

# Das Mistelpräparat Iscucin® Crataegi\*

## Option für die Instillationstherapie bei Blasenkrebs

A. Paula Simões-Wüst, Nicole Hunziker-Basler, Tycho J. Zuzak, Jenny Eggenschwiler, Lukas Rist, Angelika Viviani, Ulrich Meyer

### Zusammenfassung

Wässrige Mistelextrakte wie die Iscucin®-Präparate der WALA werden im Rahmen einer komplementärmedizinischen Krebsbehandlung häufig eingesetzt. Es stehen Iscucine® von acht verschiedenen Wirtsbäumen zur Verfügung. In vitro durchgeführte Zytotoxizitätstests zeigten, dass die Iscucin®-Präparate konzentrationsabhängige, wachstumshemmende Effekte auf verschiedene Tumorzelllinien ausübten. Bei der Blasenkrebszelllinie VM-CUB1 war die Hemmung durch Iscucin® Crataegi am stärksten ausgeprägt. In weiteren Versuchen wurden fünf Blasenkrebszelllinien mit verschiedenen Iscucin®-Präparaten unter Bedingungen behandelt, die der therapeutischen Instillationstherapie beim oberflächlichen Blasenkrebs ähneln. Die Blasenkarzinomzelllinien VM-CUB1, TCC-SUP, T-24, J82 und UM-UC-3 wurden mit Iscucin® Abietis, Crataegi, Populi, Quercus und Tiliae inkubiert, und mit dem MTT-Zytotoxizitäts-Test wurde der Einfluss der Behandlung auf das Zellwachstum gemessen. Eine nur zweistündige Inkubation der Blasenkrebszellen führte mit einer Mistelextraktkonzentration von 8 mg/ml aus Iscucin® Crataegi beziehungsweise Iscucin® Tiliae bei allen Zelllinien zu einem starken und mindestens sechs Tage anhaltenden zytotoxischen Effekt.

### Rückblick

Die Entwicklung des Präparates Iscucin® ist der Initiative des Arztes Dr. Karl Köller (1896–1975) zu verdanken (3), der mit Rudolf Steiner (1861–1925) eine Unterredung zur Misteltherapie bei Krebs hatte. Steiner betonte in diesem Gespräch, dass «man im Einzelnen die Unterschiede beachten» müsse, «ob man die Mistel von einem Eich-

baum ... oder einem anderen Baum, etwa einem Apfelbaum» verwende (8). Später arbeitete Köller an der Entwicklung einer eigenen Viscum-album-Zubereitung, und 1962 veröffentlichte er sechs Fallstudien zur Karzinombehandlung mit Iscucin®. Bei allen Patienten kam das Präparat kurmässig und in substanzialer Dosierung zum Einsatz. Seit 1965 ist Iscucin® im Handel erhältlich, die Herstellung übernahm nach Köllers Tod die Firma WALA. 1980 veröffentlichte Heinz-Hartmut Vogel (1914–1995) die «Richtlinien für die Malignom-Therapie mit Iscucin®-Viscum-Präparaten». Die Iscucine® werden auch bei nicht onkologischen Indikationen wie PCP (7) und Hepatitis C (4) eingesetzt. Erhältlich sind heute Iscucin®-Präparate von acht unterschiedlichen Wirtsbäumen: Iscucin® Abietis (Tanne), Iscucin® Pini (Kiefer), Iscu-

cin® Populi (Pappel), Iscucin® Mali (Apfelbaum), Iscucin® Salicis (Weide), Iscucin® Crataegi (Weissdorn), Iscucin® Quercus (Eiche) und Iscucin® Tiliae (Linde).

Vor drei Jahren wurden experimentelle Daten veröffentlicht, die zeigten, dass Iscucin®-Präparate hemmend auf das Zellwachstum wirken (10). Die Effekte wurden mit Iscucin®-Präparaten unterschiedlicher Wirtsbäume an einer Blasenkrebs-, einer Leukämie-, drei Brustkrebs- und vier Hirntumorzelllinien dokumentiert. Im MTT-Test (siehe *Kasten*) zeigte sich ein differenziertes Bild in Abhängigkeit von Wirtsbäum und Zelllinie.

Kürzlich konnten die Zytotoxizitäts-Daten zur Iscucinbehandlung bei Hirntumorzellen bestätigt werden, wobei ergänzend zum MTT-Test die Durchflusszytometrie eine Differenzierung

### MTT-Zellwachstums-Test

Der MTT-Test beruht auf der Reduktion des gelben Tetrazoliumsalses zum purpurfarbenen Formazan durch mitochondriale Dehydrogenasen. Die Formazankristalle bilden sich proportional zur Aktivität der Dehydrogenasen und lassen sich später fotometrisch quantitativ bestimmen. Da die Enzymaktivität proportional zur Anzahl gesunder Zellen zunimmt, können mit dieser Methode Substanzen erfasst werden, die entweder zu einer reduzierten Zellvermehrung oder einer erhöhten Zellabsterberate führen. Die Zunahme der Anzahl gesunder Zellen wird in diesem Artikel als Zellwachstum bezeichnet. Die gemessene Absorption der mit Mistelextrakt behandelten Zellen wurde mit jener von unbehandelten Zellen (Kontrolle, 100%) verglichen. Für den MTT-Test wurden 100 µl Zellsuspension mit einer Dichte von  $5 \times 10^5$  Zellen/ml in 96 Well-Mikrotiterplatten ausgesät und bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert. Parallel dazu wurden Blanks nur mit Medium mitgeführt. Danach erfolgte – ausser bei den Kontrollzellen (Zellen ohne Zugabe von Mistelextrakten) – die Zugabe von 100 µl Mistelextrakt, sodass dieser in den Endkonzentrationen von 16, 8, 4 und 2 mg/ml in den Wells vorlag. Um dieselben Bedingungen bei allen Proben zu gewährleisten, wurde den Blank- und den Kontrollproben entsprechend 100 µl frisches Medium zugegeben. Die Zellen wurden 2 Stunden bei 37 °C mit dem Mistelextrakt inkubiert. Danach wurden die Zellen gewaschen und jeweils nach 24, 48, 72 und 144 Stunden untersucht. Hierfür wurde in jedes Well 15 µl MTT-Lösung mit einer Konzentration von 5 mg MTT/ml PBS pipettiert. Innerhalb von 4 Stunden bildeten sich bei 37 °C durch die Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenasen violette Formazankristalle. Sorgfältig wurde das Medium entfernt und 200 µl Dimethylsulfoxid (DMSO) zugegeben. Während 10 Minuten wurden auf dem Mikroplattenschüttler die Formazankristalle gelöst. Vor der Messung wurde jeder Probe 25 µl Sörensens-Glycin-Puffer, bestehend aus 0,1 M Natriumchlorid und 0,1 M Glycin mit einem pH-Wert von 10,5, hinzupipettiert. Die Messung der Absorption erfolgte innerhalb 1 Stunde nach der DMSO-Zugabe bei 570 nm gegen eine Referenz von 630 nm. Die gemessene Absorption der Proben wurde mit jener der unbehandelten Kontrollzellen prozentual verglichen, um die relative Dehydrogenaseaktivität, also das relative Zellwachstum, zu bestimmen.

\* Zweitpublikation mit freundlicher Genehmigung der Autoren und des Verlags. Originalpublikation in Der Merkurstab 2007 (3): 251–255.

Tabelle:

Mittels ELISA (5) bestimmte Lektiningehalte der verwendeten Iscucin®-Präparate

Iscucin® (Stärke H, 5 %)	Charge	Wirtsbaum	Lektiningehalt in ng/ml Injektionslösung
Abietis	206 6145	Tanne	800
Populi	211 6022	Pappel	5300
Quercus	405 1083	Eiche	9800
Crataegi	405 6053	Weissdorn	10 600
Tiliae	303 6061	Linde	11 700

zwischen nekrotischen und apoptotischen Zellen ermöglichte. Das Verfahren wurde auf mit Iscucin® Quercus behandelten Medulloblastomzellen angewendet und zeigte dosisabhängig sowohl eine steigende Anzahl apoptotischer als auch nekrotischer Zellen (11).

Im Kontext der aktuellen Mistelforschung ermutigen diese Ergebnisse dazu, weitere Untersuchungen mit Iscucin®-Präparaten durchzuführen.

### Einsatz von Mistelextrakten zur Instillationstherapie beim Blasenkarzinom

Üblicherweise wird nach transurethraler Resektion eines oberflächlichen Blasenkrebses zur Rezidivprophylaxe eine Instillationstherapie mit einem Zytostatikum beziehungsweise Bacillus Calmette-Guerin (BCG) durchgeführt. Da bei der Instillation die Krebszellen einer lokalen Therapie zugänglich sind, erscheint es interessant, sich hier die Wirkungen von Mistelextrakten zunutze zu machen. Schaefermeyer beschrieb 1996 mehrere Einzelfälle von Mistelinstillationen bei Patienten mit Blasenkarzinom. Die Therapie wurde als gut verträglich beurteilt und ergab Hinweise auf eine Reduktion der Rezidivrate (6). Urech et al. konnten die zytotoxische Wirkung von Iscador Qu speziell auf Blasenkarzinomzellen 2006 in vitro unter klinisch realisierbaren Bedingungen bestätigen (9). Nach Vorversuchen in vivo wurden 2005 im Rahmen einer klinischen Studie gewonnene Daten zur Instillationstherapie mit lektinstandardisiertem phytotherapeutischem Mistelextrakt beim oberflächlichen Blasenkrebs veröffentlicht. Hierbei bestätigte sich die gute Verträglichkeit der Therapie. Darüber hinaus konnte im Vergleich mit einer mit BCG behandelten historischen Kontrollgruppe eine vergleichbare Wirkung hinsichtlich der Rezidivrate nachgewiesen werden (1).

### Lang anhaltende Effekte auf das In-vitro-Wachstum von Blasenkrebszelllinien nach zweistündiger Behandlung mit Iscucin®-Präparaten

Die 2004 von Zuzak et al. im «Mercurstab» veröffentlichten Ergebnisse zur Zytotoxizität der Iscucine® zeigten im MTT-Test zwar bei der Blasenkarzinom-Zelllinie VM-CUB-1 differenzierte zytotoxische Effekte in Abhängigkeit vom Wirtsbaum, die Versuchsbedingungen waren jedoch bezüglich Inkubationszeit und verwendeter Konzentrationen nicht mit den Bedingungen einer Instillationstherapie vergleichbar. Das Ziel unserer Arbeit war es nun, beim In-vitro-Versuch den In-vivo-Bedingungen bei der Blaseninstillation möglichst nahezukommen. In unseren Experimenten wurden deshalb die Blasenkrebszellen nur über 2 Stunden mit dem Mistelextrakt behandelt, aber in deutlich höheren Konzentrationen als bei den bisherigen Versuchen. Im Sinne einer Dosisfindung wurde der Mistelextrakt in Konzentrationen von 2, 4, 8 und 16 mg/ml eingesetzt – Dosierungen, die auch klinisch im Rahmen einer Instillationstherapie erreichbar sind. Um sicher zu sein, dass die erwähnten Ergebnisse nicht auf Besonderheiten der von Zuzak et al. verwendeten VM-CUB1-Zelllinie beruhen, wurden weitere vier Blasenkrebszelllinien mituntersucht: TCC-SUP, T-24, J82 und UM-UC-3. Nach der zweistündigen Behandlung blieben die Zellen bis zu 6 Tagen weiter im Inkubator und wurden beobachtet. In diesen 6 Tagen wurde abgeklärt, ob eine nachhaltige Wirkung auf die Tumorzellen stattfindet, da diese im Hinblick auf die klinische Relevanz wichtig ist. Die Blaseninstillation wird zur Rezidivprophylaxe üblicherweise nur ein- bis zweimal wöchentlich durchgeführt, weshalb eine prolongierte Wirkung notwendig

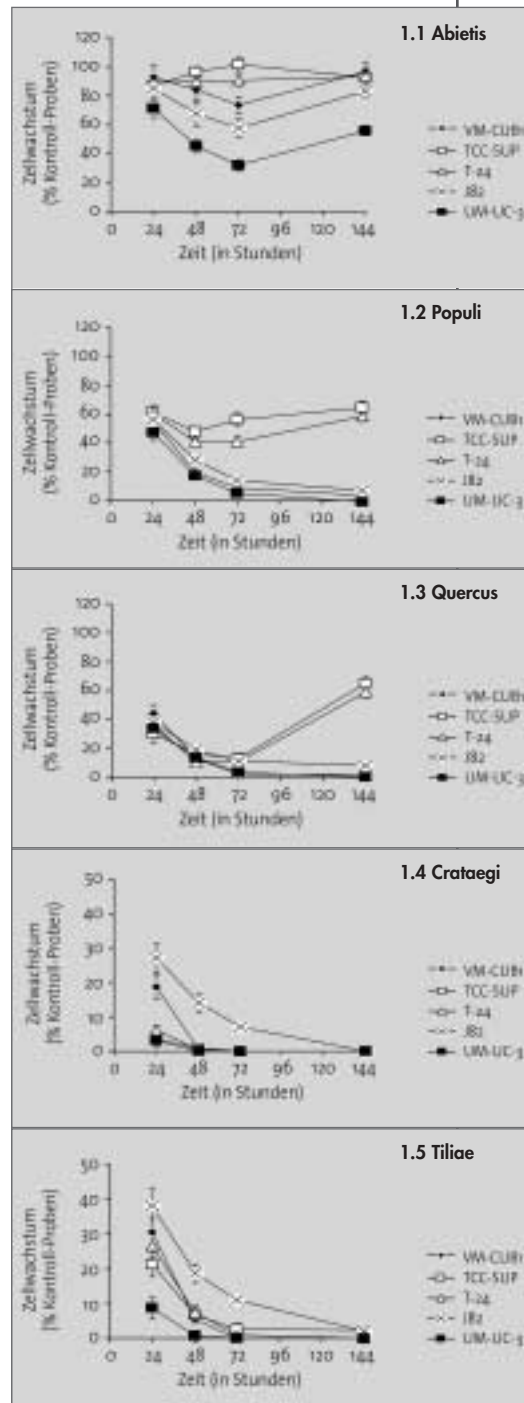


Abbildung 1: Nachhaltigkeit der Wirkung von Iscucin®-Präparaten auf das Zellwachstum einer Palette von Blasenkrebszelllinien. Die Effekte der Präparate Iscucin® Abietis, Populi, Crataegi, Quercus und Tiliae wurden auf das Wachstum der Blasenkarzinomzelllinien VM-CUB1, TCC-SUP, T-24, J82 und UM-UC-3 untersucht (n = 3, 16-fach-Bestimmungen pro Experiment). Die Zellen wurden während 2 Stunden mit einer Mistelextraktkonzentration von 8 mg/ml behandelt. Nach der Entfernung der Überstände wurde das Kulturmedium durch frisches Medium ersetzt. Die MTT-Tests wurden nach 24, 48, 72 und 144 Stunden durchgeführt. Beim Vergleich bitte die teilweise verschiedenen y-Achsen berücksichtigen.

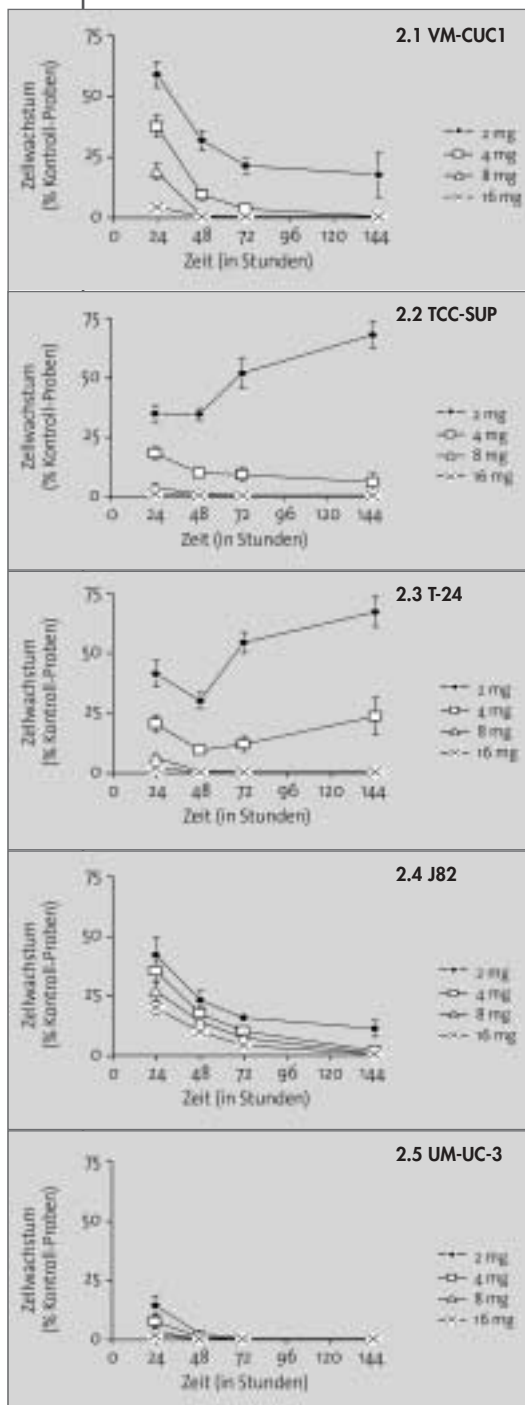


Abbildung 2:

Nachhaltigkeit der Wirkung von verschiedenen Konzentrationen von Iscucin® Crataegi auf das Zellwachstum unterschiedlicher Blasenkrebszelllinien. Die Effekte von 2, 4, 8 und 16 mg/ml Iscucin® Crataegi wurden auf das Wachstum der Blasenkarzinomzelllinien VM-CUB1 (2.1), TCC-SUP (2.2), T-24 (2.3), J82 (2.4) and UM-UC-3 (2.5) untersucht (n = 3, 16-fach Bestimmungen pro Experiment). Die Zellen wurden während 2 Stunden mit den unterschiedlichen Konzentrationen von Iscucin® Crataegi behandelt. Nach der Entfernung der Überstände wurde das Kulturmedium durch frisches Medium ersetzt. Die MTT-Tests wurden nach 24, 48, 72 und 144 Stunden durchgeführt.

ist. Die Ergebnisse wurden mithilfe des MTT-Zellwachstums-Tests gewonnen.

Aus praktischen Gründen haben wir die Anzahl der Präparate reduziert. Ausgewählt wurden die 3 Extrakte, die im Vorversuch von Zuzak et al. (2004) am stärksten das Zellwachstum der VM-CUB1 gehemmt hatten (Crataegi, Quercus und Tiliae) sowie 1 Präparat mit sehr schwacher Wirkung (Abietis) und 1 mit mittlerer Wirkung (Populi). Der Lektin Gehalt der verwendeten Chargen wurde mittels ELISA bestimmt (Tabelle 1).

Es stellte sich heraus, dass die 2-stündige Behandlung, die mit höheren, aber klinisch durchaus erreichbaren Konzentrationen durchgeführt wurde, je nach Präparat und Zelllinie eine gute Wirksamkeit zeigte. Die Abbildung 1 zeigt den Effekt einer Mistelextraktkonzentration von 8 mg/ml. In Abbildung 1.1 sind die Daten betreffend Iscucin® Abietis dargestellt. Während die TCC-SUP- und T-24-Zelllinien kaum ansprachen, konnte eine wachstumshemmende Wirkung bei den anderen Zelllinien festgestellt werden. Dieser Effekt nahm während der ersten 72 Stunden zu, verminderte sich aber nachher wieder. Im Gegensatz dazu konnte Iscucin® Populi (Abbildung 1.2) das Wachstum von VM-CUB1, J82 und UM-UC-3 nachhaltig hemmen, aber nicht dasjenige von TCC-SUP und T-24. Ein sehr ähnliches Muster war nach Behandlung mit Iscucin® Quercus (Abbildung 1.3) zu beobachten. Diese zwei letzten Zelllinien schienen sich nach einem ersten, bis 72 Stunden dauernden und ebenso ausgeprägten Effekt wie bei den anderen drei Zelllinien zu erholen. Im Fall von Iscucin® Crataegi (Abbildung 1.4) und auch von Iscucin® Tiliae (Abbildung 1.5) konnte ein starker und bis 6 Tage anhaltender Effekt bei allen Zelllinien festgestellt werden. Vergleicht man diese zwei sehr wirksamen Iscucin®-Präparate miteinander, so fällt wie im Vorversuch von Zuzak et al. (2004) der ausgeprägtere Effekt von Iscucin® Crataegi auf. Da Iscucin® Crataegi, wie aus der Tabelle ersichtlich, nicht der lektinreichste Extrakt ist, kann die zellwachstumshemmende Wirkung der Iscucin®-Präparate nicht allein auf den Lektin Gehalt zurückgeführt werden. Iscucin® Crataegi und Tiliae verringerten das Wachstum jeder Zelllinie sogar bei einer niedrigeren Mistelextraktkonzentration (4 mg/ml), wobei aber das Ausmass der Hemmung vermindert war. Mit einer höheren Konzentration (16 mg/ml) zeigten sich noch schnell-

er hemmende Effekte auf das Zellwachstum als mit 8 mg/ml. Abbildung 2 stellt die Effekte verschiedener Konzentrationen über die Zeit exemplarisch für Iscucin® Crataegi dar.

Die hier dargestellten Ergebnisse rechtfertigen entsprechende klinische Studien zum Einsatz von Iscucin® Crataegi als Instillation zur Rezidivprophylaxe des Blasenkarzinoms.

## Ausblick

Iscucin® Crataegi und Iscucin® Tiliae stellen interessante Optionen für die Instillationsbehandlung von oberflächlichem Blasenkrebs dar. Besondere Beachtung verdient unseres Erachtens die Tatsache, dass Iscucin® Crataegi die besten Effekte zeigt, obwohl es keineswegs den höchsten Lektin Gehalt der untersuchten Mistelzubereitungen aufweist.

Durchgeführte In-vitro-Experimente ergaben, dass in der Regel einige der Präparate nur auf bestimmte Zelllinien Effekte ausüben (2). Die Tatsache, dass bezüglich der untersuchten Blasenkrebszelllinien immer die gleichen Iscucin®-Präparate die stärksten Effekte zeigen, ist daher besonders bemerkenswert.

Während zytotoxische Wirkungen in vitro gegenüber den Tumorzellen im Körper des Patienten eher vergleichbar sein dürften, kann man die Wirkungen auf das Immunsystem des Patienten nicht in unserem In-vitro-Modell simulieren. Darüber hinaus sind selbstverständlich die Anregung der Selbstregulation, des Wärmeorganismus und die Wirkung auf die Befindlichkeit des Patienten, wie sie von vielen anthroposophischen Ärzten wahrgenommen werden, in solchen experimentellen Versuchen nicht erfassbar.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass eine 2-stündige Behandlung von Blasenkarzinomzelllinien ab 8 mg/ml Iscucin® Crataegi oder Iscucin® Tiliae zu einem mindestens 6 Tage anhaltenden hemmenden Effekt auf das Wachstum verschiedener Blasenkarzinomzellen führt. Die klinische Relevanz der vorliegenden Ergebnisse bedarf der Überprüfung. Es ist möglich, die Bedingungen des In-vitro-Versuchs von 2 Stunden Inkubation mit einer Mistelextraktkonzentration von 8 mg/ml auf die Blaseninstillation zu übertragen. ■

**Dr. Tycho J. Zuzak**  
**Dr. Lukas Rist**  
**Dr. A. Paula Simões-Wüst**  
Paracelsus Spital  
Bergstrasse 16  
8805 Richterswil

**Nicole Hunziker-Basler**  
**Dipl.-Ing. (FH) Jenny Eggenschwiler**  
**Prof. Dr. Angelika Viviani**  
Hochschule Wädenswil  
Gruental  
8820 Wädenswil

**Dr. Ulrich Meyer**  
WALA Heilmittel GmbH  
Dorfstrasse 1  
D-73087 Bad Boll/Eckwälden

## Literatur:

1. Elsässer-Beile U, Leiber C, Wetterauer U, Buhler P, Wolf P, Lucht M & Mengs U. Adjuvant intravesical treatment with a standardized mistletoe extract to prevent recurrence of superficial urinary bladder cancer. *Anticancer Res* 2005; 25: 4733–4736.
2. Knopfl-Sidler F, Viviani A, Rist L & Hensel A. Human cancer cells exhibit in vitro individual receptiveness towards different mistletoe extracts. *Pharmazie* 2005; 60: 448–454.
3. Köller K. Mein Weg zur Anthroposophie und als Arzt. *Beiträge zu einer Erweiterung der Heilkunst* 1969; 22: 188–193.
4. Martini I. Anwendungsbeobachtung mit Iscucin-Quercus bei ehemals i.v.-Drogenabhängigen mit chronischer Hepatitis C des Genotyp 1 in SYNANON Schmerwitz. *Der Merkurstab* 1999 (52); Sonderheft Hepatitis: 42–53.
5. Musielski H, Ruger K. Verfahren zur Erfassung von Mistellektinen in Mistelextrakten und Mistellektin-spezifischen Immunglobulinen. *Deutsches Patent* 1996; DP 4424275.1.
6. Schaefermeyer H. Zur Therapie des Blasenkarzinoms. *Der Merkurstab* 1996; (49)3: 229–233.
7. Simon L (2001) Substanzen und Heilprozesse zur konstitutionsgemässen anthroposophischen Therapie der chronischen Polyarthritiden. *Der Merkurstab* 2001; (54) Sonderheft 3 Rheumatologie: 32–59.
8. Steiner R. *Physiologisch-Therapeutisches auf Grundlage der Geisteswissenschaft – Zur Therapie und Hygiene*. GA 286. Dornach: Rudolf Steiner Verlag, 1965.
9. Urech K, Buessing A, Thalmann G, Schaefermeyer H, Heusser P. Antiproliferative effects of mistletoe (*Viscum album* L.) extract in urinary bladder carcinoma cell lines. *Anticancer Research* 2006; 26: 3049–3055.
10. Zuzak T, Rist L, Viviani A, Eggenschwiler J, Mol C, Riegert U, Meyer U. Das Mistelpräparat Iscucin – Herstellung, Analytik, Wirkung in vitro. *Der Merkurstab* 2004; (57) 6: 467–473.
11. Zuzak TJ, Rist L, Eggenschwiler J, Grotzer MA, Viviani A. Paediatric medulloblastoma cells are susceptible to *Viscum album* (mistletoe) preparations. *Anticancer Research* 2006; 26: 3485–3492.