

Der Merkurstab

Zeitschrift für Anthroposophische Medizin - Journal of Anthroposophic Medicine

Digitales Archiv

Autor(en)	Katrin Menke, Jennifer Felenda, Melanie Schwermer, Alexander Schramm, Florian Stintzing, Tycho Zuzak
Titel	Die tumorzellenspezifische zytotoxische und mit <i>Viscum album</i> L. synergistische Wirkung einer wässrig-fermentierten <i>Taraxacum-officinale</i> -L.-Zubereitung
Zeitschrift	Der Merkurstab. Zeitschrift für Anthroposophische Medizin
Publikationsjahr	2020
Jahrgang	73
Heftnummer	4
Heftname	4 Juli/August
Seiten	254 - 264
Artikel-ID	DMS-21246-DE
URL	https://www.anthromedics.org/DMS-21246-DE
DOI	https://doi.org/10.14271/DMS-21246-DE
Bibliografische Angabe	Menke K, Felenda J, Schwermer M, Schramm A, Stintzing F, Zuzak T. Die tumorzellenspezifische zytotoxische und mit <i>Viscum album</i> L. synergistische Wirkung einer wässrig-fermentierten <i>Taraxacum-officinale</i> -L.-Zubereitung. Der Merkurstab. Zeitschrift für Anthroposophische Medizin 2020;73(4):254-264. DOI: https://doi.org/10.14271/DMS-21246-DE

Dieser Artikel stammt aus dem Merkurstab-Archiv, das Veröffentlichungen seit 1946 umfasst. Insbesondere bei länger zurückliegenden Arbeiten ist der jeweilige medizinhistorische Kontext zu berücksichtigen.

Dieser Artikel ist urheberrechtlich geschützt und darf nicht ohne Genehmigung weiterverbreitet werden.

Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte in Deutschland e.V.
Herzog-Heinrich-Straße 18
DE-80336 München

www.gaed.de
info@gaed.de



Anthromedics

Anthroposophic Medicine.
Development. Research. Evaluation.

www.anthromedics.org

Die tumorzellspezifische zytotoxische und mit *Viscum album* L. synergistische Wirkung einer wässrig-fermentierten *Taraxacum-officinale*-L.-Zubereitung

KATRIN MENKE^{a*}, JENNIFER FELENDA^{b*}, MELANIE SCHWERMER^{a,c}, ALEXANDER SCHRAMM^d, FLORIAN STINTZING^b, TYCHO JAN ZUZAK^c

a Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Kinderklinik III, Universitätsklinikum Essen

b WALA Heilmittel GmbH, Bad Boll/Eckwälden

c Integrative Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke

d Molekulare Onkologie, Innere Klinik Tumorforschung, Universitätsklinikum Essen

* Diese Autoren haben zu gleichen Teilen beigetragen.

Diese Arbeit beruht auf Resultaten, die in den folgenden Originalarbeiten publiziert wurden:

- Menke K, Schwermer M, Felenda J, Stintzing F, Beckmann C, Schramm A, Zuzak TJ. *Taraxacum officinale* extracts show antitumor effects on pediatric cancer cells and enhance mistletoe therapy. *Complementary Therapies in Medicine* 2018;40:158–164. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.03.005>.
- Menke K, Schwermer M, Falke K, Felenda J, Beckmann C, Stintzing F, Voigt A, Schramm A, Zuzak T. *Taraxacum officinale* extract induces antitumorigenic effects in ovarian carcinoma cell lines. *European Journal of Gynaecological Oncology* 2019;1:106–112.

Die tumorzellspezifische zytotoxische und mit *Viscum album* L. synergistische Wirkung einer wässrig-fermentierten *Taraxacum-officinale*-L.-Zubereitung

■ Zusammenfassung

Einleitung: Kurative und palliative Anwendungen von Mistel-extrakten gehören in der komplementären onkologischen Medizin zu den häufigsten Behandlungsverfahren. Auch für Löwenzahnextrakte konnten bereits antineoplastische Effekte auf Tumorzelllinien der Erwachsenenonkologie beschrieben werden. Für Kinderkrebszelllinien liegen hingegen bislang keine Daten vor. Des Weiteren sind therapeutische Kombinationseffekte von Mistel- und Löwenzahnzubereitungen noch unzureichend untersucht.

Methoden: Zytotoxische Effekte einer *Taraxacum-officinale*-Zubereitung (WALA) und der Mistelpräparate Iscucin® Tiliae und Iscucin® Pini (WALA) wurden anhand von Zellviabilitäts-Assays an 18 pädiatrischen und 14 adulten Tumorzelllinien untersucht. Zudem wurden die Auswirkungen auf die Zellproliferation, Zellzyklusverteilung, Apoptoseinduktion, mitochondriale Integrität sowie auf die Tumorzellmigration von ausgewählten Neuroblastom- und Ovarialkarzinomzelllinien ermittelt. Außerdem wurden Kombinationseffekte einer Behandlung aus Mistel- und Löwenzahnextrakt analysiert.

Ergebnisse: Die Viabilität aller getesteten Tumorzellen wurde sowohl durch die Löwenzahnzubereitung als auch durch die beiden Mistelpräparate dosisabhängig verringert. Für Neuroblastom- und Ovarialkarzinomzellen konnte eine Apoptoseinduktion, eine Abnahme der mitochondrialen Integrität sowie eine Abschwächung der Tumorzellmigration beobachtet werden. Kombinationen aus Mistel- und Löwenzahnzubereitungen zeigten überwiegend synergistische Effekte.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse liefern erste präklinische Daten für tumorzellspezifische zytotoxische und antimetastatische Effekte einer wässrig-fermentierten Löwenzahnzubereitung für ein breites Spektrum von pädiatrischen und adulten Tumorzelllinien. Misteltherapien können durch die Gabe von Löwenzahnextrakt unterstützt werden.

■ Schlüsselwörter

Löwenzahn, Mistel, Pädiatrie, Neuroblastom, Ovarialkarzinom, Zellviabilität, Zellproliferation, Zellmigration, Synergistische Wirkung, Apoptose

The tumor cell-specific cytotoxic and in combination with *Viscum album* L. extract synergistic effects of an aqueous-fermented *Taraxacum officinale* L. preparation

■ Abstract

Introduction: Applications of mistletoe are among the most common treatment methods in complementary oncological medicine. Antineoplastic effects on adult tumor cell lines have also been reported for dandelion preparations. However, no data are yet available for pediatric cancer, or combinational effects of mistletoe and dandelion therapies.

Methods: Cell viability upon treatment with *Taraxacum officinale* preparation (WALA) and mistletoe preparations Iscucin® Tiliae and Iscucin® Pini (WALA) were investigated on 18 pediatric and 14 adult tumor cell lines. Effects on proliferation, cell cycle distribution, apoptosis induction, mitochondrial integrity and migration of selected neuroblastoma and ovarian cancer cell lines and combinational effects of mistletoe and dandelion extract were analyzed.

Results: Cell viability of all tumor cell lines was dose-dependently reduced by the dandelion preparation as well as by the two mistletoe preparations. For neuroblastoma and ovarian carcinoma cells, apoptosis induction, mitochondrial integrity decrease and attenuation of migration was observed. Combinations of mistletoe and dandelion showed predominantly synergistic effects.

Conclusion: The results provide first preclinical data for tumor cell-specific cytotoxic and anti-metastatic effects of dandelion preparations for a broad panel of pediatric and adult tumor cell lines. Combination of preparations from mistletoe and dandelion therapies showed supportive effects of the latter on mistletoe applications.

■ Keywords

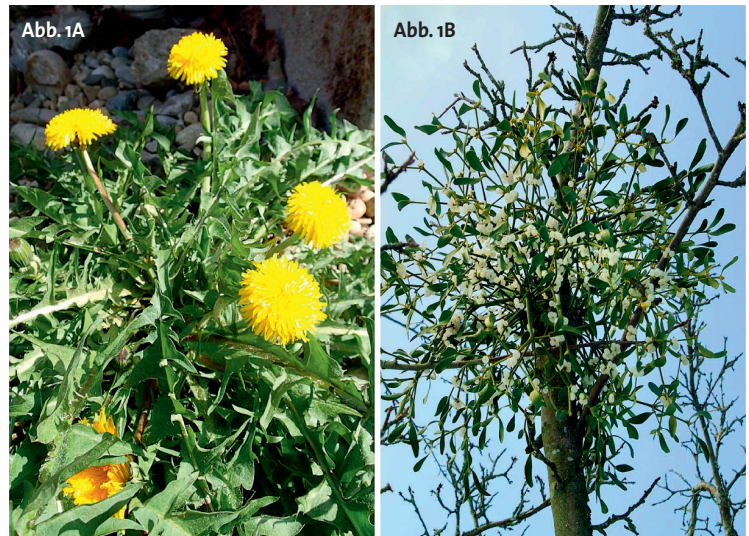
Dandelion, Mistletoe, Pediatric care, Neuroblastoma, Ovarian cancer, Cell viability, Cell proliferation, Cell migration, Synergistic effect, Apoptosis

1. Einleitung

Bei Kindern und Jugendlichen macht Krebs zwar insgesamt nur 1 % aller humanen Erkrankungen aus, ist jedoch die häufigste tödliche Erkrankung und die zweithäufigste Todesursache bei europäischen Kindern nach dem ersten Lebensjahr. In Europa wird jährlich bei 15.000 Kindern und Jugendlichen eine Krebserkrankung diagnostiziert. Die häufigsten Krebsarten dieser Altersgruppe sind Leukämien (34 %), Tumore des zentralen Nervensystems (20 %) und Lymphome (13 %) (1, S. 333–336). Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt bei Hochrisikopatienten des Neuroblastoms lediglich 30–40 % (2, S. 1014–1019). Bei Patienten im Erwachsenenalter gehört das Ovarialkarzinom zu den aggressivsten gynäkologischen Tumoren. Trotz einer sich immer weiterentwickelnden, umfangreichen multimodalen Therapie-strategie stagniert das 5-Jahres-Überleben (46 %) in den letzten Jahren (3). Immer mehr Patienten greifen auf komplementärmedizinische Behandlungen zurück, auch um die Nebenwirkungen der konventionellen Behandlung zu reduzieren. Hierbei zählen Mistelpräparate zu den am häufigsten verwendeten pflanzlichen Arzneimitteln (4, S. 671f.), (5, S. 2233–2240). Die Effekte von Kombinationstherapien mit Zubereitungen aus Löwenzahn (6) sind unzureichend untersucht, obgleich diese an Tumorzelllinien der Erwachsenenonkologie bereits vielversprechende zytotoxische Effekte zeigen konnten (7, S. 1149–1157), (8, S. 1085–1090), (9, S. 1039–1047), (10, S. 387–396), (11, S. 73080–73100), (12, S. 1010–1017), (13). Vergleichende Kenntnisse mit Kinderkrebszelllinien liegen bis dato nicht vor.

1.1 Löwenzahn (*Taraxacum officinale* L.)

Der Löwenzahn (Abb. 1A) ist eine Pflanze aus der Familie der Korbblütler (Asteraceae) und kommt in allen Zonen mit gemäßigttem Klima vor. Die Pflanze besitzt eine milchsaftrreiche, spindelförmige Pfahlwurzel und trägt schrotsägeförmige Blätter, die in einer grundständigen Rosette angeordnet sind. Die Stängel enthalten ebenfalls Milchsaft, tragen keine Blätter und sind innen hohl. Der leuchtend gelbe Blütenstand besteht aus Zungenblüten. Die spindelförmige Frucht besitzt einen schirmförmigen Pappus, der eine Verteilung der Samen mit dem Wind ermöglicht und auf den der volkstümliche Name Pustelblume zurückzuführen ist. In der Phytotherapie wird der Löwenzahn als mild wirkendes Cholekinetikum und Diuretikum sowie als appetitanregendes Bittermittel eingesetzt. Ferner kommt er als Adjuvans bei Hepatopathien und Cholezystopathien zum Einsatz (14). In der klassischen Homöopathie erwähnte Hahnemann die Pflanze vor allem in seiner vorhomöopathischen Zeit. Klinische Anwendungsgebiete sind: Diabetes, Gallenanfall, Gallensteine, Ikterus, Malaria, Nachtschweiß, Schwäche, Typhus, Hepatitis, Cholezystitis, Cholangitis und Pfortaderstauung (15, S. 313–323). Löwenzahn wird auch in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) eingesetzt. Auf Chinesisch heißt er Pu Gong Yin, ist bitter, kühlend und hat eine ausgeprägte Wirkung auf Leber und Magen. In der Anthroposophischen Medi-



zin wird der Löwenzahn vor allem in Bittermitteln verwendet, z. B. in Amara-Tropfen (Weleda) oder Gentiana Magen Globuli velati (WALA), zur Entgiftung in Aquilinum comp. (WALA) oder bei Leberfunktionsstörungen *Taraxacum Stanno cultum* (Weleda). Die Anwendung in der Onkologie als *Taraxacum e planta tota D3* (WALA) ergibt sich aus der Beobachtung eines überbordenden Wärmeäthers der Pflanze und der daraus resultierenden Wirkung auf Geschwulstbildungen, welche sich durch die Behandlung zurückbilden (16, S. 566–571). Es wurden mehrere Fälle mit erfolgreicher Stabilisierung der Erkrankung von Patientinnen mit Ovarialkarzinom und Pankreaskarzinom mit *Taraxacum e planta tota D3* berichtet (17, S. 710–712).

Der Löwenzahn enthält Substanzen, die bislang in anderen Pflanzen noch nicht beschrieben wurden. So enthält er das Germacranolid Taraxinsäure- β -D-glucopyranosid und das 11,13-Dihydroderivat 11,13-Dihydrotaraxinsäure- β -D-glucopyranosid sowie die Eudesmanolide Tetrahydroidentin B und Taraxacolid- β -D-glucopyranosid. Außerdem wurde das γ -Butyrolactonglucosid Taraxacosid gefunden. Des Weiteren enthält Löwenzahn die weniger spezifischen Triterpene Taraxasterol, Ψ -Taraxasterol und Sterole sowie phenolische Verbindungen, wobei zusätzlich ein hoher Kaliumgehalt des Krautes von etwa 5 % auffällt (18, S. 792f.).

1.2 Mistel (*Viscum album* L.)

In der Volksmedizin wurde die Mistel (Abb. 1B) insbesondere bei Herzleiden verwendet, z. B. bei Hypertrophie, zur Normalisierung des Blutdrucks und bei Arteriosklerose, aber auch bei Schwindel, Hysterie, Epilepsie und Amenorrhö (19, S. 1–26). Die Anregung, die Mistel in der Krebstherapie zu verwenden, geht auf Rudolf Steiner (1861–1925) im Jahre 1920 zurück (20, S. 248f.). Die europäische Mistel ist eine halbpasitäre in Kugelform wachsende Pflanze. Ihre Äste verzweigen sich gabelig und die Blätter erscheinen paarig. Die unscheinbaren, grünlichgelben Blüten der Mistel sind in den Monaten Februar und März zu sehen. Nach der Bestäubung durch Insekten und anschließender Befruchtung entstehen im Spätherbst bzw. Frühwinter weiße Beerenfrüchte, die gerne

Abb. 1
(A) Löwenzahn (*Taraxacum officinale* L.) und
(B) Mistel (*Viscum album* L.). (©WALA Heilmittel GmbH)

von Vögeln (Misteldrossel, Mönchsgrasmücke) gefressen und die Samen so verbreitet werden.

Mistellektine und Viscotoxine gehören zu den Hauptbestandteilen der Mistel und ihre Gehalte sind abhängig vom Wirtsbaum, dem Erntezeitpunkt, dem jeweiligen Pflanzenteil und der Bodenbeschaffenheit (21, S. 44–55). Weitere typische Inhaltsstoffe sind Zuckerkohole, Nucleoside sowie verschiedene phenolische Verbindungen, v. a. Syringin und Syringenin-4'-O-Apiosylglucosid, Kaffeesäurederivate und Lignane (22, S. 67–76), (23, S. 77–85), (24, S. 87–96). Etwa ein Drittel der in der Mistel enthaltenen Kohlenhydrate und Aminosäuren stammen vom Wirtsbaum (25, S. 123–128).

2. Material und Methoden

2.1 Präparate

2.1.1 Wässrig-fermentierte *Taraxacum-officinale*-Zubereitung (WALA)

Taraxacum e planta tota ferm (im Weiteren *Taraxacum* genannt) wird nach HAB Vs 34c hergestellt (26). Hierzu werden zur Blütezeit ober- und unterirdische Teile von *Taraxacum officinale* L. (Abb. 1A) geerntet, mit Molke, Lactose-Monohydrat und gereinigtem Wasser angesetzt und nach 3,5 Tagen abgepresst. Die resultierende flüssige Phase wird mit einem definierten Anteil des veraschten Pressrückstands versetzt. Nach 7 Tagen wird der Ansatz bis zur Klarfiltration bei 15 °C für mind. 6 Monate gelagert.

Die Migrations- und Zellzyklusuntersuchungen sowie die Untersuchung auf vitale Mitochondrien wurden mit 10 mg/ml und 100 mg/ml *Taraxacum* durchgeführt. In der Echtzeit-Proliferations-Analyse mit dem xCELLigence System und bei den Kombinationsversuchen wurden fünf Konzentrationen (0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, 100 mg/ml, 200 mg/ml) eingesetzt.

2.1.2 Wässrige *Viscum-album*-Zubereitungen (WALA)

Iscucin® *Tiliae* und Iscucin® *Pini* werden nach HAB Vs 38 hergestellt (26). Zur Herstellung der Iscucin®-Präparate wird die ganze Mistelpflanze (Abb. 1B) zusammen mit einem kleinen Anteil (15 %) der lektinreichen „Senker“, bei der Wintermistel auch mit den reifen Beeren, gesammelt, gereinigt, lyophilisiert, zerkleinert und getrennt nach Sommer- und Winterernte in einem wässrigen Kaltauszug verarbeitet und extrahiert. Danach erfolgt eine Vermischung von Sommer- und Wintersaft (im Mischverhältnis 1 : 1) nach einem speziellen, von Karl Köller (1896–1975) entwickelten Verfahren. Dabei befindet sich der Wintersaft in einer rotierenden Schale, sodass ein saugender Wirbeltrichter entsteht, in den der Sommersaft hineingetroffen wird. Eine Potenzierung der Zubereitung wird schließlich im Verhältnis 1 : 20 vorgenommen, sodass die Potenzstärken H (5,0 mg/ml), G (2,5 mg/ml), F (0,13 mg/ml), E (6,25 µg/ml), D (0,31 µg/ml) und C (15,6 ng/ml) entstehen.

Für Iscucin® *Tiliae* (im Folgenden *Tiliae* genannt) wird die lektinreiche Lindenmistel verarbeitet und für Iscucin® *Pini* (im Folgenden *Pini* genannt) wird die lektin-

arme Kiefernmistel, die zudem kaum bzw. keine Viscotoxine enthält, verwendet.

2.2 Testsysteme

Effekte auf das Zellwachstumsverhalten wurden mittels einem Zellviabilität-Assay [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT)] (27, S. 55–63) und einem Echtzeit-Proliferations-Assay (xCELLigence, Roche Applied Science) untersucht. Um Einflüsse auf das Metastasierungsverhalten zu erfassen, wurde die Migration mittels Scratch-Assay (28, S. 329–333) analysiert. Auswirkungen auf den Zellzyklus wurden durchflusszytometrisch nach Propidiumiodid-Färbung ermittelt (29, S. 271–279). Eine mögliche Schädigung der Mitochondrien wurde durch die Färbung mit dem Fluoreszenzfarbstoff MitoTracker® Deep Red am Durchflusszytometer (FACS-Analyse) gemessen. Des Weiteren wurde eine Kombinationsbehandlung mit verschiedenen Verdünnungen aus *Taraxacum e planta tota ferm* 34c und zwei Mistelpräparaten (Iscucin® *Tiliae*, Iscucin® *Pini*) mithilfe des MTT-Assays durchgeführt.

2.3 Zelllinien

Das pädiatrische Zelllinien-Panel deckte acht unterschiedliche Tumorentitäten (akute myeloische Leukämie (AML), Rhabdomyosarkom, Burkitt-Lymphom, Neuroblastom, Medulloblastom, Osteosarkom, Ewing-Sarkom und Rhabdoidtumor) ab und umfasste insgesamt 18 Zelllinien. Das adulte Zelllinien-Panel bestand aus 14 Zelllinien aus neun verschiedenen Tumorentitäten (Mamma-, Harnblasen-, Lungen-, Pankreas-, Leber-, Kolonkarzinom sowie gynäkologische Tumore) (Tab. 1). Jeweils zwei Zelllinien wurden für die weiteren Untersuchungen (xCELLigence, Scratch-Assay, Boyden-Chamber-Assay, Zellzyklusanalyse, FACS-Analyse, Kombinationsanalysen) ausgewählt: SH-SY5Y und Kelly als Vertreter für das pädiatrische Neuroblastom und NIH:OVCAR-3 und SKOV-3 als Vertreter für das Ovarialkarzinom. Um tumorspezifische zytotoxische Effekte zu untersuchen, wurden humane Fibroblasten (NHDF-C) verwendet.

2.4 Statistische Analyse

Eine Überprüfung der erhaltenen Resultate auf signifikante Unterschiede erfolgte mithilfe der Software GraphPad Prism Version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) mittels Student's t-test. Signifikante Unterschiede sind in den grafischen Darstellungen folgendermaßen gekennzeichnet: ***p < 0,001; **p = 0,001–0,01; *p = 0,01–0,05.

Um kombinatorische Effekte auf die Zellviabilität zwischen Mistelextrakten und der Löwenzahnzubereitung zu charakterisieren und zu beurteilen, wurden Zellviabilitätsdaten mithilfe der Software CompuSyn (CompuSyn Inc., Paramus, NJ, USA) nach Chou et al. (30, S. 621–681), (31, S. 440–446) ausgewertet. Die Software berechnet dabei einen sog. Kombinationsindex (CI), der Auskunft darüber gibt, ob die gegebene Wirkstoffkombination additive (CI = 1), synergistische (CI < 1) oder antagonistische (CI > 1) Effekte auf die Zellviabilität hat.

Tab. 1: Mittlere inhibitorische Konzentrationen (IC₅₀) der wässrig-fermentierten Löwenzahnzubereitung *Taraxacum e planta tota ferm 34c* für das getestete Tumorzelllinienpanel und die humane Fibroblastenzelllinie (NHDF-C; grau hinterlegt). Die für die weiteren Analysen verwendeten Zelllinien sind kursiv geschrieben. Die Werte wurden mittels MTT-Zellviabilitäts-Assay 72 h nach Behandlung bestimmt.

Pädiatrische Zelllinien			Adulte Zelllinien		
Tumorentität	Zelllinie	IC ₅₀ [mg/ml]	Tumorentität	Zelllinie	IC ₅₀ [mg/ml]
Burkitt-Lymphom	RAMOS	12	<i>Ovarialkarzinom</i>	<i>NIH:OVCAR-3</i>	12
AML	MV-11	17	Zervixkarzinom	HeLa	40
Burkitt-Lymphom	NAMALWA	20	Mammakarzinom	SK-BR-3	73
Burkitt-Lymphom	RAJI	52	Mammakarzinom	MDA-MB-231	99
Ewing-Sarkom	TC-71	56	Mammakarzinom	MCF-7	101
<i>Neuroblastom</i>	<i>Kelly</i>	75	Pankreaskarzinom	PANC-1	105
<i>Neuroblastom</i>	<i>SH-SY5Y</i>	75	Endometriumkarzinom	AN3-CA	109
Neuroblastom	NB59	83	<i>Ovarialkarzinom</i>	<i>SKOV-3</i>	113
Neuroblastom	NLF	85	Endometriumkarzinom	Ishikawa	114
Rhabdomyosarkom	A-204	92	Hepatozelluläres Karzinom	HUH-7	128
Ewing-Sarkom	CADO-ES1	92	Humane Fibroblasten	NDHF-C	128
Neuroblastom	LAN-1	92	Kolonkarzinom	SW620	136
Ewing-Sarkom	RD-ES	98	Harnblasenkarzinom	EJ28	146
Renaler Rhabdoidtumor	G-401	98	Harnblasenkarzinom	RT112	157
Medullablastom	Daoy	99	Lungenkarzinom	A549	160
Medullablastom	ONS-76	100			
Neuroblastom	SK-N-AS	101			
Osteosarkom	Saos-2	120			
Humane Fibroblasten	NHDF-C	128			

3. Ergebnis

3.1 Pädiatrische Tumorzelllinien

3.1.1 Taraxacum

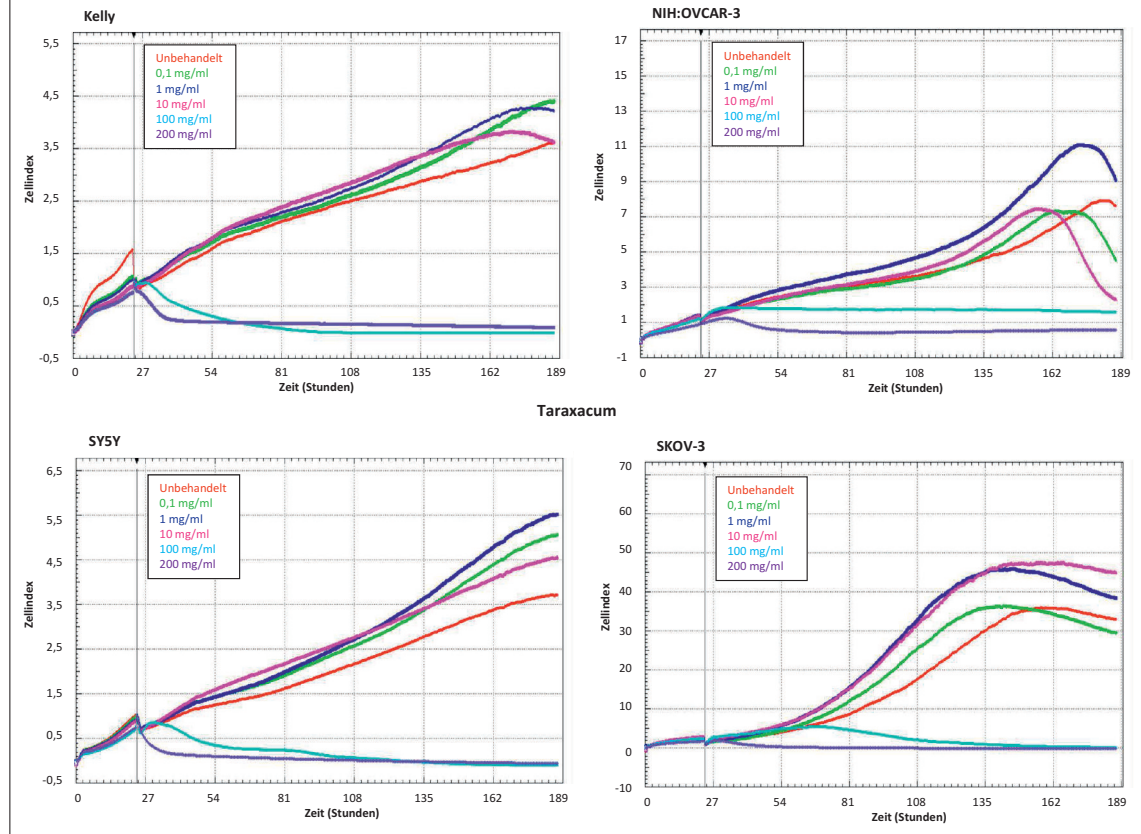
Die Zellviabilität aller getesteten pädiatrischen Tumorzelllinien wurde durch Taraxacum dosisabhängig reduziert. Im Vergleich dazu zeigten sich normale humane primäre Fibroblasten weniger sensitiv: Die inhibitorische Konzentration von Taraxacum, bei welcher die Zellviabilität um 50 % gehemmt wurde (IC₅₀), betrug bei den Tumorzellen durchschnittlich 76 mg/ml, bei den normalen Fibroblasten hingegen 128 mg/ml, wobei die Sensitivität der Tumorzelllinien gegenüber Taraxacum sehr unterschiedlich ausfiel (Tab. 1). Die antiproliferative, dosisabhängige Wirkung von Taraxacum konnte auch in der xCELLigence Echtzeitbeobachtung der Neuroblastomzelllinien SH-SY5Y und Kelly bestätigt werden (Abb. 2). Hierbei kam es nach Zugabe einer Dosis von 100 mg/ml Taraxacum zu einem sofortigen Absterben bzw. einer Ablösung von der Wachstumsfläche der adhären wachsenden Tumorzellen. Allerdings schienen niedrigere Extraktkonzentrationen (≤ 10 mg/ml) schwach stimulierende Effekte aufzuweisen. Da das verwendete System jedoch keine direkten Aussagen über die Vitalität der Tumorzellen zulässt, könnte der Anstieg der Zellindex-Kurven auch auf eine stärkere Adhäsion oder Spreitung am Boden der Mikrotiterplatten zurückzuführen sein. Da neben der Proliferation auch die Migration der Tumorzellen eine aggressive Tumorro-

gression kennzeichnet, wurden Versuche durchgeführt, um Auswirkungen einer Behandlung mit Taraxacum auf diesen Parameter zu untersuchen. Hier konnte ebenfalls eine dosisabhängige Wirkung erzielt werden, bei der es in beiden untersuchten Neuroblastomzelllinien durch Behandlung mit 10 mg/ml Taraxacum nach 48 h zu einer signifikanten Verzögerung der Wundheilungsrate im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen kam, was auf eine Hemmung der Migration von Tumorzellen hindeutet (Abb. 3). So verblieben bei SH-SY5Y-Zellen 69 % der zuvor freigekehrten Flächen in den Kontrollen unverschlossen, während bei Zellen, die mit Taraxacum in einer Konzentration von 10 mg/ml behandelt wurden, eine Fläche vom 76 % frei blieb. Nach einer Zeit von 48 h zeigten Kelly-Zellen eine Wundfläche von 64 % in den Kontrollen und 67 % in den mit Taraxacum behandelten Proben. In der Zellzyklusanalyse zeigte sich eine Erhöhung der Apoptoserate nach Applikation einer Dosis von 100 mg/ml (Abb. 4). Auch kam es durch die Behandlung zu einer mitochondrialen Schädigung, die bei beiden Neuroblastomzelllinien beobachtet werden konnte (Abb. 5).

3.1.2 Iscucine®

Beide Iscucine®-Präparate zeigten eine zytotoxische Wirkung auf das gesamte pädiatrische Tumorzellpanel, wobei das Lindenmistelpräparat (*Tiliae*) insgesamt wirksamer war. Der Mittelwert der IC₅₀-Konzentrationen im MTT-Assay über alle Tumorzelllinien hinweg lag für Pini

Abb. 2: Bei den pädiatrischen Zelllinien kam es nach Zugabe einer Dosis von 200 mg/ml Taraxacum zu einer sofortigen Wachstumsstärkung. Allerdings schienen niedrigere Extraktkonzentrationen (≤ 10 mg/ml) bei den pädiatrischen Zelllinien schwach stimulierende Effekte aufzuweisen.



bei 0,38 mg/ml und für Tiliae bei 0,045 mg/ml. Die sensitivsten Tumorarten für Pini waren Leukämien, Neuroblastome sowie das Ewing-Sarkom. Medulloblastomzellen und Osteosarkomzellen zeigten auf Tiliae eine gute Ansprechrate. In der Echtzeitanalyse wurde eine dosisabhängige Wirkung beider Mistelpräparate auf die ausgewählten Neuroblastomzelllinien Kelly und SH-SY5Y nachgewiesen (Abb. 6, Abb. 7). Die Migration beider Zelllinien wurde signifikant durch 6,25 μ g/ml Pini (= Iscucin® Pini Stärke E) nach 48 h gehemmt (Abb. 3). Hier konnten bei SH-SY5Y-Zellen 69 % freie Wundfläche in den Kontrollen und 74 % in den behandelten Proben gemessen werden. In Kelly-Zellen betragen die offenen Flächen 62 % in den Kontrollen und 69 % in mit Pini behandelten Zellen. Auch bei Tiliae konnte eine dosisabhängige Migrationshemmung der Tumorzellen festgestellt werden (Abb. 3). Insgesamt waren diese Effekte stärker als bei Pini. So kam es 48 h nach Behandlung zu einer hochsignifikanten Verzögerung des Wundverschlusses in beiden Neuroblastomzelllinien. Die Größe der Wunde betrug bei SH-SY5Y-Zellen 66 % der ursprünglich freigekratzten Fläche in den Kontrollen und 81 % in den behandelten Proben. Bei Kelly-Zellen waren in den unbehandelten Kontrollen 58 % der Flächen frei, während die Proben, die mit Tiliae behandelt wurden, eine Wundgröße von 88 % aufwiesen.

3.1.3 Kombinationsuntersuchung

Die Kombination aus Taraxacum und den beiden Mistelpräparaten führte bei beiden Neuroblastomzelllinien

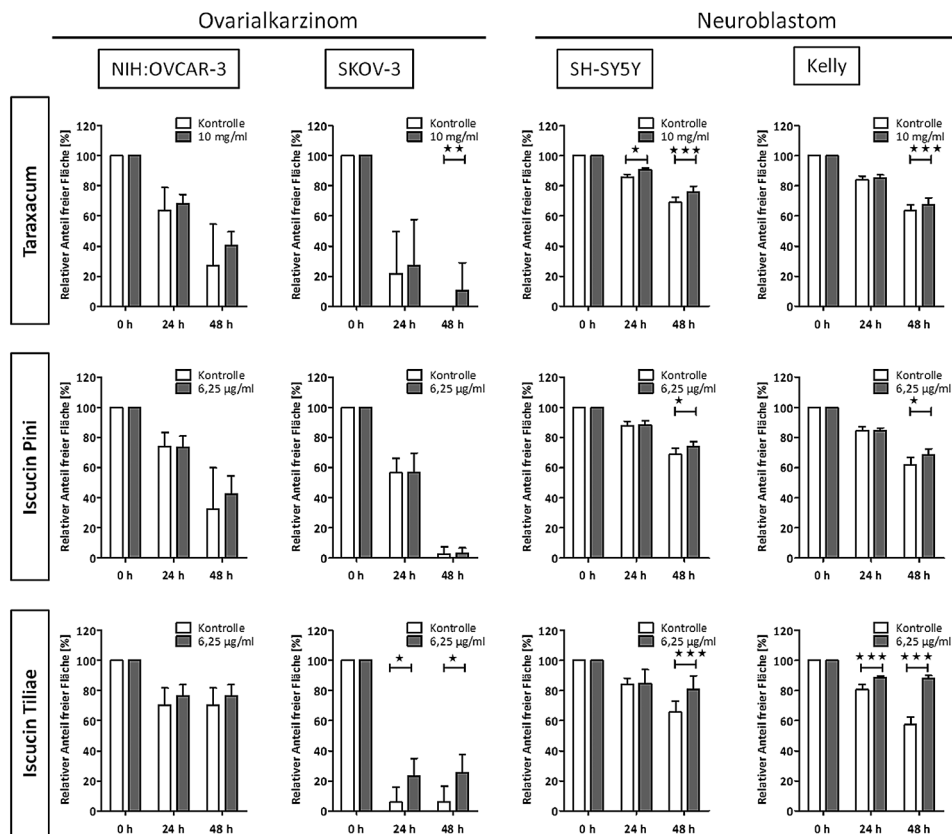
insgesamt zu einer synergistischen Reduktion der Zellviabilität (Tab. 2). Der errechnete Median-Wert der Kombinationsindices (CI) aus allen Mischungsverhältnissen aus Taraxacum und Pini betragen für Kelly 0,0395 und bei SH-SY5Y 0,54. Für Taraxacum und Tiliae lagen sie für Kelly bei 0,4 und für SH-SY5Y bei 0,5. Die Mittelwerte der CIs der beiden Iscucine® (Tiliae: 0,45; Pini: 0,46) wiesen also auch insgesamt auf eine synergistische Wirkung (CI < 1) von Taraxacum und den Iscucin®-Präparaten hin. Die beobachteten synergistischen Wirkungen traten vor allem bei einem hohen Anteil an Löwenzahnextrakt (100 mg/ml und 200 mg/ml) auf.

3.2 Adulte Tumorzelllinien

3.2.1 Taraxacum

Taraxacum verringerte die Zellviabilität der getesteten adulten Tumorzelllinien dosisabhängig. Die IC₅₀-Werte lagen zwischen 12 mg/ml und 160 mg/ml. Es zeigte sich, dass einige Zelllinien (Kolon-, Harnblasen- und Lungenkarzinom) unempfindlicher gegenüber der Behandlung waren als die humanen Fibroblasten (NHDF-C: IC₅₀:128 mg/ml). Alle gynäkologischen Tumorzelllinien zeigten im Durchschnitt eine IC₅₀ von 83 mg/ml, sodass diese sensitiver auf Taraxacum reagierten als die Kontrollzelllinie (NHDF-C). Die zwei getesteten Ovarialkarzinomzelllinien sprachen unterschiedlich auf die Behandlung mit Taraxacum an (Tab. 1). Die Ovarialkarzinomzelllinie NIH:OVCAR-3 war am sensitivsten. In der

Abb. 3: Untersuchung auf antimetastatische Effekte von Taraxacum, Iscucin® Pini und Iscucin® Tiliae. Auswertung, grafische Darstellung und Analyse signifikanter Veränderungen der Migration unter der Behandlung mit Taraxacum (n = 8). In allen getesteten Zelllinien konnten 48 h nach Behandlung mit Taraxacum einer Konzentration von 10 mg/ml Migrationsverzögerungen durch verlangsamt verschlossenen freigekratzten Flächen im Scratch-Wundheilungs-Assay beobachtet werden. Bei den Zelllinien SKOV-3, Kelly und SH-SY5Y waren diese signifikant. Auch durch Behandlung mit Iscucin® Pini kam es in beiden Neuroblastomzelllinien zu einer signifikanten Migrationsinhibition, welche bei Applikation von Iscucin® Tiliae hochsignifikant war. Beim Scratch-Assay wird zum Zeitpunkt der Behandlung ein Kratzer in einen konfluent wachsenden Zellrasen gesetzt und der Wundverschluss durch Migration von den Rändern aus in die freien Flächen hinein beobachtet, alle 24 h dokumentiert und mit dem Softwareprogramm ImageJ quantifiziert. Hierbei entspricht die jeweilige freie Fläche zum Zeitpunkt 0 h 100 %.



xCELLigence Echtzeitbeobachtung führten 200 mg/ml Taraxacum zu einer sofortigen Wachstumshemmung (Abb. 2). Weiterführende Untersuchungen zur migrationshemmenden Wirkung zeigten eine Verzögerung des Wundverschlusses im Scratch-Assay (Abb. 3). In unbehandelten SKOV-3 Zellen waren nach einer Beobachtungszeit von 48 h alle künstlichen Wunden verschlossen. In den mit Taraxacum (10 mg/ml) behandelten Proben verblieben 11 % der Flächen unverschlossen. Nach dieser Zeit konnten in NIH:OVCAR-3 freie Wundflächen von 27 % in Relation zu den ursprünglich freigekratzten Bereichen in den Kontrollen und 41 % in den behandelten Proben gemessen werden (Abb. 3). Bei beiden Zelllinien wurde eine dosisabhängige Erhöhung der Apoptoserate und eine Verringerung der mitochondrialen Integrität festgestellt, jedoch waren die Apoptoseinduktion und die Abnahme der mitochondrialen Integrität bei der Zelllinie NIH:OVCAR-3 wesentlich eindeutiger, v. a. beim Einsatz von höheren Dosen von Taraxacum. Eine Dosis von 10 mg/ml Taraxacum erhöhte den Anteil apoptotischer Zellen (subG1-Phase) nach 24 h bei SKOV-3 um 2 % und bei NIH:OVCAR-3 um 9 % (Abb. 4). Währenddessen hatte

eine Konzentration von 10 mg/ml Taraxacum keinen Einfluss auf die mitochondriale Viabilität bei beiden adulten Zelllinien. Erst 100 mg/ml Taraxacum konnte die Anzahl vitaler Mitochondrien in NIH:OVCAR-3-Zellen deutlich und in SKOV-3-Zellen gering reduzieren (Abb. 5).

3.2.2 Iscucine®

Der Mittelwert der IC₅₀-Konzentrationen aus dem MTT-Assay über das ganze adulte Zelllinienpanel hinweg betrug für Pini 0,301 mg/ml und für Tiliae 0,032 mg/ml. Gynäkologische Tumore sprachen sehr gut auf Tiliae an. Die Zelllinie NIH:OVCAR-3 (IC₅₀: 0,11 mg/ml) war im Vergleich zu SKOV-3 (IC₅₀: 0,85 mg/ml) empfänglicher für eine Behandlung mit Tiliae. Die Echtzeitanalyse ergab eine dosisabhängige Regression der Wachstumskurven unter Behandlung mit Tiliae. Die Resultate mit Pini bei der Zelllinie SKOV-3 sind jedoch unklar (Abb. 6, Abb. 7) und könnten auf das aggressive Wachstum der SKOV-3 zurückzuführen sein. Auch im Scratch-Wundheilungstest konnte durch keine der beiden applizierten Konzentrationen von Pini eine Migrationshemmung induziert werden (Abb. 3). Bei der Zelllinie NIH:OVCAR-3 konnte nach 48 h eine Migrationshemmung durch Pini

Abb. 4: Durchflusszytometrische Zellzyklusanalyse der Ovariakarzinomzelllinien NIH:OVCAR-3 und SKOV-3 und der Neuroblastomzelllinien SH-SY5Y und Kelly unter Behandlung mit Taraxacum (10 mg/ml und 100 mg/ml) nach 24 h. Es kam bei beiden Neuroblastomzelllinien zu einer signifikanten Verringerung der S-Phase unter Exposition mit 100 mg/ml Taraxacum. Eine Induktion von Apoptose, die durch eine Erhöhung des Anteils an Zellen in der subG1-Phase des DNA-Histogramms gekennzeichnet ist, konnte in allen vier Zelllinien detektiert werden. Für die Zelllinien SKOV-3 und SH-SY5Y konnte hierbei eine statistische Signifikanz im Vergleich zu unbehandelten Zellen erreicht werden.

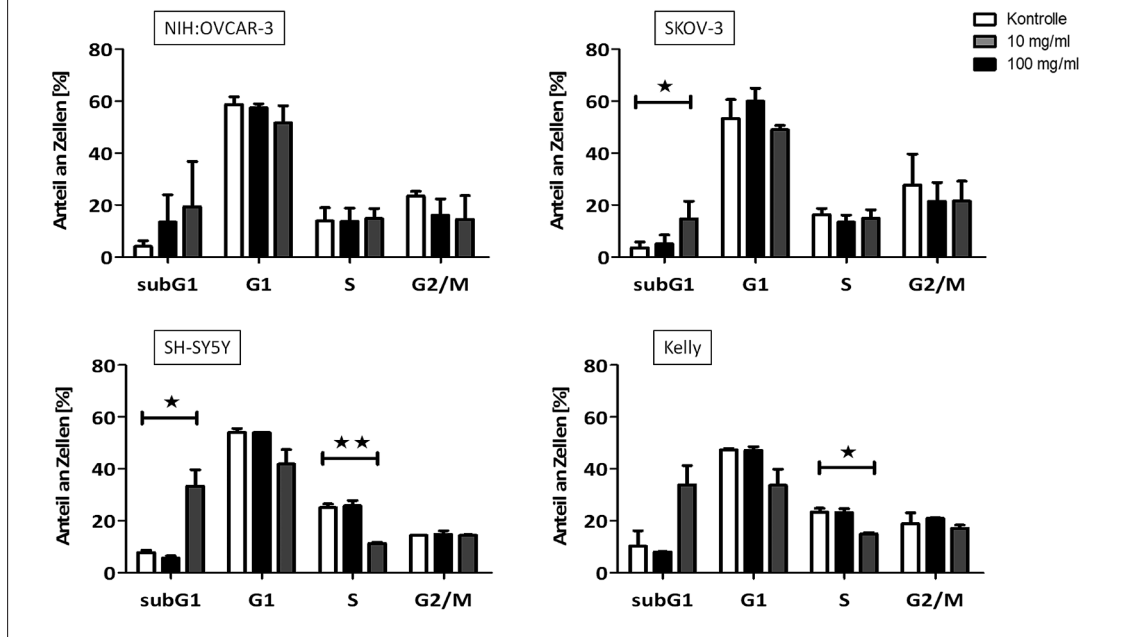
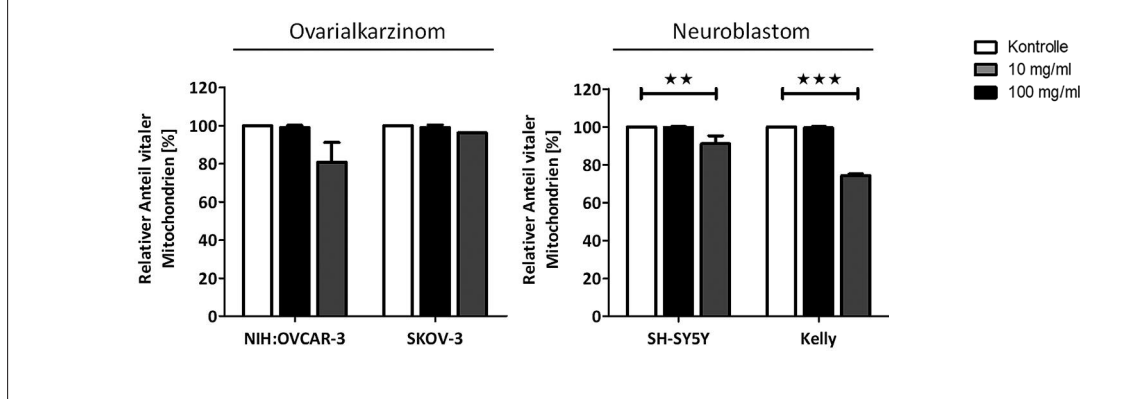


Abb. 5: Durch selektive Vitalfluorochromierung mithilfe des Farbstoffs MitoTracker® Deep Red konnte der relative Anteil an vitalen Mitochondrien 24 h nach Behandlung mit 10 mg/ml und 100 mg/ml Taraxacum im Vergleich zu unbehandelten Kontrollzellen ermittelt werden. In beiden Ovariakarzinomzelllinien konnte nur eine leichte Abnahme der mitochondrialen Integrität durch den Löwenzahnextrakt verzeichnet werden. In beiden Neuroblastomzelllinien konnte eine Konzentration von 100 mg/ml Taraxacum jedoch den Anteil vitaler Mitochondrien signifikant reduzieren.



einer Konzentration von 6,25 µg/ml (= Iscucin® Pini Stärke E) erzielt werden, die jedoch keine statistische Signifikanz erreichte. Hier blieben nach dieser Zeit 33 % der Flächen in den Kontrollen unverschlossen, während in den Pini behandelten Zellen eine offene Fläche von 42 % gemessen wurde. Durch eine Behandlung mit Tiliae der Stärke E (6,25 µg/ml) konnte in SKOV-3-Zellen nach 24 h und 48 h Beobachtungszeit eine signifikante Migrationshemmung verzeichnet werden (Abb. 3). Nach 48 h waren in den Kontrollen 6 % der Flächen unverschlossen und in den behandelten Proben 25 %. Bei NIH:OVCAR-3-Zellen waren nach dieser Zeit 70 % offene Bereiche vorhanden, während die behandelten Zellen 76 % unverschlossene Wundbereiche zeigten.

3.2.3 Kombinationsuntersuchung

Bei der Kombinationsbehandlung mit den beiden Mistelpräparaten stellte sich heraus, dass Kombinationen mit hohen Dosen von Taraxacum (200 mg/ml), die einen starken Einfluss auf die Zellviabilität hatten, zu synergistischen proliferationsinhibierenden Effekten führten (Tab. 3). Weiterhin wirkten insbesondere die Potenzstärken F und G der Mistelpräparate synergistisch in den Mischungsverhältnissen mit Taraxacum.

4. Schlussfolgerung

Obwohl Löwenzahn schon seit vielen Jahren als Heilpflanze verwendet wird, wurde sie bis dato vergleichsweise wenig erforscht. Die bisherigen Forschungsergebnisse

Abb. 6: Die Echtzeitzellanalyse zeigt bei Iscucin® Pini nur geringe Effekte auf die Ovarialkarzinomzelllinie NIH:OVCAR-3 und unklare Ergebnisse auf SKOV-3. Die pädiatrischen Neuroblastomzellen wurden dosisabhängig in ihrer Proliferation durch Iscucin® Pini gehemmt.

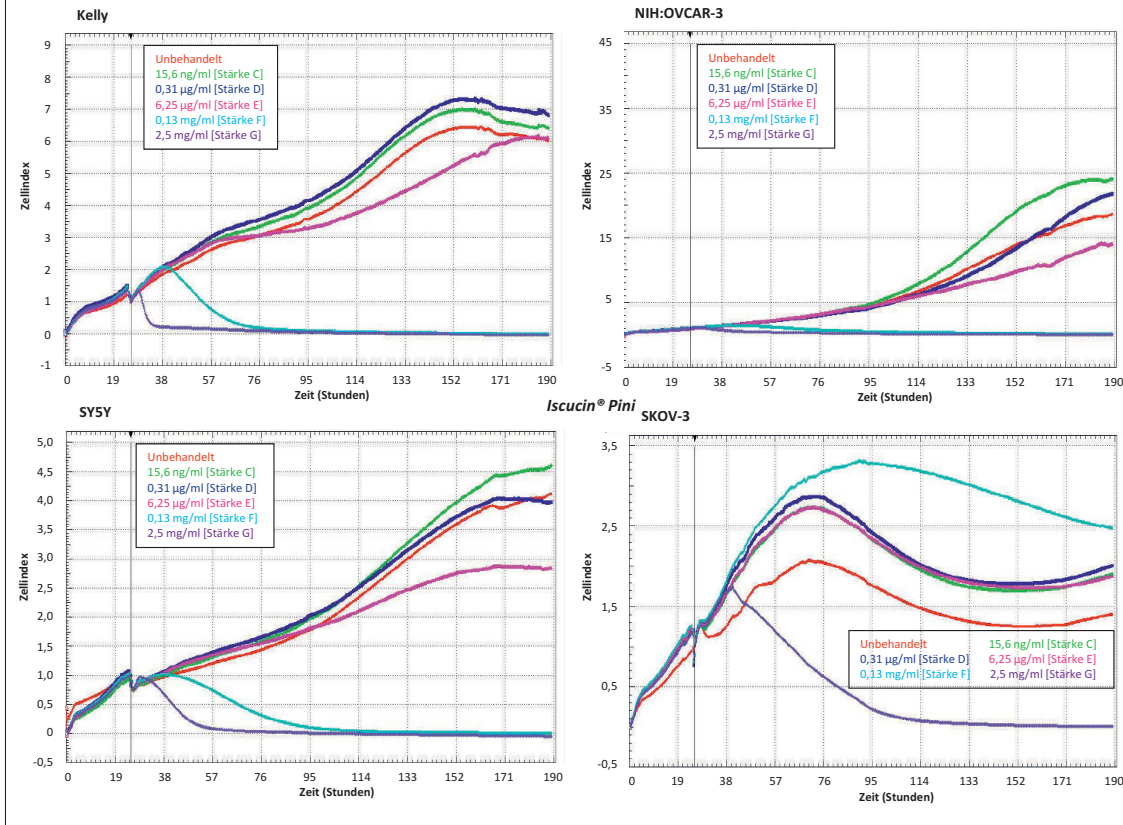
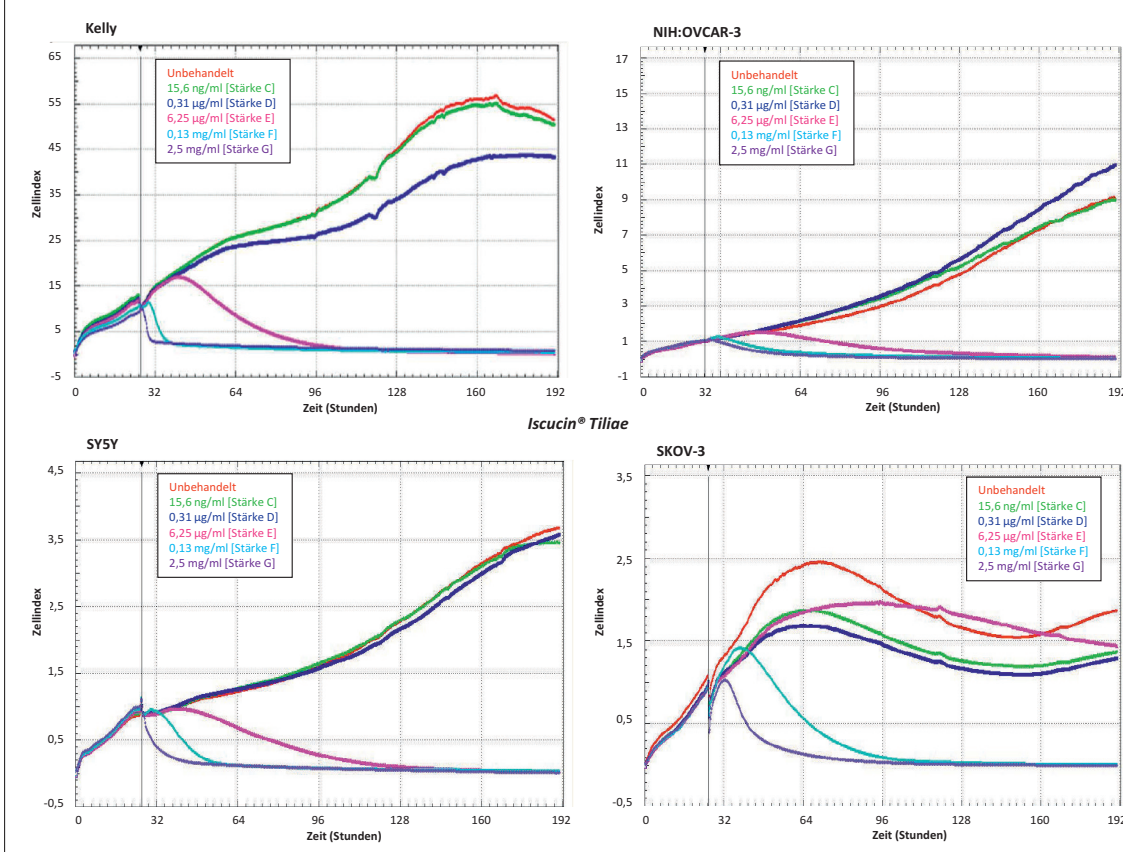


Abb. 7: Die Echtzeitzellanalyse zeigt einen dosisabhängigen Abfall der Wachstumskurven bei Behandlung mit Iscucin® Tiliae in allen getesteten Zelllinien.



Tab. 2: Eine Kombinationsbehandlung aus Löwenzahn (*Taraxacum e planta tota ferm 34c*) und den Mistelzubereitungen (*Iscucin® Tiliae*, *Iscucin® Pini*) führte insbesondere bei einem Anteil hoher Konzentrationen an Löwenzahnextrakt zu synergistischen zellviabilitätsreduzierenden Effekten auf Neuroblastomzellen (grau hinterlegt).

Taraxacum [mg/ml]	Iscucin® Pini/ Iscucin® Tiliae	Kombinationsindex (CI)			
		Iscucin® Pini	Iscucin® Pini	Iscucin® Tiliae	Iscucin® Tiliae
		Kelly	SH-SY5Y	Kelly	SH-SY5Y
10	Stärke C	3805,73	8,90x10 ⁸	1412,42	1,60x10 ⁸
10	Stärke D	1,80x10 ⁵⁸ (Ausreißer)	1,80x10 ⁸	154344,00	2,80x10 ⁹
10	Stärke E	80,39	3,71x10 ⁵	0,27	0,89
10	Stärke F	0,12	47,57	0,33	0,26
10	Stärke G	2,87	9,43x10 ⁵	10,72	9,70
100	Stärke C	0,46	0,25	0,41	0,18
100	Stärke D	0,53	0,25	0,32	0,18
100	Stärke E	0,33	0,27	0,12	0,25
100	Stärke F	0,18	0,34	0,40	0,50
100	Stärke G	1,75	1,86	5,85	6,97
200	Stärke C	0,21	0,46	0,19	0,33
200	Stärke D	0,22	0,46	0,19	0,33
200	Stärke E	0,23	0,46	0,20	0,34
200	Stärke F	0,32	0,54	0,41	0,65
200	Stärke G	3,15	2,45	8,82	11,44
	Median:	0,395	0,54	0,4	0,5

tate und explorativen klinischen Erfahrungen weisen auch auf eine Wirkung bei onkologischen Erkrankungen bzw. Tumorzellen hin. Die bisher publizierten Daten, welche über antitumorale Wirkungen von Löwenzahnpräparaten berichten, beruhen auf der Anwendung von wässrigen oder alkoholischen Auszügen verschiedener Pflanzenteile. Bislang gibt es noch keine Untersuchungen zu fermentierten Zubereitungen in der Onkologie. Durch die Fermentation kommt es nicht nur durch Ansäuerung zu einer Stabilisierung und Haltbarmachung der Zubereitung. Das Inhaltsstoffspektrum fermentierter Pflanzenextrakte unterscheidet sich von dem des nativen Auszugs. Es treten sensorische Veränderungen auf und Inhaltsstoffe werden durch Protein- und Stärkehydrolyse abgebaut. Parallel werden aliphatische Säuren, wie Milchsäure und Essigsäure, gebildet und sekundäre Inhaltsstoffe strukturell modifiziert (32, S. 9214–9220), (33, S. 21–29), (34, S. 663–681).

Als Ergebnis der vorliegenden Studien konnte gezeigt werden, dass die fermentierte Löwenzahnzubereitung *Taraxacum e planta tota ferm* zytotoxische Wirkungen auf adulte Tumorzelllinien aufweist. Das Ansprechen auf den Extrakt war allerdings von der Tumorentität abhängig. Gynäkologische Tumorzellen reagierten dabei insgesamt sensitiver auf die Behandlung mit *Taraxacum* als z. B. die Lungenkarzinomzelllinie A549 (IC₅₀: 160 mg/ml).

Eine Literaturrecherche ergab, dass auch Sigstedt et al. sowohl eine Proliferationshemmung als auch eine Reduktion der invasiven Eigenschaften von MCF-7-Zellen (Mammakarzinom) durch *Taraxacum*-Extrakt beobachteten (8, S. 1085–1090). Auch in der aktuellen Untersuchung wurden 50 % der MCF-7-Zellen durch 100 mg/ml *Taraxacum* in ihrer Proliferation gehemmt. Im Gegensatz

zu der IC₅₀ von 40 mg/ml fermentierter Löwenzahnzubereitung aus der ganzen Pflanze setzten 0,2 mg/ml wässriger-alkoholischer Blütenauszug die Zellviabilität von HeLa-Zellen signifikant herab (13). Ein wässriger Wurzelextrakt induzierte in humanen Pankreaskarzinomzelllinien dosis- und zeitabhängig Apoptose (9, S. 1039–1047) und hemmte Kolorektalkarzinomzellen in ihrer Proliferation um 95 %, ohne humane Fibroblasten zu schädigen (11, S. 73080–73100). Zellen des Pankreaskarzinoms und des Kolorektalkarzinoms wurden ebenfalls im MTT untersucht und jeweils ein IC₅₀-Wert von 105 mg/ml und 136 mg/ml ermittelt. In einer weiteren Studie wurde Apoptose in Huh7-Zellen induziert, zusätzlich wurde die Invasivität der Zelllinie gehemmt (10, S. 387–396). In der aktuellen Untersuchung erzielten 128 mg/ml *Taraxacum* eine halbmaximale Hemmung der Zellen. Des Weiteren löste die Löwenzahnzubereitung in hohen Dosen Apoptose durch mitochondriale Schädigung aus, was zur Hemmung der Proliferation und der Migration von Ovarialkarzinomzellen führte.

Bisher existieren keine Daten zur Wirkung von Löwenzahnzubereitungen auf pädiatrische Tumorzellen. Die vorliegenden Untersuchungen zeigten, dass eine wässrig-fermentierte Löwenzahnzubereitung in pädiatrischen Tumorzellen dosisabhängig proliferations- und migrationshemmend wirkt und dass wie bei den adulten Tumorzelllinien Apoptose durch mitochondriale Schädigung, allerdings ebenfalls nur bei einer hohen Dosierung, auslöst wird. Somit kann von einer direkten antitumoralen Wirkung ausgegangen werden. Ob jedoch die erforderlichen Konzentrationen auch *in vivo* erreicht werden können, muss an dieser Stelle unbeantwortet bleiben.

Tab. 3: Die simultane Behandlung der Zellen mit wässrig-fermentierter Zubereitung aus Löwenzahn (*Taraxacum e planta tota ferm 34c*) und Präparaten der Mistel (*Iscucin® Tiliae*, *Iscucin® Pini*) führte bei bestimmten Mischungsverhältnissen zu synergistischen anti-proliferativen Effekten ($CI < 1$, grau hinterlegt) auf Ovarialkarzinomzellen.

Taraxacum [mg/ml]	Iscucin® Pini/ Iscucin® Tiliae	Kombinationsindex (CI)			
		Iscucin® Pini	Iscucin® Pini	Iscucin® Tiliae	Iscucin® Tiliae
		NIH:OVCA-3	SKOV-3	NIH:OVCA-3	SKOV-3
0,1	Stärke C	0,2099	0,5743	1,2134	13,0984
0,1	Stärke D	4,0046	12,6408	34,1740	18,0440
0,1	Stärke E	21,4423	29,0348	0,9608	1,2479
0,1	Stärke F	0,1843	0,7856	0,6743	0,5964
0,1	Stärke G	0,0542	0,3359	2,0272	1,6459
1	Stärke C	2,2351	5,2831	2,1797	4,1128
1	Stärke D	2,1395	7,6702	10,0184	11,2926
1	Stärke E	5,3935	21,0387	1,1396	1,2002
1	Stärke F	0,2434	0,9403	0,5182	0,5111
1	Stärke G	0,0437	0,2344	0,8392	0,7209
10	Stärke C	3,3705	24,1363	6,5312	--
10	Stärke D	3,6317	25,0250	8,4433	25,4133
10	Stärke E	4,4454	25,8860	1,3321	1,5280
10	Stärke F	0,3153	1,4101	0,6040	0,6801
10	Stärke G	0,0659	0,4902	1,3981	1,3926
100	Stärke C	6,3948	14,4195	--	9,3587
100	Stärke D	6,0367	13,8388	8,8052	8,1076
100	Stärke E	5,8205	10,5542	1,5919	1,9578
100	Stärke F	0,6690	1,9537	0,5560	1,0244
100	Stärke G	0,1647	1,1534	1,1813	0,8421
200	Stärke C	0,1670	0,3287	0,2324	0,2672
200	Stärke D	0,1615	0,2956	0,2375	0,2145
200	Stärke E	0,2832	0,3150	0,5417	0,1867
200	Stärke F	0,3867	0,2959	1,0233	0,5499
200	Stärke G	0,2610	1,1597	2,1315	2,1020
	Median	0,387	1,682	1,197	1,320

Wie bereits in anderen Untersuchungen (35, S. 467–473), (36, S. 3485–3492), (37, S. 251–255), (38, S. 162–167), (39, S. 100–107) gezeigt werden konnte, hemmten beide eingesetzten *Iscucin®*-Präparate die Proliferation und die Migration der Tumorzellen. Dabei war *Iscucin® Tiliae* wirksamer als *Iscucin® Pini*.

Aus dem Kombinationsversuchen wurde deutlich, dass eine wässrig-fermentierte Löwenzahnzubereitung die Wirkung der Misteltherapie verstärken kann: Es konnte insgesamt eine synergistische Wirkung auf die Verminderung der Zellviabilität beobachtet werden. Diese Resultate sind in klinischen Untersuchungen zu untermauern.

Interessenkonflikte

Das Projekt wurde finanziell durch die WALA Heilmittel GmbH unterstützt.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. med. Tycho Jan Zuzak
Integrative Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke
Gerhard-Kienle-Weg 4, 58313 Herdecke
T.Zuzak@gemeinschaftskrankenhaus.de

Literatur

- Creutzig U, Zimmermann M, Hannemann J, Kramer I, Pfistner B, Herold R, Henze G. Quality management for clinical trials within the German Competence Network Paediatric Oncology and Haematology. *Onkologie* 2005; 28(6–7):333–336. DOI: <https://doi.org/10.1159/000085288>.
- Canete A, Gerrard M, Rubie H, Castel V, Di Cataldo A, Munzer C, Ladenstein R, Brichard B, Bermúdez JD, Couturier J, de Bernardi B, Pearson AJ, Michon J. Poor survival for infants with MYCN-amplified metastatic neuroblastoma despite intensified treatment: The International Society of Paediatric Oncology European Neuroblastoma Experience. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27(7): 1014–1019. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.5839>.
- Wu J, Sun H, Yang L, Deng Y, Yan Y, Wang S, Yang G, Ma H. Improved survival in ovarian cancer, with widening survival gaps of races and socioeconomic status: A period analysis, 1983–2012. *Journal of Cancer* 2018; 9(19): 3548–3556. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.26300>.
- Navo MA, Phan J, Vaughan C, Palmer JL, Michaud L, Jones KL, Bodurka DC, Basen-Engquist K, Hortobagyi GN, Kavanagh JJ, Smith JA. An assessment of the utilization of complementary and alternative medication in women with gynecologic or breast malignancies. *Journal of Clinical Oncology* 2004; 22(4): 671–677. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.04.162>.
- Laengler A, Spix C, Seifert G, Gottschling S, Graf N, Kaatsch P. Complementary and alternative treatment methods in children with cancer: A population-based retrospective survey on the prevalence of use in Germany. *European Journal of Cancer* 2008; 44(15): 2233–2240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.07.020>.

Fortsetzung nächste Seite

- 6** Maris B. Frauenheilkunde und Geburtshilfe: Grundlagen und therapeutische Konzepte der Anthroposophischen Medizin. Berlin: Salumed Verlag; 2012.
- 7** Koo HN, Hong SH, Song BK, Kim CH, Yoo YH, Kim HM. Taraxacum officinale induces cytotoxicity through TNF- α and IL-1 α secretion in Hep G2 cells. *Life Sciences* 2004;74(9): 1149–1157. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.07.030>.
- 8** Sigstedt SC, Hooten CJ, Callewaert MC, Jenkins AR, Romero AE, Pullin MJ, Kornienko A, Lowrey TK, Slambrouck SV, Steellant WF. Evaluation of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on growth and invasion of breast and prostate cancer cells. *International Journal of Oncology* 2008;32(5):1085–1090.
- 9** Ovadje P, Chockek M, Akbari-Asl P, Hamm C, Pandey S. Selective induction of apoptosis and autophagy through treatment with dandelion root extract in human pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2012;41(7):1039–1047. DOI: <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e31824b22a2>.
- 10** Yoon JY, Cho HS, Lee JJ, Lee HJ, Jun SY, Lee JH, Song HH, Choi S, Saloura V, Park CG, Kim CH, Kim NS. Novel TRAIL sensitizer *Taraxacum officinale* F.H. Wigg enhances TRAIL-induced apoptosis in Huh7 cells. *Molecular Carcinogenesis* 2016;55(4):387–396. DOI: <https://doi.org/10.1002/mc.22288>.
- 11** Ovadje P, Ammar S, Guerrero JA, Arnason JT, Pandey S. Dandelion root extract affects colorectal cancer proliferation and survival through the activation of multiple death signalling pathways. *Oncotarget* 2016;7(45): 73080–73100. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11485>.
- 12** Zhu H, Zhao H, Zhang L, Xu J, Zhu C, Zhao H, Lv G. Dandelion root extract suppressed gastric cancer cells proliferation and migration through targeting lncRNA-CCAT1. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017;93:1010–1017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.007>.
- 13** Bahrambeygi Y, Ahmadi R, Joshagani R. Anticancer effect of taraxacum officinale flower extract on cervical cancer cells. 11th Int. Conference on Agricultural, Chemical, Biological and Medical Sciences (ACBMS-18); May 1–2, 2018, Istanbul (Turkey): 102–103.
- 14** Blaschek W, Wichtl M, Bauer R, Buff W, Classen B, Heise EM, Hensel A (Hg). Wichtl – Teedrogen und Phytopharmaka. Ein Handbuch für die Praxis. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 2016.
- 15** Schütz K, Carle R, Schieber A. Taraxacum – A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology* 2006;107(3):313–323. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.021>.
- 16** Diederich K. *Taraxacum officinale*. Der Merkurstab 2007;60(6):566–571. DOI: <https://doi.org/10.14271/DMS-19177-DE>.
- 17** Diederich K, Fitger R. *Taraxacum*. In: *Vademecum Anthroposophische Arzneimittel*. 3. Aufl. München: Verlag der Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte in Deutschland; 2013: 710–712.
- 18** Sticher O. Isoprenoide als Inhaltsstoffe. In: Hänsel R, Sticher O, Steinegger E (Hg). *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2010: 737–832.
- 19** HMPC. Assessment report on *Viscum album L., herba*. London: European Medicines Agency (EMA), Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC); 2012.
- 20** Steiner R. Geisteswissenschaft und Medizin (Erster Ärztekurs). GA 312. Vortrag vom 02.04.1920. 7. Aufl. Dornach: Rudolf Steiner Verlag; 1999.
- 21** Urech K. Giftprozesse der Mistel – Eine Polarität. *Mistilteinn* 2001;2:44–55.
- 22** Kohl M, Bäcker C, Wurster M, Lindequist U, Meyer U, Stintzing F. Comparative investigation of monosaccharides and sugar alcohols in mistletoes (*Viscum album L.*) from different host trees. In: Scheer R, Alban S, Becker H, Blaschek W, Kemper FH, Kreis W, Matthes H, Schilcher H, Stange R (Hg). *Die Mistel in der Tumorthherapie 3*. Essen: KVC Verlag; 2013: 67–76.
- 23** Wurster M, Albrecht S, Lindequist U, Stintzing F. Comparative investigation of nucleosides in mistletoes (*Viscum album L.*) from different host trees. In: Scheer R, Alban S, Becker H, Beer AM, Blaschek W, Kreis W, Matthes H, Schilcher H, Spahn G, Stange R (Hg). *Die Mistel in der Tumorthherapie 4*. Essen: KVC Verlag; 2016: 77–85.
- 24** Gärtner T, Link K, Müller MB, Stintzing FC, Kammerer DR. Phenolic profiles of *Viscum album L.* subspecies from different host trees. In: Scheer R, Alban S, Becker H, Beer AM, Blaschek W, Kreis W, Matthes H, Schilcher H, Spahn G, Stange R (Hg). *Die Mistel in der Tumorthherapie 4*. Essen: KVC Verlag; 2016: 87–96.
- 25** Kunz C. Wirtsbäume der Mistel – Die Grundpolarität. *Der Merkurstab* 2008; 61(2): 123–128. DOI: <https://doi.org/10.14271/DMS-19222-DE>.
- 26** HAB. Homöopathisches Arzneibuch. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2016.
- 27** Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 1983;65(1–2):55–63. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- 28** Liang CC, Park AY, Guan JL. In vitro scratch assay: A convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature Protocols* 2007;2(2):329–333. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.30>.
- 29** Nicoletti I, Migliorati G, Pagliacci MC, Grignani F, Riccardi C. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Journal of Immunological Methods* 1991; 139(2):271–279. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(91\)90198-0](https://doi.org/10.1016/0022-1759(91)90198-0).
- 30** Chou TC. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacological Reviews* 2006;58(3):621–681. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.58.3.10>.
- 31** Chou TC. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Research* 2010; 70(2):440–446. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1947>.
- 32** Svensson L, Sekwati-Monang B, Lutz DL, Schieber A, Gänzle MG. Phenolic acids and flavonoids in nonfermented and fermented red sorghum (*Sorghum bicolor L.*) Moench. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010;58(16):9214–9220. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf101504v>.
- 33** Kuwaki S, Nakajima N, Tanaka H, Ishihara K. Plant-based paste fermented by lactic acid bacteria and yeast: Functional analysis and possibility of application to functional foods. *Biochemistry Insights* 2012;5:21–29. DOI: <https://doi.org/10.4137/BCI.S10529>.
- 34** Lorenz P, Stintzing F. Die Fermentation als innovatives Verfahren zur Gewinnung von wässrigen Arzneipflanzenauszügen. In: Meyer U, Pedersen PA (Hg). *Anthroposophische Pharmazie*. Berlin: Salumed Verlag; 2016: 663–681.
- 35** 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. DOI: <https://doi.org/10.14271/DMS-18580-DE>.
- 36** Zuzak TJ, Rist L, Eggenschwiler J, Grotzer MA, Viviani A. Paediatric medulloblastoma cells are susceptible to *Viscum album* (Mistletoe) preparations. *Anti-cancer Research* 2006;26(5A): 3485–3492.
- 37** Simões-Wüst AP, Hunziker-Basler N, Zuzak T, Eggenschwiler J, Rist L, Viviani A, Meyer U. Das Mistelpräparat Iscucin® Crataegi – Option für die Instillationstherapie bei Harnblasenkarzinom. *Der Merkurstab* 2007;60(3): 251–255. DOI: <https://doi.org/10.14271/DMS-19089-DE>.
- 38** Felenda J, Stintzing F. Die Misteltherapie als Behandlungsmöglichkeit beim equinen Sarkoid. *Pferde Spiegel* 2017; 20(04):162–168. Doi: <http://doi.org/10.1055/s-0043-119588>.
- 39** Felenda JE, Turek C, Stintzing FC. Antiproliferative potential from aqueous *Viscum album L.* preparations and their main constituents in comparison with ricin and purothionin on human cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology* 2019;236:100–107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.047>.