

# **Fortschritte in der Misteltherapie**

## **Aktueller Stand der Forschung und klinische Anwendung**

Rainer Scheer, Rudolf Bauer, Hans Becker, Volker Fintelmann,  
Fritz H. Kemper und Heinz Schilcher (Hrsg.)

ISBN 3-933351-49-9

---

### **Abstracts**

# Inhaltsverzeichnis

## I. Pharmazie: Biologie, Chemie, Galenik, Pharmakologie, Entwicklung

*H. Becker und J. M. Scher:*

Kurzer Überblick über die Inhaltsstoffe der Mistel (*Viscum album* L.)..... 3

*A. Scheffler:*

Wechselwirkungen zwischen Mistelinhaltsstoffen –

Motivsuche in der pflanzlichen Substanzkomposition..... 13

*R. Dorka, W. Engelmann und W. Hellrung:*

Chronobiologische Untersuchungen an *Viscum album* L. und ihre

pharmazeutische Relevanz..... 23

*I. B. Pevzner, A. G. Tonevitsky, I. I. Agapov, N. V. Maluchenko,*

*M. M. Moisenovich, M. Yurkova, K. Pfüller und U. Pfüller:*

A New Gene Encoding the Ribosome-Inactivating Protein ML III

from Mistletoe Extracts ..... 35

*W. Voelter, R. Wacker, R. Tsitsilonis, S. Stoeva und M. Franz:*

Struktur und Funktion chitinbindender Mistellektine ..... 55

*M. Franz, S. Vollmer, R. Wacker, S. Jäger, R. Scheer, S. Stoeva,*

*R. Lehmann, R. Tsitsilonis und W. Voelter:*

Isolierung und Quantifizierung der chitinbindenden Mistellektine

(cbMLs) aus Mistelextrakten und die Validierung dieser Methode..... 69

*B. Kahle, J. É. Debreczeni, G. M. Sheldrick und A. Zeeck:*

Vergleichende Zytotoxizitätsstudien von Viscotoxin-Isoformen und

Röntgenstruktur von Viscotoxin A3 aus Mistelextrakten ..... 83

*M. Giudici, J. Villalaín, K. Pfüller und U. Pfüller:*

Membranaktivität der Viscotoxine A3 und B – Interaktionen mit

Modellmembranen ..... 99

---

<i>L. Hermann, U. Pfüller und A. Scheffler:</i> Nachweis der Wechselwirkungen zwischen misteleigener DNA und Viscotoxinen .....	109
<i>S. Jäger, U. Pfüller und A. Scheffler:</i> Quantifizierung von Oleanolsäure und Betulinsäure in <i>Viscum album</i> L. und deren wässrigen Extrakten .....	119
<i>K. Urech, J. M. Scher, K. Hostanska und H. Becker:</i> Triterpene der Mistel ( <i>Viscum album</i> ) in der „leimartigen Substanz“ Viscin und ihre antiproliferative Wirkung .....	133
<i>K. Winkler, G. Lenewit, A. Kimpfler und R. Schubert:</i> Charakterisierung von Vesikeln in Mistelextrakten.....	145
<i>K. Winkler, S. Jäger, G. Lenewit, R. Schubert, U. Pfüller und A. Scheffler:</i> Vesikel und Triterpenoide – Galenik lipophiler Substanzen in wässrigen Mistelextrakten.....	157
<i>S. Baumgartner, H. Flückiger, Ch. Jäggy, G. Schaller, D. Shah Rossi und K. Urech:</i> Untersuchung des Iscador®-Maschinenprozesses in Modellsystemen der Zytotoxikologie und Phytopathologie.....	169
<i>S. Jäger, J. Eisenbraun, R. Baiér, B. Schmid, B. Kahle, A. Zeeck und R. Scheer:</i> Machbarkeitsstudie zur Entwicklung einer LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Viscotoxin A2 in Ratten-Serum.....	181
<i>B. Matthes, K. Mühlenfeld, A. Langner und H. Matthes:</i> Fremdstoff-metabolische Charakterisierung von Mistelpräparaten an der Leberzelle (HepG2).....	191

## II. Präklinik: Immunologie, Zytotoxizität, *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen

*R. Klein:*

Effekte von Mistelextrakten auf immunkompetente Zellen *in vitro* und *in vivo* und ihre mögliche Bedeutung für die Therapie von Tumorerkrankungen und andere klinische Entitäten ..... 207

*V. Schirrmacher:*

Improvement of Patient Survival Upon Antitumor Vaccination with an Autologous Tumor Cell Vaccine Modified by Virus Infection..... 223

*E. Ch. Lavelle, G. Grant, K. Pfüller and U. Pfüller:*

Mistletoe Lectins Are Strong Mucosal Adjuvants ..... 237

*E. Kovacs:*

The Profile of *Viscum album*-Extract – Immunological and Molecular Biological Investigations..... 245

*F. Hugo, Ch. Heyder, Th. Dittmar, K. S. Zänker und J.-J. Kuehn:*

Hat Iscador® P einen Einfluss auf die Expression von IL-6, IL-6R und gp130 bei B-NHL-Zelllinien? Eine molekularbiologische und proteinchemische Untersuchung ..... 259

*G. M. Stein, A. Büssing und M. Schietzel:*

Einfluss von Mistelextrakten auf die Generierung und Ausreifung Dendritischer Zellen *in vitro* ..... 269

*A. Büssing, D. Schietzel, M. Schink und G. M. Stein:*

Keine Stimulation *in vitro* kultivierter Tumorzellen durch Mistellektin..... 281

*G. Kelter und H.-H. Fiebig:*

Ausschluss einer Tumorstimulation durch Iscador®-Präparate *in vitro* in einem Panel von 26 humanen Tumorzelllinien..... 291

*P. Fritz, J. Dippon, Th. Kierschke, I. Siegle, A. Möhring, A. Moisa und Th. E. Mürdter:*

Bindung von Mistellektin-1 an primäre Mammakarzinomzellen und dessen klinische Bedeutung ..... 303

*F. Knoepfel-Sidler, A. Viviani, L. Rist, R. Scheer und A. Hensel:*  
*In vitro*-Untersuchungen zur Zytotoxizität verschiedener Mistelpräparate  
 gegenüber humanen Tumorzellen und Zelllinien..... 317

*M. Rostock, R. Huber, Th. Greiner, P. Fritz, J. Schüler, R. Scheer und  
 H.-H. Fiebig:*  
 Antitumorale Aktivität intratumoraler Injektionen eines lektinreichen  
 Mistelextraktes in humanen Pankreas-Ca-Xenografts ..... 333

### **III. Klinische Anwendung und Prüfung**

#### **A) Übersichtsreferate**

*H. Matthes:*  
 Beurteilungskriterien in der onkologisch klinischen Anwendung  
 der Misteltherapie ..... 353

*R. Saller, S. Kramer, F. Iten und J. Melzer:*  
 Unerwünschte Wirkungen der Misteltherapie bei Tumorpatienten –  
 Eine systematische Übersicht..... 367

*G. S. Kienle und H. Kiene:*  
 Kontrollierte klinische Studien zur Misteltherapie  
 der Krebserkrankung – Eine systematische Übersicht ..... 405

*J. Beuth:*  
 Stellenwert der standardisierten Mistelextrakttherapie im Rahmen  
 der evidenzbasierten Komplementärmedizin ..... 423

*G. Stoll:*  
*Viscum album* und EBM – Zur Studienlage der lektinnormierten  
 Misteltherapie ..... 437

#### **B) Kasuistiken und andere Erfahrungsberichte**

*M. Kröz, D. Brauer, H. Pickartz und M. Girke:*  
 Misteltherapie bei einem Patienten mit Pleuramesotheliom –  
 Eine Kasuistik ..... 451

*R. Zerm, M. Kröz und H. Matthes:*

Intravenöse Misteltherapie zu einer Ardalan-Chemotherapie  
bei einer Patientin mit metastasiertem Kolonkarzinom ..... 465

*J.-J. Kuehn:*

Misteltherapie bei malignen Lymphomen – Neue Erkenntnisse und  
Erfahrungen im Rahmen einer prospektiven Kasuistikserie bei  
Patienten mit follikulärem Non-Hodgkin-Lymphom..... 477

*B. Matthes, P. Fritz, Th. E. Mürdter, M. Kröz, H. B. von Laue und  
H. Matthes:*

Untersuchungen zu Immunreaktion und klinischem Outcome nach  
intraläsionaler *Viscum*-Applikation bei Kolonkarzinom..... 491

*Ch. Grah und B. Matthes:*

Fall-Kontrollanalyse zur intraläsionalen *Viscum*-Therapie bei  
endobronchial erreichbarem Bronchialkarzinom ..... 499

## **C) Klinische Prüfungen**

*R. Huber, M. Rostock, R. Lüdtke, M. Werner und R. Klein :*

Der Einfluss des Mistellektins auf Differentialblutbild und  
Lokalreaktionen – Eine doppelblinde, randomisierte Studie  
bei Gesunden (Zusammenfassung) ..... 509

*M. J. Wispler, M. Kappler, D. Soto-Vera, M. Reif, M. Schnelle und  
K. S. Zänker:*

Prospektive, randomisierte, kontrollierte Studie zur Aktivierung  
des Homings und des allgemeinen Aktivitätsniveaus von  
T-Lymphozyten durch subkutane Mistelextrakt-Injektionen  
bei gesunden männlichen Probanden ..... 513

*J. M. Schierholz:*

Einfluss einer additiven Misteltherapie auf die Lebensqualität von  
Krebspatienten unter Chemotherapie – Ergebnisse einer prospektiv-  
randomisierten Studie ..... 527

<i>L. Auerbach, V. Dostal, I. Václavik-Fleck, E. Kubista, A. Rosenberger, S. Rieger, W. Tröger und J. M. Schierholz:</i> Signifikant höherer Anteil aktivierter NK-Zellen durch additive Misteltherapie bei chemotherapierten Mamma-Ca-Patientinnen in einer prospektiv-randomisierten doppelblinden Studie.....	543
<i>A. Büssing, M. Bischof, W. Hatzmann, F. Bartzsch, D. Soto-Vera, E.-M. Fronk, M. Gmeindl und G. M. Stein:</i> Beeinflussung der Granulozytenfunktion durch eine perioperative Infusion eines fermentierten Mistelextraktes .....	555
<i>C. von Hagens, A. Loewe-Mesch, J.-J. Kuehn, U. Abel und I. Gerhard:</i> Prospektive kontrollierte nicht randomisierte Machbarkeits-Studie zu einer postoperativen simultanen Mistel-/Chemotherapie bei Patientinnen mit Mammakarzinom – Ergebnisse zu Rekrutier- und Randomisierbarkeit, Immunparametern, Lebensqualität und Verträglichkeit.....	567
<i>F. Schad, O. Hars, M. Tabali, H.-P. Lemmens und H. Matthes:</i> Retrospektive Untersuchung zur Misteltherapie bei Patienten mit kolorektalem Karzinom am Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe 1/1996 – 6/2002 – Eine Zwischenauswertung .....	579
<i>M. Schink, F. Glaser, H. Scheuerecker, W. Tröger und A. Goyert:</i> Zusammenhang der Natürlichen Killerzellaktivität von Krebspatienten mit deren klinischem Verlauf unter Misteltherapie – Ergebnisse einer prospektiven einarmigen Studie.....	591
<i>U. Mengers, U. Elsässer-Beile, Ch. Leiber und U. Wetterauer:</i> Lokale Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms mit einem auf Mistellektin eingestellten Mistelextrakt.....	601
<i>R. Grossarth-Maticsek und R. Ziegler:</i> Randomisierte Kohortenstudien im Matched-Pair-Design zur Misteltherapie (Iscador®) bei gynäkologischen Karzinomen.....	611

**D) Dokumentation**

*G. S. Kienle, H. J. Hamre, E. Portalupi und H. Kiene:*  
Verbesserung der Qualität therapeutischer Einzelfallberichte und  
Fallserien in der Onkologie..... 627

*F. Schad, B. Matthes, J. Pissarek, U. Albrecht, E. Jeschke und  
H. Matthes:*  
Flexible Datenbank zur Tumor- und Misteltherapiedokumentation ..... 635

**IV. Anthroposophische Erkenntnismethode**

*V. Fintelmann:*  
Die Interaktion von Mistel und *Ich* – Zur anthroposophischen  
Begründung der Misteltherapie..... 645

**Autorenverzeichnis**..... 651

**Stichwortverzeichnis**..... 653

# Kurzer Überblick über die Inhaltsstoffe der Mistel (*Viscum album* L.)

## Short Survey of the Main Natural Components of European Mistletoe (*Viscum album* L.)

H. Becker und J. M. Scher

### Zusammenfassung

Als Hauptwirkstoffe therapeutisch eingesetzter Mistelextrakte werden die Lektine und Viscotoxine angesehen. Als weitere Substanzklassen findet man Flavonoide, Phenylpropane, Polysaccharide und Triterpene. Obwohl deren Beitrag zur Wirkung als gering angesehen wird, spielen sie insofern eine Rolle, als sie teilweise mit den Lektinen und Viscotoxinen interagieren. Zum anderen können sie als Leitsubstanzen mit zu der analytischen Charakterisierung der Extrakte herangezogen werden. Da die Inhaltsstoffe bereits mehrfach zusammenfassend referiert wurden, beschränkt sich dieser Beitrag auf einen kurzen Überblick.

### Schlüsselwörter:

*Viscum album*, Mistel, Inhaltsstoffe, Lektine, Viscotoxine, Flavonoide, Phenylpropane, Polysaccharide, Triterpene

### Summary

Lectins and viscotoxins are the main therapeutic active components of mistletoe extracts. Further natural products belong to flavonoids, phenylpropanoids, polysaccharides and triterpenoids. Although their contribution to the overall activity is small, they may play a role as they interact with lectins and viscotoxins. Furtheron they may be used for the analytical characterization of extracts. The natural products from mistletoes have been summarized repeatedly so that this article is limited to a short review.

### Keywords:

*Viscum album*, mistletoe, natural products, lectins, viscotoxins, phenylpropanoids, flavonoids, polysaccharides, triterpenes

# Wechselwirkungen zwischen Mistelinhaltsstoffen – Motivsuche in der pflanzlichen Substanzkomposition

## Interactions Between Mistletoe Components – In Search of a Motive for a Plant's Composition

A. Scheffler

### Zusammenfassung

Misteln (*Viscum album* L.) enthalten mehrere anerkannte Wirkstoffe, die mit anderen vornehmlich hochpolymeren Inhaltsstoffen interagieren, wenn die chemischen und räumlichen Bedingungen vorhanden sind. Es wird eine Übersicht über die bisher bekannten Wechselwirkungen von Mistellektinen, Viscotoxinen, Phospholipase A2, Vesikeln, Sacchariden, Triterpenen und DNA teilweise in Abhängigkeit von pH-Wert, Ionenstärke und -art gegeben. Dadurch wird deutlich, dass sowohl die Extrahierbarkeit als auch die eventuelle Bildung von Substanzkomplexen, die auf Interaktionen beruhen, durch die galenischen Maßnahmen beeinflusst werden, wovon letztendlich die therapeutischen Möglichkeiten abhängen. In manchen Fällen werden pharmakologische Effekte durch Wechselwirkungen erst hervorgebracht.

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

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

### Schlüsselwörter:

*Viscum album* L., Mistel, Wechselwirkungen, Mistelextrakt, Mistellektine, Viscotoxine, Vesikel, Mistel-DNA, Mistelsaccharide, synergistische Effekte, antagonistische Effekte

**Summary**

Mistletoe (*Viscum album* L.) contains several known active ingredients which – given the right chemical and physical conditions – interact in particular with other polymeric components. This article provides an overview about known interactions of mistletoe lectins, viscotoxins, phospholipase A2, vesicles, saccharides, triterpenoids and DNA in part dependent on pH-value, ionic strength and type of ions. This will illustrate how both the extractability as well as the possible formation of substance complexes, which are based on interactions, are influenced by galenic processes on which the therapeutic capabilities ultimately depend. In some cases, pharmacological effects are due to interactions of different components.

Despite isolated or pure synthetic drugs a systematic investigation of the interaction of plant ingredients can lead to:

1. a validation of the pharmaceutical quality according to the biological effects within the treated organism,
2. questioning the functional equivalence of the formation processes in medicinal plants and disease inducing processes in man.

**Keywords:**

*Viscum album* L., mistletoe, interactions, mistletoe extract, mistletoe lectins, viscotoxins, vesicles, mistletoe DNA, mistletoe saccharides, synergistic effects, antagonistic effects

# Chronobiologische Untersuchungen an *Viscum album* L. und ihre pharmazeutische Relevanz

## Chronobiological Examination in *Viscum album* L. and Its Pharmaceutical Relevance

R. Dorka, W. Engelmann und W. Hellrung

### Zusammenfassung

Die Weißbeerige Mistel *Viscum album* L. wird pharmazeutisch zu einem antitumoralen Heilmittel verarbeitet. Sie zeigt sowohl in ihren verschiedenen Organen als auch jahreszeitlich quantitative und qualitative Substanzvariationen. Dies lenkt das Interesse auf die Chronobiologie der Mistel, die Zyklen ihrer Entwicklung und ihre Organdifferenzierung.

Nach der Umstimmung der juvenilen zur adulten Mistel treten jährlich Nutationen und pseudo-dichotomes Wachstum der Gabelsprosse auf, die etwa einen Monat anhalten. Die Meristeme der Gabelsprosse differenzieren sich nahezu synchron zu vegetativen und generativen Primordien. Damit wird eine heterochrone Organbildung eingeleitet, bei der sowohl vegetativ verzögerte als auch generativ beschleunigte Entwicklungsprozesse auftreten. Sie machen die besondere zeitliche Eingliederung der Mistel in den Jahreslauf aus und sind insofern auch für die Erntezeit und somit pharmazeutisch von Relevanz. Die Nutationsbewegungen der Sprosse korrelieren mit der Blühinduktion und treten erst 3–5 Jahre nach der Keimung in der Adultphase der Mistel auf. Diese Nutationen wurden in Konstanträumen auf den endogenen Charakter ihrer Rhythmen und deren Periodenlängen untersucht. Der Einfluss der Temperatur auf die Periodenlänge wurde registriert. Die Sprosse der Weißbeerigen Mistel *Viscum album* L. weisen circadiane (tagesperiodische) Nutationen mit Temperatur-kompensierter Periode und langperiodische Nutationen mit Temperatur-abhängiger Periode auf. Mit dem Ende dieser Bewegungen sind die Sprosse radial und nicht mehr vertikal ausgerichtet. Wir konnten das Pflanzenhormon Jasmonsäure und ihre Vorstufe 12-Oxophytodiensäure mittels GC-MS nachweisen. Während der Nutationen erhöhte sich die Konzentration bis zum Faktor 100. Fingrut und Flescher (2002) haben die antitumoralen Eigenschaften von Jasmonsäure und Methyljasmonat zeigen können. Somit weisen unsere Resultate darauf hin, in der Mistel eine weitere, möglicherweise antitumorale Substanzgruppe gefunden haben.

**Schlüsselwörter:**

Chronobiologie der Mistel *Viscum album* L., Nutationen, Jasmonate, antitumorales Heilmittel

**Summary**

*Viscum album* L. is used pharmaceutically as an antitumoral remedy. The plant shows variations of the compounds in the different organs as well as during the seasons. This fact makes the rhythms of the mistletoe, its developmental cycle and the differentiation of its organs particularly interesting. After the change from the juvenile to the adult mistletoe nutational movements and pseudo-dichotomic growth of the bifurcate shoots of about one month duration are observed each year. The meristems of the bifurcate shoots differentiate almost synchronously to vegetative and generative primordia. Thereby a heterochronous organ development is induced which shows not only a retarded vegetative but also an accelerated generative development. They are responsible for the peculiar integration of the mistletoe into the course of the year and are therefore also relevant for the harvesting time and for the pharmaceutical processing.

The bending movements (nutations) of the shoots are correlated with the flower induction and occur 3–5 years after germination during the adult phase of the mistletoe. These nutational movements were studied in air conditioned chambers in respect to the endogenous character of the rhythms, their periodicities and temperature dependencies. The shoots of the mistletoe *Viscum album* L. show a circadian nutation with temperature compensated periods and a nutational movement with a longer period which is temperature dependent. At the end of the nutational movements the shoots change from a vertical position to a more radial one.

We were able to detect the plant hormone jasmonic acid and its precursor 12-oxo-phytodienoic acid by GC-MS. The level increased during the nutations up to hundred-fold. Fingrut and Flescher (2002) showed the antitumoral properties of jasmonic acid and methyl jasmonat. So our results indicate that an additional antitumorally acting group of ingredients containing in mistletoe was found.

**Keywords:**

Chronobiology of the mistletoe *Viscum album* L., nutational movements, jasmonic acid, antitumoral remedy

# A New Gene Encoding the Ribosome-Inactivating Protein ML III from Mistletoe Extracts

## Ein neues Gen kodiert das Mistellektin ML III aus Mistelextrakten

I. B. Pevzner, A. G. Tonevitsky, I. I. Agapov, N. V. Maluchenko, M. M. Moisenovich, M. Yurkova, K. Pfüller und U. Pfüller

### Summary

Extracts from mistletoe (*Viscum album* L.) contain three main toxic proteins – ML I (also known as viscumin), ML II and ML III. A catalytic subunit of one of mistletoe toxic lectin has been cloned and expressed in *Escherichia coli* cells. The immunochemical properties of resulting recombinant A-subunit rMLgA allowed to say that obtained protein product is the ML III A-chain. The comparative analysis of nucleotide and deduced amino acid sequences of the cloned ML III, native ML I and other discovered mistletoe toxins, ricin and abrin A-subunits was performed, revealing the main differences in primary structure of these proteins. Antigenicity analysis of the ML III A-subunit has revealed a new epitope D<sup>179</sup> – E<sup>184</sup> that is not present in viscumin. Ribosome-inactivating activity of the recombinant ML III A-subunit was determined in a cell-free system exhibiting inhibition of endogenous protein synthesis. The recombinant lectin ML III, its mutants and subunits assist the study and evaluation of therapeutically relevant activities of mistletoe based drugs and extracts.

### Keywords:

Ribosome-inactivating proteins, RIP II, mistletoe lectins, recombinant ML III A-subunit, monoclonal antibodies, *Viscum album*

**Zusammenfassung**

Extrakte und Präparate der Europäischen Mistel (*Viscum album* L.) enthalten drei toxische Proteine, die Lektine ML I (Viscumin), ML II und ML III. Die katalytische Untereinheit des Mistellektins ML III wurde kloniert und in *E. coli* exprimiert. Die Struktur und die immunochemischen Eigenschaften der rekombinanten ML III A-Untereinheit werden mit einer Reihe monoklonaler Antikörper, die gegen die Mistellektine ML I bzw. ML III gerichtet sind, untersucht. Die enzymatische Aktivität der rekombinanten ML III A-Untereinheit, die zu einer Inaktivierung der Proteinsynthese auf ribosomaler Ebene führt, wurde in einem zellfreien System quantitativ bestimmt. Eine vergleichende Analyse der Nukleotide und der davon abgeleiteten Aminosäuresequenz der klonierten ML III A- und der nativen ML I A-Untereinheiten zeigt die wesentlichen Differenzen in der Primärstruktur dieser Proteine. Die Antigenitätsanalyse der ML III A-Untereinheit ergab ein neues Epitop D<sup>179</sup>–E<sup>184</sup>, das im Viscumin (ML I) nicht vorhanden ist. Die Rolle der toxischen Lektine bezüglich der immunologischen Wirksamkeit der Mistelextrakte wird diskutiert.

**Schlüsselwörter:**

Ribosomen-inaktivierende Proteine, RIP II, Mistellektine, rekombinante ML III A-Untereinheit, monoklonale Antikörper, *Viscum album*

# Struktur und Funktion chitinbindender Mistellektine

## Structure and Function of Chitin-Binding Mistletoe Lectins

W. Voelter, R. Wacker, R. Tsitsilonis, S. Stoeva und M. Franz

### Zusammenfassung

Aus Extrakten von *Viscum album* L. wurden drei chitinbindende Mistellektine, cbML1, cbML2, cbML3, isoliert und deren Primärstruktur ermittelt. Alle drei Mistellektine sind aus zwei Proteinketten mit 48 oder 49 Aminosäureresten aufgebaut und über eine intermolekulare Disulfidbrücke miteinander verknüpft. Die cbML-Sequenzen enthalten eine hohe Anzahl von Cystein- und Glycinresten und vier intramolekulare Disulfidbrücken. Durch die Kombination der Daten, die durch Sequenzierung und MALDI-MS erhalten wurden, konnte die Primärstruktur aller cbML-Isoformen ermittelt werden.

Die cbML-Sequenzen weisen 55% Identität zu Hevein auf, ein chitinbindendes Protein, bestehend aus einer einzigen Kette mit 43 Aminosäureresten.

Unter Verwendung von Kernresonanzdaten, die von Hevein vorliegen, konnte eine dreidimensionale Struktur von cbML3 aufgestellt werden. Aus diesem Modell kann geschlossen werden, dass die Chitinbindungsstelle hoch konserviert vorliegt, sowohl bei Hevein als auch bei den cbMLs.

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

### Schlüsselwörter:

chitinbindende Mistellektine (cbMLs), Hevein, *Viscum album* L.

**Summary**

From extracts of *Viscum album* L. three chitin-binding mistletoe lectins, cbML1, cbML2, cbML3, were isolated and their primary structure determined. All three mistletoe lectins are composed of two protein chains of 48 or 49 amino acid residues and linked by an intermolecular disulfide bond. The cbML sequences contain a high number of cysteine and glycine residues and four intramolecular disulfide bridges. By combination of the data, obtained by sequencing and MALDI-MS, the primary structure of all cbML isoforms were determined.

The cbML sequences show 55% identity to hevein, a chitin-binding protein, composed of a single chain of 43 amino acid residues. On the basis of nuclear magnetic resonance data on hevein, a three-dimensional structure of cbML3 was modelled. From this model it can be concluded that the chitin-binding site is highly conserved in hevein as well as in the cbMLs.

As cbMLs are components in pharmaceutical preparations, a method was developed to determine quantitatively the cbML content in these preparations.

**Key words:**

chitin-binding mistletoe lectins (cbMLs), hevein, *Viscum album* L.

# Isolierung und Quantifizierung der chitinbindenden Mistellektine (cbMLs) aus Mistelextrakten und die Validierung dieser Methode

## Isolation and Quantification of the Chitin-Binding Mistletoe Lectins (cbMLs) from Mistletoe Extracts and the Validation of This Method

*M. Franz, S. Vollmer, R. Wacker, S. Jäger, R. Scheer, S. Stoeva, R. Lehmann, R. Tsitsilonis und W. Voelter*

### **Zusammenfassung**

Kürzlich wurden drei Isomere einer neuen Klasse von Mistellektinen, die spezifisch an Chitin binden, isoliert und ihre Primärstruktur bestimmt. Um den Gehalt an chitinbindenden Mistellektinen (cbMLs) in kommerziellen Mistelextrakten zu bestimmen, wurde eine Methode etabliert, mit der kleine Mengen von cbMLs durch Affinitäts- und Umkehrphasen-Hochdruckflüssigchromatographie (RP HPLC) isoliert und quantifiziert werden können. Eine Validierung wurde gemäß den ICH Richtlinien durchgeführt, und es wurde gezeigt, dass Spezifität, Robustheit und Präzision gewährleistet sind. Außerdem ist eine Linearität zwischen 0,6 und 4,1 µg/ml cbML-Gehalt in den Extrakten gesichert. Die Wiederfindungsrate beträgt zwischen 94 und 100%. Damit ist die Richtigkeit der Methode ebenfalls gewährleistet. Was den Arbeitsbereich der Analysenmethode betrifft, so können minimal 1,2 µg und maximal 8,2 µg cbMLs mit dem Affinitätsmaterial inkubiert werden. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze beträgt 0,13 bzw. 0,46 µg/ml cbMLs.

### **Schlüsselwörter:**

Mistelextrakte, chitinbindende Mistellektine (cbMLs), Quantifizierung, Validierung, *Viscum album* L.

**Summary**

Recently, three isomers of a new class of mistletoe lectins, specifically binding to chitin, were isolated from mistletoe extracts and their primary structures determined.

To determine the content of the chitin-binding mistletoe lectins (cbMLs) in commercial mistletoe extracts, a method was established to isolate and quantify small amounts of cbMLs by using affinity and reverse phase high performance liquid chromatography (RP HPLC). According to ICH guidelines this analytical method was validated, demonstrating that specificity, robustness and precision are guaranteed. In addition, linearity is ensured between 0.6 and 4.1 µg/ml content of cbMLs in the extracts and recovery was calculated to be between 94 and 100%. So, accuracy of this method is guaranteed as well. As far as the range of the analytical method is concerned, a minimum of 1.2 µg and a maximum of 8.2 µg cbMLs can be incubated with the affinity material. Detection and quantitation limit was calculated to be 0.13 and 0.46 µg/ml cbMLs, respectively.

**Key words:**

Mistletoe extracts, chitin-binding mistletoe lectins (cbMLs), quantification, validation, *Viscum album* L.

# Vergleichende Zytotoxizitätsstudien von Viscotoxin-Isoformen und Röntgenstruktur von Viscotoxin A3 aus Mistelextrakten

## Comparative Cytotoxicity Studies of Viscotoxin Isoforms and X-ray Structure of Viscotoxin A3 From Mistletoe Extracts

B. Kahle, J. É. Debreczeni, G. M. Sheldrick und A. Zeeck

### Zusammenfassung

Die Europäische Mistel (*Viscum album* L.) enthält neben Mistellektinen die Viscotoxine als pharmakologisch wichtige Inhaltsstoffe. Wir berichten über unsere Untersuchungen an Extrakten von Misteln der Wirtsbäume Pappel und Kiefer. Aus diesen Extrakten wurden ohne die Verwendung von Phosphatpuffern sieben Viscotoxin-Isoformen isoliert und mittels HPLC sowie hochauflösender ESI-Massenspektrometrie charakterisiert. Dabei konnte gezeigt werden, dass das in den Viscotoxinen gebundene Phosphat pflanzlicher Herkunft ist. Neben den bereits bekannten Isoformen (A1, A2, A3, B, 1-PS und U-PS) haben wir ein bisher unbekanntes, als VT B2 bezeichnetes Mikroprotein isoliert. Die aus den Massenspektren der bekannten Viscotoxine gewonnenen Daten stimmen mit den aus der Primärsequenz berechneten zum Teil nicht überein. Vergleichende Zytotoxizitäts-Studien gegen die Tumorzelllinien Mammakarzinom MCF7, Magenadenokarzinom HM02 und Leberkarzinom HepG2 wurden mit allen Isoformen sowie mit den Rohextrakten durchgeführt. Sechs der sieben Isoformen weisen eine Zytotoxizität auf, variieren jedoch in ihrer Wirkstärke. U-PS besitzt keine zytotoxische Aktivität. Damit in Einklang stehen Primärsequenzuntersuchungen: U-PS gehört nicht, wie bisher angenommen wurde, zur Familie der Viscotoxine. Unsere Röntgenstruktur der VT-Isoform A3 zeigt erstmals die dreidimensionale Struktur im Kristallzustand und gibt Auskunft über die charakteristische Phosphatbindestelle dieses Moleküls.

### Schlüsselwörter:

Viscotoxine, U-PS, *Viscum album* ssp. *album*, *Viscum album* ssp. *austriacum*, Isolierung, Primärstruktur, Zytotoxizität, Tumorzelllinien, Röntgenstruktur

**Summary**

The European mistletoe (*Viscum album* L.) contains viscotoxins besides mistletoe lectins as pharmacologically active components. Here we report on our investigations of extracts from poplar- and pine-mistletoes. From these extracts we isolated seven viscotoxin-isoforms without the use of phosphate buffer, followed by HPLC and high-resolution ESI-MS characterization. Thus, we were able to demonstrate that the previously described phosphates found as viscotoxin adducts are of plant origin. The microproteins isolated by us included all known isoforms (A1, A2, A3, B, 1-PS and U-PS) as well as a previously unreported isoform, named viscotoxin B2. The data that were gained by mass spectrometry on viscotoxins partly contradict those calculated for their primary structure reported in the literature. Comparative cytotoxicity studies were carried out against the tumour cell lines mamma carcinoma MCF7, stomach carcinoma HM02 and liver carcinoma HepG2. Six out of the seven isoforms exhibited cytotoxicity with varying potency. U-PS showed no cytotoxicity at all, which is in accordance with the results from our primary structure investigations: contrary to previous belief, U-PS does not belong to the family of viscotoxins.

Our X-ray structure of isoform VTA3 shows for the first time its three-dimensional structure in the crystalline state and gives information on the characteristic phosphate-binding site of this molecule.

**Keywords:**

viscotoxins, U-PS, *Viscum album* ssp. *album*, *Viscum album* ssp. *austriacum*, isolation, primary structure, cytotoxicity, tumour cell lines, X-ray structure

# Membranaktivität der Viscotoxine A3 und B – Interaktionen mit Modellmembranen

## Membrane Activity of Viscotoxins A3 and B – Interactions with Membrane Model Systems

M. Giudici, J. Villalaín, K. Pfüller und U. Pfüller

### Zusammenfassung

Unter den Thioninen, einer Gruppe von amphiphilen, basischen und damit membranaktiven pflanzlichen Polypeptiden, nehmen die Viscotoxine eine Sonderstellung ein. Ihre biologische Aktivität ist charakterisiert durch antimikrobielle und toxische Eigenschaften bei gering ausgeprägtem hämolytischen Charakter. Erstmals wurden die membranaktiven und membranotropen Eigenschaften an ausgewählten Viscotoxin-Isomeren, den Viscotoxinen A3 und B, gegenüber negativ geladenen Phospholipid-Modellmembranen mit Infrarot- und Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Beide Viscotoxine interagieren intensiv mit Modellmembranen in vergleichbarer, jedoch signifikant unterschiedlicher Weise, indem sie sich an der Membranoberfläche selbst organisieren und damit die Membran destabilisieren.

### Schlüsselwörter:

Thionin, Viscotoxin, Mistel, *Viscum album*, Membran, Vesikel, IR- und Fluoreszenzspektroskopie

### Summary

Among the very homologous family of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thionins, known for their antimicrobial activity, the viscotoxin subfamily differs from other members because of its toxicity against tumoral cells and its weakly haemolytic character. Thionins are small basic proteins found in different plant species, which are known to exert cytotoxic properties and are thought to interact with biomembranes. The effects of two viscotoxins, namely A3 and B, including the reduced derivatives have been tested against different negatively-charged phospholipid membranes by using infrared and fluorescence spectroscopies.

Both viscotoxins are bound with high affinity to negatively-charged phospholipids containing membranes, although displaying slightly differences which are related to the proposed bioactivity. Viscotoxins interact with membranes in a complex way, most likely organizing themselves at the surface inducing defects that lead to the destabilization and disruption of membrane bilayer. The viscotoxin isomers show only weak difference in structure, but pronounced differences in mechanism of membrane interaction.

**Keywords:**

Thionin, viscotoxin, mistletoe, *Viscum album*, membrane, vesicle, IR- and fluorescence spectroscopy

# Nachweis der Wechselwirkungen zwischen misteleigener DNA und Viscotoxinen

## Evidence of Interactions Between Mistletoe DNA and Viscotoxins

L. Hermann, U. Pfüller und A. Scheffler

### Zusammenfassung

Die Mistel (*Viscum album* L.) zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an DNA aus, deren pharmakologische Bedeutung jedoch noch nicht untersucht wurde. Es ist bekannt, dass Viscotoxine, die zu den tumorwirksamen Eiweißen wässriger Mistelpräparate zählen, mit nicht misteleigener DNA in Wechselwirkung treten und dabei die DNA gegen äußere Einflüsse, z.B. Hitzedenaturierung, schützen können.

Die Interaktionen zwischen misteleigener DNA und Viscotoxinen sind allerdings noch nicht untersucht worden. Zunächst erfolgte die Isolierung und Quantifizierung misteleigener DNA aus dem Pflanzenmaterial nach Proteolyse und Entfettung. Verschiedene Organe der Mistel wurden so hinsichtlich ihrer DNA-Mengen untersucht und mit DNA-Mengen anderer Organismen verglichen. Der Wechselwirkungsnachweis wurde mittels Kapillar- und Gelelektrophorese geführt. Mittels Gelelektrophorese konnte der komplexbildende Effekt der Viscotoxine auf die DNA dosisabhängig durch Verzögerung der Wanderung im elektrischen Feld bzw. bei hoher Viscotoxinkonzentration durch Immobilisierung nachgewiesen werden. Kapillarelektrophoretisch ist der Nachweis auf zweierlei Art möglich, dadurch, dass positiv geladene Viscotoxine zur Kathode wandern und durch DNA Zumischung verzögert werden und dadurch, dass negativ geladene DNA zur Anode wandert und durch Zumischung von Viscotoxin verzögert wird.

Die Arbeit zeigt, dass zytotoxisches Viscotoxin an misteleigene DNA gebunden werden kann.

### Schlüsselwörter:

*Viscum album* L., DNA, Viscotoxine, Gelelektrophorese, Kapillarelektrophorese

**Summary**

Although mistletoe (*Viscum album* L.) stands out for a high DNA content, the pharmacological significance of that DNA has not been studied yet. It is known that viscotoxins, which are classed with the tumour-effective proteins of aqueous mistletoe preparations, do not interact with mistletoe DNA and can thus protect the DNA from external influences, e.g. thermal denaturation. However, the interaction between mistletoe DNA and viscotoxins has not been studied yet. Following proteolysis and defatting, mistletoe DNA was isolated from plant matter and quantified. Various organs of the mistletoe were examined in this way regarding their DNA content and compared with the DNA content of other organisms. Proof of interaction was furnished by means of capillary and gel electrophoresis. Gel electrophoresis made it possible to show the complexing effect viscotoxins have on the DNA as a function of the dose, by retarded migration in an electrical field, or with high viscotoxin concentration, by immobilization. By means of capillary electrophoresis proof can be furnished in two ways: by migration of positively charged viscotoxins towards the cathode and their retardation by the admixture of DNA, or by migration of negatively charged DNA towards the anode and its retardation by the admixture of viscotoxin. The study demonstrates that cytotoxic viscotoxin can be bound to mistletoe DNA.

**Keywords:**

*Viscum album* L., DNA, Viscotoxins, Gel electrophoresis, Capillary Electrophoresis

# Quantifizierung von Oleanolsäure und Betulinsäure in *Viscum album* L. und deren wässrigen Extrakten

## Quantification of Oleanolic Acid and Betulinic Acid in *Viscum album* L. and Their Aqueous Extracts

S. Jäger, U. Pfüller und A. Scheffler

### Zusammenfassung

Betulinsäure (BA) und Oleanolsäure (OA) sind Triterpenoide, die in *Viscum album* L. enthalten sind. In dieser Arbeit wird die Validierung von Methoden beschrieben, mit deren Hilfe eine Quantifizierung von BA und OA in Pflanzenmaterial und dessen wässrigen Extrakten möglich ist. Wegen ihrer antitumoralen Eigenschaften sind Triterpensäuren interessante Pflanzeninhaltsstoffe. Obwohl diese in Wasser praktisch unlöslich sind, konnten sie in wässrigen Pflanzenextrakten nachgewiesen werden. Die vorgestellten Methoden entsprechen den von der ICH (international conference on harmonisation) vorgeschlagenen Richtlinien. Die Quantifizierung von BA und OA in Pflanzenmaterial und dessen wässrigem Extrakt ist wichtig für die Beurteilung der pharmakologischen Wirkung und der galenischen Optimierung von Mistelpräparaten. Die in wässrigen Pflanzenextrakten zu erreichende Konzentration von ~ 1 µg/mL BA und OA wird als relevant für Effekte wie Apoptose angesehen, die von Mistelextrakten ausgelöst werden.

### Schlüsselwörter:

Oleanolsäure, Betulinsäure, Quantifizierung, ASE, GC/FID, Validierung

### Summary

Betulinic acid and oleanolic acid are triterpenoids present in *Viscum album* L. In this study, the validation of methods is presented, which allow the quantification of betulinic acid and oleanolic acid in plant material and their

aqueous extracts. These substances are promising ingredients of the plant due to their antitumoral properties. Even though betulinic acid and oleanolic acid are nearly insoluble in water, aqueous plant extracts contain these substances. The methods presented meet ICH guideline specifications. The quantification of betulinic acid and oleanolic acid in plant material and their aqueous mistletoe extracts is of interest for the discussion of pharmaceutical properties and galenical optimisation. The betulinic acid and oleanolic acid amounts of  $\sim 1 \mu\text{g/mL}$  reached in aqueous plant extract are believed to be relevant for effects such as apoptosis caused by mistletoe extracts.

**Keywords:**

oleanolic acid, betulinic acid, quantification, ASE, GC/FID, validation

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

## **Triterpenes of Mistletoe (*Viscum album*) in the „Bird-Lime” Viscin and Its Antiproliferative Activity**

*K. Urech, J. M. Scher, K. Hostanska und H. Becker*

### **Zusammenfassung**

Der als Vogelleim benutzte fettlösliche Extrakt Viscin aus *Viscum album* L. zeigte antiproliferative Wirkungen auf Leukämiezellen *in vitro*. Mit Hilfe von bioaktivitätsgeführter Fraktionierung konnten die pentazyklischen Triterpene Oleanol-, Ursol-, Betulinsäure und Lupeol und die Fettsäuren Ölsäure und Linolsäure als aktive Komponenten des Viscins isoliert resp. identifiziert werden. Viscin und die drei daraus isolierten Triterpensäuren induzierten Apoptose in erythroblastischen (K562), lymphoblastischen (Molt4) und monoblastischen (U937) Leukämiezellen.

Zusätzlich konnten auch die Triterpenoide  $\beta$ -Amyrin,  $\beta$ -Amyrinacetat, Lupeolacetat, Stigmasterol und  $\beta$ -Sitosterol, sowie Stearinsäure und Palmitinsäure als Bestandteile des Viscins identifiziert werden.

### **Schlüsselwörter:**

Viscin, Triterpene, Fettsäuren, antiproliferative Wirkung, Apoptose, Leukämiezellen, *Viscum album*

**Summary**

The lipid extract viscin from *Viscum album* L. used as bird-lime in former times was shown to have antiproliferative effects on leukemia cells in culture. By means of bioactivity guided fractionation the pentacyclic triterpenes ursolic acid, betulinic acid, oleanolic acid, and lupeol and the fatty acids oleic acid and linoleic acid could be identified as active components of it.

Viscin and the three triterpene acids ursolic acid, betulinic acid and oleanolic acid isolated from viscin induced apoptosis in erythroblastic K562, lymphoblastic Molt4 and monoblastic U937 leukemia cells.

Besides, the triterpenoids  $\beta$ -amyrin,  $\beta$ -amyrin-acetate, lupeolacetate, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol and the fatty acids palmitic acid and stearic acid could be identified in viscin.

**Keywords:**

Viscin, triterpenes, fatty acids, antiproliferative effects, apoptosis, leukemia cells, *Viscum album*

# Charakterisierung von Vesikeln in Mistelextrakten

## Characterisation of Vesicles in Aqueous Mistletoe Extracts

*K. Winkler, G. Leneweit, A. Kimpfler und R. Schubert*

### **Zusammenfassung**

Bei der Herstellung von Mistelextrakten durch ein Press-Spalt-Verfahren werden Membranen von Zellwänden und Zellorganellen des Mistletoe-Ausgangsmaterials in Form von Vesikeln kolloidal in Lösung gebracht. In Mistelextrakt wurden aufgrund der grünen Färbung durch Chlorophyll lipoproteidische Strukturen vermutet. Erstmals ist es gelungen, Vesikel ohne Fixierung in Mistelextrakt zu untersuchen. Der Nachweis der Vesikel konnte durch Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie erbracht werden. Der Nachweis ist sowohl in frischem Mistelextrakt als auch aus Ampullen von *Abnobavicum* gelungen.

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

Zur Charakterisierung der Größe wurde eine Methode entwickelt, mit der zunächst die Vesikel über Größenausschlusschromatographie von den niedermolekularen Substanzen abgetrennt, die Fraktionen gesammelt und dann mittels MALLS (Multi Angle Laser Light Scattering) untersucht werden können. Von jeder Fraktion wurde ein UV-VIS Spektrum aufgezeichnet und die Größe der enthaltenen Teilchen bestimmt. Mit der Phospholipidanalytik wurde gezeigt, in welchem Bereich Vesikel in welchen Mengen eluieren, was die Befunde der Photometrie bestätigt.

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

**Schlüsselwörter:**

Vesikel, Phospholipide, Membranen, MALLS, Multi Angle Laser Light Scattering, Cryo-TEM, Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie, wässrige Mistelextrakte

**Summary**

During the preparation of mistletoe extracts by a press – slit – technique, membranes of cell walls and cell organells of the plant material form vesicles, which are colloiddally suspended.

It was assumed that chlorophyll containing green mistletoe extracts enclose lipid structures. For the first time it was possible to analyse unfixed vesicles out of the mistletoe extract. The visualization was carried out with cryo transmission electron microscopy (cryo-TEM). It was possible to prove the existence of vesicles in fresh mistletoe extract and in ampoules of *Abnoba-viscum*.

The quantification of vesicles was established through the analysis of phospholipids, which are the main components of membranes. Phospholipids were extracted by liquid-liquid extraction and quantified photometrically. The method was validated mainly according to ICH guidelines for the validation of analytical methods (Q2A).

For the characterisation of the vesicle size a method was developed with which the vesicles were separated from low molecular weight substances by size exclusion chromatography. Fractions were collected and average sizes were determined by MALLS (Multi Angle Laser Light Scattering). Furthermore, the UV-VIS absorbance and phospholipid concentration were measured in every fraction. Phospholipid quantification was in agreement with photometrical data.

The sizes of vesicles measured by MALLS match the results obtained by cryo-TEM.

**Keywords:**

Vesicles, phospholipids, membrane, MALLS, Cryo-TEM, aqueous mistletoe extracts

# Vesikel und Triterpenoide – Galenik lipophiler Substanzen in wässrigen Mistelextrakten

## Vesicles and Triterpenoids – Galenic of Lipophilic Components in Aqueous Mistletoe Extracts

K. Winkler, S. Jäger, G. Leneweit, R. Schubert, U. Pfüller und A. Scheffler

### Zusammenfassung

In wässrigen Extrakten aus *Viscum album* L. sind neben leicht wasserlöslichen Lektinen und Viscotoxinen lipoide Substanzen wie Membranlipide und Triterpenoide enthalten. Die Membranlipide bilden in dem nach dem Press-Spalt-Verfahren hergestellten Mistelextrakt vesikuläre Strukturen aus, die als Wechselwirkungspartner für schwer in Wasser zu lösende Triterpenoide aber auch für die amphiphilen Proteine wie Lektine und Viscotoxine in Frage kommen.

Ziel der Untersuchung war es, die Wechselwirkungen der Lektine, Viscotoxine und dem Triterpenoid Oleanolsäure mit Vesikeln zu untersuchen. Durch Größenausschlusschromatographie (GPC) wurde ein wässriger Extrakt aus *Viscum album* L. in verschiedene Fraktionen mit gestaffelter Molekülgröße aufgetrennt. Die genuinen Vesikel weisen einen Durchmesser von 50–250 nm auf, weshalb sie an der GPC-Phase Sepharose CL-4B deutlich von freigelösten Lektinen, Viscotoxinen und Oleanolsäure abgetrennt werden. Es konnte gezeigt werden, dass alle drei Stoffgruppen zu einem Teil mit den Vesikeln co-eluierten, weshalb eine Wechselwirkung zu Vesikeln angenommen wird. Gegenüber den anderen Viscotoxinen zeigt Viscotoxin A3 eine besonders starke Affinität zu den im vesikelhaltigen Peak enthaltenen Substanzen.

Für die pharmakologische Beurteilung der Inhaltsstoffe von Mistelextrakten ist deren galenische Darreichungsform von Bedeutung. So könnten vesikulär gebundene Wirkstoffe die Freisetzungseigenschaften verändern.

**Schlüsselwörter:**

*Viscum album*, Mistel, Vesikel, Lektine, Viscotoxine, Oleanolsäure, Wechselwirkung, GPC

**Summary**

Aqueous mistletoe extracts contain proteins (lectins, viscotoxins) and lipophilic substances (phospholipids and triterpenoids). The membrane lipids form vesicular structures if the aqueous extract is prepared using the press-slit-technique. These vesicles are possible interaction partners for lipophilic and amphiphilic substances.

The aim of this study was to investigate the interactions between lectins, viscotoxins and the triterpenoid oleanolic acid with vesicles. Using gel permeation chromatography (GPC), the aqueous plant extract was separated in fractions of different molecular weight. Because the diameter of the genuine vesicles is 50–250 nm, they are well separated from freely dissolved lectins, viscotoxins and triterpenoids. It could be shown that all three groups are partly co-eluting with vesicles, therefore an interaction with vesicles is assumed. In comparison with all other viscotoxins, viscotoxin A3 shows the strongest affinity to substances contained in the vesicle peak.

For the pharmacological evaluation of mistletoe extract substances, the galenic formulation is important. It is likely that active substances bound to vesicles behave in changed release rates.

**Keywords:**

*Viscum album*, mistletoe, vesicles, lectins, viscotoxins, oleanolic acid, interaction, GPC

# Untersuchung des Iscador®-Maschinenprozesses in Modellsystemen der Zytotoxikologie und Phytopathologie

## Investigation of the Iscador® Production Process in Model Systems of Cytotoxicology and Phytopathology

S. Baumgartner, H. Flückiger, Ch. Jäggy, G. Schaller, D. Shah Rossi und K. Urech

### Zusammenfassung

Gemäß dem Begründer der Anthroposophischen Medizin, Rudolf Steiner, sollen Mistelextrakte durch einen maschinellen pharmazeutischen Prozess in ihrer Wirkung gesteigert werden. Die für diesen Zweck am Institut Hiscia entwickelte Maschine, die zur Herstellung von Iscador® eingesetzt wird, wurde im Hinblick auf die angestrebte Wirkungssteigerung untersucht. Als Untersuchungsparameter dienten die Zellviabilität von Molt4- und Yoshida-Tumorzellen sowie die Entwicklung von Crown-Gall-Tumoren bei *Kalanchoe daigremontiana*.

Der Iscador®-Maschinenprozess hatte weder einen relevanten Einfluss auf die Menge der Lektine bzw. Viscotoxine in den Extrakten noch auf deren Bioaktivität im Molt4- bzw. Yoshida-Zellkulturtest. In dem phytopathologischen Tumormodell ließ sich jedoch eine signifikante Wirkungssteigerung der Mistelextrakte durch den Iscador®-Maschinenprozess nachweisen. Zusammengefasst mit früheren Resultaten anderer Modellsysteme ergibt sich damit, dass die Verarbeitung von Mistelextrakten auf der untersuchten Maschine des Instituts Hiscia zu einer deutlichen Wirkungssteigerung von Mistelextrakten im Hinblick auf ihre Schutzwirkung vor externen Noxen in botanischen Untersuchungssystemen führt. Dieser Schutzeffekt erstreckt sich auf physikalische, chemische und biologische Noxen. Diese Wirksamkeit des Iscador®-Maschinenprozesses scheint sich aber nicht auf die an Lektine und Viscotoxine gebundene Toxizität zu erstrecken, wie sie in Zellkulturassays gemessen werden kann.

**Schlüsselwörter:**

Anthroposophische Pharmazie, Iscador®, *Viscum album*, Molt4, Yoshida, Crown-Gall-Tumoren

**Summary**

It was Rudolf Steiner's idea to enhance the efficacy of mistletoe extracts as a remedy for carcinoma by using a specific mechanical pharmaceutical process. In this study the machine developed for the production of Iscador® at the Hiscia Institute of the Society for Cancer Research was investigated with reference to the desired enhancement of efficacy by three preclinical test systems: cell viability of Molt4 and Yoshida cell lines and crown gall tumor development of *Kalanchoe daigremontiana*.

The Iscador® specific mechanical pharmaceutical process had neither an influence on the quantity of lectins and viscotoxins in mistletoe extracts nor on their bioactivity in the Molt4 and Yoshida bioassay. However, the effect of mistletoe extracts against crown gall tumor formation could be significantly enhanced by this mechanical pharmaceutical process.

A synopsis with earlier results of other test systems allows the conclusion that use of the Hiscia Institute's machine for the production of Iscador® results in a significant increase in the efficacy of the mistletoe extracts with regard to their potential for protection against external factors in botanical test systems. This protective effect covers impairments by physical, chemical and biological factors. The latter's efficacy, however, does not extend onto the toxicity bound to lectins and viscotoxins as measured by cell viability bioassays.

**Keywords:**

Anthroposophical pharmaceuticals, Iscador®, *Viscum album*, Molt4, Yoshida, crown gall tumor

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

## Study of the Possibility for Developing a LC-MS/MS Method for the Determination of Viscotoxin A2 in Rat-Serum

*S. Jäger, J. Eisenbraun, R. Baiér, B. Schmid, B. Kahle, A. Zeeck und R. Scheer*

### **Zusammenfassung**

Im Rahmen einer Embryotoxizitätsstudie mit den Mistelpräparaten Abnobaviscum® Pini und Fraxini wurde untersucht, ob im Serum der für diese Studie eingesetzten Ratten nach subcutaner Gabe Arzneistoffspiegel festzustellen sind. Auf diese Weise sollte für Abnobaviscum® Fraxini eine Basis für weitere pharmakokinetische Untersuchungen geschaffen werden. In der vorliegenden Studie wurde nach Viscotoxin A2 gesucht. Als Vergleichssubstanz wurde Viscotoxin A2 aus Abnobaviscum® Fraxini-2 isoliert, gereinigt und mittels CE/UV, HPLC/UV und HRESI-MS (High Resolution Electron Spray Ionization-Mass Spectrometry) charakterisiert. Die Reinheit betrug 95 % und die monoisotopische Masse 4824.17561 Da.

Untersucht wurden Serumproben der höchsten Dosierungsgruppe: pre-dose-Proben und Proben, die 1 h bzw. 2 h nach Applikation genommen wurden. Mit diesen Serumproben wurde im Rahmen einer Machbarkeitsstudie überprüft, ob die LC-MS/MS Technik einen Beitrag zum Nachweis sowie zur Quantifizierung von Viscotoxin A2 in Serumproben liefern kann. Die Methode wurde dabei weder endgültig optimiert noch validiert. Dennoch konnten erste, auf Serumspiegel hinweisende Ergebnisse erhalten werden. Die untersuchten Serumproben lassen den Schluss zu, dass die subcutan verabreichte Dosis zu nachweisbaren Viscotoxin A2-Spiegeln in Rattenserum führt. Die gefundenen Viscotoxinspiegel waren allerdings sehr niedrig, sie lagen zwischen Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze der Methode.

Dennoch ist mit dieser Untersuchung der Einstieg in pharmakokinetische Messungen erfolgt.

**Schlüsselwörter:**

Pharmakokinetik, Abnobaviscum®, Viscotoxine, Serum, LC-MS/MS, HRESI-MS, CE/UV, HPLC/UV

**Summary**

During a study for the determination of the embryotoxicity of the mistletoe preparations Abnobaviscum® Fraxini and Pini, it was tested whether the serum of rats from this study contained detectable drug levels after subcutaneous application of Abnobaviscum® Fraxini-2. This examination was intended to be used as a basis for further pharmacokinetic examinations. In the present study, the serum was analysed for viscotoxin A2. As an external standard, viscotoxin A2 was isolated from Abnobaviscum® (Fraxini) and characterized by CE/UV, HPLC/UV and HRESI-MS (High Resolution Electron Spray Ionization-Mass Spectrometry). Purity was determined to be 95 % and the monoisotopic mass was 4824.17561 Da.

Analysis was performed pre-dose and post-dose (1 and 2 hours after application) with serum samples from the rat group with the highest dose. The possibility for developing a qualitative and quantitative LC-MS/MS method for viscotoxin A2 was tested here. The method was neither completely optimised nor validated. Nevertheless, preliminary results were obtained. These findings suggest that the serum samples contain detectable viscotoxin A2 levels after subcutaneous application. However, the obtained concentrations were between the limit of quantification and the limit of detection. Thus, a first step towards pharmacokinetic research was achieved by this study.

**Keywords:**

Pharmacokinetic, Abnobaviscum®, viscotoxins, serum, LC-MS/MS, HRESI-MS, CE/UV, HPLC/UV

# Fremdstoff-metabolische Charakterisierung von Mistelpräparaten an der Leberzelle (HepG2)

## Metabolic Characterisation of Mistletoe Preparations in the Liver Cell (HepG2)

*B. Matthes, K. Mühlenfeld, A. Langner und H. Matthes*

### **Zusammenfassung**

Über die Verstoffwechslung der Mistelgesamtextrakte, wie sie in der klinischen Medizin als immunmodulatorische oder antitumoröse Medikation gebraucht werden, liegen nur wenige Daten vor. Bekannt ist, dass sowohl eine renale Ausscheidung als auch ein hepatischer Metabolismus und Ausscheidung über den Darmtrakt stattfinden. In dieser Arbeit wurden Fremdstoff-metabolische Charakterisierungen von Mistelpräparaten in der Leberzelle untersucht. Dazu wurden HepG2-Zellen verschiedene Gesamtextrakte (Abnobilisum Quercus, Helixor M und Iscador M und Q Spezial) angeboten und in ihrem Metabolismus hinsichtlich des Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenase-(Phase-I-)Systems sowie der Konjugation von lipophilen Substanzen mit Glucuronsäure und Sulfaten als Ausdruck der Phase II-Reaktion untersucht. Für die Phase I Reaktion wurde das Phenoxazonderivat 7-Ethoxyresorufin als spezifisches Substrat für CYP 1 A1 und 2 und die Aminophenazodemethylierung spezifisch für CYP IIIA 1 und 2 gewählt. Die Phase-II-Reaktion wurde anhand der p-Nitrophenol-UDP-Glucuronyltransferase als eine UDP-Glucuronyltransferase gemessen. Bis auf das Helixorpräparat scheint kein Mistelpräparat die Umsatzrate durch CYP III A1 und 2 zu beeinflussen. Keine Induktion hat von CYP I A1 und 2 stattgefunden. In der p-Nitrophenolkonjugation zeigte sich, dass alle Präparate die Konjugationsrate induzieren. Zur weiteren Bearbeitung der Frage, wie die Inhaltsstoffe der Mistelgesamtextrakte verstoffwechselt werden, ist es also lohnenswert, die Phase-II-Biotransformation zu betrachten.

**Schlüsselwörter:**

Biotransformation, Mistelverstoffwechslung, Konjugation, Cytochrom, Mistelgesamtextrakt, Induktion, *Viscum album*

**Summary**

There are few data available on the metabolization of mistletoe extracts used in clinical medicine as immune-modulating or antitumorous medication. We know that the extracts are excreted renally as well as through the hepatic metabolism and the intestinal tract. In this study we examined foreign-matter metabolic characterisations of mistletoe preparations in the liver cell. We offered HepG2 cells different extracts (Abnobaviscum Quercus, Helixor M, Iscador M and Q Spezial) and examined their metabolism with regard to the cytochrome P450-dependent monooxygenase (phase I) system as well as the conjugation of lipophile substances with glucuronic acid and sulphates as an expression of the phase-II-reaction. For the phase I reaction, the phenoxazin derivative 7-Ethoxyresorufin was used as a specific substrate for CYP 1 A1 and 2 and the aminophenazone demethylase specifically for CYP IIIA 1 and 2. The phase II reaction was measured based on the p-Nitrophenol-UDP-Glucuronyl transferase as an UDP-Glucuronyl transferase. Apart from the Helixor preparation, no mistletoe preparation seems to affect the metabolic rate through CYP III A1 and 2. There was no induction from CYP I A1 and 2. With the p-Nitrophenol-conjugation we saw that all preparations induced the rate of conjugation. It would be worthwhile to study the phase II biotransformation to find out how the components of the mistletoe extract are metabolised.

**Keywords:**

biotransformation, metabolization of mistletoe extracts, conjugation, cytochrom, mistletoe extracts, induction, *Viscum album*

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

## Effects of Mistletoe Extracts on Immunocompetent Cells *In vitro* and *In vivo* and Their Relevance for the Therapy of Tumor Diseases and Other Clinical Entities

R. Klein

### Zusammenfassung

Der Effekt von Mistelextrakten auf immunologische Reaktionen konnte in den letzten Jahren in zahlreichen *in vivo*- und *in vitro*-Studien belegt werden, und es wurde deutlich, dass in den Mistelextrakten vorkommende Antigene sowohl das unspezifische wie auch das spezifische Immunsystem modulieren können.

Vor allem das Mistellektin-1 (ML-1) ist für zahlreiche immunologische Reaktionen verantwortlich; aber auch andere Antigene, insbesondere Viscotoxine sowie weitere in den Extrakten enthaltene Lektine beeinflussen immunkompetente Zellen.

Will man den Einfluss von Mistelextrakten auf immunologische Reaktionen und insbesondere ihre therapeutische Wirksamkeit bei Tumorerkrankungen analysieren, stößt man daher auf eine Gleichung mit zahlreichen Unbekannten (verschiedene ‚Angriffspunkte‘ innerhalb des Immunsystems, alteriertes Immunsystem bei Tumorerkrankungen, verschiedene Mistelantigene). Etwas Klarheit konnte in letzter Zeit durch Placebo-kontrollierte *in vivo*-Studien geschaffen werden, die den Effekt von Mistelextrakten und einzelnen Komponenten auf das Immunsystem von gesunden Probanden analysiert haben.

Es zeigte sich, dass diese Probanden – wie die Tumorerkrankungen – während der Exposition Antikörper gegen Mistelantigene bilden, und zwar gegen

ML-1, ML-3, chitin-bindendes ML und Viscotoxine. Auch die Mistelantigen-spezifische Proliferation von Lymphozyten stieg während der *in vivo*-Exposition der gesunden Individuen mit Mistelextrakten an. Es wurde aber keine Induktion bestimmter T-Helferzell-Populationen (TH1, TH2) beobachtet, und insbesondere war keine Korrelation zwischen der Entwicklung einer Eosinophilie und einer Steigerung der TH2-Response zu erkennen. Dagegen scheint die Produktion von GM-CSF bei Probanden, die einen ML-1-reichen Extrakt erhalten hatten, zuzunehmen, und von diesem Faktor ist bekannt, dass er Anti-Tumor-Aktivität besitzt und die Reifung und Rekrutierung von Granulozyten und Eosinophilen aus dem Knochenmark verstärkt. Ob die beobachteten immunologischen Effekte unter Misteltherapie auch tatsächlich mit einer Verbesserung der Tumorabwehr in Verbindung gebracht werden dürfen, ist aber weiterhin offen. Wir können aber den Effekt einer Mistel-Therapie auf die verschiedenen Komponenten des Immunsystems mittlerweile recht gut definieren. Andere Indikationen für eine Misteltherapie sind daher vorstellbar und sollten evaluiert werden.

**Schlüsselwörter:**

Misteltherapie, unspezifisches Immunsystem, spezifisches Immunsystem, Antikörper, TH1/TH2-Balance, Zytokine

**Summary**

The influence of mistletoe extracts on immune reactions could be proven in the last years in several *in vivo*- and *in vitro*-studies, and it became evident that antigens present in these extracts can modulate the non-specific as well as the specific immune system.

Especially mistletoe lectin (ML)-1 is responsible for a variety of immunological reactions, but also other antigens such as viscotoxins or further lectins present in mistletoe extracts could be shown to be involved.

Analysing, however, the effect of mistletoe extracts on immunocompetent cells in tumor patients, one is confronted with an equation with many unknown variables (different components of the immune system, altered immune system in tumor patients, different mistletoe antigens etc.).

Some new experiences were, however, gained from *in vivo*-studies in healthy probands exposed to different mistletoe extracts.

It became evident that – like in tumor patients – antibodies to mistletoe antigens (ML-1, 3, chitin-binding ML, viscotoxins) are induced, and also an increase of mistletoe-antigen specific lymphocyte proliferation was observed during exposure. An activation of distinct T-helper cell subpopulations (TH1/TH2) could not be observed, and there was especially no correlation between the development of eosinophilia and an increase of TH2-response (IL-5 production). In contrast, there seems to be an increase in GM-CSF production by peripheral blood mononuclear cells from probands who had received a ML-1 enriched extract, and this factor is known to have anti-tumor activity and to be involved in maturation and recruitment of granulocytes and eosinophils from bone marrow.

It is still unknown, whether the observed alterations of immunological reactions during mistletoe therapy, indeed, lead to an improved tumor defense. However, we have learned meanwhile a lot about the influence of mistletoe therapy on the different compartments of the immune system. Further therapeutic fields for mistletoe extracts are, therefore, conceivable and should be evaluated.

**Keywords:**

mistletoe therapy, non-specific immune system, specific immune system, antibodies, TH1/TH2-balance, cytokines

# Improvement of Patient Survival Upon Antitumor Vaccination with an Autologous Tumor Cell Vaccine Modified by Virus Infection

## Verbesserung des Überlebens von Krebs-Patienten durch Antitumor-Immunisierung mit einer durch Virusinfektion modifizierten autologen Tumorzellvakzine

*V. Schirmmacher*

### **Summary**

For active specific immunotherapy of cancer patients we designed the autologous virus-modified tumor cell vaccine ATV-NDV. The rationale of this vaccine is to link multiple tumor associated antigens (TAAs) from individual patient-derived tumor cells with multiple danger signals (DS) derived from virus infection (dsRNA, HN, IFN $\alpha$ ). This allows activation of innate immune responses by distinct cell types (monocytes, dendritic cells, NK cells) as well as adaptive immune responses (CD4 and CD8 memory T cells). Pre-existing anti-tumor memory T cells from cancer patients could be activated by anti-tumor vaccination with ATV-NDV as seen by augmentation of anti-tumor memory delayed type hypersensitivity (DTH) responses. In a variety of phase II vaccination studies, an optimal formulation of this vaccine could improve long-term survival beyond what is seen in conventional standard therapies. A new concept is presented which proposes that a certain threshold of anti-tumor immune memory plays an important role i) in the control of residual tumor cells which remain after most therapies and ii) for long-term survival of treated cancer patients. This immune memory is T cell based and most likely maintained by persisting TAAs from residual dormant tumor cells. Such immune memory was prominent in the bone marrow in animal tumor models as well as in cancer patients. Immunization with a tumor vaccine in which individual TAAs are combined with DS from virus infection appears to have a positive effect on anti-tumor immune memory and on patient survival.

### **Keywords:**

Memory T cells, tumor vaccine, Newcastle Disease Virus, tumor-antigen, immunotherapy

**Zusammenfassung**

Zum Zwecke einer aktiv-spezifischen Immunisierung als Zusatztherapie haben wir für Krebspatienten die Patienten-eigene Virus-modifizierte Tumorzellvakzine ATV-NDV entwickelt. Die Rationale bei dieser Vakzine besteht darin, dass multiple Tumor-assoziierte Antigene von Tumorzellen des Patienten mit multiplen Gefahrensignalen, die durch Virusinfektion entstehen, verbunden werden. Durch Infektion mit dem Newcastle Disease Virus (NDV) werden im Zytoplasma Doppelstrang-RNA (dsRNA), auf der Zelloberfläche virale Moleküle (HN) und in der Umgebung der Vakzine Interferon- $\alpha$  und Chemokine als Gefahrensignale eingeführt. Dieses führt zur Aktivierung von Komponenten der natürlichen Immunabwehr (Monozyten, Dendritische Zellen, NK-Zellen) wie auch von Komponenten der adaptiven Immunabwehr (CD4 und CD8 Gedächtnis-T-Zellen). Antitumorale Memory T-Zell-Reaktionen konnten bei Krebspatienten durch Immunisierung mit der ATV-NDV-Vakzine erhöht werden, was durch DTH-Reaktionen nachgewiesen wurde. In einer Vielzahl von Phase-II Vakzinierungsstudien führte die Anwendung einer optimalen Formulierung dieser Vakzine zu einer Verbesserung des Langzeitüberlebens im Vergleich zu Standardtherapien. Zur Interpretation der Befunde wird ein neues Konzept vorgeschlagen. Es postuliert, dass ein Mindestmaß von antitumoralem immunologischem Gedächtnis für das Langzeitüberleben der behandelten Patienten eine wichtige Rolle spielt. Es kann eine wichtige Kontrollfunktion über residuale Tumorzellen ausüben, die nach den meisten Standardtherapien noch im Körper des Patienten verblieben sind. Dieses immunologische Memory basiert auf T-Lymphozyten und wird sehr wahrscheinlich durch persistierendes Tumor-assoziiertes Antigen der residualen Tumorzellen aufrecht erhalten. Dadurch entsteht eine Balance zwischen Resttumor und Immunkontrolle, ein Zustand der sich als Tumor-Dormancy oder Stable-Disease manifestieren kann. Ein derartiges immunologisches Memory wurde von uns besonders im Knochenmark von Versuchstieren und von Krebspatienten nachgewiesen. Immunisierung mit der Tumorzellvakzine ATV-NDV, in der individuelle Tumoran-tigene mit Gefahrensignalen assoziiert werden, scheint einen positiven Effekt auf antitumorales, immunologisches Memory und auf das Gesamtüberleben zu haben.

**Schlüsselwörter:**

Gedächtnis-T-Zellen, Tumorzellvakzine, Newcastle Disease Virus, Tumor-assoziiertes Antigen, Immuntherapie

# Mistletoe Lectins Are Strong Mucosal Adjuvants

## Mistellektine sind wirksame mukosale Adjuvantien

*E. Ch. Lavelle, G. Grant, K. Pfüller and U. Pfüller*

### Summary

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

### Keywords:

Plant lectins, RIP II, mistletoe, *Viscum album*, adjuvant, immune response, bacterial toxins

### Zusammenfassung

Bestimmte bakterielle Toxine können die Immunantwort auf ein mucosal appliziertes Antigen verstärken. In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass Pflanzenlektine als potente Adjuvantien bei Immunisierung über die Mukosa fungieren können. Untersucht wird die intranasale (IN) Ko-Applikation von

Pflanzenlektinen in ihrem Einfluss auf die Immunantwort auf das *Herpes simplex*-Virus-Protein gD2 oder Ovalbumin. Es werden hohe Titer an spezifischen Antikörpern in Serum und Sekretionen bei kombinierter Applikation von Antigen und Mistlektin I (ML I) beobachtet, vergleichbar mit analogen Befunden bei Ko-Applikation von bakteriellen Toxinen wie Cholera-toxin. Alle drei Isoformen der Ribosomen inaktivierenden Lektine des Typs 2 der Mistel (*Viscum album* L., ML I, ML II und ML III) sind stark immunogen und gleichzeitig effektive Adjuvantien bei IN-Applikation. Diese Lektine sind ebenfalls analog wirksam bei oraler Anwendung. ML I verstärkt die lokale und systemische Th2-Antwort auf gD2. Eine gesteigerte Antigen-spezifische Proliferation und eine erhöhte IL-5-Produktion in der Milz und in zervikalen Lymphknoten wurden beobachtet. Bisher untersuchte Non-Typ 2-Lektine erwiesen sich als schlechte Antigene und Adjuvantien bei IN-Applikation.

**Schlüsselwörter:**

Lektine, RIP II, Mistel, *Viscum album*, Adjuvans, Immunantwort, bakterielle Toxine

# The Profile of *Viscum album*-Extract – Immunological and Molecular Biological Investigations

## Das Profil von *Viscum album*-Extrakt – Immunologische und molekularbiologische Untersuchungen

E. Kovacs

### Summary

In different clinical and molecular biological studies we investigated the effect of *Viscum album* extract on the serum parameters of IL-12, IL-16, IL-6, soluble IL-6 receptor (sIL-6R) and soluble gp130 (sgp130), on the expression of surface receptors IL-6 and gp130.

In 46 patients having different tumours and survived longer than 1 year (80%) the serum values of IL-6, sIL-6R and sgp130 decreased significantly during the therapy, those of IL-12 and IL-16 were without alteration. In patients with rapid progression who died within 3 months (20%), the serum values of IL-6 increased significantly, whereas the other investigated parameters (IL-12, IL-16, sIL-6R and sgp130) did not change.

In 12 patients with B-cell lymphoma having long-term therapy the values of IL-6 were decreased, those of sIL-6R and sgp130 elevated. Clinical data show that 6/12 patients had complete remission. In the 15 lymphoma patients having short-term therapy only the values of sgp130 were elevated. Only 2/15 patients had a complete remission.

In a human myeloma cell line OPM-2 *Viscum album* extract did not affect the expression of surface receptors IL-6 and gp130 and did not lead to production of IL-6. Although the survival of the cells was not impaired, *Viscum album* extract inhibited the proliferation of this tumour cells significantly.

The results give evidence that *Viscum album* extract treatment has a beneficial effect on the clinical condition of tumour patients. It decreased the high serum values of IL-6, sIL-6R and sgp130. The proliferation of multiple myeloma cell was inhibited.

**Keywords:**

*Viscum album* extract, IL-12, IL-16, IL-6, IL-6R, sIL-6R, gp130, sgp130, tumour patients, proliferation, multiple myeloma.

**Zusammenfassung**

Der Effekt von *Viscum album*-Extrakt wurde in klinischen und molekularbiologischen Studien auf verschiedene Parameter geprüft.

Bei 46 Tumorpatienten wurden die folgenden Serumparameter vor und während Behandlung getestet: IL-12, IL-16, IL-6, sIL-6 Rezeptor und sgp130.

Die Serumspiegel von IL-6, sIL-6 Rezeptor und sgp130 waren signifikant niedriger während der Behandlung bei Patienten, die länger als 1 Jahr nach der Untersuchung noch lebten (80%). Die Werte von IL-12 und IL-16 waren nicht verändert. Bei Patienten mit einer Tumorprogression (20%) und mit einer Überlebenszeit von weniger als 3 Monaten waren die Serumwerte von IL-6 signifikant erhöht. Alle anderen Parameter haben sich nicht verändert.

Bei 12 Patienten mit B-Zell Lymphomen und mit langjähriger *Viscum album*-Behandlung waren die Serumwerte von IL-6 signifikant niedriger, diejenigen von sIL-6 Rezeptor und sgp130 erhöht. Klinisch hatten 6/12 Patienten eine komplette Remission. Bei 15 Lymphompatienten mit kurzfristiger Therapie waren nur die Werte von sgp130 signifikant erhöht. Klinisch hatten 2/15 Patienten eine komplette Remission.

In einem *in vitro*-Modell hat *Viscum album*-Extrakt die Zahl der IL-6 Membranrezeptoren und diejenige von gp130 der menschlichen Myelomzellen OPM-2 nicht beeinflusst. Die IL-6 Produktion und die Lebensfähigkeit der Zellen waren nicht beeinträchtigt. *Viscum album* hemmte signifikant die Proliferation dieser Tumorzellen.

Die Resultate bestätigen, dass *Viscum album*-Extrakt den klinischen Zustand der Tumorpatienten verbessert, die erhöhten Serumwerte von IL-6, sIL-6 Rezeptor und sgp130 erniedrigt und die Proliferation der Myelomzellen OPM-2 hemmt.

**Schlüsselwörter:**

*Viscum album*-Extrakt, IL-12, IL-16, IL-6, IL-6R, sIL-6R, gp130, sgp130, Tumorpatienten, Proliferation, multiples Myelom

# Hat Iscador® P einen Einfluss auf die Expression von IL-6, IL-6R und gp130 bei B-NHL-Zelllinien? Eine molekularbiologische und proteinchemische Untersuchung

## Is the Expression of IL-6, IL-6R and gp130 in B-NHL-cell Lines Influenced by Iscador® P? A Molecular Biological and Protein Chemical Investigation

*F. Hugo, Ch. Heyder, Th. Dittmar, K. S. Zänker und J.-J. Kuehn*

### **Zusammenfassung**

Der *Viscum album*-Extrakt Iscador® Pini (Iscador® P) wird in der Lukasklinik Arlesheim erfolgreich bei der Behandlung von Patienten mit malignen Lymphomen, speziell Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL), eingesetzt. Bisher wurde die Therapie bei Lymphompatienten mit Mistelextrakten kontrovers diskutiert. Diese Diskussion wurde durch die Beobachtung ausgelöst, dass eine Infusion von Iscador® zu einem vorübergehenden Anstieg des IL-6-Serumspiegels bei Patienten führte. Das Zytokin IL-6 kann über para- und autokrine Stimulation eine Proliferationssteigerung und eine Verlängerung des Überlebens speziell bei Myelomzellen verursachen. Eine solche Wirkung ist auch für humane B-Zellen von Lymphompatienten (B-NHL-Zellen) beschrieben. Eine erhöhte IL-6 Konzentration im Serum bei subkutaner Verabreichung von Iscador®, die auf einen endokrinen Mechanismus hindeuten würde, konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Es wird deshalb hier erstmals untersucht, ob das genannte Mistelpräparat zu einer autokrinen Stimulation führt und auf diese Weise einen Proliferationsstimulus zur Folge hat. Eine B-NHL-Zelllinie (CTB-1, diffus großzellig, Sadium IV) wurde mit Mistelextrakt (Iscador® P) in unterschiedlichen Konzentrationen (0µg/ml, 0,15µg/ml, 1,5µg/ml, 15µg/ml) über definierte Zeitintervalle (6h, 24h, 48h, 72h) inkubiert.

Es galt zu untersuchen, ob die Inkubation der Zellen mit dem Mistelextrakt Iscador® P einen Einfluss auf die Genexpression oder Sekretion des Zytokins IL-6 und der für eine Signaltransduktion notwendigen Rezeptorkomponenten IL-6R und gp130 hat. Die gewählten Zielgene- bzw. ihre Genprodukte wurden sowohl molekularbiologisch mittels Real-Time-RT-PCR als auch protein-

chemisch durch ELISA und Durchflusszytometrie quantitativ erfasst. Unsere Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Behandlung von B-NHL-Zellen mit Iscador® P weder zu einer Induktion der IL-6-, IL-6R- und gp130-Expression noch zu einer Sekretion der entsprechenden Proteine führt. Interessant ist, dass die Genexpression von IL-6 bei der von uns untersuchten B-NHL-Zelllinie generell sehr niedrig ist. Zusammenfassend schließen wir aus unseren *in vitro*-Daten, dass die Behandlung mit dem Mistelextrakt Iscador® P keinen Einfluss auf die IL-6 Expression und Sekretion bei B-NHL-Zellen hat. Darüber hinaus weisen unsere Ergebnisse nicht auf eine erhöhte Empfänglichkeit der Zellen für IL-6 durch eine erhöhte Sekretion von IL-6R hin.

**Schlüsselwörter:**

B-NHL-Zelllinien, Misteltherapie, Iscador® P, IL-6

**Summary**

Malignant lymphoma patients are currently being treated successfully with an extract of *Viscum album* Iscador® Pini (Iscador® P) at the Lukas Clinic in Arlesheim, Switzerland. This form of therapy has become subject of a controversial debate due to a study which indicated that IL-6 serum levels increase after Iscador® P treatment. In myeloma cells IL-6 causes elevated proliferation and survival rates via both autocrine and paracrine loops which might influence the course of the disease in a negative fashion. We thus set out to investigate the effect of Iscador® P on B-NHL (CTB-1 diffuse large cell, stage IV) cells with regard to the effect which it may show on these cells by stimulating IL-6 and IL-6 receptor transcription. CTB-1 cells were incubated with Iscador® P in various concentrations (0µg/ml, 0,15µg/ml, 1,5µg/ml, 15µg/ml) and defined time intervals (6h, 24h, 48h, 72h).

Using Real-Time-RT-PCR, ELISA and flow cytometry we determined the gene and protein expression of the cytokine IL-6 and its receptor components IL-6 receptor and gp130. Our results demonstrate clearly that Iscador® P has no effect on the gene expression of IL-6, IL-6R and gp130. Furthermore, there was no detectable increase in IL-6 receptor or gp130 protein expression on the membrane and no increase in IL-6, IL-6R or gp130 concentrations in the cell culture supernatants after incubation. We conclude from our *in vitro* data that Iscador® P has no negativ influence on the expression of IL-6 and its receptor components on B-NHL-cells.

**Key words:**

B-NHL-cell lines, mistletoe therapy, Iscador® P, IL-6

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

## **Influence of Mistletoe Extracts on the Generation and Maturation of Dendritic Cells *In vitro***

G. M. Stein, A. Büssing und M. Schietzel

### **Zusammenfassung**

Für die Generierung einer spezifischen Immunantwort ist die Präsentation von Antigenen durch Dendritische Zellen (DC) von entscheidender Bedeutung. Ihre Funktion ist bei Tumorpatienten häufig eingeschränkt. Mistelpräparate finden seit vielen Jahren in der adjuvanten Tumortherapie Anwendung, jedoch war ihr Einfluss auf DC bisher unklar. Nach einem Standardverfahren wurden daher unter Zusatz verschiedener Zytokine (GM-CSF und IL-4) *in vitro* unreife und reife DC aus Monozyten gesunder Spender generiert, um die Wirkung verschiedener Mistelextrakte (wässriger Auszug bzw. fermentiert) auf die Generierung und/oder Ausreifung von DC zu analysieren.

Dabei konnte mittels Durchflusszytometrie nachgewiesen werden, dass durch den wässrigen Mistelextrakt die Expression von CD83, einem Oberflächenmolekül reifer DC, signifikant induziert wurde, wenn Monozyten unter Zusatz des Zytokin-Cocktails kultiviert wurden. Die Ausreifung von zuvor generierten unreifen DC gelang mit diesem Extrakt jedoch nicht, wohl aber durch den fermentierten Mistelextrakt. Dieser führte gleichzeitig zu einer signifikanten Stimulation der für die Antigenpräsentation wichtigen co-stimulatorischen Moleküle und der HLA-Moleküle. Diese Untersuchungen zum Einfluss von Mistelextrakten auf DC zeigen, dass Mistelextrakte diese Schaltstelle zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem *in vitro* beeinflussen können. Offen bleiben muss jedoch, inwieweit auch DC von Tumorpatienten generell und insbesondere unter einer Misteltherapie aktivierbar sind.

### **Schlüsselwörter:**

Dendritische Zellen, Immunmodulation, Mistelextrakt, Mistellektin, *Viscum album*

**Summary**

Dendritic cells play a major role in the generation of specific immune responses towards different antigens. In cancer patients, however, an alteration of their function was observed. Since mistletoe extracts are used for adjuvant cancer treatment, we investigated the effect of an aqueous and a fermented extract on the generation and maturation of dendritic cells. According to standard procedures, dendritic cells were generated from monocytes of healthy controls in the presence of the cytokines GM-CSF and IL-4. Characterisation of the different cell populations was performed by flow cytometry. The aqueous mistletoe extract induced the expression of CD83, a typical marker of mature dendritic cells, in the presence of the cytokine cocktail. Maturation of pre-generated dendritic cells, however, was not significantly influenced. In contrast, the fermented extract mainly acted on these pre-generated cells stimulating maturation and expression of co-stimulatory signals and HLA-molecules.

For the first time, these investigations demonstrate an influence of mistletoe extracts on the interface between the innate and the adaptive immune system *in vitro*. However, it remains to be elucidated, whether dendritic cells of tumour patients can be stimulated as well, especially during therapy with this kind of extracts.

**Keywords:**

Dendritic cells, immunomodulation, mistletoe extract, mistletoe lectin, *Viscum album*

# Keine Stimulation *in vitro* kultivierter Tumorzellen durch Mistellektin

## No Stimulation of *In vitro* Cultured Tumour Cells by Mistletoe Lectin

A. Büssing, D. Schietzel, M. Schink und G. M. Stein

### Zusammenfassung

Es wurde der Spekulation nachgegangen, ob Mistellektin I oder Mistelextrakte in der Lage sind, in Subnanogramm-Konzentrationen Tumorzellen zur Proliferation zu bringen. Wir untersuchten daher die metabolische Aktivität (MTT-Assay) und den Einbau des Thymidin-Analogons Bromdesoxyuridin (BrdU) in die DNA von 14 Tumorzelllinien, sowie deren DNA-Profil. Die von Gabius *et al.* (2001) beschriebene Stimulation ließ sich weder mit den gleichen noch mit weiteren Zelllinien reproduzieren.

### Schlüsselwörter

Misteltherapie, Tumorzellen, Stimulation, Proliferation, Mistellektine, *Viscum album*

### Summary

It is a matter of speculation that mistletoe lectin I and mistletoe extracts, respectively, at subnanogram concentrations may induce tumour cell proliferation. Thus we investigated the metabolic activity (MTT assay) and the incorporation of the thymidine analogue bromdeoxyuridine (BrdU) into the DNA of 14 tumour cell lines, and their DNA profile. However, we were unable to reproduce the proliferation described by Gabius *et al.* (2001), neither with the same nor further cell lines.

### Keywords

Mistletoe therapy, tumour cells, stimulation, proliferation, mistletoe lectins, *Viscum album*

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

## Absence of Tumor Growth Stimulation in a Panel of 26 Human Tumor Cell Lines By Iscador® Preparations *In vitro*

G. Kelter und H.-H. Fiebig

### Zusammenfassung

Die antitumorale Wirksamkeit von Mistelextrakten beruht sowohl auf einer direkten Inhibition des Tumorwachstums als auch auf einer Modulation von immunologischen Reaktionen. In jüngster Zeit wurde allerdings auf das Risiko einer Tumorstimulation durch Mistelextrakte in geringen Konzentrationen, vor allem bei hämatologischen Tumoren sowie Tumoren, die auf eine Immuntherapie ansprechen, hingewiesen. Um den direkten Einfluss von Mistelextrakten auf das Tumorwachstum zu prüfen, wurden die drei Iscador®-Präparate Iscador® M Spezial, Iscador® Qu Spezial und Iscador® P auf ihre wachstums-stimulierenden Eigenschaften an 26 humanen Zelllinien *in vitro* im Niedrigdosisbereich mittels zellulärer Proliferations-Assays untersucht. Ebenso wurde die antitumorale Wirksamkeit dieser drei Präparationen in hohen Konzentrationen an einem Panel von zwölf Zelllinien getestet. Die Ergebnisse erbrachten keinerlei Hinweise auf eine Stimulation des Tumorwachstums durch die drei Iscador®-Präparate, insbesondere auch nicht in den fünf Tumorzelllinien, die in einer Arbeit von Gabius *et al.* 2001 als durch Mistellektin 1 stimulierbar beschrieben waren. Allerdings zeigten die Lektin-haltigen Präparate Iscador® M Spezial und Iscador® Qu Spezial eine ausgeprägte antitumorale Wirksamkeit mit nahezu identischen Wirkprofilen wie isoliertes Mistellektin 1.

### Schlüsselwörter:

Mistelextrakte, Iscador®, humane Tumorzelllinien, Stimulation des Tumorwachstums, antitumorale Wirksamkeit, *Viscum album*

**Summary**

Mistletoe extracts exhibited antitumor activity based on direct inhibition of tumor growth as well as modulation of immune response. Recent reports, however, suggest potential stimulation of tumor growth at low doses of mistletoe extracts, particularly in hematological tumors and tumors responding to immunotherapy. Therefore, the direct effect of the three mistletoe extracts Iscador® M Spezial, Iscador® Qu Spezial and Iscador® P on tumor growth was investigated in a panel of 26 human tumor cell lines *in vitro* using cellular proliferation assays. Antitumor activity of the three preparations at high concentrations was investigated in a panel of twelve cell lines.

The results showed no evidence of stimulation of tumor growth by any of the three extracts, in particular the five tumor cell lines previously reported to be sensitive to direct mistletoe lectin stimulation by Gabius *et al.* 2001. On the contrary, the lectin containing preparations Iscador® M Spezial and Iscador® Qu Spezial expressed a pronounced antitumor activity exhibiting a nearly identical antitumor profile compared to isolated mistletoe lectin 1.

**Keywords:**

Mistletoe extracts, Iscador®, human tumor cell lines, stimulation of tumor growth, antitumor activity, *Viscum album*

# Bindung von Mistellektin-1 an primäre Mammakarzinomzellen und dessen klinische Bedeutung

## Mistletoe Lectin Binding (ML-1) to Primary Human Breast Cancer Cells and Its Clinical Relevance

P. Fritz, J. Dippon, Th. Kierschke, I. Siegle, A. Möhring, A. Moisa und Th. E. Mürdter

### Zusammenfassung

226 Patientinnen mit primärem Mammakarzinom und bekanntem Langzeit-follow-up wurden in eine retrospektive Studie eingeschlossen. An diesen Patientinnen wurde mittels eines lektinhistochemischen Verfahrens die Bindung für *Viscum album* Agglutinin (Mistellektin 1, VAA-1, ML-1) bestimmt. Dabei zeigte sich, dass etwa 34,0% der primären Mammakarzinome ML-1 stark binden. 49,6% binden ML-1 nur schwach und 16,4% binden kein ML-1 an die Tumorzellen. In 41,6% der primären Mammakarzinome wurde auch eine deutliche ML-1 Bindung an Entzündungszellen, die das Mammakarzinom infiltrieren, gefunden. Eine erhöhte ML-1 Bindung an Tumorzellen ist mit einer besseren Prognose verbunden. Ziel unserer Untersuchungen war der Versuch eines Nachweises, dass eine notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung für eine erfolgreiche Therapie des Mammakarzinoms mit intratumoraler Mistelinjektion gegeben ist, nämlich die Bindung von ML-1 an einen Teil der Mammakarzinome.

### Schlüsselwörter:

Mammakarzinom, Mistellektin, Prognose, *Viscum album*, Mistel

### Summary

In this study, 226 patients suffering from primary breast cancer with known long term follow-up data were included. Tumor cell samples retained from these patients were examined for ML-1 binding sites by lectin histochemical methods. It was shown that 34.0% of the primary mammary cancer cells had a strong ML-1 binding, 49.6% a weak binding and 16.4% showed no

binding. In 41.6% of the primary tumor cells we also found a significant ML-1 binding to tumor cells in connection with a better prognosis. One goal of our investigation was the successful demonstration of ML-1 binding to tumor cells of primary breast cancer .

**Keywords:**

Breast cancer, mistletoe lectin, prognosis, *Viscum album*, mistletoe

# ***In vitro*-Untersuchungen zur Zytotoxizität verschiedener Mistelpräparate gegenüber humanen Tumorzellen und Zelllinien**

## ***In vitro*-Investigations on Cytotoxicity of Different Mistletoe Preparations Against Human Cancer Cells and Cell Lines**

*F. Knoepfel-Sidler, A. Viviani, L. Rist, R. Scheer und A. Hensel*

### **Zusammenfassung**

Unter *in vitro*-Bedingungen wurden die zytotoxischen Eigenschaften von drei Mistelpräparaten, Iscador®M 20 mg/ml, Iscador®Q 20 mg/ml, Abnobaviscum®Fraxini-2 (20 mg/ml), in serieller Verdünnung gegenüber verschiedenen Tumorzellen untersucht. Als Untersuchungsparameter wurden Zellproliferation und mitochondriale Aktivität der Zelllinien HELA-S3, MOLT-4, MFM-223, COR-L51, KPL-1 und VM-CUB1 bestimmt. Dabei erwiesen sich die Präparate in unterschiedlichem Ausmaße als zytotoxisch gegenüber den genannten Zelllinien, wobei Abnobaviscum®Fraxini-2 (20 mg/ml) generell eine stärkere Hemmung auf Zellproliferation und mitochondriale Aktivität zeigte als die entsprechenden Iscador-Präparate. Reine Mistellektine und Viscotoxine waren weniger zytotoxisch als die jeweiligen Extrakte. Reine Mistelpolysaccharide reduzierten durch Interaktion mit den Mistellektinen deren zytotoxischen Eigenschaften. Zusatz von fötalem Kälberserum zu den Kultivierungsmedien bewirkte signifikante Erniedrigung der proliferationshemmenden Eigenschaften der Extrakte. Die unterschiedlichen zytotoxischen Ansprechbarkeiten zeigten sich nicht nur bei den verwendeten Zelllinien, sondern auch bei *in vitro* kultivierten primären Mammakarzinomzellen.

### **Schlüsselwörter:**

Mistelextrakte, Zytotoxizität, Polysaccharide, Viscotoxine, *Viscum album*-Agglutinin (VAA), Serum

**Summary**

*In vitro* cytotoxic effects of three aqueous mistletoe extracts on cell physiology against a variety of different human tumor cell lines and primary cancer cells were investigated in order to compare the receptiveness of different cancer cells against different mistletoe products. Therefore cell proliferation and mitochondrial activity were assayed over serial dilutions of the test products. Data obtained with HELA-S3, MOLT-4, MFM-223, COR-L51, KPL-1 and VM-CUB1 tumor cell lines and Iscador®M 20 mg/ml, Iscador®Q 20 mg/ml (both Weleda AG, CH-Arlesheim) and Abnobaviscum® Fraxini-2 (20 mg/ml) (Abnoba Heilmittel GmbH, D-Pforzheim) indicated significant growth-inhibition of all cell lines, but also different cell susceptibilities against the different extracts. These variations were not only monitored on established cell lines but also on primary mamma carcinoma cells from surgical resectates. Concerning cell proliferation and mitochondrial activity Abnobaviscum® Fraxini-2 (20 mg/ml) exhibits stronger inhibitory effects compared to products from the Iscador® series. Pure viscotoxins and mistletoe lectins exhibited less effects than the extracts. The simultaneous presence of pure mistletoe lectins and mistletoe polysaccharides diminished the VAA-mediated cytotoxic effects. The presence of fetal calf serum (FCS) in cultivation media during *in vitro* testing diminished the cytotoxic effects of mistletoe extracts.

**Key words**

Mistletoe extracts, cytotoxicity, polysaccharides, viscotoxins, *Viscum album* agglutinin (VAA), serum

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

## **Anticancer Activity of Intratumoural Injections of a Lectin-Rich Mistletoe Extract in Human Pancreatic Cancer Xenografts**

*M. Rostock, R. Huber, Th. Greiner, P. Fritz, J. Schüler, R. Scheer und H.-H. Fiebig*

### **Zusammenfassung**

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

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

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

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

Untersuchung 1: ABN-F führte bei i.t.-Injektion zu einer Tumorwachstumshemmung auf 1,8% unter der Dosierung von 8 mg/kg KG ABN-F und zu einer Tumorregression auf 10,8% unter 4 mg/kg KG gegenüber der Kontrollgruppe. Die i.t.-Injektion von isoliertem Mistellektin I war ebenfalls hoch aktiv und führte zu einer Tumorregression auf 5,9% der Kontrolle. Die Dosis von 16 mg/kg KG war in diesem Tiermodell toxisch.

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

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

### **Schlüsselwörter:**

Pankreas-Ca, Mistelextrakt, Mistellektin, *Viscum album*, Gemcitabine, intratumorale Injektion, antitumorale Aktivität, Pankreas-Ca-Xenograft

### **Summary**

In different preclinical studies and in some well documented single case observations tumour remissions after intratumoural (i.t.) injections of mistletoe-extracts have been described. In the present study the effects of the lectin rich mistletoe-extract *Abnobaviscum Fraxini*® (ABN-F) was investigated by i.t. injections in pancreatic cancer xenografts.

Two different experiments have been performed. In the first study tumours were implanted subcutaneously in both flanks of each nude mouse. The tumour on one side was selected for i.t. therapy, the tumour on the opposite side served for evaluation of systemic effects. Five groups (each n = 8) were treated with i.t. injected ABN-F, at 4.8 or 16 mg/kg body weight in ~100µl

vehicle (ascorbate-phosphate-buffer), isolated mistletoe-lectin I (ML-I, dose equivalent to ABN-F 8 mg/kg) or placebo (= vehicle) twice weekly for three weeks. In the second experiment only one tumour was implanted subcutaneously in one flank of each nude mouse to allow a longer therapy and observation time. In this setting ABN-F was injected at 8 mg/kg i.t. twice weekly. As reference Gemcitabine was given i.v. at 300 mg/kg day 1,8,15, which corresponded to the maximum tolerated dose (MTD) of Gemcitabine. Controls were treated with placebo i.t. as described above. Evaluation parameters were optimal tumour growth inhibition (T/C % = median relative tumour volume of the therapy group : median relative tumour volume of the control group), response rate, and tolerability.

Study 1: ABN-F induced a marked tumour inhibition; at the MTD of 8 mg/kg the optimal tumour growth inhibition (T/C%) was 1.8% and at 4 mg/kg 10.8%. ML-I induced an optimal T/C of 5.9%. The dose of 16 mg/kg was toxic.

In the second experiment i.t. injected ABN-F showed a high activity with complete remissions in 3/8 and a partial remission in 3/8 of the treated mice, the optimal tumour growth inhibition was 0.4%. Gemcitabine was less active with 1 complete and two partial remissions out of eight mice. The optimal T/C was 4.6%.

The lectin rich mistletoe-extract *Abnobaviscum Fraxini* is highly active by intratumoural injections in the pancreatic cancer xenograft resulting in complete remissions. Based on these results clinical investigations with intratumoural ABN-F therapy is warranted in localized disease not amenable to surgery.

**Keywords:**

Pancreatic cancer, mistletoe-extract, mistletoe lectin, *Viscum album*, Gemcitabine, intratumoural injection, antitumour activity, human cancer xenograft

# Beurteilungskriterien in der onkologisch klinischen Anwendung der Misteltherapie

## Assessment Criteria in Oncologic Clinical Use of Mistletoe Therapy

H. Matthes

### Zusammenfassung

Die Mistelpräparate stellen in Deutschland das am häufigsten eingesetzte Onkologikum dar. Auf Patientenseite erfreut sich die Mistel hoher Wertschätzung, auf ärztlicher Seite ist sie weiterhin umstritten. Der klinische Einsatz erstreckt sich vom prophylaktischen über ein adjuvantes bis hin zum palliativen Stadium der Krebserkrankung. Ihr Einsatz erfolgt mit dem Ziel der Tumordestruktion und Lebensverlängerung sowie der Steigerung der Lebensqualität. Einer umfangreichen Grundlagenforschung auf hohem wissenschaftlichen Niveau stehen einzelne klinische Studien, Fallserien und Einzelfallberichte gegenüber. In einem aktuellen umfassenden kritischen Review (EBM Ia) wird der klinische Einsatz der Mistel positiv bewertet. Durch Studien unzweifelhaft belegt (EBM Ib) ist die Verbesserung der Lebensqualität onkologischer Patienten unter einer Misteltherapie. Durch Chemotherapie bedingte, schwere unerwünschte Arzneimittelreaktionen können durch die Mistel reduziert werden. Dadurch erfolgt der klinische Einsatz der Mistel überwiegend adjuvant. In der palliativen Therapie hat die Mistel als Monotherapie zur Lebensqualitätsverbesserung ebenfalls einen hohen Stellenwert. Aufgrund der Heterogenität der Kollektive in vielen Mistelstudien ist der Effekt einer Lebensverlängerung nicht unumstritten. Ein wichtiges Kriterium zur Handhabung der Mistel im klinischen Alltag sind Responderparameter. Partielle und komplette Remissionen erweisen sich bei einigen Tumorentitäten nur als Surrogatmarker, und die vielen untersuchten *In vitro*-Parameter (Laborparameter, Lymphozytensubpopulationen, Stimulationsteste etc.) haben sich ebenfalls als klinisch wenig hilfreich erwiesen. Deutlich bessere klinische Respondermarker sind sogenannte *In vivo*-Parameter wie Zirkadianrhythmik der Körpertemperatur oder andere endogene Regulationsmuster (Puls-Atem-Quotient; Phase Coordinatio Ratio; Schlafmusteranalytik).

Aufgrund der klinischen Responderanalytik mit Harmonisierung endogener Regulationsmuster zeigt sich die Mistel als ein salutogen wirksames Medikament. Die Mistel stellt durch ihre Beheimatung in einem holistischen (anthroposophischen) Medizinsystem auf der einen Seite und durch Evidenzbasierte Wirksamkeitsnachweise auf der anderen Seite eine Schnittstelle zur reduktionistisch, partikularistischen Mainstream-Onkologie dar. Der ärztlicherseits (hoch emotional) geführte Diskurs über die wissenschaftlichen Bewertung der Mistel ist daher weniger als ein Problem von Studiendaten anzusehen, sondern als Stellvertreterkrieg für die unterschiedlichen Auffassungen der Medizinsysteme. Der überwiegend komplementäre Einsatz der Mistel neben einer konventionellen onkologischen Therapie sollte von den Ärzten zukünftig zum Wohle der Patienten systemneutral entschieden werden.

**Schlüsselwörter:**

Onkologie, Misteltherapie, *Viscum album* - Grundlagenforschung, klinische Studien, Medizinsysteme, holistisch, Evidenz basiert, Responderparameter, Surrogatmarker, *In vivo*-Parameter, Lebensqualität, endogene Regulation

**Summary**

Mistletoe is one of the most widely used medicinal agents in oncology in Germany. Patients value it greatly, but the medical profession continues to consider its usefulness debatable. The clinical use of mistletoe ranges from prophylaxis to adjuvant and palliative treatment of cancer. Clinical goals are tumor destruction, extension of survival time and improved quality of life. Basic research on mistletoe is extensive and at a high scientific level. Clinical research is rare, however, with only few clinical studies, case series and single case studies. In a recent comprehensive critical review (EBM Ia) the clinical use of mistletoe was rated positively. Studies (EBM Ib) have clearly demonstrated an increase in quality of life for oncologic patients receiving mistletoe therapy. Chemotherapy-related severe adverse drug reactions can be reduced. Mistletoe is therefore mostly used in adjuvant cancer treatment. Mistletoe monotherapy also ranks high in palliative treatment. Due to the heterogeneity of populations in many mistletoe studies, doubt continues to be cast on the extension of survival time achieved with mistletoe. An important criterion in the clinical use of mistletoe is the choice of responder para-

meters. With several tumor entities, partial and complete remission prove to be only a surrogate marker, and the parameters so far measured *in vitro* (laboratory parameters, lymphocyte subpopulations, stimulation tests, etc.) are not very helpful in clinical practice. Much more suitable are *in vivo*-parameters like circadian rhythms of body temperature and other endogenous regulation patterns (pulse-respiration-quotient; phase coordination ratio, sleep patterns). On clinical responder analysis with harmonization of endogenous regulation patterns, mistletoe shows itself to be an efficient salutogenetic medicament. With its roots in a holistic (anthroposophical) medical system on the one hand and evidence-based proof of efficacy on the other, mistletoe is at the interface with the reductionist and particularistic approach in mainstream oncology. The reason of the very emotional debate among clinicians concerning the evaluation of mistletoe may be seen more as a conflict of medical systems and less as a problem of scientific data. The decision for or against complementary use of mistletoe parallel to conventional oncologic therapy should be primarily a decision made for the patient's benefit and not for a medical system.

**Keywords:**

oncology, mistletoe therapy, *Viscum album*, basic research, clinical studies, medical systems, holistic, evidence based, responder parameter, surrogate marker, *in vivo*-parameter, quality of life, endogene regulation

# Unerwünschte Wirkungen der Misteltherapie bei Tumorpatienten – Eine systematische Übersicht

## Undesired Drug Effects of Therapy With Mistletoe Preparations in Cancer Patients – A Systematic Review

R. Saller, S. Kramer, F. Iten und J. Melzer

### Zusammenfassung

Der Gebrauch von Mistelpräparaten ist, oft in einem komplexen, verschiedenen Therapierichtungen umfassenden Rahmen, eine der häufigsten komplementärmedizinischen Anwendungen von TumorpatientInnen. In der Praxis auffallend ist dabei eine weitgehende Akzeptanz von lokalen und systemischen Reaktionen, die, in gewissen Grenzen auftretend, in der anthroposophischen Fachliteratur als erkennbare Reaktion des Organismus interpretiert werden. Ziel dieser Untersuchung ist es, anhand dokumentierter Daten während der Misteltherapie, genauere Angaben über unerwünschte Wirkungen (UAW) zu erhalten. Für eine systematische Übersicht wurden bis Anfang 2003 elektronische Datenbanken, einzelne Zeitschriften, Monographien und Handbücher durchsucht sowie Arzneimittelhersteller und Behörden angeschrieben. Die Suchbegriffe waren u.a. *Viscum*, mistletoe, klinische Studie, adverse drug reaction.

Entsprechend den Suchkriterien konnten 41 klinische Studien mit unterschiedlichen Qualitätsstandards ermittelt werden, von denen 25, mit Angaben zu UAWs bei Tumorpatienten, näher untersucht wurden. Die Angaben zu lokalen UAW schwanken zwischen 0.9 %–43 % und für systemische UAW zwischen 0.8 %–4 %. Die Häufigkeit allergischer Reaktionen liegt bei ca. < 1 %. Diese Ergebnisse konnten durch die Angaben von Arzneimittelbehörden und Herstellern, soweit verfügbar, weitgehend bestätigt werden. Neuere z.T. noch laufende oder unveröffentlichte Studien nach Good Clinical Practice und der Gebrauch eines qualifizierten Reportingsystems sind für weitere Abschätzungen der UAW unter Misteltherapie notwendig. Dennoch

zeigt sich, dass lokale Reaktionen, wie z.B. Rötung bis zu 5 cm oder systemische Reaktionen wie z.B. Temperaturerhöhung bis 38°C unter Misteltherapie weitgehend als erwünscht angesehen werden.

**Schlüsselwörter:**

*Viscum album*, Mistel, Tumorthherapie, adjuvante Therapie, Onkologie, unerwünschte Wirkungen, systematischer Review

**Summary**

The use of mistletoe preparations, often in a complex therapy setting with different therapies, is one of the most widely used complementary methods among cancer patients. In practice, a vast acceptance of local and systemic reactions, limited to a certain extend, is striking and in anthroposophical literature interpreted as a recognizable reaction of the organism.

Aim of this systematic review is to receive information about undesired drug events under therapy with mistletoe by documented data. Electronic databases were scrutinized, journals, monographs, handbooks handsearched and medicinal manufacturers and health authorities were questioned until the beginning of 2003. Search terms were for instance *Viscum*, mistletoe, clinical study, adverse drug reaction.

According to the search criteria 41 clinical studies with varying standards were found and 25 of them, with data on undesired drug events in tumor patients, were included for analysis. The declarations of local undesired drug events vary between 0.9 %–43 % and 0.8 %–4 % for systemic reactions. The frequency of allergic reactions is approximately < 1 %. These results could be confirmed by the data of authorities and manufacturers, as far as they were available.

New, partly still ongoing studies or unpublished results according to Good Clinical Practice and the use of a qualified reporting systems are necessary for further evaluation of the undesired drug events of therapy with mistletoe remedies. Nevertheless, it is obvious that local reactions up to 5 cm or systemic reactions like fever up to 38°C are regarded as desirable.

**Keywords:**

*Viscum album*, mistletoe, cancer therapy, adjuvant therapy, oncology, undesired drug events, side effects, unwanted effects, systematic review

# Kontrollierte klinische Studien zur Misteltherapie der Krebserkrankung – Eine systematische Übersicht

## Controlled Clinical Trials on Mistletoe Therapy in Cancer – A Systematic Review

*G. S. Kienle und H. Kiene*

### **Zusammenfassung**

In einer systematischen Übersicht zu prospektiven, kontrollierten klinischen Studien wurden 23 Studien gefunden. Zwölf wiesen mindestens ein statistisch signifikantes, positives Ergebnis für die Misteltherapie auf, sieben weitere Studien zeigten einen positiven Trend, drei Studien keinen Effekt und eine Studie einen negativen Trend. Zwei weitere Studien mit positivem Ergebnis wurden zwischenzeitlich publiziert. Die Studien hatten teilweise deutliche methodologische Mängel oder waren nach heute veralteten Standards durchgeführt worden. Aufgrund erheblicher Heterogenität wurde auf eine Effektgrößenbestimmung mittels Datenpooling verzichtet. Da die Studien eine positive Wirkung der Misteltherapie nahe legen, sollte weitere Forschung durchgeführt werden. Zukünftige Studien sollten aber die Probleme der vergangenen Studien vermeiden und auch die klinische Realität der komplementärmedizinischen Mistelanwendung mehr berücksichtigen.

### **Schlüsselwörter:**

Misteltherapie, Krebs, klinische Studien, systematisches Review

### **Summary**

A systematic review on prospective controlled clinical trials on mistletoe therapy in cancer was conducted. In 23 studies found, twelve studies had a statistically significant positive result in at least one clinically relevant outcome measure, another seven studies showed positive trends, three showed no effect and one demonstrated a negative trend. Meanwhile, two more

randomised trials with positive results were published. Some of the studies suffered from significant methodological shortcomings, or predated current-methodological standards, and therefore are not conclusive. Calculation of effect size by pooling data is inappropriate because of the heterogeneity of the trials. Because there are a small number of relatively well conducted trials with positive clinical outcomes, further research is warranted. Future controlled studies should be well designed and carefully conducted to improve methodological quality, and should reflect the clinical reality of mistletoe therapy.

**Keywords:**

Mistletoe therapy, cancer, clinical trials, systematic review

# Stellenwert der standardisierten Mistel-extrakttherapie im Rahmen der evidenz-basierten Komplementäronkologie

## Relevance of Standardized Mistletoe Extract in Evidence-Based Complementary Oncology

*J. Beuth*

### **Zusammenfassung**

Komplementäre Therapiemaßnahmen werden von der wissenschaftlich-begründeten Onkologie kontrovers diskutiert und abgelehnt, weil der obligate klinische Wirksamkeitsnachweis für die meisten Therapeutika bislang nicht erfolgt ist. In den vergangenen Jahren wurden die Grundlagenforschung und die studienmäßige klinische Evaluation von definierten komplementäronkologischen Therapiemaßnahmen forciert mit dem Ziel, sie in die Evidence-Based Medicine (EBM) zu integrieren.

Definitionsgemäß können komplementärmedizinische Therapiemaßnahmen die erprobten tumordestruktiven Standardtherapien nicht ersetzen und können demnach auch nicht als „alternative Therapie“ betrachtet werden. Komplementärmedizinische Therapiekonzepte, die begleitend zur tumordestruktiven Standardtherapie vorgeschlagen werden, erheben den Anspruch, diese optimieren zu können. Ausdrücklich zu warnen ist vor nicht auf Qualität, Unbedenklichkeit und Wirksamkeit geprüften Außenseitermethoden, die zuweilen fälschlich mit der Komplementärmedizin assoziiert werden, was zu deren ungerechtfertigter Ablehnung führt.

### **Schlüsselwörter:**

Komplementäronkologie, evidenzbasiert, Außenseitermethoden, *Viscum album*

**Summary**

Complementary treatment modalities are contradictorily discussed in scientific oncology since their obligate clinical evaluations of safety and efficacy are mostly missing. Currently, defined complementary therapies were evaluated concerning molecular basic mechanisms and clinical relevance to integrate them into standard evidence-based treatment protocols.

By definition, complementary treatment cannot replace tumour-destructive therapies. Thus, it is not an alternative therapy. Rationale of complementary medications is the optimisation of standard treatment. Complementary medications should by no means be associated with non-proven medications (quackery), which should be strictly refused.

**Key words:**

complementary oncology, evidence-based, quackery, *Viscum album*

# ***Viscum album* und EBM – Zur Studienlage der lektinnormierten Misteltherapie**

## ***Viscum album* and Evidence-Based Medicine – Current Status of Clinical Studies on Lectin-Standardised Mistletoe Therapy**

G. Stoll

### **Zusammenfassung**

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

### **Schlüsselwörter**

Immunmodulation, Misteltherapie, lektinnormierte Extrakte, Studien, Selen, *Viscum album*, evidenzbasierte Medizin (EBM)

### **Summary**

An important point of criticism in the evaluation of mistletoe therapy is the seemingly insufficient clinical documentation. This also holds true for phytotherapeutical mistletoe therapy and is, at least in part, a consequence of the specific, with complementary therapies in general associated problem

of lacking patient compliance (due to the fear of being randomised into the control group without therapy). So-called retrolective multi-center cohort studies may offer a way out of this dilemma, being especially suited for the evaluation of such therapies. They fulfil the requirements of EBM (evidence-based medicine) level 2 and therefore are relevant for the proof of efficacy. The current status of clinical research with lectin-standardised extracts is briefly reviewed and a study with breast cancer patients will be discussed in some detail. In the further development of mistletoe therapy the additional application of selenium will gain importance.

**Keywords**

Immunomodulation, mistletoe therapy, lectin-standardised extracts, studies, selenium, *Viscum album*, evidence-based medicine (EBM)

# Misteltherapie bei einem Patienten mit Pleuramesotheliom – Eine Kasuistik

## Mistletoe Therapy of a Patient with Pleural Mesothelioma – Case Report

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

### **Zusammenfassung**

Für das Pleuramesotheliom gibt es bis heute, aufgrund nahezu fehlender Chemo- und Strahlensensibilität und sehr limitierten operativen Optionen, keine befriedigende Standardtherapie.

Bei einem 66-jährigen Malermeister wurde 1997 ein maligner Pleuraerguss diagnostiziert, der am ehesten mit einem schleimbildenden Adenokarzinom bei unklarem Primärtumor vereinbar war. Neben einer subcutanen (sc) Misteltherapie (MT) mit Abnobaviscum Pini (Verdünnungsstufe (VS) 10, 5, 3) wurde eine intrapleurale MT mit 100 mg und 500 mg Helixor P begonnen. Darauf reagierte der Patient mit 38,5°C Fieber, einen Tag später trat eine bullöse Dermatose und eine Eosinophilie (3500/µl) auf. Eine Pleurodese wurde nach 4 weiteren Instillationen zwischen 300-450 mg Helixor P erreicht. Über zwei Jahre persistierte die komplette Remission unter sc MT.

1999 wurde ein Lokalrezidiv mit Thoraxwandinfiltration festgestellt. Histologisch ergab sich ein epitheliales Pleuramesotheliom nach Butchart im Stadium II. Mit 3 Instillationen von 4 und 5 ml Abnobaviscum Fraxini VS 2 wurde nochmals eine Pleurodese erzielt. Erneut trat eine Eosinophilie und eine ECP-Erhöhung begleitet von einer bullösen Dermatose auf. Die MT wurde sc fortgeführt, nach zweimaliger intratumoraler Injektion von 5 ml Abnobaviscum Fraxini VS 2 wurde histologisch ein eosinophiles Granulozyteninfiltrat (TATE) gefunden. In den folgenden Jahren kam es zu einem langsamen Progress bei konstant guter bis sehr guter Lebensqualität (LQ) im Herdecker Lebensqualitätsfragebogen (HLQ).

Im Juni 2003 lebte der Patient 73 Monate nach Diagnosestellung mit sehr guter LQ. Somit kann von einem erfreulichen Verlauf eines epithelialen Pleuramesothelioms unter MT berichtet werden. In Anbetracht von mittleren Überlebenszeiten unter konventioneller Therapie von bis zu 16 Monaten im Stadium II sollte der Stellenwert der MT beim Pleuramesotheliom systematisch untersucht werden.

**Schlüsselwörter:**

Eosinophilie, Lebensqualität, Mistellektin-1 Antikörper, Misteltherapie, Pleuramesotheliom, *Viscum album*

**Summary**

There is yet no satisfying standard therapy for the pleural mesothelioma.

This is due to almost non existent chemotherapy and x-ray sensitivity and very limited options for surgery.

Our patient was a 66 year old professional painter diagnosed with malignant pleural effusion in 1997, most likely consistent with a blenno-genic adeno carcinoma with unknown primary tumour. Besides subcutaneous (sc) mistletoe therapy (MT) with Abnobaviscum Pini (DS 10, 5, 3) we started intrapleural MT with 100 mg and 500 mg Helixor P. The patient reacted with 38.5°C fever, after one day a bullous dermatosis and eosinophilia (3500/μl) arose. Pleurodesis was obtained after 4 further instillations of Helixor P between 300 and 450 mg. Over two years complete remission persisted under sc MT. In 1999, a local relaps with thorax wall infiltration occurred. Histological analysis confirmed an epithelial pleural mesothelioma consistent with Butchart classification stage II. After 3 instillations of 4 and 5 ml Abnobaviscum Fraxini 2 pleurodesis was obtained. Again eosinophilia and ECP-elevation with briefly existing bullous dermatosis occurred. MT was continued sc, and after two intratumoral injections of 5 ml Abnobaviscum Fraxini 2 eosinophilic granulocytic infiltration (TATE) was found histologically. Over the following years we saw slow progress with constantly good to very good quality of life (HRQoL) according to the Herdecker Quality of Life Questionnaire (HLQ).

In June 2003, the patient had lived 73 months after diagnosis with very good HRQoL. Mistletoe therapy of an epithelial pleural mesothelioma can thus be reported as satisfactory. With regard to a mean survival under conventional therapy of only 16 months in stage II the relevance of MT should be evaluated systematically for the pleural mesothelioma.

**Keywords:**

Eosinophilia, health related quality of life (HRQoL), mistletoe lectin-1 antibody, mistletoe therapy, pleural mesothelioma, *Viscum album*

# Intravenöse Misteltherapie zu einer Ardanan-Chemotherapie bei einer Patientin mit metastasiertem Kolonkarzinom

## Treatment of a Patient Suffering from Advanced Colorectal Carcinoma with Intravenous Mistletoe Application and Ardanan-Chemotherapy

*R. Zerm, M. Kröz und H. Matthes*

### **Zusammenfassung**

Einer 74-jährigen Patientin mit Kolonkarzinom im Stadium IV wurde begleitend zu einer first-line Hochdosis-Chemotherapie mit 5-FU und Leucovorin nach dem modifizierten Ardanan-Schema das Mistelpräparat Helixor M intravenös appliziert. Unter dieser Therapie wurde eine partielle Remission erreicht. Mittels Fragebogen zur Lebensqualität und endogenen Regulation (eR) konnte eine sehr gute Verträglichkeit der Kombinationstherapie aus hochdosiertem 5-FU und dem Mistelpräparat dokumentiert werden (EORTC-QLQ-C30: Anstieg des „Gesundheitsstatus“ von 17 auf 67% des Maximalwertes, Rückgang der Müdigkeit von 33 auf 22%, stabil hohe eR). Die mediane Überlebenszeit bei Kolonkarzinom im Stadium 4 beträgt zw. 16 und 18 Monate. O.g. Patientin verstarb 22 Monate nach Rezidivdiagnose. In wieweit die intravenöse Misteltherapie in ursächlichem Zusammenhang mit der sehr guten Verträglichkeit steht, muss in systematischen Untersuchungen weiter geklärt werden.

### **Schlüsselwörter:**

Misteltherapie, intravenös, kolorektales Karzinom, Lebensqualität, endogene Regulation

### **Summary**

A 74-year-old female patient suffering from advanced colorectal carcinoma was treated simultaneously in the first-line chemotherapy with 5-FU/Leucovorin according to the modified Ardanan-protocol and intravenous mistletoe

therapy (Helixor M). According to questionnaires regarding quality of life and endogenous regulation (eR) an excellent tolerance of the combination therapy could be documented (EORTC-QLQ-C30: Increase of „global health-status“ from 17 up to 67% of the maximum value, decrease of „fatigue“ from 33 on 22%, high eR during the whole observation time). The median survival expectancy with colorectal carcinoma stage IV lies between 16 and 18 months. The above mentioned patient deceased 22 months after the diagnosis of the advanced disease. The question to what extent the concomitant intravenous mistletoe therapy could be one cause of this excellent tolerance needs further systematic investigations.

**Keywords:**

Mistletoe therapy, intravenous, colorectal carcinoma, quality of life, endogenous regulation

# **Misteltherapie bei malignen Lymphomen – Neue Erkenntnisse und Erfahrungen im Rahmen einer prospektiven Kasuistikserie bei Patienten mit folliculärem Non-Hodgkin- Lymphom**

## **Mistletoe Therapy in Malignant Lymphomas – New Findings and Observations from a Prospective Series of Case Histories of Patients with Follicular Non-Hodgkin's Lymphoma**

*J.-J. Kuehn*

### **Zusammenfassung**

24 Patienten mit einem folliculären Non-Hodgkin-Lymphom wurden mit einem Mistelextrakt (Iscador® P 0,01–20mg, in Ausnahmefällen 0,01–30mg, 3x wöchentlich s.c.) behandelt und in einem Zeitrahmen von 54 Monaten nachbeobachtet. Remissionen konnten bei 42% der ausschließlich mit Mistel behandelten Patienten ausgelöst werden (4 x eine komplette, 6 x eine partielle Remission und 1 x eine Minorremission). Die Remissionsdauer lag bei den kompletten Remissionen zwischen 1,5 und 27,5, bei den partiellen Remissionen zwischen 2,5 und 34 Monaten, bei einer Minorremission bei 1 Monat. Progressionen wurden während der Monotherapie mit Iscador® 9x beobachtet. Teilweise waren sie nur vorübergehender Art. Eine Remissionserhaltung nach Auslösung der Remission durch eine Chemotherapie oder Operation konnte in 3 Fällen beobachtet werden (2 komplette Remissionen über 18 bzw. 20 Monate, 1 partielle Remission über 10 Monate). Unter einer kombinierten Chemo-/Misteltherapie kam es 7 x zu einer partiellen und 2 x zu einer kompletten Remission. Die Remissionsdauer betrug dabei 3 bis 24 Monate. 8x trat unter der Simultantherapie eine Progression auf. Eine Zytokinstimulation (einschließlich Interleukin-6) war während des gesamten Beobachtungszeitraumes nicht nachweisbar. Die Ergebnisse der vorgestellten prospektiven Kasuistik-Serie sprechen gegen ein Risikopotential und für eine Wirksamkeit einer Misteltherapie bei Non-Hodgkin-Lymphomen.

Löslicher Interleukin-2 Rezeptor im Serum erwies sich bei den lückenlosen klinischen und klinisch-chemischen Kontrollen als verlässlicher Marker für die Lymphomaktivität. Er besaß im Vergleich zu LDH und  $\beta_2$ -Mikroglobulin eine höhere Sensitivität und erhöhte damit die Staging-Sicherheit.

**Schlüsselwörter:**

Misteltherapie, Follikuläres Non-Hodgkin Lymphom, Partielle und komplette Remission, Remissionserhaltung, Risikopotenzial, Interleukin-6, Zytokine, Löslicher Interleukin-2 Rezeptor, Mistel

**Summary**

24 patients with follicular non-Hodgkin's lymphoma were treated with a mistletoe extract (Iscador®P 0.01–20mg, by way of exception 0.01–30mg, 3x a week s.c.) and followed up over a period of 54 months. Remissions were triggered in 42% of those patients treated exclusively with mistletoe (4x complete remission, 6x partial remission and 1x minor remission). The remission period was between 1.5 and 27.5 months in the cases of complete remission, between 2.5 and 34 months in those with partial remission, and 1 month in the patient with a minor remission. Disease progression was observed in 9 cases during monotherapy with Iscador®, although this was only temporary in some cases. Maintenance of remission, triggered by chemotherapy or surgery, was reached in 3 cases (2 complete remissions 18 and 20 months, respectively, 1 partial remission 10 months). During combined chemotherapy/mistletoe therapy, partial and complete remission were observed in 7 and 2 cases respectively. The remission period ranged from 3 to 24 months. Disease progression occurred in 8 patients during this simultaneous therapy.

No cytokine stimulation (including Interleukin-6) was observed over the whole time of observation. The results of the presented series of case histories argue against any risk potential but in favour of the efficacy of mistletoe treatment in non-Hodgkin's lymphomas.

Soluble interleukin-2 receptor proved to be a reliable marker for lymphoma activity in complete clinical and clinico-chemical controls. It is more sensitive than LDH and  $\beta_2$ -microglobulin, resulting in improved staging reliability.

**Keywords:**

Mistletoe, follicular non-Hodgkin's lymphoma, partial and complete remission, maintenance of remission, risk potential, Interleukin-6, cytokines, soluble interleukin-2 receptor, mistletoe

# Untersuchungen zu Immunreaktion und klinischem Outcome nach intraläsionaler *Viscum*-Applikation bei Kolonkarzinom

## Investigation of the Immunologic Reaction and Clinical Outcome in Intralesional *Viscum* Therapy of Colonicarcinoma

B. Matthes, P. Fritz, Th. E. Mürdter, M. Kröz, H.-B. von Laue und H. Matthes

### Zusammenfassung

Die intraläsionale Applikation von *Viscum*-Extrakten zeigt in Einzelfällen in mehreren Untersuchungen eine gute Tumormassenreduktion und damit eine mögliche Therapieoption. Zur immunologischen Reaktion bei intraläsionaler *Viscum*-Applikation und deren klinischer Bedeutung liegen bisher wenige Daten vor. In dieser retrospektiven Untersuchung wurden je zwei histologische Präparate von 14 Patienten mit kolorektalem Karzinom, die mit intraläsionaler *Viscum*-Therapie (mindestens 1 Mal) behandelt wurden, ausgewertet. Im Vergleich anhand der intratumoralen Immunzellen der ersten (diagnostischen, vor Injektion) Biopsie und sowie des Operationsgutes (nach der *Viscum*-Injektion) kann auf die immunologische Reaktion nach Injektion im Tumorgewebe geschlossen werden. Zusätzlich wurde auf klinisches Outcome (mediane Überlebenszeit) und auf Beziehungen zum immunologischen Status untersucht.

Schwere unerwünschte Nebenwirkungen traten bei den untersuchten Patienten nicht auf.

Die histologischen Präparate wurden jeweils auf folgende intratumorale Zellen untersucht: B-Lymphozyten, T-Lymphozyten, T-Helfer-Lymphozyten, T-Suppressor-Lymphozyten, Makrophagen/Monozyten, eosinophile Granulozyten, Mastzellen und NK-Zellen. Dabei fanden sich signifikante Anstiege der B-Lymphozyten, T-Helfer-Lymphozyten und Makrophagen/Monozyten. Tendenzielle Anstiege ergaben sich für T-Lymphozyten, T-Suppressor-, NK-Zellen sowie für eosinophile Granulozyten. Keine Vermehrung zeigten Mastzellen. Eine Prognoserelevanz konnte nur für den Anstieg der eosinophilen Granulozyten und Makrophagen ermittelt werden.

Um die tumorale Immunreaktion nach intraläsionaler Applikation von *Viscum* genauer kennen zu lernen und deren klinische Bedeutung weiter zu verstehen, sind größere prospektive Untersuchungen erforderlich.

**Schlüsselwörter:**

Intraläsionale Therapie, *Viscum album*, Immunologie, Eosinophilie, Mastzellen, T-Helfer-Zellen, zytotoxische T-Zellen

**Summary**

In certain cases the intralesional application of *Viscum* extracts has shown a significant reduction of tumour mass in repeated examinations and should therefore be considered as a possible therapy option. Only limited information is currently available on the immunological reaction to intralesional *Viscum* application and its clinical meaning.

Our retrospective study evaluated the results of intralesional *Viscum* therapy with two histological preparations on 14 patients with colorectal carcinoma who were each treated at least once. A comparison of the first, diagnostic biopsy taken before the injection with the status of intratumoural immune cells following the injection suggests an immunological reaction in the tumour tissue to the application of *Viscum*. In addition, we examined the clinical outcome (median survival time) and interrelations with the immunological status.

None of the patients examined developed any severe undesired side effects. In each case the histological preparations were examined for the following intratumoural cells: B lymphocytes, T lymphocytes, T helper lymphocytes, T suppressor lymphocytes, macrophages/monocytes, eosinophilic granulocytes, mast cells and NK cells. We found a significant increase in the number of B lymphocytes, T helper lymphocytes and macrophages/monocytes. There was also a slight increase in the number of T lymphocyte suppressors, NK-cells as well as eosinophilic granulocytes. There was no increase in the number of mast cells. Only the increase in the number of eosinophilic granulocytes and macrophages proved relevant for the prognosis.

Large-scale, prospective studies would help to better understand the immune reaction to intralesional application of *Viscum* and its clinical and possibly antitumoural meaning.

**Keywords:**

Intralesional therapy, *Viscum album*, immunology, eosinophilia, mast cells, T helper cells, cytotoxic T cells

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

## Case Control Analysis of Intralesional *Viscum* Therapy for Bronchial Carcinoma Accessible Endobronchially

Ch. Grah und B. Matthes

### Zusammenfassung

Bei sechs Patienten wurde eine intraläsionale endobronchiale *Viscum*-Therapie mit *Abnobaviscum Fraxini* durchgeführt.

Bei keiner dieser Maßnahmen kam es zu einer unerwünschten Wirkung wie Fieber, Dyspnoe, lokale Schwellung oder bronchialer Hyperreagibilität, genereller Allergie oder Anaphyllaxie. Darüber hinaus wurde bei zwei Patienten eine wiederholte *Viscum*-Instillation in das endobronchiale Tumorgewebe durchgeführt. Hier wurde ein erstaunlicher antitumoröser Effekt beobachtet. Im ersten Fall konnte eine partielle, im zweiten Fall eine komplette Tumoregression beobachtet werden.

### Schlüsselwörter:

Intraläsionale endobronchiale Misteltherapie, *Viscum album*, Mistel

### Summary

We carried out intralesional endobronchial *Viscum* therapy with *Abnobaviscum Fraxini* on six patients. The treatment had no side effects such as fever, dyspnoea, local swelling or bronchial hyper-reactivity, general allergy or anaphylaxis. In two patients we also carried out repeated *Viscum* instillation into the endobronchial tumour tissue. We observed a significant antitumorous effect. In the first case, the treatment resulted in partial tumour regression, in the second case we observed complete tumour regression.

### Keywords:

intralesional endobronchial *Viscum* therapy, *Viscum album*, mistletoe

# **Der Einfluss des Mistellektins auf Differentialblutbild und Lokalreaktionen – Eine doppelblinde, randomisierte Studie bei Gesunden (Zusammenfassung)**

## **Effects of Mistletoe Lectin on Differential Blood Count and Local Reaction – A Double-blinded, Randomized Study in Healthy Subjects (Summary)**

*R. Huber, M. Rostock, R. Lüdtkke, M. Werner und R. Klein*

### **Hintergrund**

Unter Therapie mit Mistelpräparaten kommt es häufig zu einer Blut-Eosinophilie (Huber *et al.*, 2002). Wir wollten klären, ob hierfür der Gehalt an Mistellektin (ML) verantwortlich ist.

### **Methode**

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

### **Ergebnisse**

Alle Probanden beendeten die Studie regulär. Unter IQ und dem aus IQ erhaltenen ML, nicht aber unter dem lektindepletierten IQ kam es im Vergleich zu Placebo zu einem signifikanten Anstieg der Leukozyten ( $p < 0,001$ ), der neutrophilen Granulozyten ( $p < 0,01$ ) und der Eosinophilen ( $p < 0,01$ ). Die absolute Zahl der Lymphozytenwerte blieb konstant. Weiterhin traten lokale Rötung und Juckreiz an der Injektionsstelle praktisch nur unter dem Gesamtextrakt und reinem ML auf.

**Schlussfolgerung**

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

**Schlüsselwörter:** Mistellektin, Eosinophilie, Granulozyten

**Background**

Application of mistletoe extracts frequently results in a peripheral eosinophilia (Huber *et al.*, 2002). We wanted to investigate, whether this is related to their content of mistletoe lectin (ML).

**Methods**

43 healthy volunteers were randomized into four groups. Group 1 received the whole plant extract Iscador Quercus® (IQ), group 2 IQ, which was selectively depleted from ML, group 3 pure ML which was derived from IQ and group 4 placebo. All preparations were injected subcutaneously 2 times a week for a period of eight weeks. The doses in the three treatment groups were increasing, with a maximum of 5mg IQ or its ML-content (ca. 375ng/dose) respectively. Weekly differential blood count and local reactions were investigated, 4 weekly various parameters of the specific cellular immune response were tested, which are not yet statistically analyzed.

**Results**

All probands finished the study regularly. IQ and ML, but not IQ which was depleted from ML resulted in a significant increase of the leukocyte count ( $p < 0.001$ ), granulocyte count ( $p < 0.01$ ) and eosinophil count ( $p < 0.01$ ) compared to placebo. The lymphocyte count remained constant. Furthermore, local redness and itching at the site of injection almost exclusively occurred with IQ and ML.

**Conclusion**

Eosinophilia, increase of the leuko- and granulocyte count and local reactions at the site of injection are related to the content of ML in mistletoe preparations.

**Keywords:** mistletoe lectin, eosinophilia, granulocytes

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

## Prospective, Randomised, Controlled Trial to Determine the Activation of Homing and General Activity of T-Lymphocytes by Subcutaneous Mistletoe Extract Injections in Healthy Male Volunteers

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

### Zusammenfassung

Eine prospektive, randomisierte, dreiarmlige, kontrollierte Phase-1-Studie mit einfacher Verblindung beider Mistelgruppen untersuchte über einen Zeitraum von insgesamt 6,5 Wochen die Wirkungen eines Mistellektin-(ML-)reichen und eines ML-armen Mistelextrakts auf das Immunsystem gesunder männlicher Probanden (n=29) bezüglich folgender Fragen:

- a) Kann eine Aktivierung von T-Zellen induziert werden, die am Homing in die Haut beteiligt sind?
- b) Kann eine systemische Erhöhung des Aktivitätsniveaus von T-Zellen erreicht werden?

Unter subkutaner Mistelextrakt-Injektion in aufsteigender (Woche 1–3) und konstanter (Woche 4–6) Dosierung (2x/Woche) zeigte sich eine Zunahme von aktivierten T-Zellen (CD45RO<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen) im peripheren Blut. Dieser Konzentrationsanstieg war mit dem ML-armen Mistelextrakt (fermentierter Kiefernmistel-Extrakt, *Iscador P*®) sowohl gegenüber dem nicht-stimulierenden Kontroll-Hautteststempel (*immignost*®) als auch gegen-

über dem ML-reichen Extrakt (unfermentierter Eichenmistel-Extrakt, *IQuFrF*) signifikant stärker ausgeprägt.

Dagegen zeigte sich in beiden Behandlungsgruppen kein Einfluss auf periphere T-Zellen mit Oberflächenmarkern für das Homing in die Haut (CLA-aktivierte CD45RO<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen). Über den gesamten Studienverlauf war bei den Mistel-Probanden eine stetige Steigerung des Aktivitätsniveaus der zellulären Immunreaktivität festzustellen. Das Ausmaß der Lokalreaktion (Fläche, Rötung, Schwellung, Schmerz, Juckreiz) am Injektionsort war mit dem Mistellektin Gehalt des Extrakts positiv korreliert, überraschenderweise jedoch nicht mit dem Grad der immunologischen Aktivierung. In der ML-reichen Gruppe zeigte sich eine symptomfreie Eosinophilie. Diese Ergebnisse bestätigen bisherige Beobachtungen, dass im Polysubstanzgemisch des Kiefernmistel-Extraktes (*IsCADOR P®*) neben ML eine oder mehrere Substanzen oder Wirkkomponenten vorhanden sein müssen, die für die – bisher ML zugeschriebenen – systemischen immunologischen Aktivierungseffekte essentiell sind.

**Schlüsselwörter:**

*Viscum album* L., Mistel, Lektin, Homing, T-Lymphozyten, Lokalreaktion

**Summary**

This prospective, randomised, three-arm, controlled phase-1 trial (single blind for both mistletoe groups) over a period of 6.5 weeks examined the effects of mistletoe lectin (ML-) rich and ML-poor mistletoe extracts on the immune system of 29 healthy male subjects regarding the following questions: a) do T-cells engaged in homing into the skin get activated, and b) can a systemic increase in T-cell activity levels be induced?

Following a dose escalation (week 1–3) and a maintenance phase (week 4–6) with s.c. mistletoe extract injections (twice a week), an increase of activated T-cells (CD45RO<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) in the peripheral blood was demonstrated, which was significantly more pronounced in the ML-poor group (fermented extract from pine mistletoe, *IsCADOR P®*) than in both the ML-rich group (unfermented extract from oak-mistletoe, *IQuFrF*) and the control group with a non-stimulating skin control test (*immignost®*). However, there was no influence on peripheral homing-associated T-cells (CLA-activated

CD45RO<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>T-cells, resp.). Over the treatment period, a sustained increase in cellular immune reactivity was observed in both mistletoe groups.

The extent of local reaction around the injection site (area, reddening, swelling, pain, itching) was positively correlated with the ML-content of the specific extract; surprisingly, however, not with the magnitude of immunologic responses. The ML-rich group showed a symptom-free eosinophilia. These results confirm previous findings with the multicomponent mixture *Iscador P*<sup>®</sup> that suggest the existence of ingredient(s) other than ML inducing systemic immunologic responses hitherto ascribed to ML.

**Keywords:**

*Viscum album* L., mistletoe, lectin, homing, T-lymphocytes, local reaction

# **Einfluss einer additiven Misteltherapie auf die Lebensqualität von Krebspatienten unter Chemotherapie – Ergebnisse einer prospektiv-randomisierten Studie**

## **Impact of Complementary Mistletoe Extract Treatment on Quality of Life in Cancer Patients Undergoing Chemotherapy – A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial**

*J. M. Schierholz*

### **Zusammenfassung**

Mistelextrakte sind zu den bekanntesten und meist verwendeten Arzneimitteln der anthroposophisch-erweiterten Medizin avanciert. Sie haben in der Phytotherapie Eingang und auch bei Schulmedizinern und in vielen Kliniken Verbreitung gefunden. Seit Einführung in die onkologische Therapie durch Rudolf Steiner und seine Mitarbeiterin Ita Wegman zu Beginn der 20iger Jahre wurde eine Vielzahl klinischer Studien veröffentlicht. Eines der Hauptprobleme zur wissenschaftlichen Anerkennung der vielfältigen Wirkung der Mistel ist allerdings die Verfügungsstellung dieser Daten im Rahmen evidenzbasierter Therapiestudien.

Nun stehen öffentlich zugängliche klinische Daten einer gemäß GCP durchgeführten prospektiv kontrollierten randomisierten Multicenterstudie zu standardisierten Mistelgesamtextrakten zur Verfügung. In dieser Studie konnte die Lebensqualität von Krebspatienten (233 eingeschlossen: Mamma-Ca n=68, Ovarial-Ca n=71, nicht-kleinzelliges Lungen-Ca n=94; 224 ausgewertet) mit komplementärer Helixor®-Therapie (n=115, mit Standardchemotherapie) gegenüber der Kontrollgruppe (n=109, Immunstimulans Lentinan mit Chemotherapie) signifikant gesteigert werden.

Die drei Lebensqualitätsindizes Functional Living Index-Cancer (FLIC), TCM-Index und Karnofsky-Index wurden übereinstimmend hinsichtlich Schmerzreduktion, körperlichem Status, körperlicher Aktivität, Befindlichkeit, Appetit signifikant verbessert ( $p < 0,05$ ).

Die Anzahl unerwünschter Ereignisse – hauptsächlich verursacht durch die Chemotherapie – konnte von 90 auf 52 als auch die Anzahl schwerer unerwünschter Ereignisse von 10 auf 5 reduziert werden.

Standardisierte Mistelgesamtextrakte können im Rahmen einer komplementär-onkologischen Behandlung die Chemotherapie-assoziierten Nebenwirkungen deutlich reduzieren und damit die Lebensqualität von Tumorkranken merklich verbessern.

**Schlüsselwörter:**

Mistelgesamtextrakt, *Viscum album*, prospektiv-randomisierte, kontrollierte, klinische Multicenterstudie, Lebensqualität, Chemotherapie-assoziierte Nebenwirkungen

**Summary**

Extracts from mistletoe are widely used in complementary cancer treatment as immunomodulating agents. They were introduced into oncological treatment by Rudolf Steiner around 1920 and there are many reports on clinical efficacy. However, the evidence of these results is controversial because of the problem of adequate methodology in evaluating the efficacy of complementary medicine.

However, randomized controlled trials of adequate methodology to evaluate the clinical benefit of standardized mistletoe extracts (sME) are still missing though urgently needed. Here we report on a prospectively randomized clinical multicenter study to evaluate the impact of sME administered complementarily to the standard treatment of patients with breast, ovarian, and non-small cell lung cancer (NSCLC).

Two hundred and thirty-three patients with breast (n=68), ovarian (n=71) and non-small cell lung cancer (NSCLC; n=94) were enrolled into this study. Two hundred and twenty-four patients fulfilled the requirements for final analysis (n=115 treated with sME Helixor® A; n=109 comprising the control group being treated with the approved immunomodulating phytopharmakon Lentinan). All patients were provided with standard tumor-destructive treatment schedules and complementarily treated with sME or Lentinan during chemotherapy according to treatment protocol.

Quality of life (QoL) was significantly ( $p < 0.05$ ) improved regarding pain reduction, physical status, body activity/fatigue, mind and appetite for patients that were complementarily treated with sME, as determined by the indices FLIC (Functional Living Index-Cancer), TCM (Traditional Chinese Medicine Index) and the KPI (Karnofsky Performance Index) in comparison to the control group. Additionally, the occurrence of adverse events (AEs) was less frequent in the sME than in the control group (total number of AEs 52 versus 90 and number of serious AEs 5 versus 10 in study and control group, most of them due to chemotherapy).

This study showed that complementary treatment with sME can beneficially reduce the side-effects of chemotherapy in cancer patients and thus improve quality of life.

**Keywords:**

mistletoe extract, *Viscum album*, prospective, randomized, controlled clinical trial, quality of life, chemotherapy-related adverse events

# **Signifikant höherer Anteil aktivierter NK-Zellen durch additive Misteltherapie bei chemotherapierten Mamma-Ca-Patientinnen in einer prospektiv-randomisierten doppelblinden Studie**

## **Significant Higher Level of Activated NK-Cells in Patients with Breast Cancer Receiving *Viscum album* Extract during Chemotherapy**

*L. Auerbach, V. Dostal, I. Václavík-Fleck, E. Kubista, A. Rosenberger, S. Rieger, W. Tröger, J. M. Schierholz*

### **Zusammenfassung**

In einer prospektiv-randomisierten, doppelt-verblindeten klinischen Pilotstudie mit Mammakarzinom-Patientinnen (Stadium I/II) unter additiver Misteltherapie (Helixor® oder Placebo) zur Chemotherapie mit CMF und Strahlentherapie (Sandwich-Schema) im Universitätsklinikum Wien (AKH), Abteilung für spezielle Gynäkologie, wurden prognostische und immunologische Parameter sowie die Lebensqualität untersucht. Zusätzlich wurde die Durchführbarkeit einer Doppelblindstudie mit Mistel überprüft.

Insgesamt wurden 23 Patientinnen mit histologisch gesichertem Mammakarzinom T<sub>1-2</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>0</sub> rekrutiert. 20 erfüllten die Ein- und Ausschlussbedingungen und wurden laut Prüfplan mit 6 Behandlungszyklen einer adjuvanten Chemotherapie mit CMF über einen Zeitraum von ca. 6 Monaten therapiert. Wie sich bei der Auswertung ergab, wurde ein Großteil sowohl der Patientinnen als auch der Ärzte im Studienverlauf entblindet. Die Patientinnen der Kontrollgruppe zeigten unter Chemotherapie eine signifikante Abnahme der aktivierten NK-Zellen ( $p=0,001$ ;  $n=11$ ). In der Helixor®-Gruppe ( $n=9$ ) war diese Abnahme nicht festzustellen. Die aktivierten NK-Zellen blieben annähernd auf gleichem Niveau und waren signifikant höher als in der Kontrollgruppe ( $p=0,005$ ).

**Schlüsselwörter:**

*Viscum album*, Mistel, Chemotherapie, Cyclophosphamid, Mammakarzinom-Patientinnen, randomisierte doppelblinde klinische Studie

**Summary**

In a prospective randomized clinical pilot study designed as double-blinded and run at the Department of Special Gynaecology, Vienna University Hospital, Austria, we measured prognostic and immunological parameters, quality of life as well as the performance of such a study from breast cancer patients during six cycles of CMF (cyclophosphamide, methotrexate, 5-fluorouracil) standard chemotherapy combined with radiation (sandwich). 23 breast cancer patients ( $T_{1-2}N_{0-1}M_0$ ) could be recruited whereas 20 patients underwent CMF sandwich therapy for approx. 6 months. For the placebo group, a significant decrease of activated NK-cells was observed ( $p=0.001$ ;  $n=11$ ), while in the verum group ( $n=9$ ) activated NK-cells did not decrease, but remained in a nearly constant level resulting in significant higher activated NK-cells in the mistletoe group ( $p=0.005$ ). Blinded patients as well as blinded medical staff recognized after a short period verum or placebo injections which could be determined by final evaluation.

**Keywords:**

*Viscum album*, mistletoe, chemotherapy, cyclophosphamide, breast cancer patients, randomized double-blinded clinical study

# Beeinflussung der Granulozytenfunktion durch eine perioperative Infusion eines fermentierten Mistelextraktes

## Influence of a perioperative intravenous application of a fermented mistletoe extract on granulocyte function

A. Büssing, M. Bischof, W. Hatzmann, F. Bartzsch, D. Soto-Vera, E.-M. Fronk, M. Gmeindl und G. M. Stein

### Zusammenfassung

In einer GCP-konformen, kontrollierten, prospektiven bizenrischen Phase II Studie mit 105 (bzw. 98 per protocol behandelten) Mammakarzinom-Patientinnen konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass eine einmalige perioperative intravenöse Applikation von Iscador M speziell in einer Endkonzentration von 1 mg/Individuum die Operations/Narkose-assoziierte Granulozytenfunktions-Hemmung signifikant bessern kann. Mistelextrakt-bezogene Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet. Somit könnte diese besondere Form der Applikation eine Rationale darstellen, die durch Narkose und Operations-Stress ausgelöste Immunsuppression zu minimieren, die das Wachstum und die Metastasierung von übriggebliebenen Tumorzellen fördern könnten.

### Schlüsselwörter:

Immunmodulation, Misteltherapie, *Viscum album*, Infusion, intravenöse Applikation, Granulozytenfunktion, oxidativer Burst

### Summary

In this GCP-guided, prospective bicentric phase II study enrolling 105 (resp. 98 per protocol) patients with breast cancer we showed for the first time that a single intravenous application of Iscador M speziell in a final concentration of 1 mg/individual prior to surgery prevented the surgery/anaesthesia-associated inhibition of the granulocyte function. As no mistletoe extract

related side effects were observed, this distinct route of application may be a rationale to restrict immunosuppression by surgical stress and anaesthesia, which may accelerate the growth and metastasis of residual cancer cells to a minimum.

**Keywords:**

Immunomodulation, mistletoe therapy, *Viscum album*, infusion, intravenous application, granulocyte function, oxidative burst

# **Prospektive kontrollierte nicht randomisierte Machbarkeits-Studie zu einer postoperativen simultanen Mistel-/Chemotherapie bei Patientinnen mit Mammakarzinom – Ergebnisse zu Rekrutier- und Randomisierbarkeit, Immunparametern, Lebensqualität und Verträglichkeit**

## **Prospective Controlled non-Randomized Feasibility Study on a Postoperative Simultaneous Mistletoe/Chemotherapy of Patients with Breast Cancer – Results of Immune Parameters, Quality of Life and Tolerability and of the Course of Recruitment and Possible Randomisation**

*C. von Hagens, A. Loewe-Mesch, J.-J. Kuehn, U. Abel und I. Gerhard*

### **Zusammenfassung**

In einer prospektiven, offenen, zweiarmigen, nicht randomisierten Studie wurde an 33 Patientinnen mit primärem Mammakarzinom auf Wunsch eine Misteltherapie mit dem lektinstandardisierten Präparat Iscador® M spezial postoperativ während der adjuvanten Chemotherapie mit CMF oder EC durchgeführt. Die 33 Patientinnen der Kontrollgruppe erhielten keine Misteltherapie. Folgende Parameter wurden vor und nach Chemotherapie bestimmt: Lymphozytensubpopulationen, Lymphozytenstimulierbarkeit, Blutbild und Differentialblutbild, Lebensqualität sowie Daten zur Verträglichkeit der Mistel- und Chemotherapie.

Unter den geprüften immunologischen und hämatologischen Parametern fand sich außer bei den Thrombozyten kein klinisch bedeutsamer Parameter, dessen Verlauf während der Studie in der Mistelgruppe signifikant günstiger war.

Bezüglich der Lebensqualität ergaben sich Hinweise auf eine geringere Beeinträchtigung in der Mistelgruppe bei guter klinischer Verträglichkeit von der simultanen Mistel- und Chemotherapie.

Die Verträglichkeit der Chemotherapie war unter der simultanen Misteltherapie besser. Diese Aussage sollte durch eine randomisierte Studie verifiziert werden. Im Studienzeitraum von 27 Monaten erfüllten 74 Patientinnen die Ein- und Ausschlusskriterien für die Studie. Von diesen wären nur 29 (39,2%) zur Teilnahme an einer randomisierten Mistelstudie bereit gewesen. Wegen der deutlich reduzierten Bereitschaft der Patientinnen, bei einer Misteltherapie an einer randomisierten Studie teilzunehmen, muss bei künftigen Studien mit einer hohen Zahl von Studienverweigerern gerechnet werden. Aus diesem Grund und wegen eines hohen Rekrutierungsverlustes aus verschiedensten anderen Gründen kommen in Zukunft zur Prüfung der Misteltherapie beim Mammakarzinom nur multizentrische Studien in Betracht, wenn in einem angemessenen Zeitraum ausreichende Patientenzahlen zur Verfügung stehen sollen.

**Schlüsselwörter:**

Misteltherapie, Chemotherapie, Mammakarzinom, Lebensqualität, Immunparameter, *Viscum album*, Rekrutierung, Randomisierung

**Summary**

In our prospective open controlled two-armed non-randomized study on 33 patients with primary breast cancer a mistletoe therapy with Iscador® M spezial was given during postoperative chemotherapy with CMF or EC. The 33 patients of the control group had no simultaneous therapy with Iscador® M spezial during chemotherapy.

The following parameters were determined before and after chemotherapy: lymphocyte subpopulations, stimulability of lymphocytes, hematology, quality of life and local, and general side effects.

No important clinical parameter was superior in the mistletoe group during the course of treatment. Quality of life was less impaired in the mistletoe group than in the control group. Concurrent treatment of mistletoe injections and chemotherapy was well tolerated.

The tolerability of the chemotherapy was better in the simultaneous mistletoe therapy group. In view of the study design this result is descriptive and must be verified in a randomized study. During the study period of 27 months 74 patients were eligible for inclusion and had no exclusion criteria for the study.

Only 29 (39.2%) of them were willing to participate in a randomized trial with mistletoe extracts. Since many patients did not agree to participate in a randomized mistletoe study with a control group any future clinical trial should reckon with a low participation rate and should be planned as a multicentre trial.

**Keywords:**

Mistletoe therapy, chemotherapy, breast cancer, quality of life, immune parameters, *Viscum album*, recruitment, randomization

# **Retrospektive Untersuchung zur Misteltherapie bei Patienten mit kolorektalem Karzinom am Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe 1/1996–6/2002 – Eine Zwischenauswertung**

## **Retrospective Analysis of Mistletoe Therapy For Patients With Colorectal Carcinoma at Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe Between 1/1996 and 6/2002 – Interim Results**

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

### **Zusammenfassung**

Die Mistel wird seit über 80 Jahren in der Onkologie als adjuvantes und palliatives Medikament eingesetzt. Das kolorektale Karzinom (CRC) ist die häufigste Tumorerkrankung in Deutschland. Am Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe (GKH) werden seit 1995 Mistelpräparate zur Behandlung des CRC eingesetzt. Aufgrund unterschiedlicher Abteilungen, behandelnder Ärzte und Therapiekonzepte kommen verschiedene Mistelpräparate und Applikationsweisen zum Einsatz. Über die Art und die Durchführung der adjuvanten und palliativen Misteltherapie und den Langzeitverlauf der Erkrankung gibt es bisher keine strukturierte Erfassung sowie keine systematisch erhobenen klinischen Daten. Im Rahmen der Tumorbasisdokumentation (TBD) wurden am GKH mittels der Dokumentationssoftware QuaDoSta (Qualitätssicherung, Dokumentation und Statistik) eine retrospektive Erfassung aller von 1/1996 bis 6/2002 behandelten Patienten mit CRC durchgeführt. Es werden Daten dieser Retrospektive als Beispielerhebung einer standardisierten onkologischen Dokumentation insbesondere hinsichtlich der Misteltherapie dargestellt.

### **Schlüsselwörter:**

Misteltherapie, kolorektales Karzinom (CRC), Retrospektive, Mistel, *Viscum album*

**Summary**

Mistletoe has been used as an adjuvant and palliative medication in oncology for the last 80 years. Colorectal carcinoma (CRC) is the most common type of cancer in Germany. At the Gemeinschaftskrankenhaus Havelhöhe (GKH), mistletoe has been used for the treatment of CRC since 1996. Different physicians, different departments and different therapy approaches use different ways of administering mistletoe preparations. There is yet no structured information and no clinical data available on the use of adjuvant and palliative mistletoe therapy and the long term outcome under treatment. However, for tumour basis documentation (TBD), the GKH carried out a retrospective study of all patients with CRC treated between January 1996 and June 2002 using QuaDoSta (quality assurance, documentation and statistics), a documentation software. The data collected in this retrospective survey are presented as an example of standardised oncological documentation, particularly with respect to the use of mistletoe therapy.

**Keywords:**

Mistletoe therapy, colorectal cancer, retrospective documentation, mistletoe, *Viscum album*

# Zusammenhang der Natürlichen Killerzellaktivität von Krebspatienten mit deren klinischem Verlauf unter Misteltherapie – Ergebnisse einer prospektiven einarmigen Studie

## Association of the Natural Killer Cell-Activity of Cancer Patients and Their Clinical Course During Mistletoe Therapy – Results of a Prospective Cohort Clinical Trial

M. Schink, F. Glaser, H. Scheuerecker, W. Tröger und A. Goyert

### Zusammenfassung

Es wurden die Zusammenhänge der Aktivität der Natürlichen Killerzellen gegen patienteneigene Tumorzellen und K562-Zellen mit dem Krankheitsverlauf von kolorektalen oder Mammakarzinompatienten untersucht, die postoperativ ausschließlich Misteltherapie erhielten. Die Nachbeobachtungszeit betrug zwei Jahre. Innerhalb dieser Zeit wurde die *in vitro*-NK-Zellaktivität gegen autologe Tumorzellen sowie gegen K562-Zellen mit der Anzahl der NK-Zellen im peripheren Blut, der Tumorprogression und der Lebensqualität der Patienten verglichen.

Studienkollektiv: 40 Patienten im Alter von 32 bis 79 Jahren. 20 Patienten beendeten die Studie prüfplangemäß.

Ergebnisse: Die Anzahl der NK-Zellen im peripheren Blut stieg im Verlauf der Therapie an. Die NK-Zellaktivität zeigte zwar keine Zusammenhänge mit der Zellzahl oder mit der Lebensqualität der Patienten, dafür unterschieden sich die Patientengruppen ohne und mit Progression der Tumorerkrankung bezüglich ihrer gemittelten NK-Zellaktivitäten gegen K562 statistisch auffällig voneinander ( $18,7 \pm 4,8\%$ ;  $n=25$  vs.  $13,5 \pm 7,1\%$ ;  $n=12$ ;  $p<0,05$ ). Somit gelang es erstmals, unter Misteltherapie einen Zusammenhang zwischen einer Immunfunktion (der durchschnittlichen *in vitro*-Aktivität der NK-Zellen) und dem Krankheitsverlauf aufzuzeigen.

**Schlüsselwörter:**

Prospektive klinische Studie, Misteltherapie, *Viscum album*, Natürliche Killerzellen, NK-Zellaktivität, autologe Tumorzellen, K562, rezidivfreie Zeit, Tumorprogression, Lebensqualität

**Summary**

We examined the association between natural killer cell activity on autologous tumour cells and K562-cells and the course of the disease of colorectal or breast cancer patients exclusively treated with mistletoe extracts. During the 2-year-follow-up the *in-vitro* NK-cell activity on autologous tumour cells and K562-cells was measured and compared with the NK cell count in peripheral blood, clinical outcome and quality of life.

Patients: 40 subjects aged 32–79 years. 20 patients ended the study regular. Results: The number of the NK cells increased steadily during the therapy. No association between NK cell activity and NK cell count or quality of life was detected. However, patients with and without progression of their disease showed a significant difference in their averaged NK cell activity ( $18.7 \pm 4.8\%$ ;  $n=25$  vs.  $13.5 \pm 7.1\%$ ;  $n=12$ ;  $p < 0.05$ ). Thus, for the first time we succeeded to show an association between an immune function (the averaged NK cell activity) and the clinical course during mistletoe therapy.

**Keywords:**

Prospective clinical trial, mistletoe therapy, *Viscum album*, natural killer cells, NK cell activity, autologous tumour cells, K562, recurrence-free interval, tumour progression, quality of life

# Lokale Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms mit einem auf Mistellektin eingestellten Mistelextrakt

## Local Therapy of Superficial Urinary Bladder Carcinoma With a Mistletoe Extract Standardized to Mistletoe Lectin

U. Mengs, U. Elsässer-Beile, Ch. Leiber und U. Wetterauer

### Zusammenfassung

Mistelextrakte werden bei Tumorpatienten vorwiegend subkutan zur Verbesserung des Immunstatus und der Lebensqualität eingesetzt. Aufgrund der zytotoxischen Eigenschaften der Mistellektine (ML) war anzunehmen, dass Mistelextrakte auch direkt antitumoral wirken, wenn diese in ausreichender Konzentration an den Tumor gelangen. Es war daher naheliegend, dies am Modell des Harnblasenkarzinoms zu prüfen, da hier eine lokale Therapie mit definierten Konzentrationen möglich ist.

Ein auf Mistellektin eingestellter Mistelextrakt zeigte *in vitro* an einem breiten Spektrum von humanen Tumorzelllinien und Xenografts bereits im Pico- und Nanogramm-bereich zytotoxische Wirkungen. Auch diverse Zelllinien von humanen Harnblasenkarzinomen erwiesen sich als sensitiv.

*In vivo* konnten in zwei verschiedenen Harnblasenmodellen antitumorale Wirkungen nach intravesikaler Applikation beschrieben werden. Der auf Mistellektin eingestellte Mistelextrakt bewirkte im murinen MB49-Modell ein verzögertes Tumorstadium und erhöhte somit die Überlebensrate gegenüber Placebo. Rekombinantes Mistellektin (rML) führte bei Ratten mit chemisch induzierten Harnblasentumoren zu einer geringeren Karzinomrate im Vergleich zur Kontrolle. Die wirksame Konzentration lag in beiden Fällen bei 300 ng ML/ml.

Diese positiven experimentellen Ergebnisse führten zu einer ersten Phase I/II-Studie, in die bisher 30 Patienten mit oberflächlichem Harnblasenkarzinom der Stadien Ta und T1 und dem Grading G1 bis G2 aufgenommen wurden. Sie erhielten im Anschluss an die transurethrale Resektion (TUR) 6 Instillationsbehandlungen mit einem auf Mistellektin eingestellten Mistelextrakt in aufsteigenden Konzentrationen bis zu 5000 ng ML/ml. Alle bisher geprüften Konzentrationen führten weder zu lokalen noch zu systemischen Nebenwirkungen. Die Rezidivrate innerhalb eines Jahres entsprach mit 30% der Therapie mit BCG (Bacillus Calmette-

Guerin), die jedoch mit erheblichen Nebenwirkungen behaftet sein kann. Aufgrund dieser Befunde kann der auf Mistellektin eingestellte Mistelextrakt als mögliche Alternative zu BCG in der Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms gesehen werden und seine Wirksamkeit sollte in weiteren klinischen Studien verifiziert werden.

**Schlüsselwörter:**

Wässriger Mistelextrakt, Mistellektin, *Viscum album*, Zytotoxizität, Immunmodulation, oberflächliches Harnblasenkarzinom, lokale Therapie

**Summary**

Mistletoe extracts are mainly used by subcutaneous injection to improve the immune status and quality of life in cancer patients. Due to the cytotoxic properties of mistletoe lectins (ML), mistletoe extracts might also possess antitumoral activity if adequate concentrations reach the tumor. In this case, the urinary bladder carcinoma is a proper model as a local therapy with definite concentrations is feasible.

A mistletoe extract, standardized to mistletoe lectin, showed cytotoxic activity *in vitro* in a broad spectrum of human tumor cell lines and xenografts. Several human urinary bladder cancer cell lines were also sensitive in the same concentration range.

Additional antitumor effects have been shown *in vivo* in two different bladder carcinoma models. Following instillation of mistletoe extract, inhibition of tumor growth and higher survival rate was seen in the murine MB49 model in comparison to placebo. Locally applied recombinant mistletoe lectin (rML) reduced the number of rats with chemically induced malignant bladder tumors when compared to controls. The effective concentration was 300 ng ML/ml in either case. These positive findings from experimental studies lead to a first clinical phase I/II trial at present with 30 patients suffering from superficial bladder cancer of stages Ta and T1 (grade 1 and 2). Following transurethral resection, the patients received 6 instillations with a standardized mistletoe extract at concentrations of up to 5000 ng ML/ml. All applied concentrations were well tolerated. The recurrence rate of 30 % during one year was similar to that of BCG therapy (*Bacillus Calmette-Guerin*) which, however, can lead to severe side-effects.

From the clinical data, the standardized mistletoe extract could be a possible alternative to BCG in the therapy of superficial urinary bladder carcinoma. Further trials are necessary to demonstrate clinical efficacy.

**Keywords:**

Aqueous mistletoe extract, mistletoe lectin, *Viscum album*, cytotoxicity, immunomodulation, superficial urinary bladder carcinoma, local therapy

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

## Randomized Cohort Studies with Matched Pair Design Investigating Mistletoe Therapy (Iscador®) for Gynaecological Carcinoma

*R. Grossarth-Maticek und R. Ziegler*

### **Zusammenfassung**

Randomisierte Studien im Matched-Pair-Design für gynäkologische Karzinome legen nahe, dass das Mistelpräparat Iscador® als Adjuvans zu einer onkologischen Standardtherapie einen klinisch relevanten Effekt sowohl auf die Verlängerung der Überlebenszeit als auch auf die Erhöhung der Lebensqualität in Form der Selbstregulation auszuüben vermag, verglichen mit der onkologischen Standardtherapie allein.

### **Schlüsselwörter:**

Randomisierte Matched-Pair-Studie, Mistelpräparat, Iscador®, Überlebenszeit, Lebensqualität, Selbstregulation

### **Summary**

Randomized matched pair studies for gynaecological carcinoma suggest that the mistletoe preparation Iscador® together with standard oncological therapy has a significant and relevant effect onto the prolongation of survival as well as onto the quality of life in the sense of an enhanced self-regulation in comparison with oncological therapy alone.

### **Keywords:**

Randomized matched pair study, mistletoe preparation, Iscador®, survival, quality of life, self-regulation

# Verbesserung der Qualität therapeutischer Einzelfallberichte und Fallserien in der Onkologie

## Improving the Quality of Case Reports and Case-Series in Oncology

*G. S. Kienle, H. J. Hamre, E. Portalupi und H. Kiene*

### **Zusammenfassung**

Einzelfälle, überschaubare Fallserien und retrospektive Auswertungen sind in der Regel die einzige Möglichkeit für den praktizierenden Arzt, vor allem in der Komplementärmedizin, eigenständige klinische Forschung durchzuführen und eigene wichtige Erfahrungen der medizinischen Gemeinschaft mitzuteilen. Bisherige Publikationen von Einzelfällen und Fallserien sind jedoch oft lückenhaft und in der Qualität ungenügend, so dass sie kaum Aussicht auf Akzeptanz haben. Als Hilfestellung zur Verbesserung der Publikationsqualität wurden Kriterien zusammengestellt, speziell für onkologisch-therapeutische Einzelfallbeschreibungen und Fallserien.

### **Schlüsselwörter:**

Einzelfall, Fallserie, Methodologie, Empfehlungen, Onkologie, Komplementärmedizin

### **Summary**

Single cases, case series and retrospective evaluations of patients are usually the only possibility for practicing physicians to conduct their own independent clinical research and to communicate important experiences to the medical community. However, most presentations of single cases and case series published, especially in complementary medicine, were incomplete and therefore did not reach a realistic chance on adequate recognition and acceptance of its therapeutic content, even if the presented therapeutic concept seems beneficial. To give support for improvement of the publication quality in future, criteria are presented, describing the information that should be included in the publication of oncological, therapeutic single cases and case series.

### **Keywords:**

Single case, case series, best case, methodology, complementary therapy, oncology

# Flexible Datenbank zur Tumor- und Misteltherapiedokumentation

## Flexible Database For Documentation of Tumors and And Mistletoe Therapy

*F. Schad, B. Matthes, J. Pissarek, U. Albrecht, E. Jeschke und H. Matthes*

### **Zusammenfassung**

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

### **Schlüsselwörter:**

Epidemiologie, Krebsregister, Tumorzentren, Software zur Tumordokumentation, Postgre-SQL, QuaDoSta.

**Summary**

Oncology in Germany currently lacks sufficient epidemiological standards. Documentation guidelines of cancer registers or cancer centres are not of standardised quality. Commercial or scientific databases currently available are rigidly programmed systems and often incompatible with other electronic data processing systems. Most of them are not practical in hospitals or specialist medical purposes as they are too comprehensive and complicated to use. QuaDoSta (quality assurance, documentation and statistics) is a generic, open and platform-independent documentation system, which offers complete flexibility with regard to contents, flexible documentation (catalogue- and input administration) and allows for individual evaluation. Comprehensive and precise user administration ensures security and system stability. The data storage is based on Postgre-SQL databases under Linux which are accessed *via* Perl-CGI scripts through a web browser. In practice every individual end user requirement for oncological documentation can be achieved without the need for additional programming including comprehensive therapy documentation, especially mistletoe therapy. With this database standardised, quality enhancing data storage between hospitals, oncological registers and scientific medical networks can be achieved as well as for inpatient and outpatient care.

**Keywords:**

Epidemiology, cancer register, tumour centre, tumour documentation, Postgre-SQL, QuaDoSta.

# Die Interaktion von Mistel und *Ich* – Zur anthroposophischen Begründung der Misteltherapie

## The Interaction Between Mistletoe and the Human Spirit – The Anthroposophical Justification of Therapy with Mistletoe

V. Fintelmann

### Zusammenfassung

Auch wenn wir heute viel über immunologische, klinische und pharmakologische Wirkungen der Mistel (*Viscum album*) wissen, ist die therapeutische Wirksamkeit doch zentral in der unmittelbaren Begegnung von Mistel und *Ich* begründet. Das *Ich* ist der wirkliche Mensch, von ihm geht alle Steuerung im Organismus aus. Die Autonomie der Zelle wird ständig überwunden. Gelingt das nicht, kann die Krebskrankheit entstehen. Es wird dargestellt, in welcher Weise die Mistel auf das *Ich* wirkt und wie dieses darauf reagiert.

### Schlüsselwörter:

Misteltherapie, Interaktion mit dem *Ich*

### Summary

Although we know many reasons for immunological, clinical and pharmacological effects of mistletoe (*Viscum album*), we will find the therapeutical effectiveness almost in the direct encounter of the mistletoe and the human spirit (the so called „I“). The „I“ or the Ego is the real human being, from there comes all steering into the organism. The autonomy of cells will be permanently overcome by the „I“. If this is not successful carcinoma can develop. We will demonstrate in which kind mistletoe interacts with the human spirit and how the spirit reacts.

### Keywords:

mistletoe therapy, interaction with the human spirit