

# Kann die Aktivierung der, das Muster erkennenden Rezeptoren, die durch synergisches Einwirken pflanzlicher Immunomodulatoren hervorgerufen wird, die Wirkung der onkologischen Behandlung verbessern? Fallstudie an Patientin mit Gebärmutter- und Eierstocksarkom.

Tibor Hajto<sup>1\*</sup>, Lilla Baranyai<sup>1</sup>, Angelika Kirsch<sup>2</sup>, Monika Kuzma<sup>1</sup> und Pal Perjési<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für pharmazeutische Chemie, Medizinische Universität in Pécs, Ungarn

<sup>2</sup>Medical Office, Paradiestrasse 14, CH-4102 Binningen, Schweiz

## Abstrakt

**Hintergrund:** Es steigt die Anzahl der Beweise zugunsten der Hypothese, dass ähnlich wie Mikroben auch verschiedene Pflanzenextrakte Strukturen enthalten, die ähnlich Pathogen-assoziierten molekularen Mustern (engl. PAMP-like structures) sind und die Zellenfunktion der angeborenen Immunität Typ 1 aktivieren können. Pflanzenextrakte mit standardisiertem Gehalt PAMP ähnlicher Strukturen können angesichts der Wichtigkeit dieser Strukturen in der Tumorbewehrung und der Tatsache, dass eine synthetische Produktion der PAMP-Strukturen schwer erreichbar ist, ein Versprechen für künftige Krebsbehandlung sein.

**Methode:** Die synergetische Wirkung zweier standardisierter, pflanzlicher Immunomodulatoren wurde mittels hämacytologischer Messung des NK-Zellen-Spiegels im Peripherblut verfolgt. An gesunden Freiwilligen wurde die Einwirkung suboptimaler Mengen Mistellektin (LI) und Arabinoxylan aus dem Mittel MGN-3 verglichen.

**Ergebnisse:** 24 Stunden nach Reichen einer einzigen suboptimalen Dosis (15 mg/kg) Arabinoxylan MGN-3 wurde ein durchschnittliches Wachstum (+/- SEM) des NK-Zellen-Spiegels auf das Niveau 46,4 (+/-36) % ermittelt; 24 Stunden nach Reichen einer einzigen suboptimalen (0,45 ng/kg) Injektionsdosis LI wurde ein durchschnittlicher Anstieg 36 (-/-13) % ermittelt. Bei Kombination der suboptimalen Dosen von Arabinoxylan und LI wurde eine markante Erhöhung (293 +/-41 %) beobachtet, das deutet auf einen bedeutenden synergischen Effekt der gleichzeitigen Einwirkung beider Mittel hin ( $p < 0.001$ ). Einer Patientin mit Gebärmutter- und Eierstocksarkom, die keine Chemotherapie im Protokoll CYVADIC tolerieren konnte, wurden nach vorheriger Behandlung mit suboptimalen Dosen LI und Arabinoxylan (0,75 ng/kg und 45 mg/kg) sechs Zyklen des Protokolls CYVADIC mit anschließender Absolvierung einer ausschließlich immunotherapeutischer Behandlung verordnet. Die Patientin ist schon das fünfte Jahr ohne Tumor.

**Abschluss:** Die Kombination von Pflanzenextrakten mit standardisiertem Strukturinhalt ähnlich PAMP öffnet aller Wahrscheinlichkeit nach neue Perspektiven der unterstützenden Behandlung metastasierender Tumore. Weitere Erforschung ist erforderlich.

## Einleitung

Die konventionelle Behandlung bösartiger Tumore im fortgeschrittenen Stadium wird in vielen Fällen wegen der starken Nebenwirkungen sehr schlecht vertragen. Die Patienten sind sehr oft in einem sehr schlechten Zustand, der ihnen nicht das Fortschreiten in der Behandlung zulässt und ihre Krankheitsprognose verschlechtert. Mehrere Autoren [1,2] verweisen darauf, dass bei einer Intoleranz der onkologischen Behandlung auch die behavioristische Implikation der Tumorkrankheit (wie Müdigkeit, Depression, Schmerzen und kognitive Probleme) eine große Rolle spielen kann. Eine steigende Menge Beweise zeugt davon, dass behavioristische Symptome bei onkologischen Patienten häufig mit einer verringerten Zellimmunitätsreaktion der angeborenen Immunität infolge erhöhter Aktivität der regulierenden T-Lymphozyten verbunden sind [1]. In diesem Zusammenhang ist es deshalb interessant, auf die schon erwähnte Fallstudie [3] mit sechs Patienten mit Sarkom zu verweisen, die nach Immunomodulationstherapie mit Pflanzenextrakten mit standardisiertem Mistellektin Gehalt (LI) beachtenswerte eine Remission erreichten. Wie schon früher [4,5] aufgeführt, ist LI ein Extrakt aus Blättern und Stängeln, dessen Moleküle eine ähnliche Struktur wie Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMP) haben und so erkannt und an zugehörige PRR-Rezeptoren (Ganglioside mit terminalen Resten Neu5Ac alfa 2-6Gal beta 1-4 GlcNAc) an der Membrane phagozytiosierender Zellen des Typs 1 (wie M1-Makrophagen oder dendritische Zellen mit Molekülen CD1a) gebunden werden können. Wie bekannt ist, ruft die Interaktion von PAMP-PRR (bei LI handelt es sich um die Interaktion von Lektin und Zucker) an der Membrane phagozytiosierender Zellen des Typs 1 die Bildung

entzündungshemmender Zytokine und IL-12 aktivierender zytotoxischer Effektorzellen wie NK-Zellen und NKT-Zellen hervor, die wirksame Inhibitoren des Tumorstadiums sind [6-11]. Da NK-Zellen normal im Peripherieblut anwesend sind, sind sie sehr gut für die Verfolgung des Aktivierungsniveaus der Zellkaskaden der angeborenen Immunität Typ 1 geeignet. Die nachfolgende Messung der NK-Zellenreaktion im Peripherieblut der Patienten erlaubt uns eine bessere Beurteilung der Wirksamkeit der Immunomodulatoren. Die Möglichkeit der Überwachung der Zellen der natürlichen Immunität des Typs 1 im Blut ruft die Frage hervor, ob die Kombination von LI mit einem weiteren Immunomodulator (mit PAMP ähnlicher Struktur) einen noch größeren Beitrag haben könnte. Deshalb bringen wir in dieser Studie mit gesunden Freiwilligen Informationen darüber, welche NK-Zellen-Reaktion nach einer einzigen Dosis Mistellektin (LI) und Arabinoxylan eintrat, die in Form standardisierter Pflanzenpräparate gegeben wurden. Die Studie ist um eine Fallstudie an Patientin mit Gebärmutter- und Eierstocksarkom ergänzt, die diese Kombination benutzte.

**Schreiben Sie:** Tibor Hajto, Institute of Pharmaceutical Chemistry, Medical University Pécs, Meggyes u. 26, H-2045 Törökbálint, Hungary, Tel.: +36 309 735 337; **E-Mail:** drhajto@t-online.hu

**Schlüsselworte:** Sarkom, Gebärmutter und Eierstöcke, Immunomodulation, Mistellektin, Arabinoxylan

**Angenommen:** 20. September 2015; **Akzeptiert:** 20. Oktober 2015; **Veröffentlicht:** 23. Oktober 2015;

**Autorenrecht:** ©2015 Hajto T. Dies ist ein frei zugänglicher Artikel, verbreitet nach Bedingungen der Lizenz Creative Commons Attribution License, die seine uneingeschränkte Benutzung, Verbreitung und Vervielfältigung mittels jeglicher Medien erlaubt, unter der Voraussetzung der Angabe des ursprünglichen Autors und der Quelle.

## Material und Methoden

### Extrakt aus Mistel, standardisiert auf Lektininhalt

*Iscador*<sup>R</sup> ist fermentierter Pflanzenauszug aus Mistel, produziert und geliefert von Weleda AG (CH-4144 Arlesheim, Schweiz). Der Inhalt aktiven (an Zucker gebundenen) Lektins in kommerziell erreichbaren Mistelauszügen (*Iscador*<sup>R</sup> M spec 5 mg) wurde im Forschungslabor des Katheders für pharmazeutische Chemie der Medizinischen Universität in Pécs gemessen.

Der Gehalt sich an Zucker bindenden Mistellektins (LI) in den Extrakten wurde, wie schon früher publiziert [4] wurde, durch optimierte Prüfung ELLA ermittelt. Der standardisierte Mistelextrakt wies eine Reaktion gegenüber der Dosis auf, wie das Diagramm in Form einer Glocke ausdrückt, dabei wurden als am effektivsten beim Testen, so wie bei den vorherigen Fällen an gesunden Freiwilligen, Dosen im Bereich 0,5-1,0 ng Lektion auf 1 kg Körpergewicht ausgewertet. Angesichts der Erkenntnis, dass es für den immunologisch optimalen Effekt erforderlich ist, immer zwei bis drei Tage ohne Therapie zu belassen, wurde der Mistelextrakt mit Injektion subkutan regelmäßig zweimal wöchentlich gegeben.

### Standardisierter Auszug aus Reiskleie (*BioBran/MGN-3*)

Zweites Immunomodulationsmittel, das im Rahmen dieser kombinierten Behandlung an der Patientengruppe angewendet wurde, ist das Mittel *BioBran/MGN-3*, hergestellt und geliefert von der Firma Daiwa Pharmaceutical Co, Ltd, Tokio, Japan. *BioBran/MGN-3* enthält denaturierte Hemizellulose, die durch Reaktion der Hemizellulose aus Reiskleie mit mehreren aus dem Pilz Shiitake gewonnenen hydrolysierenden Enzymen gewonnen wird. *BioBran/MGN-3* ist auf den Inhalt seiner chemischen Hauptbestandteile: Arabinoxylan mit Xylose (in der Hauptkette) mit arabinösem Polymer (in der Nebenkette) standardisiert. Der Patientengruppe wurde das Mittel in Dosen zwischen 12 bis 45 mg/kg zweimal wöchentlich parallel mit der optimierten Lektindosis des Mistelauszugs gegeben.

### Überprüfen des NK-Zellen-Niveaus in der Gruppe der sechs gesunden Freiwilligen

Mit üblicher, in der Hämatologie angewendeter, zytologischer Methode wurde die Frequenz der großen granulären Lymphozyten ermittelt [12]. Wie schon gesagt, sind die meisten dieser Zelltypen NK-Zellen, wobei ihre Menge im Peripherblut gut mit ihrer zytotoxischen Aktivität korreliert [12]. Getestet wurden sechs Freiwillige (Frauen mit Durchschnittsalter 24,6 Jahre) ununterbrochen drei Wochen und zwar nach Verabreichen einer Injektionsdosis Mistelextrakt, nach einer Dosis MGN-3 und zu Letzt nach kombinierter Applikation beider Mittel. Die Differenz in der relativen Verbesserung wurde durch Studentsche T-Verteilung und Wilcoxon, Mann, Whitney U-Test mithilfe des statistischen Programmpakets Statgraphics für IBM kompatible Rechner analysiert.

### Ethischer Ausschuss

Der ethische Ausschuss empfahl die Fallberichte von Patienten, die mit standardisierten Pflanzenextrakten behandelt wurden, zu beobachten und zu publizieren. Dieser Fallbericht kann nach Ansicht des ethischen Ausschusses, ebenso wie der vorherige, das Interesse weiterer Forschungsgruppen stimulieren. Die Patientin gab ihre informierte Einwilligung zur Verarbeitung und Publizierung ihrer Angaben. Sie wurde informiert, dass Pflanzenextrakte als ergänzende Behandlung angesehen werden und kein Ersatz der konventionellen onkologischen Behandlung sind. Die Patientin wurde regelmäßig im onkologischen Zentrum beobachtet und gleichzeitig mit pflanzlichen Immunomodulatoren behandelt und beobachtet.

## Ergebnisse

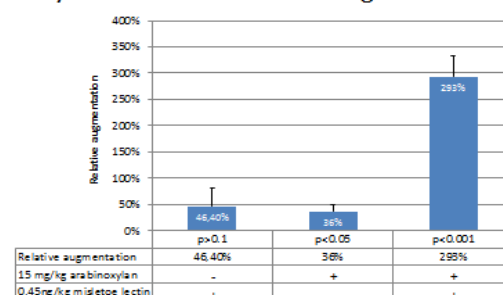
Da vorangegangene Studien, die auf das Wirken von Pflanzenlektin aus Mistel (LI) allein und in Kombination mit konventioneller, onkologischer Behandlung gerichtet waren, hervorragende klinische Ergebnisse zeigten [3], entstand die Frage, ob die Immunomodulationswirkung bei der Kombination dieses Präparats mit verschiedenen anderen Strukturen pflanzlichen Ursprungs, die PAMP ähnlich sind, noch intensiver wird. Aus diesem Grund überprüften wir

den NK-Zellen-Spiegel im Peripherblut bei sechs Freiwilligen nach Applikation von IL und Arabinoxylan. Wie die Zahlen auf Abb. 1 zeigen, wurde ein außerordentlicher synergischer Effekt beobachtet. 24 Stunden nach Reichen einer einzigen suboptimalen Dosis (15 mg/kg) Arabinoxylan MGN-3 wurde ein durchschnittliches Wachstum (+/- SEM) des NK-Zellen-Spiegels auf das Niveau 46,4 (+/-36) % ermittelt; 24 Stunden nach Reichen einer einzigen suboptimalen (0,45 ng/kg) Injektionsdosis LI wurde ein durchschnittlicher Anstieg 36 (-/-13) % ermittelt. Bei Kombination der suboptimalen Dosen Arabinoxylan und IL wurde eine außerordentlich markante Erhöhung (293 +/-41 %) beobachtet. Das deutet auf einen bedeutenden synergischen Effekt der gleichzeitigen Einwirkung beider Mittel hin ( $p < 0.001$ ).

In diesem Artikel bringen wir die Fallstudie einer gegenwärtig 33-jährigen Patientin, die vor fünf Jahren zu den ersten Patientinnen gehörte, die einer regelmäßigen Behandlung mit Kombination der optimalen Dosis IL (0,75 ng/kg) und optimalen Dosis Arabinoxylan (45 mg/kg) zweimal wöchentlich unterzogen wurde. Im November 2010 wurde der Patientin erstmals ein Sarkom des linken Eierstocks diagnostiziert und anschließend chirurgisch entfernt. Drei Wochen später wurde bei CT-Untersuchung und Biopsie ein Sarkom des Endometriums mit Abmessungen 52 x 36 mm mit Metastase im rechten Eierstock entdeckt. Es erfolgte ein zweiter Eingriff (Hysterektomie und Adnexektomie). Die histologische Diagnose bestätigte ein undifferenziertes endometriales Sarkom mit Metastase im Eierstock. Der Ca 125 Tumormarker betrug 114,8.

Vier Wochen nach dem zweiten chirurgischen Eingriff wurde mit der Chemotherapie CYVADIC (Cyclophosphamid, Vincristin, Adriamycin und Dakarbazin) begonnen. Die Patientin hatte aber sehr schwere Nebenwirkungen und deshalb konnte der dritte Zyklus CYVADIC erst nach acht Monaten erfolgen. Die Lebensqualität war sehr schlecht. Die Patientin war völlig erschöpft. Regelmäßig stand sie am Rande eines Kollaps. Parallel mit dem dritten Zyklus (Juli 2011) wurde mit der Immunomodulationstherapie mit 0,75 ng/kg Lektin und 45 mg/kg Arabinoxylan zweimal wöchentlich begonnen. Ab Beginn der Immunotherapie wurde bei der Patientin eine schnelle Verbesserung der Lebensqualität beobachtet. Sie war in der Lage, weitere drei Zyklen CYVADIC zu ertragen und vertrug jeden weiteren immer besser. Aktuell (nach fünf Jahren) wird sie weiterhin regelmäßig mittels CT-Untersuchung beobachtet und ist ohne Tumor (Abb. 2B). Der Ca 125 Marker befindet sich regelmäßig im Normal (zwischen 6 und 8). Die Lebensqualität ist ausgezeichnet.

### Synergic Effect of Mistletoe Lectin and Arabinoxylan on Level of Circulating NK Cells

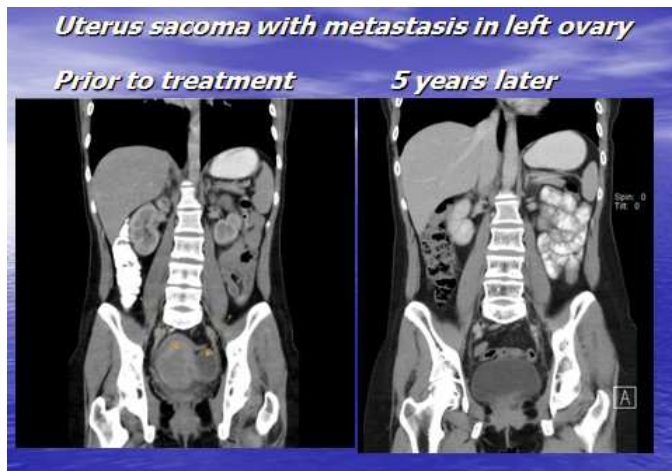


**Abb. 1. Synergischer Effekt des Mistellektins und Arabinoxylans auf den NK-Zellen-Spiegel.** Legende: Relative augmentation = Relative Verbesserung

Der NK-Zellen-Spiegel wurde mit üblicher, in der Hämatologie angewendeter zytologischer Methode bestimmt [12]. 24 Stunden nach Reichen einer einzigen suboptimalen Dosis (15 mg/kg) Arabinoxylan MGN-3 wurde ein durchschnittliches Wachstum (+/- SEM) des NK-Zellen-Spiegels auf das Niveau 46,4 (+/-36) % ermittelt; 24 Stunden nach Reichen einer einzigen suboptimalen (0,45 ng/kg) Injektionsdosis LI wurde ein durchschnittlicher Anstieg 36 (-/-13) % ermittelt. Bei Kombination der suboptimalen Dosen Arabinoxylan und IL wurde eine außerordentlich markante Erhöhung (293 +/-41 %) beobachtet. Das deutet auf einen bedeutenden synergischen Effekt der gleichzeitigen Einwirkung beider Mittel hin ( $p < 0.001$ ).

A.)

B.)



**Abb. 2. Gebärmutter Sarkom mit Metastasen im linken Eierstock. Vor der Behandlung und nach 5 Jahren.** Fallstudie einer Patientin mit Gebärmutter- und Eierstocksarkom, die einer Chemotherapie im Protokoll CYVADIC unterzogen wurde. Angesichts der starken Nebenwirkungen war die Chemotherapie nur in Kombination mit Immunomodulationstherapie mit Präparaten, die optimale Dosen Mistellektin und Arabinoxylan (75 ng/kg und 45 mg/kg) enthielten und zweimal wöchentlich appliziert wurden, möglich. Auf Abb. 2A sind die Tumore vor der chirurgischen Entfernung (mit kleinen Pfeilen markiert) und auf Abb. 2B ist das CT-Kontrollbild nach 5 Jahren. Die Patientin ist vollkommen ohne Tumor.

#### Diskussion

Nach Angaben großer onkologischer Zentren liegt das durchschnittliche Überlebensmaß von Patienten mit Weichteil-Sarkom, das im IV. Krankheitsstadium erkannt wird, nach fünf Jahren unter 20 % [13]. Die retrospektive Auswertung der Fälle eines metastasierenden Weichteil-Sarkoms nach Chemotherapie CYVADIC zeigte, dass das Reaktionsmaß 33 % beträgt und die durchschnittliche Überlebensdauer ohne Progressivität 7,4 Monate betrug [14]. Im Licht dieser Tatsache ist der Fall der Patientin mit Weichteil-Sarkom im fortgeschrittenen Stadium, über den dieser Artikel berichtet, wirklich überraschend. Die Kombination der Chemotherapie CYVADIC mit standardisierten, pflanzlichen Immunomodulatoren erlaubte der Patientin das Absolvieren des dritten, vierten, fünften und sechsten Zyklus. Nach der Chemotherapie erhielt sie nur noch Immunomodulationstherapie. Die andauernde, vollständige Remission über fünf Jahre ohne jede weitere onkologische Behandlung regt zur Hypothese an, dass die Kombination der Chemotherapie CYVADIC und verschiedener pflanzlicher Immunomodulatoren, die bei gleichzeitiger Einwirkung einen synergischen Effekt zeigen, die Prognose der Patienten mit Weichteil-Sarkom im fortgeschrittenen Stadium verbessern können.

Es ist schon allgemein bekannt, dass die immunokompetenten

Zellen der angeborenen Immunität in zwei verschiedenen Richtungen funktionieren: 1. Makrophage klassischen Phänotyps M1 und Dendritzellen mit Molekülen CD1a+ (DC1) generieren IL-12 und andere entzündungshemmende Zytokine, die zytotoxische Effektorzellen wie NK-Zellen aktivieren. Diese sind potentielle Inhibitoren des Tumorwachstums. 2. Makrophage des Phänotyps M2 und Dendritzellen DC2 generieren IL-4 und IL-10, welche die Bildung von Lymphozyten Th2 unterstützen und Lymphozyten Th1 unterdrücken. Diese können eine Entzündung hervorrufen und durch Produzieren von Wachstumsfaktoren die Zellproliferation und durch Initiierung des Arginasewegs die Neoangiogenese und Gewebereparatur unterstützen. Bei Patienten mit bösartigen Tumoren ist der Anteil des Phänotyps M2 in der Gesamtpopulation der Makrophagen höher als normal und ändert wahrscheinlich das Gleichgewicht der Immunitätsreaktionen [10]. Bei Gesunden sind Monozyten M2 nach Ermittlungen 10 % der Gesamtpopulation der Monozyten, bei Tumorkranken liegt ihr Anteil an der Gesamtpopulation um 40 % höher [6]. Schon viele Jahre wird der nützliche Einfluss einiger Bakterieninfektionen gegen die Progression von Tumorkrankheiten beobachtet. Es ist auch klar, dass bakterielle Moleküle mit Pathogen-assoziiertem molekularem Muster (PAMP) die Zellen der natürlichen Immunität Typs 1 durch Anbinden ihrer Membranen an die PRR-Rezeptoren stimulieren können. Obwohl der Einfluss auf Tumorkrankheiten erforscht wurden und wirklich eine große Menge bakterieller Präparate darüber verfügt, können sie wegen ihrer toxischen Nebenwirkungen nicht klinisch angewendet werden. Dabei könnte bei Endotoxinen eine Toleranz beobachtet werden. Aus diesem Grund erscheint die Hypothese interessant, dass Pflanzen ebenfalls Moleküle mit Strukturen ähnlich dem Pathogen-assoziierten molekularem Muster (aus dem engl. PAMP-like structures) enthalten können, die noch dazu ohne toxische Nebenwirkung sind. Pflanzliche Immunomodulatoren, die bei der Therapie von Patienten mit Sarkom appliziert werden, haben keine Nebenwirkungen und können nach Untersuchungen vorangegangener Studien mit jedem Typ der onkologischen Behandlung kombiniert werden [15].

Im Licht der Tatsache, dass die gleichzeitige Applikation von LI und Arabinoxylan außerordentlich synergisch wirkt, kann erwogen werden, dass die Kombination verschiedener pflanzlicher Immunomodulatoren, die auf Gehalt von Strukturen ähnlich PAMP standardisiert sind, neue Perspektiven in der Tumorbehandlung öffnen kann.

#### Danksage

Die Autoren danken H. Cornell van den Berghoven (für seinen Beitrag zur Unterstützung dieser Forschung).

#### Erklärung über die Konfliktfreiheit der Interessen

Die Autoren erklären, dass sie sich in Bezug auf diesen Artikel nicht in einem Konkurrenzkonflikt noch in einem anderen Interessenkonflikt befinden.