

## **Triterpene – eine vielversprechende und biologisch hochinteressante pflanzliche Stoffklasse**

Terpene gehören chemisch und pharmakologisch zu den interessantesten, vielfältigsten und bezüglich Substanz-«Familien» zu den am weitesten verzweigten sekundären Pflanzenstoffen überhaupt. Aus der flüchtigen ungesättigten Kohlenwasserstoff-Einheit Isopren (2-Methylbuta-1,3-dien) zaubern die sich verzweigenden Pflanzenfamilien durch zahlreiche chemische Bindungsvarianten eine Unzahl von Kohlenstoffgerüsten und funktionellen Gruppen hervor, was zu Hemi-, Mono-, Sesqui-, Di-, Tri-, Tetra- und Polyterpenen führt, die sich wie eine Art biochemisches Abbild des mannigfaltigen Lebens selbst darstellen. Das gilt für viele verschiedene Substanzen mit mannigfaltigen biologischen Eigenschaften, von flüchtigen ätherischen Ölen bis hin zu fest klebenden Harzen. Auch Steroide und ihre Abkömmlinge sind gewissermaßen abgeleitete Terpene (Triterpene).

In den letzten Jahren haben Triterpene vermehrt Beachtung gefunden. In diesem Journal Club werden vier aktuelle Arbeiten vorgestellt, die Einblicke in das mannigfaltige und für die Integrativmedizin sehr relevante Wirkpotenzial dieser Stoffe bieten wie z.B. das Review von Król et al. zu antitumorösen Eigenschaften des vorwiegend aus der Birkenrinde gewonnenen Triterpens Betulin. Konrad Urech, der die Studie kommentiert, ergänzt die Erkenntnisse durch Hinweise auf analoge Wirkungen von Triterpen-haltigen Mistelextrakten. Interessant ist die Vielfalt der Wege, auf denen durch diese Stoffe Tumorchemmung erreicht wird: Induktion von Apoptose, Hemmung von Topoisomerasen, Beeinflussung des Energiehaushalts der Tumorzellen, etc. Diese Eigenschaften werden in der In-vitro-Arbeit von Estko et al. durch die Wirkung eines Triterpen-reichen Mistelextrakts auf potenziell Tumor-assoziierte Makrophagen ergänzt. Interessant sind ferner die experimentelle Studie von Metelmann et al. über die Förderung der Wundheilung durch einen stark Betulin-haltigen topisch applizierten Birkenextrakt sowie die kontrollierte klinische Studie von Togni et al. über die Prävention von Strahlendermatitis durch ein Triterpen- (Boswelliasäure-)haltiges topisches Präparat aus dem Harz der indischen Weihrauchpflanze *Boswellia serrata*.

Das Erstaunliche bei einem solchen Einblick in die Pharmakologie dieser oder auch anderer Pflanzenstoffe ist die Vielfalt ihrer Wirkungswege, die verschiedenartigen molekularen Interaktionen, durch die diese Wege eingeschlagen werden, und die Tatsache, dass alle diese Wege wiederum komplex reguliert sind und letztlich in einem funktionellen Gesamtzusammenhang stehen, so z.B. die Tumorchemmung des Betulins durch Topoisomerase- und Proteinkinasehemmung sowie Apoptoseinduktion und möglicherweise Beeinflussung von tumorassoziierten Makrophagen; die Apoptoseinduktion wiederum durch Aktivierung der Caspasen 9 und 3 und 7 und durch eine Freisetzung von proapoptotischen Bcl2-Proteinen etc. Dabei sind die gehemmten oder aktivierten Prozesse wie Apoptose, Makrophagenakti-

vierung, pro- oder antiinflammatorische Prozesse, Wundheilung etc. stets komplex organisierte Prozesse, die ihrerseits zum Teil wiederum selbst in einem sinnvollen funktionellen Gesamtzusammenhang stehen können, so z.B. Tumorprävention oder -hemmung durch eine gegenseitige Ergänzung von Apoptose, Immunprozesse etc. Die pharmakologischen Wirkstoffe entfalten ihre Wirkung also nur im Kontext einer komplexen Organisation.

Das Wesentliche der pharmakologischen Wirkung ist dabei nicht der einzelne intermolekulare Prozess, den man gerne zur Abklärung des sogenannten Wirkmechanismus identifiziert, sondern die durch diesen ausgelöste komplexe organismische Leistung oder Teilleistung als Ganzes. Diese Leistung kann teilweise auf multiplen Wegen erreicht werden. Indem der organismische bzw. klinisch beabsichtigte Effekt durch solche Gesamtleistungen zustande kommt (z.B. Tumorchemmung, Wundheilung, Dermatitisprävention), verschiebt sich das medizinische Interesse von den molekularen Mechanismen auf die Gesamtleistungen im organismischen Kontext und die holistische Organisation. Damit wird die partikularistische Wirkstoff- und Rezeptorfrage zu einer holistischen Prozessfrage [1]. Pflanzenseitig wird diese Tatsache dadurch deutlich unterstrichen, dass es sehr oft nicht Monosubstanzen sind, die die entsprechenden Funktionsprozesse induzieren, sondern Wirkstoffgemische – so auch bei den Triterpenen. Ob Triterpene von der Mistel, Birken oder Weihrauchrauchpflanze: es sind stets mehrere «Verwandte», deren Verwendung als «familiäre» Komposition pharmakologisch sehr sinnvoll sein kann, wie die erwähnten Studien zeigen. Mit anderen Worten: Ganzheitliches Denken ist vom botanischen, biochemischen, pharmakologischen und klinischen Gesichtspunkt angesagt! Mit ganzheitlicher Regulation und ganzheitlichem Denken hängt allerdings auch die bekannte Tatsache zusammen, dass – wie Kommentator Arndt Büsing bemerkt – aus der in Zellen bzw. in der Zellkultur festgestellten Wirkung nicht die Wirkung im Organismus vorausgesagt werden kann.

Von der holistischen Perspektive aus ist interessant, dass der Einsatz der hier besprochenen Pflanzen für einige der erwähnten oder mit ihnen eng verwandten Indikationen ursprünglich aus einem ganzheitlichen Denken entsprungen ist, nämlich in der Komplementärmedizin. *Boswellia* stammt aus der ayurvedischen Medizin und wird seit Jahrhunderten gegen entzündliche Krankheiten, z.B. Osteoarthritis, sowie bei anderen, mit Inflammation und Gewebeschwellung einhergehenden Prozessen verwendet, wie Kommentator Marc Schlaeppli berichtet. Die Begründung der Indikation erfolgte damals, sofern sie nicht bloßes Erfahrungswissen darstellte, mit Bestimmtheit nicht molekularbiologisch-pharmakologisch, sondern im Rahmen der ganzheitlichen ayurvedischen Anthropologie. Die Mistel wurde vor ca. 100 Jahren durch die anthroposophische Medizin auf Empfehlung Rudolf Steiners in die Krebstherapie eingeführt, und zwar nicht aufgrund von pharmakologischem Wissen über Lektine, Polysaccharide und Triterpene mit ihren jeweiligen molekularbiologischen Interaktionen, die damals noch gar nicht bekannt sein konnten. Steiner wies zwar bereits auf Substanzen der Mistel hin, aber ohne Spezifikation und nur sehr vage, so auf toxische und ferner auf eine «leimartige Substanz», die für die Tumorstoffe verarbeitet werden müsse [2]. Die Begründung für die Tumorstoffe der Mistelsubstanzen gab er nicht im

Sinne von physisch-molekularen Mechanismen, sondern so, dass durch die Mistelsubstanzen Prozesse in der ganzheitlichen organismischen Regulation angestoßen würden, kausal bewirkt durch «ätherische» Prozesse und ihre Gesetze [2]. Und ähnlich ist es mit der ganzheitlichen Begründung der Verwendung der Birkenrinde für die Therapie gewisser Hautkrankheiten, wie Kommentator Roman Huber referiert.

So haben wir den interessanten Tatbestand, dass die konzeptionelle Begründung phytotherapeutischer Maßnahmen einerseits ohne spezielle Stoffkenntnis im Sinne der heutigen Pharmakologie auf ganzheitlichen Konzepten der Komplementärmedizin fußen kann und dass andererseits die naturwissenschaftliche Detailanalyse pharmakologische Substanzwirkungen zutage fördert, die im Kontext gesehen wiederum ganzheitlichen Charakter annehmen und die komplementäre Ratio betätigen, aber gegebenenfalls auch falsifizieren können. Schul- und Komplementärmedizin liegen möglicherweise näher beieinander als mancher Skeptiker denkt. So sind z.B. die in der Mistel aufgefundenen Lektine und Polysaccharide in der Tat toxisch, und die Triterpene der Mistel finden sich tatsächlich in der lipophilen, leimartigen Substanz, die in den kommerziell erhältlichen Mistelextraktionen wegen den wässrigen Extraktionsverfahren allerdings kaum vorhanden ist. Deswegen kann ein sorgfältiges Durchdenken des Begründungswissens der Komplementärmedizin einerseits sowie dessen Übersetzung in die Konzepte der Schulmedizin auf der Basis der naturwissenschaftlichen Empirie andererseits auch in traditionellen komplementären Verfahren neue therapeutische Innovationen zeitigen. Die hier vorgestellten Arbeiten sind alle implizit oder explizit mit der Zielsetzung durchgeführt, neue therapeutische Strategien oder Indikationsgebiete integrativer Therapien im gemeinsamen Geist von Komplementär- und Mainstreammedizin zu entwickeln.

*Peter Heusser, Witten/Herdecke*

### Literatur

- 1 Talbott SL: Promising Themes in Molecular Biology. In Context 2011;26:3–8.
- 2 Steiner R: Geisteswissenschaft und Medizin. Vortrag vom 2.4.1920, Rudolf Steiner online Archiv, ed 4, 2010. <http://anthroposophie.byu.edu/vortraege/312.pdf> (Zugriff 30.09.2015).

### **Król SK, Kielbus M, Rivero-Müller A, Stepulak A: Comprehensive review on betulin as a potent anticancer agent. Biomed Res Int 2015;2015:584189.**

Numerous plant-derived substances, and their derivatives, are effective anti-tumour and chemopreventive agents. Yet, there are also a plethora of tumour types that do not respond, or become resistant, to these natural substances. This requires the discovery of new active compounds. Betulin (BE) is a pentacyclic triterpene and secondary metabolite of plants abundantly found in the outer bark of the birch tree *Betulaceae* sp. BE displays a broad spectrum of biological and pharmacological properties, among which the anticancer and chemopreventive activity attract most of the attention. In this vein, BE and its natural and synthetic derivatives act specifically on cancer cells with low cytotoxicity towards

normal cells. Although the antineoplastic mechanism of action of BE is not well understood yet, several interesting aspects of BE's interactions are coming to light. This review will summarize the anticancer and chemopreventive potential of BE in vitro and in vivo by carefully dissecting and comparing the doses and tumour lines used in previous studies, as well as focusing on mechanisms underlying its activity at cellular and molecular level, and discuss future prospects.

### **Kommentar – Konrad Urech, Arlesheim**

In der chemischen Ordnung der pflanzlichen Terpene – von den Hemiterpenen über die Mono- und Sesquiterpene, unter denen viele ätherische Öle zu finden sind, zu den Di- und Triterpenen, die be-

sonders als Harzbestandteile bekannt sind, über die Carotinoiden als Tetraterpene bis hin zum Kautschuk als Vertreter der Polyterpene – finden sich viele pharmakologisch interessante Substanzen. Eine besonders große Vielfalt von pharmakologischen Wirkungen ist mit der mittleren Gruppe der Triterpene, insbesondere den pentazyklischen Triterpenen, verbunden. Unter dieser Vielfalt der Wirkungen findet besonders das krebshemmende und chemoprotektive Potenzial große Aufmerksamkeit. Dies zeigt sich auch im Review der polnisch-finnischen Arbeitsgruppe um Sylwia Katarzyna Król, die aus der reichen Welt der Triterpene die Substanz Betulin, ein pentazyklisches Triterpen vom Lupan-Typ, herausgreift und die Resultate zu dessen antineoplastischen Wirksamkeit zusammenfasst haben.

Die weitaus größte Zahl der Publikationen betrifft die antiproliferative Wirkung des Betulin. Eine Vielzahl von Tumorzellen (Zelllinien und Primärzellen), darunter auch Chemotherapie-resistente Zelllinien, werden in einem Dosisbereich von ng/ml bis zu vielen µg/ml in ihrem Wachstum gehemmt. Die Sensitivität von nicht-transformierten Zellen scheint meist viel geringer zu sein. Eine Hemmung der Migration der Zellen verschiedener Krebszelllinien und auch antiangiogenetische Effekte konnten in-vitro und im murinen Melanom-Modell nachgewiesen werden. Schließlich bestehen eindruckliche In-vivo-Resultate zur Hemmung der Karzinogenese und Mutagenese.

Die Analyse der molekularen Wirkmechanismen, die diesen antitumoralen Effekten zugrunde liegen könnten, ergab folgende Resultate:

1. Betulin induziert den apoptotischen Zelltod auf Mitochondrien-abhängigem, intrinsischem Wege. Unter anderem wurde eine entsprechende Aktivierung der Caspasen 9, 3 und 7, eine Freisetzung von Cytochrom C und Smac-Proteinen aus den Mitochondrien und eine Translokation von proapoptotischen Bcl2-Proteinen in die Mitochondrien gemessen.
2. Betulin hemmt spezifisch die Topoisomerase und die zyklische AMP-abhängige Proteinkinase, Letztere als ein Schlüsselenzym für verschiedene zelluläre Prozesse wie Metabolismus, Zellteilung, Genexpression und Entwicklung.
3. Proteom-Analysen zeigten, dass der Energiehaushalt der Zellen einen Angriffspunkt für das Betulin darstellt. Dieses Resultat könnte sich durchaus im Zuge der zunehmenden Bedeutung der metabolischen Grundlagen eines ungezügelter Zellwachstums [1] als eine wichtige Beobachtung erweisen.
4. Als Grundlage für die protektiven Wirkungen des Betulin werden antioxidative Eigenschaften (Hemmung der Bildung freier Radikale), Hemmung von Cytochrom P450 und Stimulierung der Interferonbildung (zur DNA-Reparatur) vermutet.

Damit liegt ein ganzes Spektrum von überraschend unterschiedlichen Wirkungen vor, die auf ein antitumorales Potenzial von Betulin hinweisen.

Am Menschen kamen bisher ausschließlich Extrakte aus der äußeren Rinde, meist von *Betula pendula* zum Einsatz. Mit den bestehenden Resultaten zur klinischen Anwendung verlassen wir also das Gebiet des reinen Betulins. Wohl enthielten diese Extrakte im typischen Fall ca. 97% Triterpene und davon 87% Betulin, zusätzliche Komponenten aber waren die Triterpene Betulinsäure, Lupeol, Oleanolsäure und Erythrodiol, die wohl in geringeren Mengen

wirkten, jedoch ebenfalls ein breites pharmakologisches Potential aufweisen. Die oben dargestellte Multitarget-Wirkung des Betulins findet also eine Ergänzung durch das pharmakologische Potenzial der pflanzengeprägten Komposition zusätzlicher Wirkkomponenten im Pflanzenextrakt. Additive, synergistische, antagonistische und zusätzliche Wirkungen müssen im Hinblick auf diese Beobachtungen ins Auge gefasst werden. Tatsächlich werden In-vitro-Daten angeführt, die zeigen, dass betulinreiche Birkenrindenextrakte ein größeres pharmakologisches Potenzial aufweisen als reines Betulin. In einer Fallserie-Studie berichteten die Autoren über Remissionen von Basalzellkarzinomen unter topischer Applikation eines triterpenreichen Harzextraktes aus *Viscum album* [2]. Dieser Extrakt enthielt unter anderem auch die im Birkenextrakt vorhandene Oleanolsäure, Betulinsäure sowie Lupeol, jedoch kein Betulin [3]. Damit wird deutlich, dass die Bedeutung der begleitenden Substanzen des Birkenrindenextraktes nicht unterschätzt werden darf. Tatsächlich führte die topische Anwendung eines Birkenrindenextraktes zur Remission von aktinischer Keratose. Der Erfolg bei dieser als nicht-invasives Carcinoma in-situ betrachteten Indikation war vergleichbar mit dem einer Standard-Kryotherapie. Begleitende Untersuchungen zur Anwendungssicherheit zeigten die Unbedenklichkeit des Extraktes. Dies entspricht den bereits bekannten geringen Toxizitäten der einzelnen gemessenen Triterpenkomponenten.

Keinen Eingang in den vorliegenden Review fand die wundheilende Wirkung von Betulin und Birkenrindenextrakt (in-vitro [4] und in-vivo [5]). Wundheilung entspricht nicht einer antitumoralen Wirkung. Trotzdem darf dieser Effekt bei der Behandlung von Hautkarzinomen nicht vernachlässigt werden – kann die Regeneration der Haut doch eine wichtige Komponente in dieser Multitarget-Wirkung von Betulin und Birkenrinden-Extrakten auch bei karzinomatösen Hautläsionen zur Restitutio ad integrum sein.

## Literatur

1. Borouh LK, DeBerardinis RJ: Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth. *Nat Cell Biol* 2015;17:351–359.
2. Kunz C, Heiligtag HR, Hintze A, Urech K: Topische Behandlung des Basalzellkarzinoms mit *Viscum album*, lipophiler Extrakt 10%, Unguentum – eine Fallserie-Studie; in Scheer R, Alban S, Becker H et al. (eds): Die Mistel in der Tumorthherapie 3. Aktueller Stand der Forschung und klinische Anwendung. Essen, KVC, 2013, pp 315–322.
3. Urech K, Scher JM, Hostanska K, Becker H: Apoptosis inducing activity of viscin, a lipophilic extract from *Viscum album* L. *J Pharm Pharmacol* 2005;57:101–109.
4. Ebeling S, Naumann K, Pollok S, Wardecki T, Vidal-Y-Sy S, Nascimento JM, Boerries M, Schmidt G, Brandner JM, Merfort I: From a traditional medicinal plant to a rational drug: understanding the clinically proven wound healing efficacy of birch bark extract. *PLoS One* 2014;22:e86147.
5. Metelmann HR, Brandner JM, Schumann H, Bross F, Fimmers R, Böttger K, Scheffler A, Podmelle F: Accelerated reepithelialization by triterpenes: proof of concept in the healing of surgical skin lesions. *Skin Pharmacol Physiol* 2015;28:1–11.

*Address for Reprints:* Sylwia Katarzyna Król, MSc, Chair and Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical University of Lublin, Ulica Witolda Chodźki 1, 20-093 Lublin, Poland, [sylwia.krol15@wp.pl](mailto:sylwia.krol15@wp.pl)

*Kontaktadresse:* Dr. sc. nat. Konrad Urech, Institut Hiscia, Verein für Krebsforschung, Kirschweg 9, 4144 Arlesheim, Schweiz, [k.urech@vfk.ch](mailto:k.urech@vfk.ch)

**Estko M, Baumgartner S, Urech K, Kunz M, Regueiro U, Heusser P, Weissenstein U: Tumour cell derived effects on monocyte/macrophage polarization and function and modulatory potential of *Viscum album* lipophilic extract in vitro. BMC Complement Altern Med 2015;15:130.**

*Background:* Macrophages are highly versatile cells that play an important role in tumour microenvironment. Tumour associated macrophages (TAMs) have been linked to both, good or bad prognosis of several cancer types depending on their number, composition and polarization. *Viscum album* lipophilic extract (VALE) contains several pentacyclic triterpenes known to modulate the activity of monocytes and other immune cells and to exhibit anticancer properties. In our in vitro study, we investigated the effect of tumour cell lines on macrophage polarization and monocyte chemotactic transmigration and examined the modulatory potential of VALE and its predominant triterpene oleanolic acid (OA).

*Methods:* Human peripheral blood monocytes were differentiated into monocyte derived macrophages (MDM) using M-CSF and polarized into M1 by IFN- $\gamma$  and LPS and into M2 macrophages by IL-4 and IL-13 or by co-culture with two different tumour cell lines. Polarized macrophages were subsequently treated with VALE or OA. Phenotypic markers and cytokines were assessed by flow cytometry and immunoanalysis. Migration of human peripheral blood monocytes induced by monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) or supernatants of different tumour cell lines under the influence of VALE or OA was measured in a chemotaxis transmigration assay.

*Results:* In vitro polarized M1 and M2 type macrophages revealed specific phenotypic patterns and tumour cell co-cultured MDM displayed ambiguous phenotypes with M1 as well as M2 associated markers. VALE and OA showed modest influence on cell surface marker profile and cytokine expression of tumour cell co-cultured macrophages. All tumour cell supernatants markedly enhanced the migratory activity of monocytes. VALE and OA significantly inhibited MCP-1 induced monocyte transmigration, whereas monocyte migration initiated by tumour cell derived supernatants was not affected.

*Conclusions:* In our study we reconfirmed that co-culture with different tumour cell lines can result in a mixed macrophage phenotype with M1 as well as M2 patterns, a finding that is important for a better understanding of tumour microenvironment functions. Moreover, we demonstrated that VALE shows slight immunomodulatory effects on tumour cell co-cultured macrophages and modulates monocyte chemotactic transmigration in vitro, indicating promising possibilities of triterpenes from *Viscum album* L. to contribute in a multimodal concept of anti-cancer therapy in future. Our data contribute to an understanding of monocyte function and macrophage polarization in vitro and of the possibility to influence their behaviour by triterpene containing mistletoe extracts.

### **Kommentar – Arndt Büssing, Herdecke**

Nachdem die zytotoxischen Glykoproteine aus *Viscum album*, die sogenannten Mistellektine, die Forschung jahrelang dominiert haben und auch die zytotoxischen Viscotoxine eher ein Schattendasein in der Außenwahrnehmung fristeten, gerieten hin und wieder auch andere Inhaltsstoffe in das Zentrum des Interesses verschiedener Arbeitsgruppen. Da die kommerziell erhältlichen Mistelgesamtextrakte entweder auf der Grundlage wässriger, fermentierter oder mazerierter Auszüge hergestellt sind und dementsprechend hydrophile Inhaltsstoffspektren dominieren, liegt nun ein alternativer Ansatz mit einem lipophilen Extrakt aus *V. album* vor, der verschiedene pentazyklische Triterpene (unter anderem Oleanolsäure) enthält. Diese Substanzgruppe erscheint auch in anderen Zusammen-

hängen interessant, da sie die Tumor-Apoptose indizieren kann und zudem anti-angiogenes und anti-inflammatorisches Potenzial hat. Lipophile Extrakte aus der Mistel wurden in den letzten 10 Jahren erfreulicherweise immer öfter untersucht, da sie beachtenswerte Wirkungen in verschiedenen In-vitro-Experimenten zeigten.

Für den Forschungsansatz ist es wichtig, den theoretischen Hintergrund grob zu beschreiben: Makrophagen sind für das Mikroenvironment von Tumoren bedeutsam und können ihren (funktionalen) Phänotyp entsprechend ändern. Man unterscheidet aktivierte pro-inflammatorische M1- und aktivierte immunsuppressive M2-Makrophagen. Die M2-Variante Tumor-infiltrierender Makrophagen ist mit allerlei ungünstigen Zuständen assoziiert (z.B. Induktion der Angiogenese oder Metastasen-Wachstum) und daher eher «unerwünscht». Der Monocyte Chemotactic Factor-1 (MCP-1) ist für diese Anlockung der Monozyten/Makrophagen und ihre Tumordinfiltration und die damit assoziierte Tumordiversion bedeutsam.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Auswirkung von löslichen Tumorzell-Faktoren aus den Überständen von Tumorzellkulturen auf die Polarisierung und Funktion von Monozyten/Makrophagen untersucht werden sowie das immunmodulierende Potenzial eines lipophilen Mistelextraktes (VALE) bzw. des Triterpens Oleanolsäure (OA) auf die immunkompetenten Zellen. Hierzu wurden CD14+ Monozyten aus dem Vollblut von 11 gesunden Personen extrahiert und mit M-CSF kultiviert. Um die später zu Makrophagen differenzierten Zellen zu polarisieren, wurde Interferon- $\gamma$  und Lipopolysaccharid für M1 sowie Interleukin-4 und Interleukin-13 für M2 verwendet; Zellen, die ohne diese Polarisationsmedien gehalten wurden (M0), sind als Kontrollen zum Einsatz gekommen. Mithilfe der Überstände aus Tumorzellkulturen, die verschiedene Tumor-assoziierte Faktoren enthalten, wurden die aus den Monozyten entstandenen Makrophagen ebenfalls polarisiert. Später wurden den M2- oder Tumorzell-polarisierten Makrophagen der Mistelextrakt, OA oder Medium (als Kontrolle) zugegeben; M0- und M1-Kulturen erhielten nur Nährmedium. Der Fokus auf M2-Makrophagen erschließt sich nur vor dem Hintergrund, dass eine Tumordinfiltration mit genau diesen Zellen mit einer schlechteren Prognose einhergeht.

Untersucht wurden die entsprechenden Kulturen hinsichtlich 1) Oberflächenmarker auf Makrophagen (CD11b, CD14, CD36, CD206, CD40, HLA-DR); 2) Zytokine (Tumornekrosefaktor- $\alpha$ , Interleukin-6, Interleukin-10) in den Zellkulturüberständen; 3) Transmigration/Chemotaxis der Monozyten nach Stimulation mit und ohne MCP-1 als Positivkontrolle; 4) Viabilität der Makrophagen.

Und was kam nun raus? Nun, zunächst das Mistelextrakt-Unterschiedliche: Pro-inflammatorische M1-Makrophagen exprimieren verstärkt den Marker CD11b und sezernieren IL-6, während immunsuppressive M2 Makrophagen vermehrt CD11b, CD36, CD206 und HLA-DR exprimieren. Mit Tumorzellen co-kultivierte Makrophagen exprimierten CD14 stärker als M1-, M2- oder M-CSF-polarisierte Makrophagen. Hier zeigte sich eine Mischung des M1/M2-Phänotyps – also keine eindeutige Polarität, wie sie didaktisch so hilfreich ist.

In Bezug auf die Mistelextrakt-spezifischen Experimente mit 3-tägiger Kultivierung der Immunzellen in Anwesenheit von VALE (25 µg/ml) oder OA (2,5 µg/ml) zeigten sich keine signifikanten Änderungen der Makrophagen-Oberflächenmarker oder der Zytokinfreisetzung durch M2-Makrophagen.

Im Vergleich zur Kontrolle war die TNF- $\alpha$ -Produktion in Makrophagen, die mit Brustkrebszellen co-kultiviert waren, in Anwesenheit von VALE und OA signifikant höher – aber nur in einer von zwei Zelllinien.

Während die Transmigration von Monozyten durch Tumorzell-Überstände zu verstärken war, wurde die MCP-1-induzierte Migration durch VALE und OA signifikant gehemmt. Sie selbst verstärken die spontane Chemotaxis nicht, für OA war sie sogar etwas niedriger als die spontane Transmigration. Die Viabilität der Monozyten wurde durch VALE oder OE nicht beeinträchtigt. Da nur jeweils eine Konzentration für VALE und OA getestet wurde (die sich in Voruntersuchungen als effektiv, aber nicht zytotoxisch erwiesen hatten), ist eine Wertung des Befundes, dass die Migrationshemmung durch OA stärker war als durch den Gesamtextrakt und diese damit die Hauptkomponente der Monozyten-Migrations-Beeinflussung sei, nicht direkt schlüssig. Auch wenn OA im lipophilen Mistelextrakt mit 9% sicherlich dominiert, könnten weitere Inhaltsstoffe ebenfalls bedeutsam sein.

Und was haben wir nun – unabhängig von den interessanten, aber nicht völlig neuen Erkenntnissen zur M1/M2-Polarisierung – über die Mistelwirkungen auf Monozyten/Makrophagen im Reagenzglas gelernt (von Tumor-infiltrierenden Zellen kann ja bei dem Versuchsansatz nicht die Rede sein)? Zumindest, dass ein lipophiler Extrakt in Bezug auf das untersuchte In-vitro-Modell die Einschränkung einer indizierten Monozyten-Migration zur Folge haben kann und dass bei manchen (Brustkrebs-)Zelllinien TNF- $\alpha$  ausgeschüttet werden könnte (wobei die Bedeutung dieses Befundes eher spekulativ ist). Eine Veränderung des Tumormikroenvironments wäre ein wichtiger Wirkmechanismus pflanzlicher Inhaltsstoffe und die Hemmung der MCP-1 induzierten Monozyten-Migration durch den lipophile Mistelextrakt entsprechend bedeutsam, wenn eine Monozyten/Makrophagen-Infiltration und eine damit möglicherweise einhergehende Tumorprogression auch in Tiermodellen reduziert werden könnte. Ein wichtiger Schritt zur Begründung weiterer Experimente ist sicherlich gemacht. Auf der anderen Seite: Auch mit den vielbeforschten Mistellektionen konnten in-vitro eindrucksvolle Befunde erhoben werden, die in einer klinischen Situation aber nicht wirklich zu reproduzieren waren. Das spricht zwar nicht gegen die Verwendung von Mistelextrakten, aber dafür, dass noch viele Arbeitsgruppen mit kreativen Forschungsansätzen notwendig sind.

*Address for Reprints:* Myriam Estko, Alfred-Herrhausen-Straße 50, 58448 Witten, Deutschland, myriam.estko@uni-wh.de

*Kontaktadresse:* Prof. Dr. med. Arndt Büssing, Gerhard-Kienle-Weg 4, Universität Witten/Herdecke, 58313 Herdecke, Deutschland, arndt.buessing@uni-wh.de

**Metelmann HR, Brandner JM, Schumann H, Bross F, Fimmers R, Böttger K, Scheffler A, Podmelle F: Accelerated reepithelialization by triterpenes: proof of concept in the healing of surgical skin lesions. Skin Pharmacol Physiol 2015;28:1–11.**

The acceleration of wound healing is a major surgical concern. A triterpene extract from birch bark (*Betulae cortex*) experimentally enhances keratinocyte differentiation in vitro and accelerates wound healing ex vivo. We conducted an open, blind-evaluated, controlled, prospective, randomized (1:1) phase II clinical trial in patients requiring split-thickness skin graft transplantation at two university hospitals in Germany. Donor sites on the upper legs were covered with a moist silicone-coated dressing. Oleogel-S10 ointment containing 10% birch bark extract was randomly applied to the distal or proximal half of the wound, with the other half serving as an intraindividual control, for 14 days after the skin graft surgery. The primary efficacy variable was faster reepithelialization as determined from macrophotographs by independent, blinded experts. Twenty-four patients were randomized and completed the trial. After the 14-day test period, the planned interim analysis revealed a highly significant ( $p < 0.0001$ ) superiority of Oleogel-S10 in the primary efficacy variable and the trial was terminated early due to ethical concerns. The treatment side was also better reepithelialized and more similar to normal skin after 3 months. In conclusion, Oleogel-S10 significantly accelerated reepithelialization at split-thickness skin graft donor sites. Treatment with Oleogel-S10 was safe and well tolerated.

**Commentary – Roman Huber, Freiburg**

The triterpene extract from birch bark used in the study was developed following a suggestion from Rudolf Steiner, the founder of anthroposophy. He stated 1920 that birch bark would be useful for the treatment of skin diseases [1]. It was the intuition of Armin Scheffler to relate this suggestion to Betulin, the white powder which occurs in about 22% in birch bark. He and his colleagues worked for years on appropriate solvents and finally succeeded in manufacturing a stable Betulin-oleogel (Oleogel-S10) for the proper use as cream.

The present study was planned as phase-II clinical trial with a maximum number of 80 patients. According to an interim analysis after 20 patients, the final sample size calculation was adjusted to 24 patients. Oleogel-S10 was applied with a moist standard wound dressing; control treatment was the wound dressing alone. Blinding with a vehicle control was regarded as not feasible because the vehicle (sun flower oil) had a different viscosity. The investigator-blinded intra-individual comparison on day 14 after surgery revealed a faster wound reepithelialization with Oleogel-S10 (2 control better, 2 undecided) in 20 out of 24 patients of the interim analysis (no drop out). This well-designed study therefore demonstrates efficacy of Oleogel-S10 in treatment of split-thickness skin graft donor sites. The study not only provides proof of concept in healing surgical skin lesions but also proof of concept of anthroposophic medicine. Emerged from the notion of a holistic spiritual view on nature and human disease the birch bark extract has now proven to be efficacious in improving wound healing. Whether it will keep up with other substances like PVP-iodine will, however, have to be clarified in further studies.

## References

- 1 Steiner R: Geisteswissenschaft und Medizin. Vortrag vom 2.4.1920, Rudolf Steiner online Archiv, ed 4, 2010. <http://anthroposophie.byu.edu/vortraege/312.pdf> (Zugriff 30.09.2015).

*Address for Reprints:* Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Hans-Robert Metelmann, Department of Oral and Maxillofacial Surgery/Plastic Surgery, Medical School, Greifswald University, Ferdinand-Sauerbruch-Straße (Haus G, Ebene 0), 17475 Greifswald, Germany, metelman@uni-greifswald.de

*Kontaktadresse:* PD Dr. Roman Huber, Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene, Uni-Zentrum Naturheilkunde, Universitätsklinikum Freiburg, Breisacher Straße 115b, 79106 Freiburg, Deutschland, roman.huber@uniklinik-freiburg.de

### **Togni S, Maramaldi G, Bonetta A, Giacomelli L, Di Piero F: Clinical evaluation of safety and efficacy of Boswellia-based cream for prevention of adjuvant radiotherapy skin damage in mammary carcinoma: a randomized placebo controlled trial. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2015;19:1338–1344.**

*Objective:* Acute radiation erythema and other skin reactions are common adverse effects experienced by breast carcinoma patients undergoing radiotherapy treatment. Boswellic acids are pentacyclic triterpenes extracted from the resins of the tropical tree *Boswellia serrata* with strong anti-inflammatory properties. This study was designed to evaluate the safety and the efficacy of the application of a base cream containing boswellic acids in a proprietary formulation (Bosexil®) for the prevention and relief of radiation-induced adverse effects in breast cancer patients.

*Patients and Methods:* The acute skin reactions were clinically evaluated by visual intensity and computer-assisted skin color analysis, and toxicity was assessed by the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) rating scale.

*Results:* These findings indicate that the use of a boswellia-based cream is effective in reducing the use of topical corticosteroids and is able to reduce the grade of erythema and the skin superficial symptoms, being well tolerated by the patients.

*Conclusions:* Further studies comparing boswellia cream with other topical agents will be appropriate to confirm the effectiveness of this treatment for breast cancer patients under radiation therapy.

### **Kommentar – Marc Schlaeppli, St. Gallen**

Harzextrakte vom indischen Weihrauch *Boswellia serrata* (BS) werden als entzündungshemmende Präparate in der ayurvedischen Medizin unter anderem bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen [1, 2] oder bei neoplastisch bedingtem Hirnödem [3] innerlich eingesetzt – bei Letzterem, um die Steroiddosierung und die damit verbundenen Komplikationen möglichst gering zu halten. Die pharmakologische Wirkung von BS wird auf verschiedene Triterpene, insbesondere auf die Boswelliasäuren zurückgeführt. Am besten Charakterisiert ist die Hemmung der 5-Lipoxygenase.

Adjuvante Radiotherapie beim operierten Mammakarzinom erzeugt eine Strahlendermatitis. Diese wird als komplexe Wunde

bezeichnet da sie primär durch die Freisetzung freier Radikale einen Zelltod mit sekundärer inflammatorischer Antwort bewirkt.

#### *Studie*

Ziel dieser prospektiven, randomisierten Studie war Wirksamkeit und Sicherheit einer Boswellia 2% (Bosexil®) Creme gegen eine Placebo-Creme bei Patientinnen zu untersuchen, welche eine Radiotherapie nach einer brusterhaltenden Operation erhielten. Die Hautreaktionen wurden durch visuelle Intensität (leicht – moderat – intensiv) und Computer-gestützte Hautfarbanalyse ermittelt. Die Toxizität wurde mittels der RTOG-Skala (Radiation Therapy Oncology Group) erfasst. Insgesamt wurden 114 Frauen randomisiert (55 im Verum- vs 59 im Placebo-Arm). Davon erhielten 17 vs. 19 der Patientinnen konkomitierend zur Radiotherapie eine Chemotherapie. Die Gruppen waren homogen verteilt. 49% im Placebo-Arm vs. 22% im Verum-Arm hatten nach Abschluss der Radiotherapie eine intensive Hautreaktion (visuelle Intensität,  $p = 0,009$ ). Dieses statistisch signifikante Resultat konnte durch die Computer-gestützte Hautanalyse bestätigt werden ( $p = 0,009$ ). Auch wurde im Verum-Arm signifikant weniger topisches Hydrokortison eingesetzt (25% vs 63%,  $p < 0,0001$ ). Die Toxizitätsanalyse mit der RTOG-Skala zeigte einen Trend zugunsten des Verum-Arms,  $p = 0,066$ .

#### *Diskussion*

Diese prospektive randomisierte kontrollierte Studie konnte zeigen, dass der topische Einsatz von Boswellia 2% 2x/Tag während einer adjuvanten Radiotherapie nach brusterhaltender Operation sicher ist und die Intensität einer Strahlendermatitis sowie den Gebrauch von lokalem Hydrokortison signifikant reduzieren kann. Da eine Radiotherapie 6–8 Wochen nach Abschluss der Behandlung weiterwirkt, wäre eine zweite Messung 2 Monate nach dem ersten Ergebnis interessant gewesen. Unklar und schwer interpretierbar bleibt die Subgruppenanalyse der mit Chemotherapie konkomitierend zur Radiotherapie behandelten Patientinnen. Hier sind präzise Angaben zu den eingesetzten systemischen Therapien unerlässlich.

## Literatur

- 1 Catanzaro D, Rancan S, Orso G, et al.: *Boswellia serrata* preserves intestinal epithelial barrier from oxidative and inflammatory damage. PLoS One 2015;10:1–15.
- 2 Gupta I, Parihar A, Malhotra P, et al.: Effects of gum resin of *Boswellia serrata* in patients with chronic colitis. Planta Med 2011;67:391–395.
- 3 Kirste S, Treier M, Wehrle SJ, et al.: *Boswellia serrata* acts on cerebral edema in patients irradiated for brain tumors: a prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind pilot trial. Cancer 2011;117:3788–3795.

*Address for Reprints:* Giada Maramaldi, Indena S.p.A., Viale Ortles 12, 20139 Milan, Italy, giada.maramaldi@indena.com

*Kontaktadresse:* Dr. med. Marc Schlaeppli, Zentrum für Integrative Medizin und Klinik für Onkologie/Hämatologie, Kantonsspital St. Gallen, Greithstrasse 20, 9007 St. Gallen, Schweiz, marc.schlaeppli@kssg.ch