose, eine separate Analyse wurde nicht gemacht.

Die Patientendaten der final in die Analyse eingegangenen Patienten sowie die Zuordnung der gemessenen Metabolite nach NMR bzw. LC-MS und ihrer chemischen Stoffgruppe werden im Folgenden dargestellt.

Tabelle 4: Patientendaten der final analysierten Kohorte

	IDH1 Wildtype (n=23)	IDH1 Mutation (n=22)	Total (n=45)
Klinische Daten			
Geschlecht – Anzahl (%)			
Männlich	18 (78,3%)	11 (50%)	29 (64,4%)
Weiblich	5 (21,7%)	11 (50%)	16 (35,6%)
Medianes Alter (Spanne)	58 (37-80)	39,5 (28-71)	48 (28-80)
Karnofsky Performance Status (%)			
100	4 (17,4%)	10 (45,5%)	14 (31,1%)
90	11 (47,8%)	10 (45,5%)	21 (46,7%)
80	3 (13%)	0 (0%)	3 (6,7%)
70	5 (21,7%)	1 (4,5%)	6 (13,3%)
50	0 (0%)	1 (4,5%)	1 (2,2%)
Diagnose			
Glioblastom WHO Grad 4 – Anzahl (%)			
MGMT methyliert	11 (55%)	4 (80%)	
MGMT unmethyliert	8 (40%)	1 (20%)	
MGMT nicht bestimmt	1 (5%)	0 (0%)	
Anaplastisches Astrozytom WHO Grad 3 – Anzahl (%)	1 (4,3%)	5 (22,7%)	6 (13,3%)
Anaplastisches Oligodendrozytom 1p/19q kodeletiert WHO Grad 3 – Anzahl (%)	0 (0%)	1 (4,5%)	1 (2,2%)
Diffuses Astrozytom WHO Grad 2 – Anzahl (%)	2 (8,7%)	4 (18,2%)	6 (13,3%)
Oligodendrogliom 1p/19q kodeletiert WHO Grad 2 – Anzahl (%)	0 (0%)	7 (31,8%)	7 (15,6%)
Tumorlokalisation – Anzahl (%)			
Frontal	3 (13%)	13 (59,1%)	16 (35,6%)
Temporal	11 (47,8%)	3 (13,6%)	14 (31,1%)
Parietal	5 (21,7%)	3 (13,6%)	8 (17,8%)
Multilobulär	4 (17,4%)	3 (13,6%)	7 (15,5%)
Ausmaß der chirurgischen Resektion			
Partielle Resektion – Anzahl (%)	6 (26,1%)	13 (59,1%)	19 (42,2%)
Komplette Resektion – Anzahl (%)	17 (73,9%)	9 (40,9%)	26 (57,8%)
Adjuvante Therapie			
Keine adjuvante Therapie – Anzahl (%)	1 (4,3%)	3 (13,6%)	4 (8,9%)
Radiotherapie (RT) – Anzahl (%)	5 (21,7%)	1 (4,5%)	6 (13,3%)
Temozolomid (TMZ) – Anzahl (%)	3 (13%)	2 (9,1%)	5 (11,1%)
RT + TMZ (sequentiell) – Anzahl (%)	2 (8,7%)	4 (18,2%)	6 (13,3%)
RT + Procarbazin (sequentiell) – Anzahl (%)	0 (0%)	1 (4,5%)	1 (2,2%)
RT + Procarbazin/CCNU/Vincristin (PCV) (sequentiell) – Anzahl (%)	0 (0%)	4 (18,2%)	4 (8,9%)
RT + CCNU + Vincristin (sequentiell) – Anzahl (%)	0 (0%)	1 (4,5%)	1 (2,2%)
RT/TMZ (konkomitant) – Anzahl (%)	0 (0%)	1 (4,5%)	1 (2,2%)
RT/TMZ + Erhaltungstherapie TMZ – Anzahl (%)	11 (47,8%)	1 (4,5%)	12 (26,7%)
RT/TMZ + Erhaltungstherapie TMZ + IDH1 Peptidvaccine – Anzahl (%)	0 (0%)	4 (18,2%)	4 (8,9%)
RT/Nivolumab (konkomitant) + Erhaltungstherapie Nivolumab – Anzahl (%)	1 (4,3%)	0 (0%)	1 (2,2%)
Klinisches Outcome			
Progressionsfreies Überleben nach 6 Monaten ab histologischer Diagnose – Anzahl (%)	17 (73,9%)	21 (95,5%)	
Gesamtüberleben nach 12 Monaten – Anzahl (%)	19 (82,6%)	21 (95,5%)	

Tabelle 5: Gemessene Metabolite in NMR und LC-MS und Zuordnung zu deren chemischer Stoffgruppe

Metabolite (NMR/LC-MS)	Stoffgruppe
2-Hydroxyglutarat	Hydroxycarbonsäure
4-Aminobutyrat	Aminosäure
ADP (Adenosindiphosphat)	Nukleotid
ATP (Adenosintriphosphat)	Nukleotid
AMP (Adenosinmonophosphat)	Nukleotid
Acetat	Säure
Adenosin	Nukleosid
Alanin	Aminosäure
Cholin	Aminosäure
Citrat	Säure
Kreatin	Aminosäure
Kreatinphosphat	Aminosäurederivat
Cystathionin	Aminosäure
Format	Säure
Fumarat	Säure
GSSG	Tripeptid
Glukose	Kohlenhydrat
Glutamat	Aminosäure
Glutamin	Aminosäure
Glutathion	Tripeptid
Hypotaurin	Sulfinsäure
Inosin	Nukleosid
Isoleucin	Aminosäure
Laktat	Säure
Leucin	Aminosäure
Mannitol	Alditol
N-Acetylaspartat	Aminosäurederivat
NAD+	Nukleotid
Nicotinurat	Säure
O-Acetylcholin	Aminosäurederivat
O-Phosphocholin	Phosphocholin
O-Phosphoethanolamin	Phosphoethanolamin
Phenylalanin	Aminosäure
Succinat	Säure

Metabolite (NMR/LC-MS)	Stoffgruppe
Taurin	Aminosulfonsäure
Threonin	Aminosäure
Tyrosin	Aminosäure
Valin	Aminosäure
Myo-Inositol	Cyclohexanol
Scyllo-Inositol	Cyclohexanol
Glycerophosphocholin	Lipid
Aspartat	Aminosäure
Glycin	Aminosäure
Kreatinin	Lactam
Arginin	Aminosäure
Asparagin	Aminosäure
Citrullin	Aminosäure
Histidin	Aminosäure
Lysin	Aminosäure
Methionin	Aminosäure
Ornithin	Aminosäure
Prolin	Aminosäure
Serin	Aminosäure
Tryptophan	Aminosäure
Acetylnithin	Aminosäure
Amino adipinsäure	Säure
Carnosin	Dipeptid
Histamin	Biogenes Amin
Kynurenin	Aminosäure
Methionin-Sulfoxid	Aminosäure
Putrescin	Biogenes Amin
Sarcosin	Aminosäure
Spermidin	Biogenes Polyamin
Spermin	Polyamin
4-Hydroxyprolin	Aminosäure

3.2.1 Metabolite mit signifikant erhöhter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. verminderter Konzentration bei IDH1-Wildtyp

Neben 2-Hydroxyglutarat als bekanntem Onkometabolit zeigten Glycerophosphocholin, Myoinositol, Kreatin, Cystathionin und Nicotinurat erhöhte Konzentrationen bei Vorliegen einer IDH1-Mutation bzw. verminderte Konzentrationen bei IDH1-Wildtyp (Abbildung Nr. 12-17).

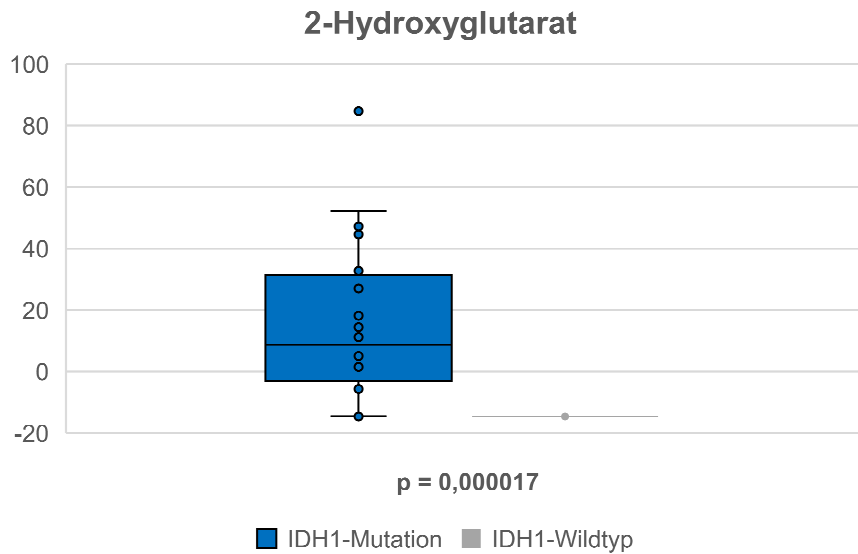


Abbildung 12: 2-Hydroxyglutarat als Onkometabolit bei IDH1-mutierten Tumoren

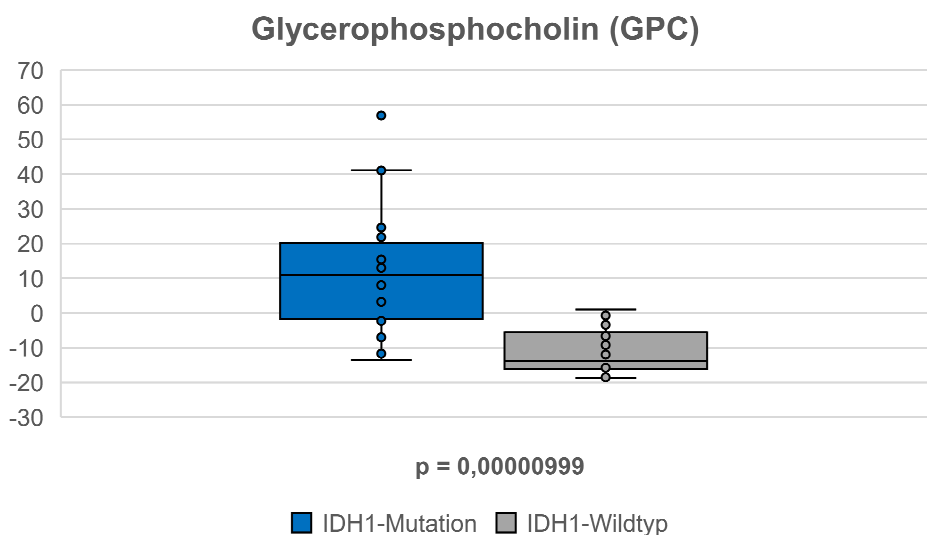


Abbildung 13: Konzentration von Glycerophosphocholin im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp

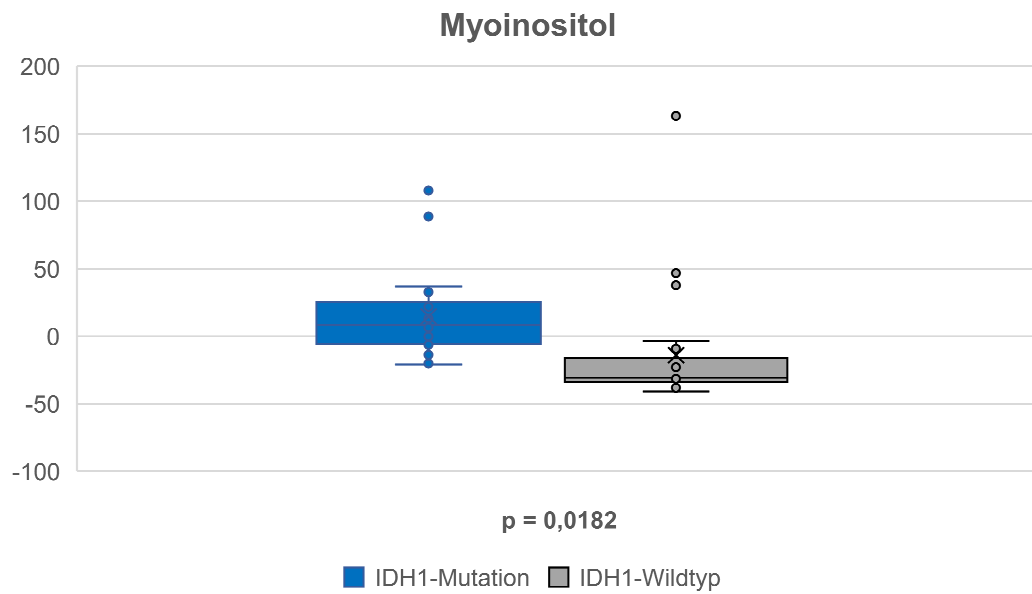


Abbildung 14: Konzentration von Myoinositol im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp

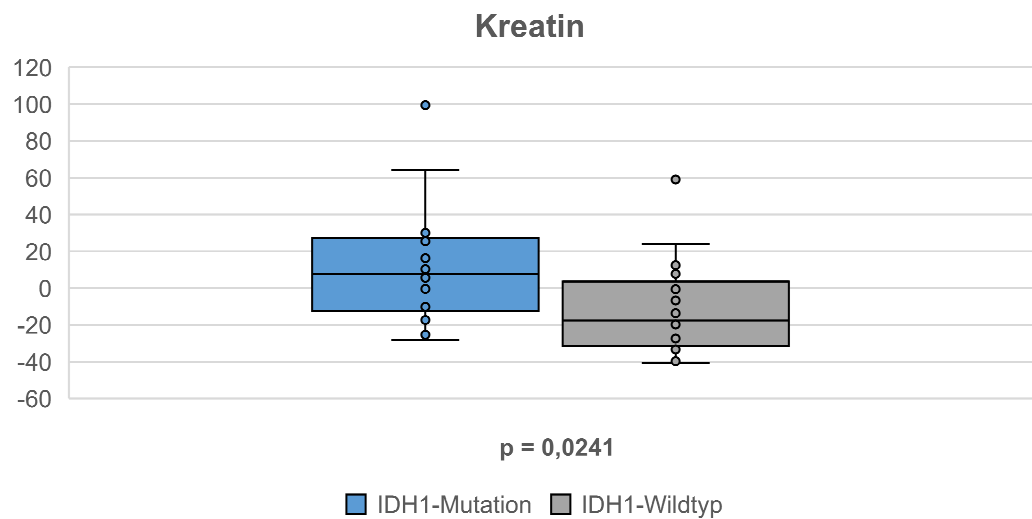


Abbildung 15: Konzentration von Kreatin im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp

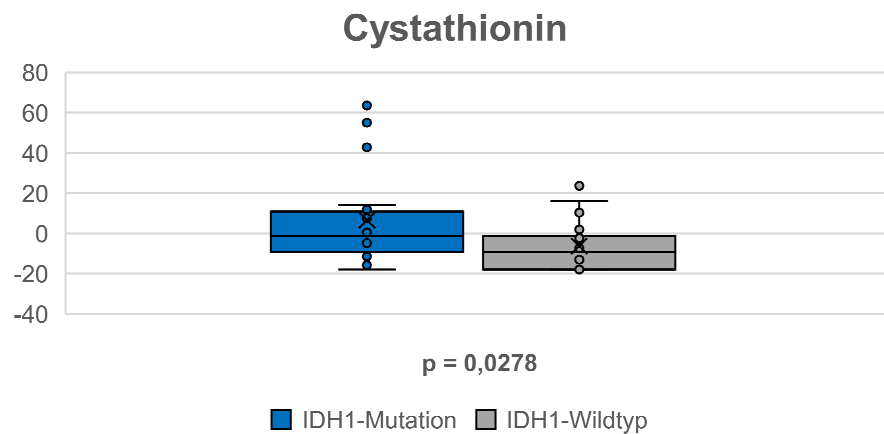


Abbildung 16: Konzentration von Cystathionin im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp

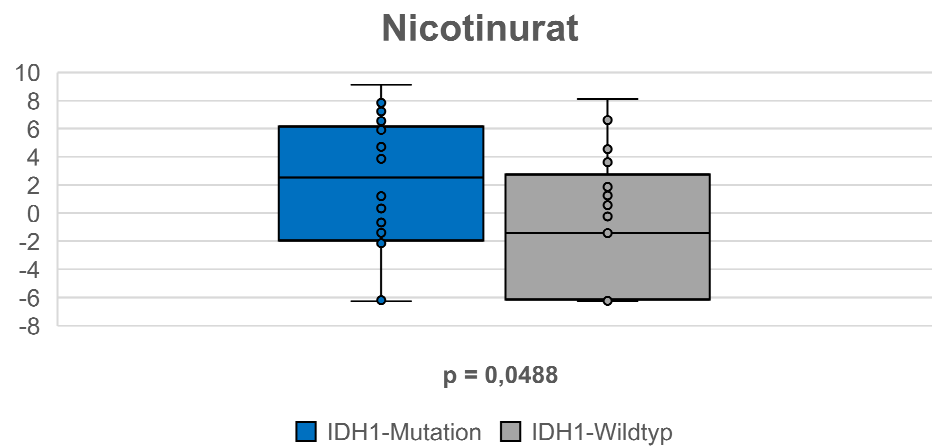


Abbildung 17: Konzentration von Phosphoethanolamin im Vergleich IDH1-Mutation vs. IDH1-Wildtyp

3.2.2 Metabolite mit signifikant verminderter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. erhöhter Konzentration bei IDH1-Wildtyp

Dagegen zeigten Alanin, Acetylcholin, Phosphocholin, Hypotaurin, Sarkosin, Asparagin, Aminoadipinsäure und Phosphoethanolamin erniedrigte Konzentrationen bei Vorliegen einer IDH1-Mutation bzw. erhöhte Konzentrationen bei IDH1-Wildtyp (Abbildung Nr.18-25).

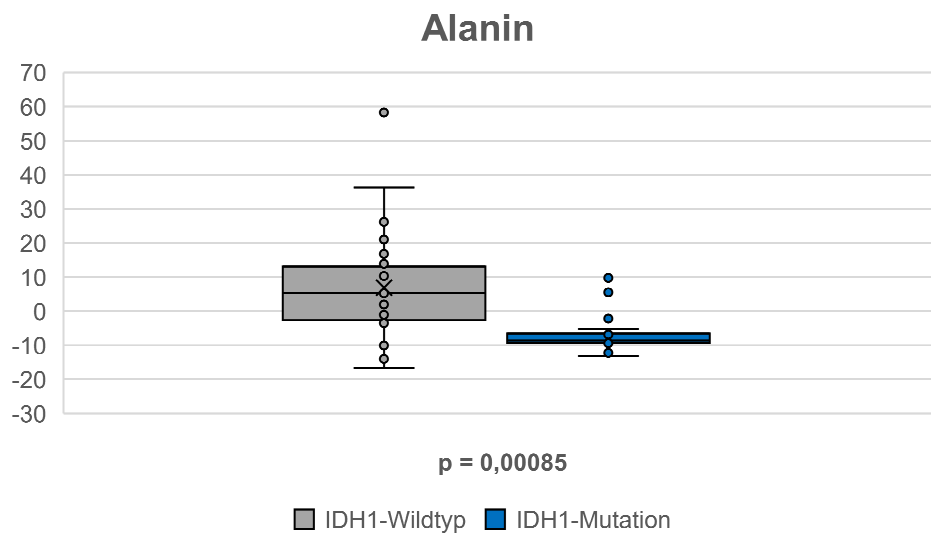


Abbildung 18: Konzentration von Alanin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

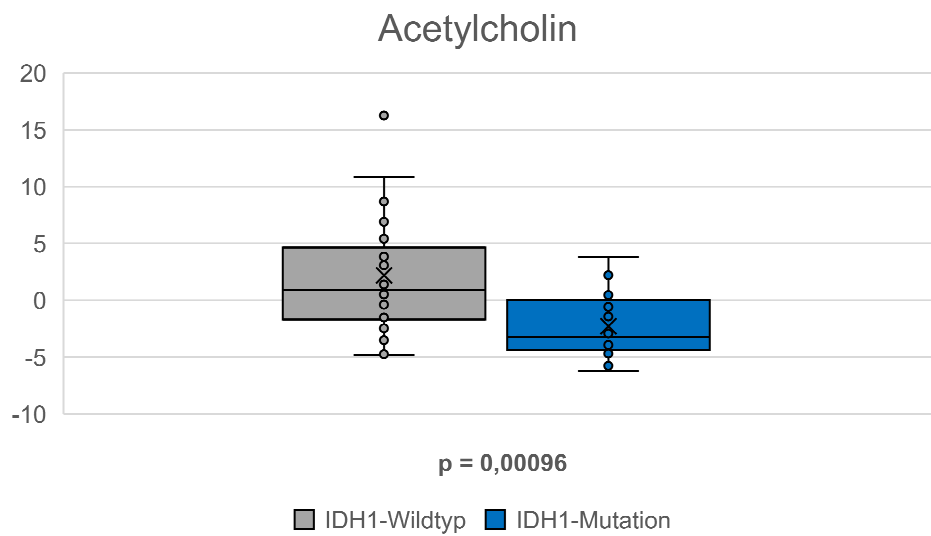


Abbildung 19: Konzentration von Acetylcholin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

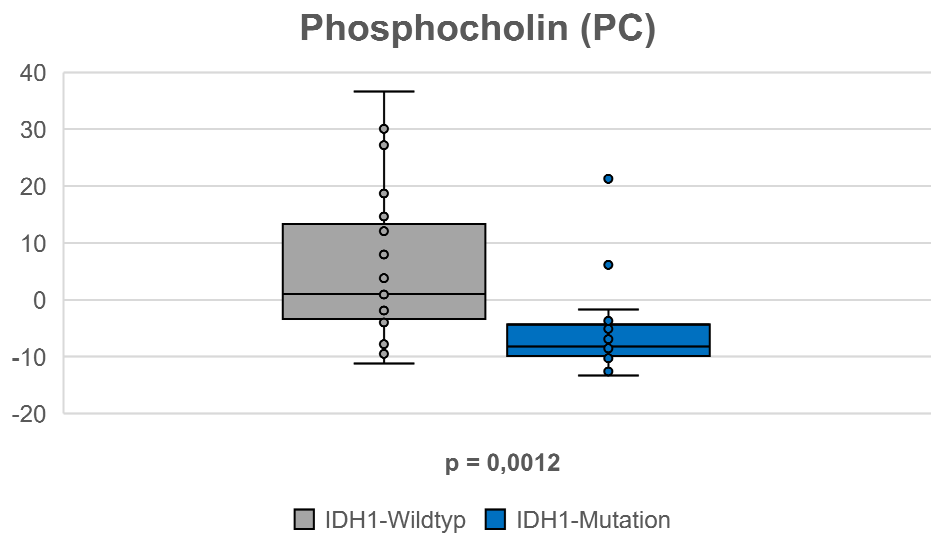


Abbildung 20: Konzentration von Phosphocholin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

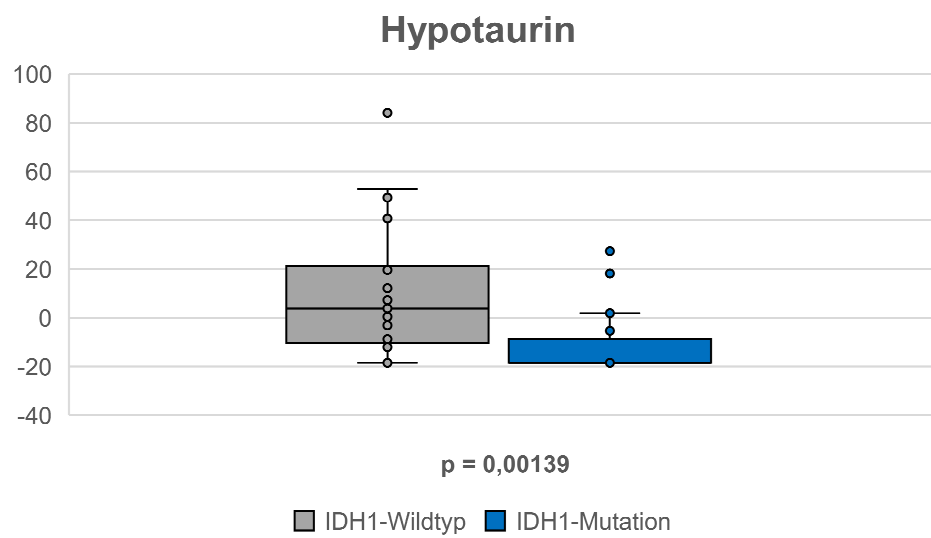


Abbildung 21: Konzentration von Hypotaurin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

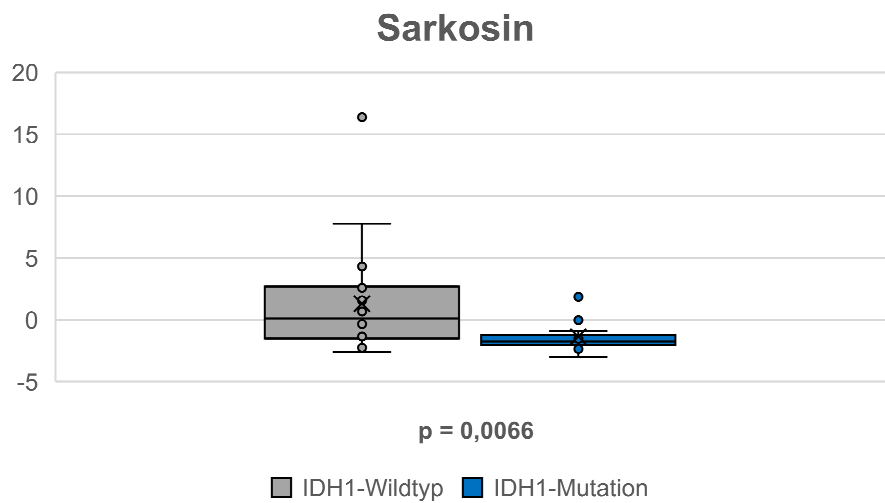


Abbildung 22: Konzentration von Sarkosin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

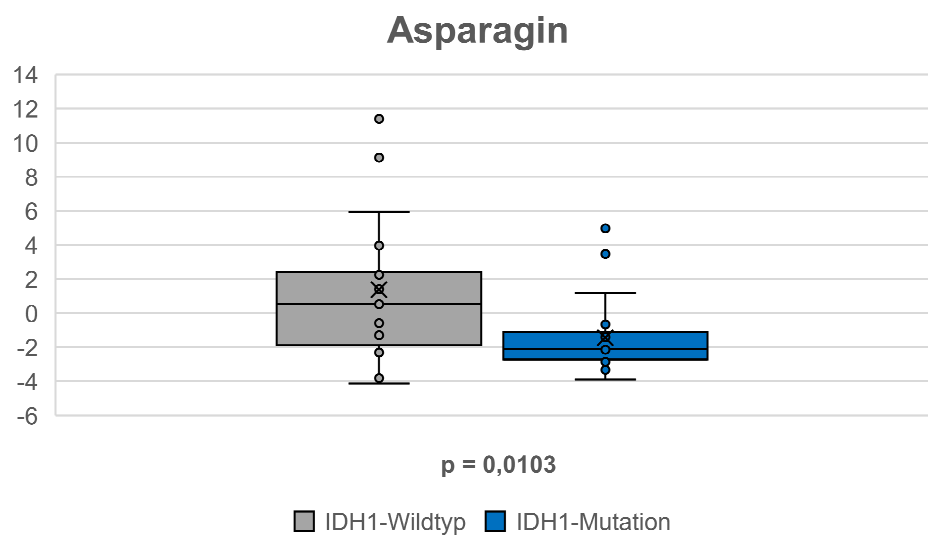


Abbildung 23: Konzentration von Asparagin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

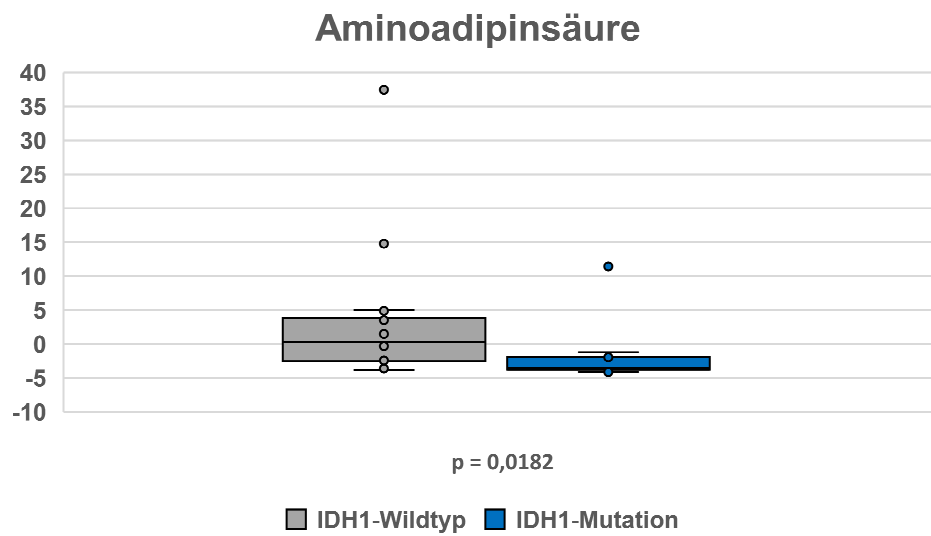


Abbildung 24: Konzentration von Aminoadipinsäure im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

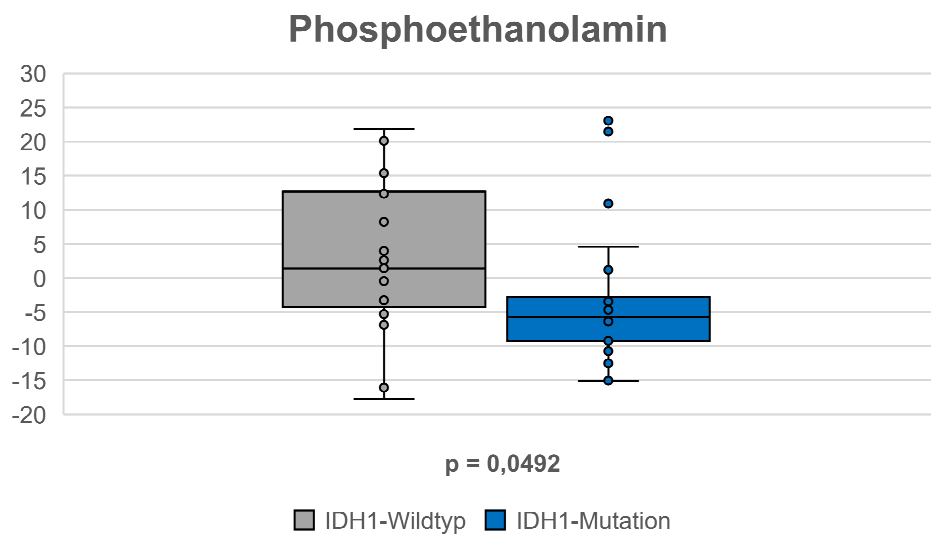


Abbildung 25: Konzentration von Phosphoethanolamin im Vergleich IDH1-Wildtyp vs. IDH1-Mutation

4 Diskussion

4.1 Patientenkollektiv und Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung des Metaboloms ist eine sorgfältige Auswahl des Probandenkollektivs wichtig. Zahlreiche äußere sowie innere Faktoren – z.B. das Bestehen weiterer (Stoffwechsel-)Erkrankungen, eine bestehende (Multi-)Medikation und Vortherapien der zu untersuchenden Erkrankung – könnten einen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Deshalb wurden bei dieser Arbeit therapienaive Patienten ohne weitere aktive Krebserkrankung ausgewählt. Eine Vormedikation ohne Pharmazeutika, die die Blut-Hirn-Schranke passieren, ist jedoch kaum realisierbar. Stoffwechselerkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus, Hypo-oder Hyperthyreose, lagen bei unter 10% der Patienten vor. Während bisherige Studien zum Thema Metabolom bei Gliomen häufig Zelllinien oder Mausmodelle ohne endogene IDH1-Mutation und damit ohne den adäquaten genetischen Hintergrund genutzt haben, wurde hier bewusst Tumorgewebe untersucht. Auch die Zahl der untersuchten Proben war häufig klein. Leider konnten final nur 45 Proben ausgewertet werden, eine erweiterte Kohorte von 62 IDH-mutierten und 39 IDH-Wildtyp Tumoren wurde in einer späteren Arbeit unserer Gruppe untersucht und die Ergebnisse mit in diese Arbeit einbezogen. Eine zentrumsübergreifende Zusammenarbeit erscheint in diesem Feld sinnvoll, um größere Kohorten zu erfassen. Zwar beruht diese Arbeit noch auf der WHO-Klassifikation von 2016, durch die übergreifende Analyse der IDH1-Mutation behalten die Ergebnisse trotz neuer Einteilungen jedoch ihre Relevanz.

4.2 Methodik

Zur Analyse der Proben erfolgte eine vorherige Extraktion der Metabolite nach der Matyash-Methode (Matyash et al. 2008). Im Gegensatz zur Methode nach Bligh und Dyer (Bligh und Dyer) wird hier MTBE anstatt Chloroform als unpolare Phase verwendet, welches eine niedrigere Dichte als die Methanol/Wasser-Phase aufweist (Sostare et al. 2018). Dies erleichtert die Entnahme der lipiden Phase, die sich nicht am Boden, sondern oben absetzt, zudem bildet sich bei der Methode nach Bligh und Dyer eine Zwischenschicht aus Proteinen und Zellschutt zwischen der polaren und der unpolaren Phase, was eine saubere Aspiration der unteren Phase verhindert (ebd.). Diese Schicht setzt sich bei der Matyash-Methode nach Zentrifugation am Boden ab (ebd.). Neben der vorherigen Extraktion der Proben, wie sie hier durchgeführt wurde, erlaubt die Verarbeitung im NMR auch die Verwendung von intaktem Gewebe ohne vorherige

Prozessierung, dies geht jedoch mit geringerer spektraler Auflösung und Veränderung der Metaboliten durch enzymatische Aktivität einher (Nagana Gowda und Raftery 2021).

Da sowohl Chloroform als auch MTBE toxische bzw. krebserregende Eigenschaften aufweisen, könnten für zukünftige Analysen umweltfreundlichere Extraktionsmethoden zur Anwendung kommen, eine mögliche Option ist in der Publikation von Tikunov et al. (2022) dargestellt.

4.3 Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung wurde die Varianzhomogenität der Gruppen berechnet und bei unzureichender Varianzhomogenität der Welch-t-Test anstelle des konventionellen t-Test verwendet, da dieser eine bessere Robustheit zeigt (Ahad und Yahaya 2014).

4.4 Einschränkungen

Ein wichtiger Aspekt ist die Tatsache, dass durch das infiltrierende Wachstum, vor allem von Glioblastomen, keine vollständige Abbildung des Metaboloms möglich erscheint.

Die Probandenzahl dieser Arbeit erlaubte zudem keine weiteren Analysen zwischen histologischen Subgruppen oder Korrelation von klinischen Daten wie PFS oder OS mit der Konzentration von Metaboliten. Des Weiteren zeigt zwar die Untersuchung des Metaboloms ein möglichst genaues Bild des Phänotyps, jedoch ist die Erweiterung um weitere Ebenen, wie z.B. die Untersuchung des Transkriptoms mittels RNA-Sequenzierung, zur genaueren Charakterisierung der Veränderungen von Vorteil, dies wurde in der späteren Analyse unserer Arbeitsgruppe mit einbezogen (Trautwein et al. 2022). Zudem ist die Interpretation der Daten schwierig: so kann die erhöhte Konzentration eines Metaboliten auf eine erhöhte Produktion oder verminderten Abbau hinweisen, eine niedrige Konzentration kann auch für einen erhöhten Umsatz des Metaboliten sprechen, was zusätzliche metabolische Flussanalysen erforderlich macht (Cano-Galiano 2021, S. 109; Fack et al. 2017). Auch Veränderungen von Enzymen, die z.B. über mRNA-Level gemessen werden, sind nicht gleichzusetzen mit Proteinleveln, die durch posttranskriptionelle Veränderungen beeinflusst werden (Ascensão und Szabo 2022). Die im Folgenden dargestellten Zusammenhänge sind somit Hypothesen-bildend und können als Ausgangspunkt weiterer spezifischer Untersuchungen dienen.

4.5 Metabolite mit erhöhter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. verminderter Konzentration bei IDH1-Wildtyp

4.5.1 Myoinositol

Die erhöhte Konzentration von Myoinositol bei IDH-Mutation konnte unsere Arbeitsgruppe auch an einer größeren Kohorte bestätigen (Trautwein et al. 2022). Ebenso zeigten dies Björkblom et al. (2022) über massenspektrometrische Untersuchungen an 224 Gliomen. Zudem kann Myoinositol in der Magnetresonanzspektroskopie dargestellt werden. Hierbei zeigten verschiedene Studien ebenfalls erhöhte Konzentrationen von Myoinositol bei IDH-Mutation (Bumes et al. 2020; Nakae et al. 2017), außerdem konnte die Verbindung aus erhöhter Myoinositol-Konzentration und niedrigerer Konzentration von Glycin mit hoher Sensitivität den IDH-Status vorhersagen (Bumes et al. 2020). Auch eine positive Korrelation zwischen 2-HG und Myoinositol konnte massenspektrometrisch bzw. mittels NMR-Untersuchung gezeigt werden, jedoch ohne den Mechanismus zu evaluieren (Bund et al. 2019; Shen et al. 2019). Zudem zeigte sich eine positive Korrelation zwischen Myoinositol und dem Gesamtüberleben bei Gliomen (Gandía-González et al. 2019). Chemisch betrachtet ist Myoinositol (MI) ein Einfachzucker, der als Marker von Astrozyten oder Gliazellen dient, da er von Astrozyten produziert wird und deren Osmoregulation unterstützt (Bulik et al. 2013, S. 150). Myoinositol spielt eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion sowie der Genexpression und ist an der Biosynthese von Inositolphosphaten und Phosphatidylinositol und damit am Aufbau von Zellmembranen beteiligt (Bizzarri et al. 2016).

Die zelluläre Versorgung mit Myoinositol verläuft über drei verschiedene Wege (Wei et al. 2022, S. 452; Nagashima et al. 2018, S. 322):

- a) De novo Biosynthese aus Glukose: Glukose-6-Phosphat => Myo-Inositol-3-Phosphat Synthase (geschwindigkeitslimitierender Schritt; kodiert durch das Gen *ISYNA1*) => Myo-Inositol-1-Phosphat => Myo-Inositol-3-Phosphat Monophosphatase => Myoinositol
- b) Aufnahme von extrazellulär durch SLC-Transporter: SLC53A am breitesten exprimiert in verschiedenen Geweben und mit höchster Affinität für Myoinositol
- c) Regeneration aus Inositolphosphaten durch Phosphatasen

Die Rolle von Myoinositol und ISYNA1 in Tumoren wird kontrovers diskutiert (Case et al. 2022). Der Tumorsuppressor p53 aktiviert die Expression von ISYNA1 und führt über erhöhte Myoinositol-Level zu vermindertem Zellwachstum (Koguchi et al. 2016). Mutationen von p53 sind dabei in verschiedenen Tumoren mit reduzierter ISYNA1-Expression verknüpft (ebd.). Zudem zeigt das Onkogen MSI2 in vitro eine inverse Korrelation mit der ISYNA1-Expression und dem Überleben bei Pankreastumoren, was ebenfalls für die Rolle von ISYNA1 bzw. Myoinositol als Tumorsuppressor spricht (Case et al. 2022, S. 250). Der genaue Mechanismus, mit dem Myoinositol das Tumorstadium hemmen könnte, ist jedoch unklar. Mögliche Wege stellen die Inhibition des PI3K/AKT und Wnt/ β -Catenin-Wegs sowie des Presenilin-1-Wegs und die Inhibition der AMPK dar (Case et al. 2022; Bizzarri et al. 2016). Verschiedene Tumoren zeigen jedoch eine erhöhte Expression der ISYNA1, die bei Blasenkarzinomen und Kolonkarzinomen zum Tumorstadium beiträgt, außerdem kann die AMPK auch proliferationsfördernd wirken (Case et al. 2022). Wichtig hierbei ist zu betrachten, dass eine erhöhte Expression von ISYNA1 nicht zwangsläufig eine erhöhte intrazelluläre Myoinositol-Konzentration bedeuten muss (ebd.). Diese könnte auch als kompensatorischer Mechanismus wirken, z.B. wenn der Import von Myoinositol über Transporter beeinträchtigt ist (ebd.).

Die erhöhte Myoinositol-Konzentration in IDH-mutierten Gliomen könnte demnach zur besseren Prognose gegenüber dem Wildtyp beitragen. Ein Vergleich der ISYNA1-Expression nach dem IDH-Status wurde bislang nicht durchgeführt. Nagashima et al. (2018) konnten jedoch eine allgemein erhöhte ISYNA1-Expression bei Gliomen zeigen, wobei dies vor allem auf astrozytäre Tumoren zutrifft. Eine Analyse des TCGA zeigte eine erhöhte Expression von ISYNA1 bei Glioblastomen (Wang et al. 2022). Interessant hierbei ist, dass die Expression von ISYNA1 durch 2-HG beeinflusst werden könnte. So zeigten AML-Zellen mit niedriger ISYNA1-Expression eine erhöhte Abhängigkeit von der Myoinositol-Aufnahme über den SLC5A3-Transporter (Wei et al. 2022). Ursache hierfür ist eine Hypermethylierung von ISYNA1, die eine verminderte Expression zur Folge hat (ebd.). AML-Zellen mit IDH1 und IDH2-Mutation zeigten dabei eine signifikant erhöhte ISYNA1-Hypermethylierung und damit eine niedrigere ISYNA1-Expression, die durch eine 2-HG vermittelte Inhibition der DNA-Demethylierung bedingt sein könnte (ebd.). Weitere Untersuchungen der ISYNA1-Expression und der biosynthetischen Wege von Myoinositol bei Gliomen sind nötig, um herauszufinden, ob

IDH-mutierte Gliome ebenfalls diesen Zusammenhang aufweisen. Inwieweit eine niedrigere ISYNA1-Expression bei IDH-Mutation jedoch zu einer erhöhten Konzentration von Myoinositol passt, bleibt unklar, dies könnte aber auf einen kompensatorisch erhöhten Transport mit erhöhter Aufnahme von Myoinositol hinweisen. Auch therapeutisch könnte dies Implikationen haben, da eine Reduktion von Myoinositol oder eine Inhibition des SCL5A3-Transporters bei den AML-Zellen sowohl in vitro als auch in vivo eine Reduktion des Tumorwachstums zeigte (Wei et al. 2022).

Daneben kann Myoinositol mit anderen Metaboliten zur nichtinvasiven, prächirurgischen Bestimmung des IDH-Mutationsstatus beitragen und stellt somit einen interessanten Parameter dar, der auch bei einem Monitoring der Inhibition von IDH1 interessant sein könnte.

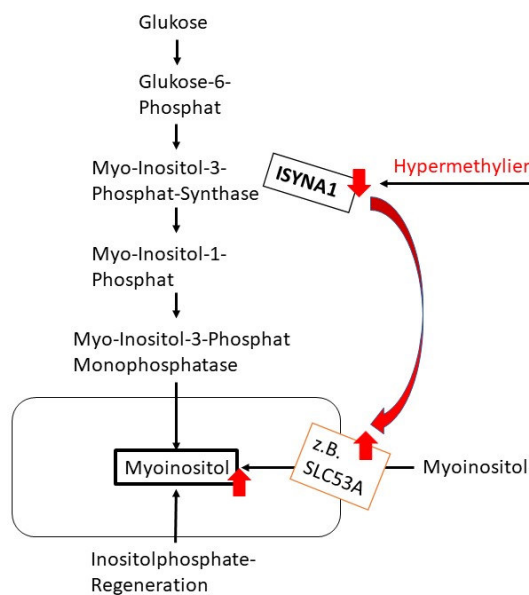


Abbildung 26: Myoinositol-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen durch IDH-Mutation

4.5.2 Cystathionin

Eine erhöhte Konzentration von Cystathionin bei IDH-Mutation konnten wir in einer größeren Kohorte bestätigen (Trautwein et al. 2022). Ebenfalls feststellen konnten dies Cano-Galiano et al. (2021) an massenspektrometrischen Untersuchungen von Zelllinien und klinischen Samples. Branzoli et al. (2019) verglichen das metabolische Profil von 47 Gliomen mittels in vivo ^1H -MRS und LC-MS und konnten ein erhöhtes Level an Cystathionin bei 1p/19q-kodeletierten Gliomen, also Oligodendrogliomen, gegenüber IDH-mutierten Gliomen ohne Kodeletion feststellen. Im Gegensatz dazu konnten wir in einer histologischen Subgruppenanalyse zeigen, dass das erhöhte Level an Cystathionin nicht nur bei Oligodendrogliomen besteht, sondern auch bei IDH-mutierten Astrozytomen gegenüber IDH-Wildtyp-Astrozytomen, was dafür spricht, dass der erhöhte Spiegel an Cystathionin auf die IDH-Mutation zurückzuführen ist und nicht auf die Histologie (Trautwein et al. 2022).

Cystathionin ist ein Dipeptid aus Serin und Homocystein und stellt ein Zwischenprodukt des *transsulfuration pathways* dar, bei dem Schwefel von Homocystein auf Cystein übertragen wird (Sbodio et al. 2019). Dabei wird mit der Nahrung aufgenommenes Methionin zu Homocystein, welches mit Serin über die Cystathionin β -Synthase (CBS) zu Cystathionin reagiert (ebd.). Im weiteren Weg der Transsulfurierung wird aus Cystathionin über die Cystathionin γ -Lyase (CSE) Cystein generiert. Cystein ist eine nicht-essentielle Aminosäure, die im Gehirn nur in niedriger Menge vorhanden ist und hauptsächlich in seiner oxidierten Form, Cystin, vorliegt (Cano-Galiano et al. 2021). Neben der Synthese im Zuge der Transsulfurierung kann Cystin über den xCT-Antiporter im Austausch gegen Glutamat intrazellulär aufgenommen werden und wird dann in einer NADPH-verbrauchenden Reaktion zu Cystein reduziert (ebd.). Cystein spielt eine zentrale Rolle für die Proteinsynthese und als Bestandteil des zentralen Antioxidans Glutathion (GSH) (ebd.). Zudem wird unter Beteiligung der CBS, der CSE und der 3-Mercaptopyruvat-Transferase (3-MST) aus Cystein Schwefelwasserstoff (H_2S) produziert, der vielfältige tumorsupportive Effekte auf Zellebene vermittelt (Ascenção und Szabo 2022).

Eine Überexpression der CBS ist bei zahlreichen Tumoren wie z.B. Kolonkarzinomen, Mammakarzinomen und Ovarialkarzinomen bekannt (Ascensão und Szabo 2022). Diese trägt über multiple transkriptionelle und posttranskriptionelle Prozesse sowie über die Generierung von H₂S zur Proliferation, Invasivität und Angiogenese bei, wirkt damit tumorsupportiv und ist mit einem kürzeren Überleben verbunden (Ascensão und Szabo 2022). Im Gegensatz dazu zeigt bei Gliomen jedoch eine verminderte Expression der CBS eine tumorsupportive Wirkung und eine erhöhte CBS-Expression war bei 1p/19q-kodeletierten Oligodendrogliomen mit besserem Überleben verknüpft (Takano et al. 2014; Ascensão und Szabo 2022; Fack et al. 2017). Die Studienlage zur Expression der CBS bei Gliomen mit IDH-Mutation oder Wildtyp ist nicht eindeutig, da sowohl eine erhöhte Expression der CBS bzw. ein erhöhtes Proteinlevel bei IDH-Mutation (Fack et al. 2017; Cano-Galiano 2021) als auch kein Unterschied zwischen den Gruppen beschrieben wurde (Cano-Galiano et al. 2021). Wichtig ist hierbei, dass Analysen am Transkriptom, die auf mRNA-Leveln beruhen, aufgrund posttranskriptioneller Regulierung die Proteinlevel an CBS nicht immer exakt abbilden können (Ascensão und Szabo 2022).

Die erhöhte Konzentration an Cystathionin bei IDH-Mutation könnte durch Veränderungen der GSH-Biosynthese und der Abwehr von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) zustande kommen. Durch die neomorphe Enzymaktivität von IDH1 kommt es zu einem Mangel an NADPH, das zur Wiederherstellung von Glutathion aus Glutathiondisulfid (GSSG) benötigt wird. Hierzu passend konnten wir eine Verminderung von GSH bei IDH-Mutation feststellen (Trautwein et al. 2022). Tang et al. (2020) konnten ebenfalls zeigen, dass IDH-mutierte Gliome ein vermindertes GSH-Level und erhöhte Level an ROS aufweisen, wobei als Reaktion darauf der Transkriptionsfaktor Nrf2 aktiviert wird, der die Expression antioxidativer Gene erhöht.

Ruiz-Rodado et al. (2021b) konnten an Zelllinien von Gliomen mit IDH-Mutation zeigen, dass diese eine kritische Abhängigkeit von exogenem Cystin/Cystein für die Produktion von GSH aufweisen. Neben dem ohnehin niedrigen physiologischen Level an Cystein kommt hinzu, dass der Import von Cystin bei IDH-Mutation beeinträchtigt sein könnte. Der Import über den xCT-Antiporter erfolgt im Austausch gegen Glutamat, welches jedoch bei IDH-Mutation im Rahmen der Produktion von 2-HG verbraucht wird (Cano-Galiano et al. 2021). Passend hierzu konnten wir und andere Autoren, wie schon

einleitend beschrieben, eine verminderte Glutamat-Konzentration bei IDH-Mutation feststellen (Trautwein et al. 2022; Cano-Galiano et al. 2021). Eine ausreichende Konzentration an Cystathionin kann dabei als Reservoir für Cystein dienen (Ruiz-Rodado et al. 2021b). Oligodendrogliome scheinen dabei eine noch höhere Konzentration aufzuweisen als Astrozytome (Cano-Galiano et al. 2021). So kann die erhöhte Konzentration an Cystathionin bei Oligodendrogliomen auf die 1p-Deletion zurückgeführt werden, da auf diesem Chromosom das Gen für die CSE lokalisiert ist – die den Abbau von Cystathionin zu Cystein katalysiert – ,welche eine niedrigere Expression bei 1p/19q-kodeletierten Gliomen zeigt (Branzoli et al. 2019). Hinzu kommt die niedrigere Expression der Phosphoglycerat-Dehydrogenase (PHGDH), die ebenfalls auf Chromosom 1p lokalisiert ist und für die Serinbiosynthese relevant ist, die sowohl zur Synthese von GSH über Glycin, als auch für die Bereitstellung von NADPH nötig ist (ebd.). Eine erhöhte CBS-Expression könnte in diesem Zusammenhang einen Kompensationsmechanismus darstellen und zur besseren Prognose bei Oligodendrogliomen beitragen (ebd.).

Im Gegensatz hierzu konnte bei IDH-mutierten Astrozytomen eine erhöhte Expression der CSE bei physiologischen Leveln an Cystin/Cystein gezeigt werden, die zur de novo-Synthese von GSH und damit dem Schutz vor oxidativem Stress durch ROS beiträgt (Cano-Galiano et al. 2021). Eine CSE-Inhibition führte sowohl in vitro als auch im PDX-Modell zur Verminderung der Zellproliferation bzw. des Tumorwachstums (ebd.). Die erhöhte Cystathionin-Konzentration bei Astrozytomen könnte demnach durch die Notwendigkeit eines Reservoirs für Cystein erklärt werden. Passend hierzu konnten wir eine Verminderung von Cystathionin-Vorläufern wie Homocystein und Serin zeigen, was für einen erhöhten Umsatz zu Cystathionin sprechen kann (Trautwein et al. 2022). Das Oligodendrogliome eine niedrige CSE-Expression zeigen, könnte somit auch einen Nachteil bei niedrigen Cystin/Cystein-Leveln darstellen und zur besseren Prognose dieser Gliome gegenüber Astrozytomen beitragen (Cano-Galiano et al. 2021).

Die Ergebnisse dieser Arbeit fügen sich somit in neue Erkenntnisse zur Veränderung der Transsulfurierung, der GSH-Synthese und damit Veränderungen im Redoxhaushalt bei IDH-mutierten Gliomen ein. Mehrere Ansätze könnten dabei therapeutisch vielversprechend sein, wie z.B. eine Cystein/Cystin-freie Diät, die in einem orthotopen Mausmodell mit Injektion der IDH-mutierten Gliom-Zelllinie NCH 1681 zu

verlängertem Überleben führte (Ruiz-Rodado et al. 2021b). Eine Kombination aus CSE-Inhibition und Cystein-freier Diät könnte bei Astrozytomen zum Einsatz kommen. Einen möglichen Angriffspunkt stellt auch die Cystathionin- β -Synthase dar, vor allem bei Oligodendrogliomen, wobei hier weitere Forschung zur Expression und den Auswirkungen der CBS nötig ist.

Bei Brustkrebszellen mit fehlender Aktivität der CSE und Überexpression der CBS – was auch für Oligodendrogliome zutreffen könnte – wurde ebenfalls ein erhöhtes Level an Cystathionin festgestellt (Sen et al. 2016). Hierbei schützte Cystathionin die Zellen vor reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Chemotherapie-induzierter Apoptose, unter anderem durch Stabilisierung der Homöostase des endoplasmatischen Retikulums (ebd.). Dies spricht hier für eine Rolle von Cystathionin als direkten Onkometabolit und könnte ebenfalls einen therapeutischen Angriffspunkt bieten.

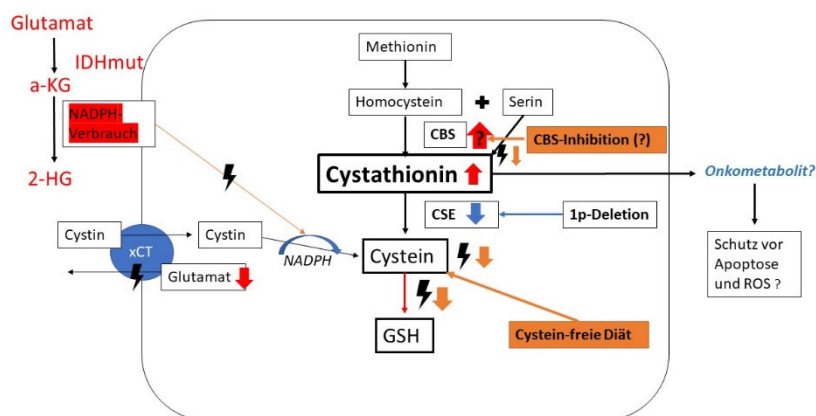


Abbildung 27: Cystathionin-Biosynthese, Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-mutierten, 1p/19q-kodeletierten Oligodendrogliomen und mögliche therapeutische Optionen

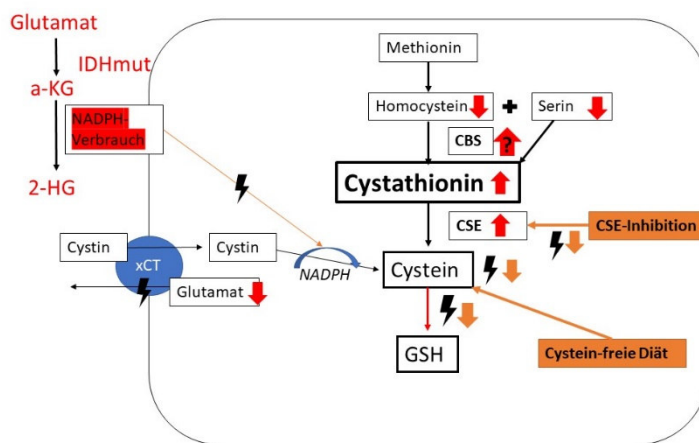


Abbildung 28: Cystathionin-Biosynthese, Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-mutierten Astrozytomen und mögliche therapeutische Optionen

4.5.3 Glycerophosphocholin (GPC)

Eine erhöhte Konzentration des totalen Cholins (tCho, bestehend aus Phosphocholin, Glycerophosphocholin und freiem Cholin) sowie eine verminderte Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (NAA) und damit ein vermindertes Verhältnis von tCho/NAA stellt einen Biomarker für Tumormass und Malignität in der *in vivo* MR-Spektroskopie von Hirntumoren dar (Ruiz-Rodado et al. 2021a). Während es bei der *in vivo* ^1H MRS Überlappungen der Signale von PC, GPC und Cholin gibt, erlaubt die Darstellung mittels ^{31}P -MRS eine bessere Darstellung der einzelnen Cholin-Komponenten (Glunde et al. 2015).

Übereinstimmend mit den Ergebnissen dieser Arbeit wurde eine erhöhte Konzentration von Glycerophosphocholin (GPC) bei IDH1-Mutation ebenfalls von Reitman et al. (2011) in Oligodendrogliom-Zelllinien sowie Vettukattil et al. (2013) beim Vergleich von Astrozytomen mit WHO-Grad II gegenüber Glioblastomen mittels MRS gefunden. Bestätigen konnten dies Esmaeili et al. (2014) sowohl in IDH1-mutierten Tumorzelllinien *in vitro*, als auch *in vivo* im PDX-Mausmodell und *ex vivo* an Biopsien von Gliompatienten mittels ^{31}P MR-Spektroskopie bzw. ^{31}P -NMR. Bund et al. (2019) fanden ebenfalls den Zusammenhang zwischen der IDH-Mutation und erhöhtem GPC bei der Untersuchung von 72 Oligodendrogliomen, wobei ein erhöhtes Verhältnis von GPC/PC mit einem besseren Gesamtüberleben in der Kohorte verbunden war. Keine solche

Veränderung in der in vivo MRS von Gliomen fanden dagegen Wenger et al. (2019), wobei hier die Kohorte nur 25% Wildtyp-Tumoren umfasste. Unsere Arbeitsgruppe konnte die Ergebnisse an einer größeren Kohorte bestätigen, wobei sich der Unterschied unabhängig von der Histologie zeigte (Trautwein et al. 2022).

Glycerophosphocholin entsteht durch den Katabolismus von Phosphatidylcholin, der über drei Enzyme, die zytosolische Phospholipase A2 (cPLA2), die Lysophospholipase A1 (LYPLA1) sowie die Glycerophosphocholin-Phosphodiesterase (GPC-PDE), erfolgt (Sonkar et al. 2019). Die Überexpression von cPLA2 spielt eine Rolle unter anderem bei Kolon- und Mammakarzinomen und stellt ein potenzielles Ziel für spezifische Tumortherapien dar (ebd.). Lysophospholipasen (LYPLAs), auch bekannt als Acyl-Protein Thioesterasen (APTs), sind Enzyme, die auf biologische Membranen über die Regulation von Lysophospholipiden wirken und zudem die Depalmitoylierung katalysieren (Mohammed et al. 2019, S. 974). Bei der Palmitoylierung erfolgt eine posttranslationale Veränderung von Proteinen durch Anhängen von Palmitat, welches von LYPLAS entfernt wird. Palmitoylierte Proteine sind unter anderem an Differenzierung, Immunantwort, Proliferation und Migration beteiligt (ebd.). Mittels RNA-Sequenzierung konnten wir eine verminderte LYPLA1-Expression bei IDH-Mutation zeigen (Trautwein et al. 2022), was zur Akkumulation von GPC beiträgt (Grinde et al. 2014). Eine Inhibition von LYPLA1 konnte bei NSCLC-Zelllinien die Zellproliferation, Migration und Invasion in vitro supprimieren (Mohammed et al. 2019). Ein selektiver Inhibitor von LYPLA1, ML-348, zeigte Wirksamkeit in lebenden Zellen und im Tiermodell (Adibekian et al. 2010). Zudem sind Palmostatine, wie der bekannte Wirkstoff Tetrahydrolipstatin (Orlistat®, Roche), ebenfalls LYPLA-Inhibitoren (ebd.). Orlistat führt bei Gliomen zu einer Inhibition der *de novo* Synthese von Fettsäuren, die über das Enzym FASN katalysiert wird, welches eine positive Korrelation mit dem WHO-Grad zeigt (Grube et al. 2014). Orlistat führt so zur Repression von Zellwachstum und Angiogenese sowie zur Zunahme von Apoptose und Nekrose (Grube et al. 2014; Zhou et al. 2016). Der genaue Zusammenhang zwischen der LYPLA-Expression, der Konzentration von GPC und der Auswirkung auf den Tumormetabolismus von IDH-mutierten gegenüber Wildtyp-Gliomen stellt ein interessantes Ziel weiterer Forschung dar. Eine Inhibition von LYPLA1 könnte einen potentiellen Therapieansatz darstellen, wobei die in vitro-Untersuchung der Wirkung von selektiven Inhibitoren als auch von

Orlistat® auf IDH-mutierte bzw. Wildtyp-Gliome als nächster Ansatz genutzt werden könnten. Veränderungen von GPC ließen sich zudem über MRS als Monitoring-Parameter nutzen.

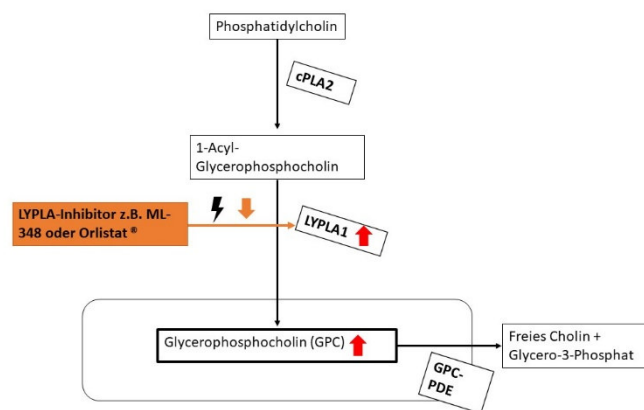


Abbildung 29: GPC-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen durch IDH-Mutation sowie mögliche therapeutische Optionen

4.5.4 Nicotinurat

Eine Veränderung von Nicotinurat zwischen IDH-mutierten und Wildtyp-Gliomen ist bislang nicht beschrieben worden. Einschränkend ist hierbei festzustellen, dass in einer späteren Analyse einer größeren Kohorte durch unsere Arbeitsgruppe ebenfalls kein signifikanter Unterschied gezeigt werden konnte (Trautwein et al. 2022), eine Subgruppenanalyse zeigte jedoch eine erhöhte Konzentration von Nicotinurat bei IDH-mutierten Astrozytomen gegenüber IDH-mutierten Oligodendrogliomen. Trotzdem ist Nicotinurat und dessen Stoffwechsel für die weitere Forschung an IDH-mutierten Gliomen ein interessanter Metabolit, da es an der Generierung von NAD beteiligt ist. NAD ist als wichtiger Elektronentransporter bei Redoxreaktionen involviert in Glykolyse und Glukoneogenese, oxidative Phosphorylierung und Citratzyklus, zudem wird es für die Biosynthese von NADP, einem wichtigen Kofaktor für anabole Reaktionen und der Aminosäure Serin benötigt und ist damit essentiell für das Wachstum von Tumorzellen (Yaku et al. 2018; Pramono et al. 2020; Wu 2022; Sharma et al. 2022). Als Substrat von PARP und Sirtuinen ist es darüber hinaus beteiligt an Zellzyklusregulation und DNA-Reparatur (Wu 2022).

NAD kann über verschiedene Stoffwechselwege generiert werden (Pramono et al. 2020; Chowdhry et al. 2019, S. 570):

- a) *Preiss-Handler-Pathway*: Nicotinurat => Nicotinat-Phosphoribosyltransferase 1 (NAPRT1) => Nicotinurat Mononukleotid (NAMN) => NAAD (Nicotinurat Adenin Dinukleotid) => NADSYN1 (NAD-Synthetase 1) => NAD
- b) *De novo*: über Tryptophan => Chinolinsäure => QPRT (Chinolinat-Phosphoribosyltransferase) => Einbau in NAMN
- c) *Salvage Pathway*: Recycling von NAD über die Generierung von Nicotinamid durch Sirtuine, PARPs und CD157 oder exogenes Nicotinamidribosid => Nicotinamid-Phosphoribosyltransferase (NAMPT) / NMRK1 (Nicotinamidribosidkinase) => Nikotinamid Mononukleotid (NMN) => NMN Adenyltransferase (Nmnat) => NAD

Die Produktion von 2-HG verbraucht NADPH, das als Schutz gegen ROS, die durch Tumorzellproliferation entstehen, gebraucht wird (Pramono et al. 2020). Tateishi et al. (2015) zeigten eine niedrigere basale intrazelluläre Konzentration von NAD in IDH-mutierten Zelllinien und konnten dies auf eine 2-HG vermittelte Hypermethylierung des NAPRT1-Promotors mit konsekutiver Verminderung der NAPRT1-Expression zurückführen, was die IDH-mutierten Zelllinien besonders anfällig gegenüber einer Inhibition des Salvage-Pathways mit NAMPT-Inhibitoren machte (ebd.). Für eine besondere Anfälligkeit gegenüber zusätzlichem oxidativem Stress spricht auch die bereits erwähnte Inhibition der BCAT-Transaminasen. Chowdhry et al. (2019) konnten jedoch zeigen, dass im Gegensatz zu normalen Zellen, die jeden NAD-Syntheseweg benutzen können, Tumorzellen abhängig entweder von NAPRT1/NADSYN1 oder NAMPT/NMRK1 sind. Tumoren, die von Zellen abstammen, die eine hohe NAPRT-Expression zeigen, haben eine hohe Frequenz von NAPRT-Genamplifikationen und zeigen eine Abhängigkeit vom Preiss-Handler-Pathway, ist dies nicht der Fall besteht stattdessen eine Abhängigkeit vom Salvage-Pathway (ebd.). Eine NAPRT-Überexpression konnte bei Ovarial-, Pankreas-, Prostata -und Mammakarzinomen, jedoch nicht Gliomen festgestellt werden (Chowdhry et al. 2019; Piacente et al. 2017). Bestätigt wird dies durch Biedermann et al. (2019), die überhaupt keine NAPRT-Expression, weder in Glioblastom-Zelllinien, noch in immortalisierten Astrozyten, unabhängig vom IDH1-Status, feststellen konnten, jedoch ebenfalls eine niedrigere

NAD⁺-Konzentration bei IDH-Mutation. Auch bei uns zeigte sich diese verminderte NAD-Konzentration, jedoch wurde das Signifikanzniveau knapp nicht erreicht (Trautwein et al. 2022). Verschiedene Autoren konnten dagegen eine NAMPT-Überexpression und ein Ansprechen auf NAMPT-Inhibition bei Gliomen, unabhängig vom IDH-Status, zeigen (Biedermann et al. 2019; Gujar et al. 2016; Lucena-Cacace et al. 2017), wobei IDH-mutierte Tumoren niedrigere NAMPT-Konzentrationen als Wildtyp-Tumoren zeigten (Biedermann et al. 2019; Lucena-Cacace et al. 2017). Eine hohe NAMPT-Expression ist verknüpft mit einer schlechteren Prognose und trägt zur Selbsterneuerung von GSCs und Resistenz gegenüber Radiotherapie bei (Lucena-Cacace et al. 2017; Gujar et al. 2016). Neben der Expression von NAMPT und NMRK1 konnten Biedermann et al. (2019) auch eine variable Expression von QPRT, welches zur NAD-Synthese aus Tryptophan beiträgt, unabhängig vom IDH-Status zeigen. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Stoffwechsel von NAD sowohl bei IDH-Mutation als auch IDH-Wildtyp ein wichtiges Forschungsfeld für die Zukunft darstellt. Insbesondere die Expression der Schlüsselenzyme der verschiedenen Synthesewege von NAD bedarf weiterer Untersuchungen. Eine Veränderung von Nicotinurat bei mutierten Astrozytomen gegenüber Oligodendrogliomen könnte hierbei auch für Unterschiede der Stoffwechselwege zwischen verschiedenen histologischen Subtypen sprechen. Zudem stellt die NAMPT-Inhibition einen interessanten Therapieansatz bei Gliomen dar. Präklinisch gibt es hierzu vielversprechende Ansätze. So konnten Tateishi et al. (2017) eine vermehrte Zytotoxizität von Temozolomid in Kombination mit einem NAMPT-Inhibitor bei verschiedenen IDH1-mutierten Zellmodellen als auch in vivo im zellbasierten Mausmodell zeigen, welche dadurch zustande kommt, dass TMZ durch Induktion von DNA-Läsionen eine Aktivierung von NAD-verbrauchenden DNA-Reparaturenzymen wie PARP2 auslöst und die Zellen somit noch anfälliger auf eine NAD-Depletion reagieren. PARP konsumiert NAD über die enzymatische Polymerisation von NAD in PAR-Ketten, die sogenannte PARylation (Nagashima et al. 2020, S. 1673). Diese wird auch über die PAR-Glycohydrolase (PARG) reguliert, die den Abbau von PAR mediiert. Eine Kombination aus TMZ und anschließender PARG-Inhibition zeigte ebenfalls eine erhöhte Zytotoxizität in vitro und in vivo bei IDH1-mutierten Tumorzelllinien, im Gegensatz zu Wildtyp-Zelllinien (ebd.). Auch Procarbazin

² Poly(ADP-ribose) polymerase

als wichtiges Chemotherapeutikum bei IDH1-mutierten Gliomen zeigte ein höheres Ansprechen in Kombination mit einem PARG-Inhibitor. Dieser Effekt war auch bei Schäden der DNA-Mismatch-Reparatur, die häufig zur Resistenz gegen alkylierende Chemotherapeutika bei Rezidiven IDH1-mutierter Gliome führen, nachweisbar (ebd.). Die Toxizität von NAMPT-Inhibitoren im Tiermodell macht deren klinische Anwendung schwierig (Miller et al. 2021). Eine mögliche Alternative hierzu bieten STACs³, die zur Aktivierung des Enzyms SIRT1 führen, welches NAD als Co-Enzym nutzt und zur Depletion von NAD in IDH1-mutierten Zelllinien führt (ebd.). Die Kombination aus STACs und NAMPT-Inhibition zeigte vielversprechende Resultate bei IDH1-mutierten Tumorzelllinien (ebd.).

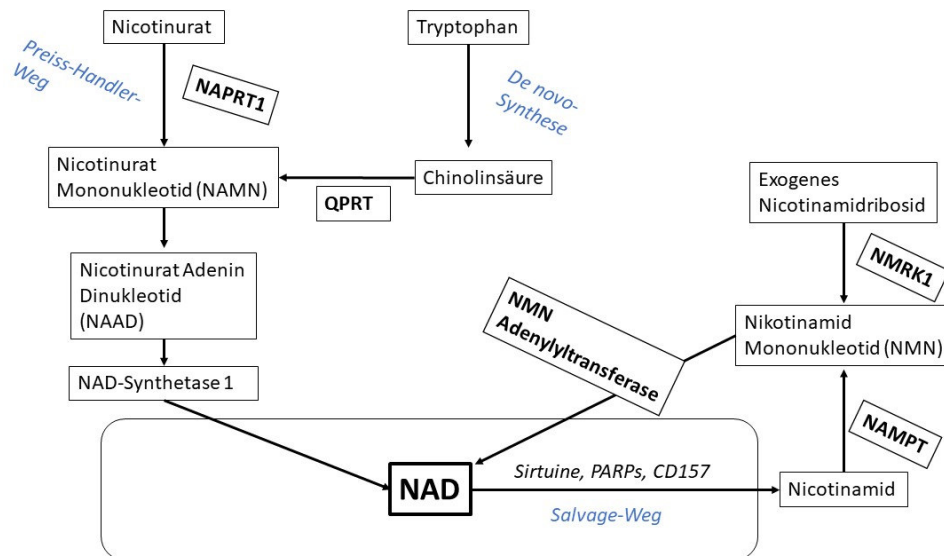


Abbildung 30: NAD-Biosynthese über Preiss-Handler-Weg, De novo-Synthese und Salvage-Weg

³ small-molecule Sirt1-activating compounds

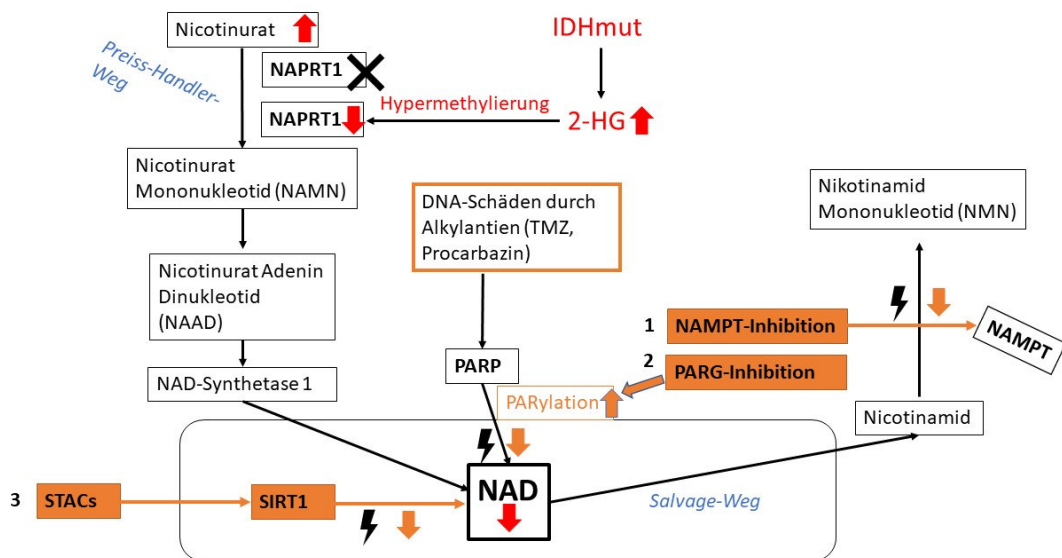


Abbildung 31: NAD-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-Mutation sowie mögliche therapeutische Optionen

4.5.5 Kreatin

Eine erhöhte Konzentration von Kreatin bei IDH-Mutation fanden ebenfalls Zhou et al. (2019) mittels Massenspektrometrie an 75 Gewebeproben von Gliompatienten. Dagegen wurde in Blutproben eine Verminderung von Kreatin und Arginin, einem Vorläufer von Kreatin, gezeigt (Zhao et al. 2016). Die endogene Kreatinsynthese verläuft hauptsächlich über Niere und Leber aus Arginin und Glycin über die zwei Enzyme GATM und GAMT, die Aufnahme von Kreatin in die Zellen erfolgt über den Kreatintransporter CRT (Kazak und Cohen 2020; Li und Yang 2021). Kreatinkinasen katalysieren den reversiblen Transfer einer Phosphorgruppe von ATP auf Kreatin, wobei Phosphokreatin entsteht, welches bei hohem ATP-Bedarf in der reversiblen Reaktion hohe ATP:ADP-Verhältnisse aufrechterhalten kann und somit als Energielieferant dient (ebd.). Insgesamt gibt es vier Isoformen der Kreatinkinasen: CKM⁴, CKB⁵, CKMT1 und CKMT2. Die Rolle von Kreatin und Phosphokreatin in Krebszellen bleibt aktuell noch unklar und könnte sowohl einen positiven Effekt auf die Proliferation als auch einen antitumoralen Effekt zeigen

⁴ Kreatinkinase vom Muskeltyp

⁵ Kreatinkinase vom Gehirn (Brain) Typ

(ebd.). Gandía-González et al. (2019) konnten an Gliomen mit WHO-Grad 2-4 eine Korrelation zwischen einer erhöhten Konzentration an Gesamtkreatin (Kreatin und Phosphokreatin) und besserem Gesamtüberleben zeigen. Eine Stratifizierung nach IDH-Status erfolgte in dieser Studie jedoch nicht, weshalb keine Aussage hierzu getroffen werden kann.

Zahlreiche Studien haben metabolische Unterschiede zwischen Gliomen mit IDH-Mutation und Wildtyp in der Magnetresonanztomographie untersucht. Hierbei wird das Gesamtkreatin (Phosphokreatin und Kreatin) jedoch als relativ konstantes Element des zellulären Energiemetabolismus des Gehirns als Referenzmetabolit genutzt, um Verhältnisse zu anderen Metaboliten zu kalkulieren (Bulik et al. 2013). Eine signifikant erhöhte Konzentration von Kreatin bei IDH-mutierten Gliomen könnte somit Implikationen für die Rolle von Gesamtkreatin als Referenzmetabolit haben, sowohl bei Studien mit Stratifizierung nach IDH-Status als auch bei der Untersuchung von Gliomen mittels MRS im Allgemeinen. Dies und die Bedeutung des Kreatinstoffwechsels bei Gliomen bedarf weiterer Forschungsaktivitäten.

4.6 Metabolite mit verminderter Konzentration bei IDH1-Mutation bzw. erhöhter Konzentration bei IDH1-Wildtyp

4.6.1 Hypotaurin

Eine verminderte Konzentration von Hypotaurin bei IDH-Mutation gegenüber Wildtyp wird bestätigt durch die Ergebnisse von Zhou et al. (2019) und Bund et al. (2019). Zudem konnte eine starke positive Korrelation zwischen der Hypotaurinkonzentration und dem WHO-Grad gezeigt werden (Gao et al. 2016).

Hypotaurin ist eine Sulfinsäure und kann als wichtiges Antioxidans zum Überleben von Tumorzellen beitragen (Sarkar et al. 2017; Shiota et al. 2018). Es entsteht als Vorläufer von Taurin, der am häufigsten vorkommenden freien Aminosäure im menschlichen Körper, über die zwei folgenden Wege (Ueki und Stipanuk 2009):

- a) Cystein => Cystein-Dioxygenase (CDO) => Cysteinsulfinat => Cysteinsulfinat-Decarboxylase (CSAD) => *Hypotaurin* => Taurin
- b) Cystein => Einbau in Coenzym A (CoA) => Cysteamin wird freigesetzt => Cysteamin (2-Aminoethanethiol)-Dioxygenase (ADO) => *Hypotaurin* => Taurin

Bei der Biosynthese von Hypotaurin wird Cystin über den Xc-Glutamat-Cystin-Antiporter nach intrazellulär gebracht, wo es dann zu Cystein reagiert (Shen et al. 2021). Cystein trägt dann mit Glycin zur Synthese von Glutathion oder Hypotaurin bei (Prabhu et al. 2014). Passend zur erhöhten Konzentration von Hypotaurin in der Wildtyp-Gruppe, die hauptsächlich aus Glioblastomen besteht, wurde in den letzten Jahren eine neue Rolle von Hypotaurin als Onkometabolit bei Glioblastomen etabliert. Durch strukturelle Ähnlichkeit von Hypotaurin mit α -KG inhibiert es die α -KG-abhängige Dioxygenase Prolylhydroxylase 2 (PHD2), stabilisiert darüber HIF1- α und führt konsekutiv zu erhöhter Zellproliferation und Invasivität (Gao et al. 2016). Die Expression des Xc-Antiporters sowie der Cysteamin-Dioxygenase (ADO) korreliert positiv mit dem WHO-Grad (Gao et al. 2016; Shen et al. 2021). Die ADO/Hypotaurin-Achse trägt über Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B und des chemotaktischen Zytokins CCL-20 zu Tumorgenese und Progression bei (Shen et al. 2021). Parallel dazu zeigen Glioblastome auch eine erhöhte Expression der Cystein-Dioxygenase (CDO) und eine höhere Konzentration des Zwischenprodukts Cysteinsulfinat (Prabhu et al. 2014). Dieser parallele Weg führt durch Inhibition der Pyruvatdehydrogenase zu verminderter oxidativer Phosphorylierung und Schutz gegenüber in diesem Zuge gebildeten freien Radikalen. ADO reguliert dabei die Expression der Cystein-Dioxygenase 1 (CDO1), wobei erhöhte ADO-Expression auch zu erhöhter CDO1-Expression führt (Shen et al. 2021). Ein Vergleich der Expression des Xc-Transporters sowie der CDO fand bislang nur zwischen verschiedenen WHO-Graden, nicht jedoch mit einer Stratifizierung nach IDH-Status statt, während unsere Arbeitsgruppe keine signifikante Veränderung der ADO-Expression zwischen den Gruppen zeigen konnte (Trautwein et al. 2022). Hier sind weiterführende Untersuchungen erforderlich. Hypotaurin kann neben den Prolylhydroxylasen weitere α -KG-abhängige Dioxygenasen wie z.B. die 5mC-Hydroxylase und Enzyme der TET-Familie inhibieren (Gao et al. 2017). Diese Fähigkeit besitzt auch 2-Hydroxyglutarat, da es ebenso eine strukturelle Ähnlichkeit zu α -KG aufweist, wobei, wie bereits einleitend ausgeführt, die Wirkung von 2-HG auf die Regulation von HIF1- α weiterhin unklar bleibt, da sowohl ein vermehrter Abbau von HIF1- α als auch dessen Stabilisierung diskutiert werden (Hayashi et al. 2019).

Eine Erklärung für die niedrigere Konzentration von Hypotaurin bei IDH-Mutation könnte, wie bereits im Kapitel zu Cystathionin beschrieben, eine verminderte

Verfügbarkeit von Cystein – unter anderem wegen niedrigerem Import über den Xc-Transporter – und dessen Nutzung zur Produktion von Glutathion sein. Hierbei ist interessant, dass die Suppression von CD44, einem Molekül, welches den Xc-Transporter stabilisiert, bei verschiedenen Tumorzelllinien zur Reduktion von Glutathion und der ADO-Expression, aber nicht zur Reduktion von Hypotaurin führt (Shiota et al. 2018). Stattdessen nutzen die Zellen die Induktion der Phosphoglyceratdehydrogenase (PHGDH) und der Phosphoserintransferase 1 (PSAT1) sowie der Phosphoserinphosphatase (PSPH), um Kohlenstoffgruppen für Hypotaurin über die Glykolyse und die Produktion von Serin und Glycin zur Verfügung zu stellen und dieses als Antioxidans zu nutzen (ebd.). Dabei wird Hypotaurin jedoch rasch zu Taurin verstoffwechselt und zeigt niedrige Konzentrationen im Tumor (ebd.). Diesen Mechanismus könnten auch IDH-mutierte Gliome nutzen, da die PSAT1-Expression eine positive Korrelation mit der IDH-Mutation zeigt und niedriggradige Gliome eine höhere PHGDH-Expression aufweisen (Huang et al. 2019).

4.6.2 Sarkosin

Sarkosin ist eine nicht-proteinogene Aminosäure, die über das Hinzufügen einer Methylgruppe von S-Adenosylmethionin (SAM) an Glycin, katalysiert durch die Glycin-N-Methyltransferase (GNMT), entsteht und über die Enzyme Sarkosin-Dehydrogenase (SARDH) und L-Pipecolinsäure-Oxidase (PIPOX) wieder zu Glycin abgebaut wird (Cernei et al. 2013, S. 13894; Strmiska et al. 2019). Sarkosin spielt eine Rolle als Biomarker und Onkometabolit bei Prostatakarzinomen (Sreekumar et al. 2009; Cernei et al. 2013). Veränderungen bei Gliomen konnten bislang lediglich im Plasma nachgewiesen werden, wobei Zhao et al. (2016) eine erhöhte Konzentration von Sarkosin bei IDH1-mutierten Tumoren zeigen konnten. Interessanterweise konnte unsere Arbeitsgruppe auch ein vermindertes Level von Glycin und Serin – deren Metabolismus eng mit Sarkosin verknüpft ist – bei IDH-Mutation gegenüber IDH-Wildtyp zeigen (Trautwein et al. 2022). Diese Veränderungen konnten in zahlreichen Studien belegt werden (Tiwari et al. 2020; Bund et al. 2019; Bumes et al. 2020; Miyata et al. 2019; Tanaka et al. 2021), zudem zeigten erhöhte Konzentrationen von Serin und Glycin eine Korrelation mit kürzerem Überleben bei Gliomen (Bund et al. 2019; Tiwari et al. 2020). Die Veränderung von Sarkosin muss deshalb im Zusammenhang mit dem Metabolismus von Glycin und Serin betrachtet werden, die eine wichtige Rolle im sogenannten „one-

carbon metabolism“ (Meiser und Vazquez 2016, S. 3695) einnehmen. Hierunter werden biochemische Reaktionen mit dem Transfer einer Kohlenstoffgruppe mit Folat als Kofaktor verstanden, die zur Biosynthese von Nukleotiden, der NADPH-Regeneration und der Redox-Homöostase von Krebszellen beitragen (Choi und Coloff 2019; Meiser und Vazquez 2016). Tiwari et al. (2020) konnten *in vitro* eine positive Korrelation der Glycinkonzentration mit der Zellproliferationsrate von Gliomen zeigen. Glioblastome zeigen Veränderungen der Serin-Glycin-Achse mit erhöhter Expression der Phosphoaminotransferase 1 (PSAT1), der Serinhydroxymethyltransferase 2 (SHMT2) sowie der Methylentetrahydrofolat-Dehydrogenase 2 (MTHFD2) (Tanaka et al. 2021; Kim et al. 2015). Diese Enzyme tragen zur Synthese von Serin und Glycin und deren Nutzung im *one carbon metabolism* bei, auf den Glioblastome bei Glutaminmangel besonders angewiesen sind, um ihre Redoxbalance zu erhalten (Tanaka et al. 2021). Glioblastome zeigen zudem eine hohe Expression der Glycin-Decarboxylase (GLDC), die zum Abbau von Glycin beiträgt (Kim et al. 2015). Eine Inhibition der Glycin-Decarboxylase könnte ein therapeutisches Ziel darstellen, da der Abbau von Glycin über andere Enzyme zum Anfallen toxischer Nebenprodukte führt (ebd.).

Die erhöhte Konzentration von Sarkosin, Glycin und Serin bei Wildtyp-Tumoren könnte sich deshalb aus der Tatsache ergeben, dass diese Gruppe hauptsächlich aus Glioblastomen besteht. Die IDH-Mutation könnte jedoch ebenfalls eine Rolle bei der Veränderung dieser Metaboliten spielen. So wird bei der Synthese von Serin aus Glukose in einem ersten Schritt aus 3-Phosphoglycerat mittels der Phosphoglycerat-Dehydrogenase (PHGDH) 3-Phosphohydroxypyruvat erzeugt (Branzoli und Marjańska 2020). PHGDH kann zur Produktion von 2-HG beitragen (Fan et al. 2015) und ist in niedriggradigen Gliomen stärker exprimiert als in höhergradigen Gliomen (Huang et al. 2019). Hierbei ist jedoch zu beachten, dass PHGDH auf dem Chromosom 1p lokalisiert ist und bei 1p/19q-kodeletierten Oligodendrogliomen eine verminderte Expression aufweist (Branzoli et al. 2019). In einem weiteren Schritt wird 3-Phosphohydroxypyruvat unter anderem über das Enzym PSAT1 zu Serin (Branzoli und Marjańska 2020). Sowohl niedriggradige als auch höhergradige Gliome zeigen eine erhöhte Expression der PSAT1 gegenüber normalem Hirngewebe, wobei wie bereits oben dargestellt eine positive Korrelation der PSAT1-Expression mit der IDH-Mutation besteht und dies auch mit einem besseren Überleben in dieser Gruppe korreliert (Huang et al. 2019). Da in dieser

Reaktion α -KG entsteht, welches zur Synthese von 2-HG benötigt wird, könnte dies zum Phänotyp IDH-mutierter Gliome beitragen (ebd.). Diese Veränderungen erklären jedoch nicht eine niedrigere Konzentration von Sarkosin, Glycin oder Serin bei IDH-Mutation.

4.6.3 Asparagin

Eine verminderte Konzentration von Asparagin bei IDH-mutierten Gliomen wird bestätigt von Björkblom et al. (2022) an einer deutlich größeren Kohorte von 224 Gliomen. Auch ein umgekehrtes Verhältnis wurde bereits beschrieben, jedoch an einer kleineren Kohorte (n=75), zudem fehlen hier wichtige Informationen zur Histopathologie (Zhou et al. 2019).

Asparagin ist eine nicht-essentielle Aminosäure und spielt eine wichtige Rolle für die Protein- und Nukleotidsynthese und damit für Überleben, Wachstum und Metastasierung von Tumorzellen (Ohba und Hirose 2020; Pavlova et al. 2018). Asparagin wird von Krebszellen entweder über die Asparagin-Synthetase (ASNS) aus Aspartat und Glutamin de novo produziert oder über die Blutbahn zugeführt (Bertuccio et al. 2017). Die Expression der ASNS ist in den meisten Tumoren niedrig oder nicht vorhanden, weshalb diese auf extrazelluläres Asparagin angewiesen sind (Chen et al. 2017b, S. 91053; Bertuccio et al. 2017). Dies ist der Fall bei der akuten lymphatischen Leukämie, deren neoplastische Zellen geringe ASNS-Level aufweisen (Nakamura et al. 2018). Hier ist eine Therapie mit der aus Bakterien gewonnenen L-Asparaginase, die zur Hydrolyse von L-Asparagin und damit zu dessen intraplasmatischer und intrazellulärer Reduktion führt, etabliert (ebd.). IDH1-mutierte Gliome zeigen eine niedrigere Expression der Asparagin-Synthetase (ASNS) im Gegensatz zu Wildtyp-Tumoren (Panosyan et al. 2016; Thomas et al. 2021). Zudem zeigt die Mehrheit der Glioblastome eine Zunahme der Kopienzahl im entsprechenden Gen, während IDH1-mutierte Gliome dies nur sehr selten aufweisen (Thomas et al. 2021). Erhöhte Expression und Zunahme der Kopienzahl korrelierte mit einem schlechteren Gesamtüberleben bei Gliomen (ebd.).

Dies spricht für eine höhere Anfälligkeit IDH1-mutierter Gliome gegenüber Asparaginase, da Zellen mit niedrigerer ASNS-Expression sensitiver auf eine Asparagin-Verminderung reagieren (ebd.). Neben Asparagin hat Glutamin eine essentielle Rolle für die Energieversorgung von Krebszellen (Ruiz-Rodado et al. 2020a). Der Katabolismus von Glutamin erfolgt über das Enzym Glutaminase (GLS), das zur Bildung von Glutamat

führt, welches über die Glutamatdehydrogenase (GDH) zu α -KG wird (Tanaka et al. 2015). Glutamin dient damit zur Anaplerose des Citratzyklus, zur Fettsäuresynthese, Glutathionsynthese und als Stickstofflieferant für Nukleotidbiosynthese und Aminosäuren (Ruiz-Rodado et al. 2020a). Pavlova et al. (2018) konnten zeigen, dass Krebszellen bei Glutaminmangel auf Asparagin angewiesen sind, das über Aktivierung der Translation der Glutaminsynthetase (GLUL) sowie von HIF1- α und dem Transkriptionsfaktor c-myc zur Proliferation und Proteinsynthese beiträgt. Des Weiteren könnte ein erhöhter Fluss von Asparagin nach extrazellulär im Gegenzug zur Aufnahme von essentiellen Aminosäuren wie Serin und Glycin beitragen (Pavlova et al. 2018; Thomas et al. 2021). Als direkte Ersatzquelle für Glutamin kann Asparagin aufgrund einer fehlenden Asparaginase-Aktivität in menschlichen Zellen nicht dienen (ebd.). Gliome mit IDH-Mutation zeigen, wie schon in der Einleitung dargestellt, eine erhöhte Abhängigkeit von Glutamin. Zudem weisen verschiedene Studien darauf hin, dass die Kohlenstoffquelle von 2-HG zu einem großen Teil aus Glutamin stammen könnte (Ruiz-Rodado et al. 2020b; Garrett et al. 2018). Zelllinien mit IDH-Mutation reagieren auf eine Behandlung mit dem Glutaminase-Inhibitor CB839 durch vermehrte ASNS-Expression, die neben der Produktion von Asparagin auch Glutamat bereitstellt (Ruiz-Rodado et al. 2020a). Passend zur Verminderung von Asparagin konnte unsere Arbeitsgruppe zudem eine Verminderung von Aspartat bei IDH-Mutation feststellen (Trautwein et al. 2022). Zudem zeigte sich wie schon beschrieben eine höhere Konzentration von Serin und Glycin bei IDH-Wildtyp, was zur erhöhten Konzentration von Serin und Glycin in GSCs von Glioblastom-Patienten mit hoher ASNS-Expression passt (Thomas et al. 2021). Dies unterstützt die Annahme, dass ein erhöhter Fluss von Asparagin nach extrazellulär bei Mangel an Glucose und Glutamin zur Aufnahme von essentiellen Aminosäuren wie Serin und Glycin führt (ebd.). Die GSCs mit hoher ASNS-Expression zeigten eine erhöhte metabolische Plastizität und können schnell zwischen Glykolyse und oxidativer Phosphorylierung wechseln, zudem sind sie resistenter gegenüber oxidativem Stress und zeigen eine verminderte Radiosensitivität (ebd.).

Zusammenfassend könnten die erhöhte Abhängigkeit von Glutamin, eine niedrigere ASNS-Expression und eine verminderte Verfügbarkeit von Asparagin eine metabolische Schwachstelle IDH-mutierter Gliome darstellen und als therapeutischer Ansatzpunkt dienen. Da Asparaginasen, insbesondere die Erwinia Asparaginase (ER-ASP), auch

Glutaminase-Aktivität zeigen (Fathi et al. 2015; Douer et al. 2022), könnte die Kombination aus Glutaminase-Inhibition durch verminderten Katabolismus von Glutamin sowie Asparagin-Depletion durch Asparaginase und ASNS-Inhibition erfolgversprechend sein. Zur Inhibition der ASNS steht z.B. das Glutaminanalogon 6-Diazo-5-oxo-L-Norleucin (DON) zur Verfügung, welches in vitro in Kombination mit Asparaginase das Wachstum von Glioblastomzellen inhibieren konnte (Ohba und Hirose 2020). Chemotherapeutika, die zu DNA-Schäden führen, wie z.B. Temozolomid, können zudem die Sensitivität gegenüber einer Asparagin-Depletion erhöhen (Panosyan et al. 2014). Zwar können Asparaginase die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden, die Wirkung erfolgt jedoch hauptsächlich durch extrazelluläre Depletion von Asparagin (Karpel-Massler et al. 2016) und führt zur Reduktion der Aminosäure im Serum und im Liquor (Panosyan et al. 2014). Auch eine intrathekale Anwendung könnte ein probates Mittel darstellen (ebd.). Da die Anwendung von Asparaginase zu einer zytoprotektiven Autophagie führen kann, zeigte eine zusätzliche Autophagie-Inhibition mit Chloroquin bei Glioblastom-Zelllinien eine deutlich erhöhte Zytotoxizität und Apoptose gegenüber der alleinigen Behandlung mit Asparaginase (Chen et al. 2017b).

Ein präklinischer Vergleich des Ansprechens von Gliomen mit IDH-Mutation gegenüber IDH-Wildtyp auf diese verschiedenen Therapieoptionen wurde bislang noch nicht durchgeführt und wäre somit ein interessanter Ansatz für weitere Forschung.

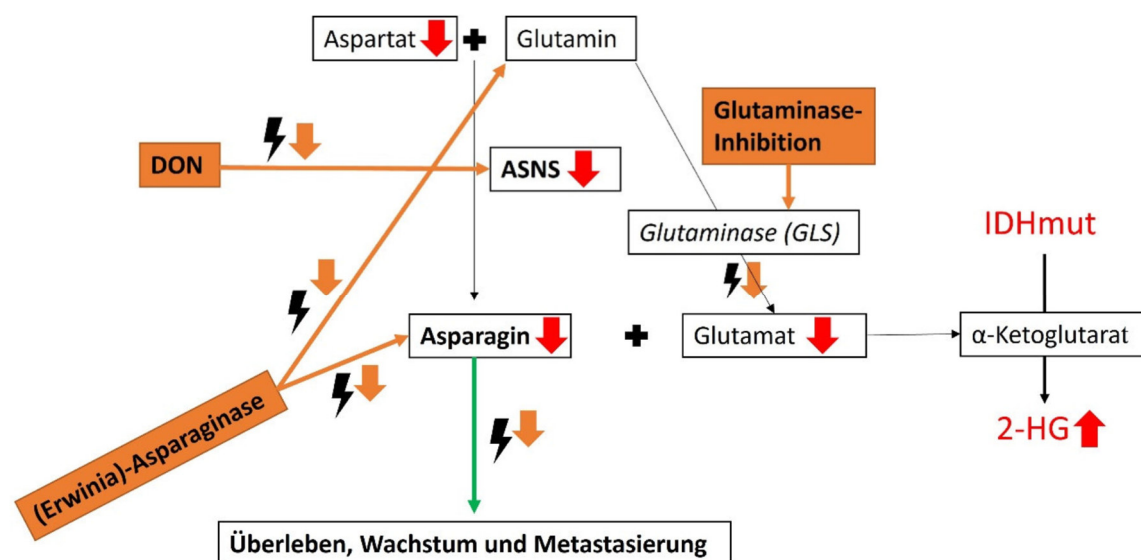


Abbildung 32: Asparagin-Biosynthese und Modell metabolischer Veränderungen bei IDH-Mutation sowie mögliche therapeutische Optionen

4.6.4 Phosphoethanolamin & Phosphocholin

Die verminderte Konzentration von Phosphocholin (PC) und Phosphoethanolamin (PE) bei IDH-Mutation deckt sich mit den Ergebnissen verschiedener Studien (Izquierdo-Garcia et al. 2015b; Reitman et al. 2011; Viswanath et al. 2018a). Einschränkend muss gesagt werden, dass unsere Arbeitsgruppe an einer größeren Kohorte zwar eine verminderte PC-Konzentration, jedoch keinen Unterschied bei Phosphoethanolamin feststellen konnte (Trautwein et al. 2022). Gar keinen Unterschied im Phospholipid-Metabolismus fanden dagegen Wenger et al. (2019) bei der *in vivo*-Untersuchung von Gliomen mittels MRS.

PC und PE sind als Zwischenprodukte bei der Synthese von Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin wichtig für den Aufbau von Zellmembranen und weisen bei zahlreichen Tumoren eine erhöhte Konzentration auf, die mit einer erhöhten Expression der Cholininkinase- α (CKA) und seltener auch der Ethanolaminkinase (EK) verbunden ist, die Cholin und Ethanolamin zu PC und PE phosphorylieren (Viswanath et al. 2018a). Viswanath et al. (2018a) konnten mittels ^{31}P -MRS zeigen, dass 2-HG über eine Stabilisierung von HIF1- α zu einer verminderten Expression der CKA und EK und darüber zur Verminderung von PC und PE bei IDH-mutierten Gliomen führen. Darüber hinaus zeigten auch die Endprodukte Phosphatidylcholin (PtdC) und Phosphatidylethanolamin (PtdE) sowie die Enzyme zu deren Synthese, CCT und ECT eine verminderte Konzentration, was über eine 2-HG vermittelte Induktion der Autophagie des endoplasmatischen Retikulums zustande kommt (Viswanath et al. 2018b). Der Zusammenhang zwischen den Mechanismen der Reduktion von PE und PC sowie PtdC und PtdE und deren Zusammenspiel ist bislang unklar, jedoch könnte die reduzierte Biosynthese der Phospholipide zum langsameren Wachstum von IDH1-mutierten Gliomen beitragen (Viswanath et al. 2018b). Eine Inhibition der Autophagie über Chloroquin an einem Mausmodell führte zur Normalisierung der Phospholipid-Level und interessanterweise zu erhöhter Apoptose und vermindertem Tumorstadium (ebd). Somit scheint die verminderte Konzentration an Phospholipiden einen Überlebensvorteil für IDH-mutierte Gliome, im Gegensatz zu den meisten anderen Tumoren, darzustellen. Eine weitere mögliche Erklärung für die verminderte Konzentration von Phosphoethanolamin bei IDH1-mutierten Tumoren könnte die erhöhte Expression der Ethanolamin-Phosphat Phospho-Lyase (ETNPPL) darstellen, welche zum

Abbau von PE beiträgt und deren Expression nur in niedriggradigen Gliomen, nicht aber in Glioblastomen gezeigt werden konnte (Leventoux et al. 2020).

Der Vorteil einer metabolischen Reprogrammierung und Reduzierung von PC und PE für IDH-mutierte Gliome bleibt unklar. Die gezeigten Veränderungen könnten als MRS-Parameter zur Bestimmung des IDH-Status und als Monitoring-Parameter bei IDH-Inhibition nützlich sein, da es hierbei zu einer Zunahme von Phosphocholin kommt (Molloy et al. 2019).

4.6.5 Alanin

Alanin ist eine proteinogene, nicht-essentielle Aminosäure (Wishart et al. 2022). Das Schlüsselenzym zur Synthese von Alanin ist die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT = Alanin-Aminotransferase / ALT), die die Übertragung einer Aminogruppe von Glutamat auf Pyruvat katalysiert, wobei neben Alanin auch α -KG entsteht (Smith et al. 2016). Eine verminderte Konzentration von Alanin in IDH-mutierten Gliomen gegenüber dem Wildtyp sowie eine Zunahme an Alanin mit höherem WHO-Grad wird durch zahlreiche Studien bestätigt (Björkblom et al. 2022; Gandía-González et al. 2019; Bund et al. 2019; Leather 2021; Erb et al. 2008; Trautwein et al. 2022). Auch im Liquor konnte dies gezeigt werden (Ballester et al. 2018). Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Ruiz-Rodado et al. (2020b), die jedoch kein Gewebe von Patienten, sondern ein genetisch verändertes Mausmodell mit IDH1-Überexpression untersuchten. Eine erhöhte Konzentration von Alanin ist zudem mit einem schlechteren Überleben bei Gliomen assoziiert (Gandía-González et al. 2019; Bund et al. 2019).

Aminosäuren sind in die Synthese von Proteinen, Lipiden und Nukleinsäuren involviert, die Rolle von Alanin in Tumoren ist gegenüber anderen nicht-essentiellen Aminosäuren jedoch bislang schlecht verstanden (Choi und Coloff 2019). Eine Inhibition der ALT führt bei Krebszellen durch höhere Laktatlevel und niedrigere Alaninproduktion zu einer Übersäuerung der Zellen, wodurch als Schutzmechanismus konsekutiv weniger Glukose aufgenommen wird, ein oxidativer Metabolismus gefördert und das Tumorstadium gehemmt wird (Beuster et al. 2011). Insofern könnte eine Verminderung des Alanins einen Wechsel in Richtung eines oxidativen Metabolismus darstellen (Leather 2021). IDH-mutierte Gliome zeigen, wie bereits weiter oben dargestellt, eine verminderte Aktivität

der Laktatdehydrogenase A und eine erhöhte Aktivität der Laktatdehydrogenase B. Für eine volle Aktivierung der Glykolyse ist jedoch das umgekehrte Verhältnis der Laktatdehydrogenasen nötig (Smith et al. 2016). Die Produktion von Pyruvat kann dann als Stickstoffakzeptor für die Reaktion von aus der Glutaminolyse stammendem Glutamat zu Alanin und α -KG über die mitochondriale GPT2/ALT2 dienen und somit der Warburg-Effekt über die Anaplerose des Citratzyklus zur Tumorgenese beitragen (ebd.). Diese Kopplung könnte bei IDH-mutierten Gliomen beeinträchtigt sein und zu einer verminderten Konversion von Pyruvat zu Alanin führen.

Interessanterweise zeigen IDH-mutierte Gliome jedoch eine erhöhte Expression der GPT2/ALT2 sowie der Glutamatdehydrogenase 1 (GLUD1), die die Reaktion von Glutamat zu α -KG unter Verbrauch von NAD^+ katalysiert (Moreira Franco et al. 2021; Cano-Galiano 2021). Dies erscheint nachvollziehbar, da über diese beiden Reaktionen eine Auffüllung von α -KG für den Citratzyklus erfolgen kann. Da α -KG für die Synthese von 2-HG genutzt wird und die Synthese aus Isocitrat durch die Mutation nicht mehr funktioniert, wäre dies eine logische metabolische Konsequenz. Auch die schon beschriebene Verminderung an Glutamat bei IDH-Mutation könnte durch einen Substratmangel für die ALT-Reaktion die Verminderung der Alanin-Spiegel bedingen. Ein weiterer Ansatz zur Erklärung eines verminderten Alanin-Spiegels stellt die mögliche Stabilisierung von HIF1- α und damit des Transkriptionsfaktors HIF durch 2-HG dar, da HIF niedrige Level an Alanin aufrechterhält, während ein Knockdown von HIF zu einem Anstieg der Alanin-Konzentration führt (Kappler et al. 2019). Die Abhängigkeit von der Glutaminolyse kann zu einem erhöhten Anfall von Ammonium und Aktivierung von HIF1 führen (ebd.).

Zusammenfassend lässt sich konstatieren, dass das Zusammenspiel von Glykolyse und Citratzyklus bei IDH-mutierten Gliomen weiterer Untersuchungen bedarf, wobei die Expression von Enzymen des Glutamin-Glutamat-Stoffwechsels und metabolische Flussanalysen von Interesse wären. Dies gilt auch für die Rolle des Transkriptionsfaktors HIF1. Einen weiteren interessanten Forschungsansatz bietet die Rolle der Alanyl-tRNA-Synthetase (AlaRs), einer Aminoacyl-tRNA-Synthetase, die im Zuge der Proteinsynthese die Ligation von Alanin an dessen tRNA katalysiert. Wir konnten eine erhöhte Expression dieser Synthetase bei IDH-mutierten Gliomen gegenüber dem Wildtyp feststellen (Trautwein et al. 2022). Dies widerspricht den Ergebnissen von Peace und Chidiebere

(2020), die eine Überexpression verschiedener Aminoacyl-tRNA-Synthetasen, unter anderem der AlaRs, bei Glioblastomen zeigen konnten, wobei eine Inhibition in vitro zum Zelltod führte. Auch der Mechanismus, über den Alanin bei Wildtyp-Gliomen zu geringerem Überleben führt, ist bislang unklar. DeBerardinis et al. (2007) zeigten, dass Glioblastom-Zellen ca. 90% der Glukose sowie 60% des Glutamins zu Laktat und Alanin verstoffwechseln. Glioblastome könnten Alanin dann als Energiequelle für die Produktion von Laktat und Acetyl-CoA über Pyruvat verwenden (Ijare et al. 2019).

4.6.6 Acetylcholin

Acetylcholin kann von neuronalen und nicht-neuronalen Zellen aus Cholin und Acetyl-CoA synthetisiert werden und wirkt über nikotinerge und muskarinerge Rezeptoren mit verschiedenen Subtypen, die ebenso auf nicht-neuronalen Zellen exprimiert werden (Aronowitz et al. 2022). Die Überexpression spezifischer Acetylcholinrezeptor-Subtypen konnte als wichtiger Regulator von Angiogenese und Wachstumsfaktoren in Krebszellen und in der Tumormikroumgebung etabliert werden (ebd.). Im Hinblick auf Gliome konnte kürzlich gezeigt werden, dass in Glioblastomen verschiedene Acetylcholinrezeptoren, unter anderem nikotinerge Rezeptoren der Untereinheiten $\alpha 1$ und $\alpha 9$ überexprimiert sind (Thompson und Sontheimer 2019). Über eine erhöhte Aktivität der Matrix-Metalloprotease 9 durch Calciumeinstrom bei Aktivierung von Acetylcholinrezeptoren wird die Invasivität von Glioblastomen gefördert (ebd.). Wahrscheinlich können Glioblastome auch Acetylcholin synthetisieren und so über autokrine Signalwege ihre Invasivität steigern (ebd.). Zudem erhöht Cholin als Vorläufer von Acetylcholin die Proliferation von Glioblastomzellen in einer dosisabhängigen Weise über die Aktivierung der $\alpha 7$ - und $\alpha 9$ -nAChR und daraus folgender Aktivierung des anti-apoptotischen AKT-Signalwegs und des proliferationsfördernden ERK-Signalwegs, wobei nicht klar ist, ob dieser Effekt durch Cholin oder Acetylcholin zustande kommt (Pucci et al. 2021). Neben den nikotinergen Rezeptoren konnte gezeigt werden, dass muskarinerge Acetylcholinrezeptoren vom Subtyp M2 Apoptose und Zellzyklusarrest in Glioblastom-Zelllinien induzieren (Huang et al. 2022).

Die erhöhte Konzentration an Acetylcholin in der Wildtyp-Gruppe, die hauptsächlich aus Glioblastomen besteht, könnte durch Unterschiede in der Expression von Acetylcholinrezeptoren und der Möglichkeit verschiedener Gliome selbst Acetylcholin zu synthetisieren, zustande kommen. Unsere Arbeitsgruppe konnte diesen Unterschied

bei einer größeren Kohorte reproduzieren, wobei auch hier die Wildtyp-Gruppe überwiegend aus Glioblastomen bestand (Trautwein et al. 2022). Inwieweit der IDH-Status hier eine Rolle spielt oder ob dieser Effekt unabhängig hiervon ist, ist bislang nicht erforscht. Die Beeinflussung von Acetylcholinrezeptoren stellt ein vielversprechendes Ziel für innovative Tumorthérapien dar und zeigte in verschiedenen in vitro-Studien an Glioblastom-Zelllinien positive Effekte (Huang et al. 2022). Weitere Forschung hierzu könnte die Expression und Wirkung von Acetylcholinrezeptoren bei IDH-mutierten Gliomen im Vergleich zum Wildtyp sowie die Rolle der IDH-Mutation für etwaige Unterschiede dieser Gruppen in den Fokus nehmen.

4.6.7 Amino adipinsäure

Eine verminderte Konzentration von Amino adipinsäure bei IDH-Mutation wird bestätigt durch die Ergebnisse von Björkblom et al. (2022) und Goryńska et al. (2022).

Amino adipinsäure, auch bekannt als 2-Amino adipat, ist ein Intermediärprodukt beim Abbau der Aminosäure Lysin (Björkblom et al. 2022) und in Gehirn und Liquor nur in sehr geringen Mengen vorhanden (Jung et al. 2013). Der Abbau von Lysin trägt zur Fettsäuresynthese bei und verläuft im erwachsenen Gehirn über den Pipecolinsäure-Weg, wobei als Zwischenprodukt Amino adipinsäure entsteht (Rosi et al. 2015). Rosi et al. (2015) konnten in einer Gruppe von GSCs eine Akkumulation von Amino adipinsäure zeigen, die jedoch aus dem Abbau von Lysin über Saccharopin stammt, was den üblichen Abbauweg im fetalen Gehirn darstellt. Beide Stoffwechselwege führen zur Produktion von Alpha-Amino adipinsemialdehyd (α -AASA), welches durch das Enzym Aldehyddehydrogenase 7A1 (ALDH7A1, auch Antiquitin) zu Amino adipinsäure umgesetzt wird, wobei NAD als Kofaktor benötigt wird (ebd.). Die veränderte Konzentration zwischen den Gruppen könnte durch verschiedene Faktoren bedingt sein. Eine verminderte NAD-Konzentration bei IDH-mutierten Zellen wie bereits weiter oben beschrieben (Tateishi et al 2015) könnte die Aktivität der ALDH7A1 einschränken und zu einer verminderten Konzentration von Amino adipinsäure beitragen. Der Lysin-Abbau über Saccharopin verläuft zudem über Enzyme, die eine starke Substratspezifität für α -Ketoglutarat und NADPH zeigen (Rosi et al. 2015). Die neomorphe Enzymaktivität durch die IDH1-Mutation mit Verbrauch von α -KG und NADPH könnte deshalb zu Veränderungen im Lysinabbau führen. Zudem konnten TCGA-Analysen eine erhöhte Expression von ALDH7A1 bei IDH-Wildtyp gegenüber IDH-Mutation zeigen, was ebenso zu den

gezeigten Veränderungen passen würde (Wang et al. 2021). Auch der weitere Abbau von Amino adipinsäure zu 2-Oxoadipat über das Enzym 2-Amino adipat-Transaminase (2-AAT) benötigt α -KG als Kofaktor und könnte bei IDH-Mutation durch verminderte Konzentration von α -KG oder durch die strukturelle Ähnlichkeit von 2-HG mit α -KG eine veränderte Aktivität zeigen, wobei dies aber eher eine erhöhte Konzentration von Amino adipinsäure bei IDH-Mutation bedingen würde (Walsby-Tickle et al. 2020).

Walsby-Tickle et al. (2020) konnten in diesem Zusammenhang eine verminderte Konzentration von 2-Oxoadipat an Glioblastomzellen mit Überexpression von IDH1 R132H zeigen. Die Aldehyd-Dehydrogenasen stellen Biomarker von Krebs-Stammzellen (CSCs) und können zur Chemoresistenz von Tumoren beitragen (Luo et al. 2015, S. 693). Eine Überexpression der ALDH7A1 ist in verschiedenen Tumoren beschrieben, jedoch bleibt deren genaue Rolle bislang noch unklar (Lu et al. 2022), eine Rolle bei Gliomen ist bislang nicht beschrieben.

Eine erhöhte Sekretion von Amino adipinsäure kann zudem auf eine veränderte, supprimierte Expression des Transkriptionsfaktors KLF-4 hinweisen, die zur Triggerung des Warburg-Effekts und vermehrter Fettsäuresynthese führt (Bellance et al. 2012). Eine verminderte KLF-4-Expression konnte z.B. in Prostatakarzinomen gefunden werden und stellte einen unabhängigen Marker für das Rezidivrisiko dar (Jung et al. 2013). In der untersuchten Kohorte von Rosi et al. (2015) korrelierte eine erhöhte Signalintensität von Amino adipinsäure mit der Tumor-Aggressivität und dem Gesamtüberleben.

Weitere Studien zur Veränderung des Lysin-Abbaus bei Gliomen und dessen Auswirkungen könnten interessante neue Aspekte erbringen. Untersuchungen zur Rolle der ALDH7A1 sowie zur Expression von KLF-4 in Gliomen mit Stratifizierung nach IDH-Status könnten dabei zu einem genaueren Verständnis beitragen.

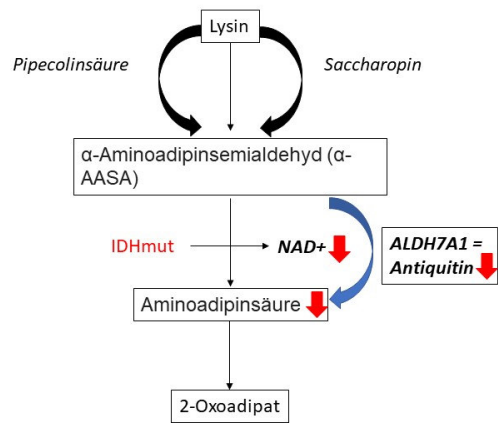


Abbildung 33: Amino adipinsäure-Biosynthese und Modell möglicher Veränderungen durch IDH-Mutation

5 Zusammenfassung

Die Entdeckung der IDH1-Mutation und weiterer molekularer Marker hat zu neuen diagnostischen Kriterien geführt. Die metabolische Funktion der IDH1-Mutation und die Entdeckung des Onkometaboliten 2-HG bei IDH-mutierten Gliomen hat zudem die Bedeutung metabolischer Veränderungen und deren mögliche diagnostische und therapeutische Implikationen durch Darstellung dieser Veränderungen in der MRS und den Einsatz neuer Inhibitoren von IDH1, z.B. Ivosidenib, aufgezeigt. Da die Isocitratdehydrogenase an einer zentralen Stelle des Metabolismus angesiedelt ist, sind neben der Produktion von 2-HG zahlreiche weitere Veränderungen des Metabolismus IDH1-mutierter Gliome denkbar, die in dieser Arbeit durch vergleichende Analyse von Gliomen mit WHO-Grad 2-4 und mit oder ohne IDH1-Mutation untersucht wurden.

Dabei konnten interessante neue Erkenntnisse entdeckt werden, die beispielsweise zu neuen Hypothesen für die Grundlagenforschung und translationale Forschung führen können. Einige der metabolischen Veränderungen, wie z.B. die erhöhte Konzentration von Myoinositol, Glycerophosphocholin und Cystathionin sowie die verminderte Konzentration von Alanin, Phosphoethanolamin und Phosphocholin bei IDH1-Mutation sind schon durch mehrere Untersuchungen anderer Autoren, sowohl an Zelllinien als auch an klinischen Samples, beschrieben worden und reproduzieren diese Ergebnisse in unserer Kohorte. Die erhöhte Konzentration von Cystathionin weist auf Veränderungen im Weg der Transsulfurierung, die zur Biosynthese von Cystein und damit GSH als Antioxidans beitragen kann. IDH1-mutierte Gliome zeigen demnach durch die Veränderungen im Redoxhaushalt eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber oxidativem Stress und reaktiven oxygenen Spezies (ROS). Die Verfügbarkeit von exogenem Cystein scheint hierbei ein kritischer Faktor zu sein und kann als metabolische Schwachstelle IDH1-mutierter Gliome einen möglichen therapeutischen Angriffspunkt darstellen. Zur erhöhten Konzentration von Glycerophosphocholin könnte eine erhöhte Konzentration des Enzyms LYPLA1 beitragen, was bislang noch nicht beschrieben wurde. Dies könnte therapeutisch durch Enzyminhibition ausgenutzt werden, z.B. über das bei Adipositas eingesetzte Medikament Orlistat®, das zu den LYPLA-Inhibitoren zählt.

Bei anderen Metaboliten gibt es nur einzelne weitere Studien, die zu ähnlichen Ergebnissen gekommen sind, die jedoch teilweise einen Vergleich der WHO-Grade bzw.

histologischer Gruppen durchgeführt haben. Dies trifft zum Beispiel für die verminderte Konzentration von Hypotaurin bei IDH1-Mutation zu. Hypotaurin wird mit einem malignen Phänotyp bei Glioblastomen verbunden, der über die Cysteamin-Dioxygenase ADO zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B und des chemotaktischen Zytokins CCL-20 führt. Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass die unterschiedlichen Konzentrationen nicht durch histologische Subgruppen, sondern den Einfluss der IDH1-Mutation erklärbar sein könnten. Darüber hinaus konnten bislang unbekannte Veränderungen von Kreatin (erhöhte Konzentration bei IDH1-Mutation) und Sarkosin (verminderte Konzentration bei IDH1-Mutation) festgestellt werden.

Besonders interessant ist auch die bislang nicht beschriebene Veränderung von Nicotinurat, welches eine erhöhte Konzentration bei IDH1-Mutation zeigte und auf Veränderungen im NAD-Haushalt hinweisen könnte. Eine erhöhte Anfälligkeit IDH1-mutierter Gliome gegenüber einer Depletion an NAD könnte eine wichtige metabolische Schwachstelle darstellen und kann über verschiedene Wege, wie z.B. NAMPT-Inhibition, PARG-Inhibition und den Einsatz von STACs angegriffen werden.

Auch die bislang nur in einer weiteren Studie beschriebene verminderte Konzentration von Asparagin und eine Anfälligkeit gegenüber einer Depletion dieses Metaboliten bei IDH1-mutierten Gliomen könnte ein interessantes therapeutisches Ziel darstellen. Die Therapie mit bakteriellen Asparaginasen ist bei der ALL seit langem etabliert und könnte hier zum Einsatz kommen. Zudem steht mit 6-Diazo-5-oxo-L-Norleucin (L-DON) eine Aminosäure zur Verfügung, die das zentrale Enzym der Asparaginsynthese, die ASNS, inhibieren kann. Dabei könnte eine Kombination aus Asparagin-Depletion und Inhibition des Glutamin-Katabolismus durch Glutaminaseinhibition erfolgversprechend sein, um die besondere Abhängigkeit IDH1-mutierter Gliome von Glutamin, welches sowohl zur Synthese von Glutamat als auch 2-HG beiträgt, auszunutzen.

Zudem könnte die verminderte Konzentration von Amino adipinsäure bei IDH1-Mutation, die von zwei kürzlich erschienenen Studien bestätigt wird, durch Veränderungen der Enzymfamilie der Aldohydrogenasen bedingt sein. Eine tumorsupportive oder tumorhemmende Wirkung dieser Enzyme ist umstritten. Veränderungen der Expression der ALDH7A1 zwischen den IDH-Gruppen stellen einen interessanten Ansatz für weitere Forschungen zur Rolle dieses Enzyms bei Gliomen dar.

Die gezeigten Veränderungen einiger Metaboliten könnten zudem zur prächirurgischen Diagnostik und Unterscheidung IDH-mutierter Gliome von Wildtyp-Gliomen mittels in vivo MRS beitragen, wobei hier vor allem Myoinositol, Cystathionin, die Phospholipide Glycerophosphocholin, Phosphoethanolamin und Phosphocholin interessant erscheinen. Inwieweit die gezeigte Veränderung von Kreatin als Referenzmetabolit dieser Technik eine Rolle spielt, ist bislang unklar.

Die metabolische Untersuchung im Tumorgewebe kann zu neuen Einblicken in die Tumorbilogie und weiteren Hypothesen für translationale Forschung beitragen. Die Relevanz der Erkenntnisse muss in künftigen Studien weiter evaluiert werden.

6 Literaturverzeichnis

Adibekian, Alexander; Martin, Brent R.; Chang, Jae Won; Hsu, Ku-Lung; Tsuboi, Katsunori; Bachovchin, Daniel A. et al. (2010): Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program. Characterization of a Selective, Reversible Inhibitor of Lysophospholipase 1 (LYPLA1). Bethesda (MD).

Ahad, Nor Aishah; Yahaya, Sharipah Soaad Syed (2014): Sensitivity analysis of Welch's t-test. In: PROCEEDINGS OF THE 21ST NATIONAL SYMPOSIUM ON MATHEMATICAL SCIENCES (SKSM21): Germination of Mathematical Sciences Education and Research towards Global Sustainability. Penang, Malaysia, 6–8 November 2013: AIP Publishing LLC (AIP Conference Proceedings), S. 888–893.

Aibaidula, Abudumijit; Chan, Aden Ka-Yin; Shi, Zhifeng; Li, Yanxi; Zhang, Ruiqi; Yang, Rui et al. (2017): Adult IDH wild-type lower-grade gliomas should be further stratified. In: *Neuro-oncology* 19 (10), S. 1327–1337. DOI: 10.1093/neuonc/nox078.

Al-Khallaf, Hamoud (2017): Isocitrate dehydrogenases in physiology and cancer: biochemical and molecular insight. In: *Cell & bioscience* 7, S. 37. DOI: 10.1186/s13578-017-0165-3.

Andronesi, Ovidiu C.; Loebel, Franziska; Bogner, Wolfgang; Marjańska, Małgorzata; Vander Heiden, Matthew G.; Iafrate, A. John et al. (2016): Treatment Response Assessment in IDH-Mutant Glioma Patients by Noninvasive 3D Functional Spectroscopic Mapping of 2-Hydroxyglutarate. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 22 (7), S. 1632–1641. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0656.

Aronowitz, Alexandra L.; Ali, Shahrukh R.; Glaun, Mica D. E.; Amit, Moran (2022): Acetylcholine in Carcinogenesis and Targeting Cholinergic Receptors in Oncology. In: *Advanced biology* 6 (9), e2200053. DOI: 10.1002/adbi.202200053.

Ascensão, Kelly; Szabo, Csaba (2022): Emerging roles of cystathionine β -synthase in various forms of cancer. In: *Redox biology* 53, S. 102331. DOI: 10.1016/j.redox.2022.102331.

Ballester, Leomar Y.; Lu, Guangrong; Zorofchian, Soheil; Vantaku, Venkatrao; Putluri, Vasanta; Yan, Yuanqing et al. (2018): Analysis of cerebrospinal fluid metabolites in

patients with primary or metastatic central nervous system tumors. In: *Acta neuropathologica communications* 6 (1), S. 85. DOI: 10.1186/s40478-018-0588-z.

Beiko, Jason; Suki, Dima; Hess, Kenneth R.; Fox, Benjamin D.; Cheung, Vincent; Cabral, Matthew et al. (2014): IDH1 mutant malignant astrocytomas are more amenable to surgical resection and have a survival benefit associated with maximal surgical resection. In: *Neuro-oncology* 16 (1), S. 81–91. DOI: 10.1093/neuonc/not159.

Bellance, Nadège; Pabst, Lisa; Allen, Genevra; Rossignol, Rodrigue; Nagrath, Deepak (2012): Oncosecretomics coupled to bioenergetics identifies α -amino adipic acid, isoleucine and GABA as potential biomarkers of cancer: Differential expression of c-Myc, Oct1 and KLF4 coordinates metabolic changes. In: *Biochimica et biophysica acta* 1817 (11), S. 2060–2071. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2012.07.004.

Berntsson, Shala G.; Merrell, Ryan T.; Amirian, E. Susan; Armstrong, Georgina N.; Lachance, Daniel; Smits, Anja et al. (2018): Glioma-related seizures in relation to histopathological subtypes: a report from the glioma international case-control study. In: *Journal of neurology* 265 (6), S. 1432–1442. DOI: 10.1007/s00415-018-8857-0.

Bertuccio, Salvatore Nicola; Serravalle, Salvatore; Astolfi, Annalisa; Lonetti, Annalisa; Indio, Valentina; Leszl, Anna et al. (2017): Identification of a cytogenetic and molecular subgroup of acute myeloid leukemias showing sensitivity to L-Asparaginase. In: *Oncotarget* 8 (66), S. 109915–109923. DOI: 10.18632/oncotarget.18565.

Beuster, Gregor; Zarse, Kim; Kaleta, Christoph; Thierbach, René; Kiehntopf, Michael; Steinberg, Pablo et al. (2011): Inhibition of alanine aminotransferase in silico and in vivo promotes mitochondrial metabolism to impair malignant growth. In: *The Journal of biological chemistry* 286 (25), S. 22323–22330. DOI: 10.1074/jbc.M110.205229.

Biedermann, Julia; Preussler, Matthias; Conde, Marina; Peitzsch, Mirko; Richter, Susan; Wiedemuth, Ralf et al. (2019): Mutant IDH1 Differently Affects Redox State and Metabolism in Glial Cells of Normal and Tumor Origin. In: *Cancers* 11 (12). DOI: 10.3390/cancers11122028.

Bizzarri, Mariano; Fuso, Andrea; Dinicola, Simona; Cucina, Alessandra; Bevilacqua, Arturo (2016): Pharmacodynamics and pharmacokinetics of inositol(s) in health and

disease. In: *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 12 (10), S. 1181–1196. DOI: 10.1080/17425255.2016.1206887.

Björkblom, Benny; Wibom, Carl; Eriksson, Maria; Bergenheim, A. Tommy; Sjöberg, Rickard L.; Jonsson, Pär et al. (2022): Distinct metabolic hallmarks of WHO classified adult glioma subtypes. In: *Neuro-oncology*. DOI: 10.1093/neuonc/noac042.

Bligh, E.G.; Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. In: *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (8), S. 911–917. DOI: 10.1139/o59-099.

Branzoli, Francesca; Marjańska, Małgorzata (2020): Magnetic resonance spectroscopy of isocitrate dehydrogenase mutated gliomas: current knowledge on the neurochemical profile. In: *Current opinion in neurology* 33 (4), S. 413–421. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000833.

Branzoli, Francesca; Pontoizeau, Clément; Tchara, Lucien; Di Stefano, Anna Luisa; Kamoun, Aurélie; Deelchand, Dinesh K. et al. (2019): Cystathionine as a marker for 1p/19q codeleted gliomas by in vivo magnetic resonance spectroscopy. In: *Neuro-oncology* 21 (6), S. 765–774. DOI: 10.1093/neuonc/noz031.

Brat, Daniel J.; Verhaak, Roel G. W.; Aldape, Kenneth D.; Yung, W. K. Alfred; Salama, Sofie R.; Cooper, Lee A. D. et al. (2015): Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. In: *The New England journal of medicine* 372 (26), S. 2481–2498. DOI: 10.1056/NEJMoa1402121.

Buescher, Joerg Martin; Driggers, Edward M. (2016): Integration of omics: more than the sum of its parts. In: *Cancer & metabolism* 4, S. 4. DOI: 10.1186/s40170-016-0143-y.

Bulik, Martin; Jancalek, Radim; Vanicek, Jiri; Skoch, Antonin; Mechl, Marek (2013): Potential of MR spectroscopy for assessment of glioma grading. In: *Clinical neurology and neurosurgery* 115 (2), S. 146–153. DOI: 10.1016/j.clineuro.2012.11.002.

Bumes, Elisabeth; Wirtz, Fro-Philip; Fellner, Claudia; Grosse, Jirka; Hellwig, Dirk; Oefner, Peter J. et al. (2020): Non-Invasive Prediction of IDH Mutation in Patients with Glioma WHO II/III/IV Based on F-18-FET PET-Guided In Vivo 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy and Machine Learning. In: *Cancers* 12 (11). DOI: 10.3390/cancers12113406.

Bund, Caroline; Guergova-Kuras, Mariana; Cicek, A. Ercument; Moussallieh, François-Marie; Dali-Youcef, Nassim; Piotto, Martial et al. (2019): An integrated genomic and metabolomic approach for defining survival time in adult oligodendrogliomas patients. In: *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society* 15 (5), S. 69. DOI: 10.1007/s11306-019-1522-5.

Bunse, Lukas; Pusch, Stefan; Bunse, Theresa; Sahm, Felix; Sanghvi, Khwab; Friedrich, Mirco et al. (2018): Suppression of antitumor T cell immunity by the oncometabolite (R)-2-hydroxyglutarate. In: *Nature medicine* 24 (8), S. 1192–1203. DOI: 10.1038/s41591-018-0095-6.

Cano-Galiano, Andrés (2021): Identifying and targeting metabolic vulnerabilities in IDH mutant gliomas. Dissertation, Luxembourg. The Faculty of Science, Technology and Medicine.

Cano-Galiano, Andrés; Oudin, Anais; Fack, Fred; Allega, Maria-Francesca; Sumpton, David; Martinez-Garcia, Elena et al. (2021): Cystathionine- γ -lyase drives antioxidant defense in cysteine-restricted IDH1-mutant astrocytomas. In: *Neuro-oncology advances* 3 (1), vdab057. DOI: 10.1093/noajnl/vdab057.

Ceccarelli, Michele; Barthel, Floris P.; Malta, Tathiane M.; Sabedot, Thais S.; Salama, Sofie R.; Murray, Bradley A. et al. (2016): Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma. In: *Cell* 164 (3), S. 550–563. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.028.

Cernei, Natalia; Heger, Zbynek; Gumulec, Jaromir; Zitka, Ondrej; Masarik, Michal; Babula, Petr et al. (2013): Sarcosine as a potential prostate cancer biomarker--a review. In: *International journal of molecular sciences* 14 (7), S. 13893–13908. DOI: 10.3390/ijms140713893.

Chen, Hao; Judkins, Jonathon; Thomas, Cheddhi; Wu, Meijing; Khoury, Laith; Benjamin, Carolina G. et al. (2017a): Mutant IDH1 and seizures in patients with glioma. In: *Neurology* 88 (19), S. 1805–1813. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003911.

Chen, Qicheng; Ye, Li; Fan, Jiajun; Zhang, Xuyao; Wang, Huan; Liao, Siyang et al. (2017b): Autophagy suppression potentiates the anti-glioblastoma effect of asparaginase

in vitro and in vivo. In: *Oncotarget* 8 (53), S. 91052–91066. DOI: 10.18632/oncotarget.19409.

Chesnelong, Charles; Chaumeil, Myriam M.; Blough, Michael D.; Al-Najjar, Mohammad; Stechishin, Owen D.; Chan, Jennifer A. et al. (2014): Lactate dehydrogenase A silencing in IDH mutant gliomas. In: *Neuro-oncology* 16 (5), S. 686–695. DOI: 10.1093/neuonc/not243.

Choi, Bo-Hyun; Coloff, Jonathan L. (2019): The Diverse Functions of Non-Essential Amino Acids in Cancer. In: *Cancers* 11 (5). DOI: 10.3390/cancers11050675.

Chong, Jasmine; Soufan, Othman; Li, Carin; Caraus, Iurie; Li, Shuzhao; Bourque, Guillaume et al. (2018): MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. In: *Nucleic acids research* 46 (W1), W486–W494. DOI: 10.1093/nar/gky310.

Chowdhry, Sudhir; Zanca, Ciro; Rajkumar, Utkrisht; Koga, Tomoyuki; Diao, Yarui; Raviram, Ramya et al. (2019): NAD metabolic dependency in cancer is shaped by gene amplification and enhancer remodelling. In: *Nature* 569 (7757), S. 570–575. DOI: 10.1038/s41586-019-1150-2.

Dang, L.; White, D.W.; Gross, S.; Bennett, B.D.; Bittinger, M.A.; Driggers, E.M. et al. (2009): Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. In: *Nature* (462), S. 739–752.

Dang, Lenny; Jin, Shengfang; Su, Shinsan M. (2010): IDH mutations in glioma and acute myeloid leukemia. In: *Trends in molecular medicine* 16 (9), S. 387–397. DOI: 10.1016/j.molmed.2010.07.002.

Dang, Lenny; Su, Shin-San Michael (2017): Isocitrate Dehydrogenase Mutation and (R)-2-Hydroxyglutarate: From Basic Discovery to Therapeutics Development. In: *Annual review of biochemistry* 86, S. 305–331. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-044732.

DeBerardinis, Ralph J.; Mancuso, Anthony; Daikhin, Evgueni; Nissim, Ilana; Yudkoff, Marc; Wehrli, Suzanne; Thompson, Craig B. (2007): Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. In: *PNAS* 104 (49), S. 19345–19350. DOI: 10.1073/pnas.0709747104.

Dettmer, Katja; Hammock, Bruce D. (2004): Metabolomics--a new exciting field within the "omics" sciences. In: *Environmental health perspectives* 112 (7), A396-A397.

Douer, Dan; Gökbuget, Nicola; Stock, Wendy; Boissel, Nicolas (2022): Optimizing use of L-asparaginase-based treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia. In: *Blood reviews* 53, S. 100908. DOI: 10.1016/j.blre.2021.100908.

Elkhaled, Adam; Jalbert, Llewellyn; Constantin, Alexandra; Yoshihara, Hikari A. I.; Phillips, Joanna J.; Molinaro, Annette M. et al. (2014): Characterization of metabolites in infiltrating gliomas using ex vivo ¹H high-resolution magic angle spinning spectroscopy. In: *NMR in biomedicine* 27 (5), S. 578–593. DOI: 10.1002/nbm.3097.

Emwas, Abdul-Hamid M.; Salek, Reza M.; Griffin, Julian L.; Merzaban, Jasmineen (2013): NMR-based metabolomics in human disease diagnosis: applications, limitations, and recommendations. In: *Metabolomics* 9 (5), S. 1048–1072. DOI: 10.1007/s11306-013-0524-y.

Erb, G.; Elbayed, K.; Piotta, M.; Raya, J.; Neuville, A.; Mohr, M. et al. (2008): Toward improved grading of malignancy in oligodendrogliomas using metabolomics. In: *Magnetic resonance in medicine* 59 (5), S. 959–965. DOI: 10.1002/mrm.21486.

Esmaeili, Morteza; Hamans, Bob C.; Navis, Anna C.; van Horssen, Remco; Bathen, Tone F.; Gribbestad, Ingrid S. et al. (2014): IDH1 R132H mutation generates a distinct phospholipid metabolite profile in glioma. In: *Cancer research* 74 (17), S. 4898–4907. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0008.

Fack, Fred; Tardito, Saverio; Hochart, Guillaume; Oudin, Anais; Zheng, Liang; Fritah, Sabrina et al. (2017): Altered metabolic landscape in IDHmutant gliomas affects phospholipid, energy, and oxidative stress pathways. In: *EMBO molecular medicine* 9 (12), S. 1681–1695.

Fan, Jing; Teng, Xin; Liu, Ling; Mattaini, Katherine R.; Looper, Ryan E.; Vander Heiden, Matthew G.; Rabinowitz, Joshua D. (2015): Human phosphoglycerate dehydrogenase produces the oncometabolite D-2-hydroxyglutarate. In: *ACS chemical biology* 10 (2), S. 510–516. DOI: 10.1021/cb500683c.

Fathi, Amir T.; Wander, Seth A.; Faramand, Rawan; Emadi, Ashkan (2015): Biochemical, Epigenetic, and Metabolic Approaches to Target IDH Mutations in Acute

Myeloid Leukemia. In: *Seminars in hematology* 52 (3), S. 165–171. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2015.03.002.

Fiehn, Oliver (2002): Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. In: *Plant molecular biology* 48 (1-2), S. 155–171.

Frédérich, Michel; Pirotte, Bernard; Fillet, Marianne; Tullio, Pascal de (2016): Metabolomics as a Challenging Approach for Medicinal Chemistry and Personalized Medicine. In: *Journal of medicinal chemistry* 59 (19), S. 8649–8666. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01335.

Gandía-González, María L.; Cerdán, Sebastián; Barrios, Laura; López-Larrubia, Pilar; Feijóo, Pablo G.; Palpan, Alexis et al. (2019): Assessment of Overall Survival in Glioma Patients as Predicted by Metabolomic Criteria. In: *Frontiers in oncology* 9, S. 328. DOI: 10.3389/fonc.2019.00328.

Gao, Peng; Ji, Min; Fang, Xueyan; Liu, Yingyang; Yu, Zhigang; Cao, Yunfeng et al. (2017): Capillary electrophoresis - Mass spectrometry metabolomics analysis revealed enrichment of hypotaurine in rat glioma tissues. In: *Analytical biochemistry* 537, S. 1–7. DOI: 10.1016/j.ab.2017.08.012.

Gao, Peng; Yang, Chunzhang; Nesvick, Cody L.; Feldman, Michael J.; Sizardkhani, Saman; Liu, Huailei et al. (2016): Hypotaurine evokes a malignant phenotype in glioma through aberrant hypoxic signaling. In: *Oncotarget* 7 (12), S. 15200–15214.

Garrett, Matthew; Sperry, Jantzen; Braas, Daniel; Yan, Weihong; Le, Thuc M.; Mottahedeh, Jack et al. (2018): Metabolic characterization of isocitrate dehydrogenase (IDH) mutant and IDH wildtype gliomaspheres uncovers cell type-specific vulnerabilities. In: *Cancer & metabolism* 6, S. 4. DOI: 10.1186/s40170-018-0177-4.

Glunde, Kristine; Penet, Marie-France; Jiang, Lu; Jacobs, Michael A.; Bhujwalla, Zaver M. (2015): Choline metabolism-based molecular diagnosis of cancer: an update. In: *Expert review of molecular diagnostics* 15 (6), S. 735–747. DOI: 10.1586/14737159.2015.1039515.

Goodacre, R. (2005): Metabolomics - the way forward. In: *Metabolomics* 1 (1), S. 1–2.

Goryńska, Paulina Zofia; Chmara, Kamila; Kupcewicz, Bogumiła; Goryński, Krzysztof; Jaroch, Karol; Paczkowski, Dariusz et al. (2022): Metabolomic Phenotyping of Gliomas:

What Can We Get with Simplified Protocol for Intact Tissue Analysis? In: *Cancers* 14 (2). DOI: 10.3390/cancers14020312.

Grassian, Alexandra R.; Parker, Seth J.; Davidson, Shawn M.; Divakaruni, Ajit S.; Green, Courtney R.; Zhang, Xiamei et al. (2014): IDH1 mutations alter citric acid cycle metabolism and increase dependence on oxidative mitochondrial metabolism. In: *Cancer research* 74 (12), S. 3317–3331. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0772-T.

Griffin, Constance A.; Burger, Peter; Morsberger, Laura; Yonescu, Raluca; Swierczynski, Sharon; Weingart, Jon D.; Murphy, Kathleen M. (2006): Identification of der(1;19)(q10;p10) in Five Oligodendrogliomas Suggests Mechanism of Concurrent 1p and 19q Loss. In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 65 (10), S. 988–994.

Grinde, Maria T.; Skrbo, Nirma; Moestue, Siver A.; Rødland, Einar A.; Borgan, Eldrid; Kristian, Alexandr et al. (2014): Interplay of choline metabolites and genes in patient-derived breast cancer xenografts. In: *Breast cancer research : BCR* 16 (1), R5. DOI: 10.1186/bcr3597.

Grube, Susanne; Dünisch, Pedro; Freitag, Diana; Klausnitzer, Maren; Sakr, Yasser; Walter, Jan et al. (2014): Overexpression of fatty acid synthase in human gliomas correlates with the WHO tumor grade and inhibition with Orlistat reduces cell viability and triggers apoptosis. In: *Journal of neuro-oncology* 118 (2), S. 277–287. DOI: 10.1007/s11060-014-1452-z.

Gujar, Amit D.; Le, Son; Mao, Diane D.; Dadey, David Y. A.; Turski, Alice; Sasaki, Yo et al. (2016): An NAD⁺-dependent transcriptional program governs self-renewal and radiation resistance in glioblastoma. In: *PNAS* 113 (51), E8247-E8256. DOI: 10.1073/pnas.1610921114.

Gulden-Sala, Wiebke; Roth, Patrick; Brown, Michelle; Andratschke, Nicolaus; Weller, Michael; Stupp, Roger (2016): Gliome - was ich wissen muss in zehn Fragen. In: *Praxis* 105 (6), S. 330–337. DOI: 10.1024/1661-8157/a002303.

Hanahan, Douglas; Weinberg, Robert A. (2011): Hallmarks of cancer: the next generation. In: *Cell* 144 (5), S. 646–674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

Hartmann, Christian; Meyer, Jochen; Balss, Jörg; Capper, David; Mueller, Wolf; Christians, Arne et al. (2009): Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. In: *Acta neuropathologica* 118 (4), S. 469–474. DOI: 10.1007/s00401-009-0561-9.

Hayashi, Yoshihiro; Yokota, Asumi; Harada, Hironori; Huang, Gang (2019): Hypoxia/pseudohypoxia-mediated activation of hypoxia-inducible factor-1 α in cancer. In: *Cancer science* 110 (5), S. 1510–1517. DOI: 10.1111/cas.13990.

Herrlinger, Ulrich; Tzaridis, Theophilos; Mack, Frederic; Steinbach, Joachim Peter; Schlegel, Uwe; Sabel, Michael et al. (2019): Lomustine-temozolomide combination therapy versus standard temozolomide therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CeTeG/NOA-09): a randomised, open-label, phase 3 trial. In: *Lancet (London, England)* 393 (10172), S. 678–688. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31791-4.

Huang, Qiqi; Chen, Lishi; Liang, Jianhao; Huang, Qiongzhen; Sun, Haitao (2022): Neurotransmitters: Potential Targets in Glioblastoma. In: *Cancers* 14 (16). DOI: 10.3390/cancers14163970.

Huang, Shang-Pen; Chan, Yung-Chieh; Huang, Shang-Yu; Lin, Yuan-Feng (2019): Overexpression of PSAT1 Gene is a Favorable Prognostic Marker in Lower-Grade Gliomas and Predicts a Favorable Outcome in Patients with IDH1 Mutations and Chromosome 1p19q Codeletion. In: *Cancers* 12 (1). DOI: 10.3390/cancers12010013.

Ijare, Omkar; Baskin, David; Pichumani, Kumar (2019): Cbmt-01. Alanine fuels energy metabolism of glioblastoma cells. In: *Neuro-oncology* 21 (6), vi32.

Ijzerman-Korevaar, Margriet; Snijders, Tom J.; Graeff, Alexander de; Teunissen, Saskia C. C. M.; Vos, Filip Y. F. de (2018): Prevalence of symptoms in glioma patients throughout the disease trajectory: a systematic review. In: *Journal of neuro-oncology* 140 (3), S. 485–496. DOI: 10.1007/s11060-018-03015-9.

Izquierdo-Garcia, Jose L.; Viswanath, Pavithra; Eriksson, Pia; Cai, Larry; Radoul, Marina; Chaumeil, Myriam M. et al. (2015a): IDH1 Mutation Induces Reprogramming

of Pyruvate Metabolism. In: *Cancer research* 75 (15), S. 2999–3009. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0840.

Izquierdo-Garcia, Jose L.; Viswanath, Pavithra; Eriksson, Pia; Chaumeil, Myriam M.; Pieper, Russell O.; Phillips, Joanna J.; Ronen, Sabrina M. (2015b): Metabolic reprogramming in mutant IDH1 glioma cells. In: *PloS one* 10 (2), e0118781. DOI: 10.1371/journal.pone.0118781.

Jalbert, Llewellyn E.; Elkhalef, Adam; Phillips, Joanna J.; Neill, Evan; Williams, Aurelia; Crane, Jason C. et al. (2017): Metabolic Profiling of IDH Mutation and Malignant Progression in Infiltrating Glioma. In: *Scientific reports* 7, S. 44792. DOI: 10.1038/srep44792.

Jung, Klaus; Reszka, Regina; Kamlage, Beate; Bethan, Bianca; Stephan, Carsten; Lein, Michael; Kristiansen, Glen (2013): Tissue metabolite profiling identifies differentiating and prognostic biomarkers for prostate carcinoma. In: *International journal of cancer* 133 (12), S. 2914–2924. DOI: 10.1002/ijc.28303.

Kalyanaraman, Balaraman (2017): Teaching the basics of cancer metabolism: Developing antitumor strategies by exploiting the differences between normal and cancer cell metabolism. In: *Redox biology* 12, S. 833–842. DOI: 10.1016/j.redox.2017.04.018.

Kappler, Matthias; Pabst, Ulrike; Weinholdt, Claus; Taubert, Helge; Rot, Svetlana; Kaune, Tom et al. (2019): Causes and Consequences of A Glutamine Induced Normoxic HIF1 Activity for the Tumor Metabolism. In: *International journal of molecular sciences* 20 (19). DOI: 10.3390/ijms20194742.

Karpel-Massler, Georg; Ramani, Doruntina; Shu, Chang; Halatsch, Marc-Eric; Westhoff, Mike-Andrew; Bruce, Jeffrey N. et al. (2016): Metabolic reprogramming of glioblastoma cells by L-asparaginase sensitizes for apoptosis in vitro and in vivo. In: *Oncotarget* 7 (23), S. 33512–33528. DOI: 10.18632/oncotarget.9257.

Kazak, Lawrence; Cohen, Paul (2020): Creatine metabolism: energy homeostasis, immunity and cancer biology. In: *Nature reviews. Endocrinology* 16 (8), S. 421–436. DOI: 10.1038/s41574-020-0365-5.

Khurshed, Mohammed; Molenaar, Remco J.; Lenting, Krissie; Leenders, William P.; van Noorden, Cornelis J.F. (2017): In silico gene expression analysis reveals glycolysis and

acetate anaplerosis in IDH1 wild-type glioma and lactate and glutamate anaplerosis in IDH1-mutated glioma. In: *Oncotarget* 8 (30), S. 49165–49177.

Kim, Dohoon; Fiske, Brian P.; Birsoy, Kivanc; Freinkman, Elizaveta; Kami, Kenjiro; Possemato, Richard L. et al. (2015): SHMT2 drives glioma cell survival in ischaemia but imposes a dependence on glycine clearance. In: *Nature* 520 (7547), S. 363–367. DOI: 10.1038/nature14363.

Kraywinkel, Klaus; Spix, Claudia (2019): Epidemiologie primärer Hirntumoren bei Kindern und Erwachsenen in Deutschland. In: *Onkologie* 25 (1), S. 5–9. DOI: 10.1007/s00761-018-0501-1.

Labussière, M.; Idbaih, A; Wang, X.-W.; Marie, Y.; Boisselier, B.; Falet, C. et al. (2010): All the 1p19q codeleted gliomas are mutated on IDH1 or IDH2 74 (23).

Leather, Thomas (2021): Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopic Markers for the Detection and Metabolic Characterisation of IDH-Mutant Gliomas. Doctoral Dissertation, University of Liverpool.

Leather, Thomas; Jenkinson, Michael D.; Das, Kumar; Poptani, Harish (2017): Magnetic Resonance Spectroscopy for Detection of 2-Hydroxyglutarate as a Biomarker for IDH Mutation in Gliomas. In: *Metabolites* 7 (2). DOI: 10.3390/metabo7020029.

Leonardi, Roberta; Subramanian, Chitra; Jackowski, Suzanne; Rock, Charles O. (2012): Cancer-associated isocitrate dehydrogenase mutations inactivate NADPH-dependent reductive carboxylation. In: *The Journal of biological chemistry* 287 (18), S. 14615–14620. DOI: 10.1074/jbc.C112.353946.

Leventoux, N.; Augustus, M.; Azar, S.; Riquier, S.; Villemin, J. P.; Guelfi, S. et al. (2020): Transformation Foci in IDH1-mutated Gliomas Show STAT3 Phosphorylation and Downregulate the Metabolic Enzyme ETNPPL, a Negative Regulator of Glioma Growth. In: *Scientific reports* 10 (1), S. 5504. DOI: 10.1038/s41598-020-62145-1.

Li, Bo; Yang, Lili (2021): Creatine in T Cell Antitumor Immunity and Cancer Immunotherapy. In: *Nutrients* 13 (5). DOI: 10.3390/nu13051633.

Liu, Xiao-Yang; Gerges, Noha; Korshunov, Andrey; Sabha, Nesrin; Khuong-Quang, Dong-Anh; Fontebasso, Adam M. et al. (2012): Frequent ATRX mutations and loss of

expression in adult diffuse astrocytic tumors carrying IDH1/IDH2 and TP53 mutations. In: *Acta neuropathologica* 124 (5), S. 615–625. DOI: 10.1007/s00401-012-1031-3.

Louis, David N.; Ohgaki, Hiroko; Wiestler, Otmar D.; Cavenee, Webster K.; Burger, Peter C.; Jouvett, Anne et al. (2007): The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. In: *Acta neuropathologica* 114 (2), S. 97–109. DOI: 10.1007/s00401-007-0243-4.

Louis, David N.; Perry, Arie; Reifenberger, Guido; Deimling, Andreas von; Figarella-Branger, Dominique; Cavenee, Webster K. et al. (2016): The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. In: *Acta neuropathologica* 131 (6), S. 803–820. DOI: 10.1007/s00401-016-1545-1.

Louis, David N.; Perry, Arie; Wesseling, Pieter; Brat, Daniel J.; Cree, Ian A.; Figarella-Branger, Dominique et al. (2021): The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. In: *Neuro-oncology* 23 (8), S. 1231–1251. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.

Lu, Chao; Ward, Patrick S.; Kapoor, Gurpreet S.; Rohle, Dan; Turcan, Sevin; Abdel-Wahab, Omar et al. (2012): IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. In: *Nature* 483 (7390), S. 474–478. DOI: 10.1038/nature10860.

Lu, Hsueh-Ju; Chuang, Chun-Yi; Chen, Mu-Kuan; Su, Chun-Wen; Yang, Wei-En; Yeh, Chia-Ming et al. (2022): The impact of ALDH7A1 variants in oral cancer development and prognosis. In: *Aging* 14 (10), S. 4556–4571. DOI: 10.18632/aging.204099.

Lucena-Cacace, Antonio; Otero-Albiol, Daniel; Jiménez-García, Manuel P.; Peinado-Serrano, Javier; Carnero, Amancio (2017): NAMPT overexpression induces cancer stemness and defines a novel tumor signature for glioma prognosis. In: *Oncotarget* 8 (59), S. 99514–99530. DOI: 10.18632/oncotarget.20577.

Luo, Min; Gates, Kent S.; Henzl, Michael T.; Tanner, John J. (2015): Diethylaminobenzaldehyde is a covalent, irreversible inactivator of ALDH7A1. In: *ACS chemical biology* 10 (3), S. 693–697. DOI: 10.1021/cb500977q.

- Martinez-Outschoorn, Ubaldo E.; Peiris-Pagés, Maria; Pestell, Richard G.; Sotgia, Federica; Lisanti, Michael P. (2017): Cancer metabolism: a therapeutic perspective. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 14 (1), S. 11–31. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.60.
- Matyash, Vitali; Liebisch, Gerhard; Kurzchalia, Teymuraz V.; Shevchenko, Andrej; Schwudke, Dominik (2008): Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. In: *Journal of lipid research* 49 (5), S. 1137–1146. DOI: 10.1194/jlr.D700041-JLR200.
- McBrayer, Samuel K.; Mayers, Jared R.; DiNatale, Gabriel J.; Shi, Diana D.; Khanal, Januka; Chakraborty, Abhishek A. et al. (2018): Transaminase Inhibition by 2-Hydroxyglutarate Impairs Glutamate Biosynthesis and Redox Homeostasis in Glioma. In: *Cell* 175 (1), 101-116.e25. DOI: 10.1016/j.cell.2018.08.038.
- Meiser, Johannes; Vazquez, Alexei (2016): Give it or take it: the flux of one-carbon in cancer cells. In: *The FEBS journal* 283 (20), S. 3695–3704. DOI: 10.1111/febs.13731.
- Mellinghoff, Ingo K.; Ellingson, Benjamin M.; Touat, Mehdi; Maher, Elizabeth; La Fuente, Macarena I. de; Holdhoff, Matthias et al. (2020): Ivosidenib in Isocitrate Dehydrogenase 1-Mutated Advanced Glioma. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 38 (29), S. 3398–3406. DOI: 10.1200/JCO.19.03327.
- Metallo, Christian M.; Gameiro, Paulo A.; Bell, Eric L.; Mattaini, Katherine R.; Yang, Juanjuan; Hiller, Karsten et al. (2011): Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. In: *Nature* 481 (7381), S. 380–384. DOI: 10.1038/nature10602.
- Miller, Julie J.; Fink, Alexandria; Banagis, Jack A.; Nagashima, Hiroaki; Subramanian, Megha; Lee, Christine K. et al. (2021): Sirtuin activation targets IDH-mutant tumors. In: *Neuro-oncology* 23 (1), S. 53–62. DOI: 10.1093/neuonc/noaa180.
- Miyata, Satsuki; Tominaga, Kaoru; Sakashita, Eiji; Urabe, Masashi; Onuki, Yoshiyuki; Gomi, Akira et al. (2019): Comprehensive Metabolomic Analysis of IDH1R132H Clinical Glioma Samples Reveals Suppression of β -oxidation Due to Carnitine Deficiency. In: *Scientific reports* 9 (1), S. 9787. DOI: 10.1038/s41598-019-46217-5.

Mohammed, Anaz; Zhang, Caixin; Zhang, Shuwen; Shen, Qin; Li, Jieying; Tang, Zhiyuan; Liu, Hua (2019): Inhibition of cell proliferation and migration in non-small cell lung cancer cells through the suppression of LYPLA1. In: *Oncology reports* 41 (2), S. 973–980. DOI: 10.3892/or.2018.6857.

Molenaar, Remco J.; Botman, Dennis; Smits, Myrthe A.; Hira, Vashendriya V.; van Lith, Sanne A.; Stap, Jan et al. (2015): Radioprotection of IDH1-Mutated Cancer Cells by the IDH1-Mutant Inhibitor AGI-5198. In: *Cancer research* 75 (22), S. 4790–4802. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3603.

Molenaar, Remco J.; Radivoyevitch, Tomas; Maciejewski, Jaroslaw P.; van Noorden, Cornelis J. F.; Bleeker, Fonnet E. (2014): The driver and passenger effects of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in oncogenesis and survival prolongation. In: *Biochimica et biophysica acta* 1846 (2), S. 326–341. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.05.004.

Molloy, A.R.; Lakhani, A.; Najac, C.; Subramani, E.; Gillespie, A.M.; Pieper, R.O. et al. (2019): Mutant isocitrate dehydrogenase 1/2 inhibition induces a unique MRS-detectable metabolic signature in low-grade gliomas. Online verfügbar unter https://radiology.ucsf.edu/sites/radiology.ucsf.edu/files/wysiwyg/research/imaging-symposium/2019_posters/24_molloy.pdf.

Moreira Franco, Yollanda E.; Alves, Maria Jose; Uno, Miyuki; Moretti, Isabele Fattori; Trombetta-Lima, Marina; Siqueira Santos, Suzana de et al. (2021): Glutaminolysis dynamics during astrocytoma progression correlates with tumor aggressiveness. In: *Cancer & metabolism* 9 (1), S. 18. DOI: 10.1186/s40170-021-00255-8.

Nagana Gowda, G. A.; Raftery, Daniel (2021): NMR-Based Metabolomics. In: S. Hu (Hg.): *Cancer Metabolomics. Advances in Experimental Medicine and Biology*, Bd. 1280: Springer, Cham (1280), S. 19–37.

Nagashima, Hiroaki; Lee, Christine K.; Tateishi, Kensuke; Higuchi, Fumi; Subramanian, Megha; Rafferty, Seamus et al. (2020): Poly(ADP-ribose) Glycohydrolase Inhibition Sequesters NAD⁺ to Potentiate the Metabolic Lethality of Alkylating Chemotherapy in IDH-Mutant Tumor Cells. In: *Cancer discovery* 10 (11), S. 1672–1689. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0226.

Nagashima, Hiroaki; Sasayama, Takashi; Tanaka, Kazuhiro; Kyotani, Katsusuke; Sato, Naoko; Maeyama, Masahiro et al. (2018): Myo-inositol concentration in MR spectroscopy for differentiating high grade glioma from primary central nervous system lymphoma. In: *Journal of neuro-oncology* 136 (2), S. 317–326. DOI: 10.1007/s11060-017-2655-x.

Nagashima, Hiroaki; Tanaka, Kazuhiro; Sasayama, Takashi; Irino, Yasuhiro; Sato, Naoko; Takeuchi, Yukiko et al. (2016): Diagnostic value of glutamate with 2-hydroxyglutarate in magnetic resonance spectroscopy for IDH1 mutant glioma. In: *Neuro-oncology* 18 (11), S. 1559–1568. DOI: 10.1093/neuonc/nov090.

Nakae, Shunsuke; Murayama, Kazuhiro; Sasaki, Hikaru; Kumon, Masanobu; Nishiyama, Yuya; Ohba, Shigeo et al. (2017): Prediction of genetic subgroups in adult supra tentorial gliomas by pre- and intraoperative parameters. In: *Journal of neuro-oncology* 131 (2), S. 403–412. DOI: 10.1007/s11060-016-2313-8.

Nakamura, Akito; Nambu, Tadahiro; Ebara, Shunsuke; Hasegawa, Yuka; Toyoshima, Kosei; Tsuchiya, Yasuko et al. (2018): Inhibition of GCN2 sensitizes ASNS-low cancer cells to asparaginase by disrupting the amino acid response. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (33), E7776-E7785. DOI: 10.1073/pnas.1805523115.

Noushmehr, Houtan; Weisenberger, Daniel J.; Diefes, Kristin; Phillips, Heidi S.; Pujara, Kanan; Berman, Benjamin P. et al. (2010): Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. In: *Cancer cell* 17 (5), S. 510–522. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.03.017.

Ohba, Shigeo; Hirose, Yuichi (2020): L-asparaginase and 6-diazo-5-oxo-L-norleucine synergistically inhibit the growth of glioblastoma cells. In: *Journal of neuro-oncology* 146 (3), S. 469–475. DOI: 10.1007/s11060-019-03351-4.

Ohka, Fumiharu; Ito, Maki; Ranjit, Melissa; Senga, Takeshi; Motomura, Ayako; Motomura, Kazuya et al. (2014): Quantitative metabolome analysis profiles activation of glutaminolysis in glioma with IDH1 mutation. In: *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 35 (6), S. 5911–5920. DOI: 10.1007/s13277-014-1784-5.

- Oliver, Stephen G.; Winson, Michael K.; Kell, Douglas B.; Baganz, Frank (1998): Systematic functional analysis of the yeast genome. In: *Trends in Biotechnology* 16 (9), S. 373–378. DOI: 10.1016/S0167-7799(98)01214-1.
- Ostrom, Quinn T.; Gittleman, Haley; Stetson, Lindsay; Virk, Selene; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2018a): Epidemiology of Intracranial Gliomas. In: *Progress in neurological surgery* 30, S. 1–11. DOI: 10.1159/000464374.
- Ostrom, Quinn T.; Gittleman, Haley; Truitt, Gabrielle; Boscia, Alexander; Kruchko, Carol; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2018b): CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011-2015. In: *Neuro-oncology* 20 (suppl_4), iv1-iv86. DOI: 10.1093/neuonc/now131.
- Ostrom, Quinn T.; Patil, Nirav; Cioffi, Gino; Waite, Kristin; Kruchko, Carol; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2020): CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013-2017. In: *Neuro-oncology* 22 (12 Suppl 2), iv1-iv96. DOI: 10.1093/neuonc/noaa200.
- Panosyan, Eduard H.; Lasky, Joseph L.; Lin, Henry J.; Lai, Albert; Hai, Yang; Guo, Xiuqing et al. (2016): Clinical aggressiveness of malignant gliomas is linked to augmented metabolism of amino acids. In: *Journal of neuro-oncology* 128 (1), S. 57–66. DOI: 10.1007/s11060-016-2073-5.
- Panosyan, Eduard H.; Wang, Yuntao; Xia, Peng; Lee, Wai-Nang Paul; Pak, Youngju; Laks, Dan R. et al. (2014): Asparagine depletion potentiates the cytotoxic effect of chemotherapy against brain tumors. In: *Molecular cancer research : MCR* 12 (5), S. 694–702. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0576.
- Parsons, D. Williams; Jones, Siân; Zhang, Xiaosong; Lin, Jimmy Cheng-Ho; Leary, Rebecca J.; Angenendt, Philipp et al. (2008): An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. In: *Science (New York, N.Y.)* (321), S. 1807–1812.
- Patti, Gary J.; Yanes, Oscar; Siuzdak, Gary (2012): Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. In: *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 13 (4), S. 263–269. DOI: 10.1038/nrm3314.
- Pavlidis, Stephanos; Whitaker-Menezes, Diana; Castello-Cros, Remedios; Flomenberg, Neal; Witkiewicz, Agnieszka K.; Frank, Philippe G. et al. (2009): The reverse Warburg

effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. In: *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 8 (23), S. 3984–4001. DOI: 10.4161/cc.8.23.10238.

Pavlova, Natalya N.; Hui, Sheng; Ghergurovich, Jonathan M.; Fan, Jing; Intlekofer, Andrew M.; White, Richard M. et al. (2018): As Extracellular Glutamine Levels Decline, Asparagine Becomes an Essential Amino Acid. In: *Cell metabolism* 27 (2), 428-438.e5. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.12.006.

Pavlova, Natalya N.; Thompson, Craig B. (2016): The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. In: *Cell metabolism* 23 (1), S. 27–47. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.006.

Peace, C. Asuzu; Chidiebere, U. Awah (2020): Amino acyl tRNA synthetase inhibitors is therapeutics for gliomas at sub nanomolar concentrations. In: *Afr. J. Biotechnol.* 19 (1), S. 43–50. DOI: 10.5897/AJB2019.16977.

Piacente, Francesco; Caffa, Irene; Ravera, Silvia; Sociali, Giovanna; Passalacqua, Mario; Vellone, Valerio G. et al. (2017): Nicotinic Acid Phosphoribosyltransferase Regulates Cancer Cell Metabolism, Susceptibility to NAMPT Inhibitors, and DNA Repair. In: *Cancer research* 77 (14), S. 3857–3869. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3079.

Platten, Michael; Bunse, Lukas; Wick, Antje; Bunse, Theresa; Le Cornet, Lucian; Harting, Inga et al. (2021): A vaccine targeting mutant IDH1 in newly diagnosed glioma. In: *Nature* 592 (7854), S. 463–468. DOI: 10.1038/s41586-021-03363-z.

Prabhu, Antony; Sarcar, Bhaswati; Kahali, Soumen; Yuan, Zhigang; Johnson, Joseph J.; Adam, Klaus-Peter et al. (2014): Cysteine catabolism: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma growth. In: *Cancer research* 74 (3), S. 787–796. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1423.

Pramono, Alvinsyah Adhityo; Rather, Gulam M.; Herman, Herry; Lestari, Keri; Bertino, Joseph R. (2020): NAD- and NADPH-Contributing Enzymes as Therapeutic Targets in Cancer: An Overview. In: *Biomolecules* 10 (358). DOI: 10.3390/biom10030358.

Pucci, Susanna; Fasoli, Francesca; Moretti, Milena; Benfante, Roberta; Di Lascio, Simona; Viani, Paola et al. (2021): Choline and nicotine increase glioblastoma cell proliferation by binding and activating $\alpha 7$ - and $\alpha 9$ - containing nicotinic receptors. In: *Pharmacological research* 163, S. 105336. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105336.

Ranninger, Christina; Schmidt, Lukas E.; Rurik, Marc; Limonciel, Alice; Jennings, Paul; Kohlbacher, Oliver; Huber, Christian G. (2016): Improving global feature detectabilities through scan range splitting for untargeted metabolomics by high-performance liquid chromatography-Orbitrap mass spectrometry. In: *Analytica Chimica Acta* 930, S. 13–22. DOI: 10.1016/j.aca.2016.05.017.

Rasmussen, Birthe Krogh; Hansen, Steinbjørn; Laursen, René J.; Kosteljanetz, Michael; Schultz, Henrik; Nørgård, Bente Mertz et al. (2017): Epidemiology of glioma: clinical characteristics, symptoms, and predictors of glioma patients grade I-IV in the the Danish Neuro-Oncology Registry. In: *Journal of neuro-oncology* 135 (3), S. 571–579. DOI: 10.1007/s11060-017-2607-5.

Reifenberger, Guido; Wirsching, Hans-Georg; Knobbe-Thomsen, Christiane B.; Weller, Michael (2017): Advances in the molecular genetics of gliomas - implications for classification and therapy. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 14 (7), S. 434–452. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.204.

Reitman, Zachary J.; Jin, Genglin; Karoly, Edward D.; Spasojevic, Ivan; Yang, Jian; Kinzler, Kenneth W. et al. (2011): Profiling the effects of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations on the cellular metabolome. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (8), S. 3270–3275. DOI: 10.1073/pnas.1019393108.

Reuss, David E.; Mamatjan, Yasin; Schrimpf, Daniel; Capper, David; Hovestadt, Volker; Kratz, Annkathrin et al. (2015a): IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. In: *Acta neuropathologica* 129 (6), S. 867–873. DOI: 10.1007/s00401-015-1438-8.

Reuss, David E.; Sahm, Felix; Schrimpf, Daniel; Wiestler, Benedikt; Capper, David; Koelsche, Christian et al. (2015b): ATRX and IDH1-R132H immunohistochemistry with subsequent copy number analysis and IDH sequencing as a basis for an "integrated" diagnostic approach for adult astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma. In: *Acta neuropathologica* 129 (1), S. 133–146. DOI: 10.1007/s00401-014-1370-3.

Roberts, Lee D.; Souza, Amanda L.; Gerszten, Robert E.; Clish, Clary B. (2012): Targeted metabolomics. In: *Current protocols in molecular biology* Chapter 30, Unit 30.2.1-24. DOI: 10.1002/0471142727.mb3002s98.

Rosi, Antonella; Ricci-Vitiani, Lucia; Biffoni, Mauro; Grande, Sveva; Luciani, Anna Maria; Palma, Alessandra et al. (2015): (1) H NMR spectroscopy of glioblastoma stem-like cells identifies alpha-aminoadipate as a marker of tumor aggressiveness. In: *NMR in biomedicine* 28 (3), S. 317–326. DOI: 10.1002/nbm.3254.

Ruiz-Rodado, Victor; Brender, Jeffery R.; Cherukuri, Murali K.; Gilbert, Mark R.; Larion, Mioara (2021a): Magnetic resonance spectroscopy for the study of cns malignancies. In: *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy* 122, S. 23–41. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2020.11.001.

Ruiz-Rodado, Victor; Dowdy, Tyrone; Lita, Adrian; Kramp, Tamalee; Zhang, Meili; Jung, Jinkyu et al. (2021b): Cysteine is a limiting factor for glioma proliferation and survival (579).

Ruiz-Rodado, Victor; Lita, Adrian; Dowdy, Tyrone; Celiku, Orieta; Saldana, Alejandra Cavazos; Wang, Herui et al. (2020a): Metabolic plasticity of IDH1-mutant glioma cell lines is responsible for low sensitivity to glutaminase inhibition. In: *Cancer & metabolism* 8, S. 23. DOI: 10.1186/s40170-020-00229-2.

Ruiz-Rodado, Victor; Seki, Tomohiro; Dowdy, Tyrone; Lita, Adrian; Zhang, Meili; Han, Sue et al. (2020b): Metabolic Landscape of a Genetically Engineered Mouse Model of IDH1 Mutant Glioma. In: *Cancers* 12 (6). DOI: 10.3390/cancers12061633.

Sahm, Felix; Reuss, David; Koelsche, Christian; Capper, David; Schittenhelm, Jens; Heim, Stephanie et al. (2014): Farewell to oligoastrocytoma: in situ molecular genetics favor classification as either oligodendroglioma or astrocytoma. In: *Acta neuropathologica* 128 (4), S. 551–559. DOI: 10.1007/s00401-014-1326-7.

Sarkar, Bibekananda; Kulharia, Mahesh; Mantha, Anil K. (2017): Understanding human thiol dioxygenase enzymes: structure to function, and biology to pathology. In: *International journal of experimental pathology* 98 (2), S. 52–66. DOI: 10.1111/iep.12222.

Sbodio, Juan I.; Snyder, Solomon H.; Paul, Bindu D. (2019): Regulators of the transsulfuration pathway. In: *British journal of pharmacology* 176 (4), S. 583–593. DOI: 10.1111/bph.14446.

Schiff, David; van den Bent, Martin; Vogelbaum, Michael A.; Wick, Wolfgang; Miller, C. Ryan; Taphoorn, Martin et al. (2019): Recent Developments and Future Directions in Adult Lower-Grade Gliomas: Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Association of Neuro-Oncology (EANO) Consensus. In: *Neuro-oncology*. DOI: 10.1093/neuonc/noz033.

Sen, Suvajit; Kawahara, Brain; Mahata, Sushil K.; Tsai, Rebecca; Yoon, Alexander; Hwang, Lin et al. (2016): Cystathionine: A novel oncometabolite in human breast cancer. In: *Archives of biochemistry and biophysics* 604, S. 95–102. DOI: 10.1016/j.abb.2016.06.010.

Sharma, Pratibha; Xu, Jihong; Williams, Katie; Easley, Michelle; Elder, J. Brad; Lonser, Russell et al. (2022): Inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT), the rate-limiting enzyme of the nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) salvage pathway, to target glioma heterogeneity through mitochondrial oxidative stress. In: *Neuro-oncology* 24 (2), S. 229–244. DOI: 10.1093/neuonc/noab175.

Shen, Dachuan; Tian, Lili; Yang, Fangyu; Li, Jun; Li, Xiaodong; Yao, Yiqun et al. (2021): ADO/hypotaurine: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma development. In: *Cell death discovery* 7 (1), S. 21. DOI: 10.1038/s41420-020-00398-5.

Shen, Xin; Voets, Natalie L.; Larkin, Sarah J.; Pennington, Nick de; Plaha, Puneet; Stacey, Richard et al. (2019): A Noninvasive Comparison Study between Human Gliomas with IDH1 and IDH2 Mutations by MR Spectroscopy. In: *Metabolites* 9 (2). DOI: 10.3390/metabo9020035.

Shiota, Megumi; Naya, Masayuki; Yamamoto, Takehiro; Hishiki, Takako; Tani, Takeharu; Takahashi, Hiroyuki et al. (2018): Gold-nanoparticle surface-enhanced Raman spectroscopy visualizes hypotaurine as a robust anti-oxidant consumed in cancer survival. In: *Nature communications* 9 (1), S. 1561. DOI: 10.1038/s41467-018-03899-1.

Smith, Bradley; Schafer, Xenia L.; Ambeskovic, Aslihan; Spencer, Cody M.; Land, Hartmut; Munger, Joshua (2016): Addiction to Coupling of the Warburg Effect with Glutamine Catabolism in Cancer Cells. In: *Cell reports* 17 (3), S. 821–836. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.09.045.

Sonkar, Kanchan; Ayyappan, Vinay; Tressler, Caitlin M.; Adelaja, Oluwatobi; Cai, Ruoqing; Cheng, Menglin; Glunde, Kristine (2019): Focus on the glycerophosphocholine pathway in choline phospholipid metabolism of cancer. In: *NMR in biomedicine* 32 (10), e4112. DOI: 10.1002/nbm.4112.

Sostare, Jelena; Di Guida, Riccardo; Kirwan, Jennifer; Chalal, Karnpreet; Palmer, Elliott; Dunn, Warwick B.; Viant, Mark R. (2018): Comparison of modified Matyash method to conventional solvent systems for polar metabolite and lipid extractions. In: *Analytica Chimica Acta* 1037, S. 301–315. DOI: 10.1016/j.aca.2018.03.019.

Spratlin, Jennifer L.; Serkova, Natalie J.; Eckhardt, S. Gail (2009): Clinical applications of metabolomics in oncology: a review. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 15 (2), S. 431–440. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1059.

Sreekumar, Arun; Poisson, Laila M.; Rajendiran, Thekkelnaycke M.; Khan, Amjad P.; Cao, Qi; Yu, Jindan et al. (2009): Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. In: *Nature* 457 (7231), S. 910–914. DOI: 10.1038/nature07762.

Strmiska, Vladislav; Michalek, Petr; Eckschlager, Tomas; Stiborova, Marie; Adam, Vojtech; Krizkova, Sona; Heger, Zbynek (2019): Prostate cancer-specific hallmarks of amino acids metabolism: Towards a paradigm of precision medicine. In: *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer* 1871 (2), S. 248–258. DOI: 10.1016/j.bbcan.2019.01.001.

Stupp, R.; Brada, M.; van den Bent, M. J.; Tonn, J-C; Pentheroudakis, G. (2014): High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 25 Suppl 3, iii93-101. DOI: 10.1093/annonc/mdu050.

Stupp, Roger; Mason, Warren P.; van den Bent, Martin J.; Weller, Michael; Fisher, Barbara; Taphoorn, Martin J. B. et al. (2005): Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. In: *The New England journal of medicine* 352 (10), S. 987–996. DOI: 10.1056/NEJMoa043330.

Suh, Chong Hyun; Kim, Ho Sung; Jung, Seung Chai; Choi, Choong Gon; Kim, Sang Joon (2019): Imaging prediction of isocitrate dehydrogenase (IDH) mutation in patients with glioma: a systemic review and meta-analysis. In: *European radiology* 29 (2), S. 745–758. DOI: 10.1007/s00330-018-5608-7.

Takano, Naoharu; Sarfraz, Yasmeen; Gilkes, Daniele M.; Chaturvedi, Pallavi; Xiang, Lisha; Suematsu, Makoto et al. (2014): Decreased expression of cystathionine β -synthase promotes glioma tumorigenesis. In: *Molecular cancer research : MCR* 12 (10), S. 1398–1406. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0184.

Tanaka, Kazuhiro; Sasayama, Takashi; Irino, Yasuhiro; Takata, Kumi; Nagashima, Hiroaki; Satoh, Naoko et al. (2015): Compensatory glutamine metabolism promotes glioblastoma resistance to mTOR inhibitor treatment. In: *The Journal of clinical investigation* 125 (4), S. 1591–1602. DOI: 10.1172/JCI78239.

Tanaka, Kazuhiro; Sasayama, Takashi; Nagashima, Hiroaki; Irino, Yasuhiro; Takahashi, Masatomo; Izumi, Yoshihiro et al. (2021): Glioma cells require one-carbon metabolism to survive glutamine starvation. In: *Acta neuropathologica communications* 9 (1), S. 16. DOI: 10.1186/s40478-020-01114-1.

Tang, Xiaoying; Fu, Xiao; Liu, Yang; Di Yu; Cai, Sabrina J.; Yang, Chunzhang (2020): Blockade of Glutathione Metabolism in IDH1-Mutated Glioma. In: *Molecular cancer therapeutics* 19 (1), S. 221–230. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0103.

Tateishi, Kensuke; Higuchi, Fumi; Miller, Julie J.; Koerner, Mara V. A.; Lelic, Nina; Shankar, Ganesh M. et al. (2017): The Alkylating Chemotherapeutic Temozolomide Induces Metabolic Stress in IDH1-Mutant Cancers and Potentiates NAD⁺ Depletion-Mediated Cytotoxicity. In: *Cancer research* 77 (15), S. 4102–4115. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2263.

Tateishi, Kensuke; Wakimoto, Hiroaki; Iafrate, A. John; Tanaka, Shota; Loebel, Franziska; Lelic, Nina et al. (2015): Extreme Vulnerability of IDH1 Mutant Cancers to NAD⁺ Depletion. In: *Cancer cell* 28 (6), S. 773–784. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.11.006.

Thomas, Tom M.; Miyaguchi, Ken; Edwards, Lincoln A.; Wang, Hongqiang; Wollebo, Hassen; Aiguo, Li et al. (2021): Elevated Asparagine Biosynthesis Drives Brain Tumor

Stem Cell Metabolic Plasticity and Resistance to Oxidative Stress. In: *Molecular cancer research : MCR* 19 (8), S. 1375–1388. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0086.

Thompson, Emily G.; Sontheimer, Harald (2019): Acetylcholine Receptor Activation as a Modulator of Glioblastoma Invasion. In: *Cells* 8 (10). DOI: 10.3390/cells8101203.

Tikunov, Andrey P.; Tipton, Jeremiah D.; Garrett, Timothy J.; Shinde, Sachi V.; Kim, Hong Jin; Gerber, David A. et al. (2022): Green Chemistry Preservation and Extraction of Biospecimens for Multi-omic Analyses. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 2394, S. 267–298. DOI: 10.1007/978-1-0716-1811-0_17.

Tiwari, Vivek; Daoud, Elena V.; Hatanpaa, Kimmo J.; Gao, Ang; Zhang, Song; An, Zhongxu et al. (2020): Glycine by MR spectroscopy is an imaging biomarker of glioma aggressiveness. In: *Neuro-oncology* 22 (7), S. 1018–1029. DOI: 10.1093/neuonc/noaa034.

Trautwein, Christoph; Zizmare, Laimdota; Mäurer, Irina; Bender, Benjamin; Bayer, Björn; Ernemann, Ulrike et al. (2022): Tissue metabolites in diffuse glioma and their modulations by IDH1 mutation, histology, and treatment. In: *JCI insight* 7 (3). DOI: 10.1172/jci.insight.153526.

Turcan, Sevin; Rohle, Daniel; Goenka, Anuj; Walsh, Logan A.; Fang, Fang; Yilmaz, Emrullah et al. (2012): IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. In: *Nature* 483 (7390), S. 479–483. DOI: 10.1038/nature10866.

Ueki, Iori; Stipanuk, Martha H. (2009): 3T3-L1 adipocytes and rat adipose tissue have a high capacity for taurine synthesis by the cysteine dioxygenase/cysteinesulfinate decarboxylase and cysteamine dioxygenase pathways. In: *The Journal of nutrition* 139 (2), S. 207–214. DOI: 10.3945/jn.108.099085.

Vazquez, Alexei; Kamphorst, Jurre J.; Markert, Elke K.; Schug, Zachary T.; Tardito, Saverio; Gottlieb, Eyal (2016): Cancer metabolism at a glance. In: *Journal of cell science* 129 (18), S. 3367–3373. DOI: 10.1242/jcs.181016.

Vettukattil, Riyas; Gulati, Michel; Sjøbakk, Torill E.; Jakola, Asgeir S.; Kvernmo, Nadja A. M.; Torp, Sverre H. et al. (2013): Differentiating diffuse World Health Organization

grade II and IV astrocytomas with ex vivo magnetic resonance spectroscopy. In: *Neurosurgery* 72 (2), 186-95; discussion 195. DOI: 10.1227/NEU.0b013e31827b9c57.

Viswanath, Pavithra; Radoul, Marina; Izquierdo-Garcia, Jose Luis; Luchman, Hema Artee; Gregory Cairncross, J.; Pieper, Russell O. et al. (2018a): Mutant IDH1 gliomas downregulate phosphocholine and phosphoethanolamine synthesis in a 2-hydroxyglutarate-dependent manner. In: *Cancer & metabolism* 6, S. 3. DOI: 10.1186/s40170-018-0178-3.

Viswanath, Pavithra; Radoul, Marina; Izquierdo-Garcia, Jose Luis; Ong, Wei Qiang; Luchman, Hema Artee; Cairncross, J. Gregory et al. (2018b): 2-Hydroxyglutarate-Mediated Autophagy of the Endoplasmic Reticulum Leads to an Unusual Downregulation of Phospholipid Biosynthesis in Mutant IDH1 Gliomas. In: *Cancer research* 78 (9), S. 2290–2304. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2926.

Waitkus, Matthew S.; Diplas, Bill H.; Yan, Hai (2016): Isocitrate dehydrogenase mutations in gliomas. In: *Neuro-oncology* 18 (1), S. 16–26. DOI: 10.1093/neuonc/nov136.

Waitkus, Matthew S.; Diplas, Bill H.; Yan, Hai (2018a): Biological Role and Therapeutic Potential of IDH Mutations in Cancer. In: *Cancer cell* 34 (2), S. 186–195. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.04.011.

Waitkus, Matthew S.; Pirozzi, Christopher J.; Moure, Casey J.; Diplas, Bill H.; Hansen, Landon J.; Carpenter, Austin B. et al. (2018b): Adaptive Evolution of the GDH2 Allosteric Domain Promotes Gliomagenesis by Resolving IDH1R132H-Induced Metabolic Liabilities. In: *Cancer research* 78 (1), S. 36–50. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1352.

Walsby-Tickle, John; Gannon, Joan; Hvinden, Ingvild; Bardella, Chiara; Abboud, Martine I.; Nazeer, Areesha et al. (2020): Anion-exchange chromatography mass spectrometry provides extensive coverage of primary metabolic pathways revealing altered metabolism in IDH1 mutant cells. In: *Communications biology* 3 (1), S. 247. DOI: 10.1038/s42003-020-0957-6.

Wang, Pu; Wu, Jing; Ma, Shenghong; Zhang, Lei; Yao, Jun; Hoadley, Katherine A. et al. (2015): Oncometabolite D-2-Hydroxyglutarate Inhibits ALKBH DNA Repair Enzymes

and Sensitizes IDH Mutant Cells to Alkylating Agents. In: *Cell reports* 13 (11), S. 2353–2361. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.11.029.

Wang, Xiaopeng; Ye, Zaisheng; Zeng, Yi; Wang, Yi; Wei, Shenghong; Lin, Zhitao et al. (2022): High Expression of ISYNA1 Predicts Unfavourable Prognosis in Patients with Colorectal Cancer.

Wang, Zeyu; Mo, Yuyao; Tan, Ying; Wen, Zhihui; Dai, Ziyu; Zhang, Hao et al. (2021): The ALDH Family Contributes to Immunocyte Infiltration, Proliferation and Epithelial-Mesenchymal Transformation in Glioma. In: *Frontiers in immunology* 12, S. 756606. DOI: 10.3389/fimmu.2021.756606.

Warburg, O. (1956): On the origin of cancer cells. In: *Science (New York, N.Y.)* 123 (3191), S. 309–314. DOI: 10.1126/science.123.3191.309.

Ward, Patrick S.; Patel, Jay; Wise, David R.; Abdel-Wahab, Omar; Bennett, Bryson D.; Collier, Hilary A. et al. (2010): The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. In: *Cancer cell* 17 (3), S. 225–234. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.01.020.

Watanabe, Takuya; Nobusawa, Sumihito; Kleihues, Paul; Ohgaki, Hiroko (2009): IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. In: *The American journal of pathology* 174 (4), S. 1149–1153. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080958.

Wei, Yiliang; Huang, Yu-Han; Skopelitis, Damianos S.; Iyer, Shruti V.; Costa, Ana S. H.; Yang, Zhaolin et al. (2022): SLC5A3-Dependent Myo-inositol Auxotrophy in Acute Myeloid Leukemia. In: *Cancer discovery* 12 (2), S. 450–467. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-1849.

Weller, Michael; van den Bent, Martin; Preusser, Matthias; Le Rhun, Emilie; Tonn, Jörg C.; Minniti, Giuseppe et al. (2021): EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 18 (3), S. 170–186. DOI: 10.1038/s41571-020-00447-z.

Weller, Michael; van den Bent, Martin; Tonn, Jörg C.; Stupp, Roger; Preusser, Matthias; Cohen-Jonathan-Moyal, Elizabeth et al. (2017): European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and

oligodendroglial gliomas. In: *The Lancet Oncology* 18 (6), e315-e329. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30194-8.

Weller, Michael; Wick, Wolfgang; Aldape, Ken; Brada, Michael; Berger, Mitchell; Pfister, Stefan M. et al. (2015): Glioma. In: *Nature reviews. Disease primers* 1, S. 1–18. DOI: 10.1038/nrdp.2015.17.

Wen, He; Cho, Hye Rim; Yun, Taeho; Kim, Hyeonjin; Park, Chul-Kee; Lee, Se-Hoon et al. (2015): Metabolomic comparison between cells over-expressing isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutants and the effects of an inhibitor on the metabolism. In: *Journal of neurochemistry* 132 (2), S. 183–193. DOI: 10.1111/jnc.12950.

Wen, Patrick Y.; Weller, Michael; Lee, Eudocia Quant; Alexander, Brian M.; Barnholtz-Sloan, Jill S.; Barthel, Floris P. et al. (2020): Glioblastoma in adults: a Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) consensus review on current management and future directions. In: *Neuro-oncology* 22 (8), S. 1073–1113. DOI: 10.1093/neuonc/noaa106.

Wenger, Katharina J.; Hattingen, Elke; Franz, Kea; Steinbach, Joachim; Bähr, Oliver; Pilatus, Ulrich (2019): In vivo Metabolic Profiles as Determined by 31P and short TE 1H MR-Spectroscopy : No Difference Between Patients with IDH Wildtype and IDH Mutant Gliomas. In: *Clinical neuroradiology* 29 (1), S. 27–36. DOI: 10.1007/s00062-017-0630-8.

Wirsching, Hans-Georg; Galanis, Evanthia; Weller, Michael (2016): Glioblastoma. In: *Handbook of clinical neurology* 134, S. 381–397. DOI: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2.

Wishart, David S. (2016): Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. In: *Nature reviews. Drug discovery* 15 (7), S. 473–484. DOI: 10.1038/nrd.2016.32.

Wishart, David S.; Guo, AnChi; Oler, Eponine; Wang, Fei; Anjum, Afia; Peters, Harrison et al. (2022): HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. In: *Nucleic acids research* 50 (D1), D622–D631. DOI: 10.1093/nar/gkab1062.

Wu, Jing (2022): Targeting nicotinamide adenosine dinucleotide (NAD) in diffuse gliomas. In: *Neuro-oncology* 24 (2), S. 245–246. DOI: 10.1093/neuonc/noab265.

Xu, Wei; Yang, Hui; Liu, Ying; Yang, Ying; Wang, Ping; Kim, Se-Hee et al. (2011): Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. In: *Cancer cell* 19 (1), S. 17–30. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.12.014.

Yaku, Keisuke; Okabe, Keisuke; Hikosaka, Keisuke; Nakagawa, Takashi (2018): NAD Metabolism in Cancer Therapeutics. In: *Frontiers in oncology* 8, S. 622. DOI: 10.3389/fonc.2018.00622.

Yan, Hai; Parsons, D. Williams; Jin, Genglin; McLendon, Roger; Rasheed, B. Ahmed; Yuan, Weishi et al. (2009): IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. In: *The New England journal of medicine* 360 (8), S. 765–773. DOI: 10.1056/NEJMoa0808710.

Zhao, Hua; Heimberger, Amy B.; Lu, Zhimin; Wu, Xifeng; Hodges, Tiffany R.; Song, Renduo; Shen, Jie (2016): Metabolomics profiling in plasma samples from glioma patients correlates with tumor phenotypes. In: *Oncotarget* 7 (15), S. 20486–20495. DOI: 10.18632/oncotarget.7974.

Zhou, Lina; Wang, Zhichao; Hu, Chunxiu; Zhang, Chaoqi; Kovatcheva-Datchary, Petia; Di Yu et al. (2019): Integrated Metabolomics and Lipidomics Analyses Reveal Metabolic Reprogramming in Human Glioma with IDH1 Mutation. In: *Journal of proteome research* 18 (3), S. 960–969. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00663.

Zhou, Yiqiang; Jin, Guishan; Mi, Ruifang; Zhang, Junwen; Zhang, Jin; Xu, Hengzhou et al. (2016): Inhibition of fatty acid synthase suppresses neovascularization via regulating the expression of VEGF-A in glioma. In: *Journal of cancer research and clinical oncology* 142 (12), S. 2447–2459. DOI: 10.1007/s00432-016-2249-6.

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Zentrum für Neurologie mit interdisziplinärem Schwerpunkt Neuroonkologie unter Betreuung von Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai, habilitierter Betreuerin und Dr. med. Irina Mäurer, Betreuerin. Die Vorbereitung der Proben inklusive Pulverisierung, Lyophilisierung und Homogenisierung wurde von mir nach Einarbeitung durch Dr. Christoph Trautwein, Werner Siemens Imaging Center, eigenständig durchgeführt. Die Phasentrennung und Analyse der Proben in der NMR erfolgte durch Dr. Christoph Trautwein. Die Analyse der Proben mittels LC-MS erfolgte in einem kommerziellen Kit (Absolute IDQ p 180, Biocrates Life Sciences ®) durch Janina d'Alvise, Zentrum für medizinische Bioanalytik, Universität Tübingen. Die Erfassung und statistische Auswertung aller Patientendaten erfolgte durch mich. Die statistische Auswertung der Messdaten mittels MetaboAnalyst 4.0 wurde von Dr. Christoph Trautwein durchgeführt. Der Vergleich der Gruppen mit den so generierten Rohdaten durch Student's t-Test bzw. Welch-Test mittels IBM® SPSS Statistics 26.0 erfolgte durch mich. Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

8 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in den folgenden Publikationen veröffentlicht:

Trautwein, Christoph; Zizmare, Laimdota; Mäurer, Irina; Bender, Benjamin; Bayer, Björn; Ernemann, Ulrike et al. (2022): Tissue metabolites in diffuse glioma and their modulations by IDH1 mutation, histology, and treatment. In: *JCI insight* 7 (3). DOI: 10.1172/jci.insight.153526.