

Granulozytenfunktions-Beeinflussung durch einen einmaligen perioperative Mistelextrakt-Infusion

A. Büssing¹, M Bischof², W. Hatzmann³, F. Bartzsch³, D. Soto-Vera⁴, E.-M. Fronk⁴, M. Gmeindl², M. Schietzel¹, G.M. Stein¹

¹ Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, Universität Witten/Herdecke

² Abteilung für Gynäkologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke

³ Abteilung für Gynäkologie, Marienhospital, Witten

⁴ Institut für klinische Forschung, Berlin

Korrespondenzadresse:

PD Dr. med. Arndt Büssing, Krebsforschung Herdecke, Abteilung für angewandte Immunologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, Gerhard-Kienle-Weg 4, 58313 Herdecke, ArBuess@yahoo.de

Zusammenfassung

In einer GCP-konformen, kontrollierten, prospektiven bizenrischen Phase II Studie mit 105 (bzw. 98 per protocol behandelten) Mammacarcinom-Patientinnen konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass eine einmalige perioperative intravenöse Applikation des fermentierten Mistelextraktes *Iscador M* spezial 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, um so das Risiko des Wachstums und der Metastasierung verbleibender oder bereits abgesiedelter Tumorzellen zu minimieren.

Schlüsselwörter

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

Summary

Influence of a perioperative intravenous application of a fermented mistletoe extract on granulocyte function. In this GCP-guided, prospective bi-centric 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 the fermented mistletoe extract *Iscador M* spezial 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.

Key words

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

Einführung

Es ist in der Literatur gut belegt, dass eine Narkose und Operations-assoziiertes Stress zu einer Hemmung des Immunsystems führen können (Lundy *et al.*, 1978; Lewis *et al.*, 1980; 1980; Lovett *et al.*, 1980; Costa *et al.*, 1989; Beilin *et al.*, 1992; Tashiro *et al.*, 1999; Ogawa *et al.*, 2000; Carter und Whelan, 2001; Melamed *et al.*, 2003; Elena *et al.*, 2003). Ogawa *et al.* (2000) wiesen darauf hin, dass der so ausgelöste Stress das Wachstum und die Metastasierung von residualen Krebszellen fördern könnten und dass es anzustreben sei, dieses Risiko zu minimieren.

In der gynäkologischen Abteilung des Gemeinschaftskrankenhauses Herdecke werden Mistelextrakte seit Jahren präoperativ intravenös verabreicht. Da Extrakte aus *Viscum album* L. *in vitro* sowohl zytotoxische als auch immunmodulierende und DNA-stabilisierende Wirkungen haben (Übersicht bei Büssing, 2000, 2002, 2003; Berg und Stein, 2001; Kienle und Kiene, 2003), war es naheliegend, der Frage nachzugehen, ob sich einige dieser Wirkungen auch in der klinischen Situation abbilden lassen.

Zur Infusion von Mistelextrakten liegen nur wenige Untersuchungen vor. Die ersten Tierversuche hierzu beschrieben nach intravenöser oder intraperitonealer Gabe eine Vergrößerung der Milz und eine verbesserte Kohlenstaub-Clearance durch Phagozyten (Zschesche, 1966; Bloksma *et al.*, 1982). Nach intravenöser Mistelextrakt-Applikation in BALB/c-Mäusen und vorheriger intravenöser Injektion immunogener B16 Melanom-Zellen kam es nach 3 Wochen zur Reduktion der Melanomzellen in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (Mengs *et al.*, 1998) und im Lungengewebe (Weber *et al.*, 1998). Da nach Applikation des Mistelextraktes auch die Zahl der Makrophagen in der Spülflüssigkeit und die Zahl der Thymozyten anstieg (Mengs *et al.*, 1998; Weber *et al.*, 1998), könnte vermutet werden, daß die Absiedelung der inokulierten Tumorzellen durch Mistelextrakt-aktivierte Immunzellen gehemmt wird.

Hajto (1986) beschrieb bei Patientinnen mit Brustkrebs 6 h nach intravenöser Gabe eines fermentierten Mistelextraktes (*Iscador*) eine Vermehrung juveniler Granulozyten sowie einen verstärkten Zymosan-induzierten oxidativen Burst der Granulozyten, aber auch eine kurzfristige Lymphozytopenie. Innerhalb von 24 h kam es zu einer verbesserten Lymphozytenproliferation *in vitro*, einer Vermehrung von natürlichen Killer (NK)-Zellen und zu einer Verbesserung der Antikörper-abhängigen Zell-vermittelten Zytotoxizität im peripheren Blut. Diese Reaktionen waren nach 48 h reversibel. Eine verbesserte Zahl und Aktivität der NK-Zellen wurde von Hajto *et al.* (1990) ebenfalls bei 14 Patientinnen mit Brustkrebs beobachtet, die mit einem intravenös applizierten Mistelextrakt behandelt wurden. Eine Vermehrung juveniler Monozyten und Granulozyten konnte auch durch die intravenöse Applikation hochdosierter wässriger Mistelextrakte (*Helixor*) innerhalb von 24 h nachgewiesen werden, ebenso ein signifikanter Anstieg des CD4/CD8-Quotienten, des Anteils Interleukin-2-Rezeptor-exprimierender T-Lymphozyten und eine passagere Umverteilung des Anteils CD28⁺ Zellen innerhalb des CD8⁺ Subsets (Büssing *et al.*, 1996). Eine Toxizität hochdosierter Mistelextrakt-infusionen (*Helixor*) konnte bei Tumorpatienten nicht nachgewiesen werden (Böcher *et al.* 1996). In einer dieser Untersuchungen vorangegangenen Therapieplanungs-Untersuchung unserer Arbeitsgruppe (Büssing *et al.*, unveröffentlicht) konnten wir für 10 Patientinnen mit *Carcinoma in situ* der Cervix uteri, die perioperativ einen Mistelextrakt (*Iscador*) intravenös verabreicht bekamen, zeigen, dass die Narkose-/Operations-induzierte Depression des oxidativen Burst neutrophiler Granulozyten (also ihre Fähigkeit, bereits phagozytierte Bakterien auch abzutöten) deutlich zu verbessern bzw. aufzuheben war. Gleichzeitig konnte die gehemmte Proliferationsfähigkeit von T-Lymphozyten auf einen mitogenen Reiz hin bei der Mehrzahl der Patienten aus der Behandlungs-Gruppe verbessert werden.

Es sollte daher erstmals in einer GCP-konformen, kontrollierten, offenen, prospektiven bizenitrischen Phase II Studie - und an einer größeren Fallzahl - die Wirksamkeit einer perioperativen intravenösen Applikation von *Iscador* M speziell hinsichtlich einer Modulation der Operations-induzierten Immunsuppression untersucht werden, also ob eine einmalige perioperative Mistelextrakt-Infusion tatsächlich einen günstigen Einfluss auf die Granulozytenfunktion von Tumorpatienten hat (Büssing *et al.*, 2003).

Material und Methoden

Patienten

Nach Genehmigung der Phase II-Studie durch die Ethikkommission der Universität Witten/Herdecke wurde von den in Frage kommenden 105 Patientinnen der Abteilung für Gynäkologie des Gemeinschaftskrankenhauses Herdecke (Behandlungs-Zentrum) und des Marienhospitals in Witten (Kontroll-Zentrum) die schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme eingeholt.

Eingeschlossen wurden nur geschäftsfähige Patientinnen zwischen 18 und 80 Jahren mit Verdacht auf Mamma-Carcinom, bei denen die Operationsindikation gegeben war und die folgende Kriterien aufwiesen: Karnofsky-Index ≥ 70 %, Lebenserwartung > 12 Wochen, Serum-Kreatinin $\leq 1,5$ mg %, Leukozyten $\leq 3.000/\text{ml}$, Thrombozyten $\leq 100.000/\text{ml}$. Von der Teilnahme an der Studie wurden Patientinnen ausgeschlossen, bei denen folgende Kriterien vorlagen: finaler Zustand, Gravidität oder Stillzeit, Teilnahme an einer Studie oder Anwendungsbeobachtung innerhalb der letzten 4 Wochen, weitere immunmodulierende Therapien, maligne Lymphome oder leukämische Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder anderen Erkrankungen des Immunsystems, schwere akute Infektionserkrankungen, schwere Begleiterkrankung, welche die Aussagekraft dieser Studie beeinträchtigen könnten, gleichzeitig durchgeführte Strahlen- oder Chemotherapie, persistierende Toxizität einer vorangegangenen Chemo- oder Strahlentherapie oder eine bekannte Disposition zu Eiweiß-Allergien.

Als Kriterien zum Abbruch der gesamten klinischen Prüfung wurde das Auftreten von Nebenwirkungen WHO-Grad IV bei mindestens 3 Patienten festgelegt bzw. für den Einzelfall das Auftreten vital bedrohlicher Erkrankungen während der Therapiephase, der Eintritt einer Schwangerschaft, das Absinken der Leukozyten < 1.200 Zellen/ μl und Thrombozyten < 80.000 Zellen/ μl sowie ein Anstieg der alkalischen Phosphatase > 350 mU/ml und des Kreatinins $> 2,5$ mU/dl. Dies war jedoch in keinem Fall notwendig.

Prüfmedikation

Im Herdecker Behandlungszentrum bekamen die Patientinnen zusätzlich zu der üblichen Medikation vor Operationsbeginn einen standardisierten Mistelextrakt (1 mg *Iscador M* spezial in Kochsalz- bzw. Ringerlösung, Laufzeit 0,5 - 1 h) infundiert.

Die Prüfmedikation wurde in Ampullen zu 5 mg Mistelextrakt von der Fa. Weleda Heilmittel, Schwäbisch Gmünd, zur Verfügung gestellt, von denen 1/5 des Volumens verwendet wurde. Der Mistlektin-Gehalt des Apfelbaummistel-Extraktes betrug 210-290 ng/ml (ML II-Referenz).

Prüfziele

Das primäre Prüfziel der Studie war die Funktion peripherer Granulozyten der Patientinnen, während hinsichtlich sekundärer Ziele das Blutbild (Erythrozyten, Hb, Hkt, Thrombozyten, Leukozyten, Neutrophile, Eosinophile, Monozyten, Lymphozyten), periphere Lymphozyten-Subsets (T-, B- und NK-Zellen, CD4⁺ T-Helfer-Zellen, CD8⁺ CD28⁻ bzw. CD28⁺ suppressorische und zytotoxische Zellen, CD25⁺ T-Zellen), die Zytokin-Freisetzung in den Überständen der Vollblutkulturen (IL-6, IL-8, RANTES nach Stimulation) sowie die Verträglichkeit der Behandlung von Interesse waren.

Methoden

Als Maß für die Granulozytenfunktion wurde der oxidative Burst der neutrophilen Granulozyten durchflußzytometrisch (EPICS XL-MCL, Coulter, Krefeld) analysiert. Hierzu wurde peripheres Vollblut von den Patienten entnommen und innerhalb von 2 h weiter verarbeitet. Wie bereits beschrieben (Stein *et al.*, 1999a,b), wurden die Zellen für 10 min. mit 1×10^7 *Escherichia coli* (für 50 μl Vollblut) bzw. Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (1,35 mM) stimuliert und die Burst-Aktivität anhand des Umsatzes des nicht-fluoreszenten Dihydrorhodamin (DHR 123) in das fluoreszente Rhodamin 123 (R123) bestimmt (Bursttest, Orpegen, Heidelberg). Ausgewertet wurden die R123-Fluoreszenz-Intensität (mean channel of fluorescence, MChF R123) in den Granulozyten der Patienten. Hiervon wurden jeweils die „Area under the Curve“ (AUC) berechnet, also die Fläche zwischen der zur Zeitachse parallelen Gerade des Baseline-Werts (Tag 0) und der Kurve der verbundenen Beobachtungen zu den Zeitpunkten 0, 1 und 3.

Die lymphozytären Subpopulationen im peripheren Blut der Patientinnen wurden durchflußzytometrisch differenziert (monoklonale Antikörper von Coulter-Immunotech, Krefeld). Die Zytokine IL-6, IL-8 und RANTES wurden in den Überständen stimulierter Vollblutkulturen mittels ELISA (Coulter-Immunotech, Krefeld) und das C-reaktive Protein mittels Nephelometrie nachgewiesen.

Statistische Auswertung

Von den 105 initialen (intention-to-treat, ITT) Patienten erfüllten vier die Einschluss-Kriterien nicht und wurden von der Untersuchung ausgeschlossen; drei schieden vorzeitig und ungeplant aus der Studie aus. Für die statistische Auswertung konnten somit die Datensätze von 98 Patientinnen (51 in der Kontrollgruppe und 47 in der Behandlungsgruppe) herangezogen werden (per-protocol, PP).

Um mögliche Unterschiede in den beiden nicht-randomisierten Gruppen zu berücksichtigen, wurde auf der Basis von Propensity Scores (Rubin und Thomas, 1996; D'Agostino, 1998) eine matched pair-Analyse (Rosenbaum und Rubin, 1993) mit folgenden Variablen durchgeführt: Alter, Karnofsky-Index,

Rauchen, Gebrauch von Kontrazeptiva, Nullparität, tumorbedingte Therapien, oxidativer Burst zur Baseline, klinisch relevante Laborbefunde, Granulozytenzahl vor der Operation, klinisch relevante Befunde der körperlichen Untersuchung sowie - als wichtigster Parameter - die Dauer der Operation. Die deskriptive Betrachtung der Baseline-Charakteristika zeigt, dass sich die beiden Behandlungsgruppen nicht wesentlich voneinander unterscheiden (Tabelle 1), auch nicht im nicht dargestellten PP-Set.

Tabelle 1: Charakteristika der 105 ITT*-Patienten

	Kontroll- gruppe	Behandlungs- gruppe
Alter (J)	56,7 ± 11,5	57,4 ± 11,8
Gewicht (kg)	71,1 ± 15,1	69,5 ± 13,8
Raucher (n = x)	11	7
ehemalige Raucher (n = x)	1	5
Kontrazeptiva-Einnahme (n = x)	47	49
Nullipara (n = x)	6	6
Karnovsky-Index 90-100% (n = x)	52	49
unauffällige Laborbefunde (n = x)	52	49
OP-Dauer < 1 h (n = x)	14	15
OP-Dauer 1-3 h (n = x)	38	38

* intention-to-treat

Primäres Ziel der Studie war die AUC des oxidativen Bursts (auf *E. coli*- bzw. PMA-Stimulus) zu den drei Meßzeitpunkten 0 (vor der Operation), 1. und 3. Tag. Die Null-Hypothese, dass die perioperative Infusion des Mistelextraktes keinen Einfluß auf die Granulozytenfunktion hat, wurde mittels des Wilcoxon-Rangsummentests für die beiden Gruppen (sowohl im ITT- als auch im PP-Set) für alpha = 0.05 (zweiseitig) geprüft. Die biometrische Auswertung erfolgte mittels des Statistikpaketes SAS 8.2 für Windows.

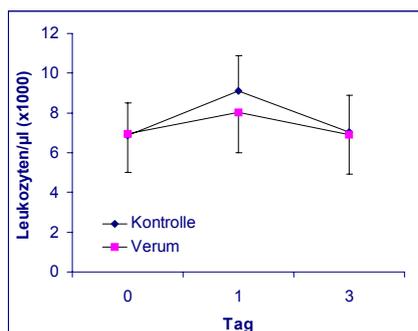
Ergebnisse

Primäres Prüfziel

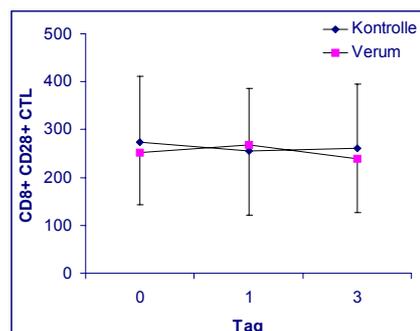
Der PMA-stimulierte Burst (AUC MChF R123) fiel in der Kontrollgruppe signifikant ab: AUC -541,83 (Median -551,50) versus AUC -70,22 in der Behandlungsgruppe (Median -41,00) ($p < 0,0001$). Auch der *E. coli*-stimulierte Burst fiel in der Kontrollgruppe ab: AUC -144,79 (Median -111,50) versus AUC -45,37 (Median -26,50) in der Behandlungsgruppe ($p < 0,001$). Es zeigte sich somit, dass die Operations- und Narkose-bedingte Hemmung der Granulozytenfunktion in der Behandlungsgruppe signifikant geringer ausgeprägt war.

Sekundäre Prüfziele

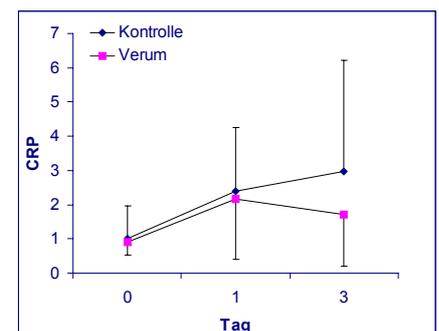
Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachweisen für die CD4⁺ T-Helfer-/Induktor-Zellen, CD8⁺ CD28⁻ Suppressor-Zellen, CD16⁺/CD56⁺ NK-Zellen, CD19⁺ B-Zellen und CD25⁺ (aktivierte) T-Zellen (alle nicht dargestellt), sowie für CD8⁺ CD28⁺ zytotoxische Zellen (Abb. 1B), Interleukin-6 und RANTES (beide nicht dargestellt) und das C-reaktive Protein (Abb. 1C). Es fand sich lediglich ein Trend für eine höhere Zahl der Leukozyten (Abb. 1A) und IL-8 (nicht dargestellt) am Tag 1 im Kontrollzentrum. Ein Trend läßt sich auch für die Eosinophilen beschreiben (nicht dargestellt).



A



B



C

Abbildung 1: Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung der peripheren Leukozyten (A), der CD8⁺ CD28⁺ zytotoxischen Zellen (B) und des C-reaktiven Proteins (C) der Patienten im Kontrollzentrum (Kontrolle) und im Behandlungszentrum (Verum).

In der Kontrollgruppe traten bei 20 von 50 Patientinnen unerwünschte Ereignisse¹ auf und in der Behandlungsgruppe bei 46 von 50 Patienten (Tabelle 2). Von diesen waren 66% ohne Beziehung zum Prüfpräparat und überwiegend Narkose-/Operations-assoziierte Auswirkungen; bei den restlichen 34% wurde eine Beziehung zum Prüfpräparat von den Prüffärzten als unwahrscheinlich erachtet - viele der Beobachtungen standen zudem in keinem adäquaten zeitlichen Zusammenhang. Ein schweres unerwünschtes Ereignis in der Behandlungsgruppe war ohne Beziehung zum Prüfpräparat (intermittierende *Tachyarrhythmia absoluta* bei bereits bestehender und Therapie-pflichtiger Tachyarrhythmie).

Tabelle 2: Unerwünschte Ereignisse an Tag 1

Kontrollgruppe	Behandlungsgruppe
<ul style="list-style-type: none"> Nachblutung (1), Hämatom (1), postoperative Schmerzen (6) Erbrechen und Übelkeit (1), Obstipation (0), Diarrhoe (0) Angst und Unruhe (0) Halsschmerzen (2), Husten (1) Hypertonie (0) 	<ul style="list-style-type: none"> Nachblutung (3), Hämatom (3), postoperative Schmerzen (19) Erbrechen und Übelkeit (4), Obstipation (3), Diarrhoe (1) Angst und Unruhe (2) Halsschmerzen (0), Husten (2) Hypertonie (2), Kopfschmerzen (1)
	<ul style="list-style-type: none"> Krampfneigung (1x an Tag 6) Schwindel (1x an Tag 4)
<ul style="list-style-type: none"> Zufallsbefunde (Fettleber, Leberzyste, Nierenzyste, Ovarialzyste, Arthrose) 	<ul style="list-style-type: none"> Zufallsbefunde (Cholecystolithiasis)

Aufgrund eines deutlich divergenten Dokumentationsverhaltens der Prüffärzte in den zwei Zentren ist die Häufigkeit der Unerwünschten Ereignisse nicht direkt miteinander vergleichbar (z.B. wurde die zu erwartenden Angst und Unruhe im Behandlungszentrum in 2 Fällen an Tag 1 und in 4 Fällen an Tag 2, jedoch gar nicht im Kontrollzentrum dokumentiert; auch ist es unwahrscheinlich, dass die Aufmerksamkeit für Operations-bedingte Schmerzen durch eine einmalige Mistelextrakt-Infusion verstärkt wird).

Diskussion

In der Literatur wird beschrieben, dass Narkotika und Operations-assoziiertes Stress zu einer Hemmung des Immunsystems führen können (Lundy *et al.*, 1978; Lewis *et al.*, 1980; 1980; Lovett *et al.*, 1980; Costa *et al.*, 1989; Beilin *et al.*, 1992; Tashiro *et al.*, 1999; Ogawa *et al.*, 2000; Carter und Whelan, 2001; Melamed *et al.*, 2003; Elena *et al.*, 2003). Durch die einmalige Infusion von 1 mg *Isador M* speziell vor der Operation ließ sich ein positiver Einfluss auf die Granulozyten nachweisen: bei ähnlicher Zellzahl zeigte sich eine Hemmung der Granulozytenfunktion im Kontrollzentrum, die im Behandlungszentrum durch die Mistelextrakt-Infusion weitgehend vermieden werden konnte. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant. Auf lymphozytärer Ebene und bei der Freisetzung verschiedener Zytokine waren keine signifikanten Veränderungen vorhanden.

Zur Erklärung dieser Beobachtungen können mehrere Hypothesen diskutiert werden:

(1) In der Kontrollgruppe könnte die Granulozytenfunktion eingeschränkt sein, weil hier die an Tag 1 im Trend etwas stärker vermehrten Neutrophilen noch nicht vollständig „kompetent“ sind. Wenn dies zutreffen würde, dann wäre diese eher ungünstige Situation tatsächlich durch eine Mistelextrakt-Infusion vermieden worden.

(2) Die Unterschiede in der Narkose-Führung könnten stärkere Auswirkungen auf die Granulozytenfunktion haben. Im Kontrollzentrum wurde neben dem Opioid *Fentanyl* häufiger das Fluoromethyl-Ether *Sevofluran* verwendet, an dessen Stelle im Behandlungszentrum überwiegend *Propofol* (*Disoprivan*; 2,6-Diisopropylphenol) benutzt wurde. Allerdings zeigte sich in der vorangegangenen Therapieplanungsstudie, die ausschließlich im Herdecker Zentrum lief (bei der also für die Mistelgruppe und die Kontrollgruppe das gleiche Narkoseprotokoll zur Anwendung kam), dass

¹ Unerwünschte Ereignisse (UE) sind alle während einer klinischen Prüfung beobachteten Befindlichkeitsstörungen, Krankheitssymptome, Laborwert-Veränderungen, Verschlechterung und Verschlimmerung vorbestehender Erkrankungen, Unfälle, während diagnostischer Interventionen auftretende Komplikationen usw. Diese sind nicht notwendigerweise identisch mit den unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW).

auch hier die Burst-Aktivität in der Behandlungsgruppe signifikant besser war. Auch in einer Untersuchung an Mäusen von Puig *et al.* (2002) ließ sich durch eine 40 minütige Sevofluran-Anästhesie keine Beeinträchtigung der Zellfunktion von Makrophagen und Lymphozyten feststellen.

Die erhobenen Befunde passen zu den in der Literatur beschriebenen Phänomenen, dass Mistelextrakt-Infusionen (bzw. Instillationen) die Zahl und Funktion von phagozytierenden Zellen verbessern können (Zschesche, 1966; Bloksma *et al.*, 1982; Hajto, 1986; Büssing *et al.*, 1996). Die in der vorliegenden Studie beobachteten signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Funktion der neutrophilen Granulozyten legen nahe, dass es durch eine einmalige Infusion von *Iscador M* speziell möglich ist, die Narkose-/Operations-bedingte Granulozytenfunktionshemmung günstig zu beeinflussen. Da keine Mistelextrakt-bezogenen Nebenwirkungen zu beobachten waren, liefert diese Studie eine Rationale, die durch Narkose und Operations-Stress ausgelöste Immunsuppression zu minimieren, die wiederum das Wachstum und die Metastasierung von verbleibenden oder bereits abgesiedelten Tumorzellen fördern könnten. Die Ergebnisse dieser Phase II Studie rechtfertigen weitere Untersuchungen zur Vermeidung der Operations-assoziierten Immunsuppression. Ob möglicherweise auch der postoperative Verlauf begünstigt werden kann, müssen weitere Untersuchungen klären.

Literatur

1. Beilin, B., Shavit, Y., Cohn, S., Kedar, E. (1992): Narcotic-induced suppression of natural killer cell activity in ventilated and nonventilated rats. *Clin Immunol Immunopathol* 64:173-176.
2. Berg, P.A., Stein, G.M. (2001): Does mistletoe therapy influence the defense against epithelial tumors? A critical immunologic analysis. *Dtsch Med Wochenschr* 126: 339-345.
3. Bloksma, N., Schmiermann, P., de Reuver, M., van Dijk, H., and Willers, J.M. (1982) Stimulation of humoral and cellular immunity by *Viscum* preparations. *Planta Medica*, 4, 221-227.
4. E.Böcher, C.Stumpf, A.Büssing, M.Schietzel: Prospektive Bewertung der Toxizität hochdosierter *Viscum album L.*-Infusionen bei Patienten mit progredienten Malignomen. *Zeitschrift für Onkologie* 28: 97-106 (1996)
5. Büssing A, Stumpf C, Stumpf RT, Wutte H, Schietzel M: Therapiebegleitende Untersuchung immunologischer Parameter bei Tumour-Patienten nach hochdosierter intravenöser Applikation von *Viscum album L.*-Extrakten. *Zeitschrift für Onkologie* 28 (1996) 54-59.
6. Büssing, A. (2002): Mistletoe. The Genus *Viscum*. Medicinal and Aromatic plants - Industrial Profiles. Harwood Academic Publishers, Amsterdam.
7. Büssing, A. (2002): Pharmakologische Wirkungen von Mistelextrakten In: V. Fintelmann (Hrsg.): *Onkologie auf anthroposophischer Grundlage*. Johannes M. Mayer-Verlag, Stuttgart, Kapitel 3.2.4.1, 1-40.
8. Büssing, A. (2003): Mistel (*Viscum album*) - anthroposophischer und phytotherapeutischer Ansatz In: K. Münstedt (Hrsg.): *Ratgeber unkonventionelle Krebstherapien*. ECOMED Verlag, Landsberg, 184-199.
9. Büssing A, Stein GM, Bischof M, Hatzmann W, Bartzsch F, Soto-Vera D, Fronk E.-M., Gmeindl M: Prevention of surgery-induced depression of granulocyte function by intravenous application of a *Viscum album L.* extract (VA-E). 12. AEK Cancer Congress Würzburg 25.-28. März 2003, Deutsche Krebsgesellschaft, Abstract P-173, S. 167.
10. Carter, J.J., Whelan, R.L. (2001): The immunologic consequences of laparoscopy in oncology. *Surg Oncol Clin N Am* 10:655-677.
11. Costa, A., Benedetto, V., Ricci, C., Merlin, P., Borelli, P., Fadda, E., Fragapane, P., Varvello, G., Voglino, M., De Filippis, V. (1989): Endocrine, hematological and immunological changes in surgical patients undergoing general anesthesia. *Ital J Surg Sci* 19:41-49.
12. D'Agostino, R.B. Jr. (1998): Tutorial in Biostatistics: Propensity score methods for bias reduction in the comparison of a treatment to a non-randomized control group. *Statistics in Medicine* 17:2265-2281.
13. Elena, G., Amerio, N., Ferrero, P., Bay, M.L., Valenti, J., Colucci, D., Puig, N.R. (2003): Effects of repetitive sevoflurane anaesthesia on immune response, select biochemical parameters and organ histology in mice. *Lab Anim* 37:193-203.
14. Hajto T: Immunomodulatory effects of iscador: A *Viscum album* preparation. *Oncolog* 43 suppl 1 (1986) 51-65.
15. Hajto T, Hostanska, Frey K, Rordorf C, Gabius HJ: Increased secretion of tumour necrosis factor α , interleukin 1, and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to α -galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res* 50 (1990) 3322-3326.
16. Kienle, G.S., Kienle, H. (2003): *Die Mistel in der Onkologie. Fakten und konzeptionelle Grundlagen*. Schattauer-Verlag
17. Lewis, R.E., Cruse, J.M., Hazelwood, J. (1980): Halothane-induced suppression of cell-mediated immunity in normal and tumor-bearing C3Hf/He mice. *Anesth Analg* 59:666-671.
18. Lovett, E.J., Alderman, J., Munster, E., Lundy, J. (1980): Suppressive effects of thiopental and halothane on specific arms of the immune response. *J Surg Oncol* 15:327-334.

19. Lundy, J., Lovett, E.J., Hamilton, S., Conran, P. (1978): Halothane, surgery, immunosuppression and artificial pulmonary metastases. *Cancer* 41:827-830.
20. Lundy, J. (1980): Anesthesia and surgery: a double-edged sword for the cancer patient. *J Surg Oncol* 14:61-65.
21. Melamed, R., Bar-Yosef, S., Shakhar, G., Shakhar, K., Ben-Eliyahu, S. (2003): Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumor metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures. *Anesth Analg* 97:1331-1339.
22. Mengs U, Weber K, Schwarz T, Hajto T, Hostanska K, Lentzen H: Effects of the standardized mistletoe preparation Lektinol on granulopoiesis and pulmonary metastases in mice. In: COST 98. Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets, Vol. 5. Bardocz S, Pfüller U, Pusztai A (eds). Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities (1998) 194-201.
23. Ogawa, K., Hirai, M., Katsube, T., Murayama, M., Hamaguchi, K., Shimakawa, T., Naritake, Y., Hosokawa, T., Kajiwara, T. (2000): Suppression of cellular immunity by surgical stress. *Surgery* 127:329-336.
24. Puig, N.R., Ferrero, P., Bay, M.L., Hidalgo, G., Valenti, J., Amerio, N., Elena, G. (2002): Effects of sevoflurane general anesthesia: immunological studies in mice. *Int Immunopharmacol* 2:95-104.
25. Rosenbaum, P.R., Rubin, D.B. (1983): The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika* 70:41-55.
26. Rubin, D.B., Thomas, N. (1996) Matching using estimated propensity scores; relating theory to practice. *Biometrics* 52:249-264.
27. Stein, G.M., Schaller, G., Pfüller, U., Wagner, M., Wagner, B., Schietzel, M., Büssing, A. (1999a): Characterisation of granulocyte stimulation by thionins from European mistletoe and from wheat. *Biochim Biophys Acta* 1426:80-90.
28. Stein, G.M., Schaller, G., Pfüller, U., Schietzel, M., Büssing, A. (1999b): Thionins from *Viscum album* L.: influence of viscotoxins on the activation of granulocytes. *Anticancer Res* 19:1037-1042 .
29. Tashiro, T., Yamamori, H., Takagi, K., Hayashi, N., Furukawa, K., Nitta, H., Toyoda, Y., Sano, W., Itabashi, T., Nishiya, K., Hirano, J., Nakajima, N. (1999): Changes in immune function following surgery for esophageal carcinoma. *Nutrition* 15:760-766.
30. Weber K, Mengs U, Schwarz T, Hajto T, Hostanska K, Allen TR, Weyhenmeyer R, Lentzen H: Effects of a standardized mistletoe preparation on metastatic B16 melanoma colonization in murine lungs. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 48 (1998) 497-502.
31. Zschesche, W. (1966) Die Wirkung von Iscador auf die Phagozytoseaktivität des reticulohistiozytären Systems. *Monatsbericht der Deutschen Akademie der Wissenschaften*, 8, 750.

Dank

Allen beteiligten Prüfarzten in Witten und in Herdecke, den Mitarbeitern des Zentrallabors des Gemeinschaftskrankenhauses Herdecke und ganz besonders Heidi Weber, Heike Wedel und Kristin Backhaus im Labor der Abteilung für angewandte Immunologie der Krebsforschung Herdecke gilt unser Dank, da ohne sie die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre. Dank auch dem Institut Hiscia, Arlesheim, die durch ihre finanzielle Unterstützung die Studie ermöglicht haben.