

Wissenschaftlicher Bericht zu UKRAIN

Folgende Ausführungen ersetzen keine ärztliche Begleitung und Behandlung. Es geht um Information über den derzeitigen Stand von wissenschaftlichen Erkenntnissen bezüglich der Wirkstoffkombination von UKRAIN (NSC 631570).

Allgemeines über die Krebsbehandlung

Operationen, Chemo-, und Strahlentherapie sind die drei wichtigsten Arten der Krebsbehandlung. Jede hat aber ihre Beschränkungen und ist mit beträchtlichen Nebenwirkungen verbunden. Chirurgische Eingriffe sind die älteste von diesen Methoden und, wenn möglich, immer noch häufig die Methode der ersten Wahl. Leider sind heilende operative Eingriffe nur in wenigen Fällen möglich, der Resttumor bleibt meistens unerkannt, was zu Tumorrückfällen und Metastasierung führt. Dann kommt eine zusätzliche Behandlung infrage. Sowohl Strahlen- wie auch Chemotherapie haben keine selektive Wirkung gegen Krebszellen. Außerdem, sind sie kanzerogen (bewirken Tumorentstehung) und mutagen (verändern Erbgut). Bei einer Strahlentherapie wird ein Tumor durch radioaktive Strahlung in seinem Wachstum behindert. Die Bestrahlung ist mit verschiedenen Früh- sowie Spätreaktionen (Nebenwirkungen) verbunden.

Die Geschichte der Chemotherapie hat begonnen, als Ärzte während des Ersten Weltkriegs feststellten, dass der Kampfstoff Senfgas wachstumshemmende Wirkung bei Tumoren hat. Später wurde die Substanz Mechlorethamin entwickelt und um 1942 als erstes Zytostatikum in der Medizin eingesetzt. Zytostatika stören die Stoffwechselvorgänge, die im Zusammenhang mit Zellwachstum oder Zellteilung stehen. Daher schädigen sie vor allem schnell wachsende Zellen wie Epithelzellen (unter anderem Haarwurzeln, Schleimhautepithel von Mund und Magen-Darm-Trakt) und Knochenmark ([Taxol](#)). Da Tumorzellen eine erhöhte Zellteilungsrate und eine eingeschränkte Reparaturkapazität haben, sind sie etwas empfindlicher gegenüber Zytostatika als gesunde Zellen. Dieser Unterschied ermöglicht erst die Therapie mit diesen häufig hochtoxischen Substanzen. Da die Giftwirkung auch gesunde Zellen beeinträchtigt, kommt es zu vielerlei negativen Begleiterscheinungen. Insbesondere die Schleimhaut des Magen-Darmtraktes und das blutbildende Knochenmark sind betroffen. Fast alle Zytostatika verursachen in unterschiedlichem Ausmaß Haarausfall, Übelkeit und Erbrechen und eine Verminderung der weißen und/oder roten Blutkörperchen im Blut (Knochenmarksdepression). Darüber hinaus haben die einzelnen Wirkstoffgruppen noch weitere, unterschiedliche Nebenwirkungen.

Um die Nebenwirkungen der Chemotherapie zu reduzieren, werden heutzutage komplexe Begleitbehandlungen eingesetzt, wie z. B. Kortisonpräparate, Medikamente, die Übelkeit und Brechreiz unterdrücken u.a. Trotzdem muss noch immer ein Teil der Therapien dosisreduziert, unterbrochen oder gar abgebrochen werden.

Es ist klar, dass das Problem der immensen Nebenwirkungen der Chemotherapie auf gewöhnlichen Wegen nicht zu lösen ist. Dies könnte nur mit solchen Präparaten erreicht werden, die allein die Krebszellen töten, aber nicht die gesunden Zellen schädigen - mit anderen Worten, selektiv gegen Krebszellen wirken.

Man hat alle möglichen Varianten ausprobiert, um den wichtigsten Unterschied zwischen normalen und bösartigen Zellen zu finden, aber weder Nukleinsäuren noch

Proteine haben zufriedenstellende Antworten geliefert. Man weiß, dass sich infolge genetischer Veränderungen (Mutationen) eine Krebszelle nach ihrem eigenen Rhythmus, eigentlich unkontrolliert, teilt, ohne dass eine Notwendigkeit von Seiten des Körpers besteht. Die Krebszelle löst sich von ihrem Ursprungsort und lässt sich an anderen Stellen nieder, wo sie als Tochtertumor ihr neues Leben beginnt – so entstehen die Metastasen.

Mit der neuen Generation der Krebsmittel, den sogenannten „targeted agents“ – zielgerichteten Präparaten – wurde der Versuch unternommen, die Probleme der Krebstherapie mit anderen Methoden zu lösen. Man versucht, mit den speziell für eine oder andere Krebsart entwickelten Präparaten gezielt jene Enzyme oder Rezeptoren anzugreifen, welche bei dieser Krebsart stärker ausgeprägt sind. Wie unbefriedigend die heutigen Ergebnisse sind, zeigen zum Beispiel die Publikation im Spiegel-Artikel vom 15. Mai 2010 (<http://www.spiegel.de/spiegel/print/d-70501026.html>). Täglich sterben weltweit etwa 20.000 Menschen an den Folgen einer Krebserkrankung.

Somit ist klar, dass es immer schon der größte Wunsch aller Krebsforscher war, ein Präparat zu finden, welches nur die Krebszellen abtötet und die gesunden unbeschädigt lässt. Mit anderen Worten, ein Präparat mit der selektiven Wirkung nur gegen die Krebszellen und nicht gegen die gesunden. Alle Bemühungen der Wissenschaftler auf der ganzen Welt waren erfolglos, was zur Verbreitung von Pessimismus in der Forschungsgemeinde geführt hat – man war fest überzeugt, dass der Unterschied zwischen einer gesunden und einer Krebszelle zu gering und darum das Problem unlösbar sei.

Zusammenfassung einer Präsentation beim 13. Internationalen Kongress für Chemotherapie : Man kann Krebszellen töten, ohne die gesunden zu schädigen

Beim 13. Internationalen Kongress für Chemotherapie in Wien im August-September 1983 wurde ein neues Mittel – Thiophosphorsäure-Derivat der Alkaloide aus dem Schöllkraut (NSC631570, Handelsname Ukrain) präsentiert (1). Die Entwicklung dieses Präparates war der erste sehr wesentliche Schritt auf dem Weg zur Entwicklung eines Präparates, welches nur die Krebszellen tötete, aber keine gesunden.

1. Bei den Untersuchungen in vitro wurde ein unterschiedlicher Sauerstoffverbrauch bei normalen Leberzellen und aszitischen Zellen des Ehrlichschen Tumors festgestellt: nach anfänglichem Anstieg fiel der Sauerstoffverbrauch bei den Tumorzellen auf Null. Bei normalen Leberzellen normalisierte sich der Sauerstoffverbrauch und sie blieben unbeschädigt (38). Diese Studie lieferte erste Hinweise darauf, dass NSC631570 im Gegensatz zu seinen Ausgangsstoffen Thiotepa und Schöllkrautalkaloiden tatsächlich nur toxisch gegen Krebszellen und nicht gegen die normalen Zellen ist.

2. Der zweite Hinweis wurde bei der klinischen Anwendung erhalten, wo NSC631570 keine nennenswerten Nebenwirkungen verursachte (21). Noch mehr - dieses Präparat verbesserte den Allgemeinzustand der Patienten und ihren immunologischen Status, welcher infolge der vorhergehenden Chemotherapie beschädigt wurde (22).

3. Den dritten Hinweis lieferte die Studie von der University of Miami (USA). Basierend auf den Daten aus dieser Studie wurde der therapeutische Index von NSC631570 als 1250 errechnet (26). Das ist für ein Krebsmittel ungewöhnlich hoch (also sehr gut und außergewöhnlich sicher!). Der therapeutische Index (TI) beschreibt das Verhältnis der toxischen zur therapeutischen Dosis und spiegelt die

Sicherheit eines Arzneimittels wider. Je höher der Wert umso sicherer ist das Medikament. Der therapeutische Index von den konventionellen Krebs-Präparaten, zu welchen auch Thiotepa gehört, liegt im Bereich 1,4 - 1,8 und darum kann hier eine Überdosierung fatale Folgen haben. **Wegen des sehr hohen TI-Werts von 1250 besteht bei der NSC631570 Anwendung keine Gefahr der Überdosierung.** Den Teilnehmern des Kongresses wurde am Beispiel verschiedener Studien gezeigt, dass die Entwicklung eines selektiven Krebsmittels möglich ist und zur Verfügung steht!

Die Präsentation beim Kongress hat sowohl Skepsis als auch großes Interesse hervorgerufen. Viele namhafte Forschungsinstitutionen, wie **National Cancer Institute (USA), EORTC, University of Miami (USA), Rochester University (USA), Universität Tübingen (Deutschland)** haben das Präparat getestet, um seine Eigenschaften und sein therapeutisches Potenzial zu überprüfen. Im Unterschied zu konventionellen zytostatischen Präparaten, von welchen jedes im Testmodell der NCI die Wachstumshemmung nur einiger weniger Krebszelllinien bewirkte, hat NSC631570 alle 60 getesteten Krebszelllinien, die 8 der wichtigen menschlichen Tumore repräsentieren, abgetötet (190), einschließlich die Zelllinien, welche gegenüber dem damals stärksten bekannten Zytostatikum Cis-Platin resistent waren.

Das hat noch mehr Interesse in der wissenschaftlichen Fachwelt geweckt. Führende Forscher untersuchten NSC631570, jede Gruppe mit der für sie zugänglichen Methode. Dank dieser Vielfalt an Experimenten konnten die feinen Mechanismen der Wirkung von NSC631570 auf verschiedenen Ebenen entschlüsselt werden: zuerst auf zellulärer Ebene mit Sauerstoffverbrauch (Wirkung auf Mitochondrien; 38), dann auf der Ebene der Chromosome (Wirkung auf DNS und RNS; 58, 63), Zellorganellen und Molekülen (43, 62). Diese Untersuchungen haben äußerst interessante Ergebnisse gebracht und nicht nur die selektive Wirkung von NSC631570 mehrmals bestätigt, sondern auch alle Zweifel daran, dass es nur die Krebszellen tötet, aber den gesunden auf keine Weise schadet, gründlich beseitigt. Das bedeutet, NSC631570 kann zwischen gesunden und bösartigen Zellen unterscheiden – diese Eigenschaft bleibt den anderen bis jetzt entwickelten Krebsmitteln verwehrt. Das wissenschaftliche Interesse an NSC631570 wächst und die Forschung wird fortgesetzt (261-266).

Die **Forscher der Wiener Universität für Bodenkultur** haben die hemmende Wirkung von NSC631570 auf die Vermehrung von bösartigen und normalen Zellen verglichen. Um eine 50%-Wachstumshemmung zu erreichen, musste bei normalen endothelialen Zellen eine zehnfache Konzentration von NSC 631570 im Vergleich zu einer menschlichen Osteosarkomzelllinie verwendet werden. Die Laserabtastungsmikroskopie zeigte ein hohes Aufnahmevermögen von NSC631570 in bösartigen Zellen, während die Aufnahme in normalen Zellen unter denselben experimentellen Bedingungen wesentlich niedriger war (36).

In **Kanada, an der St. John Memorial Universität** wurde eine Studie durchgeführt, die die Wirkung von NSC631570 auf die Erythroleukemiezellen K-562 untersuchte. Unter der Leitung von Prof. Andrejs Liepins, wurde herausgefunden, dass dieses Präparat einen bimodalen Krebszellentod bewirkt. Bei niedrigeren Konzentrationen von NSC631570 sterben die malignen Zellen infolge Apoptose ab, bei höheren Konzentrationen wird die Mikroröhrchenbildung verhindert und entsteht Polyplodie

(62).

1998 bewies die Gruppe um Anne Panzer die selektive Wirkung von NSC631570 auf molekularer Ebene. Die **Wissenschaftler der University of Pretoria, Südafrika** haben in den Versuchen an menschlichen Zervixkarzinomzellen HeLa, Plattenepithelkarzinom WHCO5 und normalen Pfortaderzellschleimhautzelllinie erforscht, dass NSC631570 für Krebszellen selektiv toxisch ist, indem es einen Metaphaseblock verursacht, der durch eine anomale Chromosomenverteilung charakterisiert wird und auf die Bildung von Mikrokernen und in Apoptose hinausläuft. Die normalen Zellen wurden dabei nicht beeinflusst (139).

Im Jahre 2000, bei Beurteilung der Zellproliferation nach der BrdU-Aufnahme in den Zelllinien AsPC1, BxPC3, MiaPaCa2, Jurkat und THP-1 und der Zellzyklusphasen mit Hilfe von Giemsa-Färbung, haben die Ulmer Forscher festgestellt, dass 10 µg/ml NSC631570 nach 24 Stunden eine deutliche Ansammlung der Krebszellen in der Phase G2/M bewirkt. Interessanterweise zeigte sich kein Unterschied in der Apoptoserate von den mit NSC631570 behandelten normalen peripheren Mononuklearen verglichen mit den unbehandelten. Die blastogene Antwort von mitogen-stimulierten Lymphozyten war sogar signifikant erhöht. Die Autoren zeigten, dass NSC631570 die Pankreaskrebszellen in Prophase blockiert, indem es die Tubulinpolymerisation hemmt (181). Diese Arbeit bestätigte, dass NSC631570 keinen Einfluss auf normale Zellen ausübt.

Ebenso 2000 haben die Forscher **der Rochester University (USA)** an den Epidermoidkarzinomzelllinien ME180 und A431 sowie Prostatakrebszelllinie LNCaP die Wirkung von NSC 631570 auf die Konzentrationen von Cyclinen und Cyclin-abhängigen Kinasen untersucht. Es wurden die Änderungen in den Konzentrationen von mitotischen Cyclinen A und B1 sowie CDK1 und CDK2 gefunden. Die Forscher haben auch eine erhöhte Expression des CDK-Inhibitors p27 in beiden Krebszelllinien beobachtet, was zur Anreicherung der Krebszellen, nicht aber von normalen Zellen in der G2/M-Phase geführt hat (147, 149).

In einer weiteren Arbeit unter dem Titel „NSC631570TM, a semisynthetic Chelidonium majus alkaloid derivative, acts by inhibition of tubulin polymerization in normal and malignant cell lines“ (**Cancer Letters 160 (2000) 149-157**) haben die **Forscher aus Südafrika** entdeckt, dass NSC631570 die Polymerisation von Tubulin hemmt (185). Als normale Zelllinie haben die Autoren menschliche Fibroblasten verwendet (Link).

Normale menschliche Fibroblasten wurden später auch von den **Wissenschaftlern der Eberhard-Karls-Universität Tübingen (Deutschland)** sowie des **Instituto Nacional de Cancerologia (Mexiko City, Mexiko)** in ihren Versuchen verwendet (184, 255). **Beide Forschergruppen konnten keine toxische Wirkung von NSC631570 auf diese normalen Zelllinien feststellen.** Außerdem bemerkten die Autoren um A. Panzer in ihrem Artikel: „Both NSC631570TM and chelidonine had weak activity in this system...“ (185).

2002 untersuchten die Wissenschaftler der **Eberhard-Karls-Universität Tübingen (Deutschland)** die Wirkung von NSC 631570 alleine oder kombiniert mit der Bestrahlung auf das Zellüberleben, die Modifizierung des Zellzyklus und die Induktion der Apoptose in den exponentiell wachsenden menschlichen Tumorzelllinien MDA-MB-231 (Brustkrebs), PA-TU-8902 (Bauchspeicheldrüsenkarzinom), CCL-221 (Dickdarmkrebs), U-138MG (Glioblastom) und in den menschlichen Fibroblasten der Haut HSF1, HSF2 und der Lunge CCD32-LU. Ohne Bestrahlung bewirkte NSC 631570 zeit- und dosisabhängige zytotoxische Wirkung, welche an Krebszellen mehr ausgeprägt war als an normalen Zellen. Kombiniert mit Bestrahlung, bewirkte NSC 631570 eine erhöhte Zytotoxizität

gegenüber Dickdarmkrebs- und Glioblastomzelllinien, nicht aber gegenüber den Brustkrebs- und Pankreaskarzinomzelllinien. Mittels Durchflusszytometrie wurde gezeigt, dass NSC 631570 die toxische Wirkung von Bestrahlung auf diese menschlichen Krebszelllinien modulierte, indem es ihre Anreicherung in der Phase G2/M des Zellzyklus hervorrief. Seine protektive Wirkung auf die normalen menschlichen Fibroblasten spricht für einen sinnvollen Einsatz in der kombinierten Radiochemotherapie (184).

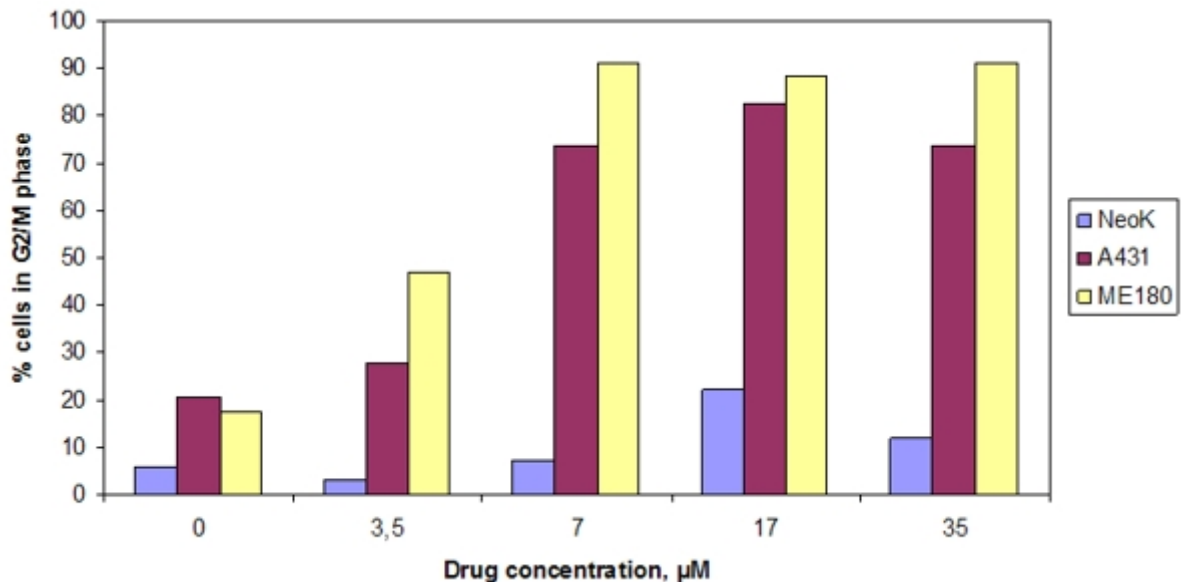


Fig. 1. Die Wirkung von verschiedenen Konzentrationen von NSC631570 auf die Population der G2/M-Zellen. Die Zellen wurden 24 Stunden mit NSC631570 in angegebenen Konzentrationen (0 – Kontrolle; 3,5; 7; 17; 35 µMol) inkubiert und anschließend auf DNA-Inhalt mit Durchflusszytometrie analysiert. Die Daten repräsentieren Prozentsatz von NeoK (normale Keratinozyten), A431 und ME180 (epidermoide Karzinome) Zellen in der Phase G2/M. Aus Roublevskaia et al, 2000 (147).

An einem Jurkat-Lymphom-Model wurde an der **Universitätsklinik Tübingen** (Deutschland) im Jahre 2005 die Fähigkeit von NSC631570 erforscht, die Apoptose zu induzieren. NSC631570 erwies sich als ein starker Apoptose-Induktor. Vertiefte Untersuchungen haben gezeigt, dass es Depolarisierung von mitochondrialen Membranen und als Folge die Aktivierung von Caspasen hervorgerufen hat (246). 2006 stellten Forscher am **Instituto Nacional de Cancerologia (Mexiko City, Mexiko)** fest, dass NSC631570 in einer Reihe von Krebszelllinien (menschliche Zervixkarzinome HeLa, HeKB, HeKS32, HeBcll3, HeNFR und HeIKK, Dickdarmkrebs SW480, Nierenkrebs HEK293, Osteosarkom MG 63) die Apoptose auslöst, indem es den inneren Zelltodweg aktiviert. Interessanterweise war die nichttransformierte Fibroblastenzelllinie hTERT diesem Medikament gegenüber unempfindlich (255).

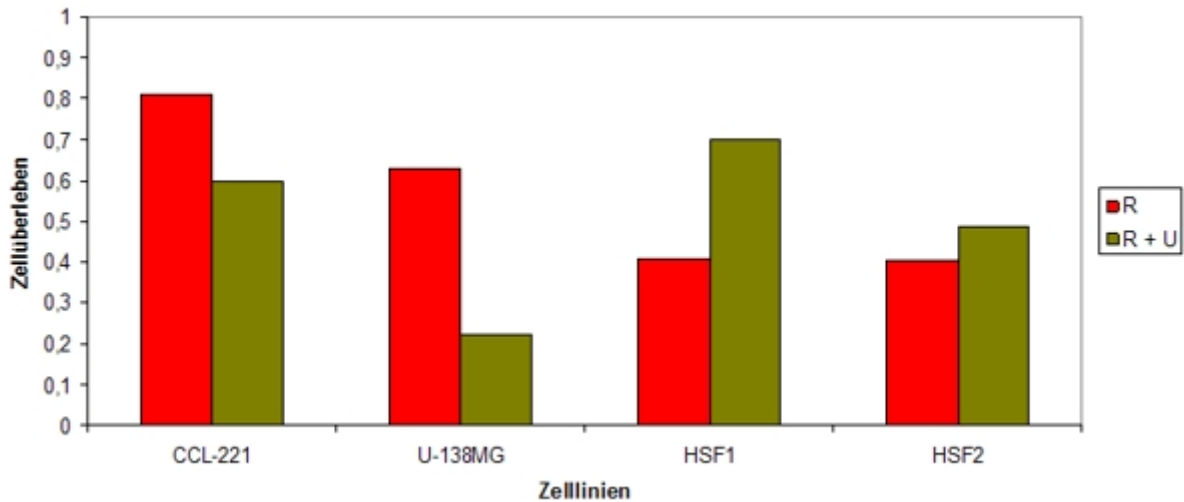


Fig. 2. Überleben der bestrahlten Zellen mit und ohne Behandlung mit NSC631570. R – Bestrahlung, 2 Gy; R + U – Bestrahlung, 2 Gy und Inkubation mit NSC631570. Zelllinien: CCL-221 - kolorektales Karzinom, U-138MG - Glioblastom, HSF1 und HSF2 - normale Fibroblasten. Nach Cordes et al, 2002 (184).

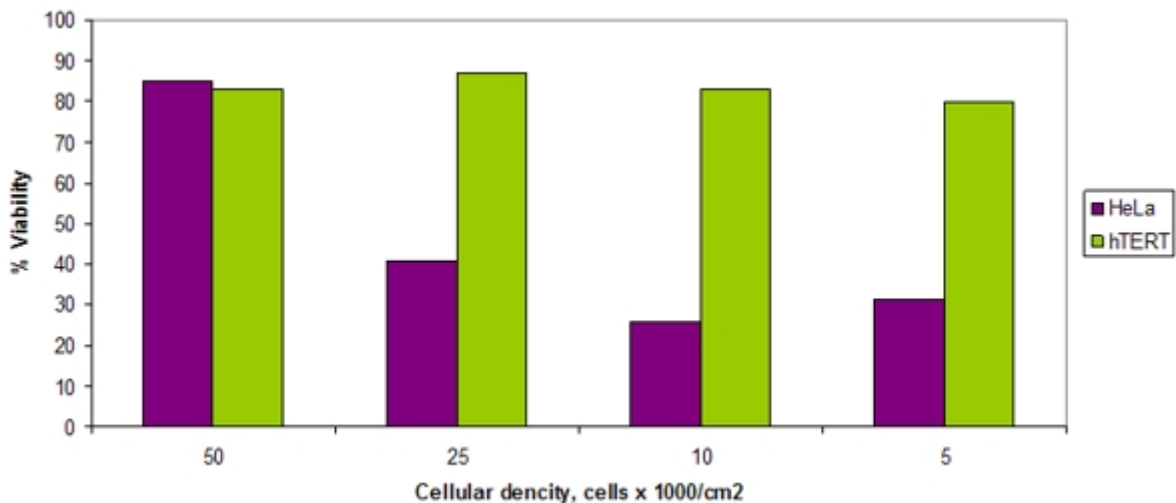


Fig. 3. Die Wirkung von NSC631570 auf eine Krebszelllinie (HeLa) sowie auf eine Zelllinie normaler Fibroblasten (hTERT) ausgedrückt als Prozentsatz der lebenden Zellen nach 48 Stunden Inkubation mit NSC631570 40 µg/ml. Aus Mendoza et al, 2006 (255).

Die zytotoxische Wirkung von NSC 631570 wurde an der **Universität Pisa (Italien)** an zwei primären Bauchspeicheldrüsenkrebszelllinien (PPTCC), Fibroblasten aus duktalem Pankreaskarzinomgewebeproben (F-PDAC) und einer immortalisierten duktalepithelialen Pankreaszelllinie (HPNE) untersucht. Die Zytotoxizität wurde mittels CellTiter 96-Satz erfasst. Modulierung der NSC 631570-Aufnahme im Nährboden wurde mithilfe von Fluoreszenz von NSC 631570 mit AlphaDigiDoc-Software im UV-Licht bestimmt. Die zytotoxische Wirkung von NSC 631570 in Pankreaskarzinomzelllinien war wesentlich höher als in den Fibroblasten und Epithelzellen (20% gegen 80% lebende Zellen). Außerdem hat der Fluoreszenz-Test ergeben, dass PPTCC-Zellen mehr Präparat aufgenommen haben als F-PDAC- und HPNE-Zellen. Diese Ergebnisse bestätigen auch die selektive Wirkung von NSC

631570 in den Pankreaskarzinomzellen, was auf verschiedene Transportsysteme oder auf eine höhere Metabolismusrate des Präparates in den PDAC-Zellen hinweist (265).

Wie man sieht, sind viele Aspekte der Wirkung von NSC631570 auf die verschiedenen Elemente der Krebs- sowie der gesunden Zellen bis jetzt erforscht worden. Trotzdem besteht die Möglichkeit, dass diese Effekte nur Folgeerscheinungen eines noch unbekanntes Prozesses sind, welches NSC631570 in der Krebszelle, aber nicht in der gesunden Zelle hervorruft.

Da NSC631570 in den Experimenten fast alle Krebszellen tötete, im Unterschied zu konventionellen Zytostatika, welche nur gegen eine kleine Gruppe von Krebszellen toxisch waren, gibt es den Hinweis darauf, dass bei der Entartung einer normalen Zelle in eine Krebszelle ein Element entsteht, auf welches die Wirkung von NSC631570 gerichtet wird.

Wenn es gelingt, dieses Phänomen zu entschlüsseln, könnte es uns sehr wichtige Indizien für den wesentlichsten Unterschied zwischen normalen und Krebszellen liefern, auf die echte Ursache der Krebsentstehung hinweisen und ganz neue Perspektive für die Entwicklung von neuen Krebsmitteln öffnen, nicht nur für die Behandlung, sondern auch für den Einsatz in der Krebsvorbeugung.

Diese Untersuchungen mit der selektiven Wirkung von NSC631570 haben überzeugend demonstriert, dass es durchaus möglich ist, die Krebszellen zu töten ohne dabei die gesunden zu schädigen.

Affinität von NSC 631570 zu den Krebszellen

Bekanntlich haben alle lebenden Zellen ein Membranpotential von etwa -60 bis -100 mV. Das negative Zeichen des Membranpotentials deutet darauf, dass die innere Oberfläche der Zellmembran relativ mehr negativ geladen ist als die äußere Oberfläche.

Noch im Jahre 1938 hat Dr. Paul Gerhardt Seeger postuliert, dass der Zerfall oder die Desaktivierung der Atmungskettenenzyme in den Mitochondrien in die Entstehung von Krebs involviert ist.

1948 haben die Wissenschaftler um G.R. Mider gezeigt, **dass Krebszellen negativer geladen sind als normale Zellen.**

Bei der Herstellung von NSC631570 bekommen Alkaloide des Schöllkrauts eine positive Ladung. Das erklärt eine hohe Affinität von NSC631570 zu den Krebszellen.

Bereits in einer frühen Arbeit der Wissenschaftler der Wiener Universität für Bodenkultur wurde herausgefunden, dass die menschlichen Osteosarkomzellen ein viel höheres Aufnahmevermögen von NSC631570 im Vergleich zu den normalen endothelialen Zellen aufweisen (36).

Diese selektive Anreicherung von NSC631570 in den Krebszellen wird auch dank seiner einzigartigen Fähigkeit zur Autofluoreszenz im UV-Licht bestätigt (5).

Bei der Untersuchung der Wirkung von NSC631570 auf das elektrokinetische Potential (EKP) von malignen und gutartigen Zellen wurde festgestellt, dass EKP der Ehrlichschen Karzinomzellen nach der Inkubation mit NSC631570 sank viel stärker als das EKP von normalen Thymuszellen (221).

In den Experimenten mit primären Bauchspeicheldrüsenkrebszelllinien wurde die Modulierung der NSC 631570-Aufnahme im Nährboden mithilfe von Fluoreszenz von NSC 631570 mit im UV-Licht bestimmt. Die Ergebnisse zeigten, dass die Karzinomzellen viel mehr Präparat aufgenommen haben, als die Fibroblasten und normale Epithelzellen (265).

Die selektive Anreicherung von NSC 631570 in den Krebszellen erklärt sein günstiges Sicherheitsprofil und den hohen therapeutischen Index von 1250.

Immunmodulierende Eigenschaften

Als erster hat Prof. A. Liepins (St. John's Memorial University, St. John's, Kanada) auf die interessante Tatsache hingewiesen dass NSC631570 auch deutliche immunologische Eigenschaften besitzt (24, 44). Dies ist ungewöhnlich für ein Zytostatikum. In seiner Arbeit an den Mäusen C57BL/6 hat er gezeigt, dass NSC631570 ein wirksamer Modifikator der biologischen Reaktionen ist. Nach der Inkubation der Milzlymphozyten von alloimmunisierten Mäusen mit NSC631570 stieg ihre lytische Aktivität auf das 48fache (Fig. 4). Dieser Anstieg war am stärksten am 18. Tag nach der Alloimmunisation und ließ dann etwas nach (Fig. 5). Ebenso stieg die lytische Aktivität der mit Interleukin-2 behandelten Milzzellen und der Lymphozyten aus dem peritonealen Exsudat (17).

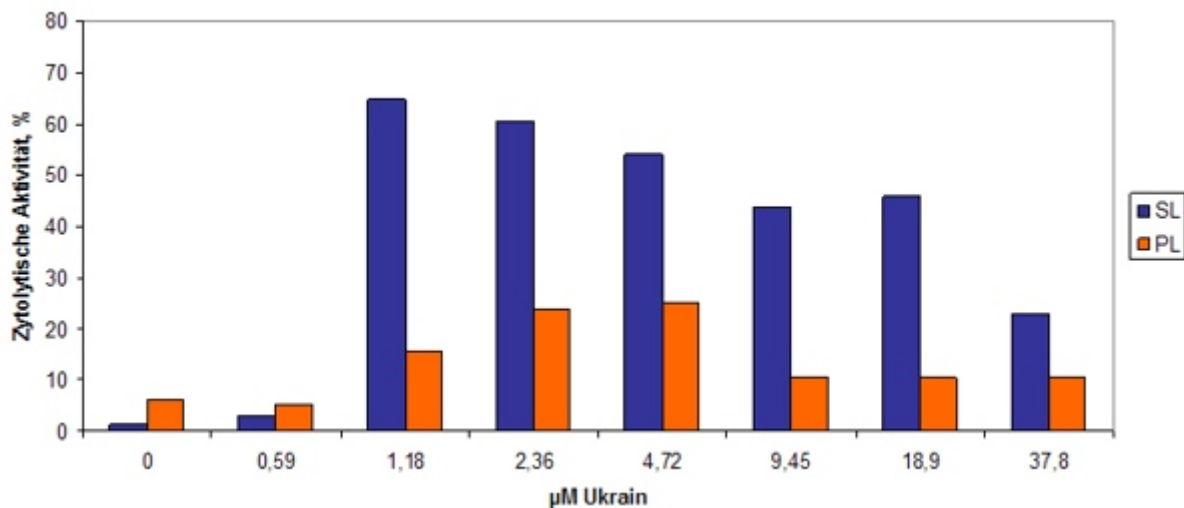


Fig. 4. Die Wirkung von NSC631570 auf die zytolytische Aktivität der Lymphozyten vom Milz (SL) und aus dem peritonealen Exsudat (PL). Aus Liepins et al, 1992 (17).

In den immunologischen Ziel-Effektorzellen-Systemen hat NSC 631570 signifikant die malignotoxische Aktivität von Makrophagen, Lymphozyten und NK-Zellen verstärkt (47). Da sich gleichzeitig die Parameter der humoralen Immunität nicht signifikant geändert haben, wird angenommen, dass NSC631570 vorwiegend den zellulären Teil des Immunsystems moduliert.

Die Lymphozyten der Menschen sowie der Meerschweinchen wurden bei der Inkubation mit NSC 631570 stärker stimuliert als mit Phytohemagglutinin. In Ratten bewirkte NSC 631570 einen deutlichen Anstieg der Makrophagenanzahl mit der NK-Aktivität (49).

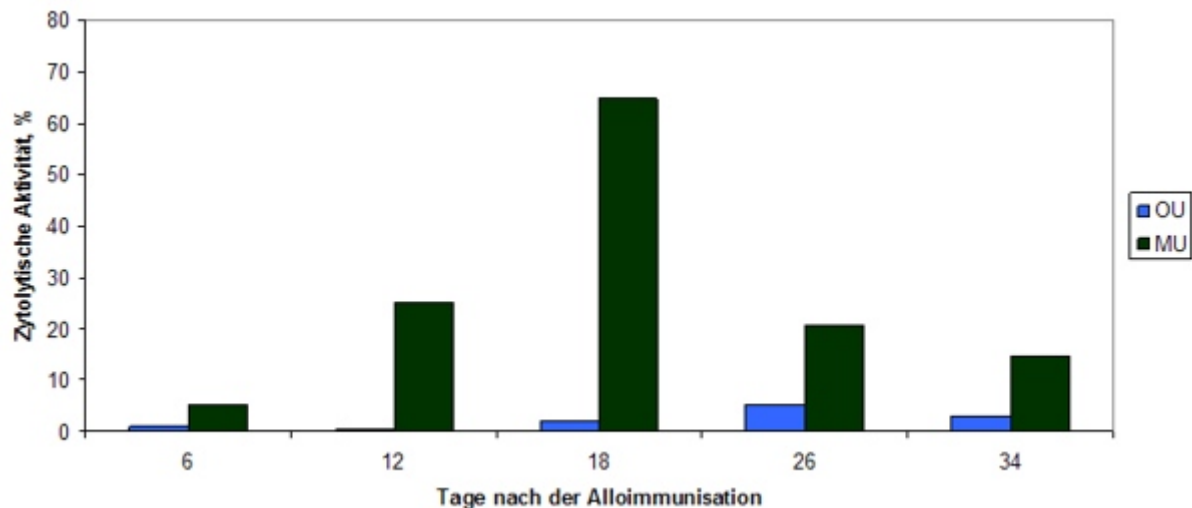


Fig. 5. Die Wirkung von 1,18 μ M NSC631570 auf die zytolytische Aktivität der Milzzellen, entnommen an verschiedenen Tagen nach der Alloimmunisation von Mäusen. Aus Liepins et al, 1992 (17).

In den Versuchen an Mäusen CBA und Ratten Wistar haben die Wissenschaftler gezeigt, dass NSC631570 die Makrophagen stimuliert. Als Marker dieser Aktivität wurde das Enzym Chitotriosidase, ein Bestandteil der angeborenen Immunität, verwendet (168).

In der Studie an intakten und thymus-ektomierten Mäusen wurde gezeigt, dass NSC631570 die endokrine Funktion des Thymus verstärkt. Bei den Thymus-ektomierten Mäusen ist es nach NSC631570-Gabe zur verstärkten Produktion von den Substanzen mit der Chymosin-ähnlichen Aktivität gekommen. Mehrmalige Verabreichung von NSC631570 führte zum 2fachen Anstieg der T-Zellen im Blut, 4,5fachen Anstieg der großen Granulozyten und zur Erhöhung der NK-Aktivität von Splenocyten. Die Produktion von Interferon und Antikörpern nach der Antigenverabreichung wurden auch erhöht (180).

Die Wirkung von bekannten Immunmodulatoren Interferon-gamma, NSC631570 und Kermesbeeremitogen (pokeweed mitogen) auf die selektive Anreicherung des mit ^{99m}Tc markierten Tumornekrosefaktors-alpha (TNF-a) in intramuskulär implantierten Tumoren wurde bei den Mäusen BALB/c untersucht. Bei der Verwendung von NSC631570 (NSC 631570) wurde die höchste Anreicherung von TNF-a im Tumorgewebe erzielt (Fig. 6; 104).

In den Experimenten an Mäusen BALB/c und F1(BALB/c x C57BL/6J) wurde herausgefunden, dass NSC 631570 die allergische Sensibilisierung der Tiere gegen Ovalbumin unterdrückt, was sich in der geschwächten IgE-Reaktion und verminderten Histaminfreisetzung äußerte. Die Inkubation des Ovalbumins mit NSC 631570 führte zur verminderten Antigenität des Proteins (84).

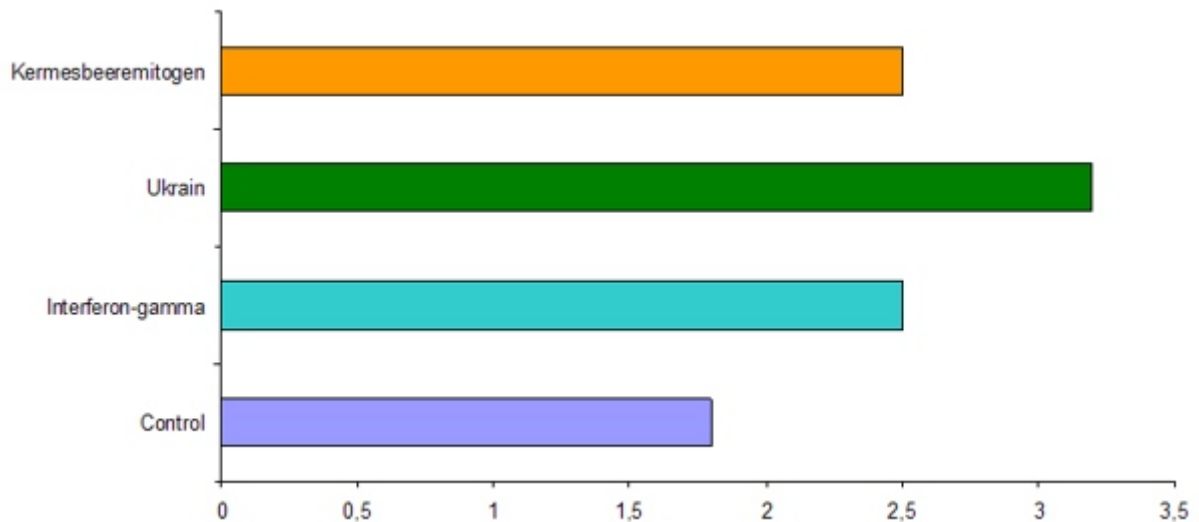


Fig. 6. Absolute Tumoraufnahme (% verabreichte Dose/g) von ^{99m}Tc -TNF-a in Mäusen BALB/c 1,5 St nach der Verabreichung. Nach Thakur et al, 1992 (104).

Die immunmodulierende Wirkung von NSC631570 wurde in einigen *in vivo* Studien untersucht. Mehrmalige subkutane Injektionen von NSC 631570 an Mäusen, welche mit der doppelten LD50 von *E. coli*, *S. aureus* oder Influenzavirus infiziert wurden, haben die Überlebensrate der Tiere signifikant erhöht (60, 87, 89).

Bei der Inkubation von Lymphozyten mit Phytohemagglutinin und NSC 631570 wurde der erhöhte Einbau von ^3H -Thymidin in die Zellen beobachtet. Die Autoren weisen auf eine starke kooperative Wirkung von NSC 631570 und Phytohemagglutinin hin (76).

Mit Hilfe der Zellenproliferationsmethode wurde die mitogene Wirkung von NSC631570 und Phytohemagglutinin (PHA) auf menschliche mononukleare Zellen des peripheren Blutes (PBMC) untersucht. Es wurde festgestellt, dass sogar eine kurze Vorbehandlung der Zellen mit NSC631570 einen starken Synergieeffekt auf die PHA-Mitogenese hat. Als Folge waren die Zellstimulationswerte bei der kombinierten Stimulation viel höher als bei PHA allein (65).

In den Versuchen mit murinen (CC57 Black/6) Makrophagen und G-Aktin von Kaninchen wurden die Effekte von NSC 631570 und Sanguinarin auf den Zytoskelett untersucht. Beide Substanzen haben eine stimulierende Wirkung auf die phagosom-lysosomale Verschmelzung ausgeübt. Der Gehalt an F-Aktin in den murinen Makrophagen hat sich unter dem Einfluss von NSC 631570 verdoppelt. Außerdem haben beide Substanzen die Polymerisation des G-Aktin aus Kaninchenmuskeln induziert. Alle Effekte waren dosis-abhängig. Die Autoren legen nahe, dass Sanguinarin und NSC 631570 möglicherweise den intrazellulären Membrantransport beeinflussen (231).

Die hier angeführten Publikationen weisen darauf hin, dass NSC631570 dank seiner vielen günstigen immunologischen Eigenschaften als der beste Immunmodulator eingestuft werden kann.

Antiangiogene Eigenschaften

Noch eine sehr wichtige Eigenschaft von NSC631570 ist seine Fähigkeit die Neubildung von Blutgefäßen zu unterdrücken, die einen Tumor versorgen. Dank dieser antiangiogenen Eigenschaften bewirkt die präoperative Gabe von NSC631570 eine bessere Abgrenzung der Tumore vom gesunden Gewebe und die

Tumorabkapselung. Dies erleichtert die chirurgische Entfernung des Tumors, was in den Universitätsstudien bei Brustkrebs belegt wurde (68-73, 114). In Laborversuchen mit den HUVEC-Zellen (menschliche Endothelzellen aus der Nabelvene) hat NSC 631570 die Vermehrung der menschlichen Endothelzellen auf dosis-abhängige Weise unterdrückt, ohne dabei die zytotoxischen Eigenschaften zu realisieren (136). Diese Hemmung der Gefäßneubildung verhindert auch die Metastasierung der Tumore.

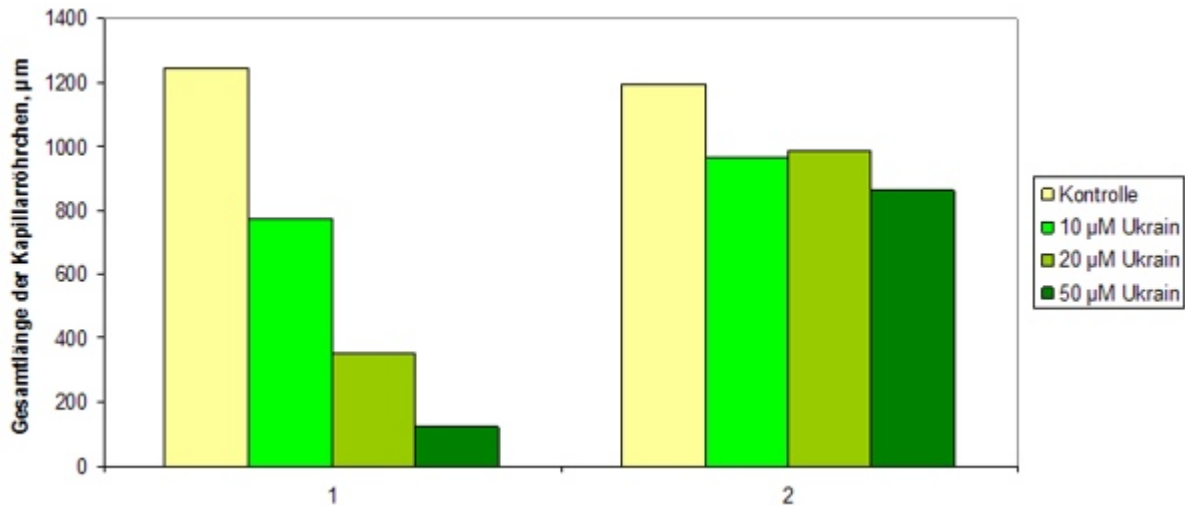


Fig. 7. Die Länge der Kapillarröhrchen nach der Inkubation mit NSC631570 in angegebenen Konzentrationen. 1 – HUVEC wurden für 4 St mit NSC631570 inkubiert. 2 – HUVEC wurden für 4 St mit NSC631570 vorinkubiert und dann noch 2 St ohne NSC631570 inkubiert. HUVEC – menschliche Endothelzellen aus der Nabelvene. Nach Koshelnick et al, 1998 (136).