

Kommentar zu Gabius S, Gabius H-J (2004) Lektinbezogene Mistelanwendung: Experimentelle Therapieform mit präklinisch belegtem Risikopotential. *Der Onkologe* 3:254-259

Die Anwendung und Erforschung von Therapien schwerer Erkrankungen erfordert unbedingte Sorgfaltspflicht; dies gilt auch für entsprechende Publikationen. Da der Artikel von Gabius & Gabius solches vermissen läßt, seien zentrale Punkte kommentiert.

Seit H.J. Gabius 1992 versuchte, die lektinstandardisierte Misteltherapie für sich patentieren zu lassen (was abgewiesen wurde) [1], publizieren Gabius & Gabius serienweise gleichlautende Polemiken gegen die Misteltherapie und warnen vor Risiken. Die Grundlagen ihrer Warnungen, basierend auf Gabius' eigenen Beiträgen zu Mistelforschung und –therapie, sind folgende:

- 1) Der primär antitumoral wirksame Mistelbestandteil sei das Galaktosid-spezifische Mistellektin 1 (ML-1, auch *Viscum album* Agglutinin, VAA-I genannt); Mistelextrakte seien deshalb auf ML-1 zu standardisieren.
- 2) Die optimale ML-1-Dosierung sei 1 ng/kgKG.
- 3) Die Zytokininduktion durch ML-1 ergebe ein theoretisches Risikopotential (Tumorenancement).
- 4) Dieses Risikopotential habe sich in vitro und in vivo bestätigen lassen.

Ad 1) Gabius' Proklamation des ML-1 als entscheidendem Mistel-Wirkstoff ging zum einen davon aus, daß antitumorale Mistelwirkungen primär auf Immunmodulation basieren und daß Wechselwirkungen zwischen Lektinen und anderen Mistelinhaltsstoffen „nicht wahrscheinlich“ seien; zum anderen begründete er sie mit 3 eigenen Experimenten: (1.) Vier Probanden zeigten nach Injektion von lektinhaltigem oder chromatographisch lektin-depletiertem Mistelextrakt unterschiedliche Immunreaktionen. Prozedere und Methodik des Experiments wurde nicht dargelegt, es gab keine Abgrenzungen gegenüber Spontanschwankungen und keinen Vergleich mit natürlicherweise fast ML-1-freiem Iscador P. (2.) Drei Kaninchen erhielten intravenös ML-1, 14 Mammakarzinompatienten erhielten Iscador M per infusionem; die zeitlichen Reaktionsprofile von Kaninchen und Patienten fielen bei 5 Immunparametern 2mal ähnlich und 3mal unterschiedlich aus; auch hierzu wurden keine methodischen Details publiziert. (3.) In vitro wurde beobachtet, daß anti-ML-1-Antikörper eine Freisetzung von IL-6, TNF- α und IL-1 β verhinderte. (Details und Literatur in [2]) Wegen erheblicher Mängel in Konzeption, Prozedere, Qualität und Beschreibung sind diese Experimente kein Beleg für Gabius' Aussage. [2] Mistellektine sind zwar biologisch aktiv (Zytotoxizität, Apoptoseinduktion, Zytokininduktion, Tumorwachstumshemmung im Tier [3]), aber gut belegt ist ebenfalls, daß auch andere Inhaltsstoffe der Mistelextrakte immunmodulatorisch, zytotoxisch oder im Tierversuch antitumoral wirksam sind (teils stärker als ML-1) und daß die Inhaltsstoffe interagieren. Außerdem zeigt das fast ML-1-freie Iscador P größere immunmodulatorische Wirkungen als lektinhaltige oder lektinstandardisierte Mistelextrakte. – Die Grundlage für Gabius' Forderung einer reinen ML-1-Standardisierung war also experimentell fragwürdig und ist mittlerweile widerlegt. (Übersicht in [3])

Ad 2) Daß ML-1 in der Dosierung von 1 ng/kgKG optimal wirksam sei, begründete Gabius mit folgenden zwei Untersuchungen: (1.) Bei 12 gesunden Kaninchen wurden, nach einmaliger intravenöser Applikation von ML-1 (getestet in drei Dosierungen: 0,5, 0,75 oder 1 ng/kgKG), verschiedene Immunparameter gemessen; unter allen drei Dosierungen gab es jeweils „stärkste“ Immunreaktionen. Ein Optimum war nicht ersichtlich und eigentlich auch nicht ermittelbar, da der untersuchte Dosisbereich extrem schmal war. (2.) Ein publiziertes Balkendiagramm, das nirgendwo erläutert ist, beschrieb bei 9 Menschen unter Mistelextraktgabe (angeblicher ML-1-Dosisbereich 0,4-3ng/kgKG) einen angeblich glockenförmigen LGL-Anstieg mit Maximum bei 1ng/kgKG. Zum

experimentellen Prozedere gab es wieder keine Information, weder in den zahlreichen Publikationen noch auf Nachfrage bei den Autoren. (Details und Literatur in [2])

Diese „Dosisfindung“ propagierte Gabius als „rational“. Nicht wenige Ärzte, Wissenschaftler und Hersteller folgten seiner Dosisempfehlung, was der Grund für die enttäuschenden Ergebnisse entsprechender klinischer Studien sein mag. Mittlerweile ist belegt, daß weit höhere Dosierungen der Mistellektine potenter sind. (Details und Übersicht in [2]) Die betreffende Literatur wird in Gabius-Publikationen ausgespart.

- Ad 3) Seit dem mißglückten Patentierungsversuch (1992) begannen die Warnungen vor der Gefahr eines potentiellen Tumorenancements durch ML-1 in der zuvor propagierten Niedrigdosierung, mit entsprechenden pauschalen Rückschlüssen für die Mistelbehandlung. Das Argument stützt sich auf zwei bekannte Tatsachen: (a.) Niedrigdosiertes ML-1 kann Zytokine induzieren. (b.) Zytokine wiederum können nicht nur Tumorchemmung, sondern auch -wachstum fördern. Folglich bestehe bei Mistelbehandlung die prinzipielle Gefahr eines Tumorenancements.

Tatsächlich kann ein und dasselbe Zytokin das Wachstum von Tumorzellen derselben Tumorentität hemmen, fördern oder unbeeinflusst lassen oder die Zellen abtöten. Zytokinwirkungen sind *in vitro* und *in vivo* kontextabhängig, sowohl hinsichtlich Tumorzellproliferation als auch sonstiger biologischer Funktionen. An allen biologischen Vorgängen ist eine Vielzahl von Zytokinen beteiligt: wechselwirkend, pleiotrop und hochgradig redundant; sie induzieren und hemmen sich gegenseitig und modifizieren wechselseitig ihre Wirkung bis zum Gegenteil. Deshalb sind Schlußfolgerungen aus dem eventuellen Vorkommnis bestimmter Zytokine hochgradig spekulativ. Dazu kommt, daß auch alltäglichste Dinge und trivialste physiologische Vorgänge (z.B. das Essen eines Schokoladriegels oder körperliche Bewegung) zur Induktion von Zytokinen führen und direkt oder indirekt Immunzellen mobilisieren. – Wer also, wegen (eventueller [4, 5]) Zytokin-induzierender Wirkung, vor potentieller Tumorstimulation durch ML-1 oder Mistelextrakten warnt, müßte konsequenterweise auch vor überhaupt allen organischen Prozessen und menschlichen Aktivitäten warnen. (Details und Übersicht in [3])

- Ad 4) Nachdem der spekulative und unspezifische Charakter der Gabius'schen Gefahrendiskussion wiederholt kritisiert worden war, publizierte Gabius drei angebliche experimentelle Beweise für Tumorstimulation durch niedrig dosiertes ML-1 (keine therapeutisch verwendeten Mistelextrakte !):
- (1.) Tumorzelllinien oder Gewebekulturen wurden mit ML-1- inkubiert [6]. Meist gab es eindeutige dosisabhängige Hemmungen des Zellwachstums, und in wenigen Fällen, meist nur kurzfristig und ohne klare Dosis- oder Zeitabhängigkeit, eine schwache Steigerung des Wachstums.[6] Letzteres interpretierte Gabius als Tumorstimulation, andere Wissenschaftler dagegen sahen darin Qualitätsmängel der experimentellen Durchführung und Meßfehler (Details und Übersicht in [2]). (So oszillierte z.B. die Zahl der ML-1-inkubierten Zellen, während die Zahl der Kontrollzellen konstant zunahm; biometrisch unsinnig waren auch die Signifikanzberechnungen mit generell fixiertem Signifikanzniveau für verschiedenste Zelllinien und Untersuchungsansätze.) – Eine unabhängige Überprüfung konnte Gabius' Ergebnisse nicht bestätigen: In keinem Fall fand sich eine Stimulation der Tumorzellen durch Mistelextrakte; in höherer Dosierung hingegen eine Wachstumshemmung.[7, 8] Auch diese Ergebnisse finden bei Gabius keine Erwähnung.
- (2.) In einem weiteren Experimentalansatz induzierten Gabius und Kollegen in hunderten von Ratten Blasen Tumoren mittels intravesikaler Instillation von Karzinogenen (*N*-methyl-*N*-nitrosurea) oder durch orale Gabe von *N*-butyl-*N*-(4hydroxybutyl)-nitrosamin. Ein Teil der Tiere erhielt zusätzlich über mehrere Monate ML-1 subkutan (1 ng/kgKG). ML-1-behandelte Tiere und Kontrolltiere zeigten keine Unterschiede in Inzidenz, histopathologischem Spektrum, Wachstumsmuster und zellulären Malignitätsgraden der Tumoren und in der immunologischen Reaktion in Blasenwand und Tumoren. Allerdings waren die Tumoren der ML-1-Gruppe nach 15 Monaten signifikant größer. [9-11]

Eine genaue Betrachtung des Experiments legt Ergebnis-Artefakte bei zugleich fehlenden Effekten nahe: So waren, erstens, infolge der experimentellen Manipulation (intravesikale Instillationsprozeduren) schon ein Drittel [10] bis zur Hälfte [9] der Ratten vor Ablauf des Experiments gestorben; zweitens fehlten die für die angebliche Tumorstimulation verantwortlichen Immunveränderungen der Blasenwand oder irgendwelche andere Effekte völlig; in dem Experiment mit oraler Karzinogengabe waren zwar die Dropout-Raten weniger drastisch, es starben aber in der Kontrollgruppe immerhin 4mal so viele Ratten (8) wie unter ML-1-Behandlung (2) (im Trend traten unter ML-1 weniger Tumoren auf) [11]. Artefakt-anfällig waren die Experimente auch dadurch, daß nicht verblindet wurde, wahrscheinlich nicht einmal randomisiert; dies verwundert, da gerade Gabius immer auf die Unerläßlichkeit randomisierter und verblindeter klinischer Studien pocht, und da in Tierexperimenten die Randomisation und Verblindung einfach durchzuführen ist. Ein systematischer Beobachterfehler [12] ist deshalb nicht unwahrscheinlich, zumal Vorurteile schon vorab publiziert waren. Damit wurden die ML-1-behandelten Tiere auch anderen Manipulationen ausgesetzt als die Kontrolltiere, was allein schon eine Tumorstimulation bewirken kann [2, 13]. Ferner sind bei den etwa hundert Signifikanzberechnungen pro Experiment die Resultate ohne adäquates Korrekturverfahren ohnehin nicht von Zufallsergebnissen zu unterscheiden. (Details und Übersicht in [2]) – Im Gegensatz zu Gabius beschrieb eine Untersuchung an der Universität Freiburg bei weit höher dosierter und zudem lokaler (intravesikalen) ML-1-Therapie eine Hemmung der Karzinogenese (die ebenfalls induziert war durch intravesikale Applikation von *N*-methyl-*N*-nitrosourea). [14] Entsprechendes fand sich bei Mistelgesamtextrakten. (Details und Übersicht in [3])

(3) In einem dritten Experiment von Gabius und Ko-Autoren wurden hochmetastatische Adenokarzinomzellen in Mäuse subkutan injiziert, die dann mit ML-1, IL-2, ML-1 + IL-2 oder einer Lösungssubstanz behandelt wurden. Unter isolierter ML-1-Behandlung wurden im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikant höhere Werte für Tumorwachstum und Metastasierung angegeben, unter ML-1 + IL-2 hingegen niedrigere Werte. [15]

Bemerkenswert ist zunächst, daß eine „Stimulation“ nur unter alleiniger ML-1-Gabe erscheint, ML-1 in der Kombination mit IL-2 jedoch zu einer Hemmung des Tumorwachstums führte. Geht dieses Ergebnis tatsächlich über einen Meßfehler hinaus, so verweist es auf die Kontextabhängigkeit der Wirkungen. Insofern liefert das Ergebnis keine Aussage für Mistelgesamtextrakte, wo die Wirkung von ML-1 durch andere Bestandteile verändert wird. Überhaupt ist verwunderlich, daß kein Therapie-relevanter Mistelextrakt verwendet wurde, sondern isoliertes ML-1. Zudem war auch dieses Experiment nicht verblindet; es gab also auch hier keinen Schutz vor Beobachterfehlern (verursacht durch klare Vorurteile). In der sonst umfangreichen Publikation wurde die Behandlung der Kontrolltiere nicht beschrieben. Da experimentell vielfach belegt ist, daß fast alle Manipulationen, sogar schon allein die Injektion von physiologischer Kochsalzlösung oder das Zufügen von Schmerzen, die Metastasierung drastisch steigern können (Übersicht in [2, 13]), kann das Ergebnis durch solche Effekte erheblich verzerrt worden sein. Ferner wurde auch hier bei den Signifikanzberechnungen das Problem des multiplen Testens nicht berücksichtigt; mit adäquaten Korrekturverfahren wären die Ergebnisse nicht signifikant gewesen. (Details und Übersicht in [3])

Zusammenfassend gesehen lassen die Gabiusschen Beiträge und Thesen zur Misteltherapie die notwendige Sorgfaltspflicht vermissen, sowohl bei der experimentellen Durchführung als auch beim Propagieren vermeintlicher Effekte. Hinzu kommt eine extrem selektive Präsentation der „passenden“ Ergebnisse, während anderslautende Resultate verschwiegen werden. Auch die Behauptung, eine 2001 veröffentlichte EORTC/DKG-Studie habe „methodisch einwandfrei dokumentiert“, daß Mistelbehandlung bei lymphknotenpositiven Melanompatienten die Häufigkeit von Hirnmetastasen erhöht und die Zeit des krankheitsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens gesenkt habe [16], stimmt nicht mit den Fakten überein: Die angebliche Steigerung der Hirnmetastasen beruht auf einer nachträglichen Subgruppenanaly-

se (also nicht auf „methodisch einwandfreier Dokumentation“), mit großer Wahrscheinlichkeit liegt ihr ein *Detection-Bias* zugrunde [17], im übrigen wurde sie in der Endpublikation überhaupt nicht mehr erwähnt [18]; zudem waren die Überlebensunterschiede zwischen Mistel- und Kontrollgruppe nicht statistisch signifikant [18], liegen also im groben Zufallsbereich. Möglich ist, daß nach Berücksichtigung der prognostisch relevanten ungleichen Geschlechtsverteilung der (nicht signifikante) Unterschied des Überlebens gänzlich verschwunden wäre. Zwar wird in der betreffenden Publikation die Gefahr eines Tumorenhan- cement diskutiert – aber eben allein auf der Basis Gabiusscher Veröffentlichungen. So wird im Zir- kelschluß eine artifizielle Gefahrendiskussion induziert. (Zu den übrigen Argumenten s. [3] und [19])

Auch wenn es „nur“ um komplementärmedizinische Therapien geht, besteht die Pflicht zu wissen- schaftlicher und medizinischer Sorgfalt. Dies gilt sowohl für die Qualität der Experimente in Design und Durchführung, für deren vollständige und nachvollziehbare Beschreibung in der Publikation und auch für die Notwendigkeit des kritischen, systematischen, umfassenden Sichtens und Berücksichtigens der wissen- schaftlichen Datenlage. Dies mag im Falle der Misteltherapie beschwerlich sein, da es eine Vielzahl von Zellexperimenten sowie ca. 110 Tierversuche zur Frage antitumorale Wirkungen gibt, außerdem 95 pub- lizierte klinische Studien, darunter 25 prospektiv vergleichende Studien (18 randomisiert) und 39 nicht- vergleichende Kohortenstudien (davon 10 prospektiv) [3, 20-22]. Ein entsprechender Duktus von Wissen- schaftlichkeit fehlt in Gabius' Mistelartikel.

Dr. med. Gunver S. Kienle, Dr. med. Helmut Kiene
Institut für angewandte Erkenntnistheorie und medizinische Methodologie
Schauinslandstraße 6
D-79189 Bad Krozingen
Telefon: ++49-7633-806695
gunver.kienle@ifaemm.de

References

- [1] Gabius, H.-J. and Bardosi, A. (1992) Das biochemisch aufgereinigte Mistel-Lektin (ML-I) als therapeu- tisch anwendbarer Immunmodulator. P 4221836.5[DE 4221836 A1]. Deutschland.
- [2] Kienle GS, Kiene H (2003) Stellenwert, Dosierung und Gefährlichkeit (Tumorenhan- cement) des ML I - immunologische Schlußfolgerungen und experimentelle Untersuchungen. In: (Kienle GS, Kiene H) Die Mistel in der Onkologie. Fakten und konzeptionelle Grundlagen. Schattauer Verlag, Stuttgart, New Y- ork:301-332
- [3] Kienle GS, Kiene H (2003) Die Mistel in der Onkologie - Fakten und konzeptionelle Grundlagen. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York
- [4] Kovacs E, Kuehn JJ (2002) Measurements of IL-6, soluble IL-6 receptor and soluble gp130 in sera of B-cell lymphoma patients. Does *Viscum album* treatment affect these parameters? *Biomed & Pharma- cother* 56:152-158
- [5] Büssing A, Stein GM, Stumpf C, Schietzel M (1999) Release of Interleukin-6 in cultured B-chronic lymphocytic leukaemia cells is associated with both activation and cell death via apoptosis. *Anticancer Res* 19:3953-3960
- [6] Gabius H-J, Darro F, Remmelink M, Andre S, Kopitz J, Danguy A, Gabius S, Salmon I, Kiss R (2001) Evidence for stimulation of tumor proliferation in cell lines and histotypic cultures by clinically relevant low doses of the galactoside-binding mistletoe lectin, a component of proprietary extracts. *Cancer In- vestigation* 19:114-126

- [7] Burger AM, Mengs U, Kelter G, Schüler JB, Fiebig HH (2003) No evidence of stimulation of human tumor cell proliferation by a standardized aqueous mistletoe extract *in vitro*. *Anticancer Res* 23:3801-3806
- [8] Maier G, Fiebig HH (2002) Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extracts *in vitro*. *Anti-Cancer Drugs* 13:373-379
- [9] Kunze E, Schulz H, Ahrens H, Gabius H-J (1997) Lack of an antitumoral effect of immunomodulatory galactoside-specific mistletoe lectin on N-methyl-N-nitrosourea-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. *Exp Toxic Pathol* 49:167-180
- [10] Kunze E, Schulz H, Gabius H-J (1998) Inability of galactoside-specific mistletoe lectin to inhibit N-methyl-N-nitrosourea-induced tumor development in the urinary bladder of rats and to mediate a local cellular immune response after long-term administration. *J Cancer Res Clin Oncol* 124:73-87
- [11] Kunze E, Schulz H, Adamek M, Gabius H-J (2000) Long-term administration of galactoside-specific mistletoe lectin in an animal model: no protection against N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in rats and no induction of a relevant local cellular immune response. *J Cancer Res Clin Oncol* 126:125-138
- [12] Kienle GS, Kiene H (1997) The powerful placebo effect. Fact or fiction? *J Clin Epidemiol* 50:1311-1318
- [13] Kienle GS, Kiene H (2003) Das Janusgesicht konventioneller Tumorthapien: immunsuppressive Wirkungen und potentielles Tumorenancement. In: (Kienle GS, Kiene H) *Die Mistel in der Onkologie. Fakten und konzeptionelle Grundlagen*. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York:147-165
- [14] Elsässer-Beile U, Ruhnau T, Freudenberg M, Wetterauer U, Mengs U (2001) Antitumoral effect of recombinant mistletoe lectin on chemically induced urinary bladder carcinogenesis in a rat model. *Cancer* 91:998-1004
- [15] Timoshenko AV, Lan Y, Gabius H-J, Lala PK (2001) Immunotherapy of C3H/HeJ mammary adenocarcinoma with interleukin-2, mistletoe lectin or their combination. effects on tumour growth, capillary leakage and nitric oxide (NO) production. *Eur J Cancer* 37:1910-1920
- [16] Eggermont A, Kleeberg UR, Ruiter DJ, Suci S (2001) European Organization for Research and Treatment of Cancer Melanoma Group trial experience with more than 2,000 patients, evaluating adjuvant treatment with low or intermediate doses of interferon alpha-2b. In: (American Society of Clinical Oncology) *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD:88-93
- [17] Kiene H (2001) EORTC mistletoe study. *Lancet Oncol* 2:333
- [18] Kleeberg UR, Suci S, Bröcker EB, Ruiter DJ, Chartier C, Liénard D, Marsden J, Schadendorf D, Eggermont AMM (2004) Final results of the EORTC 18871/DKG 80-1 randomised phase III trial: rIFN- α 2b versus rIFN- γ versus Iscador M versus observation after surgery in melanoma patients with either high-risk primary (thickness >3mm) or regional lymph node metastasis. *Eur J Cancer* 40:390-402
- [19] Grossarth-Maticsek R, Kiene H, Baumgartner S, Ziegler R (2004) Richtigstellung seitens der Studienautoren (zum Beitrag von L. Edler: "Mistel in der Krebstherapie", *Deutsches Ärzteblatt* 2004; 101:A44-49). *Deutsches Ärzteblatt Im Druck*:
- [20] Kienle GS, Berrino F, Büssing A, Portalupi E, Rosenzweig S, Kiene H (2003) Mistletoe in cancer - a systematic review on controlled clinical trials. *Eur J Med Res* 8:109-119
- [21] Piao BK, Wang YX, Xie GR, Mansmann U, Matthes H, Beuth J, Lin HS (2004) Impact of complementary mistletoe extract treatment on quality of life in breast, ovarian and non-small cell lung cancer patients. A prospective randomized controlled clinical trial. *Anticancer Res* 24:303-309
- [22] Mabed M, El-Helw L, Sharma S (2004) Phase II study of viscum fraxini-2 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 90:65-69