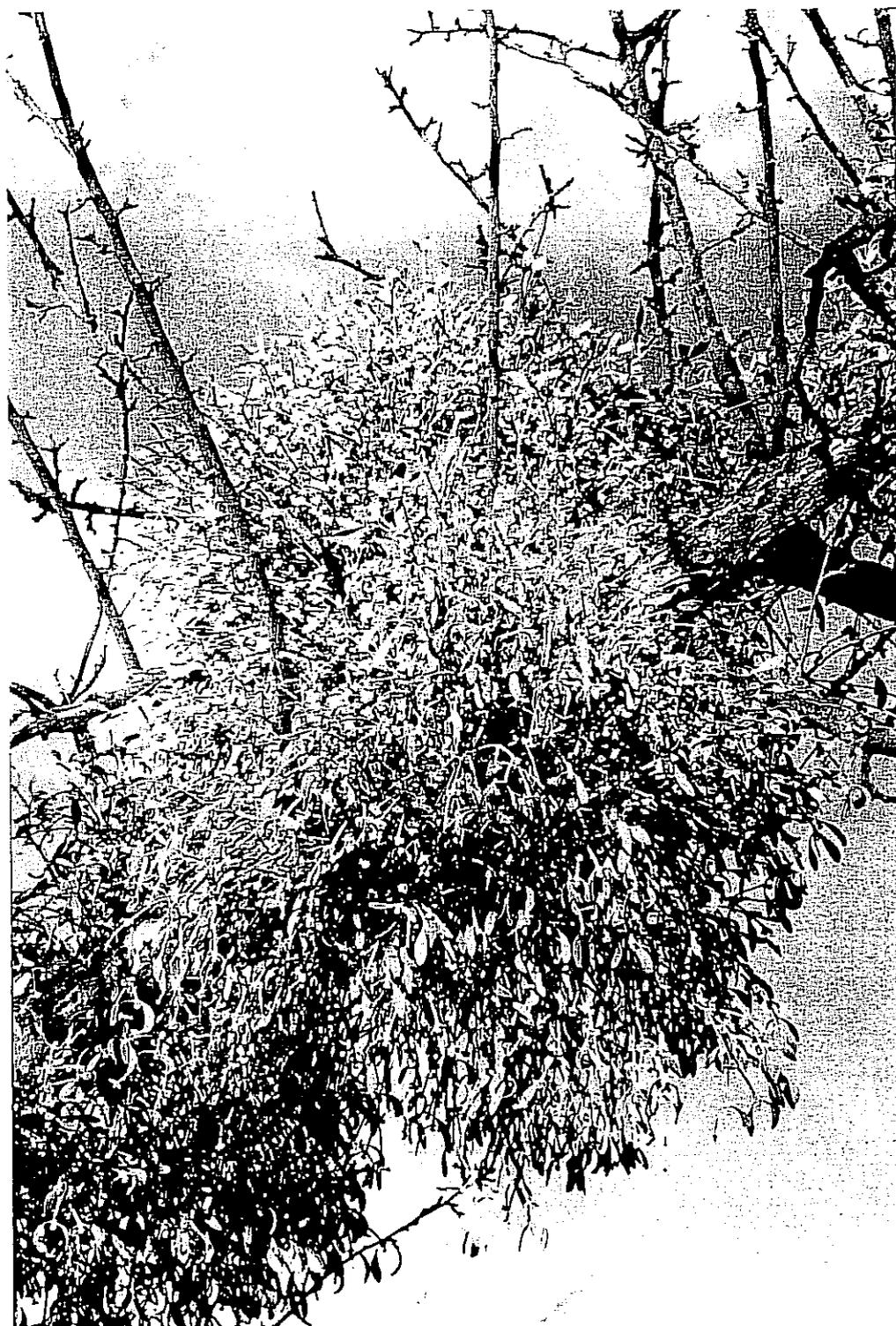


Mistelextrakte in der Tumortherapie

Stand des Wissens von Forschung und therapeutischer Anwendung



5. bis 7. Oktober 1995

Wissenschaftliches Kolloquienzentrum der Universität des Saarlandes
D-66424 Homburg-Schwarzenacker

Veranstalter: Karl und Veronica Carstens-Stiftung
Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte

Mistelextrakte in der Tumorthherapie
Stand des Wissens von Forschung und therapeutischer Anwendung

5. bis 7. Oktober 1995

Wissenschaftliches Kolloquienzentrum der Universität des Saarlandes
D-66424 Homburg-Schwarzenacker

Veranstalter:

Karl und Veronica Carstens-Stiftung
Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte

Leitung:

Dr. Rainer Scheer

Organisations-Komitee

Prof. Dr. H. Becker
Pharmakognosie und
Analyt. Phytochemie
Univ. des Saarlands
Fachrichtung 12.3
Im Stadtwald 32
66123 Saarbrücken

Prof. Dr. P.A. Berg
Medizinische Klinik
und Poliklinik der
Universität Tübingen
Innere Medizin II
Otfried-Müller-Str10
72076 Tübingen

Dr. Rainer Scheer
Carl Gustav Carus-
Institut
Am Eichhof
75223 Niefern-
Öschelbronn

Vorwort

Die Karl und Veronica Carstens-Stiftung ist im Laufe ihrer zwölfjährigen Fördertätigkeit immer wieder auf das weite Feld der Mistelforschung aufmerksam geworden. Dabei erwiesen sich sowohl die Forschung als auch die therapeutische Anwendung dieser Pflanze als auffällig heterogen. Einerseits ist die Mistel ein wichtiges Thema im Rahmen der anthroposophisch erweiterten Medizin, in der es allerdings unterschiedliche Forschungsrichtungen gibt. Daneben gewinnt die Mistelforschung in der Phytotherapie zunehmend an Bedeutung, und schließlich beschäftigt sich auch die schulmedizinisch-naturwissenschaftliche Forschung mit der therapeutischen Anwendung der Pflanze.

Diese heterogene Forschungslandschaft findet ihre Entsprechung in der Klinik. Neben der Anwendung von Mistelextrakten in der anthroposophisch orientierten Therapie gibt es in jüngerer Zeit erste klinische Versuche mit isolierten Mistellektinen, so daß sich mittlerweile ein fast unüberschaubares Feld entwickelt hat.

Aus diesem Grund hat die Carstens-Stiftung den Vorschlag des Carl Gustav Carus Instituts, mit Hilfe eines Symposiums einen Überblick zu schaffen, gerne aufgegriffen und sich zu einer Förderung bereit erklärt. Eine Standortbestimmung zu Forschung und Therapie erscheint zum gegenwärtigen Zeitpunkt besonders sinnvoll und fruchtbar.

Die Stiftung wird deshalb auch die Ergebnisse des Symposiums in Buchform veröffentlichen.

Dr. Henning Albrecht

Dr. Maria Frühwald

Über die Ziele dieses Symposiums

Mistelpräparate werden seit über 70 Jahren zur Behandlung von Krebserkrankungen eingesetzt. Schon immer wurde über die Mistel kontrovers diskutiert: Einerseits wurde und wird die pharmazeutische Qualität, daraus abgeleitet die therapeutische Wirksamkeit und Zuverlässigkeit von Mistelpräparaten in Zweifel gezogen, andererseits gilt ihre Wirksamkeit als durch ärztliches Erfahrungsgut gesichert, d.h. es gibt vielfältige Erfahrungen über ihre therapeutische Anwendung und Wirksamkeit, sowie zahlreiche Berichte über Therapieerfolge. Letzteres sowie Erkenntnisse über erwünschte Wirkungen bestimmter Inhaltsstoffe der Mistel und die insgesamt doch bescheidenen Erfolge der medikamentösen Krebstherapie insgesamt führen einerseits zu einer zunehmenden Akzeptanz der Misteltherapie in der Ärzteschaft, andererseits zu einer wachsenden Erwartungshaltung bei den Patienten.

In den letzten Jahren sind so viele neue und hoffnungsvolle Ergebnisse und Erkenntnisse über die Mistel entstanden und publiziert worden, daß eine Aufarbeitung aller Erkenntnisse verbunden mit der Darstellung des aktuellen Standes in der Krebs-Mistel-Forschung unbedingt erforderlich ist, damit der Praktiker sich ein möglichst objektives Bild über die Mistel und die Möglichkeiten und derzeitigen Grenzen der Misteltherapie machen kann. Dies ist nur möglich, wenn es gelingt, vorhandene Spannungen zwischen Forschungsgruppen abzubauen sowie kontroverse Ansichten auszusprechen und miteinander zu diskutieren.

Teilnehmer am Symposium sind daher gerade Ärzte und Wissenschaftler, deren gemeinsames Anliegen zwar die Mistel selbst ist, also beispielsweise die therapeutische Anwendung, die Botanik, die Chemie, Fragen nach der Wirksamkeit, nach bestimmten Wirkungen, nach der geeigneten Qualitätssicherung etc., die sich aber hinsichtlich Ihres Wissenschaftsansatzes, sowie ihrer Bewertung und Interpretation der Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Forschungsziele fundamental unterscheiden können. Jeder einzelne Teilnehmer ist auf seinem Gebiet kompetent, aber zumeist auch "nur" Spezialist. Erst das Symposium bietet Gelegenheit, Ergebnisse gleicher und verschiedener Wissenschaftsdisziplinen zusammenzutragen, zusammenzusehen, und führt so zu einem vollständigeren Bild der Mistel, als es der einzelne alleine haben kann. Darüber hinaus bietet das Symposium Raum für Diskussionen, aus denen etwas Neues, die Krebs-Mistel-Forschung Befruchtendes entstehen kann. Demnach liegt das Ziel des Symposiums nicht nur in einer bloßen Bestandsaufnahme, in der möglichst vollständig der derzeitige Stand der Forschung und der Therapie von Krebserkrankungen mit Mistelpräparaten dargestellt wird, sondern es sollen auch neue Wege für die Zukunft eröffnet werden, d.h. hier soll deutlich werden, wo Handlungsbedarf ist, und in welchen Bereichen Forschungsschwerpunkte zu setzen sind, wobei das Symposium auch Zusammenarbeit vermitteln soll.

Dr. Rainer Scheer

Mistelextrakte in der Tumortherapie
Stand des Wissens von Forschung und therapeutischer Anwendung
5. - 7. Oktober 1995

Programm

Donnerstag, 5. Oktober 1995

- | | |
|-------------------|--|
| 9.30 - 9.40 Uhr | Eröffnung
R. S c h e e r,
Carl Gustav Carus-Institut, Niefern-Öschelbronn |
| 9.40 - 10.30 Uhr | Morphologie und Zeitgestalt der weißbeerigen Mistel <i>Viscum album L.</i>
T h. G ö b e l,
Carl Gustav Carus-Institut, Niefern-Öschelbronn |
| 10.30 - 11.00 Uhr | Pause |
| 11.00 - 11.50 Uhr | Differenzierung der Mistelinhaltsstoffe nach Zeit und Ort
A. S c h e f f l e r,
Carl Gustav Carus-Institut, Niefern-Öschelbronn |
| 11.50 - 12.25 Uhr | Standardisierung komplexer Naturstoffgemische
H. H a m a c h e r,
Laboratorium für Arzneimittelprüfung und Zulassungsberatung,
Tübingen |
| 12.25 - 14.15 Uhr | Mittagspause |
| 14.15 - 15.05 Uhr | Immunmodulation durch Mistelinhaltsstoffe
U. P f ü l l e r,
Institut f. Phytochemie, Universität Witten-Herdecke |
| 15.05 - 15.40 Uhr | Mistelpräparate: Von der Zytotoxizität bis zur Immunstimulierung
G. R i b é r e a u - G a y o n,
Laboratoire de Pharmacognosie, Université Strasbourg |
| 15.40 - 16.00 Uhr | Pause |
| 16.00 - 16.45 Uhr | 75 Jahre Misteltherapie bei Krebspatienten
- Kritische Zusammenfassung der ärztlichen Erfahrungen
D. S c h l o d d e r,
Verein für Leukämie- und Krebstherapie, Rosenfeld |
| 16.45 - 17.20 Uhr | Beurteilung der klinischen Studien zur Misteltherapie
H. K i e n e,
Freiburg |
| 17.20 - 17.35 Uhr | Pause |
| 17.35 - 18.10 Uhr | Erscheinungsbild der Misteltherapie in der klinischen Onkologie
G. K a i s e r,
5. Medizinische Klinik, Klinikum Nürnberg Nord |

18.10 - 18.30 Uhr **Das therapeutische Wirkprinzip der Mistel: Erfahrungen mit zwei unterschiedlichen Denkansätzen im Rahmen des Projekts *Unkonventionelle Methoden der Krebsbekämpfung***
J. Teichert,
Projektbegleitung UMK an der Universität Witten/Herdecke

Die für diesen ersten Tag angegebenen Redezeiten schließen eine kurze 5 minütige Diskussion mit ein. Die Vorträge der beiden nachfolgenden Tage beginnen jeweils um 8.15 Uhr. Es finden ausschließlich 15 minütige Kurzreferate statt. Diese sind auf 9 Sitzungen verteilt, wobei in der Regel am Ende der jeweiligen Sitzung Gelegenheit zur Diskussion - dann über alle Vorträge dieser Sitzung - gegeben ist.

Das Symposium wird beendet durch Statements der Referenten der Übersichtsvorträge des ersten Tages, die in der Regel auch die Sitzungen der Kurzreferate leiten.
Ende des Symposions: Samstag, 7.10.95, 17 Uhr.

Kurzreferate

U. Abel: "Problematik des Wirksamkeitsnachweises in klinischen Studien"

J. Beuth, H.L. Ko, G. Pulverer: "Experimentelle und klinische Daten zur immunaktiven Wirkung des galaktosid-spezifischen Mistellektins"

H. Brettschneider: "Zur anthroposophischen Menschenkunde des klinischen Verlaufes der Krebserkrankung unter Misteltherapie"

A. Büssing, M. Schietzel, H. Jungmann, K. Schweizer: "Leben und sterben lassen - DNA-stabilisierende und zytotoxische Effekte von *Viscum album* L.-Extrakten"

R. Dorka: "*Viscum album* (L.) zeigt Nutationsbewegungen, die mit synchronen Meristemdifferenzierungen zu vegetativen und generativen Organen zeitverschieben korrelieren"

L. Edler: "Randomisierte klinische Studien zur Misteltherapie bei Krebs: Ergebnisse, Erfahrungen und Perspektiven"

H.H. Fiebig: "Direkte zytotoxische Effekte von Mistelextrakten an humanen Tumorexografts im Kolonieassay und in der Nacktmaus"

A. Goyert: "Niedrig dosierte Misteltherapie bei niedrig malignem Non-Hodgkin-Lymphom - Eine Fallbeschreibung"

M. Hafner, P. Orosz, D. Männel: "Folge von Immunstimulierung für die Metastasierung"

E.D. Hager: "Die prognostische Bedeutung von Immunprofilen in der Onkologie"

T. Hajto, K. Hostanska, J. Fischer: "Immunologische Resultate von Doppelblindstudien mit Mistellektin-I (ML-I) bei gesunden Probanden"

S. Hartmann, A. Scheffler, D. Kabelitz: "Reaktivität von T-Lymphozyten gegen Mistel-Inhaltsstoffe"

B.M. Heiny: "Lektinoptimierte Misteltherapie - Einfluß auf das neuroendokrine System - Stabilisierung lebensqualitativer Aspekte"

F.H. Hemmerich: "Zur Anwendung der Mistel bei benignen und malignen Erkrankungen in der Frauenheilkunde"

W. Henn: "Verhalten der Körperkerntemperatur und peripherer Blutzellen vor und während einer Misteltherapie bei Patientinnen mit operiertem Mammakarzinom"

P. Heusser: "Lebensqualitätsstudie bei Krebspatienten im Rahmen des Schweizerischen Nationalfonds-Projekts über Komplementärmedizin"

Morphologie und Zeitgestalt der weißbeerigen Mistel

Viscum album L.

Thomas Göbel

Carl Gustav Carus-Institut

Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Zur Morphologie: Die Mistel zeigt eine retardierte Gestalt.

Die weißbeerige Mistel ist ein Halbschmarotzer, der mit drei (ökologisch definierten) Rassen auf Laubholz, Kiefer und Tanne wächst. Alle drei Rassen bilden Jahrestriebe, deren Achsen aus zwei Knoten und einem dazwischenliegenden Internodium bestehen. Darüber erscheint terminal ein generativer Kurztrieb unterschiedlicher Zusammensetzung, der geschlechtsdimorph ist. Dieser ein- bis fünfblütige Blütenstand ist geschlossen. Dem männlichen fehlen die Bracteen der terminalen Blüte.

Am unteren Knoten des vegetativen Triebes inseriert ein Niederblattpaar, am oberen dekussiert dazu ein Laubblattpaar. In allen Blattachsen liegen Meristeme, die im Sinne der beschriebenen Jahrestriebe oder als Kurztriebe auswachsen und schließlich auch liegenbleiben können.

Wie sich diese Meristeme entwickeln, hängt von folgenden Parametern ab:

Ernährungszustand durch den Wirt, Lage in der Krone des Wirtes, Alter der Mistel, Mikroklima am Wuchsort.

Beide im Wirtel stehenden Laubblätter zeigen Bildungsabweichungen, die sonst nur an Keimblättern regelmäßig auftreten: Sie können sich in der Mediane spalten und sie können lateral verwachsen. Die mediane Dominanz, durch eine Mittelrippe ausgewiesen, ist sonst für die Laubblätter dikotyler Arten charakteristisch. Diese verwachsen mit den Mittelrippen. Das Blattparenchym des Mistelblattes differenziert sich nicht in ein Pallisaden- und ein Schwammparenchym. Die Zellen bleiben mehr oder weniger isodiametrisch. Die Epidermis enthält Chlorophyll, die Kutikula ist gelb gefärbt.

Die Blüten der Mistel sind geschlechtsdimorph (genetisch bedingt) und stark reduziert. Die vierzählige Blütenhülle ist einfach. Vier Perigonblätter sind ausgebildet, die männlichen sind zugleich die Pollenträger. Der Pollen, der in den sogenannten Pollenkammern gebildet wird, verklebt zu Paketen. Die Blüten duften. Die Mistel ist insektenblütig.

Die Früchte der weißbeerigen Mistel weichen weit vom Typus ab. Die Embryosackmutter-

zellen bilden sich im Achsengewebe unter der Blüte. Daher fehlen ausgewachsene Karpelle und Integumente. So wird der Blütenstiel zur Frucht (Scheinbeere) die durchscheinend wird. Die Embryonen sind in ein Endosperm eingebettet, das dunkelgrün gefärbt ist und daher assimiliert. Die basalen Knoten am Hypokotyl der ein bis drei, selten vier Embryonen liegen in der Oberfläche des Endosperm und sind hellgrün, wie der ganze Embryo. Das Mesokarp verschleimt und das Epikarp wird weiß (trübe durchscheinend). Embryo und Endosperm sind (rötlich) beleuchtet.

Die Mistelembryonen werden durch Vögel (meist Misteldrossel) verbreitet. Der Schleim des Mesokarps wird nach dem Darmdurchgang mit ausgeschieden. Es garantiert die Anheftung am Wirt.

Die Keimung erfolgt bald nach der Anheftung am Wirt. Das Hypokotyl bildet aus seinem basalen (!) Knoten ein Haustorium, das enzymatisch in das Wirtsgewebe eindringt und Anschluß an dessen Wasserleitgewebe gewinnt. Danach richtet sich der Keimling auf. Die ersten drei bis seltener vier Lebensjahre wächst die Keimpflanze monopodial und mehr oder wenig negativ geotrop.

Sobald die generativen Organe gebildet werden, wächst die junge Mistelpflanze scheidichotom, der negative Geotropismus geht in eine Raumorientierung um den eigenen Mittelpunkt über.

Zur Zeitgestalt: Die Mistel verzögert ihre Bildeprozesse.

Die Keimung erfolgt im Jahr der Anheftung. Die ersten Laubblätter erscheinen in der zweiten oder dritten Vegetationsperiode. Der Jahrestrieb setzt im März bis April ein und ist vegetativ Ende Juni bis Anfang Juli ausgewachsen. Er beginnt negativ geotrop und endet nach einer Lunarperiode von 28 Tagen, in denen Nutationsbewegungen (bis 270°) stattfinden. Danach ordnet sich der Gabelsproß in die Kugelgestalt der Mistel ein. Die Blütenstände sind im Oktober voll ausgebildet und blühen zwischen Januar und März des folgenden Jahres, je nach Wetter und geographischer Breite. Die Frucht reift im Oktober und bleibt bis Mai der folgenden Vegetationsperiode am Busch, wenn sie nicht von Vögeln aufgenommen wird. Zusammenfassend kann man sagen: Die Mistel bildet sich vegetativ im Sommer aus und blüht und fruchtet im Winter.

Eine Besonderheit der Mistel ist die Tatsache, daß die vegetativen und die generativen Organanlagen synchron aus ihrem Urmeristem hervorgehen. Diese sehr ungewöhnliche Synchronisation ist für die Grundgestalt des Jahrestriebes verantwortlich. Das ist auch innerhalb der Gattung *Viscum* eine Ausnahme.

Die Zeitgestalt der Mistel, tabellarisch zusammengefaßt:

1. Vegetationsperiode: Anfang Februar: Das Urmeristem der Gabelsproßanlage ist ausgebildet, Anfang März: Das Urmeristem hat sich synchron in das Meristem der vegetativen und der generativen Organe differenziert; Anfang Juni: Randmeristeme der Laubblattanlagen und das (eingemuldet) Blütenstandsmeristem sind ausgebildet.
2. Vegetationsperiode: Der Gabelsproß entfaltet sich bis zum reifen Pollenkorn, die weibliche Blüte entwickelt sich bis zum reifen Embryosack.
3. Vegetationsperiode: Insektenbefruchtung im Februar/März. Der Embryo entwickelt sich, die männlichen Blüten und danach ihr Blütenstand fallen ab.
4. Vegetationsperiode: Frucht und Embryo reifen aus. Samenverbreitung und Keimung.

Morphologische Retardationen finden sich in allen Organen. Besonders Laubblätter, Blüten und Früchte sind betroffen. Damit korreliert die Neigung, Frühstadien der Entwicklung lange zu halten.

Chronologische Verzögerungen führen zu langen Entwicklungszeiten und zu Phasenverschiebungen. Die vegetative Entwicklung fällt in den Sommer, die generative in den Winter.

Die Entkoppelung vom Jahreslauf korreliert mit der Ausbildung sekundärer Pflanzenstoffe (siehe Beitrag von A. Scheffler).

Differenzierung der Mistelinhaltsstoffe nach Zeit und Ort

A. Scheffler, Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Die verschiedenen Organe der Mistel sind zu verschiedenen Entwicklungsstadien systematisch auf mehrere Inhaltsstoffe hin untersucht worden. Es liegen Daten über Gesamtproteingehalte, freie Aminosäuren, Arginin, Viscotoxine, Lektine, Stärke, Pektine, Monosaccharide, Polysaccharide, Gesamtlipide und Mineralgehalte, wie Ca und P vor. Diese Daten zeigen deutliche Unterschiede in der stofflichen Zusammensetzung der einzelnen Organe und auch eine Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des jeweiligen Organs. Für einige der genannten Stoffe sind auch Unterschiede zwischen Misteln verschiedener Rassen bzw. Wirtsbäume bekannt geworden.

Für die Herstellung von Mistelgesamtextrakten ist daher aus Gründen einer gleichbleibenden Qualität der Erntezeitpunkt, das Verhältnis der verwendeten Organe und der Wirtsbäum zu definieren.

Für die Qualitätskontrolle stellt sich die Frage, welche Inhaltsstoffe der Mistel von klinischer Bedeutung und damit qualitätsbestimmend sind. Vor dem Hintergrund typischer Stoffbildungsprozesse von Sträuchern werden zur Beurteilung dieser Frage folgende Kriterien bewertet und mit pharmakologischen Ergebnissen verglichen:

1. Ungewöhnliche Anreicherungen oder verminderte Bildung allgemein vorkommender Stoffe, wie Arginin, Pektine, Proteine, DNA, Phenylpropanderivate, Membranlipide bzw. Lignin, Zellulose.
2. Die Bildung allgemein vorkommender Stoffe zu ungewöhnlichen Zeiten, wie Stärke im Frühjahr.
3. Ausschließlich in der Mistel vorkommende Stoffe, wie Viscotoxine, Lektine.
4. Die Verteilung der Inhaltstoffe in den verschiedenen Organen der Mistel.
5. Die Unterschiede von Misteln von verschiedenen Wirtsbäumen und unterschiedlichen Standorten.

Die vorliegenden Untersuchungen zu Punkt 1 zeigen, daß die Mistel Merkmale jungen Pflanzengewebes betont, bzw. die üblichen Ausreifungsvorgänge retardiert. Ergebnisse zu Punkt 2 deuten auf antizyklische Tendenzen der Mistel. Beide Signaturen ergeben ein Bild, das sich mit morphologischen Merkmalen deckt.

Die misteltypischen Lektine und Viscotoxine sind ihrer phytochemischen Verwandtschaft und ihren chemischen und pharmakologischen Eigenschaften nach gegensätzlicher Natur. Ihre Bildung scheint mit dem Fehlen bestimmter Organe oder Organprozesse zu korrelieren. Somit zeichnet sich auch aus diesen Phänomenen ein Bild, das für pharmakologische Untersuchungen wegweisend ist: Die Kombination der in der Mistel vorhandenen Gegensätze sollte sich pharmakologisch anhand von Wirkungsverstärkungen beweisen lassen. In der Tat gibt es durch gezielte Untersuchungen zu diesem Thema Hinweise auf Synergismen.

Außer dieser Fragestellung haben die Auffälligkeiten der Mistel im Bereich der Polysaccharide, Membranlipide und Aminosäuren ebenfalls zu speziellen pharmakologischen Untersuchungen geführt. Bisher sind dadurch insbesondere immunologische Effekte entdeckt worden. Aber auch die Zytotoxizität der Mistel wurde genauer erforscht, sodaß außer der Erhöhung der Zellmembranpermeabilität durch Viscotoxine, der Hemmung der ribosomalen Proteinsynthese durch Lektine und der Induktion des natürlichen Zelltodes (Apoptose) durch Lektine, neuerdings auch Hinweise auf einen photosensitiven Effekt durch Vesikel aus den Chloroplastenmembranen der Mistel vorliegen.

Anhand der vorhandenen Daten wird eine Synopsis der mistelcharakteristischen Stoffbildungen vorgeschlagen und mit dem entsprechenden Verständnis der Krebskrankheit verbunden. Einige aus diesem anthroposophischen Ansatz des Zusammenschauens von Natur- und Krankheitsprozessen folgende pharmakologische und klinische Fragestellungen werden genannt.

Standardisierung komplexer Naturstoffgemische

Von H. Hamacher *

Naturheilmittel - als solche werden natürliche Mineralsalze, Heilwässer, Organotherapeutika, Phytopharmaka, Homöopathika und anthroposophische Arzneimittel zusammengefaßt - sind unabhängig davon, ob es sich um Monopräparate oder um Fixkombinationen handelt, stets außerordentlich komplex zusammengesetzt. Gemeinsam ist den Naturheilmitteln darüber hinaus im Gegensatz zu den meist rational konzipierten Arzneimitteln neuerer Generation außer ihrer natürlichen Provenienz ihre traditionelle therapeutische Verwendung aufgrund empirischer Beobachtungen oder nicht selten auch mystischer Vorstellungen. Die rationale Begründung von Naturheilmitteln erfolgte meist retrospektiv, oft erzwungen durch den Anspruch der modernen Naturwissenschaft oder durch formale, keineswegs aber immer sinnvolle Forderungen von Behörden.

Das Konzept zur Qualitätssicherung von Naturheilmitteln unterscheidet sich nicht grundsätzlich von dem für andere Arzneimittel. Es besteht, auf einen kurzen Nenner gebracht, in der GMP-konformen Produktion der Ausgangsstoffe, Zwischenprodukte und des fertigen Arzneimittels einschließlich Überwachung sämtlicher Prozeßabläufe sowie in der regelmäßigen Qualitätskontrolle der für das betreffende Arzneimittel benötigten Ausgangsstoffe, Zwischenprodukte und des Fertigprodukts sowie der Haltbarkeitsprüfung. Über die zu fordernden Rahmenbedingungen der qualitätssichernden Maßnahmen besteht heute im Grundsatz weltweiter Konsens. Hierzu haben nicht zuletzt die erfolgreichen Bemühungen der International Conference on Harmonization (ICH), hauptsächlich getragen von Wissenschaftlern aus pharmazeutischer Industrie und Behörde, insbesondere aus Europa, Japan und USA, wesentlich beigetragen. Die konsensfähigen Grundsatzforderungen an die Qualitätssicherung von Arzneimitteln, für die Bundesrepublik Deutschland, EU-konform festgelegt in der neuen gültigen Fassung der Arzneimittelprüfrichtlinien nach § 26 AMG vom 5.5.1995, lassen jedoch, wie alle Rahmenvorschriften, einen beträchtlichen Ermessensspielraum offen. Es darf nicht übersehen werden, daß die genannten Arzneimittelprüfrichtlinien, mit welchen die revidierte EU-Richtlinie 91/507 mit Anhang vom 19.07.1991 in nationales Recht transformiert wurde, nicht primär auf Naturheilmittel, sondern auf Arzneimittel mit synthetischen Wirkstoffen abzielt und daher verschiedene Detailforderungen - man denke an die geforderten Toleranzen für den Wirkstoffgehalt oder zu Neben- und Abbauprodukten von Wirkstoffen - enthält, die für die komplex zusammengesetzten Gemische der Naturheilmittel als wirklichkeitsfremd anmuten müssen.

* Prof. Dr. Harald Hamacher, Dischingerweg 15, 72070 Tübingen-Hirschau
Tel.: 0 70 71/79 11 63, Fax: 0 70 71/79 15 98

Diesem Umstand wurde in den Richtlinien zwar prinzipiell durch folgende Formulierung Rechnung getragen:

"Dabei sind die Besonderheiten der jeweiligen Arzneimittel zu berücksichtigen."

Für die Beurteilungspraxis ist dieses unverbindliche Statement allerdings so lange wenig hilfreich, als die Zulassungsbehörde nicht zu erkennen gibt, inwieweit sie zu konkreten Kompromissen bei der Qualitätsprüfung von Naturheilmitteln bereit ist.

Die vermutlich aus intern unterschiedlichen Auffassungen hinsichtlich der erforderlichen Beurteilungsmaßstäbe resultierende Kompromißlosigkeit der deutschen Zulassungsbehörde wurde jüngst an folgendem Beispiel offenkundig.

Die durch die Fülle nachzuzulassender Arzneimittel einerseits und die begrenzten Kapazitäten der Zulassungsbehörde andererseits bedingten Gefahren einer Innovationshemmung pharmazeutischer Unternehmen sind offenkundig. Unter dem hieraus resultierenden politischen Zwang hat der Gesetzgeber folgerichtig Prioritäten gesetzt und den Nachweis der Qualität traditioneller Arzneimittel durch die 5. Novelle zum Arzneimittelgesetz auf die eidesstattliche Versicherung des pharmazeutischen Unternehmers reduziert, daß sein Arzneimittel den gültigen Arzneimittelprüfrichtlinien entspricht. Für diese formale eidesstattliche Erklärung wurde seitens der pharmazeutischen Unternehmer angesichts der Nichtrealisierbarkeit einzelner Detailforderungen der Arzneimittelprüfrichtlinien im Falle vieler Naturheilmittel folgende Formulierung vorgeschlagen:

"Ich bestätige, daß das Arzneimittel nach Maßgabe der allgemeinen Verwaltungsvorschrift nach § 26 AMG geprüft ist und die erforderliche, den Besonderheiten des Arzneimittels entsprechende pharmazeutische Qualität aufweist."

Daß selbst diese wenig verfängliche Formulierung, deren Konsensfähigkeit doch eigentlich selbstverständlich sein sollte, nicht die Zustimmung der Behörde fand, muß nachdenklich stimmen.

Das analytische Standardisierungsniveau für Drogen ist durch Monographien des gültigen Europäischen und Deutschen Arzneibuches festgelegt oder sollte sich, sofern im konkreten Fall eine solche nicht existiert, an vergleichbaren Arzneibuchmonographien, selbstverständlich unter Berücksichtigung des jeweiligen wissenschaftlichen Erkenntnisstandes der betreffenden Droge orientieren. Dies gilt sinngemäß auch für ebenfalls als Ausgangsstoffe geltende Drogenextrakte. Die Gehaltsbestimmung erfolgt hierbei dem Regelfall des Arzneibuches entsprechend meist gruppenspezifisch.

Während die allgemein geltenden darreichungsformenspezifischen Qualitätsnormen für Fertigprodukte problemlos auch bei pflanzlichen Präparaten anwendbar sind, sind die gruppenspezifischen quantitativen Bestimmungen, insbesondere bei Fixkombinationen, selten auf die Arzneiformen übertragbar und gelegentlich bereitet sogar der qualitative Nachweis sämtlicher arzneilich wirksamer Bestandteile erhebliche Schwierigkeiten. Für die quantitative Standardisierung von Fertigprodukten hat sich bekanntlich das Leitsubstanzenkonzept bewährt. Hierbei sind durch quantitativen Vergleich speciesspezifischer Inhaltsstoffe im Ausgangsstoff und in der Zubereitung ungeachtet der natürlichen Schwankungen der Zusammensetzung oft, aber nicht immer, selbst bei Kombinationspräparaten die Forderungen der Arzneimittelprüfrichtlinien für den Regelfall betreffend den Gehalt arzneilich wirksamer Bestandteile im Fertigprodukt ($\pm 5\%$ des Sollgehalts) erreichbar. Da die als Leitsubstanzen ausgewählten Inhaltsstoffe zwar therapeutisch relevant sein können, aber nicht müssen, ist die Aussagekraft deren Gehalts für die Haltbarkeit nur im Einzelfall zu beurteilen und oft keineswegs gegeben. Um so größere Bedeutung kommt hier dem qualitativ erfaßten Gesamtspektrum der Inhaltsstoffe (chromatographischer finger print) für die Stabilitätsbeurteilung zu, wobei die komplexe Zusammensetzung der Naturstoffgemische zu Kompromissen zwingt.

Die zur Zeit im Rahmen der Nachzulassung erfolgende Marktberreinigung können viele traditionell angewandte Naturheilmittel nur dann überleben, wenn für diese Präparate adäquate, für den Verbraucher nützliche Kompromisse gefunden werden. Die notwendige produktspezifische Beurteilung des Einzelfalls erfordert hierbei hohen Sachverstand und eine Beschränkung formaler Zwänge auf das unbedingt notwendige Maß.

Immunmodulation durch Mistelinhaltsstoffe

U. Pfüller

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

Die Diskussion der therapeutischen Wirksamkeit von Mistelpräparaten konzentriert sich gegenwärtig auf das Mistellektin ML I mit seinen cytotoxischen und immunmodulierenden Eigenschaften sowie die toxophoren A-Ketten bzw. die bindende B-Kette dieser Isolektingruppe. In vitro-Untersuchungen mit den Isolektingruppen ML II und ML III und deren Untereinheiten belegen, daß diese Lektine probanden- und dosisabhängig eine Immunstimulation bzw. Immunmodulation bewirken können. Dieser Befund korreliert jedoch nicht mit Ergebnissen cytofluorimetrischer Untersuchungen über Bindungskonstanten und Bindungsvermögen der Mistellektine ML I, ML II und ML III bzw. ihrer B-Untereinheiten mit Zielzellen. Kombinationen der Isolektingruppen lassen bezüglich Immunmodulation und Cytotoxizität sowohl Synergie-Effekte als auch antagonistische Wirkungen vermuten, obwohl bisherige Untersuchungen keine intermolekulare Assoziation der monomeren Lektine vermuten lassen. Erwartungsgemäß haben im zellbiologischen Testsystem anwesende Glykokonjugate und Glykane einen deutlichen Einfluß auf Transport und Bindung der Lektine an die Zellmembran. Das Erscheinungsbild der lektinvermittelten Immunmodulation kann darüberhinaus durch weitere Mistelinhaltsstoffe beeinflusst werden. Das gilt für Oligosaccharide, die stark amphiphilen Viscotoxine, weitere Polypeptide, Glykolipide und einige Glykoside. Eine eigenständige Beeinflussung immunologischer Parameter durch diese Mistelinhaltsstoffe wird vermutet, ist aber nicht ausreichend belegt. Proteasebehandelte Oligosaccharidfraktionen der Mistel zeigten keine Erhöhung der NK-Aktivität und keine Cytokinfreisetzung. Es wird ein Überblick über Befunde zur Immunmodulation durch Mistellektine und Mistelinhaltsstoffe in ihren Wechselbeziehungen gegeben.

MISTELPRÄPARATE : VON DER ZYTOTOXIZITÄT BIS ZUR IMMUNSTIMULIERUNG

G. Ribéreau-Gayon

Laboratoire de Pharmacognosie, Université Louis Pasteur de Strasbourg, Centre de Recherches Pharmaceutiques, 74, route du Rhin, 67401 Illkirch Cedex, France.

Mistelpräparate wirken stark zytotoxisch auf Tumorzellkulturen. Dieser Effekt ist direkt im Mikroskop zu beobachten und verschiedene Methoden erlauben es, sie mit Genauigkeit nachzuweisen. Die Mistelpräparate sind für Tumorzellen zytotoxischer als für normale Zellen.

Mehrere Mistelkomponenten haben zytotoxische Eigenschaften. Die Lektine sind davon die meistuntersuchten; es sind Glykoproteine, die sich an ein Galaktosid der Zellmembran binden. Drei verschiedene Lektine wurden beschrieben: sie durchdringen die Zellen mittels eines spezifischen Mechanismus und führen zum Bruch der ribosomalen RNS, dann zu einem programmierten Zelltod, die Apoptose. Die Lektine bewirken ihre Toxizität bei Konzentrationen unterhalb eines Nanogramms pro ml. Sie bilden Komplexe mit anderen Substanzen und so kann ihre Struktur innerhalb der Mistelpräparate wechseln.

Die Viscotoxine dagegen sind Polypeptide, die zwar ebenfalls zytotoxisch sind, aber die durch andere Mechanismen als die der Lektine wirken. Die Viscotoxine provozieren eine Lyse der Zellmembranen und können so die Wirkung der Lektine ergänzen. Andererseits enthält die Mistel Alkaloide die das Wachstum kultivierter Tumorzellen hemmen können.

Diese *in vitro* Effekte sollten zu einer generellen Toxizität der Mistelpräparate beim Patienten führen. Dies wird jedoch nicht beobachtet. Es wurden im Serum verschiedene glykosilierte Substanzen nachgewiesen, die stark mit den Lektinen reagieren und so deren direkte toxische Effekte verringern. Dazu treten im Blut der Patienten Anti-Lektin Antikörper auf, die zur Neutralisierung der Lektintoxizität führen.

Während der Behandlung der Patienten hat sich gezeigt, daß, je mehr die Mistelpräparate in Kontakt mit dem Tumor kommen, desto stärker die zytotoxische Wirkung wird. Zum Beispiel, im Falle von carcinomatösen Pleuraergüssen befindet sich das Mistelpräparat in direktem Kontakt mit den Tumorzellen, und die Zahl dieser Zellen nimmt stark ab. Dagegen, im Falle eines tiefen Tumors, der sehr stark von Gefäßen durchzogen ist, dringen die Mistelkomponenten sehr schlecht in den Tumor ein, und die zytotoxische Wirkung wird schwächer.

Ein neuer Forschungsansatz für Mistelpräparate besteht in der möglichen Verbindung zwischen Zytotoxizität und Stimulierung des Abwehrsystems. Die Mistel-Lektine stimulieren bei sehr schwachen Konzentrationen unterhalb des Picogrammbereichs pro ml die Produktion der Zytokine in menschlichen Monozytenkulturen. Die drei Lektine wirken auf verschiedene Art. Man kann annehmen, daß die spezifische toxische Wirkung dieser Lektine auf einige Zellen ausreicht, eine Zytokinkaskade auszulösen. Mehrere Zytokine sind bekannt für ihre starke antitumorale Wirkung, darunter hauptsächlich TNF- α . So kann eine schwache Zytotoxizität der Mistelpräparate bei den Patienten eine Verstärkung ihres Immunabwehrsystems bewirken.

75 Jahre Misteltherapie bei Krebspatienten - kritische Zusammenfassung der ärztlichen Erfahrungen

Seit Steiner 1920 in einem Vortragszyklus für Ärzte erstmalig die Mistel als potentiell Krebsheilmittel darstellte, werden Mistelinjektionspräparate in zunehmender Häufigkeit und Akzeptanz bei Krebspatienten angewandt. Die Modalitäten der subkutanen Injektion, der Injektionsintervalle und der Dosierung wurden rein empirisch entwickelt. Dem ersten verfügbaren Mistelinjektionspräparat Iscador® folgte 1938 das Plenosol® und seit Ende der 50er Jahre noch 5 weitere Präparate, die sich alle in der Herstellungsweise, der Wirtsbaumherkunft, der Zusammensetzung und der Dosierung unterscheiden. Trotz dieser Verschiedenheiten gibt es gemeinsame Charakteristika aller Mistelpräparate, die es z. B. der Aufbereitungskommission C beim Bundesgesundheitsamt erlaubten, eine für alle Präparate der anthroposophischen Therapie richtung zutreffende gemeinsame Monographie *Viscum album* zu formulieren. In dieser Monographie sind die jahrzehntelangen ärztlichen Erfahrungen und die wichtigsten Forschungsergebnisse zusammengefaßt. Der Indikationsbereich umfaßt alle Tumoren mit Schwerpunkt bei den soliden Tumoren (Karzinome, Sarkome), und zwar sowohl die Rezidivprophylaxe nach onkologischer Primärtherapie als auch die palliative Behandlung inkurabler metastasierender Tumoren. Dabei werden die klassischen onkologischen Therapieverfahren - Operation, Strahlen-, Chemo- und Hormontherapie - durch die Misteltherapie nicht ersetzt, sondern ergänzt; in der klinischen Erfahrung ist eine bessere Verträglichkeit der Strahlen- und Chemotherapie bei gleichzeitiger Misteltherapie bekannt.

Die Wirkungsweise besteht einerseits in tumorhemmenden Effekten, andererseits in einer Anregung körpereigener Abwehrvorgänge. Die klinische Wirksamkeit zeigt sich am einzelnen Patienten hauptsächlich in einer Besserung der Befindlichkeit bzw. der Lebensqualität, in größeren Kollektiven auch in einer Verbesserung von Überlebensparametern.

Nebenwirkungen wie übermäßige entzündliche Lokalreaktionen an der subkutanen Injektionsstelle, Fieber oder die sehr seltenen pseudoallergischen Reaktionen werden als übermäßige Ausprägung erwünschter immunologischer Reaktionen verstanden und lassen sich durch Dosisreduktion im allgemeinen gut beherrschen. Nur bei echten Mistelallergien muß die Therapie abgesetzt werden, falls nicht eine Desensibilisierung möglich ist. Neben der Mistelallergie gibt es nur noch akut-entzündliche bzw. hochfieberhafte Erkrankungen als Kontraindikation zu beachten, um Exazerbationen zu vermeiden.

Die subkutane Injektion als Regelanwendung zeigt im niedrigen Dosisbereich vor allem immunmodulierende Wirkungen, im hohen Dosisbereich auch tumorhemmende. Am ausgeprägtesten ist die tumorhemmende Wirkung bei der tumornahen bzw. intratumoralen Injektion; aber auch bei der - noch nicht zugelassenen - hochdosierten intravenösen Infusion wird eine tumorhemmende Wirkung angenommen. Dies gilt auch für die intrakavitäre, besonders für die intrapleurale Instillation, die nach den bisherigen Erfahrungen und Untersuchungen bei der überwiegenden Mehrzahl der Patienten zum Rückgang der Ergußbildung führt.

Die Dosisangaben der verschiedenen Präparate in Milligramm beziehen sich auf die zur Herstellung einer Ampulle extrahierte Frischpflanzenmenge. Aufgrund der unterschiedlichen Herstellungsverfahren sind die Dosisangaben der verschiedenen Hersteller nicht äquivalent; nur innerhalb eines bestimmten Präparates von einem definierten Wirtsbaum kann man von einer relativ konstanten Zusammensetzung ausgehen. Bei Wechsel von einem Präparat auf ein anderes muß die Äquivalenz anhand der biologischen Reaktion des Patienten individuell ermittelt werden.

Was die Dosierung betrifft, wird in der anthroposophischen Therapierichtung eine individuelle Dosierung favorisiert, die sich an der entzündlich-immunologischen Reaktion des Patienten orientiert. Die Grundregel ist eine langsame schrittweise Dosissteigerung in der Einleitungsphase, gefolgt von einer Langzeittherapie mit der individuell ermittelten Erhaltungsdosis. Zur besseren Erhaltung der spezifischen Reizwirkung werden Pausen eingeschaltet und/oder eine rhythmische Dosierung durchgeführt; bei metastasierenden Tumoren und während der Strahlen- und Chemotherapie wird pausenlos therapiert.

Die phytotherapeutischen Mistelpräparate, die sich auf die Monographie der Kommission E berufen, wurden früher nach Nekroseeinheiten, neuerdings nach dem Mistellektin-I-Gehalt dosiert. Letzteres Verfahren basiert auf Tierexperimenten mit isoliertem ML-I, deren Übertragbarkeit auf die Therapie beim Menschen mit komplexen Mistelextrakten strittig ist.

Auf das Problem des Wirksamkeitsnachweises in klinischen Studien wird in anderen Beiträgen eingegangen.

Dr. med. D. Schlodder

Erscheinungsbild der Misteltherapie in der Klinischen Onkologie

Dr. Gerwin Kaiser

Arbeitsgruppe "Biologische Krebstherapie"

gefördert von der Deutschen Krebshilfe, Bonn

Medizinische Klinik 5, Klinikum Nord Nürnberg, Flurstr. 17, 90340 Nürnberg

Die Misteltherapie wird in der klinischen Onkologie 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, eigene Anwendung bis hin zur aktiven Forschung.

Viele 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 Anwendung lektin-standardisierter Teilextrakte versus biologisch-standardisierter Gesamtextrakte, 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 über Positiv- und Negativlisten, die gesetzliche Forderung nach Wirksamkeitsnachweisen alteingeführter Präparate, dem Ruf nach Aufklärung der Wirkungsweise.

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 onkologische 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 unvoreingenommen ein klares Bild von dem wahren Nutzen der Misteltherapie für Krebskranke machen möchte, steht vor der Frage, ob er dies durch die Suche nach dem richtigen Experten, dem Sammeln aller Für und Wider, der Betrachtung des Umfeldes, oder nur bei eigener Anwendung findet, ob nun individuell wie der Hausarzt oder in großen prospektiven Studien. Immer bleibt die Frage offen, ob der eingangs eingeschlagene Weg der richtige war, wenn es nicht gelingt, den wirklichen Wert der Misteltherapie zu entdecken, der ihren weitverbreiteten Einsatz rechtfertigt.

Abstract:

4.7.1995

Das therapeutische Wirkprinzip der Mistel: Erfahrungen mit zwei unterschiedlichen Denkansätzen im Rahmen des Projekts „Unkonventionelle Methoden der Krebsbekämpfung“

Dr. J. Teichert und PD Dr. P.F. Matthiessen

Projektbegleitung UMK an der
Universität Witten/Herdecke

Grundsätzlich besteht auf dem Gebiet der Forschungsförderung die Problematik, daß staatliche Mittel meist nach Maßgabe der Gesichtspunkte der Wissenschaftler vergeben werden, die die jeweils vorherrschende gegenwärtige Wissenschaftsauffassung widerspiegeln. Demgegenüber kann es aber andere Ansätze im Wissenschaftsverständnis geben, die sich sowohl in methodischer wie in thematischer Hinsicht davon unterscheiden. Die staatliche Forschungsförderung im Rahmen des Förderschwerpunkts „Unkonventionelle Methoden der Krebsbekämpfung“ (UMK) spiegelt aufgrund der Berücksichtigung eines im universitär-akademischen Bereich nur vereinzelt thematisierten Forschungsgebietes einen Teil des de facto bestehenden Wissenschaftspluralismus in der Bundesrepublik Deutschland wieder. Die mit Fördermaßnahmen im Förderschwerpunkt UMK verbundene Aufgabe, aus einer großen Zahl qualitativ sehr heterogener Ansätze und Anträge die letztlich verfolgenswerten auszuwählen, ist nicht einfach und erfordert Sachkompetenz, Offenheit und Diskursfähigkeit.

Ein aus Ärzten und Fachwissenschaftlern unterschiedlicher Ausrichtungen zusammengesetztes Gutachtergremium des Förderschwerpunkts UMK stellt sich dieser Aufgabe. Seit 1983 fördert das ehemalige BMFT und heutige Bundesministerium für Bildung Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF) in Kooperation mit dem Gesamtprogramm zur Krebsbekämpfung des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) im Rahmen des Förderschwerpunkts UMK. Die Universität Witten/Herdecke ist mit der Projektbegleitung dieses Förderschwerpunkts betraut. Es gehört u.a. zu den Aufgaben der Projektbegleitung, den Antragstellern aus der unkonventionellen Medizin den Zugang zu den Fördermöglichkeiten zu erleichtern, Hilfestellung bei der Antragsformulierung anzubieten, die Ideenskizzen bis zum entscheidungsreifen Antrag zu begleiten und eine Mittlerrolle zwischen dem konventionellen und dem unkonventionellen medizinischen Lager einzunehmen.

Die Misteltherapie bei Krebserkrankungen ist in den vergangenen 12 Jahren auf großes Interesse des Förderers gestoßen und gehört auch weiterhin zu den prioritär verfolgungswerten Themenbereichen. Insgesamt sind 6 Projekte mit dieser Thematik gefördert worden bzw. befinden sich gerade in der Durchführung. Die Erkenntnisse zu den im folgenden aufgeführten Therapieansätzen basieren zu einem guten Teil auf Forschungsergebnissen, die durch Projekte zustande gekommen sind, die mit Mitteln des Förderschwerpunkts UMK finanziert wurden.

Bei Forschern und Ärzten, die Mistelpräparate zur Krebstherapie anwenden, können zwei auf prinzipiell unterschiedlichen Denkansätzen basierende Therapieansätze beobachtet werden. Im **ersten Therapieansatz**, der seit Jahrzehnten bestehenden anthroposophisch orientierten Misteltherapie, wird ein nach einer bestimmten Prozedur hergestellter Gesamtextrakt aus Teilen von Sommer- und Wintermistel verwendet. Dieser Extrakt enthält naturgemäß eine Vielzahl von Inhaltsstoffen, deren bekannteste Lektine, Viscotoxine, Polysaccharide und Alkaloide sind. Es werden synergistische Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Bestandteilen postuliert, die eine Überlegenheit des Gesamtextrakts vor der Monosubstanz bedingen sollen.

Bei dem **zweiten Therapieansatz** wird die Wirkung der Misteltherapeutika auf das Mistellektin I (ML I) zurückgeführt, und es wird nach alter pharmakologischer Tradition über den Zwischenschritt eines auf ML I standardisierten Extraktes die therapeutische Anwendung von ML I als Monosubstanz angestrebt. Diese Therapie basiert auf der Annahme, daß Wechselwirkungen zwischen ML I und anderen Bestandteilen des Extraktes nicht vorkommen bzw. für den Therapieerfolg nicht entscheidend sind.

Diese beiden Ansätze stehen sich polar gegenüber. Es besteht wie in der Vergangenheit Einigkeit bei dem für die Förderempfehlungen zuständigen Gutachtergremium, daß auch in der Zukunft klinische Studien mit Mistelextrakten gefördert werden sollen, und zwar sowohl Studien unter Verwendung von Gesamtextrakten als auch solche mit isolierten Mistellektinen auf der Basis vorliegender Erkenntnisse. Dies spiegelt die sehr bewußt eingenommene Haltung des Gutachtergremiums wieder, sich solange für beide Therapieansätze und somit auch für die dahinter stehenden Denkansätze offenzuhalten, bis die Überlegenheit eines Ansatzes als erwiesen angesehen werden kann.

Experimentelle und klinische Daten zur immunaktiven Wirkung des galaktosid-spezifischen Mistellektins

Beuth, J., Ko, H.L., Pulverer, G.

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität zu Köln,
Goldenfelsstr. 19-21, 50935 Köln

Mistelextrakte wurden bislang von der (Schul)Medizin in die Gruppe Therapeutika mit vermeintlicher, jedoch nicht ausreichend nachgewiesener Wirksamkeit eingeordnet. Die klinische Erfahrung zeigt jedoch, daß gerade den Naturheilmitteln von seiten der Patienten ein bemerkenswerter Vertrauensvorschuß eingeräumt wird. Um zu zeigen, inwiefern diese positive Beurteilung durch die Patienten zu rechtfertigen ist und um eine verantwortungsbewußte Anwendung nach den bekannten (schul)medizinischen/naturwissenschaftlichen Kriterien auszuarbeiten, wurden Mistelpräparate auf ihre Wirksamkeit überprüft. Vor allem durch die Definition der immunaktiven Komponente (galaktosid-spezifisches Mistellektin/Mistellektin-1, ML-1) und Evaluatibon der durch sie bedingten pharmakologischen und immunologischen Reaktionen wird die klinische Anwendung der Mistelpräparate standardisierbar und damit (schul)medizinisch relevant. In den bislang von unserer Arbeitsgruppe durchgeführten Untersuchungen konnte die immunaktive Wirkung des ML-1 eindeutig nachgewiesen werden [1-10]:

- I) in vitro
- signifikant gesteigerte Expression von Aktivierungsmarkern auf mononukleären Immunzellen (u.a. Il-2 Rezeptor:T-Lymphozyten; HLA-DQ Antigen:B-Lymphozyten)
 - signifikant gesteigerte Zytokinsekretion durch mononukleäre Immunzellen (u.a. Il-1, Il-2, IFN- γ , TNF- α)
 - keine Steigerung der Proliferationsrate von Tumorzellen
 - zytotoxische Wirkung auf Tumorzellen (bei höheren Dosierungen) bei fehlender Toxizität gegenüber Normalzellen
 - signifikant gesteigerte Phagozytoseaktivität von Granulozyten (u.a. gegen Stapylococcus aureus)
- II) in vivo (experimentell im murinen Modell)
- signifikant gesteigerte Zellzahl und Aktivität des mononukleären Phagozytensystems (u.a. Milz, Peritonealmakrophagen)
 - signifikant gesteigerte Thymozytenproliferation, -ausreifung und -ausschwemmung
 - signifikant vermehrte Lymphozyten/Monozytenzahl und -aktivität im peripheren Blut
 - signifikanten immunprotektiven Effekt nach immunsuppressiver Behandlung (u.a. Kortison)
 - signifikante antitumorale/antimetastatische Aktivität in mehreren Tumormodellen (u.a. L-1 Sarkom und RAW 117-H10 Lymphozyten, BALB/c-Maus)
- III) klinisch-therapeutisch (bei Tumorpatienten)
- keine nennenswerten Nebenwirkungen
 - signifikante Steigerung definierter Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut (u.a. Helfer T-Zellen, zytotoxische T-Lymphozyten, NK-Zellen)
 - signifikant gesteigerter Aktivitätszustand der Lymphozyten des peripheren Blutes (u.a. Expression von Il-2 Rezeptoren und HLA-DR Antigenen auf T-Zellen)

- signifikanter Anstieg von Akutphaseproteinen im Serum (u.a. CRP, Haptoglobin), induziert durch Sekretion der „inflammatorischen Zytokine“ Il-1 und TNF- α
- signifikanter Anstieg von Serum β -Endorphinen, korrelierend mit gesteigerter Lebensqualität (standardisierter Fragebogen)
- immunprotektiver Effekt unter/nach tumordestruktiven Maßnahmen (Operation, Chemo-/Strahlentherapie)

Eine Immuntherapie mit ML-1 (bzw. mit Mistelextrakten, die auf ML-1 normiert sind) sollte demnach bei Tumorpatienten in Betracht gezogen werden, um durch Steigerung der körpereigenen Abwehr das therapeutische Spektrum zu erweitern. Da die immunaktive Wirkung wässriger Mistelextrakte offenbar überwiegend durch das galaktosidspezifische Mistellektin (ML-1) hervorgerufen wird, sollten aus naturwissenschaftlicher/(schul)medizinischer Sicht Präparationen verabreicht werden, die auf ML-1 normiert sind. Nur so ist die regelmäßige Injektion der optimal immunstimulierenden ML-1 Dosis (1 ng/kg Körpergewicht) möglich, ohne daß schädliche Überdosierungen erfolgen.

Literatur

1. Beuth, J., et al., In Vivo 5 (1991) 29-32.
2. Beuth, J., et al., Clin. Investig. 70 (1992) 658-661.
3. Beuth, J., et al., Med. Klinik 88 (1993) 287-290.
4. Beuth, J., et al., In Vivo 7 (1993) 407-410.
5. Heiny, B.M., et al., Anticancer Res. 14 (1994) 1339-1342.
6. Steuer, M.K., et al., Otorhinolaryngol. Nova 4 (1994) 152-159.
7. Beuth, J., et al., Arzneimittel Forsch./Drug. Res. 44 (1994) 1255-1258.
8. Beuth, J., et al., In Vivo 8 (1994) 989-992.
9. Beuth, J., et al., Onkologie (1995) im Druck.
10. Beuth, J., et al., Zbl. Bakt. (1995) im Druck.

Zur anthroposophischen Menschenkunde des klinischen
Verlaufes der Krebserkrankung unter Misteltherapie

Heinrich Brettschneider, Nagelstr. 2, 70182 Stuttgart

Ausgehend von der Beobachtung eines einzelnen an Krebs erkrankten Patienten wird die anthroposophische Menschenkunde in ihren Grundzügen dargestellt. Diese ist ein konzeptuelles Hilfsmittel, die historisch gegebene Kluft zwischen den subjektiv durch den Patienten erlebten und objektiv durch den Arzt wahrzunehmenden Phänomene zu verringern. Insbesondere wird dabei ausgeführt, welche praktischen Konsequenzen sich aus solchen Beobachtungen und ihrer menschenkundlichen Deutung für die Einleitung und Fortführung der Therapie mit Mistelpräparaten ergeben.

Leben und sterben lassen - DNA-stabilisierende und zytotoxische Effekte von *Viscum album* L.-Extrakten

A.Büssing^{1,3}, M.Schietzel², H.Jungmann¹, K.Schweizer³

¹Krebsforschung Herdecke, Abteilung für Med. Immunologie und ²Abteilung Radiologie/Onkologie, Universität Witten/Herdecke, ³Institut für Med. Immunologie, Klinikum der RWTH Aachen

Viscum album L. (VAL)-Extrakte werden seit Jahren in der adjuvanten Tumor-Therapie eingesetzt. Ihre zytostatischen/zytotoxischen Effekte gegenüber kultivierten Tumorzellen und Lymphozyten sind mehrfach dokumentiert worden. Der Zelltod tritt sowohl infolge einer direkten Zellmembranschädigung auf als auch durch die Induktion des programmierten Zelltodes (Apoptose). In unseren Untersuchungen konnten wir zeigen, daß ein Extrakt aus Apfelbaummisteln (Helixor M) zu einer besonders ausgeprägten Hemmung des [³H]-Thymidineinbaus in die DNA von Lymphozyten gesunder Frauen führte, während die zytostatischen Effekte bei Zellen gesunder männlicher Probanden weniger ausgeprägt waren. Als wichtiger therapeutischer Ansatz wird eine unspezifische Stimulation des Immunsystems durch VAL-Extrakte angesehen. Bei der Behandlung von Patienten mit colorectalen Tumoren und Mamma-Carcinomen mit VAL-Extrakten (Helixor P und Helixor M) konnte in den meisten Fällen eine vermehrte Expression der α -Kette des Interleukin-2-Rezeptors auf CD3+ T-Lymphozyten und eine leichte Vermehrung CD4+ Th-Zellen beobachtet werden. CD8+ Ts/c-Zellen hingegen fielen zahlenmäßig ab oder blieben stabil. Es zeigten sich jedoch deutliche interindividuelle Unterschiede im Ansprechen auf VAL-Extrakte, wobei immer die Tendenz bestand, ein jeweils individuell stabiles Gleichgewicht zu erhalten. Ein wesentlicher Aspekt bei der Behandlung mit VAL-Extrakten könnte die kürzlich von unserer Arbeitsgruppe beschriebene DNA-Protektion sein, die auf die mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) beschränkt zu sein scheint. Die Co-Kultivierung von PBMC gesunder Probanden mit VAL-Extrakten (7-14 μ g/mL Helixor A und Helixor P) führte zu einer signifikanten Reduktion ihrer Schwesterchromatid-Austauschrates (SCE), die als sensibler Indikator für einen DNA-Schaden und Mutagenität angesehen wird. Die SCE-Rate kultivierter Fruchtwasser-Zellen fiel erst nach Zusatz sehr hoher VAL-Konzentrationen ab (200-2000 μ g/mL Iscador P). Um die postulierte antimutagene Potenz weiter zu verifizieren, kultivierten wir PBMC gesunder Probanden mit dem alkylierenden Zytostatikum Cyclophosphamid (CP). Die anschließend beobachtete Induktion von SCE und Depression der Rezeptoren für Interleukin-2 und Transferrin auf der Oberfläche der T-Zellen ließ sich durch einen wässrigen VAL-Extrakt (10 μ g/mL Helixor A) signifikant bessern. Obschon das Mistel-Lektin I (ML I) als wichtigste biologisch aktive VAL-Komponente propagiert wird, konnte durch Zusatz isolierter VAL-Komponenten wie ML I, ML II/III oder durch Viscotoxine keinerlei Besserung der CP-induzierten Aktivierungsmarker-Depression erzielt werden. Diese Beobachtungen sind jedoch nur dann von klinischer Relevanz, wenn die protektive Wirkung von VAL-Extrakten selektiv für normale PBMC und nicht für maligne Zellen ist. VAL-induzierte protektive Effekte ließen sich jedoch bei kultivierten leukämischen Zellen zweier Patienten mit B-CLL und der T-Zell-Linie Jurkat nicht erzielen. Nach einer Kulturdauer von 144 h zeigten die Jurkat-Zellen nach gemeinsamer Applikation von CP und VAL sogar einen additiven zytotoxischen Effekt. Unter Berücksichtigung dieser Beobachtungen könnte daher die adjuvante Gabe von VAL-Extrakten während und nach konventioneller Chemotherapie ein sinnvoller therapeutischer Ansatz bei der Behandlung von Tumor-Patienten sein.

Viscum album (L.) zeigt Nutationsbewegungen, die mit synchronen Meristemdifferenzierungen zu vegetativen und generativen Organen zeitverschoben korrelieren.

Rolf Dorka,
Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof,
75223 Niefern-Öschelbronn, Tel. 07233/68410, Fax 68413

Während der drei bis vier Jahre dauernden vegetativen Entwicklung, d.h. vor der ersten Blüteninduktion, wächst *Visum album* (L.) monopodial und negativ geotrop. Durch die Induktion des ersten Blühimpulses wird ein scheindichotomes Wachstum erzeugt. In jeder folgenden Vegetationsperiode beginnt der Gabelsproß negativ geotrop zu wachsen und es folgen nun ca. 28 Tage dauernde Nutationsbewegungen. Die Bewegungsänderungen der Gabelsprosse können zwar zeitlich synchron einsetzen, sind in ihrer Raumesrichtung und beschriebener Strecke pro Zeiteinheit jedoch sehr unterschiedlich. Die Pendelbewegungen enden mit der Einordnung der Gabelsprosse in die Kugelgestalt des Mistelbusches, d.h. vom eigenen Zentrum in alle Raumesrichtungen. Diese Nutationsbewegungen treten niemals in der vegetativen "Jugendform" auf. Der negative Geotropismus wird also über die Pendelbewegung überwunden. Die Nutationsbewegungen zeigen sich im Sommer bis Ende Juni. Die Ausbildung der vegetativen Organe ist bis Juli weitgehend abgeschlossen. Die Untersuchungen wurden über fünf Jahre mit Zeitrafferaufnahmen dokumentiert.

Die Meristemdifferenzierung zu diesen nutierenden Gabelsprossen hat bereits im Winter der vergangenen Vegetationsperiode eingesetzt (ca. Ende Februar also 16 Monate früher). Das besonders bezeichnende für *Viscum album* (L.) ist die synchrone Meristemdifferenzierung zu vegetativen und generativen Organanlagen.

Histologisch wurde die synchrone Anlage vegetativer und generativer Organe nachgewiesen und ihre weitere Ausdifferenzierung belegt. So zeigt sich bei der Ausbildung der generativen Organe die weitere Besonderheit, daß in der zweiten Vegetationsperiode schon im Oktober beim männlichen Pollen das Dreikernstadium erreicht ist und damit der ebenfalls zu dieser Zeit voll entwickelte Embryosack befruchtet werden könnte. Die Befruchtung findet dann allerdings erst im Februar statt.

Randomisierte klinische Studien zur Misteltherapie bei Krebs: Ergebnisse, Erfahrungen und Perspektiven

Lutz Edler

Biostatistik-0820, Deutsches Krebsforschungszentrum
Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg
(edler@dkfz-heidelberg.de)

In der Praxis der Behandlung von Krebserkrankungen werden sehr verschiedene Verfahren eingesetzt. Dies reicht von direkten Verfahren der Chirurgie und Radiologie bis zu so indirekten Verfahren wie Gesprächs- und Musiktherapie. Entsprechend unterschiedlich sind die Methoden ihrer Entdeckung, Entwicklung, der Nachweis ihrer Wirkung und ihrer Wirksamkeit, ihre Indikationsbereiche und der Grad ihrer Etablierung in der Behandlung von Krebspatienten. Wie die Chemotherapie (einschließlich Hormontherapie) gehört die Misteltherapie zu den medikamentösen Behandlungen, die dadurch gekennzeichnet sind, daß eine Substanz nach einem festgelegten Schema über einen bestimmten Zeitraum verabreicht wird. Suche, Entdeckung, Entwicklung, Wirksamkeitsnachweis und Zulassung neuer medikamentöser Behandlungen erfolgt heute nach den Methoden, Regularien und Vorschriften der Arzneimittelzulassung. Die wissenschaftliche Methodik ist dabei bestimmt von dem Konzept der klinischen Studien (vgl. Pocock, 1983), welche für die Misteltherapie genauso anwendbar sein sollte wie für jede andere medikamentöse Behandlung (vgl. Edler, 1990). In diesem methodischen Konzept hat die prospektive randomisierte kontrollierte Studie eine ganz wesentliche Funktion für den Wirksamkeitsnachweis: Eine (neue) Therapie wird als wirksam angesehen, wenn sie einer Placebo- oder Standardkontrolle überlegen oder zu einer Standardtherapie äquivalent ist. Die Planung und Durchführung basiert hierbei auf statistischen und biometrischen Methoden und Prinzipien.

Die Misteltherapie wird in Bezug auf ihre Wirksamkeit bei Krebserkrankungen nach wie vor kontrovers diskutiert und ein Nachweis ihrer Wirksamkeit erscheint noch nicht erbracht bzw. in der wissenschaftlichen medizinischen Fachwelt noch nicht akzeptiert. Aus diesem Grund ist eine Bestandsaufnahme und kritische Würdigung der Ergebnisse aus prospektiven randomisierten klinischen Studien, welche Mistelpräparate in mindestens einem Therapiearm geprüft haben außerordentlich wichtig. Neben der Frage nach den Ergebnissen von bisher vorliegenden Studien sind auch die Erfahrungen von Interesse, die bei der Planung und Durchführung dieser Studien gemacht wurden. Für eine solche Bestandsaufnahme wurde nach prospektiven kontrollierten und

randomisierten klinischen Studien gesucht ohne Einschränkungen bezüglich der Vergleichstherapien und der Studienform (multizentrisch, Placebo kontrolliert, Verblindung etc.). Gleichzeitig standen die Ergebnisse und Erfahrungen aus einer eigenen randomisierten Studie, der BAR-Studie (Dold et al, 1991), zur Verfügung. Insgesamt konnten so bisher 8 Studien gefunden werden, welche eine Misteltherapie (6 mal Iscador, 2 mal Helixor) prospektiv mit einer anderen Behandlungsform verglichen (Tabelle 1).

Die von der Bundesversicherungsanstalt für Angestellte bei der Bundesarbeitsgemeinschaft für Rehabilitation in Auftrag gegebene BAR-Studie wurde an vier Kliniken durchgeführt und im Institut für Dokumentation, Information und Statistik am DKFZ ausgewertet. Sie sollte wissenschaftliche Fakten über die Wirksamkeit von Iscador -einem Mistelpräparat- und Polyerga -einem aus Schafsmilzen gewonnenen Präparat- als Zusatztherapeutika bei Krebsbehandlungen liefern. Die beim fortgeschrittenen in-operablen nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom durchgeführte Studie benötigte mehr als neun Jahre, bis auf der Grundlage von 337 auswertbaren Fällen Aussagen über Tumorrückbildung, Überlebenszeit und subjektives Wohlbefinden der Patienten statistisch fundiert getroffen werden konnten. Weder Iscador noch Polyerga konnten in statistisch signifikanter Weise die Überlebenszeit verlängern oder das Tumorverhalten positiv beeinflussen (Abbildung 1). Allerdings gaben die mit Iscador behandelten Patienten statistisch signifikant häufiger eine zeitweilige subjektive Besserung ihres Befindens an. Einzelheiten der Ergebnisse dieser unseres Wissens bisher umfangreichsten randomisierten klinischen Studie zur Misteltherapie soll vorgestellt werden. Die bei der Durchführung dieser Studie gemachten Erfahrungen werden unter den Gesichtspunkten Teilnahmebereitschaft von Kliniken, Mitarbeit der Ärzte, Mitarbeit und Compliance der Patienten, Druck aus der Öffentlichkeit, Schwierigkeiten der Veröffentlichung diskutiert. Die bisherigen Erfahrungen mit randomisierten klinischen Studien zur Misteltherapie können wie folgt zusammengefaßt werden:

- es liegen trotz der über Jahrzehnte zur Mistel geführten Diskussion bisher nur wenige Studien vor,
- die vorliegenden Studien sind nicht ausreichend für den Nachweis einer Wirksamkeit,
- weitere Studien sind wünschenswert, auch für die Patienteninformation,
- große Studien tragen enorme Risiken bezüglich Akzeptanz des Designs und zuverlässige Mitarbeit,
- kleinere und auch uni-zentrische Studien erscheinen erfolgversprechend,
- eine Kombination verschiedener Studien, ihr Review und ihr Monitoring durch eine anerkannte Institution ist wünschenswert und notwendig.

Literatur

Dold U, Edler L, Mäurer H Ch, Müller-Wening D, Sakellariou B, Trendelenburg F, Wagner G (1991): Krebszusatztherapie beim fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom. Multizentrische kontrollierte Studie zur Prüfung der Wirksamkeit von Iscador und Polyerga. G. Thieme, Stuttgart.

Douwes FR, Wolfram I, Migeod F (1985): Ergebnisse einer prospektiv randomisierten Studie: Chemotherapie versus Chemotherapie plus 'Biological Response Modifier' bei metastasierendem kolorektalen Karzinom. Manuskript..

Edler L (1990): Medizinische Erkenntnisgewinnung durch klinische Studien - Schwierigkeiten und Möglichkeiten der Misteltherapie. In: Krebs und Alternativmedizin II. Jungi WF et al (Eds.). Springer, Berlin. 114-128.

Hassauer W, Gutsch J, Burkhardt R (1979): Welche Erfolgsaussichten bietet die Iscadorthherapie beim fortgeschrittenen Ovarial Karzinom. *Onkologie* 2, 28-36.

Kienle G (1981): Die Misteltherapie des Mammakarzinoms. *Z. Allg. Med.* 57, 328-337 vgl. R. Hartenstein. *Anthroposophische Krebstherapie: Klinische Forschung* 216-222.

Pocock (1983): *Clinical Trials. A practical approach.* Wiley, Chichester.

Salzer G (1981): Adjuvante Misteltherapie bei Krebserkrankung. Erfahrungen aus dem Ludwig-Boltzmann Institut für klinische Onkologie. *ZFA* 57, 323-327.

Salzer G & Denck H: Randomized study of prophylactic 5-Fluorouracil and Iscador treatment of patients with respected gastric carcinoma. Interim Results. *Krebsgeschehen* 11, 130-1.

Salzer G & Havelec L (1978): Rezidivprophylaxe bei operierten Bronchuskarzinom-Patienten mit dem Mistelpräparat Iscador. Ergebnisse eines klinischen Versuchs aus den Jahren 1969-1971. *Onkologie* 1, 264-267.

Salzer G & Havelec L (1983): Adjuvante Iscador-Behandlung nach operiertem Magenkarzinom. *Krebsgeschehen* 15, 106-110.

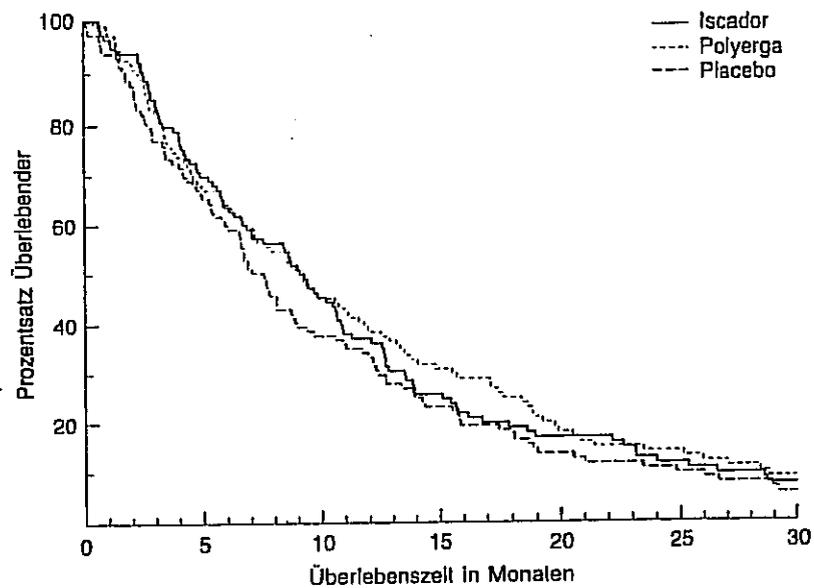


Abbildung 1: Überlebenskurven der zwei Behandlungsgruppen Iscador, Polyerga und der Pseudo-Placebogruppe (Multivitamin-Präparat) der BAR-Studie beim in-operablen, fortgeschrittenen, nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom.

Tabelle 1: Bisher bekannt gewordene prospektive kontrollierte klinische Studien, welche in mindestens einem Therapiearm Mistel prüften. In einigen Fällen sind noch die Fallzahlen zu nachzusehen.

<u>Tumor</u>	<u>Quelle</u>	<u>Therapie</u>	<u>Anzahl Patienten</u>
<u>Randomisiert</u>			
Lunge	Salzer (1981)	Iscador	12
		unbeh. Kontrolle	14
Magen	Salzer & Denck (1979)	Iscador	62
		5-FU	64
		unbeh. Kontrolle	109
Kolon/ Rektum	Douwes et al (1985)	5-FU + Folinsäure	20
		5-FU + Folins. + Helixor	20
		5-FU + Folins. + Nec Tumoria	20
Mamma adjuvant	Salzer et al (1987)	Iscador Radiatio	155
BAR-Studie	Dold et al (1991)	Isacdor	114
		Polyerga	110
		Pseudo-Placebo	113
<u>Nicht randomisiert bzw. Randomisation unklar</u>			
Mamma	Kienle (1981)	Helixor Chemotherapie Radiatio	?
Lunge	Salzer & Havelec (1978)	Iscador	37
		unbeh. Kontrolle	40
Ovar	Hassauer et al (1979)	Iscador Cytoval	?

Direkte zytotoxische Effekte von Mistelextrakten an humanen Tumorexografts im Kolonieassay und in der Nacktmaus

H.H. Fiebig und M. Drees

Medizinische Klinik, Abt. Hämatologie/Onkologie, Universität Freiburg, Hugstetter Straße 55, 79106 Freiburg

Die Therapie von Tumorerkrankungen mit Mistelpräparaten, Organextrakten oder Thymuspräparaten wird unter dem Begriff unkonventionellen Methoden in der Krebstherapie zusammengefaßt. Dabei haben die Mistelpräparate einen hohen Stellenwert, hauptsächlich als adjuvante Therapie nach der Operation. Die Wirkung der Mistelpräparate kann einerseits auf direkten zytotoxischen Effekten beruhen oder auf einer stimulatorischen Wirkung auf Effektorzellen des Immunsystems. Wir haben die direkten zytotoxischen Effekte der Mistelextrakte Iscador, Helixor und ABNOBaviscum mali (ABN-M) sowie weitere ABNOBaviscum Präparate von verschiedenen Wirtsbäumen wie abietis, fraxin oder quercus usw. untersucht. In einem Tumorpanel von 6 bis 40 humanen Tumorexografts wurden die Mistelextrakte in vitro untersucht und die sensitivsten Tumoren in vivo in der Nacktmaus. Drei verschiedene Dosisstufen wurden in vitro getestet, wobei sie per Dauerinkubation, je nach Zellwachstum zwischen 6 und 14 Tagen inkubiert wurden. Als Kriterium für Aktivität wurde eine Koloniehemmung auf kleiner 30% der Kontrolle ($T/C < 30\%$) gefordert. Die klinisch eingesetzten Standardzytostatika sind alle bei Dosen $< 10\mu\text{g/ml}$ aktiv. Helixor und Iscador waren bei der Dosis von $10\mu\text{g/ml}$ nur in 1/44 bzw. 0/44 Tumoren aktiv. Dagegen bewirkte ABN-M eine deutlich höhere Zytotoxizität: bei der Dosis von $5\mu\text{g/ml}$ war ABN-M in 20/44 Tumoren aktiv. Neuere in vitro Untersuchungen von Extrakten aus verschiedenen Wirtsbäumen identifizierten das Fraxini-Präparat (ABN-F) als das potenteste Mistelpräparat. Weitere Vergleiche verschiedener Aufarbeitungs- und Stabilisierungsmethoden führten zu einem optimierten Präparat (ABN-OP1), extrahiert aus dem Wirtsb Baum Fraxini. Breite Untersuchungen in vitro zeigten eine bessere Wirkung des optimierten Präparats ABN-OP1 im Vergleich zu dem Präparat

ABN-M. ABN-OP1 war bei der Dosis von $5\mu\text{g/ml}$ in 11/29 Tumoren aktiv, wohingegen ABN-M unter gleichen Bedingungen nur in 7/29 Tumoren aktiv war. Die mittlere IC70 (die Konzentration welche das Koloniewachstum auf 30% der Kontrolle reduziert) aller 29 untersuchten Tumoren lag für ABN-OP1 bei $10,2\mu\text{g/ml}$ dagegen für ABN-M bei $16,7\mu\text{g/ml}$.

Nachfolgend wurden die sensitivsten Tumoren in vivo untersucht mit den Präparaten ABNOBaviscum mali (ABN-M) und - quercus (ABN-Q). Nach tumorferner subkutaner Applikation wurde keine signifikante Tumorchemmung beobachtet. Dagegen bewirkte die intratumorale Applikation von 0.05 bis 0.2mg/Tumor eine komplette Tumorregression in einem humanen Mammatumor sowie einem kleinzelligen Lungenkarzinom. Ein partielle Tumorregression wurde in einem humanen Melanom beobachtet. Die histologischen Untersuchungen am Tumor ergaben massive Nekrose nach Therapie. Weitere in vivo Untersuchungen speziell mit dem optimierten Präparat ABN-OP1 werden zur Zeit durchgeführt. Die oben beschriebenen Ergebnisse zeigen einen deutlichen zytotoxischen Effekt der ABNOBaviscum Präparate sowohl in vitro als auch in vivo. Die Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit klinischen Erfahrungen in der lokalen Behandlung von Pleuraergüssen.

Niedrig dosierte Misteltherapie bei niedrig malignem Non-Hodgkin-Lymphom

- Eine Fallbeschreibung -

Dr. A. Goyert, Filderklinik, 70794 Filderstadt

Zusammenfassung:

Anders als bei den soliden Tumoren bestehen bei der Misteltherapie der Lymphomkrankung hinsichtlich der Dosierung und Injektionshäufigkeit Unsicherheiten und ganz unterschiedliche Vorgehensweisen.

Berichtet wird über den Krankheitsverlauf einer 56-jährigen Patientin mit zentrozytisch-zentroblastischem Lymphom, bei der im Januar 1988 rechts infraorbital die Diagnose des niedrig malignen NHL gestellt wurde. Nach Bestrahlung des Gesichtsschädels und der cervikalen Lymphknoten trat im Juni 1989 eine Lymphomprogredienz links paraaortal auf, die ebenfalls bestrahlt wurde. Seit Februar 92 zunehmende Progredienz des NHL bds. hilär und intrapulmonal. Januar 93 stationäre Behandlung in der Filderklinik und Beginn einer niedrig dosierten Misteltherapie mit Helixor A. Bei täglich s.c. Injektionen wurde die Dosis wöchentlich von anfangs 1 mg über 3 mg, 5mg, 7 mg bis 10 mg gesteigert, mit anschl. zweiwöchiger Pause. Unter dieser Therapie Besserung des Allgemeinbefindens, Verschwinden der Dyspnoe und kontinuierliche vollständige Rückbildung der hilären und intrapulmonalen Lymphommanifestation. Im April 94 0,8 cm großer Knoten links infraclaviculär, der histologisch nochmals ein zentrozytisch-zentroblastisches Lymphom ergab. Bis heute ist die Patientin völlig beschwerdefrei. Eine Progredienz ist nicht mehr nachweisbar gewesen.

Folgen von Immunstimulierung für die Metastasierung

Michael Hafner, Peter Orosz und Daniela N. Männel

Institut für Pathologie/Tumorimmunologie, Universität Regensburg, 93042

Regensburg

Im Rahmen der adjuvanten Tumorthherapie wird die Behandlung von Tumorpatienten mit Mistelextrakten durchgeführt. Die Wirksamkeit der Mistelpräparate soll auf Immunstimulierung beruhen (1,2). Unter anderem zeigt das aus Misteln isolierte β -galaktosid-spezifische Lektin (ML-1) immunmodulatorische Fähigkeiten, indem es *in vitro* und *in vivo* in menschlichen Blutlymphozyten eine erhöhte Produktion der Entzündungsmediatoren Tumornekrosefaktor (TNF), Interleukin-1 (IL-1) und IL-6 induziert (3,4). Eine erhöhte Expression von IL-2 Rezeptoren und HLA-DR Antigenen auf T- und B-Zellen sind Folgen dieser Behandlung. Weiter findet man die Zytotoxizität von natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und die Phagozytosefähigkeit von Granulozyten erhöht.

In einem Modell für experimentelle und spontane Metastasierung untersuchten wir die Wirkung der Entzündungsmediatoren TNF und IL-1 (5,6). Dabei wurde deutlich, daß TNF und IL-1 die Metastasierung von Tumorzellen erhöhen. Der Mechanismus dieser Metastasierungsverstärkung wurde analysiert. Da eine Vorbehandlung der Tumorzellen mit Entzündungsmediatoren zu keiner Erhöhung der Metastasenzahl führte, ist eine direkte Wirkung auf die Tumorzellen unwahrscheinlich. Die Erhöhung der Metastasenzahl wird durch eine Wirkung auf den Wirts-Organismus vermittelt. Unter Verwendung von blockierenden Antikörpern oder Peptiden, die gezielt Adhäsionsmoleküle blockieren oder eine Eliminierung bestimmter Zellpopulationen z. B. NK-Zellen bewirken, kann die Beteiligung bestimmter Moleküle oder Zellpopulationen systematisch untersucht werden. Integrine sind an einer Vielzahl von Wechselwirkungen zwischen Zellen und Extrazellulärmatrix beteiligt. Durch Injektion von synthetischen Peptiden (RGD, YIGSR) können Wechselwirkungen der β -Integrine blockiert werden. In Mäusen, bei denen die β -Integrin-Wechselwirkungen auf diese Weise blockiert wurden, wirkte TNF nicht mehr metastasierungsfördernd. Die Beteiligung von Integrin-Wechselwirkungen für die TNF-unterstützte Metastasierung ließ sich auf diesem Wege nachweisen, was auf eine Beeinflussung der Entzündungsmediatoren auf die Tumorzellextravasation hinweist. Der genaue Mechanismus läßt sich jedoch wegen der Komplexität der Integrin-Wechselwirkungen daraus nicht ableiten.

Entzündungsmediatoren wie TNF und IL-1 aktivieren Endothelzellen, indem sie u.a. die Expression und Aktivierung von Adhäsionsmolekülen anregen. Als Folge haften Tumorzellen besser an das Gefäßendothel, was der Grund für die Begünstigung der Metastasenbildung sein könnte. Die Bedeutung bestimmter Adhäsionsmoleküle wurde mit Hilfe blockierender Antikörper untersucht. Die Gabe von Antikörpern gegen die Adhäsionsmoleküle VCAM-1, PECAM-1, E-Selektin und P-Selektin veränderte das Metastasierungsverhalten nicht. Die Behandlung mit TNF führte im Gegensatz zu den Ergebnissen bei Blockade der β -Integrin-Bindungen zu einer Erhöhung der Metastasenzahl. Eine Beteiligung dieser Adhäsionsmoleküle am oben dargestellten Mechanismus der verstärkten Adhäsion kann als Grund für verstärkte Metastasierung deshalb ausgeschlossen werden.

Das NK-System vermag ohne vorangehende Aktivierung Tumorzellen zu erkennen und zu lysieren. Die Bedeutung der NK-Zellen bei der Abwehr im Blut zirkulierender Tumorzellen ist unbestritten und wird durch die verstärkte Metastasierung in Mäusen, die ein defektes NK-System haben, deutlich. Die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen wird durch Antikörper gegen die Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und LFA-1 gehemmt, was die wichtige Rolle von ICAM-1 und LFA-1 für die NK-abhängige Tumorabwehr zeigt. Durch TNF wird die NK-Aktivität ebenfalls vorübergehend stark gehemmt (7). Da Behandlung von Mäusen mit Antikörpern gegen ICAM-1 und LFA-1 genau wie TNF-Behandlung zu einer Erhöhung der Metastasenzahl führte, wurde die Hypothese, daß TNF das NK-System stört und dadurch eine Erhöhung der Metastasenzahl bewirkt, aufgestellt. Wie erwartet, war in Mäusen, deren NK-Zellen entfernt worden waren, die Anzahl der Metastasen drastisch erhöht und es lies sich in derart NK-Zell-depletierten Mäusen mit TNF auch keine Erhöhung der Metastasenzahl mehr induzieren.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Entzündungsmediatoren einerseits durch Verstärkung der Interaktion von Tumorzellen mit Extrazellulärmatrix über β -Integrine die Extravasation erleichtern. Andererseits wirkt TNF vorübergehend hemmend auf das NK-System und verbessert so die Metastasierungschancen für Tumorzellen. Die effizientere Extravasation resultiert jedoch nur dann in einer verstärkten Metastasierung, solange die im Blut zirkulierenden Tumorzellen durch funktionelle NK-Zellen gefährdet sind.

Wie eine Behandlung mit Mistelpräparaten bei gleichzeitiger Induktion von Entzündungsmediatoren eine verstärkte NK-Aktivität zur Folge haben kann, läßt sich aufgrund unserer Daten aus den Metastasierungsversuchen nicht erklären und muß auf unabhängigen Mechanismen beruhen. Die Induktion der Entzündungsmediato-

ren TNF und IL-1 führte in unseren Modellsystemen nicht zu einer Hemmung, sondern im Gegenteil zu einer gesteigerten Metastasierung. Diese für die Therapie unerwünschte Wirkung müßte durch weitere, bisher nicht untersuchte, stärkere Effekte der Aktivierung des NK-Systems durch die Mistelpräparate aufgehoben werden, um zu einem Therapieerfolg zu führen. Unsere Untersuchungen in klinischen Studien bezüglich der NK-Aktivität zeigten tatsächlich, daß durch TNF langfristig die NK-Aktivität erhöht wird (8). Demnach müßte es das Ziel einer Therapie sein, diesen Langzeiteffekt unter gleichzeitiger Verhinderung der metastasierungsfördernden Wirkung der induzierten Entzündungsmediatoren zu erreichen.

Referenzen:

1. Bocci, V. 1993. Mistletoe (*viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. A review. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 7:1.
2. Gabius, H. J., S. Gabius, S. S. Joshi, B. Koch, M. Schroeder, W. M. Manzke, and M. Westerhausen. 1994. From ill-defined extracts to the immunomodulatory lectin: will there be a reason for oncological application of mistletoe? *Planta Med.* 60:2.
3. Hajto, T., K. Hostanska, K. Frei, C. Rordorf, and H. J. Gabius. 1990. Increased secretion of tumor necrosis factors alpha, interleukin 1, and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to beta-galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res.* 50:3322.
4. Männel, D. N., H. Becker, A. Gundt, A. Kist, and H. Franz. 1991. Induction of tumor necrosis factor expression by a lectin from *Viscum album*. *Cancer Immunol. Immunother.* 33:177.
5. Orosz, P., B. Echtenacher, W. Falk, J. Rüschoff, D. Weber, and D. N. Männel. 1993. Enhancement of experimental metastasis by tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.* 177:1391.
6. Orosz, P., A. Krüger, M. Hubbe, J. Rüschoff, P. von Hoegen, and D. N. Männel. 1995. Promotion of experimental liver metastasis by tumor necrosis factor. *Int. J. Cancer* 60:867.
7. Kist, A., A. D. Ho, U. Räth, B. Wiedenmann, A. Bauer, E. Schlick, H. Kirchner, and D. N. Männel. 1988. Decrease of natural killer cell activity and monokine production in peripheral blood of patients treated with recombinant tumor necrosis factor. *Blood* 72:344.
8. Männel, D. N., A. Kist, A. D. Ho, U. Räth, P. Reichardt, B. Wiedenmann, E. Schlick, and H. Kirchner. 1989. Tumour necrosis factor production and natural killer cell activity in peripheral blood during treatment with recombinant tumour necrosis factor. *Br. J. Cancer* 60:585.

Die prognostische Bedeutung von Immunprofilen in der Onkologie

E. D. Hager, BioMed-Klinik, Tischberger Str. 5+8, 76887 Bad Bergzabern

edh\manus\immunpr-06/95

Die prognostische Bedeutung von Immunprofilen bei HIV-/AIDS-Patienten ist allgemein anerkannt; insbesondere ist das Verhältnis der CD4+/CD8+-Zellen ein diagnostisches Kriterium, das einen Progress der Erkrankung und die damit verbundenen infektiösen Risiken anzeigt. Auch die Bedeutung der Immunkompetenz während einer Operation ist eindeutig; die Infektionsrate und die Mortalität infolge fieberhafter Infekte steigt postoperativ mit zunehmender Immundefizienz. Experimentielle Befunde zeigen, daß das Metastasierungsrisiko bei immundefizienten Tieren sowohl nach Tumorinokulation als auch nach einer Tumorexstirpation signifikant ansteigt.

In der Literatur gibt es zahlreiche Hinweise, die einen signifikanten prognostischen Zusammenhang zwischen der Funktionsfähigkeit des Immunsystems und der Rezidivrate sowie der Überlebenszeit zeigen („immune surveillance“). Zusammenhänge zwischen einer primären und sekundären Immunsuppression und dem Auftreten von malignen Erkrankungen wurde für diverse Tumortypen vielfach beschrieben. Auch Zusammenhänge zwischen der Progression einer Krebserkrankung (Metastasierung, Wachstum) und dem Immunsystem sind bekannt. Dennoch ist die Bedeutung des Immunstatus bei Krebs noch nicht allgemein anerkannt und es gibt noch viele Kontroversen. Dies liegt hauptsächlich daran, daß die Zusammenhänge zwischen diversen Veränderungen des humoralen und zellulären Immunsystems und Krebserkrankungen viel komplexer ist, als zum Beispiel bei definierten immunologischen Defekten einer oder weniger Subpopulationen, wie z. B. bei AIDS. Verschiedene Formen von Krebs führen zu unterschiedlichen Veränderungen in der Kontrolle und Aktivität des Immunsystems. Einige Tumoren sind hochimmunogen, andere weniger; einige Tumoren verursachen eine Immunsuppression, andere führen zu einer Überaktivierung. Die Kinetik, die zirkadiane Rhythmik und die Präparation der Proben haben außerdem einen Einfluß auf die Ergebnisse. Das hat dazu geführt, daß in der Literatur nicht selten verschiedene kontroverse Ergebnisse und Schlußfolgerungen gezogen worden sind.

Die Fragen an die Immunologie in bezug auf Krebs lauten:

- (i) Gibt es überhaupt Veränderungen im Immunstatus bei Krebspatienten?
- (ii) Gibt es Prognosekriterien bei Krebs?
- (iii) Welches sind die relevanten immunologischen Parameter?
- (iv) Gibt es eine therapeutische Relevanz und besteht die Möglichkeit, anhand der Meßergebnisse eine Auswahl von Immunstimulanzien und Immunmodulatoren zu treffen?

Es besteht kein Zweifel, daß der Immunstatus einen relevanten Einfluß auf die Prognose der Erkrankung von Patienten nach einer Operation, Strahlen- oder Chemotherapie hat. Infektionen und Tod infolge von Infektionen sind bei Patienten mit Immundefizienzen signifikant erhöht. Die Abwehrlage hat aber auch einen signifikanten Einfluß auf die Rezidivrate und die Überlebenswahrscheinlichkeit von Krebspatienten, insbesondere bei Lungenkrebs, Magenkrebs, Zervix-Carcinomen und bei lymphoproliferativen Erkrankungen.

Pflanzliche und tierische Peptide bzw. Proteine sind in der Lage, das Abwehrsystem zu aktivieren und zu modulieren. In randomisierten klinischen Studien konnte nicht nur gezeigt werden, daß die Immunstatus mit Biological Response Modifiers verbessert werden können, sondern, daß sie auch einen Einfluß auf die Lebensqualität und Lebenserwartung von Patienten haben.

Immunologische Resultate von Doppelblindstudien mit Mistellektin-I (ML-I) bei gesunden Probanden.

T. Hajto*, K. Hostanska*, J. Fischer **

*Dep. Innere Medizin Universitätsspital Zürich, Schweiz.

**Dep. Biochemie, Albert Szent-Györgyi Medizinische Universität, Szeged, Ungarn.

Injektion von nicht toxischen Dosierungen vom galaktosidspezifischen Mitellektin-I (ML-I) löste signifikante Reaktionen des zellulären Hostdefense-Systems im Tiermodell aus. Die immunmodulierende Kapazität vom ML-I bei den Menschen zu prüfen, wurden vier Doppelblindstudien bei gesunden Probanden durchgeführt. Für die erste und zweite Studie wurde das Lektin aus kommerziellen Extrakten isoliert. Die Wirkung des Lektins wurden auf verschiedene Lymphozyten-Subpopulationen (CD3, CD4, CD8, CD16/56), zytotoxische Aktivität der NK-Zellen und die Zahl der IGL-Zellen im peripheren Blut von 9 und 8 Probanden bestimmt. Im Kontrast zu den signifikanten Erhöhungen der Lymphozytenzahl bei Balb/c-Mäusen, zeigten die gesunden Probanden keine signifikante Unterschiede zwischen Lektin und Kochsalzreaktionen. Wegen der grossen intrinsic Fluktuation von diesen Parametern nach Placebo-Behandlung und einer immunologischen Instabilität des Lektins in kommerziellen Extrakten, wurden dritte und vierte Doppelblindstudien bei 6 und 8 gesunden Probanden durchgeführt. Ein schnell erfassbarer Parameter (Priming der Granulozyten) wurde 5 Std nach den Injektionen getestet. In beiden Studien wurden signifikante Erhöhungen von Priming der Granulozyten nach der Injektion von frisch isoliertem ML-I gegenüber Placebokontrollen festgestellt.

Reaktivität von T-Lymphozyten gegen Mistel-Inhaltsstoffe

S. Hartmann, A. Scheffler[#] und D. Kabelitz
 Paul-Ehrlich-Institut, 63225 Langen; [#]Carl-Gustav-Carus-Institut, 75223 Niefern-Öschelbronn

Immunmodulation wurde in der bisherigen *in vivo* und *in vitro* Forschung nur dem Mistellektin und den Polysacchariden zugeschrieben. In unserer Arbeit zeigen wir daß auch die Vesikelfraktion das zelluläre Immunsystem *in vitro* stimulieren kann.

Therapeutisch verwendete Mistelpräparate (ABNOBA viscum mali und abietis) induzieren in etablierten Tumorzelllinien programmierten Zelltod oder Apoptose. Ebenso wirken Mistelpräparate inhibitorisch auf die Aktivierung von menschlichen T-Lymphozyten in der Gewebekultur.

Patienten bilden im Verlauf der Misteltherapie Antikörper gegen das zytotoxische Mistellektin I. Setzt man dieses autologe Patientenplasma bei der Lymphozytenstimulation in der Gewebekultur zu, proliferieren bei vielen mistelbehandelten Patienten die Lymphozyten nach Stimulation mit Mistelextrakten oder der Vesikelfraktion.

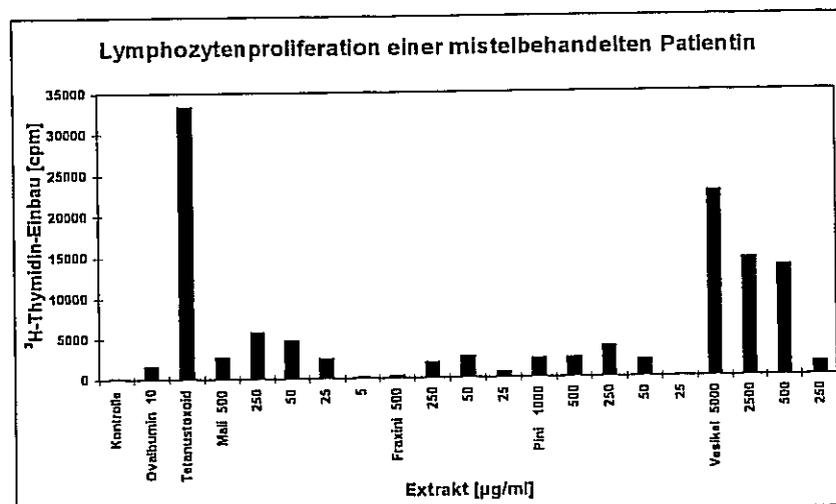


Abb.1

Diese *in vitro* Reaktivität der Lymphozyten ist bei den Patienten nicht *a priori* vorhanden, sondern wird erst durch die Misteltherapie induziert. Auffälligerweise bleibt die Lymphozytenreaktivität offensichtlich nicht langfristig erhalten, sondern ist nur in bestimmten Zeiträumen während der Therapie zu beobachten. Aus dem therapeutisch verwendeten Mistelpräparat ABONBA viscum mali wurde die Vesikelfraktion isoliert. Diese Vesikelfraktion enthält die Mistellipide. Wie Abb.1 zeigt induziert diese Vesikelfraktion eine höhere Lymphozytenproliferation als das Gesamtpräparat. Stimuliert man mit isoliertem Lektin und Vesikeln, oder mit dem Gemisch Lektin/Vesikel bzw. mit dem Gemisch, das man über eine lektindepletierende Säule gibt, die das nicht an die Vesikel gebundene Lektin depletiert, so führt immer das Gemisch zu einer stärkeren Proliferation. Dieses Lektin/Vesikel-Gemisch zeigt auch eine deutlich gehemmte Zytotoxizität gegenüber der gleichen Mengen isoliertem Lektin alleine.

Um zu bestimmen welche Subpopulation durch die Mistelpräparate bzw. die Vesikelfraktion zum Wachstum angeregt wird, wurde die Absolutzellzahl von T-Zellsubpopulationen ($CD4^+$, $CD8^+$) nach Kultur mit einer neuartigen durchflußzytometrischen Methode gemessen.

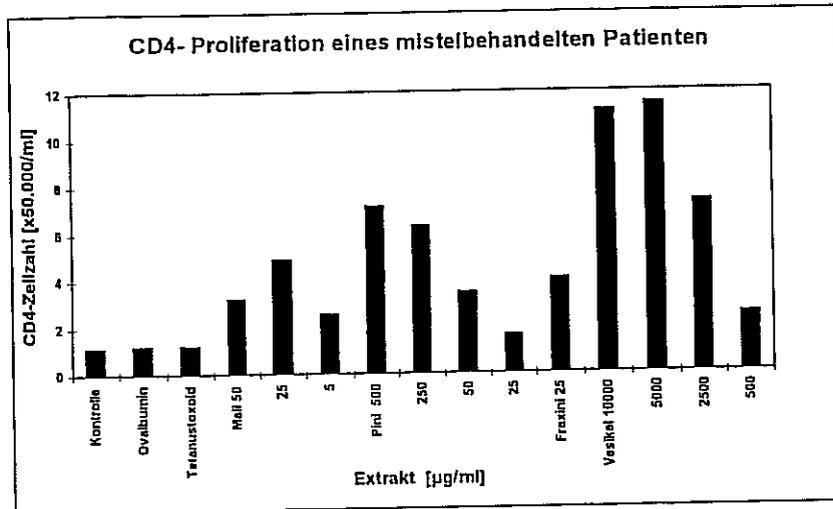


Abb.2

Abb.2 zeigt, daß vor allem $CD4^+$ T-Lymphozyten durch das Gesamtpräparat und besonders stark durch die isolierte Vesikelfraktion zur Proliferation angeregt werden.

Um zu charakterisieren welche $CD4^+$ -Untergruppe (TH^1 oder TH^2) stimuliert wird, wurden 3 verschiedene Ansätze gewählt. Zum ersten wird durch Immobilisierung von anti-Interleukin Antikörpern, die die produzierten Interleukine aus dem Kulturmedium wegfangen, die Vesikelstimulation gehemmt. Zweitens wird durch exogene Zugabe von TH^1 - bzw. TH^2 - spezifischen Interleukinen versucht, die Vesikelstimulation zu verstärken. Drittens werden aus der Primärstimulation Überstände abgenommen und mittels ELISA TH^1 - bzw. TH^2 - spezifische Interleukine bestimmt.

Weiterhin wird die Frage untersucht, ob es sich bei der Vesikelstimulation um einen Antigen-unabhängigen „mitogenen“ (d.h. polyklonalen) Effekt handelt oder vielmehr um die Antigen-spezifische (d.h. oligoklonale) Aktivierung durch bestimmte (noch zu definierende) Vesikel-Bestandteile. Zur Klärung dieser Frage werden die vesikelstimulierten Lymphozyten nach Kultur mit monoklonalen Antikörpern gegen bestimmte variable Regionen der T-Zellrezeptor α Kette ($v\alpha$) und β -Kette ($v\beta$) gefärbt. Der Nachweis eines starken Anstiegs von einer oder mehreren $v\alpha/v\beta$ Familien könnte im Sinne einer oligoklonalen T-Zell-Antwort interpretiert werden.

Unsere Ergebnisse belegen, daß bei mistelbehandelten Patienten eine zumindest transiente Reaktivität von T-Lymphozyten gegenüber Mistelinhaltsstoffen induziert wird. Die Vesikelfraktion wird als wichtiger Immunmodulator *in vitro* dargestellt; außerdem zeigen unsere Ergebnisse einen synergistischen Effekt von Lektin und Vesikeln.

Insgesamt zeigen die *in vitro* Befunde eine große individuelle Streubreite. Die biologische/klinische Wertigkeit der *in vitro* Stimulation von T-Zellen durch Mistelinhaltsstoffe ist zur Zeit noch unklar.

Lektinoptimierte Misteltherapie-Einfluss auf das neuroendokrine System- Stabilisierung lebensqualitativer Aspekte

Lebensqualitative Aspekte sind bei der Behandlung der Tumorkrankheit hochrangig zu bewerten. Das gilt insbesondere dann, wenn das eigentliche Therapieziel, Heilung, nicht erreicht werden kann.

Erst seit kurzem ist bekannt, dass Neuroendokrinium und Immunsystem nicht unabhangig voneinander agieren, sondern sehr eng miteinander konferrieren. Zellen des Immunsystems haben Rezeptoren fuer Hormone und Neuropeptide, neuronale Strukturen antworten auf immunologische Signale oder produzieren immunologische Botenstoffe (ua Interferon, Interleukin 1, 2) auf Reiz. Neben den immunologischen Signalen kommt verschiedenen Hormonen (ACTH, CRF, Cortisol zB) und Neurotransmittern (zB Beta-Endorphin (BEND)) grosse Bedeutung zu. BEND greifen in das Stimmungsbild des Patienten ein und haben Einfluesse auf das endogene opioide System. Ueber die positive Beeinflussung von Stimmungslage und negativem Einfluss auf die Schmerzperzeption sind sie in der Lage, auf die Lebensqualitaet von Krebspatienten einzuwirken .

Extrakte der Mistel , auf Mistellektin I standardisiert , haben neben immunologischen Wirkprofilen auch Einfluss auf die neuroendokrine Achse. So wird der BEND-spiegel im peripheren Blut nach Gabe von std ME signifikant veraendert. Diese Ergebnisse koennten eine Erklaerung fuer die beobachteten Mistel-wirkprofile positive Stimmungslage und Reduktion der Schmerzperzeption sein. Die Auschuettung von BEND stabilisiert zusaetzlich die Immunabwehrlage.

Dr BM Heiny
Kaltenbrunn
83703 GMUND

Betaendorphine		
pmol/l		
std ME		
A RESPONDER	X	12,06
N = 59		
B NonRESPONDER	X	7,44
N = 51		
C Control	X	6,73
N = 50		
*p A/B 0,005 ** pA/C 0,005*** p B/C 0,23		
Heiny BM Gmund 93		

Zur Anwendung der Mistel bei benignen und malignen Erkrankungen in der Frauenheilkunde“

F.H. Hemmerich

Abteilung für Frauenheilkunde und Geburtshilfe am Kreiskrankenhaus Germersheim

(Leitender Arzt: Dr. F.H. Hemmerich)

Viscum-Präparate werden in der Frauenheilkunde subcutan lokal und systemisch sowie als Infusionstherapie eingesetzt; neben den weitverbreiteten Indikationen der malignen Erkrankungen hat sich der Einsatz auch bei der Endometriose, bei Myomen (auch als Vorbereitung zur Enukleation) und bei der EPH-Gestose (hochpotenziert) bewährt.

Die bei einigen Carcinomen beschriebene peritumorale Eosinophilie ist als prognostisch günstiges Zeichen zu werten; bei gynäkologischen Tumoren, insbesondere beim Mammacarcinom ist eine solche peritumorale Eosinophilie in der Literatur nirgends beschrieben. Durch präoperative Viscum-Gabe ist es prinzipiell möglich, sie auch bei gynäkologischen Tumoren hervorzurufen. Weiter ist beim Mammacarcinom die günstige Bedeutung der Eosinophilie im peripheren Blutbild hinreichend gezeigt worden; sie ist zuverlässig bei der überwiegenden Anzahl von Patientinnen zu erreichen. Die prognostische Bedeutung der *artifizell bedingten* peritumoralen und peripheren Eosinophilie ist indes offen.

Die Verträglichkeit der Chemotherapie gynäkologischer Malignome (hier meist: CMF oder CP) läßt sich insbesondere durch *intravenöse* Vorbehandlung mit Viscum im Rahmen eines dreitägigen stationären Aufenthaltes vor Therapiebeginn deutlich verbessern; dies bezieht sich nicht nur auf die subjektiven Parameter, sondern insbesondere auch auf die Erholungsfähigkeit der supprimierten Hämato(Leuko-)poese. Dosisreduktion oder Intervallverlängerungen sind auf diese Weise nahezu vollständig zu vermeiden.

Bei der Endometriosebehandlung liegen eine größere Anzahl Kasuistiken vor, wo bei Versagen oder Abbruch der Therapie mit GnRH-Analoga, Danazol oder Gestagenen (die bekanntermaßen meist nur symptomatisch wirken) mit Viscumlangzeitgabe (> 2Jahre) Ausheilungen belegt sind (Parameter: subjektive Beschwerden, Palpations- und Sonographiebefund, Second-look-Laparoskopie).

In Einzelfällen kann mit Viscumtherapie eine Volumenreduktion von Myomen um maximal ein Drittel und ein langfristige Stagnation des Wachstums erreicht werden; insbesondere in der Vorhandlung von Patientinnen mit geplanter Enukleation wird die Demarkierung des gesunden Myometriums und die Gesamtheilungstendenz wahrnehmlich verbessert.

Der Einsatz hochpotenzierter Viscumpräparate neben der üblichen Therapie der EPH-Gestose (Magnesium, Nepresol/Methyldopa, Ernährung, Sensorische Abschirmung) führt zu einer deutlichen Verbesserung der Beherrschbarkeit präemklamptischer Exazerbationen und zur im Auslaßversuch zeigbaren Reduktion der gängigen Medikation.

Verhalten der Körperkerntemperatur und peripherer Blutzellen vor und während einer Misteltherapie bei Patientinnen mit operiertem Mammakarzinom

Wolfram Henn, Everinghausen 42, 27367 Sottrum

In einer explorativen Studie wurde der Einfluß einer subkutan applizierten Misteltherapie (ABNOBAviscum) auf den Verlauf der Körperkerntemperatur und die Zahl peripherer Blutzellen (Differentialblutbild mit LGL-Zellen) bei zehn Patientinnen mit operiertem Mammakarzinom geprüft. Im Hinblick auf die Tagesrhythmik der erhobenen Parameter fanden chronobiologische Aspekte besondere Berücksichtigung. So wurden unter standardisierten Bedingungen in zwei Untersuchungsphasen 24 Stunden vor und nach der ersten sowie siebten Viscuminjektion Temperaturmessungen mittels Rektalsonde und an insgesamt 19 Zeitpunkten Blutabnahmen durchgeführt.

I. Körperkerntemperatur: Sowohl nach der erstmaligen als auch nach wiederholten Injektionen steigt der Mesor (Tagesmittelwert der kontinuierlich rektal gemessenen Körpertemperatur) im Sinne einer leichten pyrogenen Wirkung der Mistel. Die Acrophasen hingegen bleiben praktisch unverändert. Bei einer Patientin wird interessanterweise ein zuvor nicht nachweisbarer Zirkadianrhythmus durch die Mistelinjektionen angestoßen.

II. Periphere Blutzellen: Als Akuteffekt zeigt sich schon nach der ersten Injektion eine quantitative Zunahme der Gesamtleukozyten, neutrophilen Granulozyten, Monozyten und LGL-Zellen sowie eine stärkere Ausprägung der zirkadianen Verläufe der Meßparameter. Abweichend von diesem Verhalten zeigen die eosinophilen Granulozyten zunächst unveränderte Werte, um dann innerhalb von drei Wochen mit der siebten Injektionen deutlich über das Ausgangsniveau anzusteigen. Diese, unter einer systemischen Misteltherapie, bisher nicht beschriebene Zunahme der eosinophilen Granulozyten bleibt bis zur letzten Kontrolluntersuchung nach 16 Wochen nachweisbar.

Abschließend wird die Bedeutung der erhobenen Befunde sowohl für die tägliche Praxis als auch für die Eignung der untersuchten Parameter als Kriterien für das Ansprechen auf eine Misteltherapie in zukünftigen klinischen Studien diskutiert.

Lebensqualitätsstudie bei Krebspatienten

im Rahmen des Schweizerischen Nationalfonds-Projekts über Komplementärmedizin.

Dr. Peter Heusser, Lukas Klinik, CH-4144 Arlesheim

In der Schweiz lassen sich bis zur Hälfte der Patienten mit metastasierenden Karzinomen zusätzlich komplementärmedizinisch behandeln, sehr häufig durch Methoden der anthroposophischen Medizin einschliesslich Misteltherapie. Andererseits gibt es zunehmend Belege über die Wirksamkeit von psychotherapeutischen Behandlungsmethoden bei solchen Patienten. Im Rahmen des Nationalen Forschungsprogramms 34 wird in der Zusammenarbeit zwischen dem Institut für medizinische Onkologie des Universitätsspitals Bern und der anthroposophischen Lukas Klinik in Arlesheim ein gemeinsames Projekt durchgeführt, das aus drei Teilen besteht: In einer Registrierstudie werden die medizinischen und die soziodemographischen Daten der Patientenpopulationen beider Kliniken miteinander verglichen. Sodann wird in einer randomisierten dreiarmligen Studie in Bern bei konventionell behandelten Patienten mit metastasierenden Karzinomen der Effekt einer zusätzlichen anthroposophischen Behandlung oder einer zusätzlichen psychotherapeutischen Intervention nach Spiegel auf die Lebensqualität geprüft. Mit dem gleichen Instrumentarium wird in der Lukas Klinik Arlesheim in einer deskriptiven Studie der Einfluss einer intensiveren stationären Behandlung auf die Lebensqualität solcher Patienten untersucht. Das Instrumentarium zur Prüfung der Lebensqualität und der Krankheitsverarbeitung wurde nach einem multidimensionalen Konzept aus grösstenteils schon validierten Fragebogen (u.a. LASA, EORTC, HAD) und einem offen strukturierten Interview unter Einschluss von zusätzlichen Fragestellungen aus anthroposophischer Sicht (z.B. zum Sinn und zu positiven Aspekten der Krankheit) so zusammengestellt, dass eine breit gefächerte Berücksichtigung von leiblichen, seelischen, geistigen und sozialen Aspekten möglich ist.

DIE MISTEL-LEKTINE : EINFLUSS VON SERUM UND KOHLENHYDRATEN AUF DIE ZYTOTOXIZITÄT; STIMULIERUNG DER ZYTOKINPRODUKTION

M.L. Jung und G. Ribéreau-Gayon

Laboratoire de Pharmacognosie, Université Louis Pasteur de Strasbourg, Centre de Recherches Pharmaceutiques, 74, route du Rhin, 67401 Illkirch Cedex, France.

Die Mistel (*Viscum album* L.) enthält drei toxische Lektine, die sich durch verschiedene Molekulargewichte und Monosaccharidspezifität unterscheiden. Der spezifische Mechanismus dieser Toxizität ist derselbe wie der von Rizin.

Die zytotoxische Wirkung der Mistel-Lektine wurde mittels Molt 4 Zellen unter serum-freien Bedingungen festgestellt und ist unterhalb des Nanogramms nachweisbar. Die Zugabe von Kälberserum oder menschlichem Serum verringert die Zytotoxizität stark. Eine Studie mit D-Galactose, N-acetylgalactosamin und verschiedene Disacchariden zeigte ebenfalls eine Hemmung dieser *in vitro* Effekte. Alle Experimente wurden zum Vergleich auch mit Rizin unternommen.

Andererseits stimulieren die Mistel-Lektine die Produktion verschiedener Zytokine, TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 in menschlichen Monozytenkulturen. Diese hochgereinigte Monozyten wurden von 6 gesunden Spendern erhalten und in einem serum-freien Medium entweder als Suspensions- oder Monolayer-Zellkultur etabliert. Die Resultate zeigen Unterschiede von einem Spender zum anderen, und die drei Lektine wirken verschieden.

Eine 3-fach Stimulation der Zytokinproduktion ergab sich in mehreren Fällen bei nicht toxischen Lektinkonzentrationen. Sogar mit 0,02 picogramm pro ml Lektin wurde noch eine Stimulierung beobachtet. Bei toxischen Konzentrationen wurde die Produktion von IL-1 α , IL-1 β und in geringerem Masse TNF α stark erhöht.

Es wird vorgeschlagen, daß diese Effekte -nach Bindung der Mistel-Lektine an die Zelloberfläche und spezifische Wirkung an der ribosomalen RNS- von einer Zytokinkaskade entstehen können

Antitumorous and immunomodulatory effects of the *Viscum album L.* preparation Isorel

Mislav Jurin and Neven Žarković

Department of Experimental Biology and Medicine, Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia

Over the last 50 years there has been increasing interest in the use of different extracts of mistletoe plants to tumorous patients. Numerous data point to a cytotoxic action of these extracts against different tumor cell lines and on the other hand to their immunomodulatory effects in the organism. Thus, the antitumor activities of mistletoe preparations could be ascribed to the combination of cytotoxic and immunologic effects. This could support their therapeutical application, because numerous antitumor drugs, or treatments, alongside their antitumor (cytotoxic) action could have side effects, particularly immunosuppression.

According to our previous results foreign skin grafts survive longer, and the number of plaque-forming cell (PFC) to sheep erythrocytes (SRBC) is reduced in tumor-bearing mice. It was further shown that the immune reactivity of tumorous mice can be normalised following tumor removal, or after the injection of large doses of syngeneic lymphocytes. However, numerous drugs must be used, as additional treatment, to improve the immune reactivity of a tumor-bearing animal, or even to act against a growing tumor.

Nowadays there are several mistletoe preparations used as additional (complementary) treatment for tumorous patients. One of these, Isorel (Novipharm, Austria), has been shown, in our previous experiments, to possess antitumorous and immunomodulatory properties. In presented experiments we found that in mice an increased number of PFC to SRBC followed the injection of Isorel together with SRBC. Further, survival time of a foreign skin graft was shortened if Isorel was applied at the correct time. Finally, suppressed immune reactivity in tumorous mice recovered following Isorel injection. Further, Isorel was shown to be cytotoxic to tumor cells in vitro, while its application to tumor-bearing mice could prolong survival. A combination of local irradiation and Isorel was also effective: following 43 Gy of local irradiation to a transplanted fibrosarcoma (volume about 240 mm³) growing in syngeneic CBA/HZgr mice, the tumor disappeared in about 25% of the animals; the addition of Isorel increased the incidence of cured animals to over 65%.

The combined action of Isorel, influencing tumor viability on the one hand and the host's immune reactivity on the other, seems to be favourable for its antitumor action in vivo. These results encourage further experiments in vivo and support the use of mistletoe extracts in a combined clinical approach in well-defined systems.

"Die Wirkung von Viscum album (Iscador^R) auf die DNA-Reparatur in peripheren Lymphozyten nach Gammastrahlen- und Cyclophosphamid-Exposition. Korrelation zur IFN-Gamma-Produktion. In vitro-Ergebnisse."

E. Kovacs, Kantonsspital Basel/Schweiz, J.J. Kuehn, M. Werner, J. Hoffmann, Lukas Klinik und Verein für Krebsforschung, Arlesheim Schweiz

Es wurde früher gezeigt, dass eine Behandlung mit Viscum album Extrakt (Iscador^R) die durch Chemo-Radio-Therapie reduzierte DNA-Reparatur verbessert (Eur J Cancer Vol 27, 1672-1676, 1991). Kürzlich berichteten wir, dass eine IFN-Alpha-Behandlung in Kombination mit Chemotherapie die DNA-Reparatur positiv beeinflusst (Baltic Congress of Oncology and Radiology, Tallinn, 1994). In der vorliegenden Pilotstudie wurde im in-vitro-Modell (periphere Lymphozyten) geprüft, welche Wirkung ein Viscum album Extrakt (Iscador) auf die IFN-Gamma-Produktion und den DNA-Schaden hat, wenn die Lymphozyten einer Gamma-Strahlung bzw. einer Cyclophosphamid-Wirkung ausgesetzt wurden. Die jeweilige Exposition (Gammastrahlen 20 Gy; Hydroxycyclophosphamid 50 Mikrogramm/ $0,5 \times 10^6$ Zellen) erfolgte 21 Stunden nach Zusatz von Viscum album (Iscador, 1 Mikrogramm/ $0,5 \times 10^6$ Zellen) zur Zellkultur. Die DNA-Reparatur wurde mittels Bestimmung der DNA-Strangbrüche auf einem alkalischen Sucrose-Gradienten gemessen, IFN Gamma mittels EIA im Kulturmedium.

Ergebnisse

Ohne Viscum album (Iscador) trat bei keinem einzigen der 10 Patienten eine Reparatur des durch Cyclophosphamid ausgelösten DNA Schadens ein. Nach Applikation von Gammastrahlen kam es zu einer Reparatur bei 7 Patienten. Die Behebung des Cyclophosphamid-bedingten Schadens gelang mit Viscum album 6x komplett, 1x unvollständig. Bei allen 10 Patienten konnte der Bestrahlungsschaden durch Viscum album vollständig repariert werden. Die IFN Gamma-Produktion nahm um das 2,2-fache zu.

Damit ist ein klarer Zusammenhang zwischen DNA-Reparatur und IFN-Gamma-Produktion belegt. Die IFN-Gamma-Werte blieben bis zu 60 Stunden nach Applikation von Viscum album erhöht.

LUKAS KLINIK

Beeinflussung immunkompetenter Zellen des peripheren Blutes durch Viscum album (Iscador^R M) bei Patientinnen mit Mamma-Karzinom

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

Eine Beeinflussung des Immunstatus durch Viscum album und Mistellektin I ist mehrfach beschrieben worden (Hajto, T., Oncology 43, Suppl I, 51-65 1986; Hajto, T., C. Lanzrein, Oncology 43, 93-97 1986; Beuth, J. et al. Arzneim. Forsch./Drug Res. 43 1993 166-169).

Bei drei Gruppen (67 Patientinnen) mit Mamma-Karzinom unter Therapie mit Viscum album (Iscador M) wurden im peripheren Vollblut durchflusszytometrisch (FacScan, Becton Dickinson) die gemittelten relativen und absoluten Werte für die Lymphozyten und Lymphozytensubpopulation (T-, B- NK-Zellen) sowie die Granulozyten und Monozyten ermittelt und die Leukozyten im Coulter Counter gezählt (Gruppe I: n = 12; Reaktion nach 2 Injektionen Iscador im Dosisbereich von 0,75 - 5 mg Iscador M. Gruppe II: n = 25; Reaktion nach einer Viscumbehandlung über 3-4 Wochen im Vergleich zum Ausgangswert vor Beginn der stationären Behandlung. Gruppe III: n = 30; 15 Patientinnen ohne und 15 Patientinnen mit einer Iscador-Vorbehandlung).

6 gesunde Probanden unter Therapie mit Viscum album sowie 10 gesunde Kontrollpersonen ohne Therapie dienten zum Vergleich. Bei 2 Patientinnen wurde neben den o.g. Parametern die NK-Aktivität (Targetzellen K 562, MTT-Methode) gemessen.

Ergebnisse

Sowohl bei den mit Viscum album behandelten 6 gesunden Probanden als auch bei den in Gruppe I (n = 12) und Gruppe II (n = 25) behandelten Patientinnen mit Mamma-Karzinom kam es zu einem Anstieg der relativen und absoluten NK-Konzentration. In allen genannten Gruppen liess sich für die Relativwerte eine statistische Signifikanz, zum Teil als Hochsignifikanz, ermitteln. Dieser Anstieg trat nach 2 Injektionen in gleicher Weise auf (ca. 4%) wie nach einer längeren Therapiedauer (3-4 Wochen in Gruppe II).

Eine Gegenüberstellung einer unbehandelten und einer behandelten und hinsichtlich verschiedener Merkmale zufriedenstellend vergleichbaren Gruppe von 2x15 Patientinnen mit Mamma-Karzinom (Gruppe III) ergab in der behandelten Gruppe im Vergleich zur unbehandelten Gruppe einen Anstieg der NK-Konzentration bis zu 11% (statistisch hochsignifikant).

Die Werte für die NK-Konzentration lagen bei den behandelten Patienten deutlich niedriger (15,02%) als bei den unbehandelten Kontrollpersonen (19,1%). Durch die Behandlung mit Viscum album bewegten sich die Werte in Richtung einer Normalisierung.

Das Verhalten der Leukozyten war in allen Gruppen charakterisiert durch einen Anstieg, verursacht war dieser Anstieg durch eine Zunahme der Granulozytenkonzentration ("entzündliche Reaktion"). Entsprechend verhielten sich die Gesamt-Lymphozytenzahlen (leichter Abfall). Die Monozyten

zeigten keine Konzentrationsänderungen. Der Anstieg der NK-Konzentration von ca. 4% erfolgte auf Kosten der Gesamt-T-Zell-Konzentration.

Bei 2 Patienten (metastasierendes Hypopharynx Karzinom und inoperables Magen Karzinom), die erstmals mit Viscum album (Iscador M) behandelt wurden, stieg die NK-Aktivität deutlich an (bis zur Verdoppelung). Die NK-Konzentration hingegen blieb unverändert.

Die Bedeutung der Ergebnisse wird besprochen und die Konsequenz für weitere Untersuchungen deutlich gemacht.



Dr. J.J. Kuehn

Kontrollparameter während der Viscumtherapie

H. B. von Laue
Gemeinschaftspaxis, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Die Empfehlung, die Viscumtherapie auf eine Dosis mit 1 ng/Mistlektin (ML I)/kg Körpergewicht einzustellen, beruht auf Ergebnissen von kurzzeitigen Tierversuchen. Diese berücksichtigen nicht die Reaktionen des Organismus auf die Viscumgabe, zum Beispiel die ML I-Antikörper (AK), die sich regelmäßig bilden. Aus Einzelbefunden lassen sich drei Phasen der Therapie differenzieren. Jede Phase benötigt unterschiedliche Kriterien zur Verlaufskontrolle.

1. Phase (bis zur 2. Woche) - Akute unspezifische Entzündungsreaktionen:
Anstieg von CRP, NK-Zellen und Linksverschiebung).

2. Phase (3. Woche bis 6. Monat) - Einstellungsphase:
Anstieg der Eosinophilen nach TH2-Stimulation, Anstieg der ML I-AK (zumeist IgG), Anstieg der CD25-Lymphozyten, lokale Induration, Steigerung der Stimulationsfähigkeit von Helferzellen.

3. Phase (nach dem 6. Monat) - Dauerphase:
ML I-AK regelmäßig IgG, selten IgE, IgA, Ig), evtl. kurzfristige Eosinophilie, evtl. CD25-Stimulation (beides nur 24 Stunden nach der Viscuminjektion, lymphocytäre Antwort (?).

Eine optimale Viscumdosierung könnte folgende Kriterien benutzen:

Phase 1 (unspezifische Entzündung, bis 2. Woche):
Eine deutliche lokale Induration und im peripheren Blut ein Anstieg des CRP und der Leukozyten mit Linksverschiebung.

Phase 2 (Einstellungsphase, ca. 3. Woche bis 6. Monat):
Anstieg der Eosinophilen und lokale Induration (im Sinne einer allergischen Typ IV-Reaktion). Anstieg der ML I-AK und Anstieg der CD25-Lymphozyten, Stimulation von CD4 Helfer 1 4/0. Helfer 2-Zellen.

Phase 3 (nach dem 6. Monat) - Dauerphase :
ML I-AK (Ig-Muster). Ihre Bedeutung für den Verlauf muß weiter bearbeitet werden.

Anhand von Einzelbefunden und der Literatur wird auf diese Therapiephasen hingewiesen und die Kontrollparameter werden empfohlen.

ÜBER DIE IN-VITRO-WIRKSAMKEIT VON MISTELEXTRAKTEN AUF DIE KLONALE WACHSTUMSFÄHIGKEIT INDIVIDUELLER EXPLANTATE AUS MUNDHÖHLENKARZINOMEN

Metelmann, H.-R.; Astrid Wilke; Waltraut Hankel; Jähnichen, Th.
Greifswald, Berlin

Abstact zur Tagung „Mistelextrakte in der Tumorthherapie“
Homburg 05.-07.10.95

Fragestellung:

Die in-vitro Wirksamkeit von Mistelextrakten ist bisher nur an Zelllinien getestet worden. Individuelle Explantate, insbesondere aus Mundhöhlenkarzinomen, wurden bisher nicht verwendet.

Die Zielstellung war daher die Untersuchung der Wachstumshemmung unterschiedlicher Mistelextrakte auf individuelle Tumorzellen aus Tumorexplantaten von Mundhöhlenkarzinomen in-vitro.

Methode:

In der Studie 1 testeten wir EURIXOR an Explantaten von 14 Patienten.

In Studie 2 verwendeten wir Explantate von 20 Mundhöhlenkarzinomen. Bei diesen Untersuchungen wurde die Klonierungshemmung durch 3 Frischpflanzenpräparate der Mistel untersucht.

Die in-vitro Klonierungshemmung wurde im Doppelschicht-Softagar-Kultursystem nach Hamburger und Salomon festgestellt. Dieses Verfahren bietet die Möglichkeit, Stammzellen aus Tumorgewebe eines Patienten selektiv, repräsentativ und vital in ein in-vitro Testsystem zu übertragen. Durch eine Agar-Unterlage haben in diesen Klonierungsassay Tumorzellen gegenüber Normalzellen durch fehlende Kontaktaktivierung einen Wachstumsvorteil. In Verknüpfung von Stammzellkultur und in-vitro Empfindlichkeitsprüfung dieser Zellen gegen Zytostatika schafft der Klonierungs-Assay die Voraussetzungen für ein Antionkogramm.

Nach Fertigstellung einer Einzelzellsuspension aus Mundhöhlenkarzinomen wurden die Zellen mit den Standardzytostatika für eine Stunde im Brutschrank inkubiert. Folgende Zytostatika wurden zum Vergleich getestet: Methotrexat 50 µg/ml; Bleomycin 18 µg/ml; Cisplatin 20 µg/ml und 5-Fluorouracil 200 µg/ml.

Untersucht wurden die Mistelpräparate: Eurixor 1 µg/ml (Medisculab, Studie 1); ABNOBAviscum Mali D3, ABNOBAviscum Amygdali D3, ABNOBAviscum Quercus D3 (7,5 µg/ml, Studie 2).

In Vorversuchen mit KB-Zellen (Zelllinie eines humanen Plattenepithelkarzinoms des Naso-Pharynx) wurde die Konzentration der verwendeten Mistelextrakte festgelegt.

Ergebnisse:

Die Untersuchungen zeigen, daß die Extrakte der europäischen Mistel unabhängig von ihrer Provenienz zytostatisch wirksame Substanzen sind, die das klonale Wachstum der Tumorzellen deutlich hemmen. Im Vergleich mit den Standardzytostatika weisen die Mistelpräparate im Durchschnitt eine höhere zytostatische Wirksamkeit (Klonreduktionsrate) auf.

Studie 1: Bei den Tumorzellen der Patienten hat Eurixor in 85% (12 von 14) der Fälle zu einer Reduktion des klonalen Wachstums zwischen 10 und 69% geführt.

Die Werte für die Standardzytostatika betragen im Vergleich dazu : Bleomycin: 85% Wirksamkeit, maximale Reduktion 56% ; Methotrexat: 75% Wirksamkeit, Reduktion zwischen 9 und 58%; Cisplatin: 81% Wirksamkeit, Reduktion zwischen 3 und 98% ; 5-Fluorouracil: 73% Wirksamkeit Reduktion zwischen 2 und 46% .

Die Wirkprofile der Präparate bei den einzelnen Patienten fallen sehr unterschiedlich aus. Eurixor hat, ohne Berücksichtigung der absoluten Reduktionswerte, am häufigsten (6x) das klonale Wachstum am stärksten beeinträchtigt. Die Unterschiede zwischen Bleomycin, Cisplatin und 5- Fluorouracil waren nur gering.

Bei insgesamt 5 von 14 Patienten wurde im Antionkogramm eine prospektive Wirksamkeit der Präparate ermittelt. Eurixor hat den bei 50% Reduktion festgelegten Grenzwert dreimal überschritten. In einem Fall war Eurixor das einzige Medikament, welches den Grenzwert überschritt.

Von den Standardzytostatika haben Methotrexat und Bleomycin die Wirksamkeitsgrenze in zwei Fällen überschritten, Platinex gelang dieses in einem Fall. 5-Fluorouracil blieb unterhalb dieses Grenzwertes.

Studie 2:

Auch in dieser Untersuchung zeigte sich, daß die Mistelpräparate in allen eingesetzten Primärtumorkulturen eine Klonreduktion bewirkten. ABNOBAviscum Amygdali und ABNOBAviscum Quercus erwiesen sich bei allen Kulturen als zytostatisch wirksam. Demgegenüber waren die Standardzytostatika in 79-90% der Einsatzfälle wirksam. In der zytostatischen Wirkintensität (in den gegenüber den Tumorstammzellen erreichten Mindest- und Höchsthemmraten) erzielten die eingesetzten Mistelpräparate mit Mindestreduktionsraten zwischen 9% (A. v. Mali) und 20% (A.v. Quercus) sowie maximal erreichten Reduktionsraten zwischen 52% (A.v. Quercus) und 70% (A.v.Amygdali) im Durchschnitt umfangreichere Wachstumshemmungen als die hier verwendeten Standardzytostatika. Bei 14 der 21 Malignome dieses Testes riefen die eingesetzten Mistelpräparate die höchste für den jeweiligen Tumor in-vitro erreichte Reduktionsrate hervor. Dieses Resultat wurde durch Standardzytostatika nur in 9 Fällen erreicht.

Ein Vergleich der Mistelpräparate *u n t e r s i c h*, zeigte keine wesentlichen Wirksamkeitsunterschiede zwischen den benutzten 3 Laubholzmistelarten.

Diskussion :

1. Kann man die Wirksamkeit der Mistel mit den Standardzytostatika vergleichen?

Die Testung erfolgte grundsätzlich parallel. Der direkte Vergleich zeigte, daß die Mistelpräparate im Durchschnitt höhere Reduktionsraten erzielten. Der direkte Vergleich mit den Standardzytostatika ist jedoch problematisch: Während bei den Standardzytostatika klinisch relevante Dosen eingesetzt wurden (10% Niveau des maximalen und in klinischen Phase-I Studien bestimmten Plasmapeaks entsprechend), konnte bei den Mistelpräparaten nicht auf solchen Anhaltspunkte zur Dosierung zurückgegriffen werden. Bisher sind keine Aussagen zum Plasmaspiegel nach parenteraler Mistelgabe bekannt. Die eingesetzte Dosis von 7,5µg Mistelpreßsaft pro Milliliter Tumorzellkultur wurde experimentell in einer Dosis-Wirkkurve als LD₅₀ an Zellen einer KB-Tumorlinie ermittelt.

Aufgrund der praktischen Unbestimmbarkeit von in-vivo Spiegeln bei klinisch vertretbaren Misteldosierungen, lassen sich die beobachteten Reduktionswerte nicht vergleichen. Damit sind sie weder für eine individuelle prognostische Angabe im Sinne eines Antionkogramms noch für eine quantitative Wirksamkeitsbeobachtung im Vergleich mit anderen Zytostatika zu verwenden.

2. Kann man aus den Testergebnissen der ihrer Provenienz nach unterschiedlichen Mistelpräparate spezifische Wirksamkeitsunterschiede ableiten?

Da bei einer anzunehmenden Chargenstabilität vergleichbare Preßsaftanteile eingesetzt wurden, können die eingesetzten Mistelpräparate in ihrer Reduktionsfähigkeit auf die Tumorstammzellen miteinander verglichen werden. Hier zeigte sich, daß zwischen den Preßsäften der 3 Laubholzmisteln hinsichtlich ihrer in-vitro-Zytotoxizität keine wesentlichen Unterschiede bestehen.

3. Welche Bedeutung haben die in-vitro-Untersuchungen zur Mistelwirksamkeit für die klinische Misteltherapie?

Die klinische Misteltherapie ist bei Mundhöhlenkarzinomen bisher noch nie Gegenstand einer Studie gewesen. Eine experimentelle Untersuchung zur in-vitro-Wirksamkeit verschiedener Mistelpräparate gegen klonierungsfähige Zellen dieser Tumorentität markiert damit einen Einstieg in dieses mögliche Anwendungsfeld der Misteltherapie. Diese in-vitro-Untersuchungen sind unabdingbare Voraussetzung für eine später aufzulegende klinische Studie.

Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Mistellektin I und Mistellektin II und/oder Mistellektin III in Mistelextrakten unter Verwendung monoklonaler Antikörper, die spezifisch mit Mistellektin reagieren

H. Musielski, K. Rüger

SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH Berlin,
Berliner Allee 317/321, 13088 Berlin

Die Einteilung der Mistellektine in das dimere Mistellektin I (ML_I) und die monomeren Mistellektine II und III (ML_{II} , ML_{III}) erfolgte nach den charakteristischen Galaktosylstrukturen für die B-Ketten-Bindung und nach der elektrophoretischen Mobilität der A- und B-Kette unter reduzierenden Bedingungen (H. Franz (1986), *Oncology* 43, 23). Klinisch relevante Untersuchungen zur immunmodulatorischen Potenz von Mistelextrakten (T. Hajto u. a. (1989), *Cancer Res.* 49, 4803, I. Beuth (1992), *Clin. Investig.* 70, 658 u.a.) beziehen ihre Aussagen auf das ML_I , das als isolierte Standardsubstanz eingesetzt wurde. Daraus wurde ein Therapiekonzept mit Mistelextrakten abgeleitet, das auf diesen Dosis-Wirkungsbeziehungen des ML_I basiert (T. Hajto u.a. (1990), *Cancer Res.* 50, 3322, B.-M. Heiny u.a. (1994), *Anticancer Res.* 14, 1339) ohne die Anwesenheit von ML_{II} und ML_{III} in den Extrakten zu berücksichtigen. Zumindest die deutlich höheren zytotoxischen Eigenschaften von ML_{II} und besonders ML_{III} gegenüber ML_I (I.B. Dietrich. u.a. (1992), *Anti Cancer Drugs* 3, 507) sollten Anlaß geben, diese in den Wirkungskreis mit einzubeziehen.

Voraussetzung dafür ist die differenzierte Erfassung des Gehaltes an ML_I , ML_{II} und/oder ML_{III} in therapeutisch angewendeten Mistelextrakten.

Die Anwendung von polyklonalen Mistellektin-spezifischen Antikörperpräparationen zur Bestimmung der Mistellektine in Mistelextrakten mit dem Enzym-Immuno-Assay (P. Ziska, u.a. (1985), *Lectins Vol. IV*, 473) bzw. mit einem Lektinbindungs-Enzym-Immuno-Assay (O. Vang u.a. (1986, *Lectins Vol V*, 637) haben bisher diese Forderung nicht erfüllt.

Es wurde daher geprüft, ob die zur Reindarstellung der A- und B-Kette des ML_I genutzten monoklonalen Antikörper (U. Pfüller u.a. (1991), Patentschrift DD 296703) in einem Enzym Immuno Assay neue Wege aufzeigen können. In einem Zwei-Seiten-Bindungs-test wurden die bevorzugt, mit der A-Kette des nativen ML_I reagierenden und an unterschiedliche Epitope bindenden monoklonalen Antikörper (mAk) SIFIN-Anti ML-A-5H8 und SIFIN-Anti ML-A-5F5 wechselseitig als Fang- und Detektionsantikörper eingesetzt.

Neben dem Bezugsstandard ML_I wurden auch gereinigte ML_{II} - und ML_{III} -Präparationen (Abt. Phytochemie, Freie Univ. Witten-Herdecke) als Substandards genutzt. Die Kombination SIFIN-Anti ML-A-5H8/SIFIN-Anti ML-A-5F5 - POD (AC-1) ermöglicht den Nachweis der Mistellektine I - III durch Präsentieren und Detektieren von vermutlich der gleichen Epitopzahl je Lektinmolekül. Die Kombination SIFIN-Anti ML-A-5F5/SIFIN-Anti ML-A-5H8 - POD (AC-2) ermöglicht den Nachweis der Mistellektine I - III durch Präsentieren und Detektieren von vermutlich der gleichen Epitopzahl je Untereinheit (z. B. A-Kette).

Bezogen auf die eingesetzten Konzentrationen des Lektinstandards ML_I werden im AC-1-Assay die Konzentrationen der Substandards ML_{II} und ML_{III} um einen Faktor von 2 - 2,4 erhöht nachgewiesen. Im AC-2-Assay sind keine Unterschiede für die eingesetzten Lektinkonzentrationen ML_I - ML_{III} zu registrieren.

Dieser Zusammenhang wird mit der Beziehung

$$ML = \frac{\text{conc AC-2} \times F - \text{conc. AC-1}}{F-1}$$

$$(F = \frac{\text{conc } ML_{II/III} \text{ im AC-1}}{\text{conc } ML_I})$$

$$\text{bzw. } ML_{II/III} = \text{conc A-2} - ML_I$$

genutzt, um in therapeutisch angewendeten Mistelextrakten eine Differenzierung in ML_I und $ML_{II/III}$ vorzunehmen. Die Befunde werden im Zusammenhang mit dem ASF-ELLA diskutiert.

Krankheitsbewältigung, zelluläre Immunität und Cortisol bei Patientinnen mit Mammakarzinom

Neises, M.

Universitätsfrauenklinik, Klinikum Mannheim, Medizinische Fakultät der Universität Heidelberg, Postfach, 68135 Mannheim

Einleitung

Der Einfluß psychosozialer Faktoren auf den Verlauf von Mammakarzinomkrankungen findet zunehmend Beachtung. Seit den fünfziger Jahren beschäftigen sich zahlreiche Untersuchungen mit den psychischen Problemen an Mammakarzinom erkrankter Frauen. Insbesondere die Folgen einer Mastektomie wurden eingehend untersucht. Diese schwierige postoperative Anpassungsperiode ist beeinträchtigt durch Angst und Depression. Maguire et al. (1978) fand noch bei über einem Drittel der Patientinnen, bei denen die Operation bereits zwei Jahre zurücklag, Depressionen. Außerdem sind Probleme in sozialen, partnerschaftlichen und sexuellen Beziehungen zu erwarten (Silberfarb et al. 1980). Eine in der beschriebenen Form maladaptive Verarbeitung der Krebserkrankung führt zu einer erheblichen psychosozialen Belastung, die als chronischer Stressor verschiedene Immunfunktionen, wie die zellulären Immunitätsparameter, beeinträchtigen kann. Von zahlreichen Autoren konnte übereinstimmend die negative Beeinflussung durch Stress, Trauer und Depression auf die zelluläre Immunität nachgewiesen werden. Dieser Zusammenhang gewinnt Bedeutung für die psychischen Verarbeitungsmechanismen bei malignen Erkrankungen und deren Verlauf. In einem Regelkreis mit stressinduzierter Immunsuppression kommt den Hormonen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse eine wichtige Rolle zu. Diese Hormone üben in der Peripherie größtenteils immunsuppressive Effekte aus. Auch wenn die Frage der Mediatoren noch nicht hinreichend geklärt ist, wird dieser Zusammenhang heute nicht mehr in Zweifel gezogen.

Patientinnen und Methoden

Um einen Ausschnitt dieser Interaktion zu prüfen, wurden drei Bereiche erhoben bei 118 Patientinnen mit Mammakarzinom und 48 Patientinnen mit benignen Tumoren zum Zeitpunkt der Primärtherapie und in der Nachsorge:

1. Immunologische Parameter: Lymphozyten und T-Lymphozyten-Subpopulationen mittels Durchflußzytometrie sowie Immunglobuline, Neopterin, C-reaktives Protein und Herpesserologie mittels Standardmethoden.
2. Psychosoziale Belastung mittels der Selbsterhebungsfragebögen: Quality of Life Questionnaire C30 der European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC), Rotterdam Symptom Checklist (RSCL), Mental Adjustment to Cancer Scale (MAC Scala, der Fragebogen enthält 50 Items zu den Bereichen "Kämpferische Haltung", "Hilflosigkeit/Hoffnungslosigkeit", "Ängstliche Haltung", "Fatalismus" und "Verleugnung"), Mannheimer Fragebogen zur Lebensqualität (MFLQ). Die Auswertung erfolgte entsprechend dem Vorgehen der Arbeitsgruppen, von denen die Fragebögen entwickelt wurden (Aaronson et al. 1991, DeHaes et al. 1990).
3. Morgendliche Basiscortisolwerte sowie Cortisolwerte nach hCRH-Stimulation (n = 39, präoperativ). Der Vergleich zwischen den unabhängigen Stichproben (Diagnosegruppen nach Dignität) erfolgte paarweise mit dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney. Um die Abhängigkeit der immunologischen und psychometrischen Parameter zu erfassen, wurde die Spearman'sche Rangkorrelationsanalyse eingesetzt.

Ergebnisse

Die Daten zur Charakterisierung des Patientinnenkollektives zeigen bis auf einen signifikanten Altersunterschied zwischen den Gruppen eine gute Übereinstimmung. Das Tumorstadium umfaßt Stadium 0 - III, d.h. ausschließlich Patientinnen ohne Fernmetastasierung. Die Werte der Lymphozytensubpopulationen lagen insgesamt im unteren Normbereich, so daß schon zu Beginn der Therapie eine relative Immundefizienz besteht. Im Beobachtungszeitraum zeigten die natürlichen Killer-NK-Zellen, die T-Lymphozyten und die zytotoxischen T-Zellen einen signifikanten Abfall ($p < 0,005$) bei den Patientinnen mit Mammakarzinom. Für den Anteil der Helfer-T-Zellen und der CD4/CD8-Ratio sowie der aktivierten T-Zellen zeigen beide Diagnosegruppen einen signifikanten Abfall. Bei den Immunglobulinen

der Klassen G, A und M zeigten die Patientinnen mit Mammakarzinom einen signifikanten Anstieg. Die Ergebnisse der Cortisolmessung zeigen für die Patientinnen mit Mammakarzinom signifikant höhere hCRH-Stimulationswerte mit ($p < 0,002$) und ohne basale Cortisolwerte ($p < 0,001$). Die höheren Cortisolwerte finden sich bei signifikant niedrigeren T-Helferzellen. Die psychometrischen Erhebungen zeigen für die drei Meßinstrumente eine gute Übereinstimmung. Ausgewertet werden die Mittelwerte der Summenscores. Hervorzuheben ist der Bereich "Soziale Kontakte", der mit allen Testinstrumenten eine signifikante Einschränkung im Beobachtungszeitraum zeigt. Wichtig ist auch der Bereich "Sexualität", der eine geringe Einschränkung zeigt bezogen auf Libido, und eine mittlere bis starke Einschränkung, die im Verlauf signifikant wird, bezogen auf die Paarbeziehung. Ebenso der Bereich "Körperbild/ Weiblichkeit", der sich im Verlauf signifikant verschlechtert. Die Erhebung der Krankheitsbewältigung zeigt für den Bereich "Hilflosigkeit/Hoffnungslosigkeit", daß dieser im Mittelwert *"eher zutreffend"* und in der Nachsorge auf *"trifft voll und ganz zu"* steigt. Eine ängstliche Haltung steigt ebenfalls zum Nachsorgezeitpunkt hin auf eine stärkere Ausprägung an (*"trifft voll und ganz zu"*). Der Bereich "Fatalismus" wird sowohl präoperativ als auch in der Nachsorge mit *"eher nicht zutreffend"* angegeben, während der Bereich "Verleugnung" zu allen drei Meßzeitpunkten mit *"eher zutreffend"* ausgeprägt ist. Aus der Zusammenfassung dieser Ergebnisse wurde ein Risikokollektiv der Patientinnen mit Mammakarzinom ausgewertet, das in allen fünf aufgeführten Copingbereichen ungünstige Summenscores zeigte. Dabei haben 42% der Patientinnen eine Übereinstimmung in mindestens zwei ungünstigen Copingbereichen und sogar 29% eine Übereinstimmung in drei ungünstigen Copingstilen.

Diskussion

Mehrere Autoren fanden bei Mammakarzinom-Patientinnen, die ihren Ärger unterdrückten, erhöhte IgA-Konzentrationen. Dieser Parameter korrelierte mit der Metastasierung des Tumors und zeigte entsprechend eine signifikant schlechtere Prognose dieser Patientinnen an (Pettingale et al. 1985, Derogatis et al. 1979). Wir konnten in unserer Untersuchung einen signifikanten IgA-Anstieg bei Patientinnen mit Mammakarzinom nachweisen. Positive Korrelationen finden statt mit den psychometrischen Variablen: Emotionale Belastung, Soziale Kontakte und Kämpferische Haltung. Aufgrund unseres Nachuntersuchungszeitpunktes von 15 Monaten postoperativ können wir derzeit Zusammenhänge beschreiben, aber keine Aussagen zur prognostischen Bedeutung machen. Der Zusammenhang zwischen Streß und Hoffnungslosigkeit einerseits und erhöhtem Malignomwachstum andererseits konnte von mehreren Arbeitsgruppen bestätigt werden. Dies gilt für Patientinnen mit Mammakarzinom, bei denen hoffnungsloses, hilfloses und ängstliches Verhalten der dominierende Verarbeitungsstil ist (Sklar und Anisman 1981, Moehring und Vietinghoff-Schell 1983). In unserer Untersuchung wird der Verarbeitungsstil "Hilflosigkeit/Hoffnungslosigkeit" prä- und postoperativ als *"eher zutreffend"* angegeben und im Follow-up sogar mit einem Summenscore von mehr als 18, d.h. *"trifft voll und ganz zu"*. Wir betrachten es als eine Aufgabe für die Zukunft, dieses Patientinnenkollektiv weiterzuverfolgen, um zu Aussagen bezüglich der Prognose zu kommen. Außerdem bietet sich hier der Ansatz für stützende Interventionsverfahren mit dem Ziel, günstigere Copingstile zu fördern. Greer et al. (1979) fanden in ihrer bedingt prospektiven 5-Jahres-Verlaufsstudie an Patientinnen mit Mammakarzinom, daß drei Monate nach der Ablatio 53% der Patientinnen eine stoische Annahme zeigten, nach zwei Jahren sogar 71%, während nach drei Monaten 16% eine kämpferische Einstellung aufwiesen, nach zwei Jahren nur noch 2%. Zusätzlich fand sich bei Patientinnen, die drei Monate nach der Ablatio mammae eine kämpferische oder verleugnende Haltung hatten, häufiger Rezidivfreiheit. Andere Studien an Patientinnen mit Mammakarzinom, z.B. Derogatis et al. (1979) und Levy et al. (1985 und 1991), fanden, daß die Fähigkeit, Emotionen auszudrücken, eine aktive Verarbeitung und hoffnungsvolle Einschätzung prognostisch günstiger, d.h. die Lebenszeit verlängernd waren gegenüber Hoffnungslosigkeit, Angst, Depression, Rückzug und stoischer Annahme. Es gibt aber ebenso Studien, in denen keine Beziehung zwischen psychosozialen Faktoren und dem Verlauf von Karzinomkrankungen gefunden werden konnte (Cassileth et al. 1985). Mit diesen Ausführungen sollte nicht der Schluß gezogen werden, daß das eine vom anderen abhängt, vielmehr sollte nur gesehen werden, ob es Veränderungen und Zusammenhänge gibt.

Einfluß von Mistelpräparaten auf die Motilität von T-Lymphozyten - Untersuchungen in einem 3-D Kollagenmatrixsystem

G. Nikolai¹, P. Friedl^{1,2}, P. B. Noble², M. Werner³ und K. S. Zänker^{1,2}

¹Institut für Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Stockumer Str. 10, 58448 Witten;
²Department of Oral Biology, McGill University, Montreal, Quebec, Kanada; ³Verein für
Krebsforschung, Arlesheim, Schweiz

Die immunmodulierenden Effekte von Mistelextrakten sind eng verknüpft mit Funktionen des spezifischen Immunsystems und werden heute hauptsächlich mit den misteltypischen Inhaltsstoffen, den Mistellektinen und Viscotoxinen in Verbindung gebracht. Die Beweglichkeit und Umverteilung von T-Lymphozyten stellen die Grundlage für Effektorleistungen wie z. B. Überwachungsfunktion, Erkennung von Antigen-präsentierenden Zellen und T-Zell-vermittelter Zytotoxizität dar. Ein möglicher Wirkmechanismus könnte auf der Modulation des Rezirkulationsverhaltens immunkompetenter Zellen sowie der Umverteilung von T-Lymphozyten in verschiedenen Organen oder innerhalb der extrazellulären Matrix beruhen. Bei subkutaner Injektion von Mistelextrakt erfolgt die Entfaltung der biologischen Wirkung zunächst lokal im Gewebe und möglicherweise unter Beteiligung der Interaktion von Mistelkomponenten mit der extrazellulären Matrix. Im Rahmen dieser Studie wurde die Wirkung von verschiedenen Mistelextrakten (Iscador®) auf das Migrationsverhalten humaner CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten innerhalb eines dreidimensionalen (3-D) Kollagenmatrixmodells untersucht.

CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten wurden immunomagnetisch aus heparinisiertem Vollblut gesunder Spender isoliert (Reinheit > 97%). Die Zellen wurden in eine Kollagenmatrix inkorporiert und mit Iscador® in Zellkulturmedium (RPMI/10% FCS) überschichtet. Die Wanderungspfade der T-Lymphozyten wurden mittels Zeitraffervideomikroskopie aufgenommen, mit Computer-assistiertem Zell-Tracking digitalisiert und quantitativ analysiert. Die Wanderungsaktivität der Zellen wurde über eine Inkubationsdauer von vier Tagen für jeweils eine Stunde täglich beobachtet.

Nach Zugabe von Iscador® QuFrF (unfermentiert; Lektiningehalt 150 ng/mg bei einem Viscotoxingehalt von 1,4 µg/mg Frischpflanze) oder Iscador® Qu (fermentiert; Lektine 50 ng/mg und Viscotoxin 2,8 µg/mg Frischpflanze) war für den Dosisbereich von 0,25 bis 1,25 µg/ml Gesamtextrakt sowohl für CD4⁺ als auch für CD8⁺ T-Zellen eine Induktion der Motilität nachweisbar. Dosisoptimum und Zeitpunkt der stärksten Wirkung variierten stark spenderabhängig (Abb. 1) mit einer Spitzenaktivität im Zeitraum von 24 bis 72 Stunden (Abb.1). Im Gegensatz zum zeitlichen Profil der Iscador®-vermittelten T-Zell-Migration (innerhalb von Stunden bis Tagen) erfolgte nach Kreuzvernetzung der Oberflächenantigene CD2 und CD3 eine deutlich raschere (innerhalb von Minuten), jedoch transiente (< 24 Stunden) Rekrutierung von Zellen. Während für Iscador® QuFrF bis zu einer Konzentration von 2,5 µg/ml noch eine Aktivierung der Lymphozytenmotilität nachweisbar war, führte diese

Konzentration an Iscador® Qu stets zu einer Motilitätshemmung. Bei Dosen über 2,5 µg/ml war für beide Präparate eine sehr starke Inhibition der Zellmotilität nachweisbar.

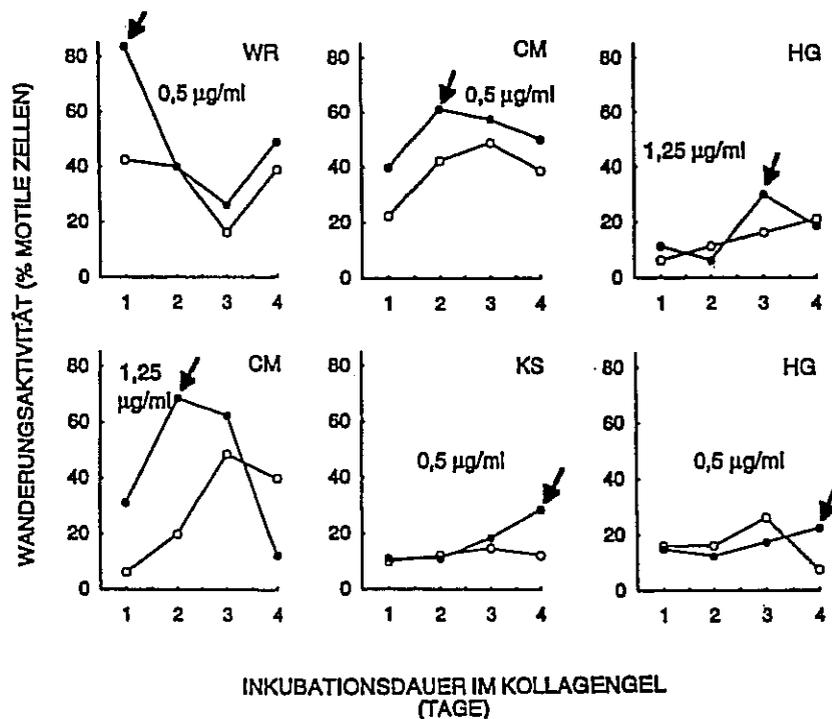


Abb. 1: Induktion der Migration von CD4⁺ T-Lymphozyten durch Iscador® QuFrF (obere Reihe) und Iscador® Qu (untere Reihe) in einem 3-D Kollagenmatrixsystem. Die Wanderungsaktivität Mistelextrakt-exponierter Zellen (●) ist im Vergleich zur spontanen Basisaktivität (○) dargestellt. Das Dosisoptimum und der Zeitpunkt der stärksten Aktivierung (Pfeil) variieren sehr stark spenderabhängig und sind in den jeweiligen Graphiken angegeben.

Die Zellviabilität wurde im Anschluß an die Untersuchung der Zellmigration durch Propidiumjodid (PJ)-Färbung der Zellen und Durchflußzytometrie nach Kollagenase-Verdau analysiert. Hohe Konzentrationen an Mistelextrakt ($\geq 2,5 \mu\text{g/ml}$) führten zu einem Anstieg des Anteils PJ-positiver, also zytotoxisch geschädigter T-Zellen im Vergleich zur Kontrolle.

Die dualen Effekte von Mistelextrakt wurden in dieser Studie mittels Quantifizierung der Migrationsaktivität humaner T-Lymphozyten gezeigt: T-Zell-Wanderung (Immunmodulation) wird in niedrigen Dosen induziert, während hohe Konzentrationen an Mistelextrakt zellschädigend sind (Zytotoxizität) und damit die T-Zell-Motilität stark inhibieren. Die Aktivierung der Zellwanderung durch Iscador® tritt zeitlich verzögert auf im Vergleich zur sehr raschen Rekrutierung von Zellen nach Kreuzvernetzung von CD2 und CD3. Durch Aktivierung des "Suchverhaltens" von T-Lymphozyten im Gewebe könnten Mistelkomponenten auch Effektorfunktionen wie z. B. die T-Zell-vermittelte Zytotoxizität fördern.

Viscotoxinspektren der europäischen Unterarten von *Viscum album* L.

Schaller G.*, Urech K.*, Giannattasio M.***, Jäggy C.*

* Institut Hiscia, Verein für Krebsforschung, CH-4144 Arlesheim

** Istituto Botanico, Facoltà di Agraria, Università di Napoli, Portici, Napoli (Italien)

Die Viscotoxine gehören neben den Mistellektinen zu den spezifischen Inhaltsstoffen der Mistel (*Viscum album* L.). Da in der Literatur über unterschiedliche Viscotoxine aus Laubholz- und Kiefernmisteln berichtet wird, untersuchten wir die Verteilung der einzelnen Viscotoxine der drei europäischen Unterarten der Mistel auf verschiedenen Wirtsbäumen.

Aus der Laubholzmistel vom Apfelbaum (*V. a. ssp. album* gewachsen auf *Malus domestica*) und der Kiefernmistel (*V. a. ssp. austriacum* gewachsen auf *Pinus sylvestris*) konnten wir 6 Viscotoxine isolieren. Vier dieser Viscotoxine waren die bereits früher beschriebenen Viscotoxine A₂, A₃, B und 1-PS. Die zwei bisher nicht beschriebenen Verbindungen, die von uns Viscotoxin A₁ und U-PS genannt werden, konnten ebenfalls über ihre chromatographischen Eigenschaften, Zytotoxizität, Reaktion mit Anti-Viscotoxin-Antiserum als Viscotoxine charakterisiert werden.

Anhand der Verteilung dieser Viscotoxine ließen sich die drei Unterarten der europäischen Mistel unterscheiden. In *V. a. ssp. album* sind die Viscotoxine B, A₁, A₂ und A₃ mit einer Dominanz von A₂ und A₃ nachweisbar. In *V. a. ssp. abietis* sind alle 6 Viscotoxine zu finden, wobei A₃ vorherrscht. In Extrakten von *V. a. ssp. austriacum* bilden Viscotoxin 1-PS und U-PS die Hauptmenge neben wenig Viscotoxin B und A₃. Die Laubholzmisteln auf verschiedenen Wirtsbäumen können sich in den Verhältnissen und der Gesamtmenge der vier genannten Viscotoxine unterscheiden.

Diese Dominanz der Unterart der Mistel bestätigt sich auch durch Untersuchungen von zwei Unterarten auf einem polyvalenten Wirt.

Wirtsbaumbedingte Unterschiede von Mistelpräparaten hinsichtlich Lektiningehalt, Lektinmuster und Lektinwirkungen und daraus abgeleitete Konsequenzen für die Qualitätssicherung

R. Scheer und A. Scheffler,
Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof,
75223 Niefern-Öschelbronn

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluß von 9 Wirtsbäumen (Ahorn, Apfel, Birke, Eiche, Esche, Mandel, Kiefer, Tanne, Weißdorn) auf Inhaltsstoffe und Wirkungen der aus Misteln dieser Wirtsbäume hergestellten Präparate (ABNOBAviscum[®]) untersucht. In sog. "Fingerprint"-Chromatogrammen ließen sich die 3 Mistelrassen (Laubholz-, Kiefern- und Tannenmistel) unterscheiden. Ebenso fanden sich je nach Wirtsbaum unterschiedliche Viscotoxinmuster. Bzgl. des Lektiningehalts konnte gezeigt werden, daß zwar aufgrund der Prozeß-Standardisierung Präparate einheitlichen Lektiningehalts zu realisieren sind, daß aber je nach Wirtsbaum Präparate unterschiedlichen Lektiningehalts und Lektinmusters hergestellt werden. So enthalten Präparate aus "Eichenmisteln" bei gleichem Herstellungsverfahren 50 - 100 mal mehr Lektine als solche aus "Kiefernmisteln". Jedoch können bei den gleichen Präparaten hinsichtlich ihrer Wirkung auf verschiedene menschliche Tumorzellen (kleinzelliges, sowie großzelliges Lungencarcinom, Melanom, Tumoren aus der Mundhöhle) keine dem Lektiningehalt entsprechenden Unterschiede festgestellt werden. Präparate aus "Kiefern"- und "Tannenmisteln" enthalten fast ausschließlich ML3, während in solchen aus "Laubholzmisteln" ML1 dominiert. Die vorliegenden analytisch-chemischen sowie die präklinischen Befunde zeigen, daß je nach Wirtsbaum unterschiedliche inhaltsstoffliche Zusammensetzungen der Mistelpräparate resultieren, die zu lektinunabhängigen biologischen Wirkungen führen.

Schlußfolgerung: Die Qualitätssicherung muß zwar Chargenhomogenität dokumentieren, aber sowohl die Normierung des Lektiningehaltes verbunden mit der Angabe, damit das wirksame Prinzip des jeweiligen Mistelpräparates eingestellt zu haben, als auch jedwede Angabe des Lektiningehalts auf der äußeren Umhüllung des Arzneimittels täuschen dem Anwender eine falsche Sicherheit vor, weil damit nichts über die anderen Bestandteile des Mistelpräparates ausgesagt ist. Solche Angaben müssen auch als irreführend angesehen werden, wenn einerseits die zytotoxischen Eigenschaften der Mistelpräparate Grundlage der therapeutischen Entscheidung sind, andererseits aber der Vergleich wirtsbaum-verschiedener Präparate keinen Zusammenhang zum Lektiningehalt erkennen läßt. Im Gegenteil: Es ist eine individuelle Reaktion des Patienten zu erwarten, denn die Zytotoxizität ist nicht nur vom Wirtsbaum, den Inhaltsstoffen und dem Herstellungsverfahren, sondern auch vom individuellen Tumor abhängig. Angaben zum Lektiningehalt können demnach dem Arzt keine Entscheidungs- oder Therapiehilfe sein. Deklaration des Mistelgehalts ist demgegenüber sachgemäßer.

Das Isolektinmuster der Mistellektine

von Michael Schink

Verein Filderklinik e.V., Forschungsabteilung, Im Haberschlag 7, 70794 Filderstadt

Mistellektine setzen sich aus zwei unterschiedlichen Polypeptidketten, einer Nukleinsäure-spaltenden A-Kette und einer zuckerbindenden B-Kette, zusammen. Nach der Spezifität der Zuckerbindung werden heute die Lektine MLI, MLII und MLIII unterschieden. MLI kommt darüberhinaus in zwei Varianten (MLI-1 und MLI-2) vor, die sich aber trotz unterschiedlich großer A-Ketten im allgemeinen nicht voneinander trennen lassen.

Die Ketten aller Mistellektine stellen keine einheitlichen Substanzen dar, sondern sind vielmehr ein Gemisch nahezu gleichgroßer aber im isoelektischen Punkt z.T. sehr unterschiedlicher Isoformen. Durch Kombination verschiedener dieser Isoformen von A- und B-Kette entsteht eine beträchtliche Anzahl von Varianten der Lektinsorten, die sogenannten Isolektine. So zeigt sich nach 2D-gelelektrophoretischer Auftrennung, daß sich das MLI aus ca. 25 und das MLIII aus ca. 15 solcher Varianten zusammensetzt. Ein elektrophoretischer Vergleich der Muster der Einzelketten ergibt einige auffallende Gemeinsamkeiten zwischen den Lektinen. So sind die A-Ketten von MLI-1 und MLII, sowie die B-Ketten von MLII und III nicht nur gleich groß, sondern weisen auch qualitativ gleiche Isolektinmuster auf. Auf eine Identität der jeweiligen Ketten kann daraus aber noch nicht geschlossen werden.

Das Isolektinmuster der Mistellektine ist jedoch nicht in jeder Pflanze gleich, wobei eher individuelle genetische Unterschiede zwischen den Pflanzen als Einflüsse des Wirtsbaums oder der Jahreszeit die entscheidende Rolle spielen. Somit können insbesondere verschiedene MLI-Präparationen unterschiedlich zusammengesetzt sein. Von der leichteren A-Kette dieses Lektins (A-Kette von MLI-2) lassen sich in Laubholzmisteln zwei Hauptmuster finden, die zu unterschiedlicher Zytotoxizität des Gesamtmoleküls führen. Inwieweit variierende Isolektinmuster der Mistellektine Einfluß auf weitere biologische Eigenschaften, insbesondere deren immunologische Wirkungen haben ist noch ungeklärt und sollte noch Gegenstand weitergehender Untersuchungen sein.

Einfluß von Mistelextrakten auf das Immunsystem: eine in vitro-Studie

Stein G. und Berg P.A.

Medizinische Universitätsklinik, Abteilung für Innere Medizin II, Otfried-Müller-Straße 10,
72076 Tübingen

Der Verwendung von Mistelextrakten in der Tumorthherapie liegen zwei verschiedene Wirkprinzipien zugrunde: 1. die zytotoxischen und 2. die immunstimulierenden Effekte. Untersuchungen zur Inhibition der Proliferation der peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) unbehandelter Probanden durch verschiedene Mistelextrakte ergaben, daß der fermentierte Extrakt der Kiefernmistel (Iscador Pini, IP) nur in sehr hohen Dosen die Proliferation unterdrückte, während andere Extrakte dazu z.T. noch in sehr viel niedrigeren Konzentrationen in der Lage waren.

Auch hinsichtlich der Stimulation der Lymphozytenproliferation konnte gezeigt werden, daß sowohl in autologem, als auch in homologem, anti-ML-1 Antikörper-haltigem Plasma, nur dieser Extrakt eine ausgeprägte Fähigkeit hatte, PBMC in 7-Tage-Kulturen zu stimulieren. Endotoxine konnten als Ursache hierfür ausgeschlossen werden. Besonders Allergiker/Atopiker reagierten sehr stark auf die Exposition mit IP in vitro.

Western Blot Analysen wiesen nach, daß der fermentierte Kiefernmistelextrakt nur sehr geringe Mengen an Lektinen enthält, wodurch dieses Präparat in vitro nur sehr wenig toxisch wirkt. Andere Antigene müssen für die stimulierenden Eigenschaften verantwortlich sein.

Bei der Infektions- und bei der Tumorabwehr spielen sowohl das natürliche angeborene als auch das spezifische adaptive Immunsystem eine große Rolle. FACS-Analysen wiesen eine Beteiligung von Zellen beider Teile des Immunsystems bei der Stimulation durch IP in vitro nach: der Anteil an pan T- und an CD4⁺-Zellen nahm im Vergleich zur spontanen Proliferation signifikant zu. Diese Zellen, die dem spezifischen Immunsystem zugeordnet werden müssen, wurden auch verstärkt aktiviert, was anhand der vermehrten Expression des IL-2 Rezeptors (CD25) gezeigt werden konnte. Auch die Aktivierung von Zellen des natürlichen Immunsystems, CD14⁺-Monozyten/Makrophagen, konnte am Beispiel der signifikant erhöhten MHC-Klasse II Molekülexpression (HLA-DR) belegt werden, Moleküle, die für die Antigenpräsentation an spezifische T-Zellen und damit deren Aktivierung von entscheidender Bedeutung sind.

Natürliches und spezifisches Immunsystem stehen über die Freisetzung von Zytokinen netzartig miteinander in Verbindung. Anhand dieser Mediatoren lassen sich Rückschlüsse auf die Beteiligung einzelner Zellpopulationen an den Immunreaktionen ziehen. Hierbei muß unterschieden werden einerseits zwischen den Zytokinen TNF- α und IL-6, die vor allem von Monozyten/Makrophagen freigesetzt werden, und andererseits den Zytokinen, die nach Aktivierung

verschiedener Populationen von T-Helferzellen (Th1-/Th2-Zellen) sezerniert werden. Die im wesentlichen für die zellulären Immunreaktionen verantwortlichen Th1-Zellen bilden vor allem IFN- γ und Interleukin-2 (IL-2). Th2-Zellen, die vor allem humorale Immunreaktionen induzieren, produzieren in erster Linie IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10. Daneben gibt es Vorläuferzellpopulationen, die mehrere dieser Zytokine gleichzeitig freisetzen (Th0-Zellen).

Die fermentierten Extrakte der Kiefern- (IP) und der Apfelmistel (IM) lösten besonders stark die Freisetzung der Zytokine TNF- α und IL-6 in den Überständen der Zellkulturen unbehandelter Probanden aus. Andere Extrakte, wie auch ein auf einen bestimmten ML-1 Gehalt "standardisierter" Extrakt oder das gereinigte Mistellektin-1 (Sigma), waren dazu in weitaus geringerem und in individuell sehr unterschiedlich starkem Ausmaß in der Lage.

Der Vergleich der Zytokinmuster in den Zellkulturüberständen von Probanden nach Stimulation mit dem fermentierten Kiefernmistelextrakt in vitro zeigte, daß in fast allen Überständen (93-100%) die Zytokine TNF- α oder IL-6 freigesetzt wurden. Zytokine, die auf die Aktivierung von spezifischen Th1- oder Th2-Zellen hindeuten, ließen sich nur zu je ca. 25 % erfassen. Bei unbehandelten Tumorpatienten lagen sowohl die Konzentrationen an freigesetztem TNF- α als auch die Häufigkeit Th1- oder Th2-spezifischer Zytokine mit 10-12% deutlich niedriger als bei den Kontrollpersonen.

Zur Zeit werden u.a. auch die Zytokinmuster während einer Misteltherapie untersucht, um zu einer möglichen Reaktivität von Th1- und Th2-Zellen im Verlauf der Therapie differenzierter Stellung nehmen zu können.

Weitere Untersuchungen sollen klären, ob unterschiedliche Mistelextrakte bevorzugt Th1- oder Th2-Zellen aktivieren, und ob damit die unterschiedliche Ansprechbarkeit gegenüber einer Misteltherapie in Zusammenhang steht.

BIOASSAY ZUR BESTIMMUNG VON VISCOTOXINEN

Urech K.*, Schaller G.*, Giannattasio M.**

* Institut Hiscia, Verein für Krebsforschung, CH - 4144 Arlesheim

** Istituto Botanico, Facoltà di Agraria, Università di Napoli, Portici, Napoli (Italien)

Eine vergleichende Studie zur Wirkung von Viscotoxin und Mistellektin auf den H³-Thymidineinbau verschiedener in vitro- kultivierter Tumorzelllinien wurde durchgeführt. Yoshida- Sarkomzellen reagierten am empfindlichsten auf die zytotoxische Wirkung von Viscotoxinen. Zudem waren sie am wenigsten sensibel gegenüber Mistellektin I. Die damit angedeutete Möglichkeit, Viscotoxine auch in Gesamtextrakten der Mistel mit Yoshida- Zellen selektiv zu bestimmen, konnte bestätigt werden.

In Fraktionierungsexperimenten konnten mit Hilfe dieses Bioassays zwei bisher unbekannte Viscotoxine (A1 und U-PS) isoliert werden.. Diese zwei neuen und die vier bisher bekannten Viscotoxine (A2, A3, B und 1-PS) wurden rein dargestellt und ihre individuelle Zytotoxizität im Yoshida- Assay gemessen. Die Zytotoxizität von Mistelextrakten deren Viscotoxinzusammensetzung in der HPLC gemessen wurde liess sich somit berechnen. Es wurde eine überraschend gute Übereinstimmung dieser berechneten Werte mit den tatsächlich im Yoshida- Assay gemessenen Toxizitätswerten gefunden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass keine weiteren Viscotoxine mit nennenswerter Toxizität in grösseren Mengen in den untersuchten, sichtbaren, vegetativen Teilen vorhanden waren.

Das Dosisproblem bei der Anwendung von Mistelpräparaten

H. Wagner
Institut für Pharmazeutische Biologie,
Karlstr. 29, 80333 München

Die parenterale Anwendung von Mistelpräparaten ist ein Beispiel dafür, daß nur eine genaue Kenntnis der Inhaltsstoffe, die damit mögliche Standardisierung der Präparate und eine pharmakologische Grundlagenforschung optimale Therapieergebnisse ermöglicht. Nachdem die Forschung der letzten Jahre gezeigt hat, daß das Mistellektin I, weniger oder nicht das Mistellektin II, bei sehr niedriger Präparatedosierung über eine Induktion bzw. Stimulierung des unspezifischen Immunsystems seine antitumorale Wirkung ausübt, konnte auch die Unsicherheit über die richtige Dosierung von Mistelpräparaten weitgehend beseitigt werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit immunologischen Untersuchungen, die für klassische Cytostatika (z.B. Methotrexat, Fluorurazil) bei sehr niedriger Dosierung ebenfalls immunstimulierende Effekte ergeben haben. Hieraus kann man den Schluß ziehen, daß Immunstimulantien als Regulatorstoffe in sehr niedriger Dosierung appliziert werden müssen, um optimale immunstimulierende Wirkungen zu erzielen. Bei Hochdosierung zeigen die gleichen Verbindungen sehr häufig immunsuppressive Effekte.

Die Möglichkeit eines "Reversal of malignancy"-Effektes durch Stimulierung von "Antionco-
gen - Mechanismus" durch Mistellektine wird diskutiert.

COMPARISON OF THE EFFECTS OF THE VISCUM ALBUM LECTINS AND OF THE FRESH PLANT PREPARATION (ISOREL) ON THE GROWTH OF NORMAL AND TUMOR CELLS

Neven Žarković and Mislav Jurin

Department of Experimental Biology and Medicine, Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia

Due to their cytotoxic, but not immunosuppressive effects various mistletoe (*Viscum album* L.) preparations are used for the therapy of human diseases, particularly cancer. However, nature of the active principle of mistletoe is still uncertain, while it is supposed that the toxic mistletoe lectins could be the main active component of the plant extracts. The aim of this study was to compare the effects of the mistletoe lectins (commercially prepared VAA) with the mistletoe preparation Isorel and its different MW components (prepared by membrane ultrafiltration) on the growth of murine melanoma cells and ConA stimulated lymphocytes in vitro.

Composition of the preparations was analysed by the SDS PAGE and the reverse phase HPLC. The effects of the mistletoe samples were determined according to their influence on the intensity of ^3H -thymidine incorporation in to the cells in vitro, while the effects on the tumorigenicity of the melanoma cells were monitored by the ability of the in vitro treated cells to form artificial lung metastases after i.v. injection into the singeneic mice.

The results obtained indicated that the most of the components in Isorel are of low MW, while the effects of Isorel used at high concentration ($>1 \mu\text{g/ml}$) could be result of the unspecified toxic activity of the mistletoe lectins. On the contrary, if used at lower concentration, *Viscum album* preparation showed mainly growth inhibiting effect on the tumor cells, that was the result of the activity of the low MW components, but not the lectins. Furthermore, plain Isorel preparation showed stronger cytotoxic activity in vitro than any of its modifications, but comparable to the purified lectins. However, tumor growth inhibiting activity of the preparation was equal for all the samples, and could not be a consequence of the toxicity of the mistletoe lectins.

Hence, it is supposed that the beneficial therapeutic effects of the *Viscum album* preparation might result from the combined biological activity of the high and the low MW components, since none of them separately was as efficient as the entire preparation. While the high MW cytotoxic components of the preparation might mainly be mistletoe lectins, the nature of the low MW active components is still unknown.

Glykosylierungs-Muster von Mistel-Lektinen

R. Zimmermann, M. Wahlkamp, W. Göckeritz und U. Pfüller
Inst. f. Phytochemie, Universität Witten/Herdecke,
Stockumer Str. 10, 58448 Witten

In der Europäische Mistel werden die drei Isolektingruppen ML I, ML II und ML III gefunden. Sie bestehen aus der toxophoren A-Kette und der zuckererkennenden B-Kette. Beide Ketten sind über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden. Das ML I enthält abhängig von natürlichen Faktoren zwei Isolektine, deren A-Ketten sich im Molekulargewicht unterscheiden [1].

Die drei Lektine ML I, ML II und ML III sind glykosyliert, wobei bisher nur die Zuckerstrukturen des Hololektins ML I näher untersucht wurden [2].

Umfang und Art der Glykosylierung bestimmen im weiten Rahmen die biologische Funktion und Aktivität der Glykoproteine und deren Eigenschaften.

Die drei Lektine ML I, ML II und ML III wurden hinsichtlich ihres Glykananteils untersucht. Durch Vergleich der Ergebnisse von chemischer und enzymatischer Deglykosylierung konnte gezeigt werden, welche Lektinketten glykosyliert sind und aus wieviel Kohlenhydratketten der Glykananteil besteht.

Die B Ketten der drei Lektine enthalten nahezu gleich große Kohlenhydratanteile (ML I - 11,6%; ML II - 9,4%, ML III - 10,4%), während bei den entsprechenden A-Ketten deutliche Unterschiede auftreten (ML I - 3,7%, ML II - 8,4%). Der Glykananteil setzt sich bei den B Ketten aus 2-3 Zuckerketten zusammen, während die A-Kette des ML I nur eine Zuckerkette und die des ML II zwei Glykanreste enthält. Die untersuchte A-Kette aus ML III erwies sich als nicht glykosyliert.

1. R. Eiffer, K. Pfüller, W. Göckeritz, U. Pfüller
Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry Vol. 9, 1993, p. 144
Eds. T. C. Bøg-Hansen
Proceedings of the 14th International Lectin Meeting in Darjeeling 1993
2. H. Debray, J.-M. Wieruszkeski, G. Strecker, H. Franz
3. Carbohydrate Research, 236 (1992) 135

Liste der am Symposium teilnehmenden Autoren der Vorträge und Leiter des Symposiums

Herr Dr. U. Abel, Institut für Medizinische Biometrie der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 305, 69120 Heidelberg

Herr Prof. Dr. Hans Becker, Fachbereich 12 der Universität des Saarlandes, Pharmakognosie und Analytische Phytochemie, Fachrichtung 12.3, Postfach 151150, 66041 Saarbrücken

Herr Prof. Dr. P. A. Berg, Medizinische Klinik und Poliklinik, Abt. Innere Medizin II, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen

Herr PD Dr. med. J. Beuth, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität zu Köln, Goldenfelsstr. 19-21, 50935 Köln

Herr H. Brettschneider, Nagelstr. 2, 70182 Stuttgart

Herr Dr. A. Büssing, Krebsforschung Herdecke e.V., 58313 Herdecke

Herr Dr. M. Drees, Medizinische Klinik, Abt. Hämatologie -Onkologie, Universität Freiburg, Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg

Herr R. Dorka, Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Herr Dr. L. Edler, Deutsches Krebsforschungszentrum, Biostatistik 0820, Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg

Herr Prof. Dr. H. H. Fiebig, Medizinische Klinik, Abt. Hämatologie -Onkologie, Universität Freiburg, Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg

Frau Dr. M. Fornalski, Lukas-Klinik, Brachmattstr. 19, CH-4144 Arlesheim

Herr Th. Göbel, Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Herr Dr. A. Goyert, Filderklinik, Im Haberschlag 7, 70794 Filderstadt

Herr M. Hafner, Institut für Pathologie, Abt. Tumor-Immunologie des Klinikums Regensburg, Franz-Josef-Strauß-Straße, 93042 Regensburg

Herr Dr. Dr. E. Dieter Hager, BioMed-Klinik Bad Bergzabern, Tischberger Str. 5 + 8, 76887 Bad Bergzabern

Herr Prof. H. Hamacher, Laboratorium für Arzneimittelprüfung und Zulassungsberatung LAZ, Dischingerweg 15, 72070 Tübingen

Frau S. Hartmann, Paul Ehrlich Institut, 63225 Langen

Herr Dr. T. Hajto, Intex Pharmazeutische Produkte AG, Hofackerstr. 77, CH-4132 Muttenz

Herr Dr. B.M. Heiny, Onkologie Kaltenbrunn, 83703 Gmund

Herr Dr. med. Fritz Helmut Hemmerich, Chefarzt der Abteilung für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Kreiskrankenhauses Germersheim, 76726 Germersheim

Herr Dr. W. Henn, Everinghausen 42, 27367 Sottrum

Herr Dr. P. Heusser, Lukas-Klinik, Brachmattstr. 19, CH-4144 Arlesheim

Herr Dr. C. Jäggy, Institut Hiscia, Verein für Krebsforschung, CH-4144 Arlesheim

Herr Dr. Th. Jänichen, Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universität, Sauerbruchstr., 17487 Greifswald

Frau Dr. M. L. Jung, Université Louis Pasteur Strasbourg, Faculté de Pharmacie, 74, route du Rhin, F-67401 Illkirch Cedex

Herr Prof. Dr. M. Jurin, Department of Experimental Biology and Medicine, Ruder Boskovic Institute, Zagreb, Kroatien

Herr Prof. Dr. D. Kabelitz, Paul Ehrlich Institut, 63225 Langen

Herr Dr. G. Kaiser, Klinikum, Medizinische Klinik 5, Institut für Medizinische Onkologie und Hämatologie, Flurstr. 17, 90419 Nürnberg

Herr Dr. H. Kiene, Muselgasse 10, 79112 Freiburg

Herr Prof. Dr. W. Köstler, Österreichische Gesellschaft für Onkologie, Sophienalpenstr. 17, A-1140 Wien

Frau Dr. E. Kovacs, Kantonsspital Basel, Frauenklinik, CH-4051 Basel

Herr Dr. J. J. Kuehn, Lukas-Klinik, Brachmattstr. 19, CH-4144 Arlesheim

Herr Dr. P. Matthiessen, Projektbegleitung UMK, Universität Witten-Herdecke, Beckweg 4, 58313 Herdecke

Herr Dr. H. Musielski, SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Berliner Allee 317/321, 13088 Berlin

Frau Dr. Dr. M. Neises, Klinikum der Stadt Mannheim, Frauenklinik, 68135 Mannheim

Herr G. Nikolai, Institut für Immunologie, Universität Witten-Herdecke, Stockumer Str. 10, 58448 Witten

Herr Dr. habil. U. Pfüller, Institut für Phytochemie, Universität Witten-Herdecke, Stockumerstr. 10, 58453 Witten-Annen

Herr Dr. G. Ribéreau-Gayon, Université Louis Pasteur Strasbourg, Faculté de Pharmacie, 74, route du Rhin, F-67401 Illkirch Cedex

Herr Dr. G. Schaller, Institut Hiscia, Verein für Krebsforschung, CH-4144 Arlesheim

Herr Dr. R. Scheer, Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Herr Dr. A. Scheffler, Carl Gustav Carus-Institut, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Herr Dr. M. Schink, Verein Filderklinik e. V., Forschungsabteilung, Haberschlaide 1, 70794 Filderstadt

Herr Dr. D. Schlodder, Verein für Leukämie- und Krebstherapie, Hofgut Fischermühle,
72348 Rosenfeld

Frau Dr. G. Stein, Medizinische Klinik und Poliklinik, Abt. Innere Medizin II, Otfried-Müller-Str.
10, 72076 Tübingen

Herr Dr. J. Teichert, Projektbegleitung UMK, Universität Witten-Herdecke, Beckweg 4,
58313 Herdecke

Herr Dr. K. Urech, Institut Hiscia, Verein für Krebsforschung, CH-4144 Arlesheim

Herr Dr. H. B. von Laue, Gemeinschaftspraxis, Am Eichhof, 75223 Niefern-Öschelbronn

Herr Prof. Dr. H. Wagner, Institut für Pharmaz. Biologie der Universität München, Karlstr. 29,
80333 München

Herr Prof. Dr. K. S. Zänker, Institut für Immunologie, Universität Witten/Herdecke, Stockumer Str.
10, 58448 Witten

Herr Prof. Dr. N. Zarkovic, Department of Experimental Biology and Medicine, Ruder Boskovic
Institute, Zagreb, Kroatien

Herr Dr. R. Zimmermann, Institut für Phytochemie, Universität Witten-Herdecke, Stockumerstr. 10,
58453 Witten-Annem

Öschelbronn, am 22.9.1995