



Die Mistel in der Tumorthherapie 5

Aktueller Stand der Forschung und
klinische Anwendung

Rainer Scheer, Susanne Alban,
Hans Becker, André-Michael Beer,
Wolfgang Blaschek, Reinhild Klein,
Wolfgang Kreis, Gero Lenewit, Harald Matthes,
Günther Spahn, Rainer Stange (Hrsg.)

KVC | VERLAG

Rainer Scheer, Susanne Alban, Hans Becker, André-Michael Beer,
Wolfgang Blaschek, Reinhild Klein, Wolfgang Kreis, Gero Leneweit,
Harald Matthes, Günther Spahn, Rainer Stange (Hrsg.)

Die Mistel in der Tumorthherapie 5

Herausgeber:

Dr. Rainer Scheer, Carl Gustav Carus-Institut, Allmendstr. 55,
75223 Niefern-Öschelbronn

Prof. Dr. Susanne Alban, Pharmazeutisches Institut, Abtlg. Pharmazeuti-
sche Biologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Gutenbergstr. 76,
24118 Kiel

Prof. Dr. Hans Becker, Pharmakognosie und Analytische Phytochemie,
Universität des Saarlandes, c/o Amselweg 3, 66386 St. Ingbert

Prof. Dr. André-Michael Beer, Klinik für Naturheilkunde, Klinik Blanken-
stein, Katholisches Klinikum Bochum, Im Vogelsang 5–11, 45527 Hattingen

Prof. Dr. Wolfgang Blaschek, Vogteiweg 13 B, 24119 Kronshagen

Prof. Dr. Reinhild Klein, Universitätsklinikum Tübingen, Abt. Hämatologie,
Onkologie, Klinische Immunologie, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen

Prof. Dr. Wolfgang Kreis, Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Friedrich-
Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Staudtstr. 5, 91058 Erlangen

Dr. Gero Lenewit, Carl Gustav Carus-Institut, Allmendstr. 55,
75223 Niefern-Öschelbronn

Prof. Dr. Harald Matthes, Charité – Universitätsmedizin Berlin und Ge-
meinschaftskrankenhaus Havelhöhe, Kladower Damm 221, 14089 Berlin

Dr. Günther Spahn, TRIMED Mainz, Helix Medical Excellence Center,
Haifa-Allee 24, 55128 Mainz

Dr. Rainer Stange, Charité – Universitätsmedizin Berlin und Immanuel-
Krankenhaus, Abteilung für Naturheilkunde, Königstr. 63, 14109 Berlin-
Wannsee

Die Mistel in der Tumorthherapie 5

Aktueller Stand der Forschung und klinische Anwendung

Rainer Scheer, Susanne Alban, Hans Becker, André-Michael Beer,
Wolfgang Blaschek, Reinhild Klein, Wolfgang Kreis, Gero Leneweit,
Harald Matthes, Günther Spahn, Rainer Stange (Hrsg.)

KVC Verlag | NATUR UND MEDIZIN e. V.
Am Deimelsberg 36, 45276 Essen
Tel.: (0201) 56305 70, Fax: (0201) 56305 60
www.kvc-verlag.de

**Scheer, R.; Alban, S.; Becker, H.; Beer, A.-M.; Blaschek, W.; Klein, R.;
Kreis, W.; Leneweit, G.; Matthes, H.; Spahn, G.; Stange, R. (Hrsg.)**
Die Mistel in der Tumorthherapie 5 –
Aktueller Stand der Forschung und klinische Anwendung

Wichtiger Hinweis: Für Angaben über Dosierungsanweisungen und Applikationsformen kann vom Verlag keine Gewähr übernommen werden. Jede Dosierung oder Applikation erfolgt auf eigene Gefahr des Benutzers. Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden nicht besonders kenntlich gemacht.

ISBN 978-3-96562-018-6 (E-Book)

© KVC Verlag – NATUR UND MEDIZIN e. V., Essen 2021
Umschlagfotos: Hans-Peter Braun

Das Werk mit allen Teilen ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der Bestimmungen des Urheberrechts ist ohne schriftliche Genehmigung des Verlages unzulässig und strafbar. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert werden.

Umschlaggestaltung: eye-d Designbüro, Essen

Inhalt

Vorwort/ ForewordXV

I. Biologie, Pharmazie, Phytochemie, Galenik

I. Biology, Pharmacy, Phytochemistry, Galenic_____ 1

Lucie Schröder, Jennifer Senkler, Hans-Peter Braun:

Special Features of Cellular Respiration in *Viscum album*

Besonderheiten der Zellatmung von *Viscum album*..... 3

Lucie Schröder, Sara Fachinger, Jennifer Senkler, Hans-Peter Braun:

Composition of the Leaf Proteome in *Viscum album*

Zusammensetzung des Blattproteoms von *Viscum album*..... 15

Arno Rieder, Orivaldo Benedito da Silva, Fabiana Aparecida

Caldart Rodrigues, Maria das Dores dos Santos, Mariana Lucatto:

Antimitotic Activity of Bark and Inflorescence Extracts of Mistletoe

Phoradendron mucronatum (DC.) Krug & Urb.

Antimitotische Aktivität von Rinden- und Blütenstandsextrakten

der Mistel *Phoradendron mucronatum* (DC.) Krug & Urb. 19

Uwe Pfüller, Udo Schumacher:

Lectins, Viscotoxins and Biologically Active Low Molecular Weight

Components of Aqueous Mistletoe Extracts

Lektine, Viscotoxine und biologisch aktive niedermolekulare

Bestandteile wässriger Mistelextrakte 31

Uwe Pfüller, Karola Pfüller, Udo Schumacher:

Selective Inactivation of the Sugar-Binding B-Subunit of RIP-II Lectins

Including Mistletoe Lectins Leaving the Cytotoxic A-Chain Intact in

„Green Solvents“ – Ionic Liquids

Selektive Inaktivierung der zuckerbindenden B-Untereinheit von RIP-II-

Lektinen einschließlich Mistellektinen unter Erhalt der zytotoxischen

A-Kette in „grünen Lösungsmitteln“ – ionischen Flüssigkeiten 37

Tim Jäger, Carla Holandino, Gaétan Glauser, Mirio Grazi, Hartmut Ramm, Michelle Nonato de Oliveira Melo, Adriana Passos Oliveira, Rafael Garrett, Stephan Baumgartner:

Metabolic Profiling as a Tool for Differentiating *Viscum album* ssp. *album* Plants Growing on Various Host Trees
Differenzierung von *Viscum album* ssp. *album* auf unterschiedlichen Wirtsbäumen mittels Metabolomics 43

Konrad Urech, Stephan Baumgartner:

Massebildung der Mistel (*Viscum album* L.) auf dem Apfelbaum (*Malus domestica* Borkh.) im Jahreslauf
Dynamics of Mass Production of *Viscum album* L. on *Malus domestica* Borkh. in the Course of the Year 47

Gero Leneweit, Maria B. C. de Matos, Nataliia Beztsinna, Christoph Heyder, Claudia Duehrkop, Bárbara S. Miranda, Kirsten Ullmann, Alberto Dessy, Kristina Nilsson Ekdahl, Bo Nilsson, Hermann Nirschl, Enrico Mastrobattista, Robbert Jan Kok:

Colloidal Formulation of Mistletoe Extracts by a Pharmaceutical Flow Process for Targeted Cancer Therapy
Kolloidale Formulierung von Mistelextrakten durch einen pharmazeutischen Strömungsprozess für eine zielgerichtete Krebstherapie 59

II. Präklinik: Immunologie, Zytologie, *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen

II. Preclinic: Immunology, Cytology, *In Vitro* and *In Vivo* Studies 71

Sonja Schötterl, Ulrike Naumann:

Antitumoral Effects of Mistletoe-Based Preparations in the Treatment of Experimental Glioma
Antitumorale Effekte von Mistelpräparaten in der Behandlung des experimentellen Glioblastoms 73

*Eva Jüngel, Moritz Meiborg, Jennifer E. Felenda, Claudia Turek,
Florian C. Stintzing, Roman A. Blaheta:*

Präklinische Untersuchungen zur Bedeutung von Mistelpräparaten
für die Therapie urologischer Tumoren

Preclinical Studies on the Significance of Mistletoe Preparations
in the Therapy of Urological Tumors 85

*Jennifer E. Felenda, Kim Gruber, Severina Pacifico, Claudia Turek,
Christiane Beckmann, Florian C. Stintzing:*

The Effects of Willow Mistletoe Preparations on Human
Tumor Cell Lines *In Vitro*

In vitro-Untersuchungen zur Weidenmistel an verschiedenen
humanen Tumorzelllinien 97

*Alexandra Dolder, Eva Avilla-Royo, Ulrike Weissenstein,
Stephan Baumgartner, Benjamin Simona, Martin Ehrbar,
Ana Paula Simões-Wüst:*

Effect of Mistletoe Preparations on Cell Migration: Exploration
of 3D Experimental Models

Einfluss von Mistelpräparaten auf die Zellmigration:
Untersuchungen in 3D-Versuchsmodellen 109

Jennifer E. Felenda, Kim Gruber, Claudia Turek, Florian C. Stintzing:

In Vitro Investigations of Angiogenesis Inhibition and Tumor Cell Migration
by an Aqueous Extract from *Viscum album* Grown on *Malus domestica*

In vitro-Untersuchungen zur Hemmung der Angiogenese und der
Tumorzellmigration durch einen wässrigen Extrakt aus *Viscum album*
von *Malus domestica* 119

Katrin Menke, Melanie Schwermer, Alexander Schramm, Tycho J. Zuzak:

Wechselwirkungen von Mistelextrakt in Kombination mit Zytostatika
oder Bestrahlung auf Neuroblastomzellen *in vitro*

Interactions of Mistletoe Extract in Combination With Cytostatic
Drugs or Irradiation on Neuroblastoma Cells *In Vitro* 137

Wenyan Xie, Catharina Delebinski, Georg Seifert, Matthias F. Melzig:

Viscum album L. miRNAs and their Therapeutic Potential

Viscum album L. miRNA und ihr therapeutisches Potenzial..... 153

III. Klinische Anwendung

a) Studien, Fallberichte, klinische Erfahrung

III. Clinical Application

a) Studies, Case Reports, Clinical Experience _____ 163

Anja Thronicke, Megan L. Steele, Christian Grah, Burkhard Matthes, Friedemann Schad:

Sicherheit der kombinatorischen Therapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren und *Viscum album* L. bei Patient*innen mit fortgeschrittenem oder metastasiertem Krebs – Eine Pilotstudie

Clinical Safety of Combined Therapy of Immune Checkpoint Inhibitors and *Viscum album* L. Therapy in Patients With Advanced or Metastatic Cancer – A Pilot Study 165

Shiao Li Oei, Anja Thronicke, Matthias Kröz, Cornelia Herbstreit, Friedemann Schad:

Impact of *Viscum album* Treatments on the Thermocoherence of Non-Metastasized Breast Cancer Patients

Die Auswirkungen von *Viscum album*-Behandlungen auf die Thermokohärenz von nichtmetastasierten Brustkrebspatientinnen..... 183

Friedemann Schad, Harald Matthes, Burkhard Matthes, Philipp von Trott, Matthias Kröz, Cornelia Herbstreit, Anja Thronicke:

Psychosocial, Cognitive, and Physical Impact of Elaborate Consultation and Life Review in Female Patients With Non-Metastasized Breast Cancer

Psychosoziale, kognitive und physische Wirkung eines ausführlichen ärztlichen Beratungs- und Biographiegesprächs bei Patientinnen mit nichtmetastasiertem Brustkrebs..... 201

Anja Thronicke, Shiao Li Oei, Burkhard Matthes, Christian Grah, Philipp von Trott, Cornelia Herbstreit, Matthias Kröz, Friedemann Schad:

Financial Burden of Lung and Breast Cancer Patients as an Early Indicator for Emotional and Physical Burden – A Prospective Real-World Data (RWD) Study

Finanzielle Belastung von Lungen- und Brustkrebspatientinnen als Frühindikator für emotionale und körperliche Belastung –

Eine prospektive Real-World Data (RWD)-Studie 211

Anna Rüdüsüli, Ana Paula Simões-Wüst, Marianne Schenker, Daniel Krüerke:

Behandlung von Brustkrebspatientinnen mit Mistelextrakten unterschiedlicher Wirtsbäume: Eine deskriptive Datenbankauswertung

Treatment of Breast Cancer Patients with Mistletoe Extracts of Various Host Trees: A Descriptive Database Study..... 219

Alessandra Longhi, Erminia Mariani, Marcus Reif:

Long-term Results in Osteosarcoma Patients Treated With Iscador® P Versus Etoposide as Maintenance Therapy After Second Relapse

Langzeitergebnisse bei Osteosarkom-Patienten mit Iscador® P gegen Etoposid als Erhaltungstherapie nach dem zweiten Rezidiv..... 233

Doreen Jaenichen, Michael Schink, Christfried Preussler, Sabine Rieger, Oliver Dehus:

Influence of a Helixor® P Infusion Therapy on the Cancer-Related Fatigue (CrF) of Patients With Advanced Breast Cancer or NSCLC During Oncological Standard Therapy

Einfluss einer Helixor® P-Infusionstherapie auf die Cancer-related Fatigue (CrF) von Patientinnen mit fortgeschrittenem

Mammakarzinom oder Patienten mit NSCLC unter onkologischer Standardtherapie 245

Wilfried Tröger:

Body Temperature in Advanced Pancreatic Cancer Patients
Receiving Mistletoe Extract – Results from a Randomized
Clinical Trial (ISRCTN70760582)

Körpertemperatur bei Patienten mit fortgeschrittenem Bauch-
speicheldrüsenkrebs, die Mistelextrakt erhielten – Ergebnisse
aus einer randomisierten klinischen Studie (ISRCTN70760582) 249

Marcus Reif, Alexandra Lemche, Daniel Galun, Wilfried Tröger:

Pain and Use of Analgesics in a Randomized Study of Metastasized
or Locally Advanced Pancreatic Carcinoma (MAPAC)

Schmerz und Analgetikaeinnahme in einer randomisierten Studie
beim metastasierten oder lokal fortgeschrittenen Pankreaskarzinom
(MAPAC) 257

Marcus Reif, Michael Bromba:

Association Between Fatigue and Laboratory Parameters in a
Longitudinal Randomized Controlled Mistletoe Trial in Breast
Cancer Patients

Zusammenhang zwischen Fatigue und Laborparametern in
einer longitudinalen randomisiert-kontrollierten Mistelstudie bei
Brustkrebspatientinnen 269

Jürgen J. Kuehn:

Systemische Entzündungsreaktion (SIRS) mit zellulärer und
humoraler Immunstimulation durch intravenöse *Viscum*-Applikation
und ihre klinische Wirksamkeit. Eine prospektive Beobachtungs-
studie bei Tumorpatienten in fortgeschrittenem Stadium

Viscum album Induces Systemic Inflammatory Response Syndrom (SIRS)
After Intravenous Application – Conditioning Numeric Cellular and
Humoral Immune Stimulation and Clinical Efficacy. A Prospective
Observational Study With Advanced Cancer Patients 283

Kludia Kunc, Burkhard Matthes, Annette Kurzeja, Arne Müssig, Philipp von Trott, Friedemann Schad, Arne Eichberger, Hanna Wüstefeld, Ulrike Weissenstein, Marcus Reif, Christian Grah:
 Erste prospektive Studie zur kombinierten Immuntherapie mit Checkpoint-Inhibitoren plus *Viscum album* L. beim nichtkleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC) im Stadium IIIB/IV – Eine Zwischenauswertung
 First Prospective Study of a Combined Immune Therapy of Checkpoint Inhibitors + CTX Plus *Viscum album* L. in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) in UICC Stage III B-IV – Interim Analysis 299

Silke Schibel, Annette Kurzeja, Arne Eichberger, Hanna Wüstefeld, Nicola Stenzel, Anja Thronicke, Friedemann Schad, Christian Grah:
Viscum album L. Therapy Effects in the Context of the ACCEPT Program – Companion-Study of Quality of Life and Therapy Adherence During Multimodal Therapy for Lung Cancer
Viscum album L. Therapieeffekte im Rahmen des ACCEPT-Programms – Begleitstudie zur Lebensqualität und Therapietreue bei der multimodalen Therapie von Lungenkrebs 311

Wilfried Tröger, Stephan Baumgartner, Michael Schink, Oliver Dehus, Jürgen Eisenbraun, Karin Motejlek, Peter Vögele, Florian C. Stintzing:
 Symptoms of Increased Intracranial Pressure During Mistletoe Extract Administration
 Hirndrucksymptomatik während der Anwendung von Mistelextrakten 315

Paul G. Werthmann, Helmut Kiene, Gunver S. Kienle:
 Case Reports of *Viscum album* Extract Therapy in Oncology
 Fallberichte zur Misteltherapie in der Onkologie 321

Paul G. Werthmann, Angela Kuck, Gunver S. Kienle:
 Long-term Survival of a Patient with Relapsing Triple-Negative Breast Cancer Stage IIB Under Surgical Treatment and *Viscum album* Extracts: A Case Report
 Langzeitüberleben einer Patientin mit rezidivierendem triple-negativem Mammakarzinom (Stadium IIB) unter operativer Behandlung und *Viscum album*-Extrakt-Therapie: Ein Fallbericht..... 327

Paul G. Werthmann, Robert Kempenich, Gunver S. Kienle:

Long-term Survival of a Patient With Metastatic
Esophageal Cancer Under Adjunct Treatment With *Viscum album*
Extracts – A Case Report

Langzeitüberleben eines Patienten mit metastasiertem
Ösophaguskarzinom unter Begleitbehandlung mit
Viscum album-Extrakten – Ein Fallbericht 335

Danilo Pranga, Roland Zerm, Matthias Girke, Matthias Kröz:

Viscum album and a Concomitant Integrative Medical Therapy in a
Patient Suffering From Primary Raynaud Syndrome and Primary
Breast Cancer – A 10-Year Follow-up Case Report

Viscum album und eine begleitende integrativ-medizinische Therapie
bei einer Patientin mit primärem Raynaud-Syndrom und primärem
Brustkrebs – Ein 10-Jahres-Follow-up-Fallbericht 339

Jens Kästner, Dietrich Schlodder, Christfried Preussler, Bernd Gruhn:

Supportive Mistletoe Therapy in a Patient With Metastasized
Neuroblastoma

Supportive Misteltherapie bei einer Patientin mit metastasiertem
Neuroblastom 351

Dorothea Schläpfer, Konrad Urech:

Remissionen von aktinischer Keratose, Basalzellkarzinom und
Plattenepithelkarzinom bei topischer Behandlung mit „*Viscum album*,
Resina 10 %, *Unguentum*“ – Drei Fallbeschreibungen

Three Cases of Remission of Actinic Keratosis, Basal-cell Carcinoma
and Squamous-cell Carcinoma Respectively by Topical Therapy With
„*Viscum album*, *Resina* 10 %, *Unguentum*“ 355

Martin Flür, Sabine Rieger, Christfried Preussler:

A Single-Case Series on the Tolerability of Targeted Therapy and
Concomitant Mistletoe Therapy in the Treatment of Oncological Patients

Einzelfallserie zur Verträglichkeit einer Kombination zielgerichteter
Therapien und gleichzeitiger Misteltherapie in der Behandlung
onkologischer Patienten 361

Karl Rüdiger Wiebelitz, André-Michael Beer:

Misteltherapie intraperitoneal, intrapleurale und intratumoral:
Wirkungen und unerwünschte Reaktionen

Intratumoral, Intrapleural and Intraperitoneal Mistletoe Therapy:

Effects and Adverse Reactions..... 377

André-Michael Beer, Birke Müller, Stefanie Nöpel-Dünnebacke:

Integrative Onkologie vor Ort: Das Bochum/Hattinger Modell

On-Site Integrative Oncology: The Bochum/Hattinger Model 399

III. Klinische Anwendung

b) Arzneimittelinteraktionen

III. Clinical Application

b) Drug Interactions..... 421

Ulrike Weissenstein, Matthias Kunz, Mouhssin Oufir,

Jue Theresa Wang, Matthias Hamburger, Konrad Urech,

Ursula Regueiro, Stephan Baumgartner:

Keine Arzneimittelinteraktionen von Mistelpräparaten mit dem
Tamoxifen-Metaboliten (E/Z)-Endoxifen und Cytochrom P450 3A4/5
und 2D6 *in vitro*

Absence of Herb-Drug Interactions of Mistletoe With the T
amoxifen Metabolite (E/Z)-Endoxifen and Cytochrome

P450 3A4/5 and 2D6 *In Vitro* 423

Alexandra Lemche, Marcus Reif:

Interaction of Aqueous Mistletoe (*Viscum album*) Extracts With
Other Oncological Treatments: A Systematic Literature Review

Interaktionen von wässrigem Mistelextrakt mit anderen

onkologischen Behandlungen: Ein systematisches Literaturreview..... 441

III. Klinische Anwendung

c) Übersichtsreferate und Reviews klinischer Studien

III. Clinical Application

c) Overviews and Reviews of Clinical Studies _____ 451

Frank Meyer:

Quellen der Integrativen Medizin – Versuch einer Ordnung

Sources of Integrative Medicine – Establishing a Systematic

Understanding..... 453

Gunver S. Kienle:

Current Developments of Clinical Research on Mistletoe Therapy
in Cancer Care

Aktuelle Entwicklungen der klinischen Forschung zur Misteltherapie

in der Krebsbehandlung 471

Harald Matthes:

Review: Status of Mistletoe Therapy for Breast and Lung Cancer

Übersicht: Der Stand der Misteltherapie beim Mamma- und

Lungenkarzinom 481

Ulrike Weissenstein:

Mistletoe and Immunotherapy

Mistel und Immuntherapie 493

Idan Cohen, Gil Bar-Sela:

Intravenous Application of Mistletoe Extracts: A Review of the
Reported Data and Outline of Future Clinical Studies

Intravenöse Anwendung von Mistelextrakten: Ein Review der

bisherigen Daten und ein Ausblick auf künftige klinische Studien..... 507

Matthias Kröz, Roland Zerm, Danilo Pranga, Annette Mehl, Marcus Reif:

Cancer-related Fatigue (CRF) und Cancer-related Insomnie bei
 Brustkrebspatientinnen – Zwei Seiten einer Medaille? –
 Klinik, Diagnose und evidenzbasierte Therapien der CRF –
 Eine Übersicht 521

Cancer-related Fatigue (CRF) and Cancer-related Insomnia in
 Breast Cancer Patients – Two Sides of the Same Coin? –
 Clinic, Diagnosis and Evidenced-Based Therapies of CRF –
 An Overview 521

Harald Matthes:

Integrative Psycho-Oncology and Use of Mistletoe
 Integrative Psychoonkologie und Mistelgebrauch 533

Christian Grah:

Stand der psychoonkologischen Betreuung beim
 Lungenkarzinom: Gibt es organspezifische Besonderheiten?
 Status of Psycho-Oncological Care in Lung Cancer:
 Are There Organ-Specific Features? 547

IV. Pharmakoökonomie

IV. Pharmacoeconomics 571

Marcus Reif, Harald Matthes:

Pharmakoökonomie der anthroposophischen Misteltherapie –
 Statusreport
 Pharmacoeconomics of Anthroposophical Mistletoe Therapy –
 Status Report 573

Autorenverzeichnis 589

Keyword Index 593

Stichwortverzeichnis 600

Vorwort

Im November 2019 fand das 7. Mistelsymposium mit über 100 Teilnehmer*innen statt. Schon wenig später, seit März 2020, während wir die Manuskripte für dieses Buch bearbeiteten, ist es „wegen SARS-CoV-2“ unmöglich, solche großen Präsenzveranstaltungen durchzuführen. Und in welcher Form das 8. Mistelsymposium, das für November 2023 vorgesehen ist, stattfinden wird, ist daher heute noch offen. Wie schnell sich Rahmenbedingungen ändern können, ist schon atemberaubend.

Aber die Situation, dass Krebs nach wie vor weltweit und auch in Deutschland zu den Haupttodesursachen gehört, ist geblieben. Aktuell gibt es in Deutschland etwa 500 000 an Krebs Neuerkrankte pro Jahr; Tendenz steigend auf Grund der Alterung unserer Gesellschaft. Geblieben ist ebenso die damit verbundene Aufgabe, in regelmäßigen Abständen wissenschaftlich die Rolle der Mistel in der Tumorthherapie immer wieder neu zu beleuchten und anschließend der Öffentlichkeit in einem Buch zu präsentieren. Hinzu kommt der rasante Wandel, in dem die gesamte Onkologie begriffen ist. Es gibt neue erfolgreiche Therapien, beispielsweise die sogenannten immunologischen Therapien (Checkpoint-Inhibitoren), die Hoffnungen wecken. In dem Maße, wie sich die Onkologie wandelt, wird sich, ja: muss sich auch der Beitrag der Misteltherapie weiterentwickeln und seinen Platz jeweils neu bestimmen.

Seit mehr als 100 Jahren werden Tumorkrankten mit Mistelpräparaten behandelt, zumeist individuell im Rahmen einer integrativen onkologischen Versorgung. Ziele der Misteltherapie sind Tumorkontrolle, Unterstützung konventioneller Therapien sowie von deren Verträglichkeit, Stärkung des Gesamtorganismus und Verbesserung der Lebensqualität. Ziel des 7. Mistelsymposiums (siehe www.mistelsymposium.de) war es daher, Brücken zu schlagen zwischen verschiedenen Therapierichtungen in der Onkologie und die Misteltherapie zu beleuchten auf der Basis von Grundlagenforschung, pharmakologischen Daten, präklinischen und klinischen Studien, Einzelfallbeobachtungen und auch der Psychoonkologie. In zahlreichen Übersichts- und Kurzreferaten sowie Postern wurden dazu Daten zur Pflanze und zur Therapie präsentiert.

Dieses Buch beinhaltet demzufolge wissenschaftliche Beiträge aus aktuellen, relevanten Gebieten der Biologie, Pharmazie und Pharmakologie, der Präklinik und Klinik, Erkenntnisse aus therapeutischer Erfahrung sowie klinische Studien. Im Mittelpunkt des klinischen Teils stehen das Bronchial- und das Mammakarzinom: Was vermag die konventionelle Tumorthherapie, welchen Beitrag leistet die Mistel, u. a. in unterschiedlichen Dosierungen und Applikationsformen, und wie hilft die Misteltherapie den Patient*innen auch in der seelischen Dimension? Ein weiterer Schwerpunkt sind Checkpoint-Inhibitoren bzw. moderne immunologische Therapien, mit denen zusammen die Mistel zur Anwendung kommt. Die Herausgeber dieses Buches danken allen Autor*innen von Vorträgen und Postern beim 7. Mistelsymposium, die mit ihren Manuskripten zu diesem Buch beigetragen haben.

Mistelsymposien geben nicht nur einen Überblick, sondern auch neue Impulse und einen Motivationsschub für weitere Forschung. Sie sind ein Forum für den gemeinsamen Diskurs, der biologisches, pharmazeutisches und klinisches Fachwissen vereint, um Synergien zu nutzen und um eine treibende Kraft für weitere Studien und Ansätze in der Forschung zu sein. Entsprechend sollten der Dialog und die Zusammenarbeit zwischen konventioneller und komplementärer Onkologie weiter ausgebaut und Vertrauen gegenseitig gestärkt werden. Dazu möchten die Mistelsymposien, zusammen mit den Symposiums-Büchern, Grundlage und Beitrag sein für eine Integrative Onkologie, eine Medizin der Zukunft.

Für die Herausgeber:

Dr. rer. nat. Rainer Scheer, Niefern-Öschelbronn

Prof. Dr. med. Harald Matthes, Berlin

im Sommer 2020

Foreword

In November 2019, the 7th Mistletoe Symposium took place with over 100 participants. Not long after, in March 2020, while we were working on the manuscripts for this book, large events like the symposium became impossible “because of SARS-CoV-2” and have been since. If and how the 8th Mistletoe Symposium, scheduled for November 2023, will take place is, therefore, not predictable. It is breathtaking how quickly framework conditions can change.

The situation, however, that cancer is still one of the main causes of death worldwide and also in Germany has remained. There are currently about 500,000 new cases of cancer in Germany every year, and the trend is rising due to the ageing of our society. What has also remained is the associated task of periodically shedding new light on the role of mistletoe in tumour therapy and subsequently presenting it to the public in a book. On top of this, we observe the rapid change the entire field of oncology is currently faced with. There are new successful therapies, e. g. the so-called new immunological therapies (checkpoint inhibitors); they raise new hopes. As oncology changes, the contribution of mistletoe therapy will – indeed, must – continue to develop and redefine its place in each case.

For more than 100 years, tumour patients have been treated with mistletoe preparations, mostly individually within the framework of integrative oncological care. The goals of mistletoe therapy are tumour control, support of conventional therapies and their tolerability, strengthening of the whole organism and improvement of the quality of life. The aim of the 7th Mistletoe Symposium (see www.mistelsymposium.de) was, therefore, to build bridges between different therapeutic directions in oncology and to illuminate mistletoe therapy on the basis of basic research, pharmacological data, preclinical and clinical studies, individual case observations, and also psycho-oncology. Data on the plant and the therapy were presented in numerous overviews and short presentations as well as posters.

Accordingly, this book contains scientific contributions from current, relevant areas of biology, pharmacy and pharmacology, preclinical and

clinical research, findings from therapeutic experience and clinical studies. The clinical part focuses on bronchial and breast carcinoma: What is the potential of conventional tumour therapy, what contribution does mistletoe make – including different dosages and forms of application –, and how does mistletoe therapy help patients in the psychological dimension? Another focus is on checkpoint inhibitors and modern immunological therapies in combination with mistletoe. The editors of this book would like to thank all authors of lectures and posters at the 7th Mistletoe Symposium who contributed to this book with their manuscripts.

Mistletoe symposia not only provide an overview but also new impulses and a boost of motivation for further research. They are a forum for joint discourse that brings together biological, pharmaceutical and clinical expertise in order to exploit synergies. They are a driving force for further studies and approaches in research. Accordingly, the dialogue and cooperation between conventional and complementary oncology must be further developed and mutual trust must be strengthened. The mistletoe symposia, along with the publications of the symposium proceedings, are intended to form the basis and contribute to integrative oncology: a medicine of the future.

On behalf of the editors:

Dr. rer. nat. Rainer Scheer, Niefern-Öschelbronn

Prof. Dr. med. Harald Matthes, Berlin

Summer 2020

I. Biologie, Pharmazie, Phytochemie, Galenik

I. Biology, Pharmacy, Phytochemistry, Galenic

Special Features of Cellular Respiration in *Viscum album*

Besonderheiten der Zellatmung von *Viscum album*

Lucie Schröder, Jennifer Senkler, Hans-Peter Braun

Summary

Background: Cellular respiration depends on the enzymes of the mitochondrial respiratory chain, particularly on the so-called complexes I–IV. Together, these protein complexes catalyze the transfer of electrons from reduced organic compounds onto molecular oxygen (which is reduced to water). The NADH dehydrogenase complex (complex I) is of special importance because it is the main site for electron insertion into the respiratory chain. Complex I deficiencies cause drastic complications in humans, animals, fungi and plants. Recent investigations in European mistletoe (*Viscum album*) surprisingly revealed that this species lacks mitochondrial complex I. This is the very first example of a multicellular organism that naturally can exist despite a major truncation of the respiratory chain. How is this compatible with cellular life? Indeed, intactness of the mitochondrial respiratory chain is of prime importance for the efficient generation of adenosine triphosphate (ATP) which drives many cellular processes. How is energy metabolism maintained in *V. album*?

Methods: A procedure was developed for purifying mitochondria from *V. album* leaves, which is based on differential centrifugation and density gradient centrifugation. Membrane bound proteins and protein complexes are solubilized by a mild non-ionic detergent. Mitochondrial proteins and protein complexes are finally separated by native gel electrophoresis and identified by mass spectrometry.

Results and conclusions: The respiratory chain of *V. album* is rearranged in a very sophisticated way. The complexes III and IV form a stable respiratory supercomplex and numerous so-called alternative oxidoreductases occur. As a consequence, the respiratory chain maintains a basic but reduced functionality. Furthermore, other subcellular compartments seem to compensate for

reduced ATP formation by the mitochondria. In conclusion, energy metabolism in *V. album* follows unique routes, which may contribute to the extraordinary biochemical properties of this species.

Keywords: *Viscum album*, cell respiration, mitochondria, respiratory chain, ATP formation

Zusammenfassung

Hintergrund: Die mitochondriale Atmungskette, insbesondere die an ihr beteiligten Enzymkomplexe I–IV, werden als unbedingte Voraussetzung für die Zellatmung angesehen. In ihrer Gesamtheit katalysieren diese Proteinkomplexe den Elektronentransport von organischen Verbindungen auf molekularen Sauerstoff (der dadurch zu Wasser reduziert wird). Der NADH Dehydrogenase Komplex (Komplex I) ist dabei als besonders wichtig anzusehen, da er als Haupteintrittsstelle für Elektronen in die Atmungskette fungiert. Defekte innerhalb dieses Proteinkomplexes haben bekanntermaßen gravierende Auswirkungen in Menschen, Tieren, Pilzen und Pflanzen. Überraschenderweise haben jüngste Untersuchungen an der Weißbeerigen Mistel (*Viscum album*) ergeben, dass der mitochondriale Komplex I in dieser Pflanze fehlt. Dabei handelt es sich um das erste berichtete Beispiel überhaupt, dass ein mehrzelliger Organismus natürlicherweise ohne Komplex I auskommen kann. Bisher ist unklar, wie die Zellen der Weißbeerigen Mistel dennoch lebensfähig sind, da die mitochondriale Atmungskette eine Voraussetzung für die Bildung des Adenosintriphosphats (ATP) in den Mitochondrien ist. Fast alle Lebensprozesse werden direkt oder indirekt durch ATP angetrieben. Wie kann der Energiestoffwechsel in *Viscum album* dennoch funktionieren?

Methoden: Mitochondrien aus Blättern der Weißbeerigen Mistel wurden mithilfe einer differentiellen Zentrifugation und einer Dichtegradientenzentrifugation aufgereinigt. Die Proteinkomplexe der Mitochondrien wurden nachfolgend durch Behandlung mit einem milden Detergens aus den mitochondrialen Membranen herausgelöst. Schließlich wurden die mitochondrialen Proteine und Proteinkomplexe mittels einer Blau-nativen Gelelektrophorese aufgetrennt und massenspektrometrisch analysiert.

Ergebnisse und Schlussfolgerungen: Die Atmungskette der Weißbeerigen Mistel ist in ungewöhnlicher Weise umgestaltet. Die Komplexe III und IV bilden einen stabilen Superkomplex aus. Ferner kommen zahlreiche sogenannte alternative Oxidoreduktasen vor. Auf diese Weise wird eine zwar verminderte, aber insgesamt ausreichende Funktionalität der Atmungskette gewährleistet.

Darüber hinaus sind möglicherweise andere subzelluläre Kompartimente daran beteiligt, die verringerte ATP-Bildung der Mitochondrien zu kompensieren. Die Atmungskette der Weißbeerigen Mistel weist somit außergewöhnliche Merkmale auf. Diese Einblicke erweitern unser Wissen um die biochemischen Besonderheiten der Weißbeerigen Mistel um ein neues Kapitel.

Schlüsselwörter: *Viscum album*, Zellatmung, Mitochondrien, Atmungskette, ATP Biosynthese

Introduction

Plants are photoautotrophic organisms. Photosynthesis, the formation of energy-rich organic compounds from simple inorganic compounds driven by light energy, is in the very center of the plant energy metabolism. In its quantitative most relevant mode, carbon dioxide and water are converted into carbohydrates in a process that is linked to the liberation of oxygen. However, besides photosynthesis, plant cells also carry out cellular respiration, the oxidation of organic compounds, which is coupled to the formation of adenosine triphosphate (ATP). Main products of cellular respiration are carbon dioxide and water. On a global scale, about 50 % of the atmospheric carbon fixed by photosynthesis is directly re-liberated into the atmosphere by cellular respiration. Photosynthesis takes place in the chloroplasts and cellular respiration in the mitochondria. Mitochondria and chloroplasts tightly interact. Indeed, the processes of photosynthesis and cellular respiration are metabolically linked in plant cells on several levels (Braun 2020).

Cellular respiration is a central process in nearly all eukaryotic cells. On a molecular scale, it is based on three steps: (i) import of organic compounds into the mitochondria and their oxidation, e.g. by the enzymes of the citric acid cycle. Many of the occurring reactions are coupled to the formation of “reducing equivalents”, e.g. nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and flavin adenine dinucleotide (FADH₂). (ii) Re-oxidation of the reducing equivalents by the enzymes of the respiratory electron transfer chain (ETC). These enzymes are located in the inner mito-

chondrial membrane, which, in contrast to the outer mitochondrial membrane, forms invaginations called “cristae”; electrons are finally transported by the ETC onto molecular oxygen (O_2), which is converted into water. Respiratory electron transport, which is an exergonic process, is linked to formation of a proton gradient across the inner mitochondrial membrane. (iii) In the last step, this proton gradient drives the formation of ATP from adenosine diphosphate (ADP) and phosphate. This reaction is catalyzed by the ATP synthase complex, which also is located in the inner mitochondrial membrane. The whole process is called “Oxidative Phosphorylation” (OXPHOS), because formation of ATP by phosphorylation of ADP is coupled to the consumption of oxygen. The enzymes of the ETC and the ATP synthase complex altogether are called the OXPHOS system.

The OXPHOS system is likewise present in the mitochondria of nearly all eukaryotes. It consists of the four enzyme complexes of the ETC (the complexes I to IV) and the ATP synthase complex (complex V). Complex I is a NADH-ubiquinone oxidoreductase. It is the main site of electron insertion into the ETC and much contributes to the formation of the proton gradient across the inner mitochondrial membrane. Complex II is a $FADH_2$ -ubiquinone oxidoreductase, which does not contribute to the proton gradient. Complex III, the cytochrome c reductase, transfers electrons from ubiquinol (the reduced form of ubiquinone) onto a small protein called cytochrome c. Finally, complex IV, the cytochrome c oxidase, transfers electrons from cytochrome c onto molecular oxygen. Electron transport by the latter two protein complexes also contributes to the proton gradient across the inner mitochondrial membrane.

The OXPHOS system is highly conserved in animals, fungi and plants, which reflects its outstanding importance for cellular energy metabolism. Indeed, no multicellular species has ever been reported to lack any of the five protein complexes of the mitochondrial OXPHOS system. However, recent genetic findings indicated that *Viscum album* might be an exception (Petersen et al. 2015, Skippington et al. 2015, Skippington et al. 2017). *V. album* has a very remarkable life cycle. It is an obligatory hemiparasitic flowering plant that grows on branches of various trees. It is supplied with water, minerals and organic compounds by its host but at

the same time can synthesize energy-rich compounds by its own photosynthesis. However, the energy metabolism of *V. album* is largely unknown so far.

What is the nature of the genetic findings pointing to an unusual cellular respiration of *V. album*? According to the endosymbiont theory on mitochondrial origin, mitochondria descend from free-living bacteria. One key proof for this theory is the presence of a genome in the mitochondria of present-day cells. Mitochondrial genomes have features resembling bacterial genomes. However, during evolution, the mitochondrial genomes became very much reduced. Today, only a few mitochondrial proteins are encoded by the mitochondrial genome, whereas most proteins are encoded by the genome of the cell nucleus, synthesized on cytoplasmic ribosomes and afterwards transported into the mitochondria. Several of the genes still present on the mitochondrial genome encode protein subunits of the complexes I to V of the OXPHOS system.

Surprisingly, it has been discovered that some genes encoding OXPHOS subunits are lacking on the mitochondrial genome of *Viscum* species (Petersen et al. 2015, Skippington et al. 2015, Skippington et al. 2017). Particularly, genes encoding subunits of mitochondrial complex I are absent. It never has been reported before that a multicellular species lacks the genes encoding complex I-subunits in the mitochondrial genome. How can this finding be interpreted? Three hypotheses have been discussed: (i) the complex I genes might have been overlooked in the mitochondrial genome due to sequence divergence. Indeed, it has been found that the mutation rate of the mitochondrial genome is exceptionally high in *Viscum* (Skippington et al. 2015). (ii) The genes encoding complex I subunits have been transferred to the nuclear genome. This has occurred for numerous other mitochondrial genes during evolution. However, it has not occurred for a set of complex I genes, which encode especially hydrophobic subunits, in any multicellular species investigated so far. (iii) *V. album* has no complex I. This hypothesis seemed to be rather unlikely, because, as mentioned above, complex I is the main site for electron insertion into the respiratory chain.

We here investigated cellular respiration in *V. album*.

Materials and Methods

Isolation of mitochondria from *V. album* turned out to be challenging; it did not work using standard protocols for purifying mitochondria from plants. Particularly, various viscous compounds, which not only occur in the berries, but also in stems and leaves, formed aggregates, which co-sedimented with organelles upon centrifugation. These had to be removed between the different centrifugation steps. A procedure for purifying mitochondria from *V. album* leaves is given in Senkler et al. 2018 (detailed information on all methods is provided at [https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822\(18\)30379-8](https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(18)30379-8)).

Results

Transmission electron microscopy of ultra-thin leaf sections was employed to obtain insights into shape and ultrastructure of *V. album* mitochondria. The leaf cells include numerous mitochondria, which have a rounded shape (Fig. 1). Compared to other plants, invaginations of the inner mitochondrial membrane are less pronounced. *V. album* mitochondria include ribosomes, indicating that protein biosynthesis can take place inside these organelles.

Next, the composition of the OXPHOS system was analyzed (Senkler et al. 2018). Mitochondrial membranes from *V. album* leaves were carefully solubilized using the non-ionic detergent digitonin. For reference, analyses were carried out in parallel for the model plant *Arabidopsis thaliana*. The OXPHOS system of *A. thaliana* is well defined (reviewed in Braun 2020). Mitochondrial proteins and protein complexes of both species were subsequently separated by Blue native polyacrylamide gel electrophoresis (BN PAGE). BN PAGE allows the separation of proteins under native conditions; protein complexes remain intact. The molecular masses of the OXPHOS complexes differed considerably between *A. thaliana* and *V. album*. Therefore, second gel dimensions were carried out under non-native conditions for identifying the separated protein complexes based on their subunit compositions.

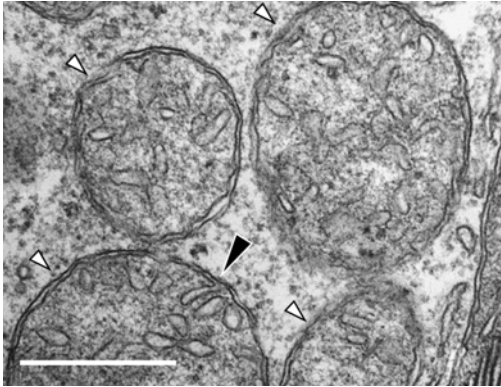


Fig. 1: Transmission electron microscopy (TEM) image of part of a *V. album* leaf cell. White arrowheads, mitochondria; black arrowhead, invagination of the inner mitochondrial membrane. The scale bar corresponds to 0.5 μm . Image taken from Senkler et al. 2018, modified.

The following insights were obtained: In contrast to the OXPHOS system of *A. thaliana*, which consists of the complexes I to V, the OXPHOS system of *V. album* is reduced. On the two-dimensional (2D) gels, only the complexes III and IV are visible. Interestingly, they form a very stable supercomplex, which is not observed in *A. thaliana*. The complexes I, II, V are not visible on the 2D gels. In addition, a supercomplex composed of the complexes I and III, which is present in the mitochondria of *A. thaliana*, is absent in *V. album*. To search for protein complexes of low abundance, proteins visible on the 2D gels were systematically analyzed by mass spectrometry. Based on this experimental approach, subunits of the complexes II, III, IV and V were identified in the mitochondrial fraction of *V. album*. However, the complexes II and V are of comparatively low abundance. No traces of complex I subunits could be detected. To exclude that complex I still has been overseen, a highly sensitive NADH dehydrogenase *in-gel* activity assay has been carried out. In *A. thaliana*, this assay revealed a strong complex I signal. In contrast, no traces of complex I activity could be detected in *V. album*. We conclude that complex I indeed is absent in the mitochondria of *V. album*.

How can cellular respiration function in *V. album* in the absence of complex I? To further investigate mitochondrial functions in *V. album*, protein fractions were analyzed by shot-gun proteome analyses using liquid chromatography coupled to quantitative mass spectrometry (Senkler et al. 2018). More than 400 proteins could be identified. The results gave insights into central mitochondrial metabolism. All enzymes of the citric