

# Die Mistel in der Tumorthherapie

## Grundlagenforschung und Klinik

2. Mistelsymposium  
12. – 14. November 1999

### Abstracts

#### Leitung:

Dr. Rainer Scheer, Carl Gustav Carus-Institut,  
Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn  
Tel. 07233 68418; Fax 07233 68413

#### Wissenschaftliche Organisation

Prof. Dr. Rudolf Bauer, Institut für Pharmazeutische Biologie der  
Universität Düsseldorf, Geb. 26.23, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf  
Tel. 0211 8114180; Fax 0211 8111745

Prof. Dr. Hans Becker, Pharmakognosie und Analyt. Phytochemie,  
Universität des Saarlandes, Im Stadtwald 32, 66123 Saarbrücken  
Tel. 0681 3022420; Fax 0681 3022476

Prof. Dr. Peter A. Berg, Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität Tübingen,  
Innere Medizin II, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen  
Te. 07071 2984479; Fax 07071 292760

Prof. Dr. Volker Fintelmann, Krankenhaus Rissen,  
Suurheid 20, 22559 Hamburg  
Tel. 040 8191564; Fax 04103 17038

#### Veranstalter

Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft  
Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung  
Karl und Veronica Carstens Stiftung  
Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte in Deutschland

Tagungsadresse

*Europäisches Bildungszentrum Otzenhausen (ebz)*

66620 Nonnweiler-Otzenhausen

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

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

Email: [Europ.Akademie.Otzenhausen@t-online.de](mailto:Europ.Akademie.Otzenhausen@t-online.de)

## Vorwort

Im Oktober 1995 fand mit Unterstützung der Carstens-Stiftung und der Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte das Symposium Mistelextrakte in der Tumorthherapie statt. Sowohl die Veranstaltung als auch die von der Stiftung geförderte Veröffentlichung *Grundlagen der Misteltherapie* waren ein großer Erfolg. Daher hat sich der Vorstand der Carstens-Stiftung gerne bereit erklärt, auch das zweite, vom Carl Gustav Carus-Institut organisierte, Mistelsymposium zu unterstützen. Wir sind davon überzeugt, daß die Veranstaltung dem Erfolg der ersten in nichts nachsteht und hoffen, daß sich daraus eine Reihe von weiteren Mistelsymposien ergibt, zu deren Gelingen die Stiftung gerne beitragen wird. Der stiftungseigene KVC Verlag hat bereits der Veröffentlichung des zweiten Buches zur Mistelforschung und -therapie zugestimmt.

Dem Carl Gustav Carus-Institut, der Gesellschaft zur Förderung der Krebstherapie und Herrn Dr. Rainer Scheer möchten wir an dieser Stelle für die Organisation des gemeinsamen Projektes herzlich danken.

---

Dr. Maria Frühwald  
Karl und Veronica Carstens-Stiftung, Essen

## Vorwort

Das 2. Mistelsymposium soll an das vor 4 Jahren, ebenfalls von der Karl und Veronica Carstens-Stiftung und der Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte in Deutschland veranstaltete Symposium anknüpfen. Beiden Einrichtungen danken wir für die erneute, großzügige finanzielle Förderung des Symposiums. In der Zwischenzeit hat es zwar eine ganze Reihe neuer Erkenntnisse in der Grundlagenforschung und für die Therapie gegeben, aber der wirkliche Durchbruch, die breite Anerkennung wurde bisher noch nicht geschafft. Fortschritt findet statt, stetig und in kleinen Schritten. Diesen zu bilanzieren und zu bewerten, das ist eine der Aufgaben und Triebfeder für dieses erneute Treffen.

Fragen von vor 4 Jahren sind auch heute noch aktuell: Fragen nach einer sachgerechten Standardisierung genauso wie Fragen nach einem allgemein anerkannten Verständnis und dem Nachweis der Wirksamkeit von Mistelpräparaten. Hinzugekommen ist eine zunehmende Verunsicherung der Anwender durch nicht unwidersprochen gebliebene Warnungen vor der Anwendung bei bestimmten Indikationen (z.B. Hämoblastosen, metastasierendes Melanom). Dennoch gehört die Mistel zu den am besten chemisch analytisch und pharmakologisch untersuchten Arzneipflanzen (chemisch-analytisch und pharmakologisch). Ferner zeichnen sich Mistelpräparate durch geringe Nebenwirkungen aus, und nicht zuletzt ist die Misteltherapie eine der wichtigsten unkonventionellen Therapiemethoden in der Krebstherapie.

Das 2. Mistelsymposium bietet wiederum einen Rahmen zu wissenschaftlichem Austausch zwischen Ärzten, Grundlagenforschern und Herstellern. So ist zu wünschen, daß dieses Symposium ebenso erfolgreich wird, wie das vor 4 Jahren abgehaltene, bei dem wichtige Anregungen zur Zusammenarbeit der verschiedenen Disziplinen gewonnen werden konnten.

Aufgerufen wurde zu wissenschaftlichen Beiträgen zu den nachfolgenden Themenkomplexen bzw. Fragen, denen eine zentrale Bedeutung für die Misteltherapie und ihre wissenschaftliche Bearbeitung zukommt:

- Sachgerechte Standardisierung von Mistelpräparaten
- Charakterisierung des Wirkungsprofils von Einzelsubstanzen
- Gesamtextrakt versus Einzelsubstanzen
- Art der Dosierung (standardisiert versus individuell) und therapeutische Breite
- Einfluß der Applikationsart auf das Wirkungsspektrum
- Analyse von Nebenwirkungen im Hinblick auf Wirkung und Wirksamkeit
- Art und Häufigkeit von Nebenwirkungsreaktionen (anaphylaktische Reaktionen?)
- Einfluß der Therapie auf die Metastasierung
- Indikation bei epithelialen Tumoren und hämatologischen malignen Erkrankungen (z.B. Lymphomen)
- Objektive Kriterien für den Wirksamkeitsnachweis
- Kann man aus den während der Misteltherapie beobachteten biologischen Reaktionen Rückschlüsse auf die Tumorabwehr ziehen?

Dank geht auch an die Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft und die Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, die zu den bisherigen Veranstaltern hinzugekommen sind.

Die Referate sowie wichtige Diskussionsbeiträge werden in Buchform einer breiteren Öffentlichkeit zugänglich gemacht.

Rainer Scheer, Rudolf Bauer, Hans Becker,  
Peter A. Berg, Volker Fintelmann

im Oktober 1999

# Die Mistel in der Tumorthherapie

## 12. – 14. November 1999

---

### Inhalt

#### Übersichtsreferate

- 1 **Becker H.:** Die Mistel als Arzneipflanze – Inhaltsstoffe und Wirkungen
- 2 **Berg P.A., Stein G.M.:** Interpretation der mistelinduzierten Immunmodulation im Hinblick auf die Tumorabwehr
- 4 **Beuth J.:** Die Misteltherapie auf dem Weg zur „Evidence-based-medicine“
- 5 **Büssing A.:** Viscum album L. – Mechanismen der Zytotoxizität
- 7 **Kaiser G.:** Situationsbild der Misteltherapie aus der Sicht eines klinischen Onkologen
- 8 **Kiene H.:** Wirksamkeitsnachweis der Misteltherapie
- 9 **Matthes H.:** Einsatz von Viscum album in der klinischen Onkologie: Rationale und neuere Therapiestrategien
- 10 **Pfreundschuh M.:** Analyse des B-Zell-Repertoires gegen menschliche Tumoren: Implikation für Tumorummunologie und Immuntherapie
- 11 **Scheffler A.:** Anthroposophische Heilpflanzenerkenntnis am Beispiel der Mistel
- 12 **Rose-John St., Fischer M., Müllberg J., März P., Özbek S., Peters M.:** Zur Biologie der IL-6-artigen Zytokine
- 13 **Fintelmann V.:** Therapiekonzepte in der Krebsbehandlung

#### Kurzreferate

##### **Pharmazeutische Qualität:**

##### **Mistelpräparate, Inhaltsstoffe, Herstellung, Standardisierung, Stabilität**

- 14 **Pfüller U., Mengs U., Schwarz T., Witthohn K., Pfüller K.:** Natürliche Mistellektine und das rekombinante Mistellektin im Vergleich: Biochemische und biologische Eigenschaften

- 15 **Pfüller G., Niedobitek S., Pfüller U.:** Darstellung von Strukturen des humanen Lymphknotens durch lektinhaltige Mistelpräparate (Poster)
- 16 **Voelter W., Stoeva S., Maier T., Wacker R., Krauspenhaar R., Betzel C.:** ML I, Raumstruktur und biologische Aktivität
- 17 **Samtleben R., Wagner H., Kiefer M.:** Die Isolektinmuster der Mistel - eine unüberwindliche Barriere bei der Standardisierung
- 18 **Würzner G., Eifler R., Pfüller K., Pfüller U.:** Quantifizierung von Mistelinhaltsstoffen
- 19 **Würzner G., Pfüller K., Tonevitsky A.G., Pfüller U.:** Bioassays zur quantitativen Bestimmung von ML I, ML III/II und VisalbcBL (Poster)
- 20 **Baumgartner S. M., Flückiger H.:** Biologische Wirksamkeit des spezifischen Mischprozesses von Winter- und Sommer-Mistelsaft zu Iscador
- 21 **Koehler R., Leneweit G.:** Veränderung von Mistelextrakten durch ein pharmazeutisches Strömungsverfahren
- 22 **Edlund U., Hensel A., Fröse D., Pfüller U., Scheffler A.:** Wechselwirkungen zwischen Beerenpolysacchariden und Lektinen der weißbeerigen Mistel (*Viscum album L.*)
- 23 **Goedings P.:** Stabilität von HELIXOR<sup>R</sup>-Mistelgesamtexttrakten

**Grundlagenforschung: Immunologie, Zytotoxizität  
In-vitro-Untersuchungen**

- 24 **Zarkovic N., Kalisnik T., Loncaric L., Miletic M., Zarkovic K., Borovic S., Konitzer M., Mang S.:** An overview on the biological effects of the viscum album extract Isorel (Vysorel)
- 25 **Schwarz T., Witthohn K., Weyhenmeyer R.:** Pharmakologische Wirkungen von Mistellektinen in wäßrigen Mistelextrakten
- 26 **Schink M., Borowski M.:** Zytotoxische Effekte von Mistellektinen und eines Mistelpräparates auf menschliche natürliche Killerzellen in vitro
- 27 **Fritz P., Siegle I., Mürdter T.E., Aulitzky W.:** Zytotoxische Wirkung von VAA-1-Lektin: Von der Zellkultur über die Lektininimmunhistochemie zu klinischen Daten
- 28 **Schulte V., Dittmar T., Zänker K.S., Pfüller U., Werner M.:** Das Mistellektin I (ML I) - Bindung, Aufnahme und Einfluß auf die Zytokinaktivierung - untersucht an humanen peripheren Blutlymphozyten und CD3-Subpopulationen.

- 29 **Stein G.M., Edlund U., Schaller G., Pfüller U., Büssing A., Schietzel M.:** Polysaccharide und Viscotoxine: Immunologische Wirkungen und Interaktionen

### **Klinische Anwendung und Prüfung Hämoblastosen**

- 30 **Kuehn J.J., Fornalski M.:** Stellenwert der Misteltherapie (Iscador) bei Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphom. Immunologische Spekulation und klinische Realität
- 31 **Kovacs E.:** Viscum album (Iscador) und Interleukin-6; was ist wirklich dran?
- 32 **Böhringer P.A.:** Erste klinische Erfahrungen mit Misteltherapie bei Myelodysplastischen Syndromen (MDS) und sekundären Akuten Myeloischen Leukämien (sAML)
- 33 **von Laue H.B.:** Hochdosierte Misteltherapie bei einem Patienten mit chronisch-lymphatischer Leukämie (B-CLL)
- 34 **Büssing A., Stein G.M., Stumpf Ch., Schietzel M.:** Mistelextrakte bei lymphatischen Neoplasien
- 36 **Stumpf Ch., Rosenberger A., Rieger S., Tröger W., Schietzel M.:** Retrospektive Analyse über 16 Jahre bei malignen hämatologischen und lymphatischen Erkrankungen

### **Klinische Anwendung und Prüfung Kasuistiken und andere Erfahrungsberichte**

- 37 **Schink M., Borowski M., Rosenberger A., Goyert A.:** Vergleich der Zusammensetzung der immunkompetenten Zellen im malignen Pleuraerguß und im peripheren Blut von Krebspatienten und deren Veränderungen unter Misteltherapie
- 38 **Mayrhofer M.:** Erfahrungen mit der Isorel/Vysorel-Mistelinfusionstherapie
- 39 **Penter R.:** Klinische Beobachtungen zur Hochdosis-Fiebertherapie mit ABNOBAviscum
- 40 **Stoll G.:** Die Stellung der Misteltherapie im *Integrativen Konzept* in der Onkologie
- 41 **Nabrotzki M.:** Intratumorale Mistelbehandlung eines Duodenumcarcinom-Rezidivs

- 42 **Kröz M., Girke M., Brauer D., Matthes B.:** Eine multidimensionale Erfassung von Tumorverlauf, immunologischen Parametern, vegetativen und konstitutionellen Merkmalen und Lebensqualität bei einer Mammakarzinom-Patientin unter ABNOBAviscum
- 43 **Gutsch J.:** Außergewöhnlicher Krankheitsverlauf bei metastasierendem Mammacarcinom unter Misteltherapie nach pseudoallergischer Reaktion

### **Klinische Anwendung und Prüfung**

#### **Klinische Prüfungen, Anwendungsbeobachtungen**

- 44 **Stein G.M., Berg P.A.:** Immunologische Reaktivität von Patienten mit Mistel-Nebenwirkungen
- 45 **Fischer S., Claßen K., Klein R., Scheer R., Stein G., Berg P.A.:** Immunologische Reaktion von Mamma- und Colon-Carcinom-Patientinnen innerhalb der ersten 6 Monate der Mistelbehandlung
- 46 **Huber R., Thoma D., Barth H., Claßen K., Klein R., Lüdtkke R., Werner M.:** Wirkungen und Nebenwirkungen eines lektinreichen und eines lektinarmen Mistelpräparates im placebokontrollierten Vergleich bei Gesunden
- 47 **Büssing A., Rosenberger A., Stumpf Ch., Schietzel M.:** Entwicklung lymphozytärer Subpopulationen bei Tumorpatienten nach subkutaner Applikation von Mistelextrakten
- 48 **Kaiser G., Birkmann J., Braun W., Büschel G., Horneber M., Fischer S., Scheer R., Smetak M., von Laue H.B., Gallmeier W.M.:** Studiendesign und erste Ergebnisse einer prospektiven, plazebokontrollierten, doppelblinden, randomisierten Studie mit ABNOBAviscum Mali 4
- 49 **Hanisch J.:** Neuer Ansatz zur Erforschung der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von Komplementärtherapeutika in der Onkologie unter Praxisbedingungen: Retrolektive Kohortenstudie mit Parallelgruppen – angenähert an GCP/ICH (Retrospect<sup>TM</sup>)
- 50 **Autorenverzeichnis**

# Übersichtsreferate

# Die Mistel als Arzneipflanze

## *Inhaltsstoffe und Wirkungen*

Professor Dr. Hans Becker, Pharmakognosie und Analytische Phytochemie, Universität des Saarlandes, D 66041 Saarbrücken, e-mail: pb13hb@rz.uni-sb.de

Die Mistel (*Viscum album* L.) hat eine lange Tradition als Arzneipflanze. Sie wurde in den Kräuterbüchern des 16. Jahrhunderts als Mittel gegen Epilepsie ("Die fallende Sucht") beschrieben. Zu Beginn unseres Jahrhunderts wurde die Mistel als das erste wirksame Mittel gegen Bluthochdruck gefeiert. Allerdings ist diese Wirkung experimentell nur bei parenteraler Applikation eindeutig nachweisbar. Biogene Amine wie  $\beta$ -Phenylethylamin, Histamin, Cholin oder Acetylcholin kommen in der in der Pflanze gefundenen Konzentration dafür nicht in Frage. Dagegen wird von den Viscotoxinen eine blutdrucksenkende Wirkung bei parenteraler Applikation berichtet. Von französischen Autoren wurde eine leichte diuretische Wirkung festgestellt. Seit 1938 ist von der Fa. Madaus ein Präparat (Plenosol) zur Segmenttherapie bei degenerativ-entzündlichen Gelenkerkrankungen im Handel.

Die größte Verbreitung haben jedoch Mistelpräparate zur Krebstherapie. Diese Verwendung geht auf eine Anregung von Rudolf Steiner zurück. Bei allen in der Therapie bis jetzt eingesetzten Präparaten handelt es sich um Vielstoff-Gemische. Die Komplexizität der Zubereitungen wird dadurch noch erhöht, dass die Mistel in drei Unterarten mit zum Teil unterschiedlichen Inhaltsstoffspektrum vorkommt.

Im Blickpunkt des Interesses stehen die Lectine, die in drei Hauptgruppen unterteilt werden können: ML I, ML II und ML III. Für sie wurden u.a. cytotoxische, Apoptose-induzierende und immunstimulierende Wirkungen nachgewiesen. Wie von der Namensgebung abzuleiten ist, weisen auch die Viscotoxine eine cytotoxische Wirkung auf. Den Polysacchariden der Mistel kommen immunstimulierende Wirkungen zu. Die Standardisierung der Herstellungsverfahren, teilweise kombiniert mit einer Standardisierung auf den Lektin Gehalt, führt zu einer weitgehenden Chargengleichheit. Unterschiedliche therapeutische Konzepte und unterschiedliche Herstellungsverfahren bedingen jedoch, daß die Präparate der einzelnen Hersteller untereinander verschieden sind.

Unter den niedermolekularen Verbindungen der Mistel seien die Flavonoide und die Lignane genannt. Ob sie Bedeutung für die Therapie haben, ist fraglich. Sie können jedoch zur Charakterisierung von Mistelextrakten herangezogen werden.

Bisher nur in der japanischen Varietät (*V. album* L. var. *coloratum* Ohwi) nachgewiesen, ist das Viscumamid, ein cyclisches Peptid. Wir haben diese Substanz synthetisieren lassen und mehreren Labors zum testen gegeben. Über diese Ergebnisse wird kurz berichtet.

Aus blütenbiologischen Gesichtspunkten erschien es uns interessant, die Duftstoffe der Mistel zu isolieren und eindeutig zu charakterisieren. Dies ist uns kürzlich gelungen. Auf dieser Basis kann nun der Frage nachgegangen werden, ob Unterschiede bei den einzelnen Unterarten existieren.

# Interpretation der Mistel-induzierten Immunmodulation im Hinblick auf die Tumorabwehr

P.A. Berg<sup>1</sup>, G.M. Stein<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medizinische Universitätsklinik Tübingen, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen;

<sup>2</sup>Krebsforschung Herdecke, Universität Witten/Herdecke, Gerhard-Kienle-Weg 4, 58313 Herdecke

Mistelextrakte werden bei Patienten mit unterschiedlichen tumorösen Erkrankungen vorwiegend subkutan in der Vorstellung appliziert, daß dadurch die Tumorabwehr gesteigert wird. Es soll zu der Frage Stellung genommen werden, inwieweit sich die in der Tumorummunologie erarbeiteten Konzepte zur Tumorabwehr mit den für die Misteltherapie postulierten Einflüssen auf die Tumorkontrolle decken. Bei der Abwehr epithelialer Tumoren – und nur dieser Aspekt soll näher analysiert werden – spielen sowohl die Erkennung Tumor-spezifischer wie auch Tumor-assoziiertes Antigene und eine effektive Generierung von Effektorzellen eine entscheidende Rolle. In der immunologischen Forschung ist deshalb 1. eine bessere Charakterisierung Tumor-spezifischer oder -relevanter Epitope und 2. aus therapeutischer Sicht eine Verbesserung der Antigenerkennung und der Aktivierung von Effektorreaktionen ein Hauptanliegen. Offen ist bisher, ob die Einschränkung der Antigenerkennung durch T-Zellen oder vielmehr die Blockade oder Hemmung der Effektorreaktion ausgelöst durch die Fähigkeit eines Tumors, entweder supprimierende Faktoren freizusetzen oder direkt via apoptotischer Mechanismen die Immunzellen zu attackieren, von größerer Bedeutung ist. Unbestritten bleibt, daß Antigen-spezifische und wahrscheinlich auch Antigen-un-spezifische Immunreaktionen (Funktionen des "innate" und des "adaptiven" Immunsystems) hierbei eine entscheidende Rolle spielen. Die subkutan applizierten Mistelextrakte haben zwar einen Einfluß auf die Generierung und Ausschüttung vor allem der Zellen des Antigen-unabhängigen unspezifischen Immunsystems – definiert z. B. durch die Aktivierung von NK-Zellen, Makrophagen oder Eosinophilen – aber es fehlen bisher überzeugende in vivo Untersuchungen im Therapieverlauf bezüglich der Steigerung der zytotoxischen Aktivität gegenüber autologen Tumorzellen oder Tumorzelllinien. Auch ist wenig bekannt über die Folgen einer Langzeittherapie, die zu positiven wie negativen Effekten auf das Tumorzellwachstum führen können, je nach Beeinflussung von physiologischen Kontrollmechanismen (Inhibition versus Stimulation). In zahlreichen in vitro sowie in vivo/ex vivo-Untersuchungen konnte aber überzeugend dargestellt werden, daß Zellen sowohl des spezifischen wie unspezifischen Immunsystems unter dieser Therapie aktiviert werden können. So ist die in den Frühphasen der Therapie zu beobachtende *Eosinophilie* oder die hierbei auftretende

**Temperatursteigerung** sicher Ausdruck einer Zytokin-vermittelten Reaktion, z. B. via Freisetzung von IL-5, oder TNF- $\alpha$ / IL-1/IL-6. Auch die interessante Beobachtung, daß an früheren Applikationsorten unter weiter fortgesetzter Therapie "**Flair-up**"-Reaktionen auftreten können, darf als Mistel-Antigen-spezifische Immunreaktion im Sinne einer "delayed type hypersensitivity reaction" interpretiert werden. Auch die individuell sehr unterschiedlichen Entzündungsreaktionen sowie die unter einer Therapie zu beobachteten **Nebenwirkungsreaktionen** (generalisierte Urtikaria) sind Indikatoren für die Aktivierung von Immunzellen, die möglicherweise bei allergischen und autoimmunen Prozessen eine Rolle spielen (Aktivierung autoreaktiver B-Zellen/physiologische Autoimmunität).

In diesem Zusammenhang sei auf die Tatsache hingewiesen, daß sich bei bestimmten Tumoren – insbesondere dem kleinzelligen Bronchialkarzinom – Autoantikörper nachweisen lassen, die zu einer Störung der neuromuskulären Erregungsfortleitung führen können, ein Befund, der Ähnlichkeiten hat mit der Myasthenia gravis, und der als Lambert-Eaton-Syndrom in die Literatur Eingang gefunden hat. Auch auf die Induktion von Autoantikörpern gegen Purkinje-Zellen sei hingewiesen, die mit einer zerebellaren Symptomatik einhergehen können und ebenfalls bei Patienten mit Lungenkarzinomen zu beobachten sind. Die heute als am wahrscheinlichsten diskutierte Hypothese für die Entstehung eines **paraneoplastischen Syndroms** geht von der Vorstellung aus, daß ZNS-restringierte Antigene in aberranter Form im Tumor exprimiert werden, obgleich nach wie vor nicht sicher ist, ob es sich hierbei um mutierte oder identische ZNS-spezifische Epitope handelt. Interessant sind Beobachtungen in der Literatur, die gezeigt haben, daß die Bildung dieser Antikörper gegen onko-neuronale Antigene das Tumorwachstum retardieren gleichzeitig aber Organ-spezifische Autoimmunreaktionen auslösen können. Dies bedeutet, daß auch autoimmune Prozesse bei der Tumorabwehr eine Rolle spielen müssen, zumal Tumorantigene z.T. als modifizierte Autoantigene aufgefaßt werden müssen. Aus diesen klinischen Beobachtungen darf der Schluß gezogen werden, daß bei einer bestimmten individuellen Konstellation die Misteltherapie im Sinne einer adjuvanten Therapie zu einer verbesserten Abwehr z.B. über eine Verbesserung der Erkennung autologer Tumorepitope beitragen kann. Neben der Aktivierung des humoralen Schenkels der Immunantwort muß gleichermaßen berücksichtigt werden, dass hierbei auch Abwehrzellen des unspezifischen Immunsystems, insbesondere der NK-Zellen, in die Tumorabwehr miteinbezogen werden können.

All diese Beobachtungen berechtigen dazu – trotz vieler Vorbehalte aus der Schulmedizin – die in den Mistelextrakten vorhandenen Komponenten im Hinblick auf ihren spezifischen Einfluß auf das Immunsystem weiterhin zu erforschen.

## **Die Misteltherapie auf dem Weg zur „Evidence-based medicine“.**

**J. Beuth**

Institut zur wissenschaftlichen Evaluation naturheilkundlicher Verfahren, Universität zu Köln,  
Robert-Koch-Str. 10, 50931 Köln

Mistelextrakte werden bislang von der „Evidence-based medicine“ in die Gruppe Therapeutika mit nicht ausreichend nachgewiesener Wirksamkeit eingeordnet. Die klinische Erfahrung zeigt jedoch, daß insbesondere den Naturheilmitteln (u.a. Mistelextrakten) von seiten der Patienten ein bemerkenswerter Vertrauensvorschuß eingeräumt wird. Um zu zeigen, inwiefern diese positive Beurteilung durch die Patienten gerechtfertigt ist und um eine verantwortungsbewußte Anwendung nach den wissenschaftlich begründeten Kriterien auszuarbeiten, wurden Mistelpräparate auf ihre Wirksamkeit überprüft. Die Definition einer immunaktiven Komponente (Galaktosid-spezifisches Mistellektin/Mistellektin-1, ML-1) und die Evaluation der durch sie bedingten pharmakologischen und immunologischen Reaktionen trug wesentlich zur Akzeptanz dieser Therapie bei und machte die klinische Anwendung der Mistelpräparate naturwissenschaftlich und (schul-)medizinisch relevant.

In den von mehreren Arbeitsgruppen durchgeführten experimentellen und klinischen Studien konnten insbesondere die immunaktive und zytotoxische Wirkung des nativen ML-1 bzw. standardisierter Mistelextrakte nachgewiesen werden. Allerdings sollte nicht unerwähnt bleiben, daß 1. neben dem ML-1 noch andere (immun)aktive Komponenten in Mistelextrakten enthalten sind, die derzeit experimentell evaluiert werden; 2. nicht auf ML-1 normierte, jedoch prozeß-/biologisch standardisierte Mistelextrakte derzeit einer weiterführenden wissenschaftlichen Evaluation unterzogen werden; 3. die molekularbiologische (rekombinante) Expression von ML-1 (rML) in *E. coli* gelungen ist und möglicherweise das therapeutische Spektrum in Zukunft erweitern wird.

## ***Viscum album* L. - Mechanismen der Zytotoxizität**

Arndt Büssing

Krebsforschung Herdecke e.V., Abteilung für angewandte Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke

Die zytotoxischen Wirkungen der *Viscum album* L.-Extrakte (VA-E) werden vornehmlich durch die Mistellektine (ML) vermittelt, zum Teil aber auch durch die Viscotoxine. Die Bedeutung der Flavonoide/Phenylpropanoide (z.B. das zytotoxische Quercetin sowie das nicht-zytotoxische Syringin und die Kaffeesäure) oder des zyklischen Peptides Viscumamid, das zwar zur Veränderung der Membran-Konformation mit Phosphatidylserin-Translokation, nicht jedoch zum Zelltod führt, für die zytotoxische Aktivität der VA-E sind unklar.

Die zytotoxischen Isolektine ML I, ML II und ML III sind Ribosomen-inaktivierende Proteine, die aus zwei Polypeptid-Ketten (eine toxophore A-Kette und eine Zucker-bindende B-Kette) bestehen. Obschon bekannt ist, daß es ML-vermittelt zur Hemmung der Proteinbiosynthese im Zellfreien System bzw. zur Apoptose in kultivierten Zellen kommt, sind die Mechanismen, die zur Induktion von C-Anaphasen und Telomer-Assoziationen führen, ebenso unbekannt, wie die Signale, die letztendlich den apoptotischen Zelltode auslösen. Da alle Toxine, die die zytosolische Proteinsynthese und/oder deren Transport hemmen (Actinomycin D, Cycloheximid, Ricin, ML, Brefeldin A), zur Aktivierung des mitochondrialen Apoptose-Weges führen, könnte vermutet werden, daß Mitochondrien-aktivierende Todsignale nicht mehr der Hemmung durch Proteinsynthese-abhängige Faktoren ("Apoptosis Preventing Factors") unterliegen und es dementsprechend zum Zelltod kommt.

Als Ausdruck eines Rezeptor-vermittelten Signals kommt es wenige Minuten nach Inkubation humaner Lymphozyten mit den ML oder ihren Zucker-bindenden B-Ketten zum Anstieg der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration; 4 h später fallen Membran-Veränderungen (Blebbing) und eine Verdichtung des Chromatins auf, wobei es innerhalb von 6 bis 24 h zur Bildung Sauerstoff-abgeleitete Radikale (ROI), Expression mitochondrialer Apo2.7-Moleküle, Cytochrom C-Release, Aktivierung der Caspasen mit anschließender Degradierung diverser Proteine (u.a. Bcl-2), und Kinasen, Phosphatidylserin-Translokation von der inneren zur äußeren Schicht der Zellmembran und Fragmentierung der DNA kommt. Neue Untersuchungen mit hoch aufgereinigten A- und B-Ketten konnten zeigen, daß die isolierten Ketten für sich alleine, im Gegensatz zum Holo-Protein, nicht in der Lage sind, Mitochondrien-aktivierende Todsignale zu vermitteln. Konventionelle „Tod-Rezeptoren“, die beim Apoptose-Signaling und bei Caspase-Aktivierung von vornehmlicher Bedeutung sind, werden von den ML scheinbar nicht direkt stimuliert.

Die ML-induzierten Apoptose-assoziierten Veränderungen (insbesondere Apo2.7 und Caspase-3) lassen sich durch die Thiole Glutathion (GSH) und *N*-Acetyl-L-Cystein (NAC) zu hemmen, was auf eine besondere Bedeutung der ROI beim Killing hindeutet. Im Gegensatz hierzu wird die Apo2.7-Expression durch den Caspase-3-Inhibitor z-VAD-fmk jedoch nicht beeinträchtigt. Die beobachtete Hemmung der ML-induzierten Apoptose durch  $CaCl_2$  ist möglicherweise auf eine Aktivierung eines Apoptose-inhibierenden "Calcium-Sensing-Receptors", wie er auch für Fibroblasten beschrieben wurde, zurückzuführen. Polysaccharide aus Mistelbeeren (Arabinogalactan) sowie das Chitin-bindende ML (VisalbcBA), das insbesondere mit ML I interagiert, waren ebensowenig in der Lage, die ML-induzierte Zytotoxizität zu beeinflussen wie das in VA-E nachzuweisenden Syringin oder die Kaffeesäure.

Das galNAc-bindende ML III war sowohl gegenüber leukämischen Zellen (Molt-4, U-266, THP-1) als auch gegenüber normalen Lymphozyten hinsichtlich seiner zytotoxischen Aktivität etwas potenter als das gal-bindende ML I; ML II und das ML I-ähnliche toxische Lektin aus *Viscum album* var. *coloratum* (VCA) nahmen hier eine Mittelstellung ein. Rasch proliferierende leukämische Zellen waren zudem deutlich sensitiver gegenüber dem ML-induzierten Zelltod als normale Lymphozyten. Während Apo2.7<sup>+</sup> leukämische Zellen nach 24 Inkubation zu mehr als 80% auch Caspase-3<sup>+</sup> waren, wurde die Pro-Caspase-3 im gleichen Zeitraum von weniger als 50% der Apo2.7<sup>+</sup> normalen Lymphozyten aktiviert.

Das ML-induzierte Killing zeigte eine unerwartete Selektivität, wobei ML III vornehmlich CD8<sup>+</sup> Lymphozyten mit „Memory“-Phänotyp (CD62L<sup>hi</sup>) absterben läßt, während CD8<sup>+</sup> CD62L<sup>hi</sup> „naive“ Zellen, CD4<sup>+</sup> T-Helfer/Induktor-Lymphozyten und CD19<sup>+</sup> B-Zellen deutlich weniger sensitiv

gegenüber ML III sind. ML I eliminiert vornehmlich CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> NK-Zellen. Es konnte nachgewiesen werden, daß ML III deutlich schwächer an T-Zellen bindet als ML I, wobei ML III jedoch im Gegensatz zu ML I kaum von den B-Zellen gebunden wird, was die geringe Sensitivität der B-Zellen gegenüber dem ML III-induzierten Killing erklären würde.

Nach Inkubation differenzierter Lymphozyten mit ML I in 10 ng/ml wurde weiterhin eine signifikante Heraufregulation der Expression des in Fas<sup>+</sup> Target-Zellen die Apoptose-induzierenden Fas-Liganden (CD95L) auf den überlebenden T- und B-Zellen nachgewiesen, während der Apoptose-vermittelnde Fas-Rezeptor leicht herunterreguliert wurde. Neben dem direkten ML-induzierten Zelltod könnten überlebende FasL<sup>+</sup> Lymphozyten nach ML-Stimulation möglicherweise Fas<sup>+</sup> Tumorzellen eliminieren.

Das offensichtliche Fehlen der ML-Zytotoxizität bei der klinischen Anwendung ist zum einen bedingt durch die Induktion von anti-ML-Antikörpern während der Misteltherapie, zum anderen aber auch durch die Hemmung der ML-Wirkung durch Serum-Glycoproteine/-lipide. Eine klinisch relevante ML-vermittelte Zytotoxizität ist am ehesten bei intratumoraler Applikation von VA-E zu erwarten. In der Tat konnte gezeigt werden, daß durch die intratumorale VA-E-Injektion das Tumolvolumen effizient zu reduzieren ist. Eine anti-Tumorstoffwirkung konnte im Tierexperiment jedoch auch bei oraler Applikation hoch dosierter ML I-Dosen beobachtet werden. Die Tumorstoffhemmung scheint hier vornehmlich auf eine "Nährstoffverarmung" am Tumor infolge einer Hyperplasie der Dünndarmschleimhaut zurückzuführen zu sein.

Viscotoxine führen zur raschen Zellmembran-Permeabilisierung, Schwellung der Mitochondrien mit Verlust ihrer Cristae und ROI-Bildung innerhalb von wenigen Minuten bzw. Stunden, was auf einen akzidentellen (nekrotischen) Zelltod hinweist. Innerhalb von 20 bis 26 h kam es zur zusätzlichen Induktion apoptotischer Signale, wobei auch hier der mitochondriale Weg der Caspasen-Aktivierung beschränkt wurde. Nach Permeabilisierung der Zellmembranen wird die ROI-Bildung in Lymphozyten scheinbar nicht mehr von den zellulären Redoxsystemen kompensiert. In der Tat konnten die Viscotoxin-induzierten Veränderungen weder durch GSH noch durch NAC verhindert werden. Diese ließ sich effizient nur durch Spaltung ihrer Disulphid-Brücken hemmen. Im Gegensatz zu den Viscotoxinen A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> und 1-PS zeigt das Viscotoxin B, ähnlich wie Purothionin, keine wesentliche ROI-induzierende Potenz.

Im Gegensatz zur ML-induzierten Apo2.7-Expression und Pro-Caspase-3-Aktivierung, die durch CaCl<sub>2</sub> zu hemmen war, wurde die Viscotoxin-induzierte Apo2.7-Expression durch CaCl<sub>2</sub> sogar verstärkt, während die ROI-Bildung abnahm. Hier könnte vermutet werden, daß die Thionin-induzierte Permeabilisierung der Zellmembran zu einem verstärkten Ca<sup>2+</sup>-Influx geführt hat. Dieser Trigger könnte zur Ruptur der äußeren Mitochondrien-Membran geführt haben, so daß es zur nachfolgenden Apoptose kommt.

# Situationsbild der Misteltherapie aus der Sicht eines klinischen Onkologen

G. Kaiser

Arbeitsgruppe Biologische Krebstherapie, Medizinische Klinik 5,  
Prof.-Ernst-Nathanstr. 1, D-90340 Nürnberg (gefördert von der Deutschen Krebshilfe, Bonn)

Die Misteltherapie wird in der klinischen Onkologie wie vor 3 Jahren während des letzten Symposiums über die Grundlagen der Misteltherapie weiterhin als das am häufigsten angewandte sogenannte unkonventionelle, alternative Behandlungsverfahren angesehen.

Die Haltung onkologisch tätiger Ärzte gegenüber dieser Therapieform reicht von radikaler Ablehnung über stillschweigende Duldung, offene Akzeptanz, eigenem Einsatz bis hin zur aktiven Forschung.

Manche Veröffentlichungen und Vortragsveranstaltungen sind geprägt von emotionaler Auseinandersetzung verschiedener Lager mit Pro- und Kontra-Diskussionen über die Berechtigung dieser Therapie als solcher, ihrer Wirksamkeit, der richtigen Bewertung durchgeführter Studien, der richtigen Dosierung und Indikation, des optimalen Herstellungsverfahrens, der Bedeutung der pflanzlichen Herkunft, der Finanzierung durch Kostenträger, der Anerkennung als besondere Therapierichtung mit eigener Zulassungskommission.

Diese Fragen zur Misteltherapie sind jetzt aktueller denn je durch die derzeitige Propagierung des "Immunmonitoring" in der Onkologie, die stattfindenden politischen Auseinandersetzungen mit Positiv- und Negativlisten, die gesetzliche Forderung nach Wirksamkeitsnachweisen alteingeführter Präparate, dem Ruf nach Aufklärung der Wirkungsweise.

Akzentuiert hat sich die unterschiedliche Zielrichtung der zwei Hauptansätze:

1. die eine Seite befürwortet in der Fortsetzung der jahrzehntelangen Tradition der anthroposophischen Medizin den Einsatz biologisch standardisierter Gesamtextrakte, in der Regel im Rahmen eines Gesamtkonzepts
2. die andere Seite nutzt zwar den Boden, den die anthroposophische Medizin geebnet hat, propagiert jedoch die Konzentration auf die Mistellektine als den aus ihrer Sicht wesentlichen Inhaltstoff und betreibt die Weiterentwicklung bis hin zu gentechnologisch hergestellten Mistellektinen.

Weder die eine noch die andere Seite hat bisher Ergebnisse klinischer Studien vorlegen können, die aus Sicht der konventionellen klinischen Onkologie die postulierte Wirksamkeit und damit Notwendigkeit des Einsatzes entsprechend international akzeptierter Kriterien wissenschaftlich bewiesen hätte.

Wer sind die wahren Experten für die Aufklärung der vielen bestehenden Unklarheiten und Diskrepanzen? Die niedergelassenen Ärzte an der Front hilfeschender verzweifelter Krebskranker? Die Firmenanbieter und darunter welche? Die Leiter anthroposophisch orientierter Institutionen? Die Wissenschaftler an universitären naturwissenschaftlichen Abteilungen, die in vitro-Forschung betreiben und gleichzeitig maßgeblichen Anteil an der Meinungsbildung haben durch eigene onkologischer Gesellschaften mit entsprechenden Fachzeitschriften? Die Forscher, die großangelegte, multizentrische Studien mit standardisiertem Mistelextrakt mit Hilfe öffentlicher Förderung in Gang gebracht haben? Der individuell behandelnde Arzt, den mehr der Einfluß auf die seelische Entwicklung des Kranken interessiert, auf die Wesensglieder im anthroposophischen Sinne? Für Patienten und Angehörige ist dieser Schleier der Unklarheiten über die Misteltherapie selten ein Hindernis, wenn der von Ihnen bevorzugte Therapeut, ob nun Arzt oder Heilpraktiker, die Durchführung einer solchen Behandlung welcher Form auch immer für sinnvoll hält, insbesondere dann, wenn die Konturen einer ungünstigen Prognose ihrer Krebserkrankung sich besonders scharf abzeichnen.

Wer sich als klinischer Onkologe wirklich unvoreingenommen ein klares Bild von dem wahren Nutzen der Misteltherapie für Krebskranke machen möchte, steht vor der Frage, ob er die Antwort durch die Suche nach dem richtigen Experten, dem Sammeln aller Für und Wider, der Betrachtung des Umfeldes, oder nur bei der eigenen Anwendung findet, ob nun individuell wie der Hausarzt oder in großen prospektiven Studien. Immer bleibt die Frage offen, ob bei Enttäuschung über den gefundenen Erfolg der eingangs eingeschlagene Weg der richtige war.

Die letzten 3 Jahre Forschung über die Misteltherapie haben zwar eine Fülle neuer Erkenntnisse gebracht, für die Klinische Onkologie jedoch eher noch mehr Fragen aufgeworfen, als definitive Antworten auf die vorhandenen Fragen zu geben.

## **Wirksamkeitsnachweis der Misteltherapie**

*Helmut Kiene, Institut für angewandte Erkenntnistheorie und medizinische Methodologie  
Freiburg*

Neben der konventionellen Methodenlehre des Wirksamkeitsnachweises wurde eine komplementäre Methodologie entwickelt. In dem Vortrag wird diskutiert, inwieweit Wirksamkeitsnachweise für Misteltherapie im konventionellen bzw. komplementären Sinne existieren. Zudem werden, anhand publizierter Mistelstudien, verschiedene Problemaspekte dieser Wirksamkeitsnachweise dargestellt. Perspektiven der Wirksamkeitsforschung und der Effektivitätsforschung werden am Beispiel der Misteltherapie beleuchtet.

# Einsatz von *Viscum album* in der klinischen Onkologie: Rationale und neuere Therapiestrategien

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

Die subkutane Applikation von *Viscum album* Präparaten stellt eine weit verbreitete supportive und palliative klinische Therapie innerhalb der Onkologie dar. Die klinischen Zielparameter reichen dabei von Tumorremission, partieller Tumorremission, Verlängerung der Überlebenszeit bis zu Lebensqualitätsverbesserung. Einige Studien belegen einen solchen Effekt, wobei letztgenannte Parameter, Lebensverlängerung und Lebensqualität, die entscheidenden klinischen Parameter einer onkologischen Misteltherapie sein dürften. Weitere definierte Indikationen einer *Viscum album* Therapie stellen die Rezidivprophylaxe nach Tumoroperationen und die Präkanzerosen dar. Unklar und ungesichert ist bis heute, ob für die differenten Indikationen unterschiedliche Applikationsformen der Mistel (Mistellektin arme vs. reiche; Dosis) und unterschiedliche Applikationsintervalle notwendig sind. Als klinisch initiale Effizienzmarker für eine *Viscum album* Therapie sind Lebensqualitätsbögen, klinische Parameter wie Schwankung und Rhythmisierung der Körperkerntemperatur über den Tag, sowie Laborparameter wie Aktivierung von Lymphozyten und deren Subpopulationen (CD3/CD25; NK-Zellen; Eosinophile etc) heranzuziehen. Auch DNA Stabilisierung und DNA Reparatur unter Misteltherapie, vor allem unter Bestrahlungstherapien, sind klinisch in ihrer Wertigkeit zu diskutieren.

Ein neues klinisches Feld der Misteltherapie bei onkologischen Patienten stellt die (hochdosierte) intravenöse, die intratumorale und die intraarterielle Applikation von *Viscum album* dar. Beispiele und erste Pilotstudienresultate zu diesen Applikationsweisen werden im Vortrag gegeben. Die hochdosierte i.v. Mistelapplikation zeigt teilweise auch bei chemotherapeutisch ausbehandelten Patienten noch gute Remissionserfolge. Mit der intratumoralen hochdosierten Applikation von *Viscum album* lassen sich insbesondere beim Hepatozellulären Karzinom (HCC vom nicht fibrolammellären Typ gute Langzeitergebnisse bzgl. Remission und Überlebenszeiten erreichen. Auch bei sog. 'ingrowth' und 'overgrowth' von Stents im Gastrointestinaltrakt lassen sich gute Langzeitergebnisse erreichen. Bei der intraarteriellen Hochdosisapplikation hepatischer Metastasen von kolorektalen Tumoren über sog. Ports, welche in der A. hepatica implantiert wurden, lassen sich hingegen nur bescheidene Erfolge verzeichnen.

**Analyse des B-Zell-Repertoires gegen menschliche Tumoren:  
Implikationen für Tumorummunologie und Immuntherapie  
Michael Pfreundschuh, Med. Klinik I, Universität des Saarlandes**

Nachdem lange Zeit die Auffassung geherrscht hatte, daß beim Menschen nur das maligne Melanom Strukturen exprimiert, die vom autologen Immunsystem des Patienten spezifisch erkannt werden, konnten wir mit der von uns entwickelten SEREX-Methode (serological analysis of antigens by recombinant expression cloning) zeigen, daß die meisten, wahrscheinlich sogar alle menschlichen Tumoren multiple Antigene exprimieren, die eine Immunantwort im autologen Wirt induzieren. Konnten bis zur Einführung von SEREX nur ein halbes Dutzend menschlicher Antigene (und zwar ausschließlich beim Melanom) molekular definiert werden, so sind dank SEREX jetzt mehr als 1.000 unterschiedliche menschliche Tumorantigene bekannt. Zahlreiche Studien untersuchen derzeit die Bedeutung dieser Antigene für die Pathogenese, Biologie und Immunität von Tumoren und versuchen, die Expression von SEREX-Antigenen in Tumoren und den Verlauf von Antikörpertitern im Serum von Patienten im Hinblick auf ihre diagnostische oder prognostische Bedeutung zu klären. Für alle die SEREX-Antigene, wo konsequent danach gesucht wurde, konnten sowohl CD8 und neuerdings auch CD4 Antworten nachgewiesen werden. Dies belegt den Wert von SEREX für die Identifikation von T-Zell-Epitopen als Grundlage für spezifische Vakzinstudien. Die Analyse des Expressionsspektrums der Antigene mit Northern Blot und RT-PCR ergab unterschiedliche Klassen von Antigenespezifitäten. Außer den klinisch wertvoll erscheinenden "shared tumor antigens", die im übrigen alle außer in Tumoren auch in normalem Testis exprimiert und daher auch als Cancer-Testis-Antigene bezeichnet werden, und den Differenzierungsantigenen fanden wir Produkte mutierter Gene, viral kodierte Antigene, überexprimierte Gene, Produkte von Genamplifikationen, Splicevarianten, aber auch in Normalgeweben vorkommende Antigene, die nur tumorassoziiert eine Immunantwort hervorrufen, sowie normale Autoantigene, schließlich aber auch die Produkte von im Tumor *unterexprimierten* Genen. Dies zeigt, daß der Kontext der Immunpräsentation (z. B. "danger") für die Immunogenität eines Moleküls wichtiger ist als seine mehr oder weniger auf den Tumor beschränkte Expression. Dass Tumoren neben einer Minderheit tumorspezifischer Antigene überwiegend auch in Normalgeweben exprimierte Antigene präsentieren, impliziert, dass nur eine spezifische Immuntherapie mit molekular definierten antigenen Strukturen eine spezifische Immunantwort gegen den Tumor zu induzieren vermag. Unspezifische Ansätze dagegen dürften allenfalls Toleranz gegen den Tumor oder aber auch gegen Normalgewebe gerichtete Immunreaktionen hervorrufen.

# Anthroposophische Heilpflanzenerkenntnis am Beispiel der Mistel

*Dr. Armin Scheffler, Carl Gustav Carus-Institut, Niefern-Öschelbronn*

Das deutsche Arzneimittelgesetz unterscheidet vier verschiedene Therapierichtungen. Dabei unterscheidet sich die anthroposophische Medizin von der Allopathie, Phytotherapie und Homöopathie durch die Art und Weise wie ein Arzneimittel erkannt wird. Neben den rein materiellen Bezügen versucht die anthroposophische Therapierichtung zusätzlich die geistige Verwandtschaft zwischen Krankheit und der Heilpflanze zu berücksichtigen, womit das jeweils Wesenhafte gemeint ist. Um dies zu erkennen, werden die Bildvorgänge der Arzneipflanze mit den Bildvorgängen, die zu einer Krankheit führen, verglichen. Zur Beurteilung der Krankheitsbildung ist der Vergleich mit der Entwicklung des gesunden Menschen notwendig, zur Beurteilung der Heilpflanze der Vergleich mit ihrem Pflanzentypus. Grundlage dieser Vorgehensweise ist die Einsicht, dass schaffender Geist willensartiger Natur ist und daher in streng wissenschaftlicher Weise an Bildeprozessen erkennbar ist. Gegenüber den anderen Therapierichtungen hat die anthroposophische dadurch die Möglichkeit, zu erkennen, dass in einer bestimmten Pflanzenbildung die Arznei für eine bestimmte Krankheit gegeben ist, auch wenn dazu noch keine therapeutischen Erfahrungen oder stofflichen Kenntnisse vorliegen. An dieser Erkenntnis orientiert sich dann die pharmazeutische Entwicklung der Präparate, wozu natürlich stoffliche Kenntnisse erforderlich sind. Sie ist zugleich für den (anthroposophischen) Arzt die Methode, die Therapie individuell zu differenzieren.

In dem Beitrag wird die Mistel als Beispiel gewählt, weil sie aufgrund anthroposophischer Erkenntnis als Krebsheilmittel genannt worden ist, ohne dass empirische Erfahrungen oder stofflich-pharmakologische Kenntnisse vorlagen. Inzwischen hat die Forschung jedoch gezeigt, dass nahezu in allen Bereichen, die für Krebsarzneimittel pharmakologisch relevant sind, positive Wirkungsnachweise vorliegen.

Es wird gezeigt, wie die Mistel sich von den räumlich wirkenden Einflüssen des Lichtes und der Schwere und auch von der zeitlichen Ordnung des Jahreslaufes emanzipiert. Dadurch beginnt sie mit den verschiedenen Entwicklungsstufen zu früh, entwickelt sich dann aber außerordentlich langsam und endet in Organen, Geweben und Stoffen, die durch den Ausdruck „keimhaft“ charakterisiert werden können.

Bei einem Tumor beginnen sich die Zellen zu teilen, obwohl keinerlei Ersatz der Funktionsschicht gefordert ist. Wie bei der Mistel setzt also die Entwicklung zunächst zu früh ein. Die mit den Zellteilungen verbundene differenzierende Entwicklung, ja sogar der Zellteilungszyklus selbst, wird verzögert. Und schließlich entstehen, ebenfalls wie bei der Mistel, Gewebe, die keimhaft bleiben. Während der Entwicklung eines Tumors kann es von zunächst stärker differenzierten Zellen (niedriger Malignitätsgrad) zu weniger differenzierten Zellen (hoher Malignitätsgrad) kommen. Ein Tumor ist also um so maligner, je mehr er Merkmale seiner Vorfahren annimmt (Pädomorphose). Und ebenso wie sich die Mistel den Einflüssen ihrer Umgebung entzieht, so auch der Tumor. Schrittweise wird das Gewebe seiner räumlichen und zeitlichen Eingliederung in den Organismus entfremdet bis schließlich der gesamte Organismus im kachektisch gewordenen Tumorpatienten von der Tumorphysiologie beherrscht wird.

Anhand dieser Übereinstimmung der Bildeprozesse läßt sich das Prinzipielle der anthroposophischen Heilpflanzenerkenntnis darstellen. Ist das evident, dann wird es auch Orientierungskraft für die pharmazeutische Entwicklung und therapeutische Anwendung.

Je nachdem, welche geistige Orientierung der Entwicklung zugrunde liegt, werden unterschiedliche Produkte erzeugt. Daher unterscheiden sich selbstverständlich nach anthroposophischen Gesichtspunkten hergestellte Präparate von solchen, denen andere Motive zugrunde liegen. Wenn man aber nach spezifisch anthroposophischen Merkmalen der Präparate fragt, so sollte deutlich sein, daß es die nicht geben kann. Bestimmte Herstellungsverfahren oder qualitative Eigenschaften sind kein Charakteristikum für Anthroposophie. Diese ist ein Erkenntnisweg. Worauf es dabei ankommt ist, die wirklichkeitsgemäße Erkenntnis von Krankheit und Heilmittel in ein Handlungsmotiv, d.h. eine geistige Kraft zur Entwicklung der Präparate und der Therapie zu wandeln.

## Zur Biologie der IL-6-artigen Zytokine

Stefan Rose-John, Martina Fischer, Jürgen Müllberg, Pia März, Suat Özbek & Malte Peters

I. Medizinische Klinik-Abteilung Pathophysiology, Johannes Gutenberg Universität Mainz, D-55101 Mainz

Zytokinrezeptoren existieren in membrangebundener und löslicher Form. Interessanterweise binden beide Formen ihre Liganden mit vergleichbarer Affinität. Während die meisten löslichen Rezeptoren agonistisch wirken, da sie den Liganden sequestrieren, gibt es einige lösliche Rezeptoren, die zusammen mit dem Liganden agonistisch wirken. Die Komplexe aus löslichem Rezeptor und Ligand binden auf Zielzellen an eine zweite ubiquitär exprimierte Rezeptoruntereinheit und lösen ein Signal aus. Diesen Prozess nennt man 'Trans-Signaling' [1]. Zu der Klasse der Agonisten gehören die Rezeptoren der Zytokine der Interleukin-6 Familie [1,2]. Wir haben den molekularen Mechanismus der Freisetzung von löslichen Rezeptoren durch partielle Proteolyse untersucht und gefunden, daß es sich um die Regulation einer membrangebundenen Metalloprotease handelt [3]. Der lösliche Interleukin-6/Interleukin-6-Rezeptor Komplex stimuliert *in vivo* mehrere Populationen von Targetzellen, die nicht auf Interleukin-6 alleine reagieren, da sie keinen membranständigen Interleukin-6-Rezeptor exprimieren. Zu solchen Zellen gehören Endothelzellen, glatte Muskelzellen, hämatopoetische Stammzellen, Osteoclasten und viele neuronale Zellen [4-7]. Außerdem konnten wir zeigen, daß der Interleukin-6/Interleukin-6-Rezeptor Komplex eine deutliche tumorabstoßende Wirkung zeigt [8]. Die Stimulation von Zellen, die keinen Interleukin-6-Rezeptor exprimieren, durch Interleukin-6/Interleukin-6-Rezeptor erfordert allerdings hohe Konzentrationen an rekombinanten Proteinen, was die therapeutische Nutzung des löslichen Interleukin-6-Rezeptors erschwert. Wir haben in einem Fusionsprotein die für die biologische Aktivität erforderlichen Domänen von Interleukin-6 und löslichem Interleukin-6-Rezeptor mit einem flexiblen aus 13 Aminosäuren bestehenden Peptidlinker miteinander verbunden. Die für das Fusionsprotein kodierende cDNA wurde in Hefezellen als rekombinantes Protein exprimiert. Das Protein war korrekt gefaltet und biologisch aktiv. Das Fusionprotein, das wir Hyper-IL-6 nennen, zeigt *in vitro* wie *in vivo* eine etwa 100-1000 fach erhöhte und wesentlich längere biologische Aktivität verglichen mit den beiden nicht verbundenen Proteinen Interleukin-6 und Interleukin-6-Rezeptor [6,9]. *In vitro* und *in vivo* zeigt Hyper-IL-6 eine längere Wirkung als IL-6 alleine. Das interessante therapeutische Potential von Hyper-IL-6 bezüglich der seiner antitumorigenen Aktivität, der *ex vivo* Expansion von hematopoetischen Progenitorzellen und bezüglich der Stimulation der Leberregeneration wird dargestellt und diskutiert.

[1] Peters et al (1998) BLOOD, 92: 3495-3504

[2] Peters M et al (1996) J. Exp. Med. 183 1399

[3] Müllberg et al (1995) J. Immunol. 155: 5198

[4] Peters M et al (1997) J. Exp. Med. 185 755

[5] März et al (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 3251-3256

[6] Peters et al (1998) J. Immunol. 161: 3575-3581

[7] Klouche et al (1999) J. Immunol. 163: 4583-4589

[8] Mackiewicz A and Rose-John S (1998) Gene Therapy 5: 147-148

[9] Fischer M et al (1997) Nature Biotech. 15 142

## **Therapiekonzepte in der Krebsbehandlung**

V.Fintelmann, Hamburg

Es ist eine Illusion zu glauben, eine Krebserkrankung sei eindimensional zu behandeln. In jeder medizinischen Methode wird grundsätzlich therapeutisch mehrdimensional gehandelt. Die je spezifische Pharmakotherapie wird z.B. ergänzt durch unterschiedlichste Begleitmedikamente, psychisch stützende Verfahren, Diätetik, Kunst- und Pflgeotherapien. So entstehen Therapie-Konzepte, gewollt oder ungewollt. Das soll an drei Therapiemethoden dargestellt werden: Der konventionellen Onkologie, der Phytotherapie und der anthroposophisch ergänzten Medizin.

Die ausschließlich naturwissenschaftlich orientierte Medizin (konventionelle Onkologie) hat als Behandlungsziel die totale Vernichtung des Tumors, sie mißt ihren Erfolg an der Tumorremission, - regression und vor allem Überlebenszeiten. Sie akzeptiert für dieses Ziel z.T. schwerwiegende Nebenwirkungen, die ihr unvermeidlich erscheinen. Ihre Wissenschaft gründet auf kollektiv gewonnenen, möglichst statistisch gesicherten Untersuchungsergebnissen, deren Übertragbarkeit auf den realen Patienten sie nach Wahrscheinlichkeiten bemißt.

Die Phytotherapie arbeitet mit ähnlichen Konzepten. Durch Verwendung von möglichst auf Inhaltsstoffe standardisierten (normierten) Mistelpräparaten blickt sie allerdings stärker auf die Lebensqualität und sieht ihre Möglichkeiten primär in der Palliation.

Die anthroposophisch ergänzte Medizin, die die naturwissenschaftliche Vorgehensweise in sich einschließt, richtet ihre Intention auf den je individuellen Kranken. Sie erlebt deshalb auch dessen Krebskrankheit als "individualisiert". Konsequentermaßen muß sie jede Therapie individuell konzipieren. Jeder Patient ist eine Studie für sich, kollektive Untersuchungen sind unmöglich. Der interindividuelle Vergleich, das Erarbeiten eines Typus "Krankheit" oder "Therapie" ermöglicht aber durchaus, sich mit anderen Therapiemethoden zu vergleichen. Dabei ist ihr therapeutisches Ziel die Wiederherstellung einer Kompetenz der Persönlichkeit (Ich-Kompetenz) gegenüber dem Kranksein. Ein gesundes Leben mit dem Tumor wird gleichrangig zur Tumor-Vollremission gesehen.

Im Beschreiben der unterschiedlichen Denk- und Vorgehensweisen kann deutlich werden, daß jede Methode Berechtigung bekommt, wenn sie sich auf die konkrete Krankheitsituation, die Erwartungen und Zielvorstellungen des Patienten einläßt und dadurch das therapeutische Konzept jeweils von einer solchen je einmaligen Ausgangslage bestimmt wird.

**Anschrift:** Prof.Dr.med. V.Fintelmann  
Carl Gustav Carus Akademie  
Rissener Landstr. 193  
D - 22559 Hamburg

# Pharmazeutische Qualität

Mistelpräparate  
Inhaltsstoffe  
Herstellung  
Standardisierung  
Stabilität

## Natürliche Mistellektine und das rekombinante Mistellektin im Vergleich: Biochemische und biologische Eigenschaften

U. Pfüller<sup>1</sup>, U. Mengs<sup>2</sup>, T. Schwarz<sup>2</sup>, K. Witthohn<sup>2</sup> und K. Pfüller<sup>1</sup>

Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke, Witten<sup>1</sup>; MADAUS AG, Köln<sup>2</sup>

Die Europäische Mistel (*Viscum album* L.) enthält drei Gruppen von glykosylierten Isolektinen des RIP II-Typs, die Mistellektine I, II und III (ML I, ML II und ML III). Diese Lektine erkennen Zucker und Glykokonjugate, die Galaktose oder N-Acetylgalaktosamingruppen enthalten. In vitro- und in vivo- Untersuchungen bestätigen, dass die RIP II-Lektine eine wesentliche Rolle für die biologische Aktivität der Mistelextrakte und Mistelpräparate, die in der adjuvanten Krebstherapie verbreitet eingesetzt werden, spielen. Aufgrund der herausragenden zytotoxischen und immunmodulierenden Eigenschaften der Mistellektine wurde durch Klonierung des Mistellektin-Gens von *Viscum album* ein nichtglykosyliertes rekombinantes Mistellektin (rML) hergestellt. Es ist bekannt, dass die Glykosylierung außerordentlichen Einfluß nehmen kann auf die Eigenschaften von natürlichen bzw. rekombinanten Proteinen. Das rekombinante Mistellektin zeigt qualitativ vergleichbare Zuckerbindungseigenschaften wie das Mistellektin I. Deutliche Unterschiede werden jedoch in der Kinetik der Assoziations- und Dissoziationsphase der Interaktion der Lektine mit Glykokonjugaten beobachtet. Die Surface Plasmon Resonance Spektroskopie in Verbindung mit der BIACORE-Technik gestattet die Echtzeiterfassung der Assoziations- und Dissoziationsgleichgewichte von Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen. Mit dieser Methode lassen sich Unterschiede in der Kohlenhydraterkennung der isolierten ML I/II/III- B-Ketten und der B-Kette des rekombinanten Mistellektins erkennen. Aus den Ergebnissen schließen wir, dass Art und Umfang der Glykosylierung der Mistellektine im wesentlichen auf die Stabilität, das Selbstassoziations-Verhalten und auf nichtspezifische Bindungen an Biomakromoleküle sowie die Löslichkeit Einfluß nimmt. Diese Resultate stehen in Einklang mit Befunden über eine weitgehende Identität zwischen rML und dem natürlichen ML I hinsichtlich der in vitro beobachteten zytotoxischen Eigenschaften und der Fähigkeit, Zytokine aus immunkompetenten Zellen freizusetzen.

## Darstellung von Strukturen des humanen Lymphknotens durch lektinhaltige Mistelpräparate

Gritta Pfüller<sup>1</sup>, S. Niedobitek<sup>2</sup>, U. Pfüller<sup>3</sup>

Universität des Saarlandes, Medizinische Fakultät, Homburg/Saar<sup>1</sup>; Augusta-Victoria-Krankenhaus<sup>2</sup>, Institut für Pathologie, Berlin; Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke, Witten<sup>3</sup>

Es konnten mit den Mitteln und Möglichkeiten der Immun- und Lektin histochemie am Beispiel des humanen Lymphknotens Befunde erhoben werden, die ein in qualitativer und quantitativer Hinsicht differenziertes Bindungsvermögen der Lektine aus der Mistel wiedergeben und zusätzliche Argumente für die vielschichtig diskutierte therapierelevante immunmodulierende Wirkung lektinhaltiger Mistelpräparate liefern. Histologische Schnitte des menschlichen Lymphknotens weisen Glykokonjugatstrukturen auf, die in diskreter, reproduzierbarer Weise mit ML I, ML II, ML III sowie den isolierten B-Untereinheiten der Mistellektine dargestellt werden konnten. Die enzymatisch aktive, aber nicht zuckerbindende A-Untereinheit wurde ebenfalls hinsichtlich ihrer möglichen Interaktion mit Kompartimenten des Lymphknotens untersucht. Die Frage, ob und an welche Kompartimente des Lymphknotens und in welcher Intensität die isolierten Lektine der Mistel und die in kommerziellen Mistelpräparaten enthaltenen Lektine binden, wurde histochemisch mit Hilfe der Avidin-Biotin-Komplex-Alkalische-Phosphatase Methode untersucht. Die Mistellektine zeigen ein selektives bis spezifisches Färbemuster, wobei sich das durch ML I hervorgerufene Bild deutlich von dem durch ML II und ML III gegebenen unterscheidet. Auch bei extremen Verdünnungen bis in den Nanogrammbereich sind diese Lektine in der Lage, spezifisch Strukturen anzufärben; diese Anfärbung ist durch korrespondierende Zucker hemmbar. Die Untereinheiten der Lektine, d.h. die freien A- bzw. B-Ketten zeigen das erwartete Färbeverhalten. Während die A-Ketten in keiner Weise fähig sind, Lymphknotenkompartimente anzufärben, geben die B-Ketten ein den Hololektinen ähnliches Bild. Aufgrund der Empfindlichkeit der Färbereaktionen wurden auch kommerzielle Mistelpräparate in die Untersuchungen einbezogen. Überraschend zeigte es sich, dass diese Präparationen dem durch ELLA- und ELISA-Techniken nachgewiesenen Mistellektin gehalt folgend in unterschiedlicher Weise Lymphknotenstrukturen darstellen. Ein merklicher Einfluß von Matrixkomponenten der Präparate auf die Darstellung von Strukturen im Lymphknoten konnte nicht nachgewiesen werden. Wahrscheinlich sind sogenannte high affinity Rezeptoren oder Targets die Ursache für die Bindung der Mistellektine an diese Strukturen. Histochemische Methoden sind offensichtlich auch geeignet für die Charakterisierung kommerziell erhältlicher Mistelpräparate und für die Bewertung der Lektinaktivität in diesen Präparaten.

W.Voelter<sup>1</sup>, S.Stoeva<sup>1</sup>, T.Maier<sup>1</sup>, R.Wacker<sup>1</sup>, R. Krauspenhaar<sup>2</sup> und C.Betzel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Abteilung für Physikalische Biochemie, Physiologisch-chemisches Institut der Universität Tübingen, Hoppe-Seyler-Str.4, D-72076 Tübingen

<sup>2</sup>Institut für Physiologische Chemie, Arbeitsgruppe für Makromolekulare Strukturanalyse, c/o DESY, Noethgestr. 85, D-22603 Hamburg

Nach Isolierung von MLI, Spaltung in A- und B-Kette, enzymatischem Verdau beider Bruchstücke, HPLC-Trennung der Fragmente und deren Edman-Sequenzierung, ist die Primärstrukturaufklärung des gesamten Glykoproteins gelungen [1, 2]. Aufgrund der dabei anfallenden Glykopeptide, Identifizierung deren Glykosylierungsstellen sowie Massenbestimmung der Zuckerseitenketten durch Differenz-Laserdesorptionsmassenspektrometrie, konnte außerdem die Position und Masse der Kohlenhydratseitenketten ermittelt werden [3]. Die Erstellung dieser Daten erlaubt Sequenzvergleiche anzustellen, wobei eine hohe Homologie zu Abrin-a und Ricin-D festgestellt wird. Damit ist die Annahme, daß MLI zur Klasse der Ribosomen-inaktivierenden Proteine vom Typ II gehört, auf struktureller Basis erhärtet. Aufgrund der hohen Homologie zu Ricin, von dem eine Röntgenstruktur bekannt ist, konnte ein Molekülmodell erstellt werden [4, 5], welches nach neuesten Ergebnissen der Röntgenstruktur weitgehend gleicht [6]. Das erstellte Raummodell erlaubt nun auf molekularer Basis exaktere Vorstellungen über die Galactosebindungsstellen, die RNA-Glykosidaseaktivität und antigene Determinaten von MLI abzuleiten.

[1] M.Huguet Soler, S.Stoeva, C.Schwamborn, S.Wilhelm, T.Stiefel and W.Voelter, Complete Amino Acid Sequence of the A Chain of Mistletoe Lectin I, FEBS Lett. 399, 153-157 (1996).

[2] M.H.Soler, S.Stoeva and W.Voelter, Complete Amino Acid Sequence of the B Chain of Mistletoe Lectin I, Biochem. Biophys. Res. Commun. 246, 596-601 (1998).

[3] S.Stoeva, T.Maier, M.H.Soler and W.Voelter, Carbohydrate Chains and their Binding Sites in Mistletoe Lectin, Polish J. Chem. 73, 125-133 (1999).

[4] W.Voelter, M.Huguet Soler, S.Stoeva, C.Betzel, S.Eschenburg and R.Krauspenhaar, First Three-Dimensional Model Building Study of the A Chain of Mistletoe Lectin I, GIT Laboratory Journal, Int.Ed. 1, 32-34 (1997).

[5] S.Eschenburg, R.Krauspenhaar, A.Mikhailov, S.Stoeva, C.Betzel and W.Voelter, Primary Structure and Molecular Modelling of Mistletoe Lectin I from *Viscum album*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 247, 367-372 (1998).

[6] R.Krauspenhaar, S.Eschenburg, M.Perbandt, V.Kornilov, N.Konareva, I.Mikhailova, S.Stoeva, R.Wacker, T.Maier, T.Singh, A.Mikhailov, W.Voelter and C.Betzel, Crystal Structure of Mistletoe Lectin I from *Viscum Album*, Biochemical and Biophysical Research Communications 257, 418-424 (1999).

## Die Isolektinmuster der Mistel – eine unüberwindliche Barriere bei der Standardisierung?

Rainer Samtleben<sup>1</sup>, Hildebert Wagner<sup>1</sup> und Margot Kiefer<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Pharmazie/Pharmazeutische Biologie der LMU, Butenandtstr. 5, 81377 München

<sup>2</sup> Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Robert-Rössle-Str.13, 13092 Berlin-Buch

Die europäische Mistel (*Viscum album*) enthält zwei Hauptlektine (VAA 1 und VAA 2) mit unterschiedlicher Zuckerspezifität aber sehr ähnlicher Proteinstruktur. Bei den Laubholzmisteln ist der Gehalt an VAA 1 höher als der Gehalt an VAA 2, bei den Kiefernmisteln sind die Mengenverhältnisse umgekehrt. Sowohl VAA 1 wie auch VAA 2 können durch Nativelektrophorese oder isoelektrische Fokussierung in eine Vielzahl von Isolektinen aufgetrennt werden. Da die präparative Auftrennung in die Isoformen sehr aufwendig ist, isolierten wir VAA 1 und VAA 2 aus einzelnen Klonen von *Viscum album*, die sehr unterschiedliche Muster besaßen.

Die einzelnen Isoformen waren in immunologischen Quantifizierungen (ELISA) identisch oder nahezu identisch (ELLA), zeigten aber große Unterschiede in ihren zellbiochemischen Eigenschaften (Zytotoxizität und Hemmung der Zellproliferation von Ehrlich-Ascites Zellen).

Nach unseren Ergebnissen darf eine Standardisierung klinisch verwendeter Mistelpräparate nicht nur auf dem Gehalt an den beiden Lektinen VAA 1 und VAA 2 (sowie weiterer Lektine) beruhen, sondern muß auch die Analyse des Isolektinmusters und, wenn möglich, einen repräsentativen zellbiochemischen oder biologischen Test einschließen.

## Quantifizierung von Mistelinhaltsstoffen

Gudrun Würzner, R. Eifler, Karola Pfüller und U. Pfüller

Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke, Witten

Von der Europäischen Mistel (*Viscum album* L.) haben verschiedene Zubereitungen verbreitete therapeutische Anwendung gefunden, vor allem in der adjuvanten Krebstherapie. Die biologische Aktivität dieser Präparationen wird wesentlich den Lektinen und den Viscotoxinen zugeschrieben. Die kommerziell verfügbaren Mistelpräparate unterscheiden sich sehr deutlich in ihrem Gehalt an Mistellektinen ML I, ML II und ML III sowie dem chitinbindenden Lektin VisalbcBL und im Gehalt an Viscotoxinen. Die quantitative Erfassung dieser Lektine und Viscotoxine ist dadurch erschwert, dass beide Substanzgruppen in einem isomeren Muster in Abhängigkeit von natürlichen Faktoren vorliegen. Eine quantitative Analytik dieser Inhaltsstoffe sollte daher bestrebt sein, diese isomeren Muster zu erfassen.

Die verfügbaren ELLA- und ELISA-Testsysteme erlauben den direkten Nachweis von zuckerbindenden und nichtzuckerbindenden Lektinen in Präparaten und Extrakten. In der vorliegenden Arbeit wird auf Probleme und Störmöglichkeiten dieser Analytik hingewiesen. Für die Standardisierung der Lektine und Viscotoxine sind neben der Etablierung der Methoden selbst vor allem Standards und deren umfassende Charakterisierung und Festlegung notwendig. Die Detektion der Viscotoxine mit Hilfe der Reverse-Phase Chromatographie und verschiedener flavonoider- und phenolischer Inhaltsstoffe durch Hochleistungs-dünnschicht-chromatographie sowie dabei beobachtete Störfaktoren werden ergänzend zur Lektinanalytik beschrieben.

## Bioassays zur quantitativen Bestimmung von ML I, ML III/II und VisalbCBL

Gudrun Würzner<sup>1</sup>, K. Pfüller<sup>1</sup>, A.G. Tonevitsky<sup>2</sup> und U. Pfüller<sup>1</sup>

Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke; Institute of Immunology, Moscow<sup>2</sup>

Für die quantitative Bestimmung der Lektine in Mistelpräparaten wurden ELISA-Methoden entwickelt, die erstmalig die selektive Bestimmung von ML I neben ML II/ML III mit hinreichender Genauigkeit und Sicherheit gestatten. Eine Quantifizierung der Summe aktiver, d.h. zuckerbindender Lektine, ist proben- und extraktabhängig mit ELLA-Methoden möglich. Für den quantitativen Nachweis des chitinbindenden Lektins der Mistel, VisalbCBL, wurde ein ELLA-Test etabliert.

Die Testsysteme ermöglichen eine zuverlässige Bestimmung der Lektine in der Mehrzahl der kommerziell erhältlichen Mistelpräparate, Misteltinkturen und Misteldrogen. In einigen dieser komplex zusammengesetzten Präparationen ist allerdings eine aufwendige Beseitigung von Störfaktoren notwendig. Möglichkeiten und Grenzen der vorgestellten Methoden werden diskutiert.

# Biologische Wirksamkeit des spezifischen Mischprozesses von Winter- und Sommer-Mistelsaft zu Iscador®

Stephan M. Baumgartner<sup>1,2</sup>  
Heidi Flückiger<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Verein für Krebsforschung, Institut Hiscia, Kirschweg 9, CH-4144 Arlesheim

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

## *Einleitung:*

Erst durch den speziellen Mischprozess von Sommer- und Winter-Mistelsaft soll die Mistel zum "unbedingt spezifischen Mittel gegen das Karzinom" (R. Steiner) werden. Das dabei anvisierte Ziel einer Umgestaltung der Kräfte, die im Mistelbildeprozess wirken, muss experimentell am gemischten Präparat nachgewiesen werden können. Zur Untersuchung des Mischprozesses von Iscador® wurden mehrere Modellsysteme entwickelt; der Stand der Untersuchungen mit dem fortgeschrittensten System wird vorgestellt.

## *Material und Methoden:*

Kresse-Keimlinge werden in verdünnten Lösungen ( $10^{-6}$ ) von Iscador® oder einer entsprechenden Kontrolle (von Hand zusammengerührte Sommer- und Winter-Mistelsäfte) unter standardisierten Bedingungen kultiviert. Nach vier Tagen wird das Kresse-Längenwachstum gemessen; nach weiteren sieben Tagen werden Selbstzersetzung und Pilzbefall der Keimlinge bonitiert.

## *Resultate:*

Iscador® steigert gegenüber der Kontrolle das Kresse-Sprosslängenwachstum sowie die Resistenz der Keimlinge gegenüber Zersetzung und Pilzbefall. Dieser Effekt ist nach dem derzeitigen Kenntnisstand unabhängig vom eingesetzten Präparat (Iscador® Mali spez, Mali oder Pini).

## *Diskussion:*

Die Resultate sind im derzeitigen Stadium mehr von prinzipieller als von praktisch-klinischer Bedeutung. Immerhin lässt sich ein spezifisch anthroposophischer pharmazeutischer Prozess in seiner Auswirkung auf Lebensprozesse deutlich und reproduzierbar nachweisen. Mögliche Weiterentwicklungen und Perspektiven werden diskutiert.

# **Veränderung von Mistelextrakten durch ein pharmazeutisches Strömungsverfahren**

Reinhard Koehler, Gero Leneweit

Carl Gustav Carus-Institut der Gesellschaft zur Förderung der Krebstherapie e.V.,  
Am Eichhof, D – 75223 Niefern-Öschelbronn

## **Aufgabenstellung**

Gleichzeitig mit der Entdeckung der weißbeerigen Mistel als Heilmittel gegen die Krebserkrankung hat Rudolf Steiner Vorschläge entwickelt, wie die Mistelextrakte durch Strömungsprozesse in ihrer therapeutischen Wirkung verbessert werden könnten. Die dadurch zu bewirkenden Veränderungen erschienen ihm vermutlich aus den damaligen praktischen Erfahrungen notwendig zu sein: „Wenn wir dasjenige, was nun im Mistelprozess wirkt, unmittelbar in den Menschen einführen, so verändert es sich [...] zu stark“ (London, 3.9.1923). Zur Lösung dieses Problems schlug er vor, den Mistelextrakt durch Strömungsprozesse in einen „ganz anderen Aggregatsprozess“ umzuwandeln.

## **Methodisches Konzept**

Zur Realisierung der Anregungen Rudolf Steiners wurde das Konzept entwickelt, dass ein „anderer Aggregatsprozess“ durch eine kolloidale Lösung erzielt werden kann, in der die Mistelsubstanzen durch Liposomen in eine räumliche Ordnung und Strukturierung gebracht werden. Dazu musste ein eigenes Herstellungsverfahren zum Auszug der Mistelsäfte durch Pressung entwickelt werden, mit dem neben den wasserlöslichen Inhaltsstoffen auch die fettverwandten Substanzen in kolloidaler Form im Presssaft gelöst werden. Dabei entstehen Liposomen aus den natürlichen Zellmembranen der Mistel, die bei der weiteren Bearbeitung des Mistelsaftes durch Strömungsprozesse mit einer zusätzlichen Membranschale umhüllt werden sollen. Die Umhüllung soll eine Einkapselung der zytotoxischen Inhaltsstoffe in Liposomen bewirken, um dadurch die Antigenität des Mistelpräparats zu reduzieren.

## **Gegenwärtiger Arbeitsstand**

Für die experimentelle Untersuchung des Strömungsverfahrens steht inzwischen eine eigene Forschungsmaschine zur Verfügung. Da das Strömungsverfahren aus einer Folge verschiedener Teilprozesse aufgebaut ist, müssen diese gesondert experimentell verifiziert worden. Der Aufbau von Monoschichten als Vorbereitung einer Membransynthese zur Liposomeneinkapselung konnte inzwischen nachgewiesen werden, am Nachweis einer Membransynthese und Liposomeneinkapselung wird zur Zeit gearbeitet. Ein Einfluss der Strömungsprozesse auf isolierte Einzelsubstanzen (Eiweiße, Polysaccharide) konnte gezeigt werden.

## **Wechselwirkungen zwischen Beerenpolysacchariden und Lektinen der Weißbeerrigen Mistel (*Viscum album* L.)**

Edlund U.<sup>1</sup>, Hensel A.<sup>2</sup>, Fröse D.<sup>3</sup>, Pfüller U.<sup>4</sup> und Scheffler A.<sup>5</sup>

<sup>1,3,5</sup>C. G. Carus-Institut, Niefern-Öschelbronn, <sup>2</sup>Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Universität Erlangen/Nürnberg, <sup>4</sup>Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke

Wäßrig extrahierbare Polysaccharide aus reifen Beeren der Apfelbaummistel könnten aufgrund ihrer Kohlenhydratstruktur und ihres hohen Molekulargewichtes in Mistelextrakten als Bindungspartner von Mistellektinen fungieren. Polysaccharid-Lektin-Komplexe könnten gegenüber den isoliert vorliegenden Einzelsubstanzen veränderte physikochemische und pharmakologische Eigenschaften besitzen.

Als Grundlage der Bearbeitung dieser Probleme wurde ein Isolierungs- und Reinigungsverfahren für Beerenpolysaccharide ausgearbeitet, das zur Gewinnung von vier Polysaccharid-Fractionen führte, deren Strukturen aufgeklärt wurden. Die Neutralfraktion (I) setzt sich aus einem neutralen Arabinogalaktan und einem Xyloglukkan zusammen; für die Polysaccharide der Fraktionen II, III und IV wurde die prinzipielle Struktur eines sauren Arabinogalaktans ermittelt, das aus einer Rhamnogalakturonan-Hauptkette und komplex verzweigten Arabinogalaktan-Seitenketten aufgebaut ist. Der saure Charakter der Polysaccharide nimmt von Fraktion II zu IV mit steigenden Galakturonsäureanteilen zu. Fraktion III stellt mit einem Anteil von etwa 60 Gewichtsprozent die Hauptfraktion der wasserlöslichen Beerenpolysaccharide dar. Das saure Arabinogalaktan dieser Fraktion (Molekulargewicht  $1,34 \cdot 10^6$  Dalton) liegt hier nahezu monodispers vor.

Wechselwirkungen der Polysaccharid-Fractionen III und IV mit ML I konnten mittels Gelpermeationschromatographie nachgewiesen werden. Unter schwach sauren Bedingungen (pH 6,0) bildeten sich mehr Polysaccharid-ML I-Komplexe als unter schwach alkalischen Bedingungen (pH 9,0). Die bei pH 6,0 beobachtete Komplexbildung konnte durch den Zusatz von Galaktose nur teilweise rückgängig gemacht werden; es kommen also sowohl elektrostatische, als auch Zucker-Lektin-Wechselwirkungen zwischen diesen Polysacchariden und ML I vor. Eine Bindung wurde auch zwischen dem hochmolekularen Anteil der Fraktion II und ML I beobachtet.

Wechselwirkungen zwischen der Neutralfraktion und ML I zeigte eine BIACORE-Analyse (Biomolecular Interaction Analysis), mit deren Hilfe auch die Wechselwirkung der Polysaccharid-Fraktion III mit ML I bestätigt werden konnte.

Daß die Bindungsfähigkeit der Mistellektine für bestimmte Zuckerstrukturen der Glykokalizes von Erythrozyten und Molt 4-Zellen durch die Komplexbildung mit Polysacchariden nicht beeinträchtigt wird, zeigten Hämagglutinationstests und Tests an Molt 4-Zellen unter Zusatz der vier Polysaccharid-Fractionen.

## **Zusammenfassung des Referats: „Stabilität von HELIXOR®-Mistelgesamtextrakten“**

Auf die Frage nach der pharmazeutischen Qualität und Stabilität gibt es für die Mittel der besonderen Therapierichtungen bislang keine zufriedenstellende Antwort. Zwischen der Qualität einer pharmazeutischen Zubereitung und der Wirksamkeit in der Therapie muss hier unterschieden werden, weil die Wirksamkeit nur selten auf definierte Inhaltsstoffe zurückzuführen ist. Sehr evident ist diese Kluft bei hoch potenzierten Mitteln der homöopathischen Therapierichtung; sie tritt aber auch auf für Pflanzenextrakte, wo es nicht nur um deren Substanzen, sondern auch um deren prozessuale Qualität – sowohl von der Herkunft als auch von der pharmazeutischen Aufbereitung her – geht. Dies gilt für Mistelgesamtextrakte der anthroposophischen Therapierichtung. Die Bestimmung von einigen biochemischen Substanzen oder biologischen Wirkungen – und die daran anschließende Definition der Stabilität – kann für diese Arzneimittel nur ein Notbehelf zur Festlegung der pharmazeutischen Qualität sein.

HELIXOR®-Injektionslösungen, zubereitet aus der Frischpflanze *Viscum album* L., werden im Molt4-Zellkulturtest auf Zytotoxizität geprüft. Die Überprüfung im Zellkulturversuch ist Bestandteil der Überwachung der pharmazeutischen Qualität, ohne dass ein Anspruch auf einen Bezug zur Wirksamkeit in der Therapie erhoben wird.

Das Ergebnis eines Molt4-Zellkultur-Assays kommt immer multifaktoriell zustande und zwar aus zwei Gründen:

- (a) der erste Grund ist durch den Assay selbst gegeben. Bei der Ermittlung der Zytotoxizität ist nämlich immer eine Kombination von Zellhemmung (Zytostase) und Zelltötung (eigentliche Zytotoxizität) zu beachten. Letzteres, die Zytotoxizität im engeren Sinne, kann wiederum eine unterschiedliche Dynamik haben: z. B. Nekrose (z. B. durch Auflösung der Zellwand) oder Apoptose (programmierter Zelltod). Bei der Molt-4 Zellkulturbestimmung handelt es sich um eine Kombination von Zytostase, Nekrose und Apoptose.
- (b) der zweite Grund liegt darin, dass ein Gesamtextrakt in der Zellkultur geprüft wird, der an sich multifaktorieller Natur ist. Die Zytotoxizität von Mistelpräparaten in der Molt4-Zellkultur wird hauptsächlich verursacht durch Lektine. Denaturierung der Lektine reduziert die Zytotoxizität zu fast null. Dennoch gibt es eine deutliche Abhängigkeit von Co-Faktoren in der Lösung. Es gibt keine eindeutig lineare Korrelation zwischen dem Lektinegehalt und der Zellkulturwirkung. Es ist anzunehmen, dass vor allem Kohlenhydrate und Viskotoxine die Wirkung der Mistellektine beeinflussen.

Das Ergebnis einer Überprüfung in der Molt4-Zellkultur zeigt somit eine Summe verschiedener Wirkungen aufgrund der Feststellungen (a) und (b).

Diese „Wirkungssumme“ ist allerdings sehr stabil über mehrere Jahre. Nach drei Jahren ist immer noch keine Abnahme der zellwachstumshemmenden Wirkung festzustellen. Allerdings ist zu beachten, dass dies bei Aufbewahren im Dunkeln und bei Raumtemperatur gilt. Längere Einwirkung von Tageslicht oder höheren Temperaturen verursacht eine deutliche Abnahme der Zytotoxizität.

Die über Jahre hinweg anhaltende Stabilität des Gesamtextraktes hebt sich positiv ab gegenüber der Labilität des Mistellektins in isolierter Form. Die Co-Faktoren eines Gesamtextraktes modifizieren und stabilisieren die Mistellektinwirkung im Zellkulturversuch.

Diese Qualitäts- und Stabilitäts-Definition eines Mistelgesamtextraktes ist vollkommen zu vereinbaren mit der bewährten Therapieform, wobei die Dosis gesteigert wird, bis ein erwünschter Effekt eintritt.

# Grundlagenforschung Immunologie, Zytotoxizität

In-vitro-Untersuchungen

## AN OVERVIEW ON THE BIOLOGICAL EFFECTS OF THE *VISCUM ALBUM* EXTRACT ISOREL (VYSOREL)<sup>®</sup>

Neven Zarkovic, Tea Kalisnik, Iva Loncaric, Martina Miletic, Kamelija Zarkovic, Suzana Borovic, Martin Konitzer and Susanne Mang

Rudjer Boskovic Institute, Division of Molecular Medicine, Zagreb, Croatia

Due to the complex composition of the mistletoe (*Viscum album* L.) extracts and their different biological effects, the activity principle of these phytotherapeutics could be considered as combined cytotoxic (cancerostatic) and „biological response modifying“ activities (increasing host defence against cancer) that result from the activities of the plant lectins and the other biologically relevant substances.

To evaluate this we used aqueous extract Isorel (Vysorel)<sup>®</sup> produced by Novipharma GmbH (Pörschach, Austria) from the entire plant (*planta tota*) of fresh mistletoe to study its effects on human and murine malignant cell lines *in vitro* and on the murine tumors *in vivo*. It was found that Isorel could inhibit the growth of the malignant cells and increase effectiveness of radiotherapy and chemotherapy as well as it stimulates host defence against cancer cells and might modulate non-specific immunity. The activity of Isorel appeared to be „lectin-like“, but fractionating Isorel into different molecular weight (MW) components revealed that none of the fractions was as efficient as the plain drug indicating „multifactorial“ activity principle. As very challenging research subject we found a possibility that even very small MW (few hundred Da) components of the drug might contribute to the antineoplastic activity of the extract.

For this study genuine Isorel was used and its low MW (<500) components eluted from the drug by membrane ultrafiltration. *In vitro* Isorel showed concentration dependent inhibition of the cell growth (toxicity) determined by the incorporation of the <sup>3</sup>H-labelled amino acids in the various cell lines. For the growth inhibition mostly higher MW components were responsible, while <500 MW components were less efficient.

Furthermore, because mistletoe extracts are mostly used by s.c. or i.m. injections, sometimes in the vicinity of the tumors (in case of skin malignancies), we analysed the effects of the drug application also in the vicinity of tumor (murine mammary carcinoma) and compared it with systemic effects. Thus, the animals carried tumors in both hind limbs while the drug was applied only at the right side (in the limb distal from the tumor). The animals were at the time of tumor transplantation also injected with tumor cells i.v. to develop artificial lung metastases. The use of Isorel at the side of tumor gave persistent and almost complete inhibition of the tumor growth for 2/7 animals. However, so strong anticancer effects were not noticed on the contralateral side tumors, although tumor growth rate was transiently reduced for some mice. Histology revealed that Isorel treatment both at the side of tumor and systematically increased the incidence of *apoptosis* in the tumors, while the reduction of the mitotic cells was noticed only for the tumors directly exposed to Isorel. *Necrosis* was more pronounced in the tumors of Isorel treated mice both as local and as systemic effect of the treatment. Finally, animals treated with Isorel had, on the average, three times less lung metastases than the controls (13.43±4.44 for Isorel Vs. 37.43±4.24 for saline treated control, p=0.002).

Thus, we conclude that both local and systemic effects of the application of Isorel could be of benefit for the tumor bearing organism resulting in tumor growth inhibition and reduction of metastases. According to the *in vitro* results, antitumor effects could be result not only of the mistletoe lectins and the other high MW factors, but also of the very low MW (<500) substances that deserve further analyses.

## Pharmakologische Wirkungen von Mistellektinen in wässrigen Mistelextrakten

Tobias Schwarz, Klaus Witthohn und Roland Weyhenmeyer  
Madaus AG, Präklinische Forschung, 51101 Köln

Arzneimittel zur Palliativtherapie von Tumorpatienten mit wässrigen Extrakten aus der europäischen Mistel (*Viscum album L.*) als Wirkstoffe enthalten in unterschiedlichen Konzentrationen Mistellektine, Polysaccharide und Viskotoxine als biologisch aktive Inhaltsstoffe.

Die folgenden, experimentellen Untersuchungen belegen die Bedeutung der D-galaktose- sowie N-azetyl-D-galaktosaminspezifischen, zytotoxischen und immunmodulierenden Mistellektine (ML) I, ML II und ML III als Hauptwirkbestandteile eines normierten, stabilen Mistelextraktpräparates (Lektinol®):

- 1) In einem dreidimensionalen Hautbioassay bzw. einem HaCaT-Keratinocytenmodell bewirkt dieses Mistelpräparat konzentrationsabhängig die Freisetzung von Interleukinen. Antiserum gegen Mistellektin bzw. D-Galaktose hemmen die Freisetzung der Interleukine. In den pharmakologischen Assays steigern auch reine Mistellektine die Sekretion der Zytokine.
- 2) Das Antiserum gegen Mistellektin inhibiert die konzentrationsabhängige, zytotoxische Wirkung dieses Mistelpräparates gegenüber menschlichen Leukämiezellen. Ein hemmender Effekt auf die zytotoxische Wirkung dieses Präparates wird zudem durch Asialofetuin, das endständige D-Galaktosylreste trägt, und andere galaktosylhaltige Substanzen verursacht.
- 3) Gegenüber 42 humanen, *in vivo* vorkultivierten Tumorzelltypen wiesen der Mistelextrakt und in *E. coli* rekombinant hergestelltes Mistellektin ähnliche Wirkprofile hinsichtlich ihrer Zelltypspezifität und Zytotoxizität auf.
- 4) Subkutan injizierte Mistelextraktzubereitungen stimulierten signifikant das zelluläre Immunsystem in tier- und humanpharmakologischen Studien, wohingegen diese Wirkungen mit analogen Extrakten, aus denen spezifisch nur Mistellektin entfernt worden war, nicht induziert werden konnten<sup>a,b</sup>.

Viskotoxine erhöhen ab einer Konzentration von 10 µg/ml die Freisetzung von Interleukin-6 in dem HaCaT-Keratinocytenmodell bzw. ab 0,3 µg/ml die Sekretion von Interferon-γ aus humanen, mononukleären Blutzellen. Ab zirka 500 ng/ml besitzen Polysaccharide aus *Viscum album in vitro* immunmodulierende Eigenschaften<sup>c</sup>.

Im normierten Fertigarzneimittel Lektinol® werden für diese Substanzgruppen diese Konzentrationsbereiche nicht erreicht. Schon im Ausgangsstoff, dem wässrigen Mistelextrakt [1 : 1,1 - 1,5], lassen sich keine signifikanten Mengen an Viskotoxinen nachweisen. Höhere Konzentrationen an immunmodulierenden Polysacchariden ergeben sich bei zunehmendem Droge/Extrakt-Verhältnis.

Zusammengefaßt zeigen diese Studien für das Fertigarzneimittel Lektinol® und dessen wirksamen Bestandteil, den wässrigen Mistelextrakt [1 : 1,1 - 1,5], daß die Mistellektine die wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe sind.

<sup>a</sup> Beuth et al. (1995) Arzneimittel-Forschung / Drug Research 45, 1240 - 1242

<sup>b</sup> Hajto et al. (1989) Cancer Research 49, 4803 - 4808

<sup>c</sup> Zhu et al. (1994) Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 120, 383 - 388

## **Abstract**

### **Zytotoxische Effekte von Mistellektinen und eines Mistelpräparats auf menschliche natürliche Killerzellen in vitro**

M. Schink, M. Borowski

Verein Filderklinik e.V., Forschungsabteilung, Filderstadt

Zytotoxische Effekte von Mistelextrakten und speziell der Mistellektine gegenüber humanen Immunzellen in vitro sind seit langem bekannt. Es konnte gezeigt werden, dass die Wirkung der Lektine hauptsächlich auf einer Induktion des programmierten Zelltods (Apoptose) beruht. Es konnten dabei Unterschiede in der Empfindlichkeit der Lymphozyten, Granulozyten und Makrophagen beobachtet werden. Über das Verhalten der einzelnen Lymphozyten-Subpopulationen ist dagegen wenig bekannt.

Wir haben das Verhalten isolierter Lymphozyten gesunder menschlicher Spender in der in vitro-Kultur untersucht. Die Zellen wiesen nach 72 Std. in Medium + fcs eine spontane Apoptose-Rate von 6-12% auf. Eine Zugabe der Mistellektine ML I-III, bzw. des Mistelpräparats Helixor<sup>®</sup>M (HM) führte zeit- und dosisabhängig zu einer Zunahme dieser Rate. Außerdem konnte stets eine deutliche, einseitige Abnahme des NK-Zellanteils (CD16+CD56+CD3-) in der Zellkultur beobachtet werden. Die eingesetzten Substanzen zeigten in der Reihenfolge MLIII > ML II > HM > MLI ein unterschiedliches Ausmaß der präferentiellen zytotoxischen Wirkung gegenüber den NK-Zellen. Bei der Kultivierung von Zellen verschiedener Spender traten jedoch erhebliche Unterschiede in der Zytotoxizität des ML II und besonders des Präparats HM für die NK-Zellen auf. Das präferentielle Killing der humanen NK-Zellen war schon nach 24 Std. eindeutig messbar (50%ige Reduktion des NK-Zellanteils bei 23 ng/ml (ML I), 6-7 ng/ml (ML II) bzw. 4,5 ng/ml (ML III)). Die Wirkung erhöhte sich in den folgenden 24 Std. deutlich, änderte sich aber danach nur noch wenig. Die Verwendung von Lektinmischungen oder die Zumischung einzelner Lektine zum Mistelpräparat HM führte nicht zu synergistischen oder antagonistischen Effekten. Ein Vergleich der Zytotoxizität von Mistelextrakt/Mistellektinen in der Lymphozytenkultur mit den entsprechenden Wirkungen in einer Vollblutkultur ergab erhebliche Unterschiede im Verhalten der Lektine und des Gesamtextrakt. Die ML I-Zytotoxizität für NK-Zellen war im Vollblut generell erhöht. ML II+III zeigten je nach Spender einen Anstieg oder eine Abnahme der Toxizität beim Übergang ins komplexere System. Für HM ergab sich dagegen in den meisten Fällen eine deutliche Verringerung der toxischen Wirkung.

Die präferentielle Zytotoxizität der Mistellektine ist insbesondere bei Untersuchungen zur in vitro-Modulation der NK-Zellaktivität durch Mistelextrakte zu berücksichtigen. Wenn die für diese Tests zu unterschreitende zytotoxische Grenzdosis der Extrakte nur anhand der Gesamtlymphozyten ermittelt wird, könnte trotzdem noch ein Abtöten der Effektorzellen durch die Mistellektine auftreten aber unentdeckt bleiben und so suppressorische Effekte vortäuschen. Die erheblichen Unterschiede zwischen Lymphozyten- und Vollblutkultur weisen auf die begrenzte Übertragbarkeit von in vitro-Daten, die unter bestimmten Kulturbedingungen ermittelt wurden, auf andere in vitro-Settings und erst recht auf die in vivo-Situation hin. Da das verwendete Mistelpräparat Helixor M keine Viscotoxine sondern nur Mistellektine als zytotoxische Komponenten enthält, verdeutlichen die gezeigten erheblichen Abweichungen des Präparats vom Verhalten der isolierten Lektine, daß die Mistellektine innerhalb des Gesamtinhaltsstoffkomplexes andere Eigenschaften haben können als in reiner Form. Dabei scheint die natürliche Ausgangslage in der Pflanze bzw. die besondere Art der Herstellung des Präparats eine entscheidende Rolle zu spielen, da bei nachträglicher Zumischung keine Beeinflussung der Lektintoxizität beobachtet werden konnte.

# ZYTOTOXISCHE WIRKUNG VON VAA-1 LEKTIN: VON DER ZELLKULTUR ÜBER DIE LEKTINIMMUNHISTOCHEMIE ZU KLINISCHEN DATEN

<sup>1</sup>Fritz P., <sup>2</sup>Siegle I., <sup>2</sup>Mürdter T.E., <sup>3</sup>Aulitzky W.

<sup>1</sup> Zentrum für Pathologie, Robert Bosch Krankenhaus, 70376 Stuttgart

<sup>2</sup> Institut für Klinische Pharmakologie, 70376 Stuttgart

<sup>3</sup> Zentrum für Hämatologie, Robert Bosch Krankenhaus, 70376 Stuttgart

**EINLEITUNG:** Die immunmodulatorische Wirkung des VAA-1 Lektins (Mistellektin 1) ist inzwischen gut belegt. Weniger eindrucksvolle Daten liegen zur zytotoxischen Wirkung von VAA-1 vor, die auf Induktion von Apoptose hindeuten.

**METHODEN:** Es wurden zwei unterschiedliche Methoden zum möglichen Wirkungsnachweis von VAA-1 Lektin eingesetzt:

- zellbiologische Untersuchungen mit einer etablierten T-Zelllinie (Jurkatzellen)
- immunhistochemische Verfahren zum Nachweis der VAA-1 Bindung an Tumorzellen (an Lymphomen und soliden Tumoren)

**ERGEBNISSE:** Es zeigte sich, dass VAA-1 an die Zelloberfläche von Jurkatzellen bindet und konzentrationsabhängig Apoptose auslöst. Die VAA-1 vermittelte Induktion der Apoptose verlief in unserem System jedoch unabhängig vom Fas-Signaltransduktionsweg, auch Caspase 8 war nicht beteiligt. Darüberhinaus konnte auch eine Bindung von VAA-1 an kutan maligne Lymphome (aus der T- und B Zellreihe) und an solide Karzinome nachgewiesen werden. Hierbei ist in erster Linie von einer Bindung an die Tumorzellen auszugehen.

**DISKUSSION:** Die Ergebnisse der Zellkultur können als theoretischen Voraussetzung genutzt werden, um die Mechanismen der Apoptoseinduktion zu belegen. *In vivo* ergeben die lektinimmunhistochemischen Untersuchungen, daß von einer VAA-1 Bindung an maligne Lymphome und soliden Tumoren ausgegangen werden kann und somit eine notwendige, aber keine hinreichende Bedingung für eine zytotoxische Wirkung von VAA-1 belegt ist.

- unterstützt aus Mitteln der ROBERT BOSCH Stiftung, Stuttgart

## **Das Mistellektin I (ML I) – Bindung, Aufnahme und Einfluß auf die Zytokinaktivierung – untersucht an humanen peripheren Blutlymphozyten und CD4-Subpopulationen**

V. Schulte<sup>1</sup>, T. Dittmar<sup>1</sup>, K.S. Zänker<sup>1</sup>, U. Pfüller<sup>2</sup> und M. Werner<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut für Immunologie, <sup>2</sup>Institut für Phytochemie der Universität Witten/Herdecke,

<sup>3</sup>Verein für Krebsforschung, Arlesheim, Schweiz

Extrakte aus der europäischen Mistel (*Viscum album* L.) finden mittlerweile als anerkannte Präparate in der adjuvanten Tumorthherapie eine verbreitete Anwendung. Sie enthalten eine Vielzahl verschiedener Inhaltsstoffe, von denen neben den Viscotoxinen und Polysacchariden besonders die Mistellektine (ML) für die beobachteten Wirkungen verantwortlich sind. Die spezifischen Wirkungsmechanismen auf zellulärer Ebene sind jedoch bisher nur unvollständig aufgeklärt.

Es wurden Untersuchungen zu Bindung und Aufnahme von ML I durch CD4-T-Zellen durchgeführt. Die Analyse der verwendeten Zellen erfolgte nach Immunfluoreszenzfärbung mittels konfokaler Lasermikroskopie. Hier wurde nach Inkubation mit ML I sowohl eine gleichmäßige Verteilung der Lektinmoleküle auf der äußeren Zellmembran als auch deren Aufnahme in Form von Vesikeln beobachtet. Weiterhin wurde die zytotoxische Wirkung verschiedener ML I-Konzentrationen auf PBMC anhand von Propidiumiodidfärbung und Durchflußzytometrie ermittelt. Der Anteil als tot detektierter Zellen stieg dosisabhängig und mit Inkubationsdauer an.

Von besonderem Interesse war der Einfluß von ML I auf die Zytokinexpression von Lymphozyten. Zunächst erfolgte eine Isolierung von CD4-T-Zellen und CD45RA-T-Zellen aus humanen PBMC. Nach Inkubation der verschiedenen Zellfraktionen mit ML I wurden intrazellulär die Zytokine IFN- $\gamma$  (Th1) und IL-4 (Th2) fluoreszenzgefärbt und die Zellen durchflußzytometrisch analysiert. Da jedoch unter verschiedenen Versuchsbedingungen keine Expression der gewählten Zytokine beobachtet wurde, konnte für naive CD4-T-Zellen, aktivierte CD4-T-Zellen und PBMC diese Frage nicht beantwortet werden. Es wurde jedoch ein Einfluß von ML I auf die Zytokinexpression in CD4-T-Zellen und in PBMC nachgewiesen, wenn eine Nachstimulation der Zellen mit PMA und Ionomycin/ $\text{Ca}^{2+}$  erfolgte. Ohne vorherige Inkubation mit ML I induzierte PMA in über 20 % der Zellen die Expression von IFN- $\gamma$ . Nach Vorinkubation mit ML I oder mit dem Mistelextrakt Iscador M lag der Anteil IFN- $\gamma$ -positiver Zellen bei unter einem Prozent und entsprach damit der Negativkontrolle.

Die genannten Befunde im Zusammenhang mit PMA bieten einen Anhaltspunkt, um die Signalwege zu ermitteln, über die ML I auf immunkompetente Zellen wirkt.

## Polysaccharide und Viscotoxine: immunologische Wirkungen und Interaktionen

Gerburg M. Stein<sup>1</sup>, Ute Edlund<sup>2</sup>, Gerhard Schaller<sup>3</sup>, Uwe Pfüller<sup>4</sup>, Arndt Büssing<sup>1</sup>, Michael Schietzel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Krebsforschung Herdecke, Universität Witten/Herdecke, Gemeinschaftskrankenhaus, Gerhard-Kienle-Weg 4, 58313 Herdecke, <sup>2</sup>Carus-Institut, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn, <sup>3</sup>Forschungsinstitut Hiscia, Verein für Krebsforschung, Kirschweg 9, 4144 Arlesheim, Schweiz, <sup>4</sup>Institut für Phytochemie, Universität Witten/Herdecke, Stockumer Str. 10, 58448 Witten

Über die immunologischen Wirkungen von Nicht-Lektin-Komponenten der Mistelextrakte und Interaktionen einzelner Komponenten liegen nur unzureichende Daten vor. Daher wurden ein als Arabinogalaktan charakterisiertes Polysaccharid (PS) aus Mistelbeeren ( $1.34 \times 10^6$  Dalton), ein Viscotoxin (VT) - Gemisch sowie einzelne Viscotoxine isoliert und immunologisch charakterisiert. Untersucht wurden die Granulozyten-Funktion (flowzytometrisch gemessen als *E.coli*-aktivierter oxidativer Burst und die Phagozytose), die Lymphozyten-Proliferation (flowzytometrisch gemessen als Einbau des Thymidinanalogs 5-Brom-2'-deoxyuridin (BrdU)) sowie die Freisetzung von Zytokinen im Überstand der aktivierten Lymphozyten (ELISA).

Die VT steigerten die Aktivität der Granulozyten signifikant (Burst und Phagozytose), während das PS und die Mistellektine (ML) in physiologischen Konzentrationen ohne direkten Einfluß auf die Granulozyten und die VT-induzierte Granulozyten-Aktivierung blieben. Im Gegensatz zu den VT oder den ML stimulierte das PS hauptsächlich Lymphozyten und induzierte signifikant die Proliferation der peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) gesunder Spender. In einzelnen Fällen konnte nachgewiesen werden, dass es bei der Lymphozyten-Proliferation zu Interaktionen des PS mit den Mistellektinen kam: während bei einem Probanden ein synergistischer Effekt beobachtet wurde, kam es bei einem anderen zu einer Inhibierung der PS-induzierten Proliferation durch gleichzeitige Inkubation der Zellen mit den ML. Bei einzelnen Probanden konnte auch eine gegenseitige Beeinflussung von VT und ML beobachtet werden. Während die ML, VT und PS hauptsächlich IL-6 induzierten, ein Monozyten/Makrophagen-assoziiertes Zytokin, induzierte das PS zusätzlich vor allem das Th1-Zytokin IFN- $\gamma$ .

Diese neueren Untersuchungen zum PS und zu den VT der Mistel belegen eindeutig, (1) dass auch Nicht-Lektin-Komponenten immunologisch aktiv sind und verschiedene Zellpopulationen unterschiedlich aktivieren können und (2) dass es zu Wechselwirkungen (synergistisch, inhibitorisch) zwischen einzelnen Extrakt-Komponenten kommen kann. Diese Beobachtungen tragen mit dazu bei, Wirkungen unterschiedlicher pflanzlicher Extrakte nicht nur auf die Wirkung einer einzelnen Komponente zurückzuführen, sondern in ihrer Komplexität zu erfassen.

# Klinische Anwendung und Prüfung

## Hämoblastosen

# **Stellenwert der Misteltherapie (Iscador®) bei Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphom. Immunologische Spekulation und klinische Realität.**

J.J. Kuehn, Fornalski, M., Lukas Klinik Arlesheim

## **ABSTRACT**

**Einleitung:** Epidemiologische Daten zeigen in den meisten Industrieländern eine Zunahme der Inzidenz beim Non-Hodgkin-Lymphom (NHL). Eine Therapie mit Immunsuppressiva erhöht das Risiko für diese Erkrankung und weist in Richtung einer Promotorfunktion durch ein geschädigtes Immunsystem. Spekulative Interpretationen von immunologischen Daten aus der Zytokinforschung (Interleukin-6) führten und führen zu einer wiederholten Warnung vor einer potentiellen Schädlichkeit der Misteltherapie, die auch von der Deutschen Krebsgesellschaft aufgegriffen wurde.

**Material und Methode:** Nach Darstellung des derzeitigen Standes der Therapie beim NHL werden 10 Patienten mit NHL i.e.S. und 3 Patienten mit Chronisch lymphatischer Leukose (NHL im erweiterten Sinn), die lang- und kurzfristig mit Iscador behandelt wurden, unter klinischen/laborchemischen Aspekten (einschliesslich immunologischen Parametern) vorgestellt (Gruppe I).

Eine 2. Gruppe von 10 Patienten wird bis zu 30 Jahren unter einer Iscadorbehandlung nachbeobachtet (Gruppe II).

Bericht über eine Gruppe von 4 Patienten (Kasuistiken) unter einer langfristigen Iscador-Monotherapie (keine Chemo- oder Radiotherapie) (Gruppe III).

Retrospektive klinische Auswertung von 105 nicht selektionierten Patienten mit NHL. Vergleich einer Therapiegruppe mit einer Kontrollgruppe (Gruppe IV).

**Ergebnisse:** Bei keinem Patienten der Gruppe I, II und III tritt ein Rezidiv auf. Eine Erhöhung der Interleukin-6-Sekretion bei den Patienten der Gruppe I findet sich nicht.

Bei den Patienten der Gruppe IV ist die rezidivfreie Ueberlebenszeit in der Therapiegruppe gegenüber der Kontrollgruppe verlängert.

**Schlussfolgerung:** Die klinischen Ergebnisse einer Iscadorbehandlung beim NHL sprechen nicht nur gegen eine negative Beeinflussung des Krankheitsverlaufes durch die Therapie, sondern es zeigt sich im Gegenteil, dass diese Tumorentität besonders günstig und eindrücklich auf diese Behandlung reagiert und das rezidivfreie Ueberleben verlängert werden kann. Die bekannte mistelbedingte positive Immunmodulation ist als wesentlicher ursächlicher Faktor für diese Wirkung zu vermuten. Eine vermehrte Interleukin-6-Sekretion konnte nicht nachgewiesen werden.

## VISCUM ALBUM (ISCADOR) UND INTERLEUKIN-6; WAS IST WIRKLICH DARAN?

Eva Kovacs, Verein für Krebsforschung, 4144 Arlesheim.

**Einleitung** Interleukin-6 (IL-6) ist ein multifunktionelles Zytokin, welches eine zentrale Rolle bei der immunologischen Abwehr spielt. IL-6 wird von einer Vielzahl von aktivierten lymphoiden und nicht lymphoiden Zellen, wie T-Zellen, B-Zellen Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten und von einigen Tumorzellen gebildet. In der vorliegenden Studie haben wir den Effekt von Iscador auf IL-6 geprüft.

**Patienten** 23 Patienten mit verschiedenen Tumorarten, behandelt seit mehreren Monaten/Jahren mit Iscador, 19 Patienten ohne vorherige Iscador Therapie, 10 Patienten mit NHL. Zusätzlich haben wir 19 gesunde Probanden als Kontrollpersonen genommen. Davon haben 6 eine einmalige Iscador Injektion erhalten. Die Blutproben wurden bei 42 Krebspatienten jeweils 24 Stunden nach der Injektion, bei den NHL Patienten 5, 24 Stunden und mehrere Tage nach der Verabreichung entnommen. Bei den 42 Krebspatienten wurden diese Bestimmungen in 2-3 Monaten mehrmals durchgeführt. Die Kinetik der IL-6 Produktion nach Iscador wurde in einem in vitro Modell und ex vivo untersucht.

**Parameter** Serumgehalt von IL-6, von sIL-6 Rezeptor, IL-1-beta, TNF-alpha, C-reaktives Protein (CRP). Die Produktion von IL-6 wurde im Ueberstand der kultivierten PBMC (periphere Blut mononukleäre Zellen) gemessen. Methode: ELISA.

**Resultate** Kontrollpersonen ohne Iscador : IL-6 Werte 0-8 pg/ml, CRP Werte <10 ng/ml, sIL-6 Rezeptor 48-85 ng/ml, Kontrollen mit Iscador : 0-9,5 pg/ml, <10 ng/ml, 58-95 ng/ml. 23 Patienten, behandelt seit längerer Zeit mit Iscador : 14/23 haben Kontrollwerte, bei 3/23 sanken die hohe Werte während der Hospitalisation, bei anderen blieben sie unverändert. 19 Patienten ohne vorherige Iscador Therapie : 14/19 haben Kontrollwerte, bei 2/19 sanken die erhöhte Werte, bei 3 blieben sie unverändert. Serum IL-6 Rezeptor bei 1/8 Patienten erhöht (über 100 ng/ml) vor und während der Therapie, CRP <10-164 ng/ml (teilweise korreliert mit Fieber oder mit IL-6), IL-1 beta und TNF-alpha Werte waren im Normbereich. NHL-Patienten : IL-6 Werte 0-2,5 pg/ml (vor Iscador), 0-4 pg/ml (5 Stunden später), 0-6 pg/ml (24 Stunden nach der Injektion), CRP jeweils <10 ng/ml, sIL-6 Rezeptor : kein signifikanter Unterschied gegenüber Kontrollen. Die IL-6 Produktion der PBMC ist bei ex vivo nicht aussagekräftig, weil die Kontrollen ohne Iscador auch eine grosse Variation aufwiesen. Die Kinetik der IL-6 Produktion in einem in vitro Modell ergab keine Stimulation durch Iscador, sondern nur eine "Beschleunigung".

**Konklusion** Die Resultate dieser Studie zeigen, dass eine Iscador Therapie weder IL-6, noch andere zusätzlich untersuchte Parameter beeinträchtigt.

**Erste klinische Erfahrungen mit Misteltherapie bei Myelodysplastischen Syndromen (MDS) und sekundären Akuten Myeloischen Leukämien (sAML)**

Das MDS ist eine heterogene Gruppe von monoklonalen, neoplastischen, hämatologischen Erkrankungen, welche in über 30% der Fälle in eine sAML entartet. Eine spezifische Behandlung, ausser der Knochenmarktransplantation bei Patienten unter 50 Jahren oder einer palliativen Behandlung bei Patienten über 50 Jahren, gibt es bis heute nicht. Wir stellen aus unserer hämato-onkologischen Sprechstunde retrospektiv 4 Fälle vor, welche zusätzlich zu der herkömmlichen Behandlung Mistelpräparate erhielten.

In den letzten 5 Jahren suchten uns 5 Patienten mit einer MDS oder sAML auf. 2 Patientinnen hatten eine Refraktäre Anämie mit Blastenexzess in Transformation (RAEB-t) und entwickelten im weiteren Verlauf eine sAML-M2. 1 Patient kam bereits mit einer sAML-M2 bei vorangehender RAEB-t und eine Patientin hatte eine Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS). Zuletzt suchte uns noch eine Patientin mit einer Refraktäre Anämie mit Blastenexzess (RAEB) bei vorangehender Refraktären Anämie (RA) auf. Die auswärtig diagnostizierten Patienten wurden alle einer diagnostischen Revision durch uns unterzogen.

Mit Bestätigung der Diagnose erhielten alle Patienten unterschiedliche Mistelpräparate 2 – 3x wöchentlich SC und wurden alle 1 – 3 Monate ambulant kontrolliert. Zusätzlich zu der individualisierten Misteltherapie erhielten die Patienten noch sonstige anthroposophische Heilmittel und bei klinischer Notwendigkeit je nach Bedarf entweder Antibiotika (ATB), Chemotherapeutika (ChTh) oder Blutkonserven (BK). Die Patientin mit einer RAEB optierte im weiteren Verlauf für eine ausschliesslich auswärtige Therapie mit ablativer Chemotherapie und folgender Knochenmarktransplantation.

Die restlichen 4 Patienten wiesen unter der Mistelbehandlung eine ausgesprochene gute Lebensqualität auf, mit integralem Erhalt ihrer üblichen Lebensgewohnheiten. Die Therapie wurde von den Patienten nicht als einschränkender Faktor erlebt und sie gaben keine Nebenwirkungen von Seiten der anthroposophisch erweiterten Behandlung an. Die Verwendung von allopathischen Medikamenten, insbesondere die Transfusionsbedürftigkeit von Erythrozytenkonzentraten (EK), war eindeutig unter dem sonst erforderlichen Masse. Thrombozytenkonzentrate wurden nicht benötigt.

Die Überlebenszeit der 4 Patienten schneidet im Vergleich mit derjenigen der Weltliteratur durchgehend besser ab (Stand 9/99):

MDS- Untergruppe	Patient	Zusätzliche Therapien			Überlebenszeit		Differenz
		ATB	ChTh	BK	Weltliteratur	eigene Kasuistik	
RARS	W.W.	-	-	3 EK	1 – 5 J.	bisher 20 J.	bisher + 15 J.
RAEB-t	B.H.	-	-	-	< 1 J.	27 M.	+ 16 M.
	C.P.	-	-	6 EK		27 M.	+ 16 M.
sAML	B.H.	-	Litalir	13 EK	< 3 M.	9 M.	+ 6 M
	C.P.	ja	-	6 EK		bisher 7 M.	bisher + 4 M.
	W.W.P.	ja	-	-		14 M.	+ 11 M.

**Schlussfolgerungen:** Die klinische retrospektive Analyse dieser 4 Patienten mit MDS und sAML zeigt, dass die Misteltherapie eine verminderte Morbidität und eine verlängerte Überlebenszeit bei diesen Erkrankungen bewirken kann. Nebenwirkungen konnten mit dieser Behandlungsmodalität nicht nachgewiesen werden. Eine formale Kontraindikation der Misteltherapie bei MDS und sAML besteht somit nicht. Weiterführende prospektive Untersuchungen mit einem grösseren Patientenkollektiv sind jedoch dringend erforderlich.

Peter Andreas Böhringer  
 Facharzt für Hämatologie  
 Ita Wegman Klinik – CH 4144 Arlesheim

## **Hochdosierte Misteltherapie bei einem Patienten mit chronisch-lymphatischer Leukämie (B-CLL)**

Dr. H.B. von Laue, Onkologischer Schwerpunkt  
D-75223 Niefern-Öschelbronn

Bei einem Patienten (\*1920) mit B-CLL Rai-Stad.II (Erstdiagnose 2/96) trat 11/96 ein Pleuraerguß und Fieber (B-Symptomatik) auf. Statt empfohlener Chemotherapie erhielt der Patient nach Pleuradrainage 1/97 insgesamt 4 Pleurainstillationen mit zuletzt 5 Amp. ABNOBAviscum Fraxini-2 (5 x 20 mg Mistel mit 5 x ca. 8.000 ng Mistellektin/ml). Bis heute 10/99 ist die Pleura trocken, der Patient entwickelte keine B-Symptomatik mehr und überstand zwischenzeitlich zwei schwere Bypass-Operationen. Die B-CLL zeigt keinen Hinweis für Progredienz. Die sc. Viscumtherapie wird intervallweise fortgesetzt.

Die Fieberschübe wiesen vor der Misteltherapie einen circadekanen Rhythmus auf. Während der hochdosierten Viscumtherapie trat Fieber bis 39,0°C im Rhythmus der Instillationen auf, danach zeigte sich bei Normaltemperatur zunächst ein circaseptaner Temperaturrhythmus, der nach vier Wochen abklang. Der circadekane Rhythmus gilt als Krisen- und Krankheits-, der circaseptane dagegen als Heilungsrhythmus.

## Mistelextrakte bei lymphatischen Neoplasien

A. Büssing,<sup>1</sup> G. M. Stein,<sup>1</sup> C. Stumpf,<sup>2</sup> M. Schietzel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, <sup>2</sup>Tumor-Ambulanz, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke

Patienten mit Lymphomen und chronischen Leukämien werden meist zusätzlich nach einer konventionellen Therapie mit Mistelextrakten behandelt. Ziel ist es hierbei, zur Besserung der Lebensqualität, Verminderung der Rezidivrate sowie zur Verlängerung der Überlebenszeit beizutragen. Obschon einige Kasuistiken auf positive Wirkungen der Misteltherapie bei Patienten mit Lymphomen hinweisen, gibt es bisher keine Studien, die eine Bewertung der Wirksamkeit oder eines möglichen Risikos dieser Therapie erlauben würde. Aus diesem Grunde wurde zum einen die Stimulierbarkeit leukämischer B-Zellen *in vitro* untersucht (Büssing *et al.*, Anticancer Research 19, 1999), zum anderen die Entwicklung lymphozytärer Subpopulationen bei Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) bzw. chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) in Abhängigkeit von der subkutan applizierten Dosis von Mistelextrakten.

### 1. Proliferation und Zytotoxizität in kultivierten B-CLL-Zellen

In Anbetracht seiner Funktion als B-Zell-Wachstums- und -Differenzierungsfaktor lag es nahe, Interleukin-6 (IL-6) mit der Pathophysiologie verschiedener B-Zell-Tumoren in Verbindung zu bringen. Es wurde daher zunächst die *in vitro*-Stimulierbarkeit leukämischer B-Zellen von 13 Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie (B-CLL) und von B-Zellen 6 gesunder Probanden durch IL-6, Pokeweed-Mitogen (PWM), Lipopolysaccharid (LPS) und zwei wässrige Mistelextrakte (*Helixor P* und *Helixor A*: HP bzw. HA) näher untersucht. Nach 7 d Inkubation der Zellen mit HP und HA ließ sich sowohl in leukämischen B-Zellen als auch in normalen Lymphozyten eine dosisabhängige Reduktion der Viabilität nachweisen. In Anwesenheit von IL-6 war die Viabilität der leukämischen Zellen im Vergleich zur Medium-Kontrolle signifikant höher, zu einer Proliferationsantwort kam es jedoch nicht. Eine Proliferationsantwort ließ sich nur durch PWM nachweisen, wobei hier vornehmlich T-Zellen und nur einige B-Zell-Klone von 4 Patienten ansprachen (3x 1%, 1x 2% der B-Zellen). Lediglich ein Patient, der seit 12 Monaten HP s.c. appliziert bekam, zeigte eine Proliferationsantwort seiner B-Zellen auf IL-6 [1000 U/ml] und HP [100 µg/ml] hin; die B-Zellen exprimierten jedoch keine Aktivierungsmarker wie CD25 (niedrig affiner Interleukin-2-Rezeptor) oder CD71 (Transferrin-Rezeptor), was darauf hindeutet, daß die Mitose nicht vollständig durchlaufen wird. Nach Inkubation der Zellen mit HA, HP, IL-6, LPS und PWM wurden in den Kultur-Überständen ein signifikant höherer IL-6-Level nachgewiesen, wobei die Mistel-Extrakte hier deutlich weniger effektiv waren. IL-4 ließ sich spontan nicht nachweisen und war lediglich bei 3 von 13 Patienten durch PWM zu induzieren. Die experimentellen Hinweise einer eingeschränkten bzw. fehlenden Proliferationsantwort von B-CLL-Zellen leukämischer Patienten durch IL-6 oder Mistelextrakte trotz leichter IL-6-Freisetzung stellen keine Grundlage dar, die die theoretischen Überlegungen einer Stimulation leukämischer B-Zellen *via* IL-6 unterstützen könnten.

### 2. Verlauf lymphozytärer Subpopulationen bei Patienten mit NHL/CLL

Von den Lymphom-Patienten, die sich in den letzten Jahren in der Tumorambulanz des Gemeinschaftskrankenhauses Herdecke zur Beratung vorgestellt hatten, konnten 31 Patienten (14 weiblich und

17 männlich;  $61 \pm 10$  Jahre) mit hämatologischen Neoplasien (26x niedrig malignes NHL, 3x hochmalignes NHL, je ein Morbus Hodgkin und Plasmozytom) einbezogen werden werden, die der Therapieempfehlung nachgekommen sind und bei denen mindestens drei Lymphozyten-Differenzierungen während des Therapieverlaufes vorlagen. Die mittlere Behandlungszeit der hier einbezogenen Patienten seit Diagnosestellung beträgt  $5,3 \pm 3,0$  Jahre (Range: 1 - 13), wobei Misteltherapie durchschnittlich 1,7 Jahre nach Dignosestellung begonnen wurde. Die Initialtherapie war überwiegend Chemotherapie und/oder Radiatio. Vier der 31 Patienten haben die Therapie abgebrochen und drei Patienten sind zwischenzeitlich verstorben. Zehn Patienten wurden während der Misteltherapie zusätzlich mit Chemotherapie und/oder Radiatio behandelt. In 16 Fällen war der Krankheitsverlauf progredient, wobei in 9 Fällen auch schon vor der Misteltherapie Rezidive auftraten. In 15 Fällen bestand zum Zeitpunkt der Untersuchung Beschwerdefreiheit, wobei in 9 Fällen der Beobachtungszeitraum noch zu kurz ist, um den Verlauf letztendlich bewerten zu können.

Im Therapieverlauf kam es bei 9 Patienten zu einer deutlichen dosisabhängigen Vermehrung von T- und/oder NK-Zellen, wie es auch bei Patienten mit soliden Tumoren als Reaktion auf das Antigen „Mistel“ zu beobachten ist. In 3 Fällen kam es zum passageren Abfall der T- oder NK-Zellen. Zum Beginn der Misteltherapie konnte bei 5 Patienten mit leukämischem Verlauf eine dosisabhängige Steigerung der B-Zellen nachgewiesen werden. Dieses Phänomen war entweder durch weitere Dosissteigerung oder unter zusätzlicher Chemotherapie reversibel. Vier der Patienten sind auch mehrere Jahre nach einer initialen Vermehrung beschwerdefrei, ein Patient mit niedrigmalignem NHL im Stadium III hat einen progredienten Verlauf und ein Patient mit niedrig malignem NHL im Stadium III und mehrfachen Rezidiven (auch schon vor der Misteltherapie) ist trotz Chemotherapie und Radiatio verstorben. Bei zwei weiteren Patienten mit B-CLL war eine mögliche initiale Vermehrung der leukämischen Zellen bei bereits laufender Misteltherapie wegen fehlender Vorwerte nicht auszuschließen; im Therapieverlauf zeigten sich jedoch in beiden Fällen eine Reduktion der Zellzahl und Beschwerdefreiheit. Auch bei den übrigen nicht-leukämischen NHL fand sich kein Beleg für eine Misteltherapie-induzierte Progredienz der Grunderkrankung. Die individuelle Dauer der Behandlung seit Diagnosestellung entspricht zudem der in der Literatur beschriebenen mittleren Überlebenszeit. Bei 8 weiteren Patienten mit B-CLL, die ausschließlich eine Misteltherapie erhalten hatten, bei denen aber keine Lymphozyten-Differenzierung vorlag, konnte anhand der individuellen Behandlungszeit bestätigt werden, daß die Patienten einen der mittleren Lebenserwartung entsprechenden Verlauf haben, somit kein Anhalt für eine Beeinträchtigung der Überlebenszeit durch die Misteltherapie besteht. Ein generelles Risiko eines Enhancement der Grunderkrankung durch eine Misteltherapie konnte nicht verifiziert werden, wobei ein solches Risiko im Einzelfall aus methodologischen Gründen nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

## Retrospektive Analyse über 16 Jahre bei malignen hämatologischen und lymphatischen Erkrankungen

C. Stumpf,<sup>1</sup> A. Rosenberger,<sup>2</sup> S. Rieger,<sup>3</sup> W. Tröger,<sup>3</sup> Schietzel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tumor-Ambulanz, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, <sup>2</sup>Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Universität Tübingen, <sup>3</sup>Helixor Heilmittel, Rosenfeld.

Um die Unbedenklichkeit der Therapie mit Mistelextrakten bei malignen hämatologischen und lymphatischen Erkrankungen zu belegen, wurde in einer retrospektiven Untersuchung die Überlebenszeit der Patienten, die seit Bestehen der Tumorambulanz im Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke beraten und/oder behandelt worden waren, anhand eines Fragebogens untersucht. Von insgesamt 700 angeschriebenen Patienten wurden 280 Fragebögen zurückgeschickt. 79% der Patienten, bei denen Angaben bezüglich einer Misteltherapie gemacht wurden, haben diese auch tatsächlich durchgeführt. Von 213 Patienten lagen Angaben über Misteltherapie und zusätzliche Therapiemassnahmen vor. Von diesen erhielten 82% eine Chemotherapie, eine 53% Strahlentherapie und 43% eine operative Behandlung. Zwischen den Patientengruppen mit und ohne Mistelbehandlung gab es hinsichtlich der konventionellen Therapiemassnahmen keine Unterschiede. Die Befindlichkeit der Patienten unter der Misteltherapie wurde von 78% als gut bezeichnet.

Die Verteilung der Diagnosen im Gesamtkollektiv der Patienten zeigte, daß die beiden häufigsten Diagnosen niedrig maligne Non-Hodgkin-Lymphome (24%) und der Morbus Hodgkin (23%) waren. Die Überlebenszeit wurde durch zwei Modellansätze geschätzt: die Parameter-freie Methode nach Kaplan-Meier und das parametrische Modell der Cox-Regression (proportional Hazard-Regression). Insgesamt lagen bei 237 Patienten genügend Informationen zur Überlebenszeit-Analyse vor. Die mediane Überlebenszeit aller Patienten mit Misteltherapie betrug 9,18 Jahre gegenüber 7,54 Jahren bei den Patienten, die nachweislich keine Misteltherapie erhalten hatten. Der Unterschied von 1,64 Jahren ist mit  $p=0,018$  im proportionalen Hazard-Modell signifikant. Innerhalb der Misteltherapie-Gruppe gab es 62 Patienten, die ausschließlich eine Behandlung mit Mistelextrakten und keine weiteren Therapien erhalten hatten. Die Überlebenszeit dieser Patienten war jedoch nicht länger als die der Patienten ohne Misteltherapie (Median: 7,82 Jahre *versus* 7,54 Jahre).

Berechnet man die Überlebenszeit getrennt nach verschiedenen histologischen Untergruppen, so ergeben sich aufgrund der zu kleinen Patientenzahlen in den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Für die häufigsten Gruppen (Morbus Hodgkin und niedrig malignes Non-Hodgkin-Lymphom) ergeben sich für die Patienten, die eine Misteltherapie erhalten hatten eine längere Überlebenszeit. Für Morbus Hodgkin 13,68 *versus* 7,54 Jahre und für das niedrig maligne Non-Hodgkin-Lymphom 8,15 *versus* 2,98 Jahre. Die Aussagekraft auch dieser Ergebnisse relativiert sich dadurch, dass die Gruppe der Patienten, die keine Mistelextrakttherapie erhalten hatten, zu klein war. Es wurde von daher bei diesen beiden größeren Diagnosegruppen ein Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur durchgeführt. Die Ergebnisse der Überlebenszeiten waren nahezu identisch. Somit konnte gezeigt werden, daß die Therapie mit Mistelextrakten bei Patienten mit malignen hämatologischen und lymphatischen Erkrankungen nicht zur kürzeren Überlebenszeiten geführt hat. Ob die Kombination der konventionellen Therapiemassnahmen mit einer Misteltherapie tatsächlich zu deutlich besseren Ergebnissen als bei ausschließlich konventionell behandelten Patienten führt, sollte in einer prospektiven Studie geprüft werden.

Klinische Anwendung und Prüfung

Kasuistiken und andere Erfahrungsberichte

## **Abstract**

Vergleich der Zusammensetzung der immunkompetenten Zellen im malignen Pleuraerguß und im peripheren Blut von Krebspatienten und deren Veränderungen unter Misteltherapie

M. Schink<sup>1</sup>, M. Borowski<sup>1</sup>, A. Rosenberger<sup>2</sup>, A. Goyert<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Verein Filderklinik e.V., Forschungsabteilung, Filderstadt, <sup>2</sup>Institut für medizinische Informationsverarbeitung, Universität Tübingen, <sup>3</sup>Gemeinnütziges Gemeinschaftskrankenhaus Filderklinik, Innere Abteilung, Filderstadt

Bei der Misteltherapie des malignen Pleuraergusses soll das Krebsgeschehen lokal und direkt beeinflusst werden. Sie bietet daher u.a. die Möglichkeit, den unmittelbaren antitumoralen Benefit einer mistelinduzierten Immunmodulation zu überprüfen. Voraussetzung hierfür ist jedoch die Kenntnis der immunologischen Wechselwirkungen zwischen dem malignen Erguß und dem zentralen Immunzellpool des peripheren Blutes. Wir haben daher die Zusammensetzung der Lymphozyten-Subpopulationen von Krebspatienten in Blut und Pleuraerguß zeitlich parallel vor und während konsekutiver intrapleuraler Mistelinstillationen vergleichend analysiert. Zu Therapiebeginn traten signifikante Unterschiede zwischen Blut und Erguß bezüglich des Anteils der T-Lymphozyten und NK-Zellen auf. Darüberhinaus fanden sich zwischen den Patienten in beiden Kompartments große interindividuelle Unterschiede in der Zusammensetzung aller Lymphozyten-Subsets. Eine Korrelationsprüfung der Wertepaare in beiden Kompartments ergab jedoch nur geringe bis mäßige Zusammenhänge, so daß individuell spezifische Abläufe des Entzündungsgeschehens zu postulieren sind, die zu unterschiedlichen, von den Verhältnissen im Blut primär weitgehend unabhängigen zellulären Rekrutierungsmustern führten. Im Verlauf der intrapleuralen Mistelbehandlung der Patienten traten in der zellulären Zusammensetzung der rezidivierenden Pleuraergüssen Veränderungen auf, die bei den meisten Lymphozyten-Subpopulationen statistisch signifikant von den parallelen Variationen im peripheren Blut abwichen. Die Korrelationsprüfung der Veränderungen von Messung zu Messung ergab nur Koeffizienten von  $\pm 0,1$ , so daß davon ausgegangen werden kann, daß praktisch keine statistisch fassbaren Zusammenhänge zwischen den Kompartments im Verlauf der lokalen Misteltherapie bestanden haben. Somit dürften durch die intrapleurale Applikation der Mistelextrakte möglicherweise induzierte systemische immunologische Veränderungen keine wesentliche Bedeutung für die Verhältnisse im Pleuraspalt gehabt haben. Ferner wird nahegelegt, daß von immunologischen Veränderungen im peripheren Blut nicht grundsätzlich auf entsprechende Effekte in anderen Körperregionen geschlossen werden kann.

## Erfahrungen mit der Isorel/Vysorel-Mistelinfusionstherapie.

Seit ca. 1982 werden Infusionstherapien mit dem Mistelgesamtextrakt Isorel(A)/Vysorel(D) bei Patienten mit generalisierten, ausgedehnten Krebserkrankungen durchgeführt.

Die praktische Vorgehensweise richtet sich meistens nach einer bewährten Therapierichtlinie von Dr. P. Wolf in Hannover, mit an- und absteigenden Dosierungen.

Diese Therapie ist durch eine außerordentlich gute Verträglichkeit gekennzeichnet. Das Nebenwirkungsspektrum reicht von leichten Schwindelgefühlen nach der Infusion, die häufig bei höheren Dosierungen auftreten, bis zu sehr seltenen, therapeutisch leicht zu handhabenden, urticariellen Exanthenen oder geringen Schwellungen der Schleimhäute der oberen Luftwege. Auf das Gesamt der Mistelinfusionen gibt es 2 Promille Unverträglichkeitsreaktionen.

Schwerwiegende anaphylaktische Reaktionen wurden bis dato nicht gemeldet, sind aber selbstverständlich prinzipiell möglich.

Toxische Veränderungen der Hämatopoese oder anderer Organsysteme sind selbst bei monatelanger oder jahrelanger Anwendung nicht bekannt. Mit den hohen Dosierungen (z.B. 20-30 Amp. der Stärke 60) befindet man sich noch weit unter der geprüften LD 50 für die verschiedenen wirtsbaumabhängigen Isorel-/Vysorelpräparationen.

Die Wirkungen am Patienten sind, abgesehen von den Lokalreaktionen, sehr ähnlich den Wirkungen der subcutanen Anwendung, aber mit bestimmten Akzentuierungen.

So ist der allgemein robrierende Effekt meist stärker und setzt rascher ein.

Der analgetische Effekt kann sehr stark sein, so daß sehr lange auf den Einsatz morphinhaltiger Analgetika verzichtet werden kann. Dies dient sehr der bewußten Bewältigung und Entwicklung des Patienten in der präterminalen und terminalen Phase der Erkrankung.

Aus der Erfahrung und den dokumentierten Kasuistiken scheint bei Teil- oder Totalremissionen die Wirkung besonders zu den ossären Metastasen gerichtet zu sein. Gute Erfahrungen gibt es auch bei Malignomen des ZNS und deren Häuten.

Aus der onkologischen Schwerpunktpraxis Dr. Wolf/Dr. Konitzer, wo seit ca. 15 Jahren Erfahrungen mit der Isorel/Vysorel Mistelinfusionstherapie vorliegen, wird im Herbst eine retrospektive Studie zu Mammakarzinomkrankungen publiziert.

Über einen Beobachtungszeitraum von 10 Jahren wurden 225 Patientinnen eingeschlossen. Unter Berücksichtigung der methodologischen Probleme zeigt sich in einem bestimmten Kollektiv eine eindeutige Verlängerung der Überlebenszeit, verglichen mit einem konventionell behandelten Kollektiv. Mehr als 2/3 der Patientinnen erfreuten sich eines zufriedenstellenden Allgemeinzustandes (Kanovsky 6-10). Der Analgetikaverbrauch betrug weniger als 1/3 vergleichbarer Kollektive.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß man mit der Isorel-/Vysorelinfusionstherapie eine gute therapeutische Option besitzt. Wegen der relativ leichten Handhabbarkeit ist diese Therapieform auch außerhalb klinischer Zentren gut durchführbar.

Zu wünschen wäre, daß diese Therapie durch eine entsprechend fundierte natur- und geisteswissenschaftliche Forschung aufgegriffen wird, um differenziert - zum Wohle des Patienten - weiterentwickelt zu werden.

Dr. Mario Mayrhofer, Paracelsus Therapeuticon in der Privatklinik Maria Hilf, Klagenfurt

## Klinische Beobachtungen zur Hochdosis-Fiebertherapie mit ABNOBAviscum®

Eine hochdosierte Misteltherapie wurde bisher hauptsächlich als intraläsionale (intratumorale), intrakavitäre (Pleura- und Bauchraum) und intravenöse (Infusions-) Therapie angewandt. Vereinzelt Tumorrückgänge und Pleurodesen wurden dabei beschrieben.

Hohe Dosierungen als subkutane Injektionen finden erst seit wenigen Jahren vermehrt klinische Anwendung. Fast regelmäßig tritt während einer Erstbehandlung mit Mistelpräparaten (ABNOBAviscum®, Verdünnungsstufe 2 [=15mg Preßsaft aus 20mg Mistel/ml]) bei den ersten 2-3 Injektionen Fieber bis und über 39°C auf, das aber während der weiteren Injektionen bei gleicher Dosierung immer geringer ausfällt und schließlich ausbleibt. Die Frage taucht dabei auf, inwieweit dem Fieber selbst therapeutische Relevanz zukommt. In welcher Form treten innerhalb gewisser Funktionsgrößen des Organismus Veränderungen durch das Fieber auf, die auf eine positive Entwicklung des Krankheitsverlaufs hindeuten könnten?

In der Klinik Öschelbronn wurden bisher mehr als 10 Patienten mit hochdosierten, subkutan verabreichten Mistelpräparaten behandelt und ausführlich dokumentiert. Nach einer Phase der hochdosierten Gabe (Einzelgaben bis zu 3 Ampullen ABNOBAviscum® 2, 1-4 Wochen lang, 1-2x/Woche) wurde die Therapie mit niedriger dosierten Mistelgaben fortgesetzt.

Währenddessen erfolgten verschiedene parallellaufende Untersuchungen (3-4 Wochen lang und ca. 2 Monate später), die folgende Funktionsgrößen des Organismus erfaßten: Temperaturhöhe und circadiane Temperaturrehythmik, morgendliche Atemfrequenz, morgendliche Herzfrequenz und morgendlicher Puls-/Atem-Quotient. Dazu wurde täglich die Befindlichkeit dokumentiert.

Infolge der subkutan verabreichten hochdosierten Mistelapplikation traten bei der Mehrzahl der Patienten Fieber bis 39°C und mehr auf. Im Zuge dieses Auftretens erfuhren die erwähnten Funktionsgrößen Veränderungen innerhalb einiger Tage nach dem Fieber, die - wenn vorher Abweichungen vorlagen - sich deutlich den bekannten Normalwerten bei Gesunden annäherten. Dazu gehören: Die Rhythmisierung der Kerntemperatur im Sinne eines circadianen Oszillierens um 37°C, das Auftreten eines Puls-/Atem-Quotienten von 4:1 bzw. die Annäherung an diesen (im Zuge einer Erhöhung der Atemfrequenz), die einhergehende Befindlichkeitsbesserung.

Die in kürzer Zeit nach der Fieberinduktion durch ABNOBAviscum® aufgetretenen Änderungen von Funktionsgrößen des Organismus bei Krebspatienten deuten darauf hin, daß dem Fieber selbst eine therapeutische Relevanz zukommt. Dies wird dadurch erhärtet, daß bei Patienten, die während einer Hochdosistherapie kein Fieber entwickelten, die erwähnten Veränderungen nicht auftraten. Die letztliche Bedeutung des mistelinduzierten Fiebers wird sich erst durch langfristige Untersuchungen der in dieser Weise therapierten Patienten herausstellen.

Dr. med. Reiner Penter  
Klinik Öschelbronn  
Carl Gustav Carus-Institut  
Am Eichhof  
75223 Niefern-Öschelbronn

## Zur Stellung der Misteltherapie im Integrativen Konzept in der Onkologie

Die Misteltherapie ist eine vor allem von Patientenseite häufig gewünschte komplementäre Therapiemaßnahme, die als Ergänzung zur onkologischen Standardtherapie eingesetzt wird. Ihr Nutzen für den Patienten besteht vor allem in einer Verbesserung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität, basierend wohl u. a. auf einer mit der Applikation von Mistellektin 1 (ML-1) korrelierenden Freisetzung von beta-Endorphin, einer Kompensation von Nebenwirkungen und einer Aktivierung der körpereigenen Immunabwehr (z.B. NK-Zellen, CD-25-Marker).

In der therapeutischen Praxis begegnet man sehr häufig einer zwar psychologisch nachvollziehbaren, medizinisch aber nicht begründbaren Polypragmasie. Gerade im Bereich der supportiven Therapiemaßnahmen, bei denen es sich zu einem erheblichen Teil um Immuntherapien handelt, kann auch eine Überstimulation und nachfolgend eine – gerade nicht gewünschte – Immunsuppression verursacht werden. Außerdem sollte, soweit möglich, eine Differenzierung des Patientenguts in Responder und Non-Responder stattfinden.

Im „Integrativen Konzept in der Onkologie“ (IKO) sind prüffähige oder geprüfte biologische Zusatztherapien mit den konventionellen Therapiemaßnahmen sinnvoll verschränkt und aufeinander abgestimmt. Damit können Synergismen gefördert und gegenseitige Kompensationen vermieden werden. Auf der Basis einer Immundiagnostik werden Therapieentscheidungen getroffen.

Ein solches Konzept bietet eine ganze Reihe von Vorteilen: aktive Tumornachsorge statt passiver Überwachung, eine höhere Lebensqualität für den Krebspatienten, Unterstützung der körpereigenen Tumorabwehr, eine deutliche Reduktion von Nebenwirkungen, bessere Compliance und damit auch höhere Therapieeffizienz, damit verbunden nicht zuletzt eine Kostenersparnis im Gesundheitswesen durch Vermeidung von Therapieabbrüchen und iatrogenen Infektionen, frühere Wiedereingliederung in das gewohnte soziale Umfeld etc.

Ein unkontrollierter Arztwechsel kann damit ebenso vermieden werden wie die - heute oft gegebene - Situation, daß der Patient ohne Wissen seines Arztes weitere Therapiemaßnahmen durchführen läßt, die mit der vorgegebenen Therapie nicht abgestimmt sind und unter Umständen deren Erfolg gefährden können.

Im Rahmen des Referats werden die Grundzüge und die weiteren Komponenten des Integrativen Konzepts dargelegt, der Stellenwert der Misteltherapie in diesem System besprochen und die klinischen Erfahrungen sowie die entsprechenden klinischen Prüfungen diskutiert.

Referent Dr. Günther Stoll  
Wiesenstr. 98  
70794 Stuttgart

Dienstadresse biosyn Arzneimittel GmbH  
Schorndorfer Str. 32  
70734 Fellbach

E-Mail Guenther\_Stoll@biosyn.de

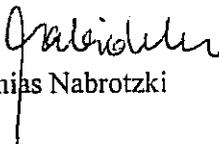
## Intratumorale Mistelbehandlung eines Duodenocarcinom-Rezidivs

Ein dazumal 59-jähriger Patient stellte sich 11/97 erstmalig mit lokalem Rezidiv eines Duodenum-Carcinoms, welches 4/96 mittels Whipple' OP und Hemicolektomie re. erstbehandelt wurde (Tumor-ausgangsstadium pT<sub>3</sub>, M<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>), in unserer Gemeinschaftspraxis vor. Der Rezidivtumor des Oberbauchs hatte einen maximalen Durchmesser von 8 cm und war sonographisch gut abgrenzbar. Zudem bestand der Verdacht auf eine Nierenmetastasierung re.

Von 11/97-1/98 erfolgte eine intratumorale Mistelapplikation mit ansteigender Dosierung von Abnobaviscum Quercus. Hierunter ist es zu einer Größenabnahme des Tumors gekommen, der bereits Mitte 1/98 sonographisch nicht mehr deutlich nachweisbar war, auch computertomographisch konnte sowohl Ende 1/98 als auch 6/98 kein Tumor mehr nachgewiesen werden. Die letzte CT-Untersuchung des Abdomens erfolgte 7/99 und ergab keinen Rezidivhinweis. Der Nierentumor re. stellte sich in der Größe unverändert dar.

Nach Beendigung der intratumoralen Mistelbehandlung wurde auf die herkömmliche subcutane Applikation übergegangen und bis jetzt fortgeführt.

Öschelbrönn, den 24.09.1999



Matthias Nabrotzki

# **Eine multidimensionale Erfassung von Tumorverlauf, immunologischen Parametern, vegetativen und konstitutionellen Merkmalen und Lebensqualität bei einer Mammakarzinom Patientin unter *Abnoba viscum*.**

M. Kröz, M. Girke, D. Brauer, B. Matthes  
Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe, Berlin

## **Abstract:**

### **Einleitung**

Die Frage, inwieweit Krebs neben einem Lokalgeschehen auch eine Systemerkrankung ist, gewinnt in den letzten Jahren durch chronobiologische und Lebensqualitätsforschung wieder an Bedeutung. Aus anthroposophischer Sicht ist eine Anwendungsbeobachtung von *Viscum album*, die neben der physisch-funktionellen Dimension auch seelisch-geistige Aspekte berücksichtigt, von besonderem Interesse. Uns interessiert daher im Rahmen dieser Einzelfalldokumentationen, wie wirkt sich eine intra- bzw. peritumorale Misteltherapie neben klinischen Merkmalen, Tumorgöße, -marker und immunologischen Parametern auf vegetative Kenngrößen, konstitutionelle Merkmale und Lebensqualität (LQ) aus?

### **Methode**

Der Verlauf einer bei Aufnahme (12/97) 80-jährigen Patientin wird über 14 Monate verfolgt. Sie weist ein metastasierendes Mammakarzinom im Stadium T3/N1/M1 auf, mit initial bestehenden bilateralen Pleuraergüssen, einer Lymphangiosis carcinomatosa und ossären Metastasen. Es wird eine *Abnoba visc. mali*, später *Abnoba visc. fraxini* und *pini* Therapie subcutan, intra- bzw. peritumoral und bei Bedarf inhalativ begonnen. Dabei wird bis max. 5 Amp. der Stärke 2 (ca. 53500 ng Mistel-Lektin (ML), ca. 45000 ML-1) peritumoral stimuliert. Begleitend erhält die Patientin monatlich 90 mg Pamitronsäure (*Aredia*<sup>®</sup>), eine zuvor durchgeführte Tamoxifentherapie wird abgesetzt. Die Patientin wurde nicht operiert, erhielt weder Chemo- noch Radiatiotherapie. Monatlich werden erfasst: Sonographisch gemessene Tumorgöße, Ca 15-3, eosinophile Granulozyten, eosinophiles kationisches Protein (ECP), Mistellektin-1 Antikörper (ML-1 Ak), Körperfülle-Index (BMI).

In dreimonatigen Abständen wird gemessen: Quotient aus Puls- und Atemfrequenz (Q P/A) aus einer 24-h LZ-EKG Aufzeichnung, die Lebensqualität (LQ) mittels des Herdecker Lebensqualitätsfragebogens (HLQ), Karnofsky-Index.

### **Ergebnisse**

Unter Mistelstimulation kommt es zu einer Eosinophilie. Hierunter fällt das Ca 15-3 und in der Folge halbiert sich das Tumolvolumen. Zeitlich versetzt steigen v.a. ML-1 IgG 1 und 3 an, hierunter fällt das Ca 15-3 ein zweites Mal

ab. Der Tumor und das peritumorale Gewebe werden zunehmend fibrotisch. Klinisch stabilisiert sich die Patientin, die ossären und neuralgiformen Schmerzen verschwinden, die Pleuraergüsse bilden sich ohne Pleurapunktion zurück, die Lymphangiosis nimmt nach radiologischen Kriterien ab.

Die Lebensqualität nimmt zu; das zeigt sich im Ansteigen des Karnofsky-Index von 50 auf 80% und einer signifikanten Zunahme der Lebensqualität im HLQ. Der Q P/A liegt deutlich unter 4. Die Körperfülle, die vor Erkrankung 85 kg auf 1,65 m (BMI = 32 kg/m<sup>2</sup>), bei Aufnahme 59 kg betrug, fällt unter Therapie bis 3/98 auf 55,5 kg ab, um dann bis auf 68,5 kg bis 2/99 anzusteigen.

### **Diskussion**

Wenn inkomplette Remissionen unter Misteltherapie beschrieben wurden, so war dies, wie in unserem Fall, vor allem unter intra- bzw. peritumoraler Applikationsform. Dieser Fall verdeutlicht, wie eine lokalbetonte *Viscum*therapie zunächst eine Bluteosinophilie auslöst, die eine inverse Beziehung zum Tumormarker Ca 15-3 und später zum Tumolvolumen aufweist. Es werden aber auch Auswirkungen auf den Gesamtorganismus bei einem metastasierenden Tumorleiden unter begleitender Pamitronsäuretherapie gezeigt. Zunächst verbessert sich die ärztlich beobachtete LQ anhand des Karnofsky-Index, sodann auch die LQ-Selbsteinschätzung anhand des HLQ. Interessanterweise zeigt sich dies in einer Steigerung der Persönlichkeitspräsenz, der seelischen Verfassung und der Vitalität, später auch in der Verbesserung der körperlichen Verfassung. Mit Verzögerung bilden sich auch in den gemessenen Parametern des funktionellen Systems und der Physis die Heilungstendenzen ab. Schließlich nähert sich die Körperfülle um über 10 kg dem Ausgangsgewicht vor Beginn der Erkrankung an.

Somit zeigen sich Gesundungstendenzen, die sich zunächst als Lokalreaktion, später als Befindlichkeitsverbesserung und verbesserte Vitalität und zum Schluß als Körpergewichtsnormalisierung äußern. Es kann daher von einer über das Lokalgeschehen hinausgehenden Mammakarzinom-Erkrankung gesprochen werden, die durch Mistel- und Pamitronsäuretherapie in eine inkomplette Remission gebracht wurde.

Solche Einzelfallergebnisse sollten in Studien überprüft werden, einige der angewandten Verlaufsparemeter bedürfen weiterer Validierung. Zur Wirksamkeitsuntersuchung von *Viscum album* interessieren zukünftig neben Lymphozytensubpopulationsuntersuchungen und Bluteosinophilie, insbesondere auch immunhistochemische, intra- und peritumorale Untersuchungen dieser Zellreihen.

Die Patientin lebt noch 22 Monate nach Erstdiagnose.

Referat von Dr. med. Johannes Gutsch, Arzt für Innere Medizin- internistische Onkologie und Hämatologie, Wittener Str. 41, 58285 GEVELSBERG

**Titel: Außergewöhnlicher Krankheitsverlauf bei metastasierendem Mammacarcinom unter Misteltherapie nach pseudoallergischer Reaktion.**

Februar 94 kommt 54 jährige Patientin mit Mammakarzinom, ED 10/86, mit Skelettmetastasen, ED 7/93, mit Haut- und multipler Lungenmetastasierung. Zytostatische, hormonelle und sc. Misteltherapie werden ausgereizt. Als ultima Ratio wird zur Aktivierung der Reaktionskräfte des Organismus 6/95 eine aktive Fiebertherapie mit Iscador per Infusionem begonnen. Hierunter kommt es zu einer allergischen Reaktion mit Urtikaria, Schwellung der Schleimhäute im Gesicht, den Konjunktiven, Lippen und Dyspnoe. Anschließend wird Helixor M wegen großer Lokalreaktion auf 0, 5 mg reduziert und innerhalb eines Jahres langsam auf 10 mg gesteigert. Wegen einer Pleuraergußbildung bds. bei Lymphangiosis carcinomatosa muß ca. 20 x punktiert werden. Im August 96 wird erfolgreich eine Pleurodese mit Iscador M 50 mg durchgeführt. Erneut tritt eine allergische Sofortreaktion mit Dyspnoe, Tachykardie und in den folgenden Stunden mit Temperaturen bis 39, 2 °C auf.

Unter gleichzeitiger Bewältigung der Angst, einer Biographiearbeit, Heileurythmie, Malthherapie und Ausbildung neuer Lebensentwürfe kommt es zur Ausbildung eines stabilen Allgemeinzustands und Stillstand der diffusen Lungenmetastasierung seit inzwischen 4 1/4 Jahren.

Der Verlauf wird mittels Temperaturkurven, Mistellektin 1 Antikörpern, Verlauf des Tumormarker CA 15/3, der Leukozyten und der Lebensqualität dokumentiert.

# Klinische Anwendung und Prüfung

Klinische Prüfungen  
Anwendungsbeobachtungen

## Immunologische Reaktivität von Patienten mit Mistel-Nebenwirkungen

Gerburg M. Stein<sup>1</sup> und Peter A. Berg<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Krebsforschung Herdecke, Universität Witten/Herdecke, Gemeinschaftskrankenhaus, Gerhard-Kienle-Weg 4, 58313 Herdecke, <sup>2</sup>Medizinische Klinik, Universität Tübingen, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen

Verstärkte Lokalreaktionen sind die häufigsten sogenannten unerwünschten Arzneimittel-Wirkungen (UAW) von Mistelextrakten, die zur adjuvanten Therapie von Tumorerkrankungen verwendet werden. Darüber hinaus können kleine Knötchen an der Injektionsstelle, Grippe-ähnliche Symptome, Rhinitis, Urtikaria oder leichtes Fieber auftreten. In der Literatur konnte auch eine anaphylaktische Reaktion eindeutig einer Misteltherapie zugeordnet werden. Ziel unserer Untersuchungen war die Analyse immunologischer Reaktionen von Patienten mit einer UAW während der Therapie mit wässrigen Mistelextrakten (*Helixor*). 34 Patienten, bei denen ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der UAW und der Misteltherapie bestand (Gruppe 1), 9 Patienten, bei denen dieser Zusammenhang sehr unwahrscheinlich war und 14 Tumorpatienten, die länger als 2 Jahre therapiert wurden und keine UAW zeigten (Gruppe 3) wurden *in vitro* untersucht.

Periphere mononukleäre Blutzellen (PBMC) der Patienten der Gruppe 1 zeigten eine signifikant stärkere Mistelextrakt-induzierte Proliferation (<sup>3</sup>H-Thymidineinbau) verglichen mit der Proliferation der PBMC der beiden anderen Gruppen. Dabei war bei Patienten mit lokalen Reaktionen die zelluläre Reaktion *in vitro* signifikant stärker ausgeprägt als bei Patienten mit systemischen Reaktionen, bei denen die B-Zell-Reaktion (anti-ML-1 Antikörper (ELISA); nicht signifikant) erhöht war. Relevante Unterschiede in der Produktion von anti-ML-1 Antikörpern ließen sich nur für die anti-ML-1 Antikörper vom IgE Typ nachweisen: Patienten der Gruppe 1 zeigten eine signifikante Produktion dieser IgE-Antikörper, während Patienten unter der Therapie mit *Helixor* normalerweise keine Antikörper vom IgE-Typ bilden. Diese Antikörper waren unabhängig von der Art der UAW. Ein einheitliches Th1/Th2 Zytokin-Muster in den Überständen der Mistel-aktivierten Lymphozyten (ELISA) war nicht nachzuweisen. Re-exposition von Patienten mit dem jeweiligen Mistelextrakt in niedriger Dosierung führte bei einigen Patienten zu einem erneuten Auftreten der UAW, während sie bei anderen unterblieb.

Aus den Untersuchungen kann geschlossen werden, dass eine verstärkte Lymphozyten-Sensibilisierung für die starken lokalen Reaktionen im Sinne einer DTH-Reaktion (delayed type hypersensitivity) verantwortlich war. Für die systemischen UAW müssen darüber hinaus weitere Reaktionen verantwortlich sein wie die Bildung von Anaphylatoxinen, Zytokinen (IL-6) oder Immunkomplexen. An diesen Reaktionen können unterschiedliche Epitope von Mistelantigenen beteiligt sein.

# Immunologische Reaktion von Mamma- und Colon-Carcinom-Patientinnen innerhalb der ersten 6 Monate der Mistelbehandlung

Sonja Fischer, Karen Claßen, Reinhild Klein, Rainer Scheer, Gerburg Stein und Peter A. Berg

**Fragestellung:** Mit der vorliegenden Anwendungsbeobachtung wurde die immunologische Reaktion von Tumorentitäten zwei verschiedener Tumorentitäten untersucht. Die Bildung von anti-Mistellektin-I-Antikörper und die Zytokinausschüttung Ficoll-Hypaque gereinigter peripherer Lymphozyten, nach in vitro-Stimulation mit dem therapeutisch eingesetzten wäßrigen Mistelextrakt, wurden mit der Klinik verglichen. Es stellte sich die Frage, ob eine mögliche TH1- oder TH2-Antwort eine für die Patienten positive oder negative Auswirkung in der Klinik hat.

**Material und Methoden:** Es wurde die immunologische Reaktion bei sieben Mamma-Carcinom-Patientinnen und vier Colon-Carcinom-Patientinnen untersucht. Die Patientinnen erhielten 3 mal wöchentlich subcutane Injektionen eines wäßrigen Auszugs der Mistel vom Apfelbaum (ABNOB A viscum Mali). Es wurden folgende Parameter zu den Zeitpunkten vor Behandlung, nach 3-6 Wochen, nach 9-12 Wochen und nach 18-27 Wochen untersucht: Anzahl der Eosinophilen, der Lymphozyten und der Monozyten, die anti-Mistellektin-I-Antikörper IgG, IgA, IgM und IgE, sowie deren IgG Subklassenantikörper. Außerdem wurde zu den genannten Zeiträumen die Zytokinausschüttung Ficoll-Hypaque gereinigter peripherer Lymphozyten nach in vitro-Stimulation mit dem Mistelextrakt gemessen. Der Verlauf der Zytokinausschüttung der Zytokine INF- $\gamma$ , IL-5, IL-10, IL-6 und TNF- $\alpha$  wurde bestimmt. Alle Patientinnen wurden klinisch bis zu 3 Jahren nachbeobachtet.

**Ergebnisse und Diskussion:** Lymphozyten von allen Patientinnen sezernierten nach in vitro-Stimulation mit dem wäßrigen Mistelextrakt IL-5, bei keiner der Patientinnen war aber eine Eosinophilie im peripheren Blut zu beobachten. Fünf der sieben Mamma-Carcinom-Patientinnen bildeten IgG- und IgG<sub>1</sub>- und vereinzelt IgG<sub>3</sub>- und IgG<sub>4</sub>-Antikörper gegen Mistellektin-I, bei zwei Patientinnen wurden keine derartigen Antikörper induziert. IL-10, INF- $\gamma$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  wurden individuell unterschiedlich sezerniert.

Eine Mamma-Carcinom-Patientin und eine Colon-Carcinom-Patientin zeigten eine starke Progredienz der Krankheit. Diese Patientinnen hatten bereits vor Beginn der Mistelbehandlung Metastasen. Anhand der untersuchten Parameter zeigten diese Patientinnen kein auffälliges Verhalten.

Bei allen vier Colon-Carcinom-Patientinnen war der IL-5-Spiegel (TH2-relevant) höher als der des TH1-relevanten Zytokins INF- $\gamma$ . Bei einer Colon-Carcinom-Patientin läßt sich nach 18 bis 27 Wochen ein switch von einem höheren IL-5-Spiegel zu einem höheren INF- $\gamma$ -Spiegel beobachten. Bei fünf Mamma-Carcinom-Patientinnen war der IL-5-Spiegel höher als der INF- $\gamma$ -Spiegel und bei den anderen zwei Patientinnen war es umgekehrt. Ein switch trat nicht auf.

Aus der Literatur ist bekannt, daß Colon-Carcinom-Patienten zellulär stärker supprimiert sind. In unseren Untersuchungen läßt sich gerade bei diesen Patientinnen anhand der untersuchten Parameter eine gute Stimulation des Immunsystems zeigen.

Aus diesen Phänomenen läßt sich nach fast 3 Jahren Nachbeobachtung kein Rückschluß auf die Klinik ziehen. Bis auf die Patientinnen mit Metastasen sind alle Patientinnen rezidivfrei.

## Wirkungen und Nebenwirkungen eines lektinreichen und eines lektinarmen Mistelpräparates im placebokontrollierten Vergleich bei Gesunden

Huber R.<sup>1</sup>, Thoma D.<sup>1</sup>, Barth H.<sup>2</sup>, Claßen K.<sup>2</sup>, Klein R.<sup>2</sup>, Lüdtker R.<sup>3</sup>, Werner M.<sup>4</sup>

Wir führten eine doppelblinde, placebokontrollierte prospektive Studie durch, die die Evaluation der Wirkungen und Nebenwirkungen eines lektinreichen (Iscador Quercus spezial) und eines lektinarmen (Iscador Pini) Mistelpräparates bei Gesunden zum Ziel hatte. An der dreiarmligen Studie nahmen 48 gesunde Probanden teil, wobei jeweils 16 Placebo, 16 Iscador Pini und 16 Iscador Quercus spezial erhielten. Entsprechend den vom Hersteller für die Praxis gegebenen Empfehlungen wurde einschleichend dosiert. Die Höchstdosis betrug bei Iscador P 20mg, bei Iscador Qu spezial 5mg. Die Injektionen wurden 2x/Woche über insgesamt 12 Wochen durchgeführt. Nach weiteren 12 Wochen ohne Medikation wurde eine Abschlußuntersuchung durchgeführt. 47 der 48 Probanden schlossen die Studie planmässig ab. Wir berichten über die mittels standardisierter Fragebögen erhobenen subjektiven Wirkungen und Nebenwirkungen der Präparate im Vergleich zu Placebo. Auf die Wertigkeit konstitutioneller Faktoren wie u.a. des Puls/Atemquotienten bezüglich der Verträglichkeit, des Verlaufes der Lokalreaktion und der Lektinantikörperbildung wird eingegangen. Weiterhin berichten wir über die Veränderungen von Differentialblutbild und CRP sowie die prospektiv erhobene Häufigkeit und Dauer der grippalen Infekte in den drei Prüfgruppen während des insgesamt 24 wöchigen Beobachtungszeitraumes.

---

<sup>1</sup> Ambulanz für Naturheilverfahren / Abteilung Innere Medizin II, Universitätsklinik Freiburg

<sup>2</sup> Immunpathologisches Labor / Abteilung Innere Medizin II, Universitätsklinik Tübingen

<sup>3</sup> Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Universität Tübingen

<sup>4</sup> Forschungsinstitut Hiscia, Arlesheim / Schweiz

# ENTWICKLUNG LYMPHOZYTÄRER SUBPOPULATIONEN BEI TUMORPATIENTEN NACH SUBKUTANER APPLIKATION VON MISTELEXTRAKTEN

Arndt Büssing,<sup>1</sup> Albert Rosenberger,<sup>2</sup> Cristina Stumpf,<sup>3</sup> Michael Schietzel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, <sup>2</sup>Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Universität Tübingen, <sup>3</sup>Tumor Ambulanz, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke

## ZUSAMMENFASSUNG

**Fragestellung:** Es sollte überprüft werden, ob die subkutane Misteltherapie in üblicher Dosissteigerung, nicht zur Immunsuppression oder Immunstimulation, ausgedrückt als signifikante Reduktion oder Vermehrung definierter Populationen, führt.

**Patienten und Methode:** Hierzu wurden 23 Tumorpatienten mit unterschiedlichen Tumorentitäten subkutan mit einem wäßrigen Mistelextrakt (*Helixor*) behandelt. Über einen Zeitraum von 7 Monaten nach Therapiebeginn wurden die peripheren Lymphozyten durchflußzytometrisch differenziert.

**Ergebnisse und Schlußfolgerungen:** Im Beobachtungszeitraum kam es zur anteilmäßigen Vermehrung der Lymphozyten und zum zahlenmäßigen Anstieg der natürlichen Killer(NK)-Zellen. Für die Anzahl lymphozytärer Subpopulationen (CD19<sup>+</sup> B-Zellen, CD4<sup>+</sup> T-Helfer/Induktor-Lymphozyten, CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> suppressorische Zellen, CD8<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup> zytotoxische Zellen) und dem Anteil CD25<sup>+</sup> (aktivierter) T-Zellen zeigte sich zudem ein statistisch auffälliger Trend, der aufgrund des multiplen Testproblems der Statistik jedoch nicht als signifikant bewertet werden konnte. Für die Anzahl der Leukozyten fiel hingegen ein nichtsignifikantes Abfallen nach Therapiebeginn auf. Die aus früheren Beobachtungen resultierende Annahme, daß es 2-3 Monate nach Therapiebeginn zu einer Vermehrung definierter T-Zell-Subpopulationen kommt, konnte auf Basis der vorliegenden Daten statistisch nicht bewiesen werden. Dennoch zeigte sich eine statistisch auffällige Häufigkeitsverteilung der Maximal-Monate für CD19<sup>+</sup> B-Zellen, CD4<sup>+</sup> T-Zellen, CD8<sup>+</sup> Zellen, CD8<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup> zytotoxische Zellen und CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> NK-Zellen, was auf die Richtigkeit der Annahme hinweist. Mit Ausnahme der Leukozytenzahl konnten also nur positive Veränderungen der Immunparameter festgestellt werden. Die Reaktionen zeigten allerdings deutliche interindividuelle Unterschiede im Ansprechen auf den Extrakt, wobei auch Dosissteigerungen > 3 ng Mistellektin (bezogen auf Gesamtextrakt) pro kg Körpergewicht zu Vermehrungen der CD4<sup>+</sup> T-Helfer/Induktor-Zellen und nicht zu Immunsuppression führten. Ein eingeschränktes immunologisches Ansprechen auf die Extrakte war insbesondere bei Patienten mit verminderter Zahl peripherer T-Zellen zu beobachten, während Patienten mit normaler T-Zell-Zahl reagibler waren.

## Schlüsselwörter:

Tumor-Patienten; Misteltherapie; Lymphozyten-Subpopulation

## **Studiendesign und erste Ergebnisse einer prospektiven, plazebokontrollierten, doppelblinden, randomisierten Studie mit ABNOBAViscum Mali 4**

**G. Kaiser<sup>1</sup>, J. Birkmann<sup>1</sup>, W. Braun<sup>3</sup>, G. Büschel<sup>1</sup>, M. Horneber<sup>1</sup>, S. Fischer<sup>1</sup>,  
R. Scheer<sup>2</sup>, M. Smetak<sup>1</sup>, B.v. Laue<sup>3</sup>, W.M. Gallmeier<sup>1</sup>**

Mistelextrakte gehören zu den am weitesten verbreiteten unkonventionellen Behandlungsformen in Deutschland. Ziel dieser EU-GCP-konformen Studie war es, die Veränderungen immunologischer Meßparameter zu untersuchen, deren Auftreten nach der Gabe von Mistelextrakten besonders häufig beschrieben werden. Parameter der Lebensqualität (EORTC-QLQ-C30, MAC, POMS), Verträglichkeit und vorhandene Tumorparameter wurden ebenfalls untersucht.

Es wurden 29 Patienten mit fortgeschrittenen soliden Tumoren nehandelt, bei denen keine erfolgversprechende antitumoröse Therapieoption mehr zur Verfügung stand. Das prozess-standardisierte Mistelextrakt Präparat ABNOBAviscum MALI 4 mit konstantem Mistellektin Gehalt (100ng/ml) wurde in einer Dosis von 1 ng/kgKG Mistellektin I zweimal wöchentlich s.c. gegeben. Jeder Patient erhielt Verum und Plazebo im Cross-Over wechselnd alle 6 Wochen für bis zu einem Jahr. Die meisten Messungen immunologischer Parameter wurden nicht nur zu Beginn und Ende jeder 6-Wochen-Periode, sondern zusätzlich noch alle 2 Wochen gemessen. Dieses Vorgehen wurde gewählt, um trotz der erwarteten großen intra- und interindividuellen therapieunabhängigen Schwankungen etwaige Therapieeffekte nachweisen zu können.

Die Compliance war gut. 29 patients (Alter 46-78 J., 15 Frauen, 14 Männer) mit Nierenzell- (9), colorektalem (6), hepatozellulärem (5), cholangiozellulärem (2) Karzinom, NSCLC (2), Melanom (2) und andere (3) wurden behandelt. 24 Patienten waren auswertbar, mit insgesamt 101 6-Wochen-Perioden. Bei 4 Patienten wurde die Dosis wegen ausgedehnterer Lokalreaktion reduziert. Es waren keine auf die Studienmedikation zu beziehenden schwerwiegenden Nebenwirkungen zu verzeichnen. Alle Patienten entwickelten Mistellektin-Antikörper in unterschiedlichen Immunglobulin-Unterklassen mit unterschiedlicher Kinetik. Eine erste Auswertung zahlreicher Variablen zu Beginn und Ende der ersten beiden 6-Wochen-Perioden ergab eine statistisch signifikante Änderung für die Mistellektin-Antikörper, den Allgemeinzustand nach WHO (Anstieg im Mittel um 0.2) und die Eosinophilen (Anstieg im Mittel um ein bis 2%). Die  $\beta$ -Endorphine im Serum, bestimmt in zwei unabhängigen Labors ebenso wie viele andere immunologischen und Lebensqualitäts-Meßparameter zeigten dagegen bei dieser ersten Analyse keine Veränderung (Nichtparametrische Cross-Over -Analyse nach Grizzle, J.E. (1965), Biometrics 21, 467-480, und Koch, G.G. (1972), Biometrics 28, 577-58). Die erwarteten therapieunabhängigen großen intra- und interindividuellen Schwankungen der meisten immunologischen Meßparameter haben sich bestätigt. Serumspiegel der untersuchten Interleukine waren nur in Einzelfällen meßbar.

Die bisherigen ersten Ergebnisse zeigen auf, wie schwierig es ist, viele der publizierten durch Mistelextrakte hervorgerufenen immunologischen Veränderungen zu reproduzieren. Eine weitere Detailanalyse ist erforderlich.

<sup>1</sup>Arbeitsgruppe Biologische Krebstherapie, Medizinische Klinik 5,  
Prof.-Ernst-Nathanstr. 1, D-90340 Nürnberg (gefördert von der Deutschen Krebshilfe, Bonn)

<sup>2</sup>Carl-Gustav-Carus-Institut  
Am Eichhof, D-75223 Niefern-Öschelbronn

<sup>3</sup>IFE Institut für Forschung und Entwicklung Universität Witten/Herdecke,  
Alfred-Herrhausen-Str. 44, D-58455 Witten

## Abstract Version 03

### Neuer Ansatz zur Erforschung der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von Komplementärtherapeutika in der Onkologie unter Praxisbedingungen:

#### Retrolektive Kohortenstudie mit Parallelgruppen - angenähert an GCP/ICH (Retrospect™)

Autor: Dr. Jürgen Hanisch, ©IFAG Basel AG

Bei der von Feinstein und Horwitz entwickelten und von der ©IFAG Basel an die Bedingungen von GCP/ICH adaptierten und validierten „Retrolektiven Kohortenstudie mit Parallelgruppen“ handelt es sich um den Typ der kontrollierten „observational study“ ohne Intervention.

Sie wird entsprechend den Arzneimittelprüfrichtlinien durchgeführt. Sie ist bei länger eingeführten Arzneimitteln möglich, verwandt wird Handelsware. Der Studientyp ist prospektiv, ggf. mit zurückgelegtem Anfangspunkt. Die GCP/ICH-Richtlinien werden strikt eingehalten. Für die Freigabe sind Ethik-Kommission, Patienteneinwilligung und -versicherung nicht notwendig, die Datenschutzbestimmungen werden berücksichtigt.

Nach den im Bundesanzeiger 12/98, JG. 50, Nr. 229, Seite 16884 veröffentlichten Richtlinien stellt Retrospect™ eine besondere Form der Beobachtungsstudie dar, mit der auch der Nachweis der Wirksamkeit in begründeten Ausnahmefällen möglich ist.

Diese können u. a. nach § 22 AMG, Absatz 2 und 3 sein, wenn anstelle der Ergebnisse der klinischen Prüfung anderes wissenschaftliches Erkenntnismaterial vorgelegt wird und zwar (1.) bei einem Arzneimittel, dessen Wirkungen und Nebenwirkungen bereits bekannt und aus dem wissenschaftlichen Erkenntnismaterial ersichtlich sind, (2.) bei einem Arzneimittel, das in seiner Zusammensetzung bereits einem Arzneimittel nach No. 1 vergleichbar ist.

Sofern so gearbeitet wird, muss aus einem Gutachten hervorgehen, dass das wiss. Erkenntnismaterial in sinngemässer Anwendung der Arzneimittelprüfrichtlinien erarbeitet wurde.

Nach dem Retrospect™-Verfahren sind in den Jahren 1997 - 1999 mehrere grosse Studien durchgeführt, abgeschlossen und gutachterlich bearbeitet worden.

Sie beschäftigen sich mit der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von Enzym- bzw. Mistelpräparaten in der postoperativen Therapie/Nachsorge von Patienten mit soliden Tumoren. Es konnten statistisch signifikante und klinisch relevante Resultate bei Parametern der Lebensqualität, des Leistungsverhaltens und der Reduktion der Nebenwirkungen der Radio- und Chemotherapie gefunden werden. Bezüglich der Verzögerung der krebserregenden Ereignisse gab es explorativ u. a. stadienabhängige signifikante und relevante Ergebnisse, die zur Zeit im Follow up der Studien überprüft werden und im Jahr 2000 vorliegen werden.

Retrolektive Studien vom Typ Retrospect™ sind in weiteren 7 Indikationen durchgeführt worden, für 3 weitere Indikationen sind sie in Vorbereitung.

Die Ergebnisse der Studien sind u. a. für Nach- bzw. Zulassungszwecke in Deutschland und im Ausland vorgesehen.

## Autorenverzeichnis

- Aulitzky W. 27  
Barth H. 46  
Baumgartner S. M. 20  
Becker H. 1  
Berg P.A. 2, 44, 45  
Betzel C. 16  
Beuth J. 4  
Birkmann J. 48  
Böhringer P.A. 32  
Borovic S. 24  
Borowski M. 26, 37  
Brauer D. 42  
Braun W. 48  
Büschel G. 48  
Büssing A. 5, 29, 34, 47  
Claßen K. 45, 46  
Dittmar T. 28  
Edlund U. 22, 29  
Eifler R. 18  
Fintelmann V. 13  
Fischer M. 12  
Fischer S. 45, 48  
Flückiger H. 20  
Fornalski M. 30  
Fritz P. 27  
Fröse D. 22  
Gallmeier W.M. 48  
Girke M. 42  
Goedings P. 23  
Goyert A. 37  
Gutsch J. 43  
Hanisch J. 49  
Hensel A. 22  
Horneber M. 48  
Huber R. 46  
Kaiser G. 7, 48  
Kalisnik T. 24  
Kiefer M. 17  
Kiene H. 8  
Klein R. 45, 46  
Koehler R. 21  
Konitzer M. 24  
Kovacs E. 31  
Krauspenhaar R. 16  
Kröz M. 42  
Kuehn J.J. 30  
Lenewit G. 21  
Loncaric I. 24  
Lüdtke R. 46  
Maier T. 16  
Mang S. 24  
März P. 12  
Matthes B. 42  
Matthes H. 9  
Mayrhofer M. 38  
Mengs U. 14  
Miletic M. 24  
Müllberg J. 12  
Mürdter T.E. 27  
Nabrotzki M. 41  
Niedobitek S. 15  
Özbek S. 12  
Penter R. 39  
Peters M. 12  
Pfreundschuh M. 10  
Pfüller G. 15  
Pfüller K. 14, 18, 19  
Pfüller U. 14, 15, 18, 19, 22, 28, 29  
Rieger S. 36  
Rose-John St. 12  
Rosenberger A. 36, 37, 47  
Samtleben R. 17  
Schaller G. 29  
Scheer R. 45, 48  
Scheffler A. 11, 22  
Schietzel M. 29, 34, 36, 47  
Schink M. 26, 37  
Schulte V. 28  
Schwarz T. 14, 25  
Siegle I. 27  
Smetak M. 48  
Stein G. M. 2, 29, 34, 44, 45  
Stoeva S. 16  
Stoll G. 40  
Stumpf Ch. 34, 36, 47  
Thoma D. 46  
Tonevitsky A.G. 19  
Tröger W. 36  
Voelter W. 16  
von Laue H. B. 33, 48  
Wacker R. 16  
Wagner H. 17  
Werner M. 28, 46  
Weyhenmeyer R. 25  
Witthohn K. 14, 25  
Würzner G. 18, 19  
Zänker K.S. 28  
Zarkovic K. 24  
Zarkovic N. 24