

Наслов на испитувањето

Клиничко испитување на терапевтската ефикасност, подносливост и безбедност на Varumin® кај пациентки со молекуларно биолошки (PCR) докажана HPV инфекција од високо ризичен тип со или без биопсиски докажан CIN

Која е целта на испитувањето?

Се испитува терапевтската ефикасност во насока на подигнување на имунитетот и безбедноста и толерантноста на Varumin® 1 и 2 во облик на раствор, со крајна цел детектирање на евентуална негативизација на наодот од PCR (Polymerase chain reaction) HPV типизацијата и исчезнување на абнормалниот PAP наод.

Веруваме дека со вашето учество во испитувањето ќе го почувствувате бенефитот од користењето на испитуваното помошно лековито средство. Учествувајќи во ова испитување си помагате и себе си, а и на сите останати со високо ризичен HPV.

Средство кое се испитува

Varumin® 1 и 2 растворите првпат се регистрирани со решение број 15-4790/03 од 17.09.2003, а регистрацијата е обновена со решение број 15-1588/1-06 од 27 април 2006 како помошно лековито средство. Регистрирани се и во Бугарија, Србија, Хрватска и Шведска, а во тек е регистрација во повеќе земји од централна и западна Европа.

Варумин® 1 и Варумин® 2 се раствори за перорална апликација составени главно од воден екстракт од повеќе растителни дроги и сув екстракт на алое и прополис, кои се всушност и главни активни материи.

Според искуствата од целокупната светска традиционална медицина, а и според се поголемиот број на клинички и фармацевтски студии за активните компоненти, средството првенствено е наменето за:

- подобрување на општата состојба на организмот при исцрпеност,
- за зголемување на отпорноста, посебно неспецифичниот имунитет,
- како адјуванс на стандардните терапевтски режими за разни акутни и хронични инфективни заболувања, анемии, состојба на потхранетост, кахексија и други состојби кои како последица даваат намален имунитет.

Плацебо растворите 1 и 2 се направени од: брашно од пченка, мелени трици, брашно од рж, воден екстракт од херба абсинти и индустриска прехранбена боја за чоколада LOT 06 E 0019067.

Во наредниот текст е детално објаснето дејството на екстрактите од сите хербални елементи од кои е составен Varumin®.

Фармакодинамско дејство на алое

Во досегашните ин виво и ин витро испитувања, докажано е лаксативното дејство на алоето, кое се должи на антраноидната гликозидна содржина, гликозидите се метаболизираат со помош на гликозидазата во цревната флора до активни антрони, кои го зголемуваат мотилитетот на дебелото црево преку инхибиција на Na⁺/K⁺ пумпата и хлорните јонски канали, додека зголемувањето на секрецијата се должи на стимулација на продукција на мукоза и на хлорната јонска секреција.

Добиениот антиинфламаторен ефект во ин виво студиите на стаорци се покажало дека е дозно зависен - алоето има инхибиторен ефект на ослободувањето на хистамин од перитонеални мастоцити кај стаорец, индуцирани со антиген.

Во ин витро студиите на Chung 1996, Shin 1997 и Joanne Barnes 2002, докажан е супримирачки ефект на алое-емодинот врз тирозин киназната активност на канцер клетките кои имаат зголемена експресија на HER 2 рецепторот.

Во in vivo студиите на Ghannam 1986, Al-Avadi 1985 и Joanne Barnes 2002 докажан е хипогликемичен ефект кај алоксан-дијабетични глвци и дијабетични стаорци.

Во in vitro студиите докажано е антимикуробното дејство на алое-барбалоин врз

- Mycobacterium tuberculosis (МИК = 0.125 mg/ml)
- Bacillus subtilis (МИК = 0.25 mg/ml)
- Helicobacter pylori (дозно-зависна инхибиција)
- 4 соеви на метицилин-резистентни Staphylococcus aureus

За алое-емодинот е докажано директно вируцидно дејство кон следниве вируси:

- Herpes simplex virus тип 1 и 2
- Varicella-Zoster вирус
- Influenza вируси

Во Декемвриското издание 1991 на *Antimicrobe Agents Chemother* 1991 Dec; 35(12):2463-6; објавена е in vitro студијата на Sydiskis RJ, Owen DG, Lohr JL, Rosler KH, Blomter RN (Department of Microbiology, University of Maryland, Baltimore 21201) во која е докажано виростатското дејство на алое емодин врз herpes simplex virus type 1 и type 2, varicella-zoster virus, pseudorabies virus, influenza virus, adenovirus и rhinovirus, преку дилуција во алое емодин за време од 15 min на 37 °C. Истата студија покажува и силно in vitro виростатско дејство на антрахиноните екстрахирани од Rheum officinale, Aloe barbadensis, Rhamnus frangula, Rhamnus purshianus и Cassia angustifolia врз herpes simplex вирусот тип 1.

Во однос на елементите на имуниот систем, докажано е стимулативно дејство на лимфоцитната бластогенеза.

Фармакодинамско дејство на *Viscum album* (бела имела)

Колегите од Институтот за Фармакологија во издаденото Фармаколошко мислење за испитуваното средство укажуваат на сигнификантна цитотоксична активност (во *in vitro* и *in vivo* студиите на Khwaya 1980, 1986, Evans 1973, Конора 1980, Hulsen 1987, Joanne Barnes 2002). Потенцирано е антитуморското дејство на туморски модели на глувци, Луисов карцином на бели дробови на стаорци, аденокарцином на колон 38 и С3Н аденокарцином на дојка, како и при лимфобластна леукемија резистентна на метотрексат и цитарабин. Се смета дека антитуморското дејство се должи на аминокиселините содржани во белата имела да ја одржуваат клеточната диференцијација.

Имуностимулативното дејство е докажано во *in vivo* студиите кај глувци, а се однесува како на хуморалниот, така и на клеточниот имунитет. Полисахаридните фракции на белата имела ја пролонгираат и супримираат хиперсензитивната реакција индуцирана од егзогените стимулатори, при имунолошка стимулација вклучен е монофагоцитниот систем, а имуностимулативниот ефект е линеарно зависен од количината на администрираниот екстракт (Bloksma 1982, Coeugniet 1987, Joanne Barnes 2002). За лектинот од *Viscum album* покажано е дека го превенира вискотоксин и алерген индуцираното ослободување на хистамин од хуманите леукоцити (Luther 1974, 1977, Ziska 1978, Franz 1981, Joanne Barnes 2002).

Во морето на нови студии и заклучоци ние ќе ги истакнеме само оние со најдобра методологија на изведување:

In vitro и студии на клеточни култури: докажана е стимулација на ослободувањето на различни цитокини од лимфоцитите⁽¹⁹⁾, стимулација на ослободувањето на супероксиден анјон од неутрофилите⁽²⁰⁾, зголемена продукцијата на Т-хелпери-CD4+ и моноцити^(22,23), дуплирање на подвижноста мерена во дистанца на Т-лимфоцитите-CD4+⁽²⁴⁾, активација на НК клетките и повеќе од двојно зголемување на гранулоцитната фагоцитна активност^(25,26,27), репарирање на радиолошки настанатите оштетувања на ДНК на моноцити од периферна крв⁽²⁸⁾, а измерено е и дека за активирање на фагоцитозата кај човекот е потребна доза лектин (лектинот е класифициран во фамилијата на рибозом-инактивиращки протеини тип II) и вискотоксин 0.025 и 20 ng/mL⁽²⁹⁾. Има и студии фаза II кои пак укажуваат дека екстрактите од бела имела немаат никаков ефект во фагоцитната активација кај здрави човечки субјекти⁽³⁰⁾, од каде пак произлегува дека не секој екстракт од бела имела има иста активност. На пример, активноста на видовите на бела имела кои растат во Америка (*Phorandendron serotinum*, *Phoradendron flavescens*) е помала од активноста на белата имела која расте во Кореја (*Viscum album L, var. coloratum*), а најголема активност покажуваат Европските ендеми и тоа оние кои паразитираат на јаболково дрво, бор или даб. Во нашиот случај се користи бела имела која паразитира на дабово дрво, од повисоките предели на Беласица.

Во повеќе студии на човечки и анимални неопластични клеточни линии е докажано антинеопластичното дејство на водениот екстракт на белата имела, и тоа најповеќе за време на G0 фазата од клеточниот митотски циклус^(30,31). Се опишуваат неколку механизми на дејство: инхибиција на синтезата на клеточни протеини од страна на лектинот^(32,33), класична програмирана апоптоза на неопластичните, но не и на нормалните клетки⁽³⁴⁾, брза инактивација на Голџиевиот апарат на неопластичните

клетки⁽³⁵⁾ и антиангиоген ефект на венскиот ендотел⁽³⁶⁾. Се смета дека од сета мешавина на активни компоненти во водениот раствор од бела имела, најсилен антинеопластичен потенцијал има лектинот^(34,35), потоа вискотоксините^(37,38), за кои пак е докажано дека спречуваат денатурација на ДНК при загревање⁽³⁹⁾. Забележана е дозно-зависна апоптоична активност на лектинот: концентрација под 10 ng/mL нема апоптоичен ефект, додека во концентрации 10-100 ng/mL се постигнува од парцијална до комплетна апоптоза на испитуваната клеточна култура U-937 на човечки промоноцити⁽⁴⁰⁾.

Експериментални анимални студии: слично како и во ин витро студиите, во мноштво ин vivo студии на животни е докажано силно имуностимулативно и антинеопластичното дејство на лектинот и вискотоксинот од белата имела.

Во испитувањето изведено врз Wistar глвци, на кои еднакратно им е администриран интравенски лектин од Европскиот сој на бела имела во доза 0.5 до 1.0 ng/kg, цитотоксичноста на НК клетките се дуплирала, а бројот на крупноклеточните гранулирани лимфоцити пораснал за три пати во рок од 48 часа во споредба со контролната група⁽⁵⁰⁾.

Во испитувањето изведено врз зајаци, на кои еднакратно поткожно им е администриран лектин од Европскиот сој на бела имела во доза 0.25 до 1.0 ng/kg, забележана е засилена цитотоксичноста на НК клетките, крупноклеточните гранулирани лимфоцити и на фагоцитирачките гранулоцити⁽⁵¹⁾.

Во испитувањето изведено врз глвци со индуциран меланом на горните екстремитети, администриран е интраперитонеално ISOREL - лектин од Европскиот сој на бела имела во доза 100 ng/kg, забележана е некроза на туморот и значителна тумор редукција, како и силна цитотоксична активност на НК клетките во самото туморско ткиво⁽⁵²⁾.

За лектинот и вискотоксинот од Европскиот сој на бела имела има анимални студии кои докажуваат инхибиција на развојот на метастази. Кај глвци администрирана е доза од 1.66 mg интравенски лектин и симултано инјектирани се клетки на меланом (B16F10 клетки) и забележана е превенција на создавањето на меланомски колонии во 92% од испитуваните животни. Истиот експеримент, само наместо симултано администрирање, лектинот е администриран пет дена по инјектирањето на меланомски клетки, добиена е инхибиција на формирањето на меланомски депозити во 68% од животните⁽⁵³⁾.

За жал, постојат и студии во кои и покрај варијациите во администрираната доза и начинот на администрација, не е докажано никакво антинеопластично дејство на екстрактот од Европскиот сој на бела имела^(54, 55).

Хумани студии; во мноштвото хумани студии^(56,57,58,59,60,61,62,63), претежно изведувани со Германскиот препарат Iscadog - екстракт од Европскиот сој на бела имела, и тоа на болни од рак на дојка, стадиуми I и II, потоа сите четири стадиума на оваријален карцином, добиени се сигнификантни резултати во однос на 5-годишното и 10-годишното преживување, дури и кај оваријалниот карцином во стадиуми III и IV. Постои голема група на case-рапорти кои дури и докажуваат комплетен одговор на монотерапија со екстракт од бела имела⁽⁶⁴⁾. Направена е голема (10226 испитаници) проспективна, нерандомизирана орен-лабел студија, во која е докажано пролонгирање

на вкупното преживување за 40% кај испитаниците кои употребувале Iscador (екстракт од Европски сој на бела имела), а биле заболени од колоректален, белодробен, карцином на желудник и карцином на дојка⁽¹¹⁾.

Најголемиот дел од студиите укажуваат на продолжување на времето на преживување и подобрување на квалитетот на живот при употребата на екстрактите од бела имела како адјуванси на стандардните хемотераписки и радиотераписки протоколи, но не кај сите типови на неоплазми⁽⁶⁴⁾. Една од претпоставките за нецелосниот одговор на терапијата е дека се создаваат IgG антитела во човековиот организам против лектинот, покрај немањето на генерално усвоен став за начинот на апликација и дозите на лектин и вискотоксин пресметани по килограм телесна маса или BMI.

Во моментов, ставовите на FDA, NCI (National Cancer Institute) и ASC (American Cancer Society) е широката употреба на лектин и вискотоксин во терапијата на неоплазми да се сведе само на добро дизајнирани клинички испитувања.

Фармакодинамско дејство на прополис

Прополисот има бактериостатско, бактерицидно и фунгицидно дејство. Антимикробните материи во прополисот се термостабилни, а почувствителни на овие материи се грам-позитивните бактерии како *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* во однос на грам-негативните бактерии како *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, а потенцирано е антимикотичното дејство врз *Candida albicans*. Антимикробната активност на прополисот се споредува со онаа на сулфонамидите.

Антимикробната активност на прополисот воглавно се должи на дејството на флавоноидите. Флавоноидот акацетин има антиинфламаторно дејство, зголемувајќи ја стабилноста на капиларниот ѕид (употребуван во стоматологијата, оториноларингологијата, дерматовенерологијата, гастроентерохепатологијата, како и инфектологијата во лекувањето на заболувањата на горните дишни патишта).

Познато е анестетичкото дејство на прополисот, важно при локална апликација, како и трофичко-гранулациониот ефект во насока на побрза епителизација на кожните и слузокожните ерозии (Gorunovik, Lukic – Farmakognozija 2001).

Фармакодинамско дејство на *Hyperici herba* (кантарион)

Лековитото дејство на кантарионот е познато од дамнешни времиња, а се користи како за надворешна, така и за внатрешна употреба. Како чај служи за регулирање на мотилитот и ацидитетот на желудникот и цревата (одамна познат како одличен аперитив). Во форма на етерско масло делува на елиминација на цревните паразити. Фенолските соединенија на кантарионот се со потенцирано антибактериско дејство. Треба да се напомене и антидепресивното, антинев-ротичното и анксиолитичкото дејство, за што наоѓа примена во третманот на невралгии, анксиозност, депресивни и невротични состојби итн.

Фармакодинамско дејство на *Radix inulae* (оман)

Главните составни компоненти на екстрактот од оман се аланолактон, изоаланолактон, сесквитерпенолактони, кои поседуваат докажани дејства како што се антифлогистичко, антибиотско, антихелминтично, антифунгално и експекторантно (секретолитичко) дејство.

Фармакодинамско дејство на *Millefolii herba* (ајдучка трева)

Уште од дамнешни времиња е познато лековитото (антисептичкото и антиинфламаторното) дејство на ајдучката трева аплицирана локално на отоци и рани, како и нејзиното дејство во подобрувањето на функцијата на органите за варење. Водениот екстракт има и диуретичко дејство, а при повисоки концентрации и антиконвулзивно, спазмолитично, антипиретично и хипотензивно дејство (Joanne Barnes 2002).

Фармакодинамско дејство на *Flores calendulae* (невенов цвет)

Во палетата на фармакодинамски дејства се истакнуваат спазмолитичното, антиинфламаторното, антихеморагичното, антисептичкото и стимулаторното дејство на епителизација на ткивата. Етеричните масла и флавоноидите делуваат антибактериски и фунгицидно, а носители на антиинфламаторното дејство се слободните и естерифицирани тритерпенски алкохоли.

Фармакодинамско дејство на *Cortex cornu mas* (кора од дрен)

Од досегашната примена во традиционалната медицина, се истакнуваат антипиретичкото и аstringентното дејство, воглавно последица на присуството на танин и пектин. Се смета дека поседува антинеопластично и антиретровирусно дејство, но потврдата од ваквите заклучоци добиени од најверојатно селектирани case-рапорти треба да стигне од клиничките испитувања кои се во тек. Од сите ендеми најдобро се испитани Азиските соеви, за кои постои обилна документација за лековитоста на екстрактите од плодот, а од западните ендеми најдобро е испитан Јамајканскиот дрен, за чиј екстракт од кората е докажано седативно и аналгетично дејство, но и стимулација на лачењето на естрогени кај жените, па тој екстракт не е дозволен за користење кај трудници и доилки^(74,75,76,77).

Како можете да учествувате во испитувањето?

Откако ќе се пријавите кај Д-р Горан Димитров, Д-р Викторија Јовановска и Д-р Адела Стефанија (или можете да закажете преку телефон 02/3147704, сестра Даниела) и откако ќе ви бидат објаснети сите аспекти, испитувачите ќе оценат дали ги задоволуваат критериумите за вклучување во студијата, кои пак доколку ги задоволуваат, ќе треба да потпишете писмена согласност во присуство на испитувачот.

Дали морате да учествувате?

Секако дека не мора, исклучиво вие ќе одлучите дали ќе учествувате. Ако одлучите да учествувате и доколку ги задоволуваат критериумите за вклучување во испитувањето, ќе ви се даде ваква информативна листа и ќе побараме од вас да потпишете писмена согласност, со повторна напомена дека вие сепак сте слободни да се повлечете во било кое време и без никакво објаснување. Одлуката да се повлечете од испитувањето, или одлуката воопшто да не учествувате, нема да влијае на третманот кој го добивате на Гинеколошко-Акушерската Клиника.

Што ќе се случи со мене ако учествувам?

Ако сте согласни да учествувате, ќе бидете замолени да се придржувате на упатствата кои ќе ги добиете од вашиот испитувач, кој при прегледите на рака ќе ви го дава испитуваното средство или плацебо растворот, со упатство како се земаат и како да го продолжите вашиот хигиено-диететски режим. Вашите прегледи во рок од 12 месеци ќе бидат вкупно четири, освен во случај да има индикација за вонреден преглед, а вашиот испитувач ќе ви приложи шема што ќе се случува во тие прегледи.

Дали учеството во испитувањето ќе ми користи?

Според наше убедување, секако дека ќе ви користи, не само поради тоа што го добивате испитуваното средство бесплатно, туку оправдано очекуваме добар тераписки одговор. Веруваме дека со вашето учество во испитувањето ќе го почувствувате бенефитот од користењето на испитуваното помошно лековито средство. Учествувајќи во ова испитување си помагате и себе си, а и на сите останати со високоризична HPV инфекција.

Дали податоците за моето учество ќе бидат доверливо чувани?

Сите информации за ова испитување се од крајно доверлива природа. Сите информации кои ќе се проследат до други инстанци ќе бидат без ваше име и презиме, без единствен матичен број и без ваша адреса, па затоа нема да можат да се препознаат

на кој од учесниците соодветната информација се однесува. Вашето медицинско досие ќе биде достапно само на истражувачкиот тим и вашиот клинички консултант.

Каде ќе се изведува испитувањето и кои се испитувачите?

Испитувањето ќе се изведува на Гинеколошко-Акушерската Клиника, а испитувачи се Д-р Горан Димитров, Д-р Викторија Јовановска и Д-р Адела Стефанија.

Дали испитуваното средство е одобрено од страна на компетентна национална установа за употреба?

Varumin® 1 и 2 растворите првпат се регистрирани со решение број 15-4790/03 од 17.09.2003, а регистрацијата е обновена со решение број 15-1588/1-06 од 27 април 2006 како помошно лековито средство.

Дали до сега се пријавени несакани ефекти од употребата на испитуваното средство?

До сега не се пријавени несакани дејства од испитуваното средство во Центарот за следење на несакани дејства од лекови и помошни лековити средства при Институтот за предклиничка и клиничка Фармакологија со токсикологија, Медицински Факултет, Скопје.

Кој го одобрува испитувањето?

Испитувањето е одобрено од Етичкиот комитет на Лекарската Комора, а во тек е постапката во Етичката комисија при Медицински Факултет Скопје, и Бирото за лекови при Министерството за здравство на Р Македонија.

РЕФЕРЕНЦИ користени при изработка на протоколот за клиничкото испитување:

1. Mackerras D, Irwig L, Simpson JM, Weisberg E, Cardona M, Webster F, Walton L, Gherzi D Department of Public Health and Community Medicine, University of Sydney, NSW, Australia; Randomized double-blind trial of beta-carotene and vitamin C in women with minor cervical abnormalities, *Br J Cancer* 1999 Mar;79(9-10):1448-53
2. Giuliano AR, Gapstur S Arizona Prevention Center, University of Arizona, Tucson 85724, USA; Can cervical dysplasia and cancer be prevented with nutrients? *Nutr Rev* 1998 Jan;56 (1 Pt 1):9-16
3. Keefe KA, Schell MJ, Brewer C, McHale M, Brewster W, Chapman JA, Rose GS, McMeeken DS, Lagerberg W, Peng YM, Wilczynski SP, Anton-Culver H, Meyskens FL, Berman ML. Division of Gynecologic Oncology, and Chao Family Comprehensive Cancer Center, University of California, Irvine, Medical Center, Orange, California 92868, USA) A randomized, double blind, Phase III trial using oral beta-carotene supplementation for women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia; *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001 Oct;10(10):1029-35.
4. Pjzovic E, Ljuca D, Sahimpasic A, Avdic S. Pathology Department, Polyclinic for Laboratory Diagnostic, University Clinics Center Tuzla, Trnovac 1, Gradina, 75,000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina; PMID: 17177657 [PubMed - indexed for MEDLINE] Efficacy in treatment of cervical HRHPV infection by combination of beta interferon, and herbal therapy in woman with different cervical lesions. *Bosn J Basic Med Sci.* 2006 Nov;6(4):79-84.
5. Becker H. Botany of European mistletoe (*Viscum album* L.). *Oncology.* 1986;43(Suppl 1):2-7.
6. Stoss M, Gorter RW. No evidence of IFN-gamma increase in the serum of HIV-positive and healthy subjects after subcutaneous injection of a non-fermented *Viscum album* L. extract. *Nat Immun.* 1998;16:157-164.
7. Bocci V. Mistletoe (*Viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. A review. *J Biol Regul Homeost Agents.* 1993;7:1-6.
8. Bruseth S, Enge A. Mistletoe in the treatment of cancer. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1993;113:1058-1060.
9. Risberg T, Wist E, Melsom H, Kaasa S. Use of alternative medicine among Norwegian hospitalized cancer patients. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1997;117:2458-2463.
10. Happle R. Alternative medicine: really an alternative to academic medicine? *Hautarzt.* 2000;51:439-443.
11. Grossarth-Maticcek R, Kiene H, Baumgartner SM, Ziegler R. Use of Iscador, an extract of European mistletoe (*Viscum album*), in cancer treatment: prospective nonrandomized and randomized matched-pair studies nested within a cohort study. *Altern Ther Health Med.* 2001;7:57-66, 68-72.
12. Mansky PJ, Grem J, Wallerstedt DB, et al. Mistletoe and gemcitabine in patients with advanced cancer: a model for the phase I study of botanicals and botanical-drug interactions in cancer therapy. *Integr Cancer Ther.* 2003;2:345-352.
13. Fritz P, Dippon J, Kierschke T, et al. Impact of mistletoe lectin binding in breast cancer. *Anticancer Res.* 2004;24:1187-1192.
14. Deeker G. Patients are talking about--Iscador (mistletoe). *Clin J Oncol Nurs.* 2001;5:183-184.

15. Luczkiewicz M, Cisowski W, Kaiser P, et al. Comparative analysis of phenolic acids in mistletoe plants from various hosts. *Acta Pol Pharm*. 2001;58:373-379.
16. Stein GM, Berg PA. Mistletoe extract-induced effects on immunocompetent cells: in vitro studies. *Anticancer Drugs*. 1997;8(Suppl 1):S39-S42.
17. Hulsen H, Doser C, Mechelke F. Differences in the in vitro effectiveness of preparations produced from mistletoes of various host trees. *Arzneimittelforschung*. 1986;36:433-436.
18. Orrus S, Scaloni A, Giannattasio M, et al. Amino acid sequence, S-S bridge arrangement and distribution in plant tissues of thionins from *Viscum album*. *Biol Chem*. 1997;378:989-996.
19. Duong Van Huyen JP, Delignat S, et al. Comparative study of the sensitivity of lymphoblastoid and transformed monocytic cell lines to the cytotoxic effects of *Viscum album* extracts of different origin. *Chemotherapy*. 2003;49:298-302.
20. Franz H, Ziska P, Kindt A. Isolation and properties of three lectins from mistletoe (*Viscum album* L.). *Biochem J*. 1981;195:481-484.
21. Olsnes S, Stirpe F, Sandvig K, Pihl A. Isolation and characterization of viscumin, a toxic lectin from *Viscum album* L. (Mistletoe). *J Biol Chem*. 1982;257:13263-13270.
22. Luther P, Sehr I, Bergmann KC, Reutgen H. Allergy and lectins: action between IgE-mediated histamine release and glycoproteins from *Viscum album* L. (mistletoe). *Acta Biol Med Ger*. 1978;37:1623-1628.
23. Coeugniet EG, Elek E. Immunomodulation with *Viscum album* and Echinacea purpurea extracts. *Onkologie*. 1987;10(3 Suppl):27-33.
24. Timoshenko AV, Gabius HJ. Efficient induction of superoxide release from human neutrophils by the galactoside-specific lectin from *Viscum album*. *Biol Chem Hoppe Seyler*. 1993;374:237-243.
25. Stettin A, Schultze JL, Stechemesser E, Berg PA. Anti-mistletoe lectin antibodies are produced in patients during therapy with an aqueous mistletoe extract derived from *Viscum album* L. and neutralize lectin-induced cytotoxicity in vitro. *Klin Wochenschr*. 1990;68:896-900.
26. Stein GM, Berg PA. Evaluation of the stimulatory activity of a fermented mistletoe lectin-1 free mistletoe extract on T-helper cells and monocytes in healthy individuals in vitro. *Arzneimittelforschung*. 1996;46:635-639.
27. Fischer S, Scheffler A, Kabelitz D. Oligoclonal in vitro response of CD4 T cells to vesicles of mistletoe extracts in mistletoe-treated cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 1997;44:150-156.
28. Nikolai G, Friedl P, Werner M, et al. Effect of a mistletoe extract (Iscador QuFrF) on viability and migratory behavior of human peripheral CD4+ and CD8+ T lymphocytes in three-dimensional collagen lattices. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 1997;33:710-716.
29. Klett CY, Anderer FA. Activation of natural killer cell cytotoxicity of human blood monocytes by a low molecular weight component from *Viscum album* extract. *Arzneimittelforschung*. 1989;39:1580-1585.
30. Mueller EA, Anderer FA. A *Viscum album* oligosaccharide activating human natural cytotoxicity is an interferon gamma inducer. *Cancer Immunol Immunother*. 1990;32:221-227.
31. Stein GM, Schaller G, Pfuller U, et al. Thionins from *Viscum album* L.: influence of the viscotoxins on the activation of granulocytes. *Anticancer Res*. 1999;19(2A):1037-1042.

32. Kovacs E. The in vitro effect of *Viscum album* (VA) extract on DNA repair of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in cancer patients. *Phytother Res.* 2002;16:143-147.
33. Frank U, Engels I, Wagner A, et al. Influence of mistletoe (*Viscum album*) extracts on phagocytosis/burst activity of human phagocytes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22:501-503.
34. Wildfeuer A, Mayerhofer D. The effects of plant preparations on cellular functions in body defense. *Arzneimittelforschung.* 1994;44:361-366.
35. Bayazit V. Cytotoxic effects of some animal and vegetable extracts and some chemicals on liver and colon carcinoma and myosarcoma. *Saudi Med J.* 2004;25:156-163.
36. Dietrich JB, Ribereau-Gayon G, Jung ML, et al. Identity of the N-terminal sequences of the three A chains of mistletoe (*Viscum album* L.) lectins: homology with ricin-like plant toxins and single-chain ribosome-inhibiting proteins. *Anticancer Drugs.* 1992;3:507-511.
37. Stirpe F, Legg RF, Onyon LJ, et al. Inhibition of protein synthesis by a toxic lectin from *Viscum album* L. (Mistletoe). *Biochem J.* 1980;190:843-845.
38. Bussing A, Suzart K, Bergmann J, et al. Induction of apoptosis in human lymphocytes treated with *Viscum album* L. is mediated by the mistletoe lectins. *Cancer Lett.* 1996;99:59-72.
39. Yoshida T, Zhang M, Chen C, et al. Enhancement of the cytotoxicity of mistletoe lectin-1 (ML-1) by high pH or perturbation in golgi functions. *Pharmazie.* 1991;46:349-351.
40. Van Huyen JP, Bayry J, Delignat S, et al. Induction of apoptosis of endothelial cells by *Viscum album*: a role for anti-tumoral properties of mistletoe lectins. *Mol Med.* 2002;8:600-606.
41. Bussing A, Schaller G, Pfuller U. Generation of reactive oxygen intermediates (ROI) by the thionins from *Viscum album* L. *Anticancer Res.* 1998;18(6A):4291-4296.
42. Konopa J, Woynarowski JM, Lewandowska-Gumieniak M. Isolation of viscotoxins. Cytotoxic basic polypeptides from *Viscum album* L. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1980;361:1525-1533.
43. Woynarowski JM, Konopa J. Interaction between DNA and viscotoxins. Cytotoxic basic polypeptides from *Viscum album* L. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1980;361:1535-1545.
44. Wenzel-Seifert K, Lentzen H, Seifert R. In U-937 promonocytes, mistletoe lectin I increases basal $[Ca^{2+}]_i$, enhances histamine H1- and complement C5a-receptor-mediated rises in $[Ca^{2+}]_i$, and induces cell death. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1997;355:190-197.
45. Jung ML, Baudino S, Ribereau-Gayon G, Beck JP. Characterization of cytotoxic proteins from mistletoe (*Viscum album* L.). *Cancer Lett.* 1990;51:103-108.
46. Kuttan G, Vasudevan DM, Kuttan R. Effect of a preparation from *Viscum album* on tumor development in vitro and in mice. *J Ethnopharmacol.* 1990;29:35-41.
47. Cazacu M, Oniu T, Lungoci C, et al. The influence of Isorel on the advanced colorectal cancer. *Cancer Biother Radiopharm.* 2003;18:27-34.
48. Bantel E and Breuninger H. In vitro studies of the effect of a mistletoe preparation on melanoma cells. *Z Hautkr.* 1990;65:562-564, 567.
49. Seitz W. The effect of Iscador (*Viscum praeparatum* M.) on the Walker carcinosarcoma of the rat. *Wien Klin Wochenschr.* 1975;87:131-132.
50. Hajto T, Hostanska K, Weber K, et al. Effect of a recombinant lectin, *Viscum album* agglutinin on the secretion of interleukin-12 in cultured human peripheral blood

- mononuclear cells and on NK-cell-mediated cytotoxicity of rat splenocytes in vitro and in vivo. *Nat Immun.* 1998;16:34-46.
51. Hajto T, Hostanska K, Gabius HJ. Modulatory potency of the beta-galactoside-specific lectin from mistletoe extract (Iscador) on the host defense system in vivo in rabbits and patients. *Cancer Res.* 1989;49:4803-4808.
 52. Zarkovic N, Zarkovic K, Grainca S, et al. The *Viscum album* preparation Isorel inhibits the growth of melanoma B16F10 by influencing the tumor-host relationship. *Anticancer Drugs.* 1997;8(Suppl 1):S17-S22.
 53. Antony S, Kuttan R, Kuttan G. Effect of *Viscum album* in the inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res.* 1997;16:159-162.
 54. Berger M, Schmahl D. Studies on the tumor-inhibiting efficacy of Iscador in experimental animal tumors. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1983;105:262-265.
 55. Kunze E, Schulz H, Ahrens H, Gabius HJ. Lack of an antitumoral effect of immunomodulatory galactoside specific mistletoe lectin on N-methyl-N-nitrosourea-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. *Exp Toxicol Pathol.* 1997;49:167-180.
 56. Huber R, Klein R, Berg PA, et al. Effects of a lectin- and a viscotxin-rich mistletoe preparation on clinical and hematologic parameters: a placebo-controlled evaluation in healthy subjects. *J Altern Complement Med.* 2002;8:857-866.
 57. Hajto T, Lanzrein C. Natural killer and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity activities and large granular lymphocyte frequencies in *Viscum album*-treated breast cancer patients. *Oncology.* 1986;43:93-97.
 58. Leroi R. Postoperative *Viscum album* therapy after surgery of breast neoplasms. *Helv Chir Acta.* 1977;44:403-414.
 59. Hassauer W, Gutsch J, Burkhardt R. What prospects of success does Iscador therapy offer in advanced ovarian cancer? *Onkologie.* 1979;2:28-36.
 60. Salzer G, Havelec L. Prevention of recurrence of bronchial carcinomas after surgery by means of the mistletoe extract Iscador. Results of a clinical study from 1969-1971. *Onkologie.* 1978;1:264-267.
 61. Salzer G. Investigation to improve the survival of patients with bronchial carcinomas "radically operated." *Z Erkr Atmungsorgane.* 1975;142:127-131.
 62. Bradley GW, Clover A. Apparent response of small cell lung cancer to an extract of mistletoe and homeopathic treatment. *Thorax.* 1989;44:1047-1048.
 63. Kuehn JJ. Favorable long-term outcome with mistletoe therapy in a patient with centroblastic-centrocytic non-Hodgkin lymphoma. *Dtsch Med Wochenschr.* 1999;124:1414-1418.
 64. Kjaer M. Mistletoe (Iscador) therapy in stage IV renal adenocarcinoma. A Phase II study in patients with measurable lung metastases. *Acta Oncol.* 1989;28:489-494.
 65. Krenzelok EP, Jacobsen TD, Aronis J. American mistletoe exposures. *Am J Emerg Med.* 1997;15:516-520.
 66. Hall AH, Spoerke DG, Rumack BH. Assessing mistletoe toxicity. *Ann Emerg Med.* 1986;15:1320-1323.
 67. Spiller HA, Willias DB, Gorman SE, Sanfletan J. Retrospective study of mistletoe ingestion. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1996;34:405-408.
 68. Gorter RW, van Wely M, Stoss M, Wollina U. Subcutaneous infiltrates induced by injection of mistletoe extracts (Iscador). *Am J Ther.* 1998;5:181-187.
 69. Kast A, Hauser SP. Helixor--mistletoe preparation for cancer therapy. documentation No. 19. *Schweiz Rundsch Med Prax.* 1990;79:291-295.
 70. van Wely M, Stoss M, Gorter RW. Toxicity of a standardized mistletoe extract in immunocompromised and healthy individuals. *Am J Ther.* 1999;6:37-43.

71. Scheer R. The effect of mistletoe lectins on the limulus amebocyte lysate test. *Arzneimittelforschung*. 1993;43:795-800.
72. Ribereau-Gayon G, Jung ML, Di Scala D, Beck JP. Comparison of the effects of fermented and unfermented mistletoe preparations on cultured tumor cells. *Oncology*. 1986;43(Suppl 1):35-41.
73. Maier G, Fiebig HH. Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extracts in vitro. *Anticancer Drugs*. 2002;13:373-379.
74. Bradley PR (ed.): *British Herbal Compendium*, vol. 1. British Herbal Medicine Association, Bournemouth, UK; 1992.
75. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD: *Herbal Medicines. A Guide for Health-care Professionals*. Pharmaceutical Press, London, UK; 1996.
76. Mills SY: *The Dictionary of Modern Herbalism*. Thorsons, Wellingborough, UK; 1985.
77. Fetrow CW & Avila JR (eds): *Professional's Handbook of Complementary and Alternative Medicines*. Springhouse Corporation, Springhouse, PA; 1999.