

Die Mistel in der Tumorthherapie

Grundlagenforschung und Klinik

3. Mistelsymposium
in Nonnweiler-Otzenhausen

20. – 22. November 2003

Abstracts

Leitung:

Dr. Rainer Scheer, Carl Gustav Carus-Institut,
Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn
Tel. 07233 68418; Fax 07233 68413 e-mail scheer.carus@t-online.de

Wissenschaftliche Organisation

Prof. Dr. Rudolf Bauer, Institut für Pharmakognosie der Karl-Franzens-Universität Graz,
Universitätsplatz 4, A-8010 Graz
Tel. +43 (0)316-380-8700; Fax +43 (0)316-380-9860; e-mail rudolf.bauer@kfuni-graz.ac.at

Prof. Dr. Hans Becker, Pharmakognosie und Analyt. Phytochemie,
Universität des Saarlandes, Im Stadtwald 32, 66123 Saarbrücken
Tel. 0681 3022420; Fax 0681 3022476; e-mail hans.becker@mx.uni-saarland.de

Prof. Dr. Volker Fintelmann, Carl Gustav Carus Akademie e.V.
Rissener Landstr. 193, 22559 Hamburg
Tel. 040 8199800; Fax 040 81998080; e-mail info@carus-akademie.de

Prof. em. Dr. Dr. h.c. mult. Fritz H. Kemper
Umweltprobenbank des Bundes – Teilbank Humanproben und Datenbank –
Universität Münster, 48129 Münster
Tel. 0251 83-56065; Fax 0251 83-55524; e-mail kemperf@uni-muenster.de

Prof. Dr. Dr. h.c. Heinz Schilcher, Zentralverband der Ärzte für Naturheilverfahren und
Regulationsmedizin, c/o Alfred Neumann Anger 17, 81737 München
Tel./Fax 089 6352942; e-mail schilcher_h@hotmail.com

Veranstalter

Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft
Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung
Gesellschaft für Phytotherapie
Karl und Veronica Carstens-Stiftung
Gesellschaft anthroposophischer Ärzte in Deutschland
Zentralverband der Ärzte für Naturheilverfahren und Regulationsmedizin

Tagungsadresse

Europäisches Bildungszentrum Otzenhausen (ebz)

Europahausstraße

D-66620 Nonnweiler-Otzenhausen

Tel.: +49 (0) 6873/662-0

Fax: +49 (0) 6873/662-150

Email: info@ebz-otzenhausen.de

Die Mistel in der Tumorthherapie

Grundlagenforschung und Klinik

3. Mistelsymposium

20. – 22. November 2003

Inhalt

Vorwort

Übersichtsreferate

Fintelmann V.: „Die Interaktion von Mistel und Ich, Zur anthroposophischen Begründung der Misteltherapie“	1
Becker H.: „Inhaltsstoffe der Mistel“	2
Scheffler A.: „Wechselwirkungen von Mistelinhaltsstoffen“	3
Matthes H.: „Beurteilungskriterien in der onkologisch klinischen Anwendung der Misteltherapie“	4
Saller R.: „Zu den unerwünschten Wirkungen von Mistelpräparaten“	5
Kienle G.S.: „Misteltherapie bei Krebserkrankungen: Eine systematische Übersicht kontrollierter klinischer Studien“	6
Horneber M.A.: „Implikationen für die klinische Forschung aus einer systematischen Übersichtsarbeit zur Misteltherapie“	7
Schirmacher V.: „Tumorspezifische Gedächtniszellen und deren Einsatz für innovative Immuntherapien.“	8
Klein R.: „Effekte von Mistelextrakten auf immunkompetente Zellen <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> und ihre mögliche Bedeutung für die Therapie von Tumorerkrankungen und andere klinische Entitäten“	9

Kurzreferate

Dorka R., Hellrung W.: Der Rhythmus von Nutationsbewegungen von <i>Viscum album</i> L. unter Konstantbedingungen	10
Baumgartner S., Flückiger H., Schaller G., Rossi D.S., Urech K.: Untersuchung des Iscador-Maschinenprozesses in zytotoxischen und phytopathologischen Modellsystemen	11
Winkler K., Jäger S., Leneweit G., Schubert R., Pfüller U., Scheffler A.: Vesikel und Triterpenoide: Galenik lipophiler Substanzen in wässrigen Mistelextrakten	12
Giudici M., Villalaín J., Pfüller K., Pfüller U.: Membrane Activity of Viscotoxins A3 and B – Interactions with Membrane Model Systems	13
Hermann L., Pfüller U., Scheffler A.: Nachweis der Wechselwirkungen zwischen misteleigener DNA und Viscotoxinen	14
Lavelle E.C., Grant G., Pfüller K., Pfüller U.: Mistletoe Lectins are Strong Mucosal Adjuvants	15
Voelter W., Franz M., Wacker R., Stoeva S.: Struktur und Funktion Chitin-bindender Mistellektine	16
Huber R., Rostock M., Luedtke R., Werner M., Klein R.: Der Einfluß des Mistellektins auf Differentialblutbild und Lokalreaktionen – eine doppelblinde, randomisierte Studie bei Gesunden	17
Wispler M., Kappler M., Soto Vera D., Reif M., Schnelle M., Zänker K.S.: Prospektive, randomisierte, teil-kontrollierte Studie zur Aktivierung des Homings und des allgemeinen Aktivitätsniveaus von T-Lymphozyten durch subkutane Mistel-Extrakt-Injektionen bei gesunden männlichen Probanden	18
Kovacs E.: The profile of <i>Viscum album</i> extract. Immunological and molecular biological investigations.	19

Hugo F., Heyder C., Dittmar T., Zänker K.S., Kuehn J.J.: Molekularbiologische und proteinchemische Charakterisierung des Einflusses von Iscador® P auf die Expression von IL-6, IL-6R und gp130 bei B-NHL-Zelllinien	20
Kuehn J.J.: Neue Erkenntnisse und Erfahrungen zur Misteltherapie der malignen Lymphome	21
Stein G.M., Büssing A., Schietzel M.: Einfluss von Mistelextrakten auf die Generierung und Ausreifung Dendritischer Zellen <i>in vitro</i>	22
Büssing A., Bischof M., Hatzmann W., Bartzsch F., Soto-Vera D., Fronk E.-M., Gmeindl M., Stein G.M.: Hemmung der operations-assoziierten Depression der Granulozytenfunktion durch eine einmalige peri-operative intravenöse Applikation eines <i>Viscum album L.</i> -Extraktes	23
Auerbach L.: Signifikant höhere aktivierte NK-Zellzahlen durch additive Misteltherapie bei chemotherapierten Mamma-Ca-Patientinnen in einer doppelblinden Pilotstudie	24
Schink M., Glaser F., Scheuerecker H., Tröger W., Goyert A.: Zusammenhang zwischen Aktivität und Anzahl der Natürlichen Killerzellen im peripheren Blut von Krebspatienten mit klinischem Verlauf und Befindlichkeit unter Misteltherapie – Ergebnisse einer monozentrischen, einarmigen, prospektiven und verlaufskontrollierten Phase IV-Studie	25
Beuth J.: Stellenwert der standardisierten Mistelextrakttherapie im wissenschaftlichen Kontext	26
Büssing A., Schink M., Schietzel M., Stein G.M.: Stimulation kultivierter Tumorzellen durch Subnanogramm-Konzentration von ML I oder <i>Viscum album L.</i> -Extrakte lässt sich nicht bestätigen	27
Kelter G., Fiebig H.-H.: Ausschluss einer Tumorstimulation durch Iscador®-Präparate <i>in vitro</i> in einem Panel von 26 humanen Tumorzelllinien	28
Rostock M., Huber R., Greiner T., Fritz P., Scheer R., Fiebig H.H.: Antitumorale Aktivität intratumoraler Injektionen eines lektinreichen Mistelextraktes in humanen Pankreas-Ca-Xenografts	29
Matthes B., Fritz P., Mürdter T.E., Kröz M., von Laue H.B., Matthes H.: Untersuchungen zur Immunreaktion nach intraläsionaler <i>Viscum</i> applikation und klinischem Outcome	30
Mengs U., Elsässer-Beile U., Leiber C., Wetterauer U.: Lokale Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms mit standardisiertem Mistelextrakt	31
Kienle G.S.: Verbesserung der Qualität therapeutischer Einzelfallberichte in der Onkologie - Kriterien und Checkliste	32
Kröz M., Brauer D., Pickartz H., Girke M.: Therapieerfahrung mit Mistel beim Pleuramesotheliom	33
Schad F., Hars O., Tabali M., Lemmens H.-P., Matthes H.: Retrospektive Untersuchung zur Misteltherapie bei Patienten mit kolorektalem Karzinom am Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe 1/1996-6/2002	34
Cazacu M., Oniu T., Lungoci C., Mihailov A.: Isorel treatment effects on patients operated on for colo-rectal cancer	35
Stoll G.: <i>Viscum album</i> und EBM – Zur Studienlage der lektinnormierten Misteltherapie	36
Loewe-Mesch A., von Hagens C., Kuehn J.J., Abel U., Gerhard I.: Feasibility-Studie zur Misteltherapie bei postoperativen Mammakarzinompatientinnen unter Chemotherapie. Ergebnisse zu Immunparametern, Lebensqualität und Verträglichkeit von Mistel- und Chemotherapie	37
Schierholz J.M.: Einfluss einer additiven Misteltherapie auf die Lebensqualität von Krebspatienten unter Chemotherapie, Ergebnisse einer prospektiv-randomisierten Studie	38
Bock P.R., Friedel W.E., Hanisch J., Karasmann M., Schneider B.: Retrolektive kontrollierte Kohortenstudien mit Parallelgruppendesign für die Untersuchung der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit eingeführter Arzneimittel („drugs of established use“): Erfahrungen aus eine Studie mit Mistel-Langzeittherapie zusätzlich zur adjuvanten onkologischen Therapie bei Patientinnen mit primärem, nicht-metastasierten Mammakarzinom	39/40
Ziegler R., Grossarth-Maticsek R.: Randomisierte und nicht randomisierte Kohortenstudien im Matched-Pair-Design zur Misteltherapie (Iscador®) bei gynäkologischen Karzinomen	41

Poster

Franz M., Vollmer S., Wacker R., Jäger S., Scheer R., Stoeva S., Voelter W.: Isolierung und Quantifizierung der chitinbindenden Mistellektine (cbMLs) aus Mistelextrakten und deren Validierung	42
Fritz P., Dippon J., Kierschke T., Siegle I., Möhring A., Moisa A., Mürdter T.E.: Impact of Mistletoe lectin in breast cancer	43
Girmann B., Debreczeni J.É., Sheldrick G.M., Zecek A.: Vergleichende Cytotoxizitätsstudien und Röntgenstrukturen von Viscotoxin Isoformen aus Mistelextrakten	44
Grah C., Matthes B.: Fall - Kontrollanalyse zur intraläsionalen Viscum-Therapie bei endobronchial erreichbarem Bronchialkarzinom	45
Jäger S., Eisenbraun J., Baiér R., Schmid B., Girmann B., Zecek A., Scheer R.: Machbarkeitsstudie zur Entwicklung einer LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Viscotoxin A2 in Ratten-Serum	46
Jäger S., Pfüller U., Scheffler A.: Bestimmung von Triterpenoiden in <i>Viscum album</i> L. und deren wässrigen Extrakten	47
Matthes B., Mühlenfeld K., Langner A., Matthes H.: Fremdstoffmetabolische Charakterisierung von Mistelpräparaten an der Leberzelle (HepG2)	48
Schad F., Matthes B., Pissarek J., Albrecht U., Matthes H.: Flexible Datenbank zur Tumor- und Misteltherapiedokumentation, Qualitätssicherung, Dokumentation und Statistik, QuaDoSta, eine „open source“ Lösung zur onkologischen Dokumentation	49
Sidler F., Wermelinger T., Rist L., Scheer R., Viviani A., Hensel A.: Influence of different mistletoe preparations on <i>in vitro</i> cell physiology of different cancer cells	50
Tonevitsky A.G., Agapov I.I., Prevzner I.B., Maluchenko A.V., Moisenovich M.M., Yurkova M., Pfüller K., Pfüller U.: A New Gene Encoding the Ribosome-inactivating Protein MLIII from Mistletoe Extracts	51
Urech K., Scher J., Hostanska K., Becker H.: Triterpene der Mistel (<i>Viscum album</i> L.) in der „leimartigen Substanz“ Viscin und ihre antiproliferative Wirkung	52
Winkler K., Leneweit G., Kimpfler A., Schubert R.: Charakterisierung von Vesikeln in Mistelextrakt	53
Zerm R., Kröz M., Matthes H.: Intravenöse Misteltherapie zu einer Ardanan-Chemotherapie bei einer Patientin mit metastasiertem Colon Carcinom	54

Rahmenprogramm

Schorer G.: Das Mistelmotiv auf Postkarten. Ein Kapitel aus der Kulturgeschichte der Mistel.	55
Bopp A.: Die Mistel im Spiegel der Medien	56

Autorenverzeichnis

57

Vorwort

Mit diesem Symposium wird eine Reihe von Mistelsymposien fortgeführt, die etwa alle 4 Jahre stattfinden. Die Tagung steht unter dem Thema „Die Mistel in der Tumortherapie – Grundlagenforschung und Klinik“ und wird von der Karl und Veronica Carstens-Stiftung gemeinsam mit der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, der Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, der Gesellschaft für Phytotherapie, der Gesellschaft anthroposophischer Ärzte in Deutschland und dem Zentralverband der Ärzte für Naturheilverfahren und Regulationsmedizin veranstaltet. Allen Veranstaltern sei an dieser Stelle für die großzügige finanzielle Förderung des Symposiums gedankt.

Diese Symposien hatten und haben zum Ziel, Naturwissenschaftler und Ärzte zusammenkommen zu lassen, um ein Forum für eine Diskussion – auch unterschiedlicher Standpunkte – zu schaffen. So kann die Anwendung von Mistelpräparaten weiterentwickelt werden, und so lassen sich ihre Möglichkeiten und Grenzen erkennen. Der interdisziplinäre Dialog, über die Grenzen der Therapierichtungen hinweg, ist uns sehr wichtig. Die angemeldeten Beiträge lassen erwarten, dass dieses Ziel erreicht werden kann.

In 9 Übersichts-, 32 Kurzreferaten sowie 13 Postern wird der Stand des derzeitigen Wissens dargestellt. Allein diese Zahlen belegen, dass es seit dem letzten Mistel-Symposium eine ganze Reihe neuer Erkenntnisse in der Grundlagenforschung und für die Verbesserung der Therapie gegeben hat. Leider ist der große Durchbruch nach wie vor (noch) nicht geschafft. Die Tatsache, daß die Misteltherapie eine der wichtigsten unkonventionellen Methoden in der Krebstherapie ist, darf nicht nur als Bestätigung, sondern muss als ein Auftrag verstanden werden, die Forschung voranzutreiben und neue Erkenntnisse zu gewinnen.

Die Organisatoren erhoffen sich von diesem Symposium, dass Impulse gesetzt und Mut gemacht wird zu weiterer Forschung, und dass überzeugende Daten geliefert werden für einem besseren und sachlich orientierten Dialog zwischen Ärzten der Schulmedizin und Kollegen der besonderen Therapierichtungen (Anthroposophie, Homöopathie, Phytotherapie).

Der vorliegende Band enthält alle Abstracts der Beiträge, nach Themen gegliedert. Es ist schon fast eine Tradition, dass die vollen Beiträge in Buchform später einer breiteren Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden.

Rainer Scheer, Rudolf Bauer, Hans Becker, Volker Fintelmann,
Fritz H. Kemper, Heinz Schilcher

Im Oktober 2003

Übersichtsreferate

Die Interaktion von Mistel und Ich

Zur anthroposophischen Begründung der Misteltherapie

Es ist allgemein bekannt und wird auch fast immer erwähnt, dass die Anregung zur Anwendung der weißbeerigen Mistel (*Viscum album* L.) als Krebsheilmittel von Rudolf Steiner (1861-1925) stammt, dem Begründer der Anthroposophie. In Folge davon haben dann Pharmazeuten und Ärzte gemäß der anthroposophischen Methode in der Medizin Mistelpräparate entwickelt und angewendet. Insbesondere durch die naturwissenschaftliche, stoffbezogene Grundlagenforschung einschließlich der Immunologie wurden zunehmend die Hinweise Steiners vergessen, **warum** die Mistel ein Spezifikum gegen den Krebs sein könnte.

Die von ihm angeregte und von Ärzten aufgegriffene „anthroposophische Medizin“ gründet durchaus auf der naturwissenschaftlichen Methode, sieht jedoch die Notwendigkeit, diese durch Einbeziehung des Geistig-Seelischen im Menschen zu ergänzen. Es ging und geht um eine Spiritualisierung der Medizin, und das betrifft ebenso die scheinbar etablierte Misteltherapie, die inzwischen auch durch Präparate der Phytotherapie verwendet wird. Welche Beziehung besteht zwischen der Mistel und dem seelisch-geistigen Menschenanteil, oder – noch unmittelbarer – dem Ich? Steiner beschreibt als den wirklichen Menschen das Ich. Leib und Seele sind von ihm als „Hüllen“ des Ichs bezeichnet worden, wir können sie auch als „instrumental“ bezeichnen. Das Ich vermittelt sich als „Selbst“ z.B. durch das Immunsystem und steuert alle Körpervorgänge so, dass bis in diese hinein die Einzigartigkeit der Individualität sichtbar und nachweisbar wird. Der gesunde Mensch ist in allen Seinsebenen (Leib, Seele und Geist) auf Einmaligkeit, auf Identität veranlagt. Nichts darf in ihm Fremdnatur sein. Diese Identität wird durch die Krebskrankheit infrage gestellt.

Die anthroposophischen Mistelpräparate interagieren mit dem Ich auf zweierlei Art: zum einen fordern sie es heraus, sich als Selbst zu erfassen und seine Identität in den ganzen Organismus hinein zu vermitteln. Die Autonomie der Krebszellen muss überwunden werden, was durch immunologische Aktionen bewirkt werden kann. Zum anderen stellen sie sich in den Dienst des Ichs, indem sie Wärmeprozesse aufbauen, durch welche das Ich im Organismus wirksam wird. Beide Seiten werden heute in dem Autonomiebestreben angesprochen.

Um die therapeutische Wirksamkeit von anthroposophisch deklarierten Mistelpräparaten richtig zu erfassen, muss dieser seelisch-geistige Aspekt ihrer Wirksamkeit genauso ernst genommen werden wie die Wirkungen, welche die Misteltherapie im Körper schafft und wodurch sie naturwissenschaftlich nachweisbar wird. Erst dann wird durch die Misteltherapie auch die Ganzheit einer Krebskrankheit erfasst.

Prof. Dr. med. Volker Fintelmann
Carl Gustav Carus Akademie
Rissener Landstraße 193
D – 22559 Hamburg

Inhaltsstoffe der Mistel

Hans Becker,

FR Pharmakognosie und Analytische Phytochemie

Universität des Saarlandes, Postfach 15 11 50, 66041 Saarbrücken

Tel.: 0681 302 2420, FAX 0681 302 2476, e-mail: hans.becker@mx.uni-saarland.de

Die für die antitumorale Therapie relevanten Inhaltsstoffe der europäischen Mistel (*Viscum album* L.) sind seit längerer Zeit bekannt und gut untersucht. Es sind zum einen die Lektine, zum anderen die Viscotoxine. Eine Übersicht findet sich unter anderem bei Pfüller (2000). Da jedoch bis jetzt Extrakte der Mistel verwendet werden, sollten für deren Charakterisierung auch andere Stoffe bzw. Stoffgruppen herangezogen werden (Übersicht s. Becker, 2000). Darüber hinaus könnten letztere die Wirkung der Lektine und Viscotoxine modulieren oder aber an deren Stabilisierung beteiligt sein. Hierzu gehören die Flavonoide und die in jüngster Zeit sowohl in ihrer Zusammensetzung als auch in Bezug auf ihre biologische Aktivität untersuchten Triterpene: Oleanolsäure, Ursulsäure, Betulinsäure, Lupeolacetat und β -Amyrinacetat (s. Beiträge auf dieser Tagung von Winkler und Jäger, Jäger et al., Urech et al.). Am Rande soll noch erwähnt werden, dass inzwischen auch die Duftstoffe der Mistelblüten untersucht wurden (Bungert et al., 2002). Hauptbestandteil ist das offenkettige Monoterpen α -(E,E)-Farnesen.

Becker, H.; European mistletoe: taxonomy, host trees, parts used, physiology; in: Mistletoe, the genus *Viscum*, A. Büssing (ed.), Hardwood Academic Press 2000, pp 31-41

Bungert, M., Thiel, R., Goedings, P., Becker, H. (E,E)- α -Farnesene the main substances of the volatiles of the flowers from European mistletoe (*Viscum album* L.), *Z. Naturforsch.* **57c**, 205-207 (2002)

Pfüller, U.: Chemical constituents of European mistletoe (*Viscum album* L.) in Mistletoe, : the genus *Viscum*, A. Büssing (ed.), Hardwood Academic Press 2000, pp 101-122

Wechselwirkungen von Mistelinhaltsstoffen

Armin Scheffler

Misteln enthalten mehrere anerkannte Wirkstoffe, die mit anderen vornehmlich hochpolymeren Inhaltsstoffen interagieren, wenn die chemischen und räumlichen Bedingungen vorhanden sind. Es wird eine Übersicht über die bisher bekannten Wechselwirkungen von Lektinen, Viscotoxinen, Phospholipase, Chlorophyllderivaten, Vesikeln, Polysacchariden und DNA in Abhängigkeit von pH-Wert, Ionenstärke und -art, Redoxpotential, Licht und Wärme gegeben. Dadurch wird deutlich, dass sowohl die Extrahierbarkeit als auch die eventuelle Bildung von Substanzkomplexen, die auf Interaktionen beruhen, durch die galenischen Maßnahmen beeinflusst werden, wovon letztendlich die therapeutischen Möglichkeiten abhängen.

Bemerkenswert ist, dass die Interaktionsmöglichkeiten, die im pflanzlichen Gesamtsystem gegeben sind, denen entsprechen, die bei der therapeutischen Anwendung im Zielorganismus die biologischen Wirkungen auslösen. Bisher sind aber Pflanzenextrakte hinsichtlich der Wirkstoffinteraktionen mit ähnlichen Systemen und Stoffgruppen, wie sie in dem zu therapierenden Organismus an den biologischen Wirkungen beteiligt sind, nur wenig systematisch untersucht worden. Damit ist eine generelle Möglichkeit zur Bewertung von pflanzlichen Arzneimitteln bisher kaum ausgeschöpft worden, obwohl wesentliche Details wie z.B. die gänzlich andere Wirkung von liposomal versus frei gelöst verabreichten Stoffen längst bekannt sind. Sowohl die Zytotoxizität als auch bestimmte, die Immunreaktion betreffende Parameter sind bei membranasoziierten Mistellektinen deutlich unterschiedlich gegenüber freien isolierten Lektinen. Die biologische Aktivität von DNA wird durch die Assoziation mit basischen Histonen, möglicherweise auch Viscotoxinen beeinflusst.

Der Beitrag möchte darauf aufmerksam machen, dass man durch Aufarbeitung isolierter Reinstoffe, die Erkenntnisproblematik, die mit der komplexen Komposition pflanzlicher Arzneimittel gegeben ist, nur scheinbar und zugleich unter Verzicht auf bedeutende galenische Möglichkeiten umgehen kann. Stellt man Gesamtextrakte her, untersucht und beachtet aber nicht die Interaktionen, so kommt man mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Fehlbewertung des Arzneimittels. Schließlich hat die Entwicklung gezeigt, dass bei isolierten Stoffen durch nachträgliche pharmazeutische Bearbeitung, z.B. Einbettung in synthetische Liposomen, oftmals versucht wird, solche vorher ausgeschlossenen Möglichkeiten wieder einzuführen.

Gegenüber isolierten, auch synthetischen Arzneistoffen könnte die systematische Bearbeitung von Interaktionen in der Phytopharmazie dazu führen:

1. die präparative Qualität aus dem Kontext der biologischen Wirkungen im Zielorganismus zu bewerten,
2. die Ähnlichkeitsfrage von bildendem Pflanzenorganismus (Gesamtpflanze in ihrer natürlichen Umgebung) und dem zu therapierenden Menschen zu stellen.

Beurteilungskriterien in der onkologisch klinischen Anwendung der Misteltherapie

H. Matthes, Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe, Kladower Damm 221,
14089 Berlin

Der klinische Einsatz der Mistel bei onkologischen Erkrankungen in Deutschland liegt bei ca. 46 % im Verlaufe aller onkologisch Erkrankten. Dabei erweist sich die Grundlagenforschung gegenüber der klinischen Forschung zur Misteltherapie als deutlich umfangreicher. Klinische Studien liegen für verschiedene Tumorentitäten vor, ohne jedoch eine systematische Beurteilung zu einzelnen Stadien der Tumorentitäten zu erlauben.

Grundlagenforschung zu Mistelgesamtextrakten weist unterschiedliche Inhaltsstoffe wie Vester'sche Proteine, Lektine, Viscotoxine, Kuttan'sche Peptide (NSC 635083), Oligosaccharide, Polysaccharide, Alkaloide, Vesikel u. a. Substanzen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen nach. Viscotoxine haben einen zytotoxischen / zytostatischen Effekt, Mistellektine einen apoptoseinduzierenden und immun-modulierenden Effekt. Weitere Effekte von Mistelgesamtextrakten sind antiangiogenetisch, DNA-stabilisierend sowie antimutagen, knochenmark-regeneratorisch und antitumorös.

Daraus ergeben sich für den klinischen Einsatz unterschiedliche Möglichkeiten eines Einsatzes.

Bei unterschiedlichen Wirkungen der Mistelgesamtextrakte können daher theoretisch auch die verschiedenen klinischen Ziele mit unterschiedlichem primären Ansatz differenziert werden. So stellt ein immunmodulierender / immunstimulierender Effekt in der adjuvanten Tumorthherapie die primär erwünschte Wirkung dar. Bei metastasierten Stadien und R1-resezierten Fällen ist ein zytotoxisch / zytopathischer und ggf. ein apoptoseinduzierender Effekt das Ziel. Zur Abmilderung einer chemotherapieinduzierten Leukopenie und Prophylaxe mutagener Nebeneffekte bei Chemotherapie stellen DNA-stabilisierende und antimutagene Effekte ein wesentliches Ziel dar. In palliativen Tumorstadien sind ruborierende und stimmungsaufhellende Effekte der Mistelgesamtextrakte ein wesentliches Ziel.

Anhand der vorliegenden Studien zum klinischen Einsatz der Mistelgesamtextrakte soll der Versuch einer Bewertung des Einsatzes in den verschiedenen Stadien einer Tumorerkrankung und damit auch den unterschiedlichen Zielen und deren klinische Relevanz diskutiert werden.

Zu den unerwünschten Wirkungen von Mistelpräparaten

Reinhard Saller, Lehrstuhl für Naturheilkunde, Dept. Innere Medizin II, Universitäts-Spital
Zürich, Rämistr. 100, CH-8091 Zürich

Mistelpräparate gehören aufgrund der Wirkmechanismen aber auch anwendungsbedingt zu den Arzneimitteln, bei denen die quantitative Abschätzung der Häufigkeit unerwünschter Wirkungen kompliziert ist. Die Frage möglicher Risiken wird dementsprechend kontrovers diskutiert. Zur Sichtung dieser schwierigen Situation (unerwünschte Wirkungen, Sicherheit) wurde eine Art systematischer Review durchgeführt (Patienten mit Tumorerkrankungen, weitere Anwendungsbereiche).

Die systematische Literaturrecherche wurde in folgenden Datenbanken durchgeführt: Medline, Embase, Amed, CISCOM, Naphralert und The Cochrane Library (adverse drug reaction, adverse effect, adverse event, Helixor, Iscador, Lectinol, mistletoe, mistletoe lectins, risk, safety, side effect, tolerability, toxic effect, toxicity und *Viscum*; 1968 - 2002). Ausserdem wurden von Hand die Literaturverzeichnisse der gefundenen relevanten Literatur einbezogen. Zusätzlich wurden Arzneimittelbehörden und Hersteller (u.a. spontane reporting systems) angefragt.

Entsprechend den Suchkriterien wurden 41 klinische Studien eingeschlossen. Davon berichteten 25 Studien mit einem Patientenkollektiv von > 6700 Teilnehmern über die Anwendung von Mistelextrakte bei >3450 Tumorpatienten. Bei 0.9% - 43% (je nach Interpretation der Reaktionen und Dosierung der Mistelpräparate) wurden lokale UAW (Rötung, Schwellung, Überwärmung, subkutane Knotenbildung, Induration, Blässchenbildung, Quaddel, lokaler Juckreiz, Schmerzen, Brennen, Schwellung der regionären Lymphknoten) berichtet. Systemische unerwünschte Wirkungen (Temperaturanstieg bis 38,5 ° C, Fieber > 38,5 ° C, Hitze- u. Kälteempfindungen, Schüttelfrost, Müdigkeit, Schlaflosigkeit, Schwäche, Abgeschlagenheit, Kopfschmerzen, Muskel- und Gliederschmerzen, Hyperaktivität, bakterielle Hautinfektionen, atopisches Ekzem, generalisierte Urtikaria und Juckreiz, Exantheme, Quincke-Ödem) je nach Studienprotokoll, Erfassungssystemen und Anwendungssituationen bei 0.8% - 62% mitgeteilt. Insgesamt waren Qualität und Quantität der Angaben ausserordentlich heterogen. Selten wurden allergische Reaktionen (meist Urtikaria, Rhinitis, Konjunktivitis) berichtet, sehr seltenen anaphylaktische Reaktionen (möglicherweise 1 Reaktion auf 2 - 4 Mio. Anwendungen). Das der zeitliche Verlauf des Auftretens aller unerwünschten Wirkungen erwies sich als sehr variabel. In Fallberichten und spontanen Meldesystemen wurden weitere UAW wie Ulzerationen, Lymphangitis, Herpes simplex und Herpes zoster, Atemnot, Bronchospasmus, Schwindel, hämorrhagische Kolitis, Bauchschmerzen, Sarkoidose, Parästhesien, Arthralgien, akutes Nierenversagen und Kreislaufversagen erwähnt. Eine mögliche kausale Zuordnung scheint mitunter äusserst schwierig zu sein. 15 Studien mit > 540 nicht-onkologischen Patienten oder Probanden berichteten über vergleichbare UAW. Schwerwiegende UAW scheinen ebenfalls selten zu sein. Weder in der Literatur noch seitens von Behörden und Herstellern Todesfälle aufgrund einer Mistelbehandlung beschrieben. Von den meisten Autoren und Studienteilnehmern wurde die Verträglichkeit als gut bis sehr gut bezeichnet.

Die analysierten klinischen Studien zeigen, dass unerwünschte Wirkungen in der Regel mild und reversibel sind. Die meisten weisen eine Dosisabhängigkeit auf, die durch Absetzen der Medikation bzw. durch Dosisreduktion wieder verschwinden, bzw. in ihrer Stärke abnehmen.

Unter der Annahme, dass ein Teil der Lokalreaktionen eher als erwünschte Wirkung des Organismus gedeutet wird, ist die Inzidenz unerwünschter Wirkungen insgesamt erheblich niedriger als erwartet. Insgesamt weisen die Ergebnisse dieser Untersuchung aber auch darauf hin, dass für eine realitätsgerechte Erfassung unerwünschter Ereignisse und Wirkungen ein qualifiziertes Reportingsystem etabliert sein sollte.

Misteltherapie bei Krebserkrankungen: Eine systematische Übersicht kontrollierter klinischer Studien

G.S.Kienle (Institut für angewandte Erkenntnistheorie und medizinische Methodologie
Schauinslandstraße 6 D-79189 Bad Krozingen; gunver.kienle@ifaemm.de)

Mistelextrakte gehören zu den am meisten verwendeten komplementärmedizinischen Kresbtherapien in Mitteleuropa. Es wurden zahlreiche klinische Studien durchgeführt, deren Aussagekraft jedoch kontrovers diskutiert wird. Es wurde nun ein systematisches Review kontrollierter klinischer Studien durchgeführt mit der Frage, ob sie die Wirksamkeit der Misteltherapie onkologischer Erkrankungen überzeugend belegen.

Die Studien wurden gesucht durch Recherche in 11 elektronischen Datenbanken und in Literaturlisten sowie durch Expertenbefragung. Die Qualität der Studien wurde kriteriengestützt kritisch bewertet.

23 prospektive klinische, kontrollierte Studien zur Misteltherapie der Krebserkrankung wurden gefunden: 16 waren randomisiert, 2 quasi-randomisiert und 5 nicht randomisiert. Die behandelten Krebsarten waren Mamma-Ca., Bronchial-Ca., Kolon- und Rektum-Ca., Kopf-, Halstumoren, Nierenkarzinom, Blasenkarzinom, Gliom und genitale Karzinome. In diesen Studien zeigte sich ein statistisch signifikantes positives Ergebnis 8mal für das allgemeine Überleben, 1mal für Tumorremissionen, 3mal für die allgemeine Lebensqualität und 3mal für die Lebensqualität im Verlauf einer zytoreduktiven Therapie. Darüberhinaus zeigte sich ein positiver Trend 8mal für das Überleben, 1mal für das krankheitsfreie Überleben, und 2mal für die Tumorremission. Keinen Effekt zeigten 4 Studien auf das Überleben, 1 Studie auf das krankheitsfreie Überleben, 2 Studien auf Tumorrezidive, 3 Studien auf die Tumorremission und 1 Studie auf die Lebensqualität. Eine Studie zeigte einen negativen Trend für das krankheitsfreie Überleben. Die Qualität von Studiendesign, -durchführung und -publikation lag teilweise weit unter dem heute als notwendig oder optimal erachteten Standard. In Anbetracht der beträchtlichen Heterogenität der Studien und der positiven und negativen Biasmöglichkeiten wurde auf eine Effektbestimmung mittels quantitativer Metaanalyse verzichtet und eine nicht-quantitative Synthese und Darstellung gewählt.

Die Ergebnisse des Reviews werden dargestellt und Besonderheiten bestimmter Studien werden detailliert diskutiert.

Alle Studien weisen, mehr oder weniger, methodische Schwächen auf. Da auch einige besser durchgeführte Studien die Wirksamkeit der Misteltherapie deutlich nahelegen, sollten weitere klinische Studien durchgeführt werden; hierbei sollten aber unbedingt die Schwächen vergangener Mistelstudien vermieden werden.

Literatur:

- [1] Kienle, G. S., F. Berrino, A. Büssing, E. Portalupi, S. Rosenzweig and H. Kiene, *Mistletoe in cancer - a systematic review on controlled clinical trials*. Eur J Med Res 8, 109-119 (2003).
- [2] Kienle, G. S. and H. Kiene, *Die Mistel in der Onkologie - Fakten und konzeptionelle Grundlagen*, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York 2003.

Implikationen für die klinische Forschung aus einer systematischen Übersichtsarbeit zur Misteltherapie

M.A. Horneber (Medizinische Klinik 5, Institut für Onkologie, Hämatologie und Einheit für Knochenmarktransplantation, Klinikum Nord, D-90340 Nürnberg, horneber@klinikum-nuernberg.de)

Systematische Übersichtsarbeiten erlauben eine umfassende Bewertung des Wissensstands zu einer Thematik. Durch die strukturierte Erarbeitung und transparente Darstellung der Inhalte können Unklarheiten und Widersprüche bezüglich der Wirksamkeit und Sicherheit einer Behandlung, die durch die Ergebnisse klinischer Studien, narrativer Reviews, Editorials etc. entstanden sind, geklärt oder zumindestens nachvollziehbar gemacht werden.

Neben Aussagen zu Wirksamkeit und Nutzen einer medizinischen Maßnahme leisten systematische Übersichtsarbeiten allerdings auch einen wichtigen Beitrag zur Qualitätssicherung im Bereich der klinischen Forschung, indem sie Forschungslücken und -bedarf erkennen lassen. Chalmers fordert in diesem Zusammenhang sogar, dass sie Voraussetzungen für die wissenschaftlich und ethisch fundierte Konzeption neuer kontrollierter Studien sein sollten.(1)

Damit kommt der systematischen Zusammenfassung und Bewertung des vorhandenen Kenntnisstands gerade im Bereich der unkonventionellen Verfahren, der in besonderem Maße durch Unübersichtlichkeit der vorhandenen Informationen und Daten und wenig strukturierte Forschung geprägt ist, eine wichtige Rolle zu.(2)

Zur Misteltherapie onkologischer Erkrankungen erlauben die Ergebnisse der klinischen Studien, nach den Einschätzungen aktueller Übersichtsarbeiten, zur Zeit keine gesicherten Aussagen z.B. für Richtlinien für die tägliche Behandlungspraxis.(3;4) Übereinstimmend werden allerdings neue, methodisch bessere Studien gefordert, in denen die „Schwächen vergangener Mistelstudien vermieden werden“(3)

Ausgehend von den Ergebnissen einer in Kürze abgeschlossenen systematischen Übersichtsarbeit nach den Kriterien der Cochrane Collaboration (5) wird gezeigt, welche der klinischen Studien aus Sicht der klinischen Onkologie geeignet sein könnten, konkrete Anknüpfungspunkte für die Planung neuer, aussagefähiger, kontrollierter Untersuchungen zu geben.

Literatur:

- (1) Chalmers I. Using systematic reviews and registers of ongoing trials for scientific and ethical trial design, monitoring and reporting. In: Egger M, Davey Smith G, Altman DG (Hrsg). Systematic Reviews in Healthcare. London: BMJ Publishing Group, 2001.
- (2) Ezzo J, Berman BM, Vickers AJ, Linde K. Complementary medicine and the Cochrane Collaboration. J Am Med Assoc 280[18], 1628-1630. 11-11-1998.
- (3) Kienle GS, Berrino F, Büssing A, Portalupi E, Rosenzweig S, Kiene H. Mistletoe in cancer - a systematic review on controlled clinical trials. Eur J Med Res 2003; 8:109-119.
- (4) Ernst E, Schmidt K, Steuer-Vogt MK. Mistletoe for cancer? Int J Cancer 2003; 107(2):262-267.
- (5) Horneber MA, Büschel G, Huber R, Linde K, Rostock M. Mistletoe Therapy in Oncology (Protocol for a Cochrane Review). In: The Cochrane Library. Chichester (UK), John Wiley & Sons, Ltd., 2003.

Tumorspezifische Gedächtniszellen und deren Einsatz für innovative Immuntherapien.

V. Schirmacher, DKFZ Heidelberg, Abteilung Zelluläre Immunologie, Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg

In den letzten Jahren haben wir bei einer Vielzahl von Krebspatienten in deren Knochenmark spezifische antitumorale Gedächtniszellen nachweisen können. Sie lassen sich durch autologe dendritische Zellen, die mit Antigen-Proteinen der entsprechenden Tumorzellen beladen sind, in vitro aktivieren. In immundefizienten Mäusen, denen humane Tumore transplantiert wurden, konnte gezeigt werden, dass eine Zelltherapie mit reaktivierten Gedächtniszellen möglich ist. An der Universitätsfrauenklinik Heidelberg wird nun eine neue Immuntherapie erprobt, die Patientinnen mit fortgeschrittenem Brustkrebsleiden helfen soll. Dafür werden entsprechende Gedächtniszellen dem Knochenmark entnommen, außerhalb des Körpers spezifisch reaktiviert und schließlich den Patienten per Infusion zurückübertragen.

Wir postulieren, dass Antitumor-Gedächtniszellen eine wichtige Rolle bei der Wachstumskontrolle residualer Tumorzellen spielt und für das Langzeitüberleben von behandelten Krebspatienten von Wichtigkeit ist. Ein derartiges Memory basiert auf T-Zell-Immunität und wird wahrscheinlich durch persistierendes Tumor-assoziiertes Antigen (TAA) von residualen Tumorzellen aufrechterhalten. Eine Aktivierung dieser Gedächtniszellen in vivo ist durch aktive spezifische Immunisierung mit einer Virus-modifizierten autologen Tumorzellvakzine möglich. Derartige Vakzinierungen führten zu einer Erhöhung von Antitumor-Memory-Reaktionen in der Haut (sogenannte "delayed type hypersensitivity (DTH)-Reaktionen)). In verschiedenen Phase II-Vakzinierungsstudien konnte eine optimale Formulierung der Virus-modifizierten Tumorzellvakzine das Langzeitüberleben verbessern.

Effekte von Mistelextrakten auf immunkompetente Zellen *in vitro* und *in vivo* und ihre mögliche Bedeutung für die Therapie von Tumorerkrankungen und andere klinische Entitäten

Prof. Dr. med. Reinhild Klein, Medizinische Klinik II, Universität Tübingen, Otfried Müller Str. 10, 72076 Tübingen

Die Beeinflussung immunologischer Reaktionen durch Mistelextrakten konnte in den letzten Jahren in zahlreichen *in vivo*- und *in vitro*-Studien belegt werden, und es wurde deutlich, daß in den Mistelextrakten vorkommende Antigene sowohl das unspezifische wie auch das spezifische Immunsystem modulieren können. So ist bekannt, daß sie Natürliche-Killer (NK)-Zellen, Granulozyten, Makrophagen/Monozyten und wahrscheinlich auch dendritische, d.h. Antigen-präsentierende, Zellen aktivieren, die zu dem *unspezifischen/natürlichen* Immunsystem gerechnet werden. Sie regen aber auch T- und B-Zellen des *spezifischen* Immunsystems zur Mistelantigen-spezifischen Proliferation und Produktion Mistelantigen-spezifischer Antikörper an. Auch klinisch/laborchemisch ist die Aktivierung immunkompetenter Zellen zu beobachten, betrachtet man die Lokalreaktionen am Ort der Injektion und die, vor allem in der Frühphase der Therapie auftretende, zum Teil beträchtliche Eosinophilie sowie den Anstieg der Leukozyten. Offen ist jedoch immer noch, ob diese Effekte mit einer Verbesserung der Tumorabwehr in Verbindung gebracht werden können, und welche Antigene in den Mistelextrakten hierbei eine Rolle spielen.

Es konnte zwar gezeigt werden, daß vor allem das Mistellektin-1 (ML-1) für zahlreiche immunologische Reaktionen verantwortlich zu sein scheint, in den letzten Jahren wurde aber zunehmend deutlich, daß auch andere Antigene, insbesondere Viskotoxine, sowie weitere in den Extrakten enthaltene Lektine (vor allem das chitin-bindenden Lektin [cbML]) immunkompetente Zellen beeinflussen. Ein wesentliches Problem in der Interpretation der Mistel-induzierten Immunmodulation im Hinblick auf die Tumorabwehr liegt darin begründet, daß bei den meisten Tumoren nicht bekannt ist, welche ‚Immundefekte‘ ihre Entstehung begünstigen, d.h. wie und welche immunkompetenten Zellen aktiviert oder inhibiert werden sollen. Prinzipiell spielen Makrophagen und NK-Zellen bei der Tumorabwehr eine große Rolle wie auch die Generierung Tumorantigen-spezifischer- und –unspezifischer zytotoxischer Effektorreaktionen und die Freisetzung von Zytokinen. Innerhalb der T-Zell-Balance wird eine Aktivierung von TH1-Zellen, die durch die Produktion von Interferon-gamma und Tumor-Nekrose-Faktor-beta charakterisiert sind und vor allem zytotoxisch wirken, als positiv für die Tumorabwehr angesehen, es gibt aber auch Hinweise, daß bei bestimmten Tumoren die Aktivierung von TH2-Zellen (gekennzeichnet durch die Produktion von Interleukin-4, -5, -13, resultierend in der Produktion von Antikörpern und Aktivierung von Eosinophilen) von Vorteil ist.

Wenn man daher den Einfluß von Mistelextrakten auf immunologische Reaktionen bei Tumorpatienten untersuchen möchte, stößt man auf eine Gleichung mit zahlreichen unbekanntem Variablen (verschiedene ‚Angriffspunkte‘ innerhalb des Immunsystems, alteriertes Immunsystem bei Tumorpatienten, verschiedene Mistelantigene). Etwas Klarheit konnte in letzter Zeit durch Placebo-kontrollierte *in vivo* Studien geschaffen werden, die den Effekt von Mistelextrakten und einzelnen Komponenten auf das Immunsystem von *gesunden* Probanden analysiert haben. Es zeigte sich, daß diese Probanden – wie die Tumor-Patienten – während der Exposition Antikörper gegen Mistelantigene bilden, und zwar gegen ML-1, ML-3, cbML und Viskotoxine. Während Antikörper gegen ML-1, -3 und Viskotoxine aber ausschließlich unter Therapie auftreten, können Anti-cbML Antikörper auch bei Individuen beobachtet werden, die noch nie Kontakt mit Mistelextrakten hatten. Auffallend war, daß vor allem Tumorpatienten in 30% auch ohne vorherige Misteltherapie Anti-cbML positiv waren (im Gegensatz zu 5% der gesunden Probanden). Auch die Mistelantigen-spezifische Proliferation von Lymphozyten stieg während der *in vivo* Exposition von gesunden Probanden mit Mistelextrakten an. Es wurden aber weder die TH1- noch die TH2-Zellen deutlich beeinflusst, insbesondere war keine Korrelation zwischen der Entwicklung einer Eosinophilie und einer Steigerung der TH2-Response zu erkennen. Dagegen nahm die Produktion von Tumor-Nekrose-Faktor-alpha bei Probanden, die einen ML-1-reichen Extrakt erhalten hatten, signifikant zu, so daß man eine Aktivierung von Makrophagen postulieren könnte. Ferner scheinen dendritische Zellen aktiviert zu werden, ein weiteres Argument dafür, daß ML-1 überwiegend das unspezifische Immunsystem beeinflusst. Unterteilt man die Probanden in Allergiker und Nicht-Allergiker ergab sich insofern ein interessanter Aspekt, als bei Allergikern, die typischerweise vor Exposition mit Mistelextrakten eine verstärkte TH2-Antwort aufwiesen, vor allem die Gabe eines lektin-armen Mistelextraktes (Iscador pini) zu einer Reduktion dieser TH2-Aktivität zu führen scheint.

Welcher Stellenwert der Induktion von Mistelantigen-spezifischen Antikörpern im Rahmen der Tumorabwehr zukommt, ist bisher nicht bekannt. Berücksichtigt man, daß Lektine archaische Antigene und auch Bestandteile zahlreicher Rezeptoren auf humanen Zellen sind, könnten Untersuchungen zu Kreuzreaktionen mit humanen Epitopen und insbesondere Tumorantigenen neue Aspekte eröffnen.

Wir sind daher heute soweit, daß wir den Effekt einer Therapie mit Mistelextrakt auf das ‚gesunde‘ Immunsystem recht gut definieren können und auch bestimmte immunologische Reaktionen einzelnen Komponenten in diesen Extrakten zuschreiben können. Für die Analyse, ob diese Effekte die Tumorabwehr beeinflussen, sind jedoch kontrollierte Studien an Tumorpatienten notwendig, bei denen gleichzeitig der klinische Effekt dieser Therapieform anhand schulmedizinisch anerkannter Kriterien analysiert wird. Andererseits ist daran zu denken, daß sich durch die Charakterisierung immunologischer Reaktionen unter Misteltherapie auch neue Indikationsbereiche ergeben könnten (z.B. Allergie?).

Kurzreferate

Der Rhythmus von Nutationsbewegungen von *Viscum album* L. unter Konstantbedingungen

R. R. Dorka und W. Hellrung

Carl Gustav Carus-Institut, D-75223 Niefern – Öschelbronn

ZUSAMMENFASSUNG: Der Entwicklungszyklus von *Viscum album* L. zeigt von der ersten Meristemdifferenzierung bis zur reifen Frucht, im Gegensatz zu anderen Pflanzen der temperaten Zonen, extreme Verzögerung. Noch ungewöhnlicher ist die synchrone Differenzierung des Meristems in vegetative und generative Primordien. Die generative Differenzierung setzt sehr früh ein (1). Nutationsbewegungen der Sprosse sind mit der Blühinduktion korreliert und treten erst 3-5 Jahre nach der Keimung in der Adultphase der Mistel auf (2). Diese Nutationsbewegungen wurde in Konstanträumen auf den endogenen Charakter der Rhythmen, deren Periodizitäten und mögliche Temperaturkompensationen untersucht. Die Sprosse der Weissbeerigen Mistel *Viscum album* L. weisen tagesperiodische (circadian) und langperiodische (bis zu 78 h) Nutationsbewegungen auf. Die Periodenlänge der ersteren scheint temperaturkompensiert, während die letztere temperaturabhängig ist.

MATERIAL UND METHODEN: *Viscum album* L. wurde auf Apfelbäumen in Containerkultur im Freiland gezogen. Die Nutationsbewegungen wurden in Konstanträumen mit einem speziell dafür entwickelten Computer-gesteuerten Bilderfassungs- und Analysesystem aufgenommen. Die Differenzierung des Meristems und die Organentwicklung konnte lichtmikroskopisch dargestellt werden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION: Während der ersten Entwicklungsjahre wächst *Viscum album* L. nur vegetativ, monopodial und negativ geotrop. Wenn die Pflanze von der juvenilen zur Blühphase wechselt, tritt pseudo-dichotomes Wachstum auf und das Meristem differenziert sich synchron in vegetative und generative Primordien. Diese Primordien entfalten sich ein Jahr später während der ersten Wachstumsperiode zuerst negativ geotrop. Dann folgt eine 4 bis 5 Wochen dauernde Phase von Nutationsbewegungen. Bis Oktober erreichen die bisexuellen Blütenorgane das Pollenstadium mit zwei Nuklei und einem reifen Embryosack. Dies findet im Vergleich zu anderen Pflanzen, die dieses Stadium erst ein paar Tage oder Wochen vor der Blüte erreichen, sehr früh statt. Die Blütezeit der Mistel beginnt häufig nicht vor Januar. Nach der Bestäubung vergeht ein ganzes Jahr bevor die Früchte voll ausgereift sind.

Wir fanden, dass *Viscum album* L. unter Dauerlicht, konstanter Luftfeuchtigkeit und Temperatur eine Phase von zyklischen Krümmungsbewegungen zeigt. Dabei bestehen die Bewegungen aus zwei Arten von Oszillationen: einer mit langer Periode (bis zu 78 h) und hohen Amplituden und einer mit circadianer Periode und kleiner Amplitude. Die langperiodischen Bewegungen verlangsamten sich bei Temperaturerniedrigung. Des weiteren sind sie sowohl mit reversibler, als auch irreversibler Zellstreckung korreliert.

Die "circadianen" Bewegungen scheinen turgorgesteuert, da sie voll reversibel sind und kein Wachstum involviert ist. Dieser Rhythmus ist temperaturkompensiert.

Das gravitropische Rückkopplungsmodell (3)(4), welches die Circumnutations-Oszillationen auf eine Sequenz von gravitropischen Antworten bei Abweichungen von der Senkrechten zurückführt, ist hier nicht als Erklärung geeignet. Am Ende der Nutationsbewegungen zeigen die Sprosse eine radiale Ausrichtung, die zur charakteristischen kugelförmigen Gestalt führt. Wir vermuten aber dennoch, dass hier ein Zusammenspiel endogener und exogener Faktoren vorliegt.

REFERENZEN

- (1) Dorka R. und Hellrung W. (2001) The rhythms of nutational movements in *Viscum album* L. under constant conditions. In: *Seventh International Parasitic Weed Symposium*, Nantes, 139-142.
- (2) Dorka R. (1996) Zur Chronobiologie der Mistel. In: *Grundlagen der Misteltherapie* (eds. Scheer R et al.), 28-45. Hippokrates, Stuttgart.
- (3) Brown A.H. (1991) Gravity perception and circumnutation in plants. In: *Advances in Space Biology and Medicine* (ed. SL Bonting), 129-153. JAI Press, Greenwich.
- (4) Johnsson A. und Heathcote D.G. (1981) Experimental evidence and models on circumnutation. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 70. 371-405

Untersuchung des Iscador-Maschinenprozesses in zytotoxischen und phytopathologischen Modellsystemen

Stephan Baumgartner^{1,2}, Heidi Flückiger¹, Gerhard Schaller¹, Devika Shah Rossi¹
und Konrad Urech¹

¹ Verein für Krebsforschung, Institut Hiscia, Kirschweg 9, CH-4144 Arlesheim

² Kollegiale Instanz für Komplementärmedizin (KIKOM), Universität Bern, Insel-Spital, Imhoof-Pavillon, CH-3010 Bern

EINLEITUNG: Gemäss dem Begründer der Anthroposophischen Medizin, R. Steiner, sollen Mistel-extrakte durch einen maschinellen pharmazeutischen Prozess in ihrer Wirkung gesteigert werden; erst so entstehe das „unbedingt spezifische Mittel“ für das Karzinom. Die für diesen Zweck am Institut Hiscia des Vereins für Krebsforschung, Arlesheim, entwickelte Maschine, welche zur Herstellung von Iscador eingesetzt wird, wurde im Hinblick auf die angestrebte Wirkungssteigerung untersucht.

MATERIAL UND METHODEN: Mistelpflanzen (*Viscum album* L. ssp. *album*) von Apfelbäumen (*Malus domestica* Boekh.) werden kurz vor Johanni bzw. Weihnachten geerntet. Nach dreitägigem Aufschluss durch misteleigene Laktobazillen wird durch Abpressen ein Sommer- und ein Winter-Mistelextrakt gewonnen. Zur Herstellung von Iscador gelangt Wintermistelextrakt ins Zentrum einer mit 10'000 U/min rotierenden Titanscheibe von 1_m Durchmesser. Von hier spreitet er horizontal aus und vereinigt sich anschliessend mit aus 1 m Höhe senkrecht tropfendem Sommermistelextrakt im hochgebogenen Scheibenrand. Als Vergleichsprobe zu Iscador dient eine aus denselben Komponenten bestehende, aber nicht auf der Maschine prozessierte *Viscum*-Kontrolle; des weiteren wurde als Nullprobe Wasser mitgeführt. Als Untersuchungsparameter dienten: 1.) die Zellviabilität von Molt4-Tumorzellen, 2.) die Zellviabilität von Yoshida-Tumorzellen, 3.) die Bildung von durch *Agrobacterium tumefaciens* induzierten Crown-Gall-Tumoren bei *Kalanchoe daigremontiana* und 4.) die Anzahl Bakterien des Stammes *Pseudomonas syringae*, welche sich nach Inokulation in den Blättern von *Arabidopsis thaliana* vermehrten.

RESULTATE: Der Iscador-Maschinenprozess hatte keinen relevanten Einfluss auf die Bioaktivität der Lektine bzw. Viscotoxine im Molt4- bzw. Yoshida-Zellkulturtest. In den phytopathologischen Modellen liess sich hingegen eine Wirkungssteigerung der Mistelextrakte durch den Iscador-Maschinenprozess nachweisen, wobei die Wirkung im Crown-Gall-Tumorsystem mit *K. daigremontiana* deutlicher war als in dem allgemeinen phytopathologischen Modellsystem *A. thaliana* & *Ps. syringae*.

FOLGERUNGEN: Zusammengefasst mit früher publizierten Resultaten lässt sich damit festhalten, dass die Verarbeitung von Mistelextrakten auf der untersuchten Maschine des Instituts Hiscia zu einer deutlichen Wirkungssteigerung von Mistelextrakten im Hinblick auf ihre Schutzwirkung vor externen Noxen in botanischen Untersuchungssystemen führte, wobei sich der Schutzeffekt auf physikalische, chemische und biologische Noxen bezog und quantitativ rund das Doppelte der *Viscum*-Kontrolle erreichte. Diese Wirksamkeit des Iscador-Maschinenprozesses scheint sich aber *nicht* auf die stofflich an Lektine und Viscotoxine gebundene Toxizität zu erstrecken. Diese Beobachtungen unterstützen unsere Arbeitshypothese, dass die Wirksamkeitssteigerung durch den Iscador-Maschinenprozess primär auf einem *regulativen, indirekt* wirksamen Prinzip beruht und weniger auf einer stofflich gebundenen *direkten* Wirksamkeit.

Vesikel und Triterpenoide: Galenik lipophiler Substanzen in wässrigen Mistelextrakten

Karin Winkler^{a, b}, Sebastian Jäger^{a, c}, Gero Leneweit^a, Rolf Schubert^b, Uwe Pfüller^c, Armin Scheffler^a

^a Carl Gustav Carus-Institut

^b Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Universität Freiburg

^c Institut für Phytochemie, Universität Witten / Herdecke

In wässrigen Extrakten aus *Viscum album* L. sind neben leicht wasserlöslichen Substanzen Vesikel und Triterpenoide enthalten. Triterpenoide sind schwer wasserlösliche Stoffe, weshalb die Modellvorstellung nahe liegt, dass sie in die Membranen der Vesikel integriert sind.

Die Stoffgruppe der Triterpenoide wird in der Literatur unter vielen Aspekten als pharmakologisch aktive Substanzgruppe dargestellt. Es wird z.B. beschrieben, dass Oleanolsäure oder auch Betulinsäure ein antientzündliches, cytotoxisches und antitumorales Potential aufweisen. Oleanolsäure und Betulinsäure konnten in *Viscum album* L. und deren wässrigen vesikelhaltigen Extrakten identifiziert werden.

Vesikel sind Membranbläschen, die einen flüssigen Innenraum umhüllen. Die Membranen sind aus amphiphilen Lipiden, wie Phospho- und Glycolipiden, die eine Lipiddoppelschicht formen, aufgebaut. Phospho- und Glycolipide liegen in wässriger Lösung nicht monomolekular vor, sondern bilden aufgrund ihres amphiphilen Aufbaus vesikuläre Strukturen. Im Innenraum können hydrophile Stoffe eingeschlossen werden, während lipophile Substanzen in die Membranen integriert werden können. Galenisch und pharmakokinetisch sind vesikuläre Strukturen deshalb von grosser Bedeutung.

Um zu zeigen, dass die Triterpenoide in die Membranen der Vesikel eingelagert sind, wurde folgender Versuch durchgeführt:

Durch Größenausschlusschromatographie (GPC) lässt sich ein wässriger Extrakt aus *Viscum album* L. in verschiedene Fraktionen mit gestaffelter Molekülgröße auftrennen (Abb. 1).

Bei den Triterpenoiden handelt es sich um kleine ($M \sim 500$ g / mol) und daher der Theorie nach hinter den Vesikeln ($M \sim 10^8$ g / mol) eluierende Substanzen.

Sind die Triterpenoide in der schnell eluierenden Fraktion großer Moleküle und Molekülaggregate enthalten, so zeigt dies, dass die Triterpenoide mit den Vesikeln wechselwirken.

Die Hypothese, dass Triterpenoide an den Vesikeln gebunden sind, konnte bestätigt werden.

Weiterhin wurden in den GPC- Fraktionen typische, wasserlösliche und mittel- bis kleinmolekulare Mistelinhaltsstoffe (Lektine, Viscotoxine) analysiert. Deren mögliche Wechselwirkung mit Vesikeln werden dargestellt.

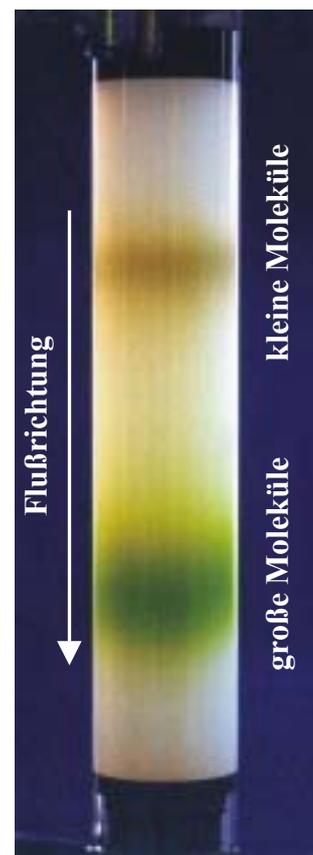


Abb. 1
Prinzip der Größenausschluss-
chromatographie (GPC) am
Beispiel einer Fraktionierung von
Mistelsaft

MEMBRANE ACTIVITY OF VISCOTOXINS A3 AND B – INTERACTIONS WITH MEMBRANE MODEL SYSTEMS

Marcela Giudici and José Villalaín, Instituto de Biología Molecular y Celular, Universidad “Miguel Hernández”, E-03202 Elche-Alicante, Spain.

Karola Pfüller and Uwe Pfüller, Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke, D-58453 Witten, Germany

Among the very homologous family of α - and β -thionins, known for their antimicrobial activity, the viscotoxin subfamily differs from other members because of its toxicity against tumoral cells and its weakly haemolytic character. Thionins are small basic proteins found in different plant species, which are known to exert cytotoxic properties and are thought to interact with biomembranes.

The effects of two viscotoxins, namely A3 and B, including the reduced derivatives have been tested against different negatively-charged phospholipid membranes by using infrared and fluorescence spectroscopies. Both viscotoxins are bound with high affinity to negatively-charged phospholipids containing membranes, although displaying slightly differences which are related to the proposed bioactivity. Viscotoxins interact with membranes in a complex way, most likely organizing themselves at the surface inducing defects that lead to the destabilization and disruption of membrane bilayer. The viscotoxin isomers show only weak difference in structure, but pronounced differences in mechanism of membrane interaction.

Nachweis der Wechselwirkungen zwischen misteleigener DNA und Viscotoxinen

Lilia Hermann, Uwe Pfüller*, Armin Scheffler, Carl Gustav Carus-Institut,
D-75223 Niefern-Öschelbronn; * Universität Witten/Herdecke, D-45843 Witten

Abstract

Unter den Inhaltsstoffen von Pflanzen sind besonders die Polymere geeignet, um mit anderen Stoffen zu interagieren. Die Mistel (*Viscum album* L.) zeichnet sich durch einen extrem hohen Gehalt an DNA aus, deren pharmakologische Bedeutung jedoch noch nicht untersucht wurde.

Es ist bekannt, dass Viscotoxine, die zu den tumorwirksamen Eiweißen wässriger Mistelpräparate zählen, mit nicht misteleigener DNA in Wechselwirkung treten und dabei die DNA gegen äußere Einflüsse, z. B. Hitzedenaturierung, schützen können.

Dabei lag für uns die Frage nahe, ob auch misteleigene DNA und Viscotoxine interagieren, denn das würde bedeuten, dass die pharmakologische Wirksamkeit der Viscotoxine unter entsprechenden Bedingungen neu bewertet werden muss. Über eine eigene pharmakologische eventuell sogar eine Tumorwirksamkeit der Mistel-DNA liegen noch keine Aussagen vor, obwohl es andere Hinweise über pharmakologische Wirkungen von DNA gibt.

Die Isolierung und Quantifizierung misteleigener DNA erfolgt durch Fällung aus dem homogenen mozerierten Pflanzenmaterial nach Proteolyse und Entfettung. Verschiedene Organe der Mistel (Achsen, Blätter, Beeren) wurden so hinsichtlich ihrer DNA-Mengen untersucht und mit DNA-Mengen anderer Organismen verglichen, wobei die Mistel bis zu 100 mal mehr DNA als sonst in jungem Pflanzengewebe üblich ist, enthält.

Der Wechselwirkungsnachweis von Mistel-DNA mit Viscotoxinen wurde mittels Kapillarelektrophorese, Gelelektrophorese und Gelchromatographie geführt.

Mittels Gelelektrophorese konnte der komplexbildende Effekt der Viscotoxine auf die DNA dosisabhängig durch Verzögerung der Wanderung im elektrischen Feld bzw. bei hoher Viscotoxinkonzentration durch Immobilisierung nachgewiesen werden. DNA wurde durch Ethidiumbromid-Färbung, und Viscotoxine durch Proteinfärbung detektiert.

Kapillarelektrophoretisch ist der Nachweis auf zweierlei Art gelungen dadurch, dass positiv geladene Viscotoxine zur Kathode wandern und durch DNA Zumischung verzögert werden können und dadurch, dass negativ geladene DNA zur Anode wandert und durch Zumischung von Viscotoxin verzögert wird. Aufgrund der unterschiedlichen Absorptionseigenschaften im UV konnten mit beiden Verfahren die Einzelkomponenten und der Komplex nachgewiesen werden.

Aus dem Verhalten der Elutionszeiten in der Gelchromatographie ließen sich nicht nur die Wechselwirkungen zeigen, sondern es konnten auch zusätzlich strukturelle Hinweise über die Komplexbildung gewonnen werden.

Die Arbeit zeigt, dass zytotoxisches Viscotoxin an misteleigene DNA gebunden werden kann. Im nächsten Schritt ist die Existenz des Komplexes in Mistelpräparaten nachzuweisen und die Einflüsse der verschiedenen Herstellungsverfahren zu erkennen. Darüber hinaus bieten sich pharmakologische Untersuchungen des isolierten Komplexes an.

MISTLETOE LECTINS ARE STRONG MUCOSAL ADJUVANTS

E. C. Lavelle^{*}, G. Grant^{**}, Karola Pfüller und U. Pfüller

^{*}Infection and Immunity Group, National University of Ireland, Maynooth, Ireland, ^{**}Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, Institute of Phytochemistry, University of Witten/Herdecke, Germany

Certain bacterial toxins can boost the immune responses to mucosally delivered antigens. Recently, it was suggested that plant lectins may also have mucosal adjuvant properties. We examined the effect of co-administration of plant lectins on the immune response to Herpes simplex virus gD2 or OVA delivered intranasally (IN). High levels of specific antibody were detected in sera and secretions of mice immunised IN with antigens combined with mistletoe lectin I (ML I). These responses were comparable to those induced after delivery of antigen with cholera toxin. All three Type 2 ribosome-inactivating proteins (Type 2 RIPs) from the European mistletoe were highly immunogenic and were effective adjuvants when delivered IN. These lectins were also immunogenic when delivered by the oral route. ML I enhanced local and systemic Th2 responses to gD2; potent antigen-specific proliferation and IL-5 production were detected in the spleen and cervical lymph nodes. A number of non-toxic type 2 RIPs were found to be poor immunogens and adjuvants when delivered IN.

Struktur und Funktion Chitin-bindender Mistellektine

Wolfgang Voelter, Mirita Franz, Roland Wacker und Stanka Stoeva

Aus Extrakten von *Viscum album L.* wurden drei Chitin-bindende Mistellektine, cbML I, cbML II, cbML III, isoliert und deren Primärstruktur ermittelt. Alle drei Mistellektine sind aus zwei Proteinketten mit 48 oder 49 Aminosäureresten aufgebaut und über eine intermolekulare Disulfidbrücke miteinander verknüpft. Die cbML-Sequenzen enthalten eine hohe Anzahl von Cystein- und Glycinresten und vier intramolekulare Disulfidbrücken. Durch die Kombination der Daten, welche durch Sequenzierung und MALDI-MS erhalten wurden, konnte die Primärstruktur aller cbMLs-Isoformen ermittelt werden.

Die cbML-Sequenzen weisen 55% Identität zu Hevein auf, ein Chitin-bindendes Protein, bestehend aus einer einzigen Kette mit 43 Aminosäureresten. Unter Verwendung von Kernresonanzdaten, welche von Hevein vorliegen, konnte eine dreidimensionale Struktur von cbML aufgestellt werden. Aus diesem Modell kann geschlossen werden, dass die Chitinbindungsstelle hoch konserviert sowohl bei Hevein als auch bei den cbMLs vorliegt.

Da die cbMLs auch in pharmazeutischen Mistelpäperaten nachgewiesen wurden, wurde eine Methode entwickelt, mit welcher der cbML-Gehalt in diesen Präparaten quantitativ bestimmt werden kann.

Literaturangaben

Stoeva S., Franz M., Wacker R., Krauspenhaar R., Guthöhrlein E., Mikhailov A., Betzel C., Voelter W. (2001): Primary Structure, Isoforms, and Molecular Modeling of a Chitin-Binding Mistletoe Lectin, *Arch. Biochem Biophys* 392: 23-31.

Franz M., Vollmer S., Wacker R., Jäger S., Scheer R., Stoeva S., Voelter W. (im Druck): Isolation and quantification of the chitin-binding-mistletoe lectin (cbML) from mistletoe extracts and the validation of this method, *ArneimForsch DrugRes*.

Klein R., Franz M., Wacker R., Claßen K., Stoeva S., Voelter W., (im Druck): Demonstration of antibodies to different epitopes of the chitin-binding mistletoe lectin in tumor patients before and during therapy with an aqueous mistletoe extract, *Immunobiology*.

Der Einfluß des Mistellektins auf Differentialblutbild und Lokalreaktionen – eine doppelblinde, randomisierte Studie bei Gesunden

R Huber¹, M Rostock¹, Luedtke R², Werner M³, Klein R⁴.

¹ Ambulanz für Naturheilverfahren, 2. Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Freiburg, D-79106 Freiburg

² Karl und Veronica Carstens-Stiftung D-45276 Essen

³ Institut Hiscia, CH-4144 Arlesheim

⁴ 2. Medizinische Klinik, Universitätsklinik Tübingen, D-72076 Tübingen

Hintergrund: Unter Therapie mit Mistelpräparaten kommt es häufig zu einer Blut-Eosinophilie. Wir wollten klären, ob hierfür der Gehalt an Mistellektin (ML) verantwortlich ist.

Methode: 44 gesunde Probanden wurden in 4 Gruppen randomisiert. Gruppe 1 erhielt den Gesamtextrakt von Iscador Quercus (IQ), Gruppe 2 IQ aus dem die ML selektiv entfernt wurden, Gruppe 3 das reine, aus IQ erhaltene ML und Gruppe 4 Placebo. Alle Präparate wurden über 8 Wochen 2x /Woche subcutan injiziert, die drei Prüfpräparate in aufsteigender Dosierung bis auf 5mg IQ (Gruppe 1 und 2) bzw. in Gruppe 3 dessen ML-Gehalt (ca, 375ng/Dosis). Wöchentlich wurden das Differentialblutbild und die Lokalreaktion kontrolliert, 4 wöchentlich wurden verschiedene Parameter der spezifischen zellulären Immunabwehr bestimmt, die aktuell noch ausgewertet werden.

Ergebnisse: Alle Probanden beendeten die Studie regulär. Unter IQ und dem aus IQ erhaltenen ML kam es im Vergleich zu den Ausgangswerten und im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen zu einem Anstieg der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten, der Eosinophilen und des eosinophilen kationischen Proteins. Die absolute Zahl der Lymphozytenwerte blieb konstant. Weiterhin traten lokale Rötung und Juckreiz an der Injektionsstelle praktisch nur unter dem Gesamtextrakt und reinem ML auf.

Schlussfolgerung: Eosinophilie, Anstieg der Leuko- und Granulozyten sowie die Lokalreaktionen an der Einstichstelle sind auf den ML-Gehalt in Mistelpräparaten zurückzuführen.

Prospektive, randomisierte, teil-kontrollierte Studie zur Aktivierung des Homings und des allgemeinen Aktivitätsniveaus von T-Lymphozyten durch subkutane Mistel-Extrakt-Injektionen bei gesunden männlichen Probanden

M. Wispler*, M. Kappler*, D. Soto Vera*, M. Reif*, M. Schnelle*, K.S. Zänker**

* Institut für onkologische und immunologische Forschung, Hardenbergstr. 19, 10623 Berlin

**Institut für Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Stockumerstr. 10, 58448 Witten

Einleitung: In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung eines mistellektin(ML)-reichen Mistelextrakts (Wirtsbaum: Eiche) und eines mistellektin(ML)-armen Mistel-Extrakts (Wirtsbaum: Kiefer) auf das Immunsystem gesunder männlicher Probanden bezüglich folgender Fragen untersucht: a) Kann eine Aktivierung von T-Zellen induziert werden, die am Homing in die Haut beteiligt sind? b) Kann eine systemische Erhöhung des Aktivitätsniveaus von T-Zellen erreicht werden?

Methode: Prospektive, dreiarmlige, randomisierte, teil-kontrollierte, monozentrische Studie mit einfacher Verblindung der beiden Mistelgruppen mit drei Untersuchungsphasen über einen Zeitraum von insgesamt 6,5 Wochen (n=29).

Ergebnis: In der Folge von subkutanen Injektionen von Mistel-Extrakt in aufsteigender (Woche 1-3) und konstanter (Woche 4-6) Dosierung (2x/Woche) zeigte sich eine Zunahme von aktivierten T-Zellen (CD45RO⁺ CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen) im peripheren Blut. Dieser Konzentrationsanstieg von T-Zellen war mit dem ML-armen Mistel-Extrakt (Iscador® P) sowohl gegenüber dem nicht-stimulierenden Kontroll-Haut-Teststempel als auch gegenüber dem ML-reichen Extrakt (unfermentierter Eichenmistel-Extrakt, IQuFrF) deutlich stärker ausgeprägt. Dagegen zeigte sich in beiden Behandlungsgruppen keine Beeinflussung von T-Zellen mit Oberflächenmarkern für das Homing in die Haut (CLA-aktivierte CD45RO⁺ CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen). Während der Studienteilnahme war bei den Mistel-Probanden eine stetige Zunahme des Aktivierungsniveaus der zellulären Immunreaktivität festzustellen. Das Maß für die Lokalreaktion am Ort der Injektion als eines der sekundären Zielvariablen war mit dem Mistellektingehalt des Extrakts positiv korreliert; in der ML-reichen Gruppe zeigte sich eine symptomfreie Eosinophilie.

Diskussion: Die Ergebnisse dieser Studie legen den Schluss nahe, dass im Polysubstanzgemisch des Kiefernmistel-Extraktes (Iscador® P) eine oder mehrere Substanzen oder Wirkkomponenten vorhanden sein müssen, bei denen es sich nicht um ML handeln kann, die aber dennoch zu den beschriebenen systemischen immunologischen Aktivierungseffekten führen, die bisher für ML beschrieben wurden. Lokalreaktionsscore und Ausmaß der immunologischen Aktivierung waren in dieser Versuchsanordnung überraschenderweise nicht korreliert.

Die Studie wurde in Übereinstimmung mit dem gültigen Landesrecht, dem Deutschen Arzneimittelgesetz, den GCP-Empfehlungen der EU und entsprechend der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Ethikkommission: Ethikkommission der Humboldt-Universität zu Berlin.

THE PROFILE OF VISCUM ALBUM EXTRACT. IMMUNOLOGICAL AND MOLECULAR BIOLOGICAL INVESTIGATIONS.

Eva Kovacs

Introduction Interleukin-6 (IL-6) as multifunctional cytokine is produced by some tumour cells and it is involved in lymphoid malignancies. The cytokine binds to soluble IL-6 receptor (sIL-6R), which has agonistic activity and to the soluble gp130 (sgp130) having antagonistic activity against the complex IL-6/sIL-6R. In different clinical and molecular biological studies we investigated the effect of Viscum album extract on these parameters.

Results 1) Patients with different tumours: In patients who survived longer than 1 year (80%) the serum values of IL-6, sIL-6R and sgp130 decreased during the therapy ($p < 0.05$ up to $p < 0.001$). In patients with rapid progression who died within 3 months (20%), the serum values of IL-6 increased ($p < 0.05$), whereas the other investigated parameters did not change.

2) Patients with lymphoid malignancies: In patients having long-term therapy the values of IL-6 were decreased ($p < 0.05$), those of sIL-6R and sgp130 elevated ($p < 0.01$) compared with controls. Clinical: 50% of the patients had complete remission. In patients having short-term therapy only the values of sgp130 were elevated ($p < 0.01$). Clinical: only 13 % of the patients had complete remission.

3) In the human myeloma cell line OPM-2 Viscum album extract did not affect of the expression of surface receptors IL-6 and gp130 and did not lead to production of IL-6. Although the survival of the cells was not impaired, Viscum album extract inhibited the proliferation of this tumour cells ($p < 0.05$). In comparison, the exogenous IL-6 upregulated its own receptor ($p < 0.001$), raised the proliferation ($p < 0.001$), but downregulated the expression of gp130 to 1-2%.

Conclusion The measurements of three parameters (IL-6, sIL-6R, sgp130) in serum are important for the establishing the clinical condition and evaluating treatment in tumour patients. The significant correlation between levels of sIL-6R and sgp130 indicate that the potent effect of sIL-6R on the biological activity of IL-6 could be inhibited by sgp130 as antagonist. Viscum album extract treatment has a beneficial effect on the clinical condition of tumour patients and the increased serum values of IL-6. The regulation mechanism of Viscum album extract will be discussed.

Key words: Viscum album extract, IL-6, IL-6R, sIL-6R, gp130, sgp130, tumour patients, tumour cells.

Molekularbiologische und proteinchemische Charakterisierung des Einflusses von Iscador® P auf die Expression von IL-6, IL-6R und gp130 bei B-NHL-Zelllinien

Frauke Hugo¹, Christoph Heyder¹, Thomas Dittmar¹, Kurt S. Zänker¹, Jürgen J. Kuehn²

¹ Institut für Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Stockumer Str.10, 58448 Witten

² Lukasklinik, Brachmattstr. 19, CH-4144 Arlesheim

Der Viscum album-Extrakt Iscador® P wird in der Lukasklinik, Arlesheim, erfolgreich bei der Behandlung von Patienten mit malignen Lymphomen eingesetzt. Bisher wurde die Therapie von Lymphompatienten mit Mistelextrakten kontrovers diskutiert. Diese Diskussion wurde durch die Beobachtung ausgelöst, dass eine Infusion von Iscador® zu einem vorübergehenden Anstieg des IL-6-Serumspiegels bei Patienten führte. Das Zytokin IL-6 kann über para- und autokrine Stimulation eine Proliferationssteigerung und eine Verlängerung des Überlebens speziell bei Myelomzellen bewirken. Eine solche Wirkung ist auch auf B-NHL-Zellen möglich. Demzufolge könnten sich erhöhte IL-6-Konzentrationen im Blut negativ auf die Pathogenese von Lymphompatienten auswirken. B-NHL-Zelllinien (DoHH-2, CTB-1) wurden mit Mistelextrakt (Iscador® P) in unterschiedlichen Konzentrationen (0µg/ml, 0,15µg/ml, 1,5µg/ml, 15µg/ml) über definierte Zeitintervalle (6h, 24h, 48h, 72h) inkubiert. Es galt zu untersuchen, ob die Inkubation der Zellen mit dem Mistelextrakt Iscador® P einen Einfluss auf die Genexpression oder Sekretion des Zytokins IL-6 und der für eine Signaltransduktion notwendigen Rezeptorkomponenten IL-6R und gp130 hat. Die gewählten Zielgene- bzw. ihre Genprodukte wurden sowohl molekularbiologisch mittels Real-Time-RT-PCR als auch proteinchemisch über ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) sowie durchflusszytometrisch (Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS) quantitativ erfasst. Unsere Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Behandlung von B-NHL-Zellen mit Iscador® P weder zu einer Induktion der IL-6-, IL-6R- und gp130-Expression noch zu einer Sekretion der entsprechenden Proteine führt. Dies konnte sowohl molekularbiologisch als auch proteinchemisch und durchflusszytometrisch nachgewiesen werden. Interessant ist, dass die Genexpression von IL-6 der von uns untersuchten B-NHL-Zelllinien generell sehr niedrig ist. Zusammenfassend schließen wir aus unseren Daten, dass die Behandlung mit dem Mistelextrakt Iscador® P keinen Einfluss auf die IL-6 Expression und Sekretion bei B-NHL-Zellen hat. Darüberhinaus weisen unsere Ergebnisse nicht auf eine erhöhte Empfänglichkeit der Zellen für IL-6 durch eine erhöhte Sekretion von IL-6R hin.

Neue Erkenntnisse und Erfahrungen zur Misteltherapie der malignen Lymphome

J.J.Kuehn, Lukasklinik, Arlesheim/Schweiz, Onkologische Spezialklinik

In einem Gesamtkrankengut von 200 Patienten mit hämatologischen Neoplasien wurden Patienten mit einem folliculären B-Zell-Lymphom low, intermediate und high grade, die entweder eine Monotherapie mit Viscum album Extrakt (Iscador®) oder eine Kombinationstherapie mit Viscum album und Chemotherapie erhielten, getrennt erfasst und der Verlauf der Erkrankung klinisch (Staging) und immunologisch (Immunstatus, Zytokine) über einen Zeitraum bis zu 4,5 Jahren prospektiv beobachtet. Neben den bekannten Prognosefaktoren (IPI, LDH, b2 -Mikroglobulin, CRP, B-Symptome) wurde der lösliche IL-2 Rezeptora (sIL-2R) im Serum berücksichtigt.

Eine Kontrollgruppe existierte nicht, die Patienten wurden in Kasuistik-Serien mit gutem (best cases) und schlechtem Verlauf (worst cases) zusammengefasst und gegenübergestellt. Aus den präsentierten Daten ergeben sich für die Patienten mit dieser Lymphomklassifikation klare Hinweise auf Sicherheit (Fehlen einer mistelbedingten gesteigerten IL-6 Sekretion und einer im Gefolge auftretenden B-Zellproliferation) und Wirksamkeit (Remissionen) einer Monotherapie mit Viscum album (Iscador®), die auch partielle und komplette Remissionen einschliesst. Unter einer Kombinationstherapie (Viscum album und Chemotherapie) wurden neben einem Therapieversagen ebenfalls partielle und komplette Remissionen beobachtet. sIL-2Ra erwies sich als sensibler Parameter für den Therapie-Response sowohl bei Chemotherapie als auch bei der Mistel-Monotherapie.

Einfluss von Mistelextrakten auf die Generierung und Ausreifung Dendritischer Zellen *in vitro*.

Gerburg M Stein, Büssing A, Schietzel M

Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie,
Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, Universität Witten/Herdecke

Dendritische Zellen (DC) spielen bei Entwicklung und Kontrolle der spezifischen Immunantwort eine entscheidende Rolle aufgrund ihrer Fähigkeit, Antigene aufzunehmen (unreife DC) und naiven T-Zellen effektiv zu präsentieren (reife DC). Es ist mehrfach beschrieben worden, dass bei Tumorpatienten die Funktion von DC eingeschränkt ist. Im Rahmen neuer Tumorthérapien wurden daher Strategien entwickelt, die günstigen Eigenschaften von DC therapeutisch nutzbar zu machen, um so eine möglichst starke anti-Tumor-Immunantwort zu generieren. Mistelpräparate finden seit vielen Jahren in der adjuvanten Tumorthérapie Anwendung, jedoch war bisher unklar, welchen Einfluss diese Pflanzenextrakte auf DC ausüben. Ziel dieser Untersuchungen war es daher, mit Hilfe von *in vitro* generierten unreifen und reifen DC diesen Einfluss zu analysieren. Dazu wurden aus dem Blut gesunder Spender Monozyten isoliert, die unter Zusatz verschiedener Zytokine (GM-CSF und IL-4) und/oder verschiedener Mistelextrakte (wässrig/fermentiert) ausreifen sollten. Nach 5 Tagen wurden die unreifen DC, nach weiteren 2-3 Tagen die reifen DC geerntet. Die Charakterisierung der jeweiligen Zellen erfolgte durch Analyse charakteristischer Oberflächenrezeptoren mittels Durchflußzytometrie. Dabei führte die Kultur unter Zusatz nur des wässrigen, nicht fermentierten Mistelextraktes in Abwesenheit des Zytokincocktails zu einer Aktivierung der Zellen, gemessen anhand der Expression von CD86, einem co-stimulatorischen Molekül bei der T-Zell-Aktivierung. In Gegenwart des Zytokincocktails konnten DC in geringer, aber signifikanter Zahl ausreifen (Expression des DC Markers CD83). Vor-generierte unreife DC konnten durch Co-Kultur mit dem wässrigen Mistelextrakt für weitere 2-3 Tage nicht verstärkt ausreifen. Dies gelang jedoch durch Stimulation mit einem fermentierten Mistelextrakt, wobei gleichzeitig die Expression co-stimulatorischer Moleküle und der für die Präsentation von Antigenen wichtigen MHC-(major histocompatibility complex) Klasse I- und II-Moleküle verstärkt wurde. Keinen Einfluss hatte dieser Extrakt hingegen auf die Generierung unreifer DC aus Monozyten. Diese ersten Untersuchungen zum Einfluss von Mistelextrakten auf die Generierung und Ausreifung von DC zeigen, dass Mistelextrakte diese Schaltstelle zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem *in vitro* beeinflussen können. Offen bleiben muss jedoch, inwieweit DC von Tumorpatienten generell und insbesondere unter einer Misteltherapie aktivierbar sind, und welche klinische Relevanz diese Beobachtungen haben.

HEMMUNG DER OPERATIONS-ASSOZIIERTEN DEPRESSION DER GRANULOZYTENFUNKTION DURCH EINE EINMALIGE PERI-OPERATIVE INTRAVENÖSE APPLIKATION EINES VISCUM ALBUM L. -EXTRAKTES

A. Büssing¹, M Bischof², W. Hatzmann³, F. Bartzsch³, D. Soto-Vera⁴, E.-M. Fronk⁴, M. Gmeindl², G. M. Stein¹

¹ Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, Universität Witten/Herdecke

² Abteilung für Gynäkologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke

³ Abteilung für Gynäkologie, Marienhospital, Witten

⁴ Europäisches Institut für onkologische und immunologische Forschung, Berlin

Operation und Narkose beeinträchtigen die Funktion neutrophiler Granulozyten. Voruntersuchungen haben gezeigt, dass Viscotoxin-haltige Extrakte aus *Viscum album* L. (VA-E) *in vitro* die Granulozytenfunktion stimulieren. Daher sollte untersucht werden, ob eine einmalige perioperative Infusion eines Viscotoxin-haltigen VA-E auch *in vivo* einen günstigen Einfluss auf die Granulozytenfunktion ausüben. Hierzu wurden in einer GCP-konformen, kontrollierten, offenen, prospektiven bizenitrischen Phase II Studie 105 Patientinnen mit MammaCa einbezogen. 52 der 105 Patientinnen wurde zusätzlich zu der üblichen Medikation ein wässriger fermentierter VA-E (*Iscaidor* M 1 mg spezial) vor/während der Operation infundiert. Als Maß für die Granulozytenfunktion wurde der oxidative Burst der neutrophilen Granulozyten vor der OP sowie an Tag 1 und 3 durchflußzytometrisch analysiert. Dazu wurden die Granulozyten im peripheren Blut der Patienten für 20 min. mit *Escherichia coli* oder PMA stimuliert und die Burst-Aktivität mittels der Rhodamin 123 (R123)-Fluoreszenz bestimmt (mean channel of fluorescence, MCh R123). Für die statistische Auswertung wurde die area under curve (AUC) des MCh R123 der Tage 0, 1 und 3 berechnet. Von den 105 initialen Patienten erfüllten 4 nicht die Einschlusskriterien und wurden von der Untersuchung ausgeschlossen; 3 schieden vorzeitig und ungeplant aus der Studie aus. Um mögliche Unterschiede in den beiden nicht-randomisierten Gruppen zu berücksichtigen, wurde auf der Basis eines Propensity Scores eine matched pair-Analyse durchgeführt. Die Granulozytenfunktion wurde dann sowohl von den intention-to-treat Patienten also auch von den 98 per protocol Patienten untersucht. Hinsichtlich der Zahl der Leukozyten und des Anteils der Granulozyten mit maximaler Burst-Aktivität (PMA-stimuliert) unterschieden sich die beiden Gruppen (Kontroll-Zentrum Witten *versus* Verum-Zentrum Herdecke) vor der OP nicht. Nach der Operation fiel hingegen der PMA-stimulierte Burst (AUC vom MCh R123) in der Kontrollgruppe signifikant ab: -538.37 (median -541.00) *versus* -71.88 bei den Verum-Patienten (median -46.75) ($p < 0.0001$; Wilcoxon). Auch der *E. coli*-stimulierte Burst fiel in der Kontrollgruppe ab: AUC -132.07 (median -110.25) *versus* AUC: -45.76 (median -24.75) bei den Verum-Patienten ($p < 0.001$; Wilcoxon). Die einmalige intravenöse Applikation VA-E war also in der Lage, den Operations-assoziierten signifikanten Abfall der Granulozytenfunktion zu verhindern, ohne dass die Zahl der Granulozyten selber beeinträchtigt wurde. Die Ergebnisse dieser Phase II Studie rechtfertigen weitere Untersuchungen zur Vermeidung einer Operations-assoziiierter Immunsuppressionen. Möglicherweise könnte so der postoperative Verlauf begünstigt werden.

Signifikant höhere aktivierte NK-Zellzahlen durch additive Mistel-therapie bei chemotherapierten Mamma-Ca Patientinnen in einer doppelblinden Pilotstudie

Auerbach, Leo, Ass. Prof. Dr. med.

Leiter der komplementären Ambulanz des Allgemeinen Krankenhauses der Stadt Wien

In einer prospektiv-randomisierten, doppelt-verblindeten klinischen Pilotstudie der Phase IV mit Mamma-Carcinom-Patientinnen (Stadium I/II) unter additiver Misteltherapie (HELIXOR[®] oder Placebo) zum CMF- oder Sandwich-Schema wurde primär die Machbarkeit (Logistik) einer solchen Studie überprüft. Sekundär wurden prognostische und immunologische Parameter erfasst und überprüft, anhand derer Einblicke in die Mechanismen der Lebensqualitätsverbesserung unter Misteltherapie gewonnen werden sollten.

Insgesamt wurden 23 Patientinnen mit histologisch gesichertem Mammakarzinom T₁₋₂N₀₋₂M₀ rekrutiert. 20 erfüllten die Ein- und Ausschlussbedingungen, 16 davon wurden laut Prüfplan mit 6 Behandlungszyklen (CMF- oder Sandwich-Schema) über einen Zeitraum von ca. 6 Monaten therapiert. Die Injektionen mit dem Prüf- oder Kontrollpräparat erfolgten nach vorgegebenen Kriterien 3 x wöchentlich subcutan.

Von Seiten der Einwilligung und der Rekrutierung kann eine solche Studie als durchführbar bezeichnet werden. 8 von 9 Mistelpatienten (rund 89%) und 5 von 11 Kontrollpatienten (rund 46%) erkannten trotz Verblindung die verabreichte Medikation. Der behandelnde Arzt erkannte bei 16 von 20 Patienten (rund 80%) die verabreichte Medikation und war sich diesem in der Regel ziemlich oder völlig sicher. Das Ziel der Verblindung, das Auftreten von bewussten und unbewussten Verzerrungen zu limitieren, wird bei derart hohen Entblindungsgraden vermutlich nicht erreicht.

Aufgrund der sekundären Zieldefinition der Pilotphase wurden weitere biometrische Auswertungen vorgenommen, die unter anderem zeigten, dass sich der mittlere Verlauf der aktivierten NK-Zellen im peripheren Blut signifikant ($p=0,005$) zwischen den Behandlungsgruppen (HELIXOR[®]-/Kontrollgruppe) unterschied. Die Patientinnen der Kontrollgruppe zeigten im Mittel unter Chemotherapie eine signifikante Abnahme der Aktivierbarkeit der NK-Zellen ($p = 0,001$; $n = 11$). In der HELIXOR[®]-Gruppe war diese Abnahme nicht festzustellen. Die Anzahl der NK-Zellen blieb annähernd auf gleichem Niveau ($p = 0,832$; $n = 9$).

Zusammenhang zwischen Aktivität und Anzahl der Natürlichen Killerzellen im peripheren Blut von Krebspatienten mit klinischem Verlauf und Befindlichkeit unter Misteltherapie – Ergebnisse einer monozentrischen, einarmigen, prospektiven und verlaufskontrollierten Phase IV-Studie

Schink M.¹, Glaser F.², Scheuerecker H.², Tröger W.³, Goyert A.⁴

Fragestellungen und Zielsetzungen: Ein Problem der Misteltherapie bei Krebspatienten ist, daß zwar zahlreiche Wirkungen auf verschiedene Merkmale und Funktionen des Immunsystems nachgewiesen werden konnten aber wenig über die Relevanz dieser Effekte für Krankheitsverlauf und Lebensqualität der Patienten bekannt ist. Dies gilt insbesondere für die NK-Zellen, deren Aktivität außerdem üblicherweise gegen eine Mauszelllinie (K562) und nicht gegen die Tumorzellen der Patienten selbst gemessen wird. Ziel der vorliegenden EU-GCP-konformen Studie war es daher, die Zusammenhänge von Aktivität und Anzahl der NK-Zellen mit dem klinischen Verlauf und der Befindlichkeit von Krebspatienten unter Misteltherapie zu evaluieren und dabei besonderen Wert auf die Erfassung der zellulären Killingaktivität gegen die patienteneigenen Tumorzellen im Vergleich zum Standardtarget K562 zu legen.

Patienten und Methoden: Es wurden immunologisch nicht vorbehandelte Patienten mit operablem Mamma- oder kolorektalem Karzinom untersucht. Alle Patienten erhielten postoperativ eine individuell angepasste Helixor[®]-Therapie. Weitere postoperative immunmodulierende Zusatztherapien wie insbesondere Chemo- oder Hormontherapie, sowie Radiatio waren als Ausschlußkriterien definiert worden. Aus einem Teil des operativ entfernten Tumorgewebes isolierten wir frische autologe Tumorzellen und konservierten sie für die späteren Zytotoxizitätstests. Im Verlauf der Misteltherapie wurden für maximal zwei Jahre oder bis zum Beginn einer studienwidrigen Zusatztherapie bzw. eines Wechsels des Mistelpräparats sowohl die relevanten Immunparameter (Anzahl NK-Zellen im peripheren Blut, NK-Zellaktivität gegen autologe Tumorzellen und K562-Zellen *in vitro*) als auch der klinische Verlauf und die Befindlichkeit der Patienten (über den Fragebogen EORTC-QLQ-C30) ermittelt.

Ergebnisse und Schlußfolgerungen: Insgesamt wurden 40 Patienten (Alter von 32 bis 79 J., 24 Frauen, 16 Männer) mit Mamma- (9) oder kolorektalem Karzinom (31) in die Studie aufgenommen. 20 der eingeschlossenen Patienten beendeten die Studie prüfplangemäß nach 24 Monaten, bei den restlichen Studienteilnehmern wurde die Therapie vorzeitig, meist aufgrund einer Progression der Erkrankung, abgebrochen. Dabei kamen die Daten von 3 Patienten aufgrund zu kurzer Laufzeit nicht in die statistische Endauswertung. Bei der Analyse der Veränderungen der Anzahl der NK-Zellen im Blut nach Therapiebeginn konnte ein Anstieg nach den ersten Wochen beobachtet werden. Insbesondere die Meßwerte zwischen den Zeiträumen 0. bis 14. Tag und 18. bis 24. Monat waren durchgehend verschieden voneinander ($p < 0,05$). Während zwischen Anzahl und Aktivität der NK-Zellen gegen K562 sowie zwischen der Aktivität gegen die eigenen Tumorzellen und gegen K562 und auch beim Vergleich der immunologischen Zielgrößen mit den 15 verschiedenen Skalen der Befindlichkeit der Patienten keine Zusammenhänge gefunden werden konnten, ergab der Gruppenvergleich zwischen Patienten ohne und mit Progression der Tumorerkrankung ($n=25$ vs. $n=12$) anhand der über den gesamten Behandlungszeitraum gemittelten NK-Zellaktivitäten (angegeben als % Killing) höhere Werte bei den Patienten ohne Progression ($18,7\% \pm 4,8$ vs. $13,5\% \pm 7,1$; $p < 0,05$). Dieser Unterschied blieb auch bestehen, wenn ausschließlich Patienten mit kolorektalem Karzinom verglichen wurden ($n=19$ vs. $n=11$). Die verschiedenen langen Laufzeiten innerhalb der beiden Gruppen waren dabei ohne Bedeutung, wie eine vergleichende Analyse der mittleren Zellaktivitäten des ersten und zweiten Beobachtungsjahrs ergab. Somit gelang es erstmals mittels einer über einen längeren Zeitpunkt (bis 2 Jahre) durchgeführten Analyse einen Zusammenhang zumindest zwischen der *in vitro*-Aktivität der NK-Zellen gegen K562 und dem Krankheitsverlauf nachzuweisen. Wir konnten so die Voraussetzung für weitere Prüfungen schaffen, inwieweit eine mögliche Stimulierung der NK-Zellaktivität durch eine Misteltherapie tatsächlich zu einer Verbesserung der Prognose von Tumorpatienten beitragen kann. Dagegen gelang es nicht, die *in vitro*-Erfassung der NK-Zellaktivität gegen autologe Tumorzellen als wesentliches Kriterium für eine Verlaufskontrolle bei Krebspatienten zu identifizieren.

¹Forschungsabteilung, Verein Filderklinik e.V.; ²Chirurgische Abteilung, Gemeinschaftskrankenhaus Filderklinik; ³Abteilung für klinische Forschung, Krebsforschung Herdecke e.V.; ⁴Innere Abteilung, Gemeinschaftskrankenhaus Filderklinik

Stellenwert der standardisierten Mistelextrakttherapie im wissenschaftlichen Kontext

Josef Beuth

Institut zur wissenschaftlichen Evaluation
Naturheilkundlicher Verfahren
an der Universität zu Köln

Definierte komplementär-onkologische Maßnahmen wurden in den vergangenen Jahren auf Qualität, Unbedenklichkeit und Wirksamkeit überprüft. Dabei wurden die Richtlinien der Evidence-Based Medicine (EBM; Center of Evidence-Based Medicine, University of Oxford, UK) und Studien der EBM-Level 1 und 2 zugrunde gelegt.

Die derart geprüften, wirksamen komplementären Maßnahmen (u.a. Ernährungsberatung/-umstellung; Anleitung zu sportlicher (Ausdauer)Tätigkeit; PsychoOnkologische Interventionen; sowie indikationsbezogen unter Chemo-/Strahlentherapie die medikamentöse Behandlung mit Na-Selenit und standardisiertem proteolytischen Enzymgemisch) wurden demzufolge in das Disease Management Programm (DMP) Mammakarzinom integriert und werden derzeit in Fortbildungskursen von Ärztekammer und KV für Gynäkologen publik gemacht.

Die Misteltherapie ist in Deutschland die meistangewandte komplementär-onkologische Maßnahme. Ca. 80% aller Tumorpatienten/Innen werden z.T. langfristig mit standardisierten Mistelextrakten therapiert. Daraus ergibt sich zwangsläufig die Frage nach einer gesicherten Indikation, die leider nicht immer gegeben scheint.

Die wissenschaftlich-fundierte komplementär-onkologische Therapie mit standardisierten Mistelextrakten setzt deren Wirksamkeitsprüfung in EBM-Level 1 oder 2 relevanten Studien voraus. Demzufolge ergeben sich für diese Therapieform als gesicherte Indikationen

- nachgewiesene Immunsuppression, u.a. nach adjuvanten Chemo-/Strahlentherapien. Die Analyse relevanter Immunparameter sollte frühestens 8-12 Wochen nach der tumor-destruktiven Behandlung erfolgen;
- bei Mammakarzinompatientinnen als komplementäre Maßnahme während der adjuvanten Chemo-/Strahlentherapie. Entsprechende Studien zeigten eine signifikant verbesserte Lebensqualität durch Reduktion therapiebedingter Nebenwirkungen.

Für diese beiden Indikationen kann die standardisierte Mistelextrakttherapie derzeit empfohlen werden. Dies führte zur entsprechenden Integration in das DMP Mammakarzinom.

Alle anderen Indikationen müssen analog auf Unbedenklichkeit und Wirksamkeit überprüft werden, um die Indikationsliste für die standardisierte Mistelextrakttherapie erweitern zu können.

STIMULATION KULTIVIERTER TUMORZELLEN DURCH SUBNANOGRAMM-KONZENTRATION VON ML I ODER *VISCUM ALBUM L.* -EXTRAKTE LÄSST SICH NICHT BESTÄTIGEN

A. Büssing¹, M. Schink², M Schietzel¹, G. M. Stein¹

¹Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, Universität Witten/Herdecke

²Forschungsabteilung, Verein Filderklinik e.V., Filderstadt

Die Möglichkeit, dass Mistellektine (ML) in niedrigen Konzentrationen (um 1 ng/kg Körpergewicht) zu einer Stimulation von Tumorzellen führen könnten, wird kontrovers diskutiert. Gabius *et al.* (*Cancer Investigation* 2001; 19: 114-126) beschrieben, dass u.a. die Sarkom-Zelllinie SK-UT-1b durch ML I < 1 ng/ml zur Proliferation zu bringen wäre. Als Testmethode wurde von den Autoren der MTT-Assay ausgewählt, der die metabolische Aktivität der kultivierten Zellen erfasst. Wir haben versucht, diese Ergebnisse unter gleichen Versuchsbedingungen zu reproduzieren, haben aber noch zwei weitere, für die Fragestellung wesentlich relevantere Untersuchungsmethoden mit einbezogen, den Einbau des Thymidin-Analogons BrdU in die DNA proliferierender Tumorzellen und deren DNA-Profil. Untersucht wurden Colo-320 und SW-480 Colon-Carcinome; Colo-824 und KPL-1 Mamma-Carcinome; HS 729, SK-UT-1b und SK-LMS-1 Sarkome; HT-144 und SK-Mel-28 Melanome; THP-1 monozytäre Leukämie; Jurkat T-Zell-Leukämie; U-266 Plasmozytom; U-698-M und MHH-PREB-1 B-Zell-Lymphome in Triple-Ansätzen und während 3-4 verschiedener Passagen. Die Zellen wurden für 96 h (in 24 Loch- bzw. Microtiterplatten) mit ML I in 0,01, 0,05, 0,1, 0,5 und 5 ng/ml bzw. mit dem ML-standardisierten Mistelextrakt *Iscazor M spezial* (in Konzentrationen entsprechend dem ML-Gehalt 0,05, 0,5 und 5 ng/ml) sowie PMA stimuliert. Es ließ sich mit den Untersuchungsmethoden, sowie den verwendeten Zelllinien und Konzentrationen keine Stimulation der Tumorzellen nachweisen. Dies deckt sich mit Untersuchungen von Maier & Fiebig (*Anti-Cancer Drugs* 2002; 13: 373-379), die in einem Panel von 16 humanen Tumorzelllinien ebenfalls keine Stimulation durch Mistelextrakte nachweisen konnten. Die von Gabius *et al.* konstruierte Hypothese ist möglicherweise auf Zellkultur-Artefakte und besondere Wachstumskinetiken zurückzuführen und spricht somit nicht für ein generelles Risiko einer Tumorzellstimulation durch Mistelextrakte.

Ausschluss einer Tumorstimulation durch Iscador® Präparate in vitro in einem Panel von 26 humanen Tumorzelllinien

Kelter G, Fiebig HH

Oncotest GmbH, Institut für experimentelle Onkologie, Am Flughafen 12-14, D-79108 Freiburg

Vor allem in den deutschsprachigen Ländern Europas finden Mistelextrakte in der adjuvanten Therapie maligner Tumorerkrankungen eine breite Anwendung. Die Wirkung der Extrakte scheint sowohl auf einer direkten Inhibition des Tumorwachstums als auch auf einer Modulation von immunologischen Reaktionen zu beruhen. Dennoch bleiben in Bezug auf die Wirkmechanismen der Mistelextrakte immer noch sehr viele Fragen offen. Zudem berichten einzelne experimentelle Beobachtungen von der möglichen Gefahr einer Tumorstimulation durch Mistelextrakte.

Um den direkten Einfluss von Mistelextrakten auf das Tumorwachstum zu prüfen, wurden in den hier vorgestellten Studien die drei Iscador®-Präparate Iscador® M Spezial, Iscador® Qu Spezial und Iscador® P auf ihre wachstumshemmenden sowie ihre wachstums-stimulierenden Eigenschaften an 26 humanen Zelllinien in vitro in einem Proliferations-Assay untersucht. Dabei standen vor allem hämatologische Neoplasien, sowie die in einer früheren Publikation (Gabius et al, Cancer Investigation 2001) als stimulierbar beschriebenen, von Sarkomen und Melanomen abgeleiteten Zelllinien im Mittelpunkt des Interesses.

Die Ergebnisse dieser umfangreichen in vitro Untersuchungen erbrachten keinerlei Hinweise auf eine Stimulation des Tumorwachstums durch die drei Iscador®-Präparate. Die untersuchten Zelllinien entstammten aus Karzinomen des ZNS (1), des Magens (1), der Lunge (4), der Brust (2), der Prostata (1), der Niere (2), des Uterus (1), sowie von Melanomen (5) und Sarkomen (3). Des Weiteren wurden 6 Zelllinien untersucht die von Leukämien und Lymphomen abstammten. Die in der Arbeit von Gabius et al. durch Mistellektin stimulierbar beschriebenen Zelllinien HT144 und SK-MEL-28 (Melanome), HS729, SK-UT-1B und SK-LMS-1 (Sarkome) zeigten ebenfalls keinerlei Anzeichen einer Tumorstimulation bei keinem der Iscador®-Präparate unabhängig von der Konzentration der Extrakte, insbesondere auch nicht im Niedrigdosisbereich. Neben den Iscador®-Präparaten wurde ein weiterer wässriger Extrakt der Mistel (Lektinol®, Madaus AG) an den von Gabius als stimulierbar gewerteten Zelllinien getestet. Auch hier ergaben sich keinerlei Hinweise auf eine Stimulation des Tumorwachstums.

Die anti-tumorale Wirksamkeit der drei Iscador®-Präparate wurde an 12 Zelllinien untersucht. Dabei wurden höhere Konzentrationen der Präparate eingesetzt. Auch hier ergaben sich keine Hinweise auf eine Tumorstimulation. Die Lektin-haltigen Präparate Iscador® M Spezial und Iscador® Qu Spezial hingegen zeigten eine ausgeprägte antitumorale Wirksamkeit mit mittleren IC₅₀ Werte von 30 µg Pflanzenmaterial/ml. Die Wirkprofile dieser beiden Präparate waren nahezu identisch, was auf einen ähnlichen Wirkmechanismus und/oder auf ähnliche Wirkkomponenten der Extrakte hinweist. Interessanterweise ähnelten die Wirkprofile dieser beiden Extrakte sehr stark dem Profil von isoliertem Mistellektin 1. Eine selektive antitumorale Wirksamkeit (individueller IC₇₀ Wert einer Zelllinie < ½ mittlerer IC₇₀ aller Zelllinien) war für beide Präparate bei 3 von 12 Zelllinien gegeben: MAXF401NL (Brust), RXF 944L (Niere) und UXF 1138L (Uterus). Iscador® P zeigte keine antitumorale Wirksamkeit.

Diese umfassenden präklinischen Untersuchungen lieferten im Ergebnis keinerlei Hinweise auf tumorstimulierenden Eigenschaften von Iscador® M Spezial, Iscador® Qu Spezial und Iscador® P in 26 humanen Tumorzelllinien in vitro. Die Lektin-haltigen Iscador®-Präparate hingegen bewirkten eine ausgeprägte antitumorale Aktivität, wobei die Wirkprofile dieser beiden Präparate große Übereinstimmungen mit dem Profil von isoliertem Mistellektin 1 zeigten.

Antitumorale Aktivität intratumoraler Injektionen eines lektinreichen Mistelextraktes in humanen Pankreas-Ca-Xenografts

M Rostock¹, R Huber¹, T Greiner², P Fritz³, R Scheer⁴, HH Fiebig²

¹ Ambulanz für Naturheilverfahren, 2. Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Freiburg, Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg

² Oncotest, Institut für Experimentelle Onkologie, 79108 Freiburg

³ Abteilung für Pathologie, Robert-Bosch-Klinik, 70376 Stuttgart

⁴ ABNOBA-Heilmittel, 75117 Pforzheim

Hintergrund: In verschiedenen präklinischen Untersuchungen und auch in einigen gut beschriebenen Einzelfallkasuistiken wird über Tumorremissionen unter intratumoraler (i.t.) Mistelapplikation berichtet. Die vorliegende Studie untersucht die Effekte des intratumoral injizierten lektinreichen Mistelextraktes ABNOBAviscum Fraxini® (ABN-F) in humanen Pankreas-Ca Xenografts.

Material und Methoden: Im ersten Teil der Untersuchung wurden Tumoren eines in unserem Labor in Serienpassage auf der Nacktmaus etablierten, humanen, gering differenzierten Adeno-Ca des Pankreas subkutan in jeweils beide Flanken von Nacktmäusen implantiert. Der Tumor der einen Seite wurde mit i.t.-Injektionen behandelt. Der Tumor der Gegenseite diente zur Evaluation systemischer Effekte. Fünf Gruppen (jeweils n=8) wurden über 3 Wochen behandelt mit jeweils 2 x wöchentlichen Injektionen von ABN-F in einer Dosierung von 4, 8 oder 16 mg Mistelextrakt /kg Körpergewicht in 100µl Pufferlösung (Ascorbat-Phosphat-Puffer), isoliertem Mistellektin I (ML-I, Konzentration entsprechend dem ML-I-Gehalt der 8 mg/kg ABN-F-Dosierung) oder Placebo in Form der o.a. Pufferlösung.

In der zweiten Untersuchung wurde jedem Tier lediglich ein Tumor in eine Flanke implantiert, wodurch eine längere Therapie- und Beobachtungszeit ermöglicht wurde. Zwei der drei Gruppen (jeweils n=8) wurden über 8 Wochen 2 x wöchentlich mit i.t.-Injektionen von 8 mg/kg KG ABN-F oder Placebo in Form des o.a. Ascorbat-Phosphat-Puffers behandelt. Die dritte Gruppe erhielt Gemcitabine i.v. in einer Dosierung von 300 mg/kg KG an Tag 1, 8. und 15.

Zielparameter waren Tumolvolumenhemmung ($T/C\% = \text{Relatives Tumolvolumen der Therapiegruppe} : \text{Relatives Tumolvolumen der Kontrollgruppe} \times 100\%$), Remissionsrate sowie die Verträglichkeit. Nach Abschluss der Untersuchung wurden die Ergebnisse histologisch verifiziert.

Ergebnisse: Untersuchung 1: ABN-F führte bei i.t.-Injektion zu einer Tumolvolumenhemmung auf 1,8% der Kontrolle unter der Dosierung von 8 mg/kg KG ABN-F und zu einer Tumorregression auf 10,8% der Kontrolle unter 4 mg/kg KG. Die i.t.-Injektion von isoliertem Mistellektin war ebenfalls hoch aktiv und führte zu einer Tumorregression auf 5,9 % der Kontrolle. Die Dosis von 16 mg/kg KG war toxisch. Weder unter ABN-F noch unter isoliertem Mistellektin konnten systemische antitumorale Effekte beobachtet werden.

In der zweiten Untersuchung bewirkte die i.t.-Gabe von ABN-F komplette Remissionen in 3/8 und partielle Remissionen in 3/8 der behandelten Tiere bei einer Tumolvolumenhemmung auf 0,4% der Kontrolle. Gemcitabin war weniger aktiv mit einer kompletten und 2 partiellen Remissionen und einer Tumolvolumenhemmung auf 4,6%.

Schlussfolgerung: Der lektinreiche Mistelextrakt ABN-F zeigt eine hochgradige antitumorale Aktivität bei intratumoraler Applikation im humanen Pankreas-Ca-Xenograft. Die Ergebnisse legen eine Untersuchung der klinischen Wirksamkeit intratumoraler Injektionen lektinreichen Mistelextrakts bei lokal fortgeschrittenen inoperablen Pankreaskarzinomen nahe.

Untersuchungen zur Immunreaktion nach intraläsionaler Viscumapplikation und klinischem Outcome

B. Matthes, P. Fritz, T. Mürdter**, M. Kröz, H.v. Laue, H. Matthes*

Forschungsinstitut Havelhöhe, Berlin

* Zentrum für Diagnostische Medizin, Robert Bosch Krankenhaus, Stuttgart

** Institut für klinische Pharmakologie,

Wenngleich die intraläsionale Applikation von Viscumextrakten in mehreren Untersuchungen eine gute Tumormassenreduktion und damit eine mögliche Therapieoption im Einzelfall gezeigt hat, liegen zur immunologischen Reaktion bei intraläsionaler Viscumapplikation und deren klinischer Bedeutung bisher wenige Daten vor.

Daher wurden in dieser Untersuchung 15 Patienten mit intraläsionaler Viscumtherapie (Abnoba viscum Fraxini St. 2) kolorektaler Karzinome retrospektiv anhand der ersten (diagnostischen, vor Injektion) Biopsie sowie des postinjiziertem Operationsgutes hinsichtlich der immunologischen Reaktion nach Injektion im Tumorgewebe, ein „Autologous mixed lymphocyte tissue reaction“ (AMLT) gegen Tumorgewebe und Normalgewebe, sowie das klinische outcome in bezug auf der medianen Überlebenszeit erfasst und in ihrer Beziehung untersucht. Ebenso wurde das Auftreten schwerer unerwünschter Nebenwirkungen erfasst.

In der Untersuchung der Immunantwort im Tumor vor und nach Injektion zeigte sich allgemein ein Anstieg der meisten Immunzellen im Tumor und speziell signifikante Anstiege der Anzahl von B-Lymphozyten, T-Lymphozyten und Makrophagen/Monozyten. Eine Vermehrung ergab sich ebenfalls für T-Helfer-, T-Suppressor (cytotoxische T) -Lymphocyten, Mastzellen und eosinophile Granulozyten. Keine Vermehrung zeigte sich für NK-Zellen. Im AMLT zeigte sich bei einer hohen intraindividuellen Streubreite insgesamt keine einheitliche Veränderung der Reaktion peripherer Blutlymphocyten gegen Tumorgewebe im Verhältnis zu Normalgewebe oder im Verhältnis zum Zustand vor/nach Viscum-Injektion. Ohne Vergleichsgruppe lag das mediane Überleben bei einheitlicher Standardtherapie neben der neoadjuvanten intraläsionalen Viscuminjektion insgesamt über dem statistischen Erwartungsmittel großer Vergleichsgruppen der Literatur. Dabei korrelierten die absolute Zahl sowie der Anstieg der eosinophilen Granulozyten, T-Suppressorzellen und Makrophagen positiv mit einem längerem Überleben, ebenso wie die Patienten im AMLT mit einem Anstieg der Reaktion auf Tumorgewebe nach Viscuminjektion.

Die Untersuchung von vier weiteren nicht-kolorektalen Tumoren (Schilddrüsen-, Pankreas- und Mammakarzinom) entsprachen den Auswertungen der gastrointestinalen Tumoren. Schwere unerwünschte Nebenwirkungen traten bei den untersuchten Patienten nicht auf. Größere und prospektive Untersuchungen wären hilfreich die tumorale Immunreaktion und deren klinische Bedeutung weiter zu verstehen. Eine häufigere neoadjuvante intraläsionale Injektion von Viscum in Tumore erscheint insgesamt durchaus sinnvoll.

Lokale Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms mit standardisiertem Mistelextrakt

U. Mengers¹, U. Elsässer-Beile², C. Leiber² und U. Wetterauer²

¹ MADAUS AG, Köln

² Urologische Klinik der Universität Freiburg

Die Therapie des Harnblasenkarzinoms ist stadienabhängig, wobei oberflächliche Karzinome durch transurethrale Resektion (TUR) abgetragen werden. Aufgrund der hohen Rezidivrate von bis zu 70 % wird meist eine Instillationstherapie mit BCG (Bacillus Calmette-Guerin) angeschlossen, die allerdings häufig zu starken Nebenwirkungen führt.

Die Suche nach neuen adjuvanten Therapien führte zu Mistelextrakten, die wegen ihrer zytotoxischen und immunmodulierenden Eigenschaften gerade bei direktem Kontakt mit oberflächlichen Tumoren hierfür besonders geeignet sein sollten.

Zunächst wurde ein auf Mistellektin (ML) standardisierter wässriger Mistelextrakt im Tierversuch evaluiert. Dabei ergab sich bei Mäusen mit implantiertem Harnblasenkarzinom (MB49) nach mehrmaliger Instillation von 300 ng ML/ml gegenüber der Kontrolle eine signifikant höhere Überlebensrate.

Auch die wiederholte Instillation von rekombinantem Mistellektin (rML) in Konzentrationen von 300 ng/ml oder 1500 ng/ml führte bei Ratten mit chemisch induziertem (NMU) Harnblasenkarzinom zu einer signifikant niedrigeren Tumorrage gegenüber der Kontrolle.

Die positiven tierexperimentellen Befunde führten zu einer ersten klinischen Phase I/II-Studie, in die bisher 27 Patienten mit Harnblasenkarzinomen der Stadien Ta und T1 und dem Grading G1 bis G2 aufgenommen wurden. Sie erhielten im Anschluss an die TUR 6 Instillationsbehandlungen mit einem auf Mistellektin eingestellten wässrigen Mistelextrakt. Es wurden jeweils 50 ml Instillationsflüssigkeit verabreicht, wobei die Konzentrationen zwischen 10 ng ML/ml und 2500 ng ML/ml lagen. Die Rezidivrate innerhalb eines Jahres entsprach mit ca. 30 % der Therapie mit BCG. Alle geprüften Konzentrationen wurden von den Patienten ohne Nebenwirkungen sehr gut vertragen.

Aufgrund dieser Daten kann der standardisierte Mistelextrakt als mögliche Alternative zu BCG in der Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms gesehen werden und seine Wirksamkeit sollte in weiteren klinischen Studien verifiziert werden.

Verbesserung der Qualität therapeutischer Einzelfallberichte in der Onkologie – Kriterien und Checkliste

G.S.Kienle (Institut für angewandte Erkenntnistheorie und medizinische Methodologie Schauinslandstraße 6 D-79189 Bad Krozingen; gunver.kienle@ifaemm.de)

Einzelfälle, überschaubare Fallserien und retrospektive Auswertungen sind in der Regel die einzige Möglichkeit für den praktizierenden Arzt, eigenständige klinische Forschung durchzuführen und an der kollektiven Wissens- und Erkenntnisbildung der medizinischen Gemeinschaft teilzunehmen. Auch in der Misteltherapie sind die Einzelfallbeschreibungen ein wichtiger Baustein der empirisch relevanten Literatur. In USA werden Einzelfälle – „best cases“ – zur Untersuchung von komplementärmedizinischen Krebstherapien herangezogen. Einzelfallbeschreibungen sind also auch in der modernen Medizin von Wichtigkeit. In der Praxis jedoch erweisen sich publizierte Einzelfälle und Fallserien – trotz interessanter Therapiekonzepte und scheinbar eindrucksvoller Therapieerfolge – oft als lückenhaft und in der Qualität ungenügend. Dies liegt u.a. daran, daß Kriterien guter Einzelfallbeschreibungen bisher kaum beschrieben wurden. Als Hilfestellung, zur Verbesserung der Publikationsqualität, wurden deshalb Kriterien erarbeitet und in einer Checkliste zusammengestellt, welche Informationen in onkologisch-therapeutische Einzelfallbeschreibungen und Fallserien eingehen sollten. Durch ein System qualitativ hochwertiger Einzelfalldarstellungen und Fallserien könnten wichtige Fragen der Misteltherapie weiter geklärt werden; der praktizierende Arzt könnte seine Beobachtungen und Erfahrungen auf hohem Niveau kommunizieren und somit am wissenschaftlichen Fortschritt aktiv partizipieren.

Literatur:

- [1] Kienle, G. S. and H. Kiene, Die Mistel in der Onkologie - Fakten und konzeptionelle Grundlagen, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York 2003.
- [2] Kienle, G. S., M. Karutz, H. Matthes, P. F. Matthiessen, P. Petersen and H. Kiene, *Konkurs der ärztlichen Urteilskraft?* Deutsches Ärzteblatt 100, A 2142-2146 (2003).
- [3] Kienle, G. S., H.J. Hamre, E. Portalupi and H. Kiene, *Improving the quality of therapeutic reports of single cases and case series in oncology – criteria and checklist.* Altern Ther Health Med Accepted for publication, (2003).
- [4] Kienle, G. S. and H. Kiene, *Kriterien für die Erstellung therapeutischer Einzelfallberichte in der Onkologie.* Der Merkurstab 56, 2-5 (2003).

Therapieerfahrung mit Mistel beim Pleuramesotheliom

Kröz, M*, Brauer, D*, Pickartz, H**, Girke, M*

Forschungsinstitut Havelhöhe (FIH), Berlin*, Institut für Pathologie am evangelischen Waldkrankenhaus, Berlin**

Einleitung: Für das Pleuramesotheliom gibt es noch heute, aufgrund nahezu fehlender Chemo- und Strahlensensibilität und sehr limitierten operativen Optionen, keine Standardtherapie. So wird die mittlere Überlebenszeit mit 4,5-16 Monaten nach Diagnosenstellung angegeben.

Verlauf, Therapie und Diskussion: Bei einem 67jährigen Malermeister wurde im Mai 1997 ein ausgedehnter rechtsseitiger maligner Pleuraerguss diagnostiziert. Maligne Zellen mit epitheltypischen BerEp4 und CEA-Expression wurden im Pleurapunktat gefunden, was am ehesten zunächst mit einem schleimbildenden Adenokarzinom vereinbar schien. Im anschließenden panendoskopischen und Ganzkörper-CT-Staging wurde kein Primärtumor gefunden. Eine Thorakoskopie wurde vom Patienten abgelehnt. Neben einer subcutanen (sc) Misteltherapie (MT) mit ABNOBAviscum Pini (Stufe 10, 5, 3) wurde eine Pleurodesetherapie mit 100mg und 500mg Helixor^R P begonnen. Darauf reagierte er mit 38,5° Fieber, ein Tag später trat eine bullöse Dermatose im Bereich des ventralen und dorsalen Thorax, der Achselhöhlen, Ellenbogen und Oberschenkelinnenseite auf. Eine Hauthistologie ergab eine pemphigusartige bullöse Dermatose, die wahrscheinlich MT-induziert war. Unter Anwendung von Combudoron^R – Gel bildete sich die Dermatose innerhalb weniger Tage komplett zurück. Nach 11 Tagen wurde die Pleurodese mit max. 1200 ml abgezogenem Erguss und 4 weiteren Mistelinstillationen zwischen 300-450mg über 1 Woche erfolgreich beendet. Hierunter kam es zu einer max. Eosinophilie von >3500/ml. Anschließend wurde eine sc. MT mit ABNOBAviscum Pini Stufe 2 fortgeführt. Über 2 Jahre persistierte die komplette Remission. Nach einer MT-Pause wurde im September 1999 ein Lokalrezidiv mit Thoraxwandinfiltration festgestellt. Histo- und zytologisch konnte ein epitheliales Pleuramesotheliom nach Butchart im Stadium II diagnostiziert werden. Mit 3 Instillationen von 4 und 5 ml ABNOBAviscum^R Fraxini St.2 wurde eine Pleurodese erzielt. Erneut trat eine Eosinophilie (2500/ml) mit ECP=130ug/ml und einer zweiten schwächer ausgeprägten pemphigusartigen bullösen Dermatose auf, die wiederum nach wenigen Tagen abklang. Die MT wurde sc. mit ABNOBAviscum Pini und Fraxini (Stufe 2) und Iscador Pini 10mg fortgeführt und intratumoral wurden in die Thoraxwandmetastase bis 10/99 zweimalig 5 Ampullen ABNOBAviscum Fraxini St.2 injiziert. Histologisch erbrachte die Thoraxwandmetastase mittelgroße Tumorzellen mit kubisch-hellem Zytoplasma, geringer Zellatypie und einem starken eosinophilen Granulozyteninfiltrat (TATE). Die TATE-Relevanz für Pleuramesotheliome ist ungeklärt, bei anderen Karzinomen scheint eine günstige Prognose verbunden zu sein. In den folgenden Jahren kam es zu einem sehr langsamen Progress bei konstant sehr guter Lebensqualität im Herdecker Lebensqualitätsfragebogen (HLQ) (72,5-100%). Im Juni 2003 lebte der Patient 73 Monate nach Diagnosenstellung mit sehr guter LQ mit einem Karnofsky von 100%. Somit kann von einem erfreulichen Verlauf eines epithelialen Pleuramesothelioms unter MT berichtet werden. Sollten ähnliche Ergebnisse auch in kontrollierten Studien reproduziert werden, ist Viscum in Anbetracht von stadienstratifizierten mittleren Überlebenszeiten auch unter multimodalen konventionellen Therapieansätzen von max. 35 Monaten im Stadium I und nur 16 Monaten im Stadium II als ernsthafte Therapieoption beim Pleuramesotheliom zu diskutieren.

Retrospektive Untersuchung zur Misteltherapie bei Patienten mit kolorektalem Karzinom am Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe 1/1996-6/2002

F. Schad, O. Hars, M. Tabali, H.-P. Lemmens, H. Matthes ¹

Abstract

Die Mistel wird seit 80 Jahren in der Onkologie als adjuvantes und palliatives Medikament eingesetzt. Neben Gesamtextrakten unterschiedlicher Herstellungsweise gibt es lektinangereicherte Präparate und auf den Lektin Gehalt normierte Monopräparate. Das kolorektale Karzinom (CRC) ist die zweithäufigste Tumorerkrankung in Deutschland. Am Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe (GKH) wird seit 1996 Mistel zur Behandlung des CRC eingesetzt. Aufgrund unterschiedlicher Abteilungen, behandelnder Ärzte und Therapiekonzepte kommen verschiedene Mistelpräparate und Applikationsweisen zum Einsatz. Im Rahmen der Tumorbasisdokumentation wurden am GKH mittels der Dokumentationssoftware QuaDoSta[®] eine retrospektive Erfassung aller bis 6/2002 behandelten Patienten mit CRC durchgeführt. Es werden Daten dieser Retrospektive als Beispielerhebung einer standardisierten onkologischen Dokumentation insbesondere hinsichtlich der Misteltherapie dargestellt.

Schlüsselwörter: Misteltherapie, kolorektales Karzinom (CRC), Retrospektive.

¹Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe in Kooperation mit dem Forschungsinstitut Havelhöhe, Kladower Damm 242, 14089 Berlin.

Isorel treatment effects on patients operated on for colo-rectal cancer

Mircea Cazacu, Traian Oniu, Cornel Lungoci, *Anca Mihailov
The 4th Surgical Clinic – University of Medicine and Pharmacy “Iuliu
Hatieganu” and the MT Clinical University Hospital Cluj-Napoca
* The Chemotherapy Department –the MT Clinical University Hospital
Cluj-Napoca

Summary

Background and aim: The colo-rectal cancer has not for the moment a definitive therapeutical solution. The surgery is not enough, especially for the advanced cases and the association with chemotherapy and radiotherapy has improved the survival rate but the side effects and the poor performance status of the patients seriously affect the use of these methods. We are using a therapeutical method - immunotherapy – that can improve the patient’s resistance to the disease and render the treatment’s side effects more tolerable.

Matherial and methods: This is a prospective, randomized and controlled study which compares the postoperative results for patients with colorectal cancers stages Dukes C and D, which, apart from surgery, received either only chemotherapy or chemotherapy + Isorel (Novipharma, Austria). We compared (Kaplan – Maier) the median survival and the cumulative proportion survival, $p < 0,05$ being considered statistically significant.

Results: We enrolled in this study 64 patients with colorectal cancers, 40 staged Dukes C and 24 being Dukes D. The patients were randomly allocated into three groups : only chemotherapy for 24 cases; chemo-immunotherapy for 29 cases and the control group (11 patients) underwent only surgery. In our study surgery means the removal, either with radical or palliative intention, of the colo-rectal tumor. We noted no toxic deaths due to either chemo or immunotherapy. The patients operated on and treated with chemo and immunotherapy had a median survival significantly better ($p < 0,05$) and a cumulative proportion survival superior to those of the patients receiving only postoperative chemotherapy.

Conclusions: Colorectal cancer patients seem to benefit in terms of survival from the association between immunotherapy with Isorel and postoperative chemotherapy, either adjuvant or palliative. The immunotherapy was easy to deliver and very well tolerated .

Viscum album und EBM – Zur Studienlage der lektinnormierten Misteltherapie

Dr. Günther Stoll
biosyn Arzneimittel GmbH
Schorndorfer Str. 32
70734 Fellbach

Ein in der Bewertung der Misteltherapie immer wieder auftauchender Kritikpunkt ist die als ungenügend empfundene klinische Datenlage. Dies gilt auch für die phytotherapeutisch ausgerichtete Misteltherapie [1] und ist teilweise auf die spezifische, mit komplementären Therapien häufig gekoppelte Problematik mangelnder Patientencompliance zurückzuführen (Befürchtung, in die Kontrollgruppe ohne Therapie zu kommen). Einen Ausweg bieten so genannte retrolektive multizentrische Kohortenstudien, die speziell für die Prüfung solcher Therapien geeignet sind. Retrolektive Kohortenstudien erfüllen EBM (evidence-based medicine) Level 2 und sind somit relevant für den Nachweis der Wirksamkeit. Die Datenlage zu den klinischen Studien mit lektinnormierten Präparaten wird kurz vorgestellt und dann eine Studie bei Mammakarzinom-Patientinnen genauer diskutiert [2].

689 Patienten wurden in die Studie einbezogen, 470 davon gehörten der Kontrollgruppe an, 219 der Therapiegruppe. In dieser Studie kam es in der Therapiegruppe, die begleitend zu Chemo- und/ oder Radio- und/oder Hormontherapie den lektinnormierten Mistelextrakt EURIXOR[®] erhalten hatte, zu einer signifikant größeren und klinisch relevanten Reduktion der Häufigkeit von therapiebedingten Symptomen.

Die Verträglichkeit der Therapie wurde trotz gelegentlicher Lokal- oder Hautreaktionen von 94,5 Prozent der Patientinnen der Therapiegruppe als "sehr gut" oder "gut" bewertet. Eine völlige Symptomfreiheit wurde statistisch signifikant und klinisch relevant häufiger in der Therapiegruppe erreicht als in der Kontrollgruppe und zwar bei Übelkeit (74,4 vs. 15,9 %), Appetitlosigkeit (73,8 vs. 26,2 %), Magen- oder Oberbauchbeschwerden (73,8 vs. 26,2 %), Müdigkeit und Mattigkeit (61,2 vs. 24,0 %), Depression und Antriebsmangel (57,1 vs. 22,0 %), Gedächtnis- und Konzentrationsmangel (60,0 vs. 2,9 %) sowie Reizbarkeit (67,6 vs. 18,8 %).

Die lektinnormierte Misteltherapie wurde überwiegend kontinuierlich (zweimal eine Ampulle à 1 ml EURIXOR[®] wöchentlich) über die gesamte Beobachtungsdauer von 270 Tagen fortgeführt. Bei 28 von insgesamt 219 Patientinnen (12,8 %) kam es zu therapiebedingten Nebenwirkungen (UAW). Im Nachbeobachtungszeitraum traten in der Therapiegruppe deutlich weniger Rezidive auf (2,78 Prozent), als in der Kontrollgruppe (5,22 Prozent). In der Kaplan-Meier-Auswertung zeigt sich eine signifikant längere Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs. Die Ergebnisse der Studie erlauben eine präzise Positionierung der phytotherapeutischen Misteltherapie im Rahmen onkologischer Therapiekonzepte [3].

[1] Stauder, H., Kreuser, E.-D.: Onkologie 25, 374 – 380 (2002).

[2] Schumacher, K., et al.: Deutsche Z. Onkol. 34, 106 – 114 (2002).

[3] Schumacher, K., Stoll, G.: Deutsche Z. Onkol. 35, 37 – 51 (2003).

Feasibility-Studie zur Misteltherapie bei postoperativen Mammakarzinompatientinnen unter Chemotherapie. Ergebnisse zu Immunparametern, Lebensqualität und Verträglichkeit von Mistel- und Chemotherapie.

Loewe-Mesch A¹, von Hagens C¹, Kuehn JJ³, Abel U², Gerhard I¹

¹Ambulanz für Naturheilkunde und integrative Medizin, Abt. Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen der Universitätsfrauenklinik Heidelberg

²Institut für Medizinische Biometrie und Statistik, Universität Heidelberg

³Lukasklinik Arlesheim, Schweiz

Einleitung

In der Feasibility-Studie mit Iscador^R M speziell an Patientinnen mit Mammakarzinom unter Chemotherapie wurden immunologische und hämatologische Parameter, die Lebensqualität und die Einschätzung der Verträglichkeit von Mistel- und Chemotherapie zur Vorbereitung einer Therapievergleichsstudie geprüft. Bei der Rekrutierung der Patientinnen wurde gleichzeitig eine Befragung zur Randomisierbarkeit für die geplante Folgestudie durchgeführt.

Material und Methode

In einer prospektiven, offenen, zweiarmigen, nicht randomisierten Studie an 66 Patientinnen mit primärem Mammakarzinom (T1-3, N0-2, M0, R0), die postoperativ eine adjuvante Chemotherapie (CMF oder EC) erhielten, wurde auf Wunsch (n=33) eine parallel durchgeführte Misteltherapie mit dem lektinstandardisierten Präparat Iscador^R M speziell durchgeführt. Die Kontrollgruppe (n=33) erhielt keine Misteltherapie während des Studienzeitraums. Folgende Parameter wurden vor und nach Chemotherapie bestimmt:

- Lymphozytensubpopulationen und Lymphozytenstimulierbarkeit
- Blutbild und Differentialblutbild
- Lebensqualität (EORTC-QLQ C30 und EORTC BR23)

Ausserdem wurden auch Daten zur Verträglichkeit der Misteltherapie erhoben.

Ergebnisse

Unter den immunologischen und hämatologischen Parametern fand sich kein klinisch bedeutsamer Parameter, dessen Verlauf während der Studie in der Mistelgruppe signifikant günstiger war. Bei der chemotherapiebedingten Immunsuppression gab es keinen Unterschied zwischen den Gruppen. In der Verumgruppe gab es im Verlauf der Studie einen geringen Thrombozytenanstieg, sodass ein signifikanter Unterschied (p=0,01) zur Kontrollgruppe, bei der ein leichter Abfall innerhalb des Normbereichs gemessen wurde, resultierte.

Bezüglich der Lebensqualität (gemessen mit EORTC QLQ C30 und BR 23) ergaben sich Hinweise auf eine geringere Beeinträchtigung der Lebensqualität in der Mistelgruppe während des Studienverlaufs. Die Differenz der Skalen für Übelkeit und Erbrechen und für systemische Nebenwirkungen zeigte jeweils mit p=0.02 einen Hinweis auf einen überzufälligen Unterschied zugunsten der Verumgruppe.

Es konnte eine gute klinische Verträglichkeit von Misteltherapie und Chemotherapie beobachtet werden.

Im Studienzeitraum von 27 Monaten erfüllten 74 Patientinnen die Ein- und Ausschluss-kriterien für die Studie, 29 (39,2 %) von ihnen wären auch zur Teilnahme an einer randomisierten Mistelstudie bereit gewesen.

Diskussion

Die Feasibility-Studie zur Misteltherapie an postoperativen Mammakarzinompatientinnen unter Chemotherapie ergab Hinweise auf eine geringere Beeinträchtigung der Lebensqualität in der Mistelgruppe bei guter klinischer Verträglichkeit von Mistel- und Chemotherapie. Therapiestudien zur Wirksamkeit der Misteltherapie sind durch randomisierte (Multicenter-) Studien zur Lebensqualität und weitere klinische Studien zur immunmodulatorischen Wirkung zu ergänzen. Wegen der deutlich reduzierten Bereitschaft der Patientinnen, an einer randomisierten Zuteilung zur Therapie teilzunehmen (wegen Präferenz für die Misteltherapie, hier ca. 2/3), muss bei künftigen Studien mit einer hohen Zahl von Studienverweigerern gerechnet werden.

Einfluss einer additiven Misteltherapie auf die Lebensqualität von Krebspatienten unter Chemotherapie

Ergebnisse einer prospektiv randomisierten Studie

PD Dr. med. Dr. rer. nat. Jörg M. Schierholz, HELIXOR Heilmittel GmbH & Co. KG, Rosenfeld

Standardisierte Mistelextrakte stehen unter den komplementären Behandlungsmethoden von Krebspatienten seit mehreren Jahrzehnten an erster Stelle. Seit dieser Zeit werden viele positive Erfahrungen von Krebspatienten und von behandelnden Ärzten berichtet. Doch nun stehen zum ersten Mal öffentlich zugängliche klinische Daten einer gemäß GCP durchgeführten prospektiv kontrollierten randomisierten Multicenterstudie zur Verfügung. In dieser Studie konnte die Lebensqualität von Krebspatienten mit komplementärer HELIXOR®-Therapie (mit Chemotherapie) gegenüber der Kontrollgruppe (Immunstimulans Lentinan mit Chemotherapie) signifikant gesteigert werden. Die drei Lebensqualitätsindices (FLIC-, TCM-, KPI-Indices) wurden übereinstimmend positiv hinsichtlich Schmerzreduktion, körperlichem Status, körperlicher Aktivität, Befindlichkeit, Appetit signifikant verbessert (Abb. 1). Auch die Reduktion der Chemotherapie-assoziierten Nebenwirkungen um fast 50 % war statistisch signifikant in einem ausdrucksvollen Maße (Abb. 2). Desweiteren konnte eine Gewichtszunahme bei Patienten unter HELIXOR®-Therapie festgestellt werden.

Mit dieser Studie hat die Misteltherapie in Bezug auf Steigerung der Lebensqualität von Krebspatienten einen entscheidenden Schritt auf dem Weg zu evidenzbasierten Medizin getan.

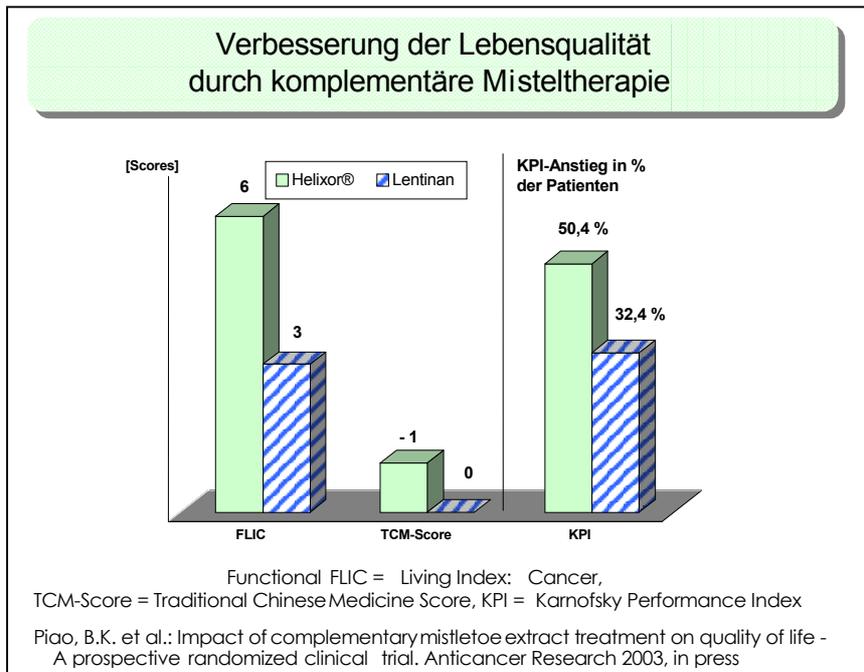


Abb. 1

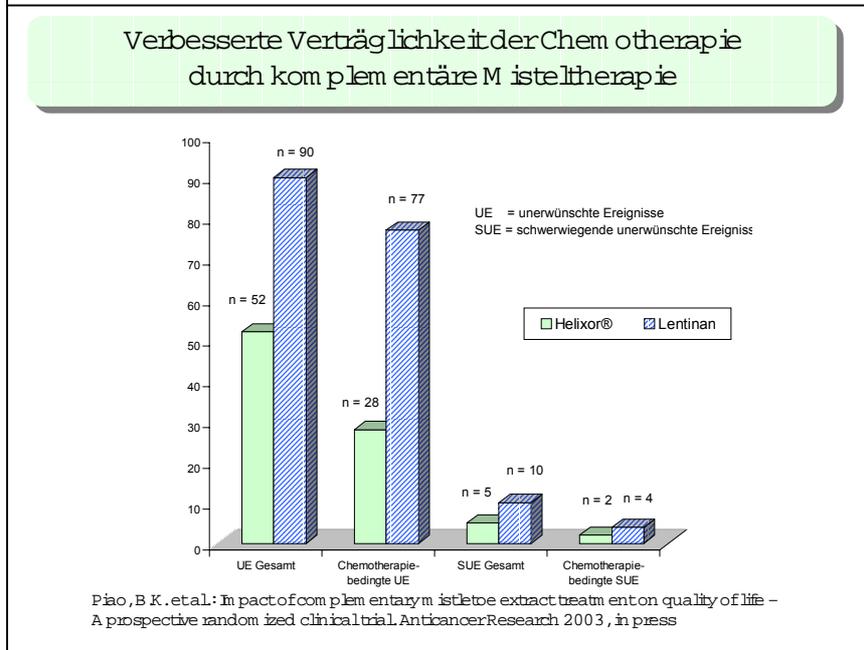


Abb. 2

**Dr. med. Paul R. Bock, Dr. Dr. med. W. Eckart Friedel, Dr. Jürgen Hanisch,
Marita Karasmann, Prof. Dr. Berthold Schneider**

*Institut für Medizin und Statistik, IFAG Basel AG, Schweiz
Klinikum Bad Bocklet, Innere Klinik/Onkologie, Deutschland
Institut für Medizin und Statistik, IFAG Basel AG, Schweiz
Institut für Medizin und Statistik, IFAG Basel AG, Schweiz
Med. Hochschule Hannover, Institut für Biometrie, Deutschland*

**Retrolektive kontrollierte Kohortenstudien mit Parallelgruppendesign für die Untersuchung der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit eingeführter Arzneimittel („drugs of established use“):
Erfahrungen aus einer Studie mit Mistel-Langzeit-therapie zusätzlich zur adjuvanten onkologischen Therapie bei Patientinnen mit primärem, nicht-metastasierten Mammakarzinom**

Hintergrund: Epidemiologische kontrollierte Kohortenstudien teilen das Problem des Risikos von Verzerrungen („bias“) mit anderen nicht-randomisierten Beobachtungsstudien. Weil eine solche potentielle Verzerrung die Aussagekraft und Glaubwürdigkeit der Ergebnisse derartiger Studien ernsthaft beeinträchtigen könnte, besteht Bedarf für eine Methodik, die effektiv solche Verzerrungen vermeiden oder zumindest reduzieren könnte. Deshalb wurde eine optimierte Methodik für kontrollierte, retrolektive Kohortenstudien entwickelt und in zahlreichen therapeutischen Studien angewendet. Die Grundsätze und Regeln für die Durchführung des optimierten Studiendesigns zur Untersuchung der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit eingeführter Arzneimittel werden vorgestellt. Ihre Anwendung wird am Beispiel einer kontrollierten retrolektiven Kohortenstudie mit Langzeittherapie mit einem Mistelpräparat bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom dargestellt.

Zielsetzung: Die Zielsetzung der Studie war die Untersuchung der therapeutischen Wirksamkeit und Unbedenklichkeit der langfristigen komplementären Therapie mit einem standardisierten Mistel-Extract (Iscador[®]), zusätzlich zur herkömmlichen adjuvanten onkologischen Therapie bei Patientinnen mit primärem, nicht-metastasierten Mammakarzinom.

Methode: Multizentrische, kontrollierte, retrolektive, pharmakoepidemiologische Kohortenstudie mit Parallelgruppendesign und mit zufällig ausgewählten Zentren, welche z. T. beide Therapien angewendet haben, wurde nach den Richtlinien der Guten Epidemiologischen Praxis (GEP) unter SOP-Kontrolle durchgeführt. Die Misteltherapie der Prüfgruppe wurde mindestens drei Monate lang subkutan verabreicht, während die Kontrollgruppe ausschliesslich mit der herkömmlichen Therapie behandelt wurde.

Alle Patientinnen wurden mindestens drei Jahre lang, oder bis zum Tod, nachbeobachtet. Der primäre Endpunkt für die Wirksamkeit der Prüftherapie im Vergleich zur Kontrollgruppe war die Häufigkeit der durch die herkömmliche onkologische Therapie bedingten unerwünschten Ereignisse (UE). Sekundäre Endpunkte waren die Häufigkeit der krankheits- bzw. therapiebedingten Symptome, sowie das Überleben der Patientinnen, jeweils nach Adjustierung auf Ungleichgewichte der Ausgangslage und auf potentielle Störfaktoren („confounder“).

Die Unbedenklichkeit wurde deskriptiv bewertet durch die Zahl der Patientinnen mit Testtherapiebedingten unerwünschten Arzneimittelreaktionen (ADRs).

Ergebnisse: 1442 Patientinnen (710 Prüfgruppe und 732 Kontrollgruppe) wurden in die „per protocol“ Analyse der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit aufgenommen.

In der Ausgangslage hatte die Prüfgruppe eine mehr fortgeschrittene Krankheit und ein ungünstigeres Profil der Prognosefaktoren. Nach einer medianen Studien- und Nachbeobachtungszeit von 67 bzw. 61 Monaten und einer medianen Dauer der Prüftherapie von 52 Monaten, haben signifikant weniger Patientinnen der Prüfgruppe (16.2 %) als der Kontrollgruppe (54.0 %) durch herkömmliche

onkologische Therapie bedingte ADRs entwickelt (adjustiertes odds ratio = 0.47 (0.32 – 0.67) p < 0.001).

In der Prüfgruppe verschwanden die meisten Symptome bedeutend häufiger.

Das Mortalitätsrisiko der Patientinnen war signifikant geringer (adjustiertes hazard ratio = 0.46 (0.22 – 0.96), p = 0.038), als in der Kontrollgruppe. Diese Wirkung war dosisabhängig und unter anderem auch durch die Anwendung eines prophylaktischen Ansatzes bei der herkömmlichen onkologischen Therapie beeinflusst.

Systemische, durch die Testtherapie bedingte, ADRs entwickelten 0.8 % und lokale ADRs 17.3 % der Patientinnen. Der ADR- Schweregrad war leicht bis mässig (WHO/CTC Grad 1 - 2). Ein Tumor-Enhancement wurde nicht beobachtet.

Schlussfolgerungen: Die Komplementärtherapie von Patientinnen mit primärem, nicht-metastasierten Mammakarzinom mit dem Mistelprodukt Iscador® war sicher und im Vergleich mit Patientinnen der Kontrollgruppe aus der gleichen Kohorte führte sie zu erheblich weniger ADRs durch gleichzeitige herkömmliche onkologische Therapie, zur signifikant grösseren Reduktion der krankheits- und therapiebedingten Symptome sowie zur signifikanten Senkung des Mortalitätsrisikos.

Die Vor- und Nachteile der hier angewendeten Studienmethodik sowie ihre Bedeutung für die Interpretation und Konsequenzen aus dieser Studie werden diskutiert.

Randomisierte und nicht randomisierte Kohortenstudien im Matched-Pair-Design zur Misteltherapie (Iscador®) bei gynäkologischen Karzinomen

Renatus Ziegler, Ronald Grossarth-Maticcek

Hintergrund: Die Misteltherapie gehört zu den am häufigsten angewendeten komplementären Krebstherapien. Trotzdem gibt es bisher wenig langfristig angelegte epidemiologische Studien zu den Auswirkungen dieser Therapie auf klinisch relevante Parameter.

Ziel: Langfristig vergleichende Beobachtung der Auswirkungen einer Misteltherapie als Zusatztherapie zur Standardtherapie auf die Überlebenszeit von Krebspatientinnen.

Design: 5 randomisierte und 8 nichtrandomisierte vergleichende prospektive Kohortenstudien im Matched-Pair-Design zu verschiedenen gynäkologischen Krebsindikationen, eingebettet in eine epidemiologische Kohortenstudie mit Krebspatienten. Die Matching-Kriterien umfassen Tumorstadium, Alter bei Erstdiagnose, Jahr der Erstdiagnose, Therapie.

Setting: Die Rekrutierung der Probandinnen stammt aus folgenden Quellen: Einwohnermeldeamt der Stadt Heidelberg, Angehörigen- und Bekanntenkreis von bereits rekrutierten Probandinnen, sechs Krankenhäuser und Nachsorgeeinrichtungen in Deutschland, telefonischer oder schriftlicher Kontakt von ratsuchenden Frauen zum Thema Selbstregulation und Autonomietraining beim Institut für Präventive Medizin in Heidelberg.

Untersuchungszeitraum: Die prospektive Datenerfassung fand von 1973 bis 1998 statt. Die abschliessende Nachuntersuchung fand von 1999 bis 2002 statt.

Patientinnen: Krebspatientinnen aus dem obigen Pool mit vollständigen medizinischen Daten und Einwilligung zur Studienteilnahme. Die meisten waren bei der Erstdiagnose zwischen 35 und 65 Jahren alt. Folgende Indikationen wurden untersucht: Mamma Ca (mit oder ohne Lokalrezidiv, axilläre Metastasen, Fernmetastasen), Cervix Ca (mit oder ohne Fernmetastasen), Corpus Ca (mit oder ohne Fernmetastasen), Ovarial Ca (mit oder ohne Fernmetastasen).

Prüfmedikation: Mistelpräparat Iscador® als Zusatztherapie zur konventionellen Standardtherapie. Patientinnen mit anderen Immuntherapien und Mistelpräparaten wurden nicht in die Studie aufgenommen. Die Kontrollgruppe erhielt jeweils nur die Standardtherapie (Operation, gegebenenfalls Chemotherapie, Bestrahlung, Hormontherapie), eventuell ergänzt durch andere nicht-konventionelle Therapien.

Zielkriterien: Primäres Zielkriterium ist die Überlebenszeit. Sekundäre Zielkriterien sind gegebenenfalls: Zeit bis Lokalrezidiv, Zeit bis Lymphknotenbefall, Zeit bis Feststellung von Fernmetastasen sowie Lebensqualität (Selbstregulation).

Resultate: Bei den 5 randomisierten Studien waren die jeweiligen Gruppen wegen des strengen Matching gut vergleichbar bezüglich Alter, Stadium, Therapie und Operationsjahr. In 2 Fällen war die Überlebenszeit in der Iscador®-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe, in 3 Fällen ergab sich ein positiver Trend. Bei den 8 Beobachtungsstudien waren die jeweiligen Gruppen vergleichbar in allen Fällen im Alter, in 7 Fällen im Stadium, in 5 Fällen in der Therapie, in 4 Fällen im Operationsjahr. In der entsprechend angepassten Auswertung ergaben sich in 7 Fällen signifikant höhere Überlebenszeiten in der Iscador®-Gruppe und in einem Fall ein positiver Trend.

Schlussfolgerungen: Die 5 randomisierten Studien zeigen einen geringeren Effekt als die 8 Beobachtungsstudien, was den üblichen Erwartungen entspricht. Die für die einzelnen Studien jeweils registrierten Daten sind sehr unterschiedlich, und die Datenqualität ist wegen der langen Laufzeit der Studie gemäss modernen Gesichtspunkten von schwacher Qualität. Aus diesem Grunde sind die Ergebnisse im Sinne einer explorativen Analyse zu interpretieren, ermutigen aber zu weiteren Untersuchungen. Insgesamt bestätigen die 13 vorgestellten Studien den wiederholt berichteten positiven Effekt der Misteltherapie auf Überlebenszeit und Lebensqualität bei Krebspatientinnen mit konventioneller Basistherapie.

Dr. rer. nat. Renatus Ziegler¹, Dr. med. Dr. phil. Dr. hc. Ronald Grossarth-Maticcek²

¹Verein für Krebsforschung, Arlesheim, Schweiz

²Professor für präventive Medizin, Postgraduierte Studien ECPD, Institut für Präventive Medizin, Europäisches Zentrum für Frieden und Entwicklung, Heidelberg

Korrespondenzadresse: Dr. Renatus Ziegler, Verein für Krebsforschung, Institut Hiscia, Kirschweg 9, CH-4144 Arlesheim

Poster

Isolierung und Quantifizierung der chitinbindenden Mistellektine (cbMLs) aus Mistelextrakten und deren Validierung

Mirita Franz^a, Simone Vollmer^a, Roland Wacker^a, Sebastian Jäger^b, Rainer Scheer^b, Stanka Stoeva^a und Wolfgang Voelter^a

Abteilung für Physikalische Biochemie, Physiologisch-chemisches Institut der Universität Tübingen^a, Tübingen, und Carl-Gustav-Carus-Institut^b, Niefern-Öschelbronn

Zusammenfassung

Aus Extrakten von Mistelpflanzen (*Viscum album* L.) wurden verschiedene Komponenten wie Aminosäuren, Flavonoide, Viscotoxine, Poly- und Oligosaccharide und Lektine isoliert. Aufgrund ihrer zytotoxischen und immunmodulatorischen Eigenschaften gilt das Hauptinteresse den Typ-2 Ribosomen-inaktivierenden Mistellektinen MLI, MLII und MLIII.

Kürzlich wurden drei Isomere einer neuen Klasse von Mistellektinen, die spezifisch an Chitin binden, isoliert und ihre Primärstruktur bestimmt.

Um den Gehalt an chitinbindenden Mistellektinen (cbMLs) in kommerziellen Mistelextrakten zu bestimmen wurde eine Methode etabliert, mit der kleine Mengen von cbMLs durch Affinitäts- und Umkehrphasen-Hochdruckflüssigchromatographie (RP HPLC) isoliert und quantifiziert werden können. Eine Validierung, gemäß den ICH-Richtlinien, dieser Methode wurde durchgeführt, und es wurde gezeigt, dass Spezifität, Robustheit und Präzision gewährleistet sind. Außerdem ist eine Linearität zwischen 0.6 und 4.1 µg/ml cbML-Gehalt in den Extrakten gesichert. Die Wiederfindungsrate beträgt zwischen 94 und 100%. Damit ist die Richtigkeit der Methode ebenfalls gewährleistet. Was den Arbeitsbereich der Analysenmethode betrifft, so können minimal 1.2 µg und maximal 8.2 µg cbML mit dem Affinitätsmaterial inkubiert werden. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze beträgt 0.13 bzw. 0.46 µg/ml cbML.

Impact of Mistletoe lectin binding in breast cancer

Fritz P, Dippon J, Kierschke T, Siegle I, Möhring A, Moisa A, Mürdter TE

Zentrum für diagnostische Medizin
Robert- Bosch- Krankenhaus, 70376 Stuttgart

Dr. Margarete Fischer-Bosch Institut für Klinische Pharmakologie, 70376 Stuttgart

Mathematisches Institut Universität Stuttgart Lehrstuhl A; 70376 Stuttgart

Background: Breast cancer is the leading cause of cancer death in woman. A great number of breast cancer patients use alternative therapies beneath standard evidence based treatment modalities. One of the most often used anticancer therapeutics in Germany is mistletoe extract with viscum album lectin (mistletoe lectin I or VAA-1) as the leading component.

Method: Immunohistochemical staining of paraffin tissue sections from breast cancer patients (n=226) were used to examine VAA-1 binding in either tumor cells or tumor infiltrating inflammatory cells by lectin histochemistry with.

Result: About 16 % of breast cancer tumor cells displayed no VAA-1 binding, Approximately 49.6 % showed only weak to moderate VAA-1 binding and 34.0 % of all breast cancer sections were characterized by strong VAA-1 binding. In 41.4% of the cases, a large percentage of inflammatory cells displaying VAA-1 binding were found infiltrating the breast tumor. Kaplan Meier statistics reveal a correlation between disease outcome and presence of VAA-1 binding as high VAA-1 binding is related to a better disease outcome and lower frequency of metastasis. Even in multivariate analysis strong VAA-1 binding was beneath N, grading, c-erbB2 status a negative independent factor for prognosis (relative risk 0.423 CI 0.22-0.63).

Supported by the Robert Bosch Foundation, Stuttgart

VERGLEICHENDE CYTOTOXIZITÄTSSTUDIEN UND RÖNTGENSTRUKTUREN VON VISCOTOXIN ISOFORMEN AUS MISTELEXTRAKTEN

Beatrix Girmann, Judit É. Debreczeni, George M. Sheldrick und Axel Zeeck

Universität Göttingen, Fakultät für Chemie, Tammannstrasse 2, 37077 Göttingen, Germany

Wässrige Extrakte der europäischen Mistel (*Viscum album* L.) werden klinisch zur Krebsbehandlung eingesetzt. Gemeinsam mit den Mistellektinen gehören die Viscotoxine zu den pharmakologisch wichtigen Inhaltsstoffen dieser Extrakte. Viscotoxine (VT) sind basische, cysteinreiche Mikroproteine mit einer Molmasse von etwa 5 kDa und gehören zur Klasse der α - und β -Thionine.

Wir berichten über unsere Untersuchungen an Extrakten von Misteln, der Wirtsbäume Pappel und Kiefer. Aus diesen Extrakten wurden alle Viscotoxin-Isoformen ohne die Verwendung von Phosphatpuffern isoliert und mittels HPLC sowie hochauflösender ESI-Massenspektrometrie charakterisiert. Die aus diesen Untersuchungen gewonnenen Daten stehen bezüglich der Primärsequenz der analysierten Mikroproteine zum Teil im Widerspruch zu bisher publizierten Daten. Zu den von uns isolierten Isoformen zählte neben den bereits bekannten Viscotoxinen A1, A2, A3, B, 1-PS und U-PS auch ein bisher unbekanntes, als VT B2 bezeichnetes Mikroprotein.

Vergleichende Cytotoxizitäts-Studien gegen die Tumorzelllinien Mammacarcinom MCF7, Magencarcinom HM02 und Lebercarcinom HepG2 wurden mit allen Isoformen sowie mit den Rohextrakten durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass U-PS keine cytotoxische Aktivität besitzt. Damit in Einklang stehen Primärsequenzuntersuchungen: U-PS gehört nicht, wie bisher angenommen wurde, zur Familie der Viscotoxine.

Weiterhin berichten wir über die Röntgenstrukturen der VT-Isoformen A3 und B2. Diese zeigen erstmals die dreidimensionale Struktur im Kristallzustand und geben Auskunft über die charakteristische Phosphatbindestelle dieser Moleküle. Die gewonnenen Strukturdaten tragen zum Verständnis des Wirkungsmechanismus der Viscotoxine bei und ermöglichen weitere Arbeiten zu dessen Aufklärung.

Fall - Kontrollanalyse zur intraläsionalen Viscum-Therapie bei endobronchial erreichbarem Bronchialkarzinom

C. Grah¹ und B. Matthes¹

Abstract:

Einleitung:

Die endobronchiale, funktionell stenosierende Manifestation des Bronchialcarcinoms ist eine häufige Manifestation des kleinzelligen (SCLC) und nichtkleinzelligen (NSCLC) Bronchialcarcinoms. Ein stenosierendes Tumorwachstum im Bronchialsystem erzeugt je nach Lokalisation im Bronchialsystem einen ventilatorischen Funktionsverlust der Atmung, der mit Dyspnoe, Belastungsdyspnoe oder auch Ruhedyspnoe eine erhebliche Verschlechterung der Lebensqualität nach sich ziehen kann. Zudem kommt es durch die Stenosierung in den distal der Stenose gelegenen Abschnitten des Bronchialsystems zum Sekretverhalt, evtl. zu retrostenotischen Pneumonien, zu Durchwanderungspneumonien oder zu abszedierenden Prozessen sowie Empyembildungen. Aus diesem Grunde ist eine möglichst effektive und anhaltende Rekanalisation bei endobronchialen Tumorwachstumwünschenswert. Üblicherweise wird dies durch mechanische Rekanalisation, Stentimplantation oder Laser- bzw. Argonbeamerabtragung des Tumorgewebes realisiert.

Aus den Erfahrungen der intraläsionalen Viscum-Therapie beim hepatozellulären Karzinom (HCC) und dem Kolonkarzinom (H. Matthes) ergab sich die Überlegung, ob ein antitumoraler (und evtl. sogar) immunmodulativer Effekt auch bei endobronchialen Tumorwachstum durch intraläsionale Therapie zu erzielen wäre, oder ob sich durch die bronchiale Reagibilität eine entsprechende Therapie verbietet. Ein Therapieeffekt durch lokale, intratumorale Viscumapplikation in das Bronchialsystem ist im Hinblick auf die Unbedenklichkeit und Wirksamkeit dieser Therapieoption bislang nicht systematisch untersucht. Da es sich beim Bronchialsystem um ein Vitalorgan mit potentiell gefährlichem, hyperreagiblem Reaktionsmuster handelt, galt die primäre Fragestellung dieser Fall-Kontrollanalyse der Einschätzung möglicher Nebenwirkungen dieser Therapie. Insofern galt es besonders zu prüfen, ob durch endobronchiale Viscumapplikation eine endobronchiale Hyperreagibilität; eine obstruktive Ventilationsstörungen oder generalisierte allergische Reaktionen oder andere unerwünschte Wirkungen auszulösen wären. Erst im Sinne einer sekundären Fragestellung wurde die Reaktion auf das lokale Tumorgeschehen, die Wirksamkeit und Verträglichkeit der übrigen

onkologischen Therapien (Chemotherapie und Radiatio) und das Verhalten der DNA im Tumorgewebe gelenkt.

Beobachtetes Kollektiv:

Bei 6 Patienten wurde eine intraläsionale endobronchiale Viscumtherapie mit je einer Ampulle Abnobaviscum fraxini in Stärke 3 oder Stärke 2 durchgeführt. Bei allen Patienten lag ein endobronchial stenosierendes Tumorwachstum bei fortgeschrittenem SCLC oder NSCLC vor.

Bei keiner der durchgeführten intraläsionalen Viscumgaben kam es zu einer potentiell unerwünschten Wirkung wie Fieber, Dyspnoe, Schwellung mit Dyspnoe, lokaler Allergie, bronchialer Hyperreagibilität, genereller Allergie oder Anaphylaxie.

Alle Patienten erhielten eine übliche onkologische Therapie mit Chemotherapeutika und /oder Radiatio.

Bei vier Patienten wurde die Therapie einmalig durchgeführt und auf eine endobronchiale Nachbeobachtung verzichtet.

Darüber hinaus wurde bei zwei Patienten eine wiederholte Viscuminstillation in das endobronchiale Tumorgewebe durchgeführt. Hier wurde ein erheblicher antitumoröser Effekt beobachtet.

In einem Fall konnte eine partielle, im zweiten Fall eine komplette Tumorregression beobachtet werden.

Diskussion:

Die Ergebnisse zeigen die Möglichkeit der intraläsionalen Viscumapplikation in das Bronchialsystem auf, ohne dass leichte oder schwerere unerwünschte Wirkungen gefunden wurden.

Ein antitumoraler Effekt ist bei wiederholter Therapie beobachtet worden – auch wenn der Effekt nicht von den übrigen antitumoralen Maßnahmen zu trennen ist. Nach den üblichen Erfahrungen dieser Maßnahmen wäre eine entsprechende partielle oder komplette Tumorregression bei keinem der beobachteten beiden Patienten zu erwarten gewesen.

Die Ergebnisse sind ermutigend und zum Teil überraschend positiv. Eine systematische Überprüfung der Daten erscheint auf dem Boden der vorliegenden Ergebnisse wünschenswert.

¹ Pneumologischer Schwerpunkt, Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe, Kladower Damm 221, 14089 Berlin

Machbarkeitsstudie zur Entwicklung einer LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Viscotoxin A2 in Ratten-Serum

Jäger S.^A, Eisenbraun J.^A, Baiér R.^B, Schmid B.^B, Girmann B.^C, Zeeck A.^C, Scheer R.^A

Im Rahmen einer Embryotoxizitätsstudie mit dem Mistelpräparat abnobaVISCUM Fraxini-2 (20 mg) [1] wurde untersucht, ob im Serum der für diese Studie eingesetzten Ratten nach subcutaner Gabe Arzneistoffspiegel festzustellen sind. Auf diese Weise sollte für abnobaVISCUM eine Basis für weitere pharmakokinetische Untersuchungen geschaffen werden. Da auf Grund von Literaturdaten für Mistellektine keine nennenswerten Serumspiegel zu erwarten sind, wurde nach Viscotoxinen, in der vorliegenden Untersuchung nach Viscotoxin A2, gesucht. Im genannten Mistelpräparat sind ca. 40 µg/ml Viscotoxin A2, der Viscotoxin-Hauptkomponente dieses Präparates, enthalten. Als Vergleichssubstanz wurde Viscotoxin A2 aus abnobaVISCUM Fraxini-2 (20 mg) isoliert^A, gereinigt und mittels CE/UV^A, HPLC/UV^A und HRESI-MS (High Resolution Electron Spray Ionization-Mass Spectrometry)^C charakterisiert. Die Reinheit betrug > 95 %.

Untersucht wurden Serumproben der höchsten Dosierungsgruppe (33,75 mg Mistelextrakt = 2,25 ml abnobaVISCUM Fraxini-2/kg Körpergewicht/Tag), und zwar pre-dose-Proben und Proben, die 1 Std. bzw. 2 Std. nach Applikation genommen wurden. Daraufhin wurde im Rahmen einer Machbarkeitsstudie überprüft, ob die LC-MS/MS Technik einen Beitrag zum Nachweis bzw. der Quantifizierung von Viscotoxin A2 in Serumproben liefern kann. Die Methode wurde dabei nicht endgültig optimiert und auch nicht validiert. Dennoch konnten erste, hinweisende Ergebnisse erhalten werden^B. Die untersuchten Serumproben zeigten, daß die o.g. Dosis, an Ratten subcutan verabreicht, zu nachweisbaren Viscotoxin A2-Spiegeln in Rattenserum führt. Die gefundenen Viscotoxinspiegel waren allerdings sehr niedrig, sie lagen zwischen Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze der Methode. Dennoch ist mit dieser Untersuchung der Einstieg in pharmakokinetische Messungen erfolgt. Weitere Untersuchungen haben zum Ziel, die Empfindlichkeit der Methode zu erhöhen, mögliche Einflüsse der Probe selbst und deren Aufbereitung auf den Analyten zu klären, dadurch bedingte Verfälschungen des Ergebnisses auszuschliessen und Humanproben zu untersuchen.

^A ABNOBA Heilmittel GmbH, Hohenzollernstr. 16, D-75177 Pforzheim

^B AAI Deutschland GmbH & Co. KG, Wegenerstr. 13, D-89231 Neu-Ulm

^C Institut für organische Chemie, Abt. Biomolekulare Chemie, Tammannstr. 2, D-37077 Göttingen

[1] Pharmakologisch-toxikologisches Gutachten 2002 für abnobaVISCUM Fraxini-2 und -Pini-2, nicht veröffentlicht

Bestimmung von Triterpenoiden in *Viscum album* L. und deren wässrigen Extrakten

Sebastian Jäger^{a, b}, Uwe Pfüller^b, Armin Scheffler^a

a Carl Gustav Carus-Institut

b Institut für Phytochemie, Universität Witten / Herdecke

Triterpenoide werden in der Literatur unter vielen Aspekten als pharmakologisch aktive Substanzgruppe beschrieben.

So weist Oleanolsäure ein antientzündliches, cytotoxisches und antitumorales Potential auf.

Im Zellversuch führt Betulinsäure zur Induktion von Apoptose an neuroectodermalen Tumorzellen. Seit 1947 wurden Triterpenoide von 6 verschiedenen Arbeitsgruppen aus *Viscum album* L. (Mistel) isoliert und identifiziert. In „Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis“ wird 1994 zusammengefasst, dass Mistel die folgenden Triterpenoide enthält: -Amyrin, -Amyrinacetat, Betulinsäure, Oleanolsäure und Ursolsäure.

Die in der Literatur aufgezeigten Quantifizierungsmethoden für Triterpenoide aus Pflanzenmaterial zeichnen sich durch eine aufwendige Probenvorbereitung mit vielen Fehlermöglichkeiten und ohne den heute üblichen Validierungsnachweis aus, weshalb eine eigene Methodenentwicklung notwendig war.

Um Triterpenoide in einem wässrigen Präparat der Therapie zugänglich zu machen, müssten diese Verbindungen - da für sich genommen praktisch in wasser unlöslich - durch andere Stoffe in Lösung gebracht werden. Durch Integration der Triterpenoide in lipide Strukturen wie Mizellen und Vesikel können diese in einer wässrigen Lösung gehalten werden. Es konnte gezeigt werden, dass Mistelextrakte, die durch ein Press- Spalt- Verfahren hergestellt wurden, neben anderen kolloidal gelösten Substanzen Membranvesikel enthalten. So ist denkbar, dass solche Mistelextrakte auch Triterpenoide enthalten. Ein entsprechender Nachweis ist bisher jedoch nicht publiziert.

Um das Pflanzenmaterial und daraus gewonnene wässrige Extrakte auf den Triterpenoidgehalt hin untersuchen zu können, wurden entsprechende Analysenmethoden entwickelt und validiert.

Die Bestimmung der Triterpenoide aus pflanzlichem Material wird durch eine beschleunigte Lösungsmittlextraktion (ASE; Accelerated Solvent Extraction) mit n-Heptan durchgeführt.

Aus dem Mistelsaft werden die Triterpenoide durch Flüssig- Flüssig- Extraktion mit Ethylacetat extrahiert.

Die Quantifizierung der Triterpenoide erfolgt jeweils direkt aus dem Lösungsmittlextrakt mittels Gaschromatographie und externer Kalibrierung.

Die Validierung wurde weitgehend gemäß den Richtlinien der ICH (International Conference on Harmonisation) zur Validierung analytischer Methoden durchgeführt (Q2A). Folgende Anpassungen an die biologische Matrix waren notwendig:

Die Linearität wurde nicht mit gleichbleibendem Gehalt an Matrix und variierendem Analytgehalt durchgeführt. Dies ist bei der Bestimmung einer Komponente aus einem biologischen Zusammenhang nicht möglich. Eine Standardaufstockung wurde nicht gewählt, da die addierten Analyten nicht in das biologische System zu integrieren sind. Eine Standardaufstockung wäre somit nicht aussagekräftig. Um das lineare Verhalten der Analysenmethode bestimmen zu können, werden unterschiedliche Mengen Probe in die Analyse eingesetzt. Das Extraktionsverhalten muss sich linear verhalten. In Zusammenhang mit den Ergebnissen der Präzision und Spezifität kann dann auch eine Aussage über die Richtigkeit gemacht werden.

Mit den Methoden ist es möglich, verschiedene Extraktionsbedingungen auf ihre Extraktionsleistung für Triterpenoide beurteilen zu können. Weiterhin können die Misteln verschiedener Wirtsbäume, deren Säfte und Mistlepräparate auf Unterschiede in der Triterpenoidzusammensetzung hin untersucht werden.

In Mistelblättern sind Triterpenoide in Konzentrationen bis zu ~ 1 % Frischpflanzenmaterial enthalten. Frisch hergestellte wässrige Extrakte aus 100 mg/g Mistelblättern enthalten bis zu ~3 µg/mL Triterpenoide.

Fremdstoffmetabolische Charakterisierung von Mistelpräparaten an der Leberzelle (HepG2)

B. Matthes, K Mühlenfeld*, A. Langner[†], H. Matthes
Forschungsinstitut Havelhöhe, Berlin;

Zusammenfassung

Über die Verstoffwechslung der Mistelgesamtextrakte, wie sie in der klinischen Medizin als immunmodulatorische oder antitumoröse Medikation gebraucht werden, liegen nur wenige Daten vor. Bekannt ist, dass sowohl eine renale Ausscheidung als auch ein hepatischer Metabolismus und Ausscheidung über den Darmtrakt stattfindet. In dieser Arbeit wurden daher fremdstoffmetabolische Charakterisierungen von Mistelpräparaten in der Leberzelle untersucht. Dazu wurden HepG2-Zellen verschiedene Gesamtextrakte (Abnoba viscum Quercus, Helixor M und Iscador Mund Q Spezial) angeboten und in ihrem Metabolismus hinsichtlich des Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenase-(Phase-I-)Systems sowie der Konjugation von lipophilen Substanzen mit Glucuronsäure und Sulfaten als Ausdruck der Phase II-Reaktion untersucht. Für die Phase I Reaktion wurde das Phenoxazonderivat 7-Ethoxyresorufin als spezifisches Substrat für CYP 1 A1 und 2 und die Aminophenazondemethylierung spezifisch für CYP IIIA 1 und 2 gewählt. Die Phase-II-Reaktion wurde anhand der p-Nitrophenol-UDP-Glucuronyltransferase als einer UDP-Glucuronyltransferase gemessen. Die Zellen wurden ausgesäht und 72h mit dem entsprechenden Mistelpräparat Helixor 30 21µl/ml, Abnoba Viscum Quercus 1µl/ml, Iscador M spezial 40µl/ml, Iscador Q spezial 26,5µl/ml inkubiert. Das Medium wurde schließlich entfernt und durch farbloses Medium ersetzt. Aminophenazon bzw. 7-Ethoxyresorufin wurden als Substrat zugesetzt und die Umsatzrate nach 24h bestimmt.

Bis auf Helixor scheint kein Mistelpräparat die Umsatzrate durch CYP III A1 und 2 zu beeinflussen. Die Höhe der Umsatzsteigerung durch Helixor ist sehr gering, es bleibt offen, ob es sich um eine Induktion handelt. Es hat keine Induktion von CYP I A1 und 2 stattgefunden. In der p-Nitrophenolkonjugation zeigte sich, dass alle Präparate die Konjugationsrate induzieren. Die UDP-Glucuronidyltransferasen, die an dieser Reaktion beteiligt sind, sind sowohl Phenobarbital- als auch 3-Methylcholantren-induzierbar, wobei es sich um unterschiedliche Isoenzyme handelt, da nicht nur die 3-Methylcholantren-induzierbare p-Nitrophenol-UDP-Glucuronidyltransferase glucuronidiert. Weitere Monooxygenase-Induktions-Prüfungen sind notwendig zur Klärung der Frage der phase-I-vermittelten Verstoffwechslung, die Phase-2 getragene Glukuronidierung der aller geprüften Mistelpräparate konnte gezeigt werden.

Kommunikationsadresse: B. Matthes, Forschungsinstitut Havelhöhe, Kladower Damm 221, 14089 Berlin.
bmatthes@havelhoehe.de

*Dr. Katrin Mühlenfeld, Pharmazeitisches Institut der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Humboldt-Universität zu Berlin, [†]Prof. Dr. habil. Andreas Langner, Institut für Pharmazeutische Chemie, Fachbereich Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle

Flexible Datenbank zur Tumor- und Misteltherapiedokumentation

Qualitätssicherung, Dokumentation und Statistik, QuaDoSta[®], eine „open source“ Lösung zur onkologischen Dokumentation

F. Schad, B. Matthes, J. Pissarek, H. Matthes

Abstract

Onkologische Epidemiologie ist in Deutschland noch sehr lückenhaft. Dokumentationsrichtlinien der Krebsregister oder Tumorzentren sind uneinheitlich. Vorhandene kommerzielle und wissenschaftliche Datenbanken sind starr programmierte Systeme und untereinander meist nicht kompatibel. Viele der vorhandenen Dokumentationssysteme sind im Kranken- und Praxishausalltag nicht praktikabel, weil zu umfangreich und in der Anwendung zu kompliziert. QuaDoSta[®] ist ein generisches, offenes und plattformunabhängiges Dokumentationssystem, welches komplette inhaltliche Flexibilität (Parameterpool), flexible Dokumentation (Katalog,-und Sichtenverwaltung) und individuelle Auswertung erlaubt. Eine feingranulierte Benutzerverwaltung gewährleistet Sicherheit und Systemstabilität. Die IT basiert auf Linux, Postgree-SQL und Perl-CGI-Scripts. In der Anwendung als Tumorbasisdokumentation (TBD) können alle individuelle Anforderungen des Endanwenders ohne Programmierung, z.B. ausführliche Therapiedokumentation (Chemotherapie, Mistel) realisiert und zugleich eine gemeinsame, einheitliche Datenhaltung zwischen Krankenhäusern, Krebsregistern, Tumorzentren oder in wissenschaftlichen Netzwerken sowie in Netzwerken stationär-ambulanter Patientenversorgung etabliert werden.

Schlüsselwörter:

Epidemiologie, Krebsregister, Tumorzentren, Software zur Tumordokumentation, Postgree-SQL, QuaDoSta[®].

Influence of different mistletoe preparations on *in-vitro* cell physiology of different cancer cells

F. Sidler¹, T. Wermelinger¹, L. Rist², R. Scheer³, A. Viviani¹, A. Hensel¹

¹ Hochschule Wädenswil – University of Applied Science, Pharmaceutical Biotechnology, CH-8820 Wädenswil, Switzerland

² Paracelsus-Spital, Richterswil, Switzerland

³ ABNOBA GmbH, Niefern, Germany

Within the investigation of different mistletoe preparations against *in vitro* cultivated tumor cells the influence of these extracts on cell physiology was investigated concerning the rate of cell proliferation (BrdU incorporation), mitochondrial activity (MTT test) and necrotic toxicity (LDH titers). It was shown that different commercial mistletoe preparations exhibit quantitatively different cytotoxic effects against HELA, MFM-223, Molt-4, COR-L51, CUB-1 and primary tumor cells. This means that a tumor specific therapy regime should be used when mistletoe preparations are used in clinical praxis.

The cytotoxic effects were shown to be quantitatively in the same range as the effects observed with classical chemotherapeutic agents.

Cytotoxic effects of the preparations were dependent on the lectin content; on the other side no clear lectin-cytotoxicity correlation was found *in vitro*, indicating that additional other compounds contribute to the toxic effects. Viscotoxins had significantly less cytotoxic effects than the VAA. Cytotoxic effects of mistletoe preparations were significantly diminished by serum additives. Experiments using serum from patients treated with mistletoe (Abnoba Fraxini) showed that antibody production against mistletoe lectin took place; addition of these antibody-containing serum to the *in vitro* cell assays proved that the cytotoxic mistletoe effect against MOLT-4 cells was diminished significantly.

According to literature stimulation of tumor cell proliferation by low-dose mistletoe is discussed. Within a broad study with significant sampling using mistletoe preparations, VAA I and several chemotherapeutic agents on different cell lines no hints on such stimulatory effects were found.

A NEW GENE ENCODING THE RIBOSOME-INACTIVATING PROTEIN MLIII FROM MISTLETOE EXTRACTS

Alexander G. Tonevitsky^{a*}, Igor I. Agapov^b, Irina B. Pevzner^c, Nataliya V. Maluchenko^a, Mikhail M. Moisenovich^a, Maria Yurkova^c, Karola Pfüller^c, Uwe Pfüller^c

^a*Biology Department, M.V. Lomonosov Moscow State University, Vorobyevy Gori, Moscow 119899.*

^b*State Scientific Centre of Russian Federation "GNIIGENETIKA", 113545 Moscow, 1st Dorozhny pr.,*

^c*Institute of Phytochemistry, University of Witten/Herdecke, 58453 Witten, Germany.*

Extracts from mistletoe (*Viscum album*) contain three main toxic proteins – MLI (also known as viscumin), MLII and MLIII. A catalytic subunit of the one of mistletoe toxic lectin has been cloned and expressed in *Escherichia coli* cells. The immunochemical properties of resulting recombinant A-subunit rMLgA allowed to say that obtained protein product is the MLIII A-chain. The comparative analysis of nucleotide and deduced amino acid sequences of the cloned MLIII, native MLI and other discovered mistletoe toxins, ricin and abrin A-subunits was performed, revealing the main differences in primary structure of these proteins. Antigenicity analysis of the MLIII A-subunit has revealed a new epitope D¹⁷⁹–E¹⁸⁴ that is not present in viscumin. Ribosome-inactivating activity of the recombinant MLIII A-subunit was determined in a cell-free system exhibiting inhibition of endogenous protein synthesis. The recombinant lectin ML III, its mutants and subunits assist the study and evaluation of therapeutically relevant activities of mistletoe based drugs and extracts.

Triterpene der Mistel (*Viscum album* L.) in der „leimartigen Substanz“ Viscin und ihre antiproliferative Wirkung

Urech Konrad¹, Scher Jochen², Hostanska Katarina³, Becker Hans²

¹ Verein für Krebsforschung, Institut Hiscia, Arlesheim, (Schweiz); ² Pharmakognosie und Analytische Phytochemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken (Deutschland); ³ Abteilung Innere Medizin, Universitätsspital Zürich, Zürich (Schweiz)

Bei der Grundlegung der Misteltherapie zur Behandlung von Krebserkrankungen hat Steiner (1920) aus seinen geisteswissenschaftlichen Grundlagen der Naturbetrachtung heraus die Aufmerksamkeit auf die besondere Bedeutung der „leimartigen Substanz“ der Mistel und seine Verarbeitung gerichtet. Die fettlösliche „leimartige Substanz“, die wegen ihrer extremen Haftfähigkeit als Vogelleim benutzt wurde und 1833 den Namen „Viscin“ bekam (Macaire 1833), erwies sich in den hier dargestellten Untersuchungen als pharmakologisch bedeutende Komponente von *Viscum album*.

Viscin zeigte antiproliferative Wirkungen bei drei Leukämie- Zelllinien (Molt4, U937 und K562) mit IC₅₀ – Werten von 118 ±24, 138 ±24 resp. 252 ±37 µg/ml. Beimischungen von zytotoxisch aktiven Viscotoxinen und Mistellektinen im Viscin konnten ausgeschlossen werden. In phytochemischen Untersuchungen mit bioaktivitätsgeführter Fraktionierung wurden die drei pentazyklischen Triterpensäuren Oleanol-, Betulin- und Ursolsäure und der Triterpenalkohol Lupeol als antiproliferativ wirksame Komponenten des Viscins nachgewiesen.

Viscin und seine Triterpensäure-Bestandteile induzierten Apoptose in den drei untersuchten Zelllinien. Außerdem wurden fünf weitere Triterpene: Lupeolacetat, β-Amyrinacetat, β-Amyrin, β-Sitosterol, Stigmasterol und vier Fettsäuren: Linol-, Palmitin-, Stearin- und Ölsäure isoliert bzw. mittels GC-MS nachgewiesen.

Oleanol-, Betulin- und Ursolsäure sind in der Mistel bereits früher gefunden worden. Antiproliferative Wirkungen dieser fettlöslichen Komponenten sind aber bisher in *V. album* nicht beschrieben worden. Diese drei Triterpensäuren besitzen ein breitgefächertes pharmakologisches Wirkungsspektrum, das zur Beurteilung des pharmakologischen namentlich des antitumoralen Potenzials von *V. album* künftig miteinbezogen werden muss.

Charakterisierung von Vesikeln in Mistelextrakt

Karin Winkler^{a, b}, Gero Lenewitz^a, Andrea Kimpfler^b, Rolf Schubert^b

a Carl Gustav Carus-Institut

b Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Universität Freiburg

Bei der Herstellung von Mistelextrakten durch ein Press-Spalt-Verfahren werden Membranen von Zellwänden und Zellorganellen des Mistelausgangsmaterials in Form von Vesikeln kolloidal in Lösung gebracht.

Vesikel sind Membranbläschen, die einen flüssigen Innenraum umhüllen. Im Innenraum können hydrophile Wirkstoffe eingeschlossen, in den Membranen lipophile Stoffe eingelagert werden. Diese Möglichkeiten sind galenisch und pharmakokinetisch sehr interessant.

In Mistelextrakt wurden aufgrund der grünen Färbung durch Chlorophyll lipide Strukturen vermutet. Nach Fixierung mit Glutaraldehyd konnten schon früher Vesikel durch Elektronenmikroskopie nachgewiesen werden. Jedoch blieb immer die Frage offen, inwieweit die Fixierung die Vesikelbildung beeinflusst.

Erstmals ist es nun gelungen, Vesikel ohne Fixierung in Mistelextrakt zu untersuchen. Der Nachweis der Vesikel konnte durch Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie erbracht werden. Bei dieser Methode werden die Proben auf ein Gitter aufgebracht, bei -180°C schockgefroren und dann im Elektronenstrahl untersucht. Der Nachweis ist sowohl in frischem Mistelextrakt, als auch aus Ampullen von abnobaVISCUM, gelungen.

Zur Quantifizierung der Vesikel wurde eine Methode etabliert und nach den Richtlinien der ICH zur Validierung analytischer Methoden (Q2A) validiert, mit der Phospholipide, also Membranbausteine, mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion extrahiert und photometrisch nach einer Färbereaktion analysiert werden können.

Zur Charakterisierung der Größe wurde eine Methode entwickelt, mit der zunächst die Vesikel über eine GPC-Säule (Sephacryl CL 4b) von den niedermolekularen Substanzen abgetrennt und dann mittels GPC / MALLS untersucht werden können.

Mistelextrakt wurde über Sephadex CL 4b in Fraktionen aufgetrennt. Von jeder Fraktion wurde ein Spektrum aufgezeichnet und die Größe der enthaltenen Teilchen bestimmt. Mit der Phospholipidanalytik wurde gezeigt, in welchem Bereich Vesikel in welchen Mengen eluieren, was die Befunde der Photometrie bestätigt.

Die Größe der Vesikel entspricht der Größe, die bei der Cryo-TEM Analyse beobachtet werden konnte.

Abkürzungen:

Cryo-TEM= Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie

GPC = Gelpermeationschromatographie, Größenausschlusschromatographie

ICH = International Conference on Harmonisation

MALLS = Multi Angle Laser Light Scattering

Intravenöse Misteltherapie zu Ardanan-Chemotherapie bei einer Patientin mit metastasiertem Colon Carcinom

Zerm, R; Kröz, M; Matthes, H; Forschungsinstitut Havelhöhe FIH

Einleitung

Während die subkutane (sc) Mistelapplikation die häufigste onkologische Therapie in Deutschland darstellt, kommt die intravenöse (iv) Anwendung bisher lediglich i. R. von individuellen Heilversuchen zur Anwendung. Erste Erfahrungen deuten darauf hin, dass bei begleitender Anwendung zur zytostatischen Therapie eine Reduktion von UAW erreicht werden kann. Ziel dieser Untersuchung ist die systematische Dokumentation einer iv- Mistelgabe zu einer palliativen Hochdosis 5-FU-Therapie bei einer Patientin mit Colon Ca. im Stadium IV.

Methoden

Einer 74-jährigen Patientin mit Colon Ca. (ED 9/99 im Stadium III, pT4 pN2 M0 G3, Z. n. Hemikolektomie 1/00 und adjuvanter zytostatischer Therapie mit 5-FU und Leucovorin plus Helixor M i.v. zwischen 3 und 8/00) wurde nach Diagnose eines Rezidives mit ausgedehnten paraaortalen Lymphomen, entsprechend Stadium IV, mit einer palliativen Chemotherapie nach Ardanan begonnen (wöchentlich 2400 mg/m² 5-FU und 30 mg Leucovorin über 24 Stunden). Zu den insgesamt 12 Chemotherapiezyklen wurden jeweils begleitend 100-300 mg Helixor M in 500 ml NaCl 0,9% intravenös appliziert, zwischen den Zyklen wurde mit ABNOB Aviscum quercus St.4 s. c. behandelt. Alle 2 Wochen wurde an den Zyklustagen die Lebensqualität mittels „EORTC-QLQ C30“ und „HLQ 2.5“ sowie zu Beginn und Ende der Beobachtungszeit (BeZ) die endogene Regulation (eR) mit dem Havelhöher Konstitutionsfragebogen (HKF 2.1) erfasst. Bei jedem Zyklus wurde eine 24h-EKG-Messung abgeleitet und aus der Herzfrequenz (Hfr) die Atemfrequenz (Afr) und der Quotient aus Puls und Atmung (QPA) berechnet. BeZ: 22.2.01 bis 28.5.01.

Ergebnisse

Unter der laufenden Therapie kam es zu einer partiellen Remission (CT gesichert) und einem Rückgang des Tumormarkers CEA von initial 1180 auf 73,8 ng/ml.

Interessanterweise war dies begleitet, bei insgesamt stabil hoher endogener Regulation, von einer Verbesserung der an den Zyklustagen erfassten Lebensqualität. So zeigte sich im EORTC-QLQ C30 für die LQ-Dimension „Gesundheitsstatus“ nach 2 Zyklen ein Anstieg von 17 auf 67% und verblieb dort bis BeZ-Ende. Die Müdigkeit stieg zunächst leicht an, fiel dann aber im Verlauf unter den Ausgangswert (von 33 auf 22%).

Im HLQ bildete sich ein Anstieg der „körperlichen (TU-)Verfassung“ (KöV) nach 2 Zyklen ab (85 auf 95% des Maximalwertes). Nach einer 2-wöchigen Pause (nach Zyklus 6) fiel der Wert auf den Ausgangswert zurück, um nach erneuten 2 Zyklen wieder anzusteigen. Qualitativ gleichsinnig wie die „KöV“ verhielten sich auch Persönlichkeitspräsenz“ und die subjektive Einschätzung der Schlafqualität. Allein die „Vitalität“ sank unter der Therapie von 69 auf 61%. Die Auswertung des nächtlichen QPA ergab bei abnehmender Hfr einen Rückgang von initial 4,2 auf 3,8.

Diskussion

Bei dem Ardanan-Schema handelt es sich um ein palliatives 5-FU-Hochdosis-Schema. Die o. g. Kombinationstherapie mit Viscum führte bei dieser Patientin zu einer partiellen Remission bei insgesamt sehr guter Verträglichkeit. Die Werte für „KöV“, „Schlafqualität“ und „Persönlichkeitspräsenz“ stiegen unter laufender Therapie und fielen während der Therapiepause wieder ab. Hier zeigt sich das Ansprechen der Therapie auf psychometrischer Ebene in Konkordanz zur radiologisch gesicherten partiellen Remission mit Rückgang des Tumormarkers CEA. Hingegen erscheint die Abnahme der „Vitalität“ unter Chemotherapie plausibel. Die erstaunlich gute Verträglichkeit des Ardanan-Schemas legt einen positiven Einfluss der Mistelbegleittherapie nahe. Der bekannte DNA-stabilisierende Effekt von Viscum könnte hier diskutiert werden. Zur Klärung dieser Frage bedarf es allerdings systematischer Untersuchungen. Die mediane Überlebenszeit bei inoperablem Colon Ca. beträgt unter Ausschöpfung von 3rd und 4th line Therapien (die auch bei dieser Patientin nach der BeZ zur Anwendung kamen) ca. 16 Monate. Die o.g. Patientin verstarb 23 Monate nach Rezidivdiagnose (39 Monate nach ED), eine ÜZ, die nur wenige Pat. erreichen. Inwieweit die hier verwendeten physiologisch und psychometrisch gemessenen chronobiologischen Marker zur onkologischen Prognoseabschätzung geeignet sind, ist ebenso zu klären wie der diskutierte positive Einfluss der begleitenden Misteltherapie.

Abkürzungen:

5-FU	5-Fluoro-Uracil	HKF	Havelhöher Konstitutionsfragebogen
Afr	Atemfrequenz	HLQ	Herdecker Lebensqualitätsfragebogen
BeZ	Beobachtungszeit	KöV	körperliche Verfassung
CEA	Carcinogenes embryonales Antigen	EORTC-QLQ	European Organisation for Research and Treatment of Cancer - Quality of Life Questionnaire
CT	Computertomographie	QPA	Quotient aus Puls und Atmung
ED	Erstdiagnose	UAW	unerwünschte Arzneimittel-Wirkung
eR	endogene Regulation	ÜZ	Überlebenszeit
Hfr	Herzfrequenz		

Rahmenprogramm

Das Mistelmotiv auf Postkarten. Ein Kapitel aus der Kulturgeschichte der Mistel.

Dr. Gertraud Schorer, Herzogweg 50, 71083 Herrenberg

Von den ersten gedruckten Weihnachts- und Neujahrs-Glückwunschkarten Mitte des neunzehnten Jahrhunderts bis heute ist das Mistelmotiv häufig und kontinuierlich auf den Karten vertreten. Die Vielfalt der behandelten Themen (später auch gelegentlich auf Postkarten ohne speziellen Glückwunsch) spiegelt sowohl die botanisch-biologischen Eigenschaften der Mistel wider als auch die kulturgeschichtlichen Aspekte dieser Pflanze, die sich ihrerseits oft von deren Natur ableiten lassen.

Aus dem breiten Spektrum der Darstellungen werden ausgewählte Kapitel behandelt. Grundlage für sehr viele Themen ist, dass die Mistel als immergrüne Pflanze Symbol für Überleben oder immerwährendes Leben ist, während ringsum in der Natur zur Winterzeit alles Leben erloschen scheint. Die Mistel steht für Glück, ob als ganzer Busch abgebildet oder als einzelner Zweig. Diese Bedeutung der Mistel als Glückszweig kommt in verschiedenen Darstellungsweisen auf den Karten zum Ausdruck und wird mit ihrem kulturgeschichtlichen Hintergrund erörtert. Die Vervielfältigung des Glückwunsches im Zusammenhang mit anderen Glückszweigen und –symbolen wird gezeigt. Auf den Karten werden fast alle Aktivitäten, alles Brauchtum illustriert, bei denen die Mistel im Festzyklus eine Rolle spielt: von der Ernte bis zum Schmücken des Hauses, vom Festschmaus bis zum Weihnachtsbesuch. Natürlich ist der bekannte „Kuss unter der Mistel“ häufiges Motiv. Den „weltlichen Festabläufen“ stehen die kirchlich-religiösen Aspekte gegenüber, auch wenn diese zahlenmäßig wesentlich geringer vertreten sind. Dazu gehört die Kreuzholzsymblik der Mistel ebenso wie Einzelszenen der biblischen Weihnachtsgeschichte. Selbst mythologische Themen sind nicht ausgespart: der Mistelritus der Druiden. Die Mistel als Friedenssymbol, besonders auf Karten während der Kriegszeiten, ist ein weiteres interessantes Kapitel.

Diese wenigen Ausschnitte sollen veranschaulichen, wie weit das Spannungsfeld zwischen Natur und Kultur reicht, das die Mistel-Karten abdecken.

Die Mistel im Spiegel der Medien

Annette Bopp
Medizinjournalistin
Hamburg

Mistelpräparate gehören zu den meist verordneten Arzneimitteln in der Onkologie. Weit über die Hälfte der Krebspatienten wenden sie an. Aber seit vielen Jahren gibt es heftige Kontroversen um den Nutzen einer Misteltherapie bei Krebs. Lange Zeit standen sich zwei Lager spinnfeind gegenüber: Hier die Befürworter, dort die Kritiker, um nicht zu sagen Gegner. Seit naturwissenschaftliche Forschung mehr Licht ins Dunkel von Wirkung und Wirksamkeit gebracht hat, nähern sich die Kontrahenten etwas an. Zahlreiche präklinische und klinische Studien haben die Wirksamkeit der Mistelpräparate bei verschiedenen Tumorentitäten erforscht. Dass eine Misteltherapie bei vielen Krebsarten die Lebensqualität verbessern kann, ist weitgehend unbestritten. Zur antitumoralen Wirksamkeit sind immer noch viele Fragen offen. Aber die Vielfalt der Forschungsansätze hat doch dafür gesorgt, dass es in Bezug auf die Misteltherapie inzwischen mehr Meinungsvielfalt und Toleranz gibt.

Dargestellt wird, wie sich diese Entwicklung in den Print-Medien spiegelt. Gezeigt wird auch, wie sich die Berichterstattung der Fachpresse in Publikumsmedien niederschlägt und wie sowohl Befürworter als auch Kritiker der Misteltherapie die verschiedenen Erkenntnisse für die eigenen Ziele nutzen. In dieser Hinsicht ist die Mistel ein Lehrbeispiel für die Subjektivität – und nicht die Objektivität – des Journalismus unserer Zeit.

Autorenverzeichnis

Abel U.	37	Heyder C.	20
Agapov I.I.	51	Horneber M.A.	7
Albrecht U.	49	Hostanska K.	52
Auerbach L.	24	Huber R.	17, 29
Baiér R.	46	Hugo F.	20
Bartzsch F.	23	Jäger S.	12, 42, 46, 47
Baumgartner S.	11	Kappler M.	18
Becker H.	2, 52	Karasmann M.	39
Beuth J.	26	Kelter G.	28
Bischof M.	23	Kienle G.	6, 32
Bock P.R.	39	Kierschke T.	43
Bopp A.	56	Kimpfler A.	53
Brauer D.	33	Klein R.	9, 17
Büssing A.	22, 23, 27	Kovacs E.	19
Cazacu M.	35	Kröz M.	30, 33, 54
Debreczeni J.É.	44	Kuehn J.J.	20, 21, 37
Dippon J.	43	Langner A.	48
Dittmar T.	20	Lavelle E.C.	15
Dorka R.	10	Leiber C.	31
Eisenbraun J.	46	Lemmens H.-P.	34
Elsässer-Beile U.	31	Leneweit G.	12, 53
Fiebig H.-H.	28, 29	Loewe-Mesch A.,	37
Fintelmann V.	1	Luedtke R.	17
Flückiger H.	11	Lungoci C.	35
Franz M.	16, 42	Maluchenko A.V.	51
Friedel W.E.	39	Matthes B.	30, 45, 48, 49
Fritz P.	29, 30, 43	Matthes H.	4, 30, 34, 48, 49, 54
Fronk E.-M.	23	Mengs U.	31
Gerhard I.	37	Mihailov A.	35
Girke M.	33	Möhring A.	43
Girmann B.	44, 46	Moisa A.	43
Giudici M.	13	Moisenovich M.M.	51
Glaser F.	25	Mühlenfeld K.	48
Gmeindl M.	23	Mürdter T.E.	30, 43
Goyert A.	25	Oniu T.	35
Grah C.	45	Pfüller K.	13, 15, 51
Grant G.	15	Pfüller U.	12, 13, 14, 15, 47, 51
Greiner T.	29	Pickartz H.	33
Grossarth-Maticek R.	41	Pissarek J.	49
Hanisch J.	39	Prevzner I.B.	51
Hars O.	34	Reif M.	18
Hatzmann W.	23	Rist L.	50
Hellrung W.	10	Rossi D.S.	11
Hensel A.	50	Rostock M.	17, 29
Hermann L.	14	Saller R.	5

Schad F.	34, 49
Schaller G.	11
Scheer R.	29, 42, 46, 50
Scheffler A.	3, 12, 14, 47
Scher J.	52
Scheuerecker H.	25
Schierholz J.M.	38
Schietzel M.	22, 27
Schink M.	25, 27
Schirmmacher V.	8
Schmid B.	46
Schneider B.	39
Schnelle M.	18
Schorer G.	55
Schubert R.	12, 53
Sheldrick G.M.	44
Sidler F.	50
Siegle I.	43
Soto Vera D.	18, 23
Stein G.M.	22, 23, 27
Stoeva S.	16, 42
Stoll G.	36
Tabali M	34
Tonevitski A.G.	51
Tröger W.	25
Urech K.	11, 52
Villalaín J.	13
Viviani A.	50
Voelter W.	16, 42
Vollmer S.	42
von Hagens C.	37
von Laue H.B.	30
Wacker R.	16, 42
Wermelinger T.	50
Werner M.	17
Wetterauer U.	31
Winkler K.	12, 53
Wispler M.	18
Yurkova M.	51
Zänker K.S.	18, 20
Zeeck A.	44, 46
Zerm R.	54
Ziegler R.	41