

Makromolekulare Thymusextrakte, insbesondere beim Krebs

Von K. THEURER

Seit jeher hat die Thymusdrüse in der Medizin Beachtung gefunden. Man hat den Thymus mit dem Wachstum in Zusammenhang gebracht, weil er bei Neugeborenen und in der frühen Kindheit am größten ist und im Alter involviert. Atrophie des Thymus vor der Pubertät kann Zwergwuchs sowie Brüchigkeit der Knochen bewirken. WEKERLE und KETSELEN diskutieren das Vorhandensein von pluripotenten Stammzellen im juvenilen und adulten Thymus. Sie konnten in Monolayerkulturen von Thymusretikulumzellen Myoblasten induzieren, die dann zu Myotuben fusionierten. Andere Differenzierungsreize lassen in dem Kultursystem hämatopoetische Zellen sowie Osteoblasten und Chondroblasten entstehen [1].

Die Thymushyperplasie ist oft mit einer Wucherung des gesamten lymphatischen Gewebes des Körpers wie Tonsillen, Zungenfollikel, Solitärfollikel und Peyersche Plaques des Darmes verbunden und deutet somit auf eine Beeinflussung des Immunsystems hin.

Die Hyperplasie des Thymus soll auch für den Status thymolymphatikus verantwortlich sein und bei besonderen Belastungen des Organismus zum „Thymustod“ führen. Mit einer Fehlfunktion des Thymus werden die verschiedensten Erkrankungen wie z. B. der Morbus Basedow und die Myasthenia gravis in Beziehung gebracht. Vermutlich bestehen auch Wechselbeziehungen zum Endokrinium. Schon 1896 wurde durch Untersuchungen von K. SVEHLA wahrscheinlich gemacht, daß Thymus einen Blutdruck-senkenden Stoff enthält. Intravenöse Injektionen von Preßsäften aus Thymus von Mensch und Tier erniedrigen den Blutdruck und bewirken eine Pulsakzeleration [2].

1961 entdeckte A. GOOD die aktivierende Rolle der Thymusdrüse für die Lymphozyten und einige Jahre später die funktionelle Zweiteilung der Immunabwehr in zelluläre und humorale Immunität. Schon seit langem kennt man T-Lymphozyten. Diese lassen sich aufgrund ihrer Funktion unterteilen in „Helfer“-Zellen und „Killer“-Zellen. Beide werden von einem Peptidhormon aus Thymus, dem Thymosin, aktiviert. „Suppressor“-Zellen hindern hingegen

die Immunabwehr und werden unter Einwirkung eines anderen Thymusfaktors, dem Thymopoietin, an Zahl und Hemmwirkung stimuliert.

Ein Organ mit so verschiedenartigen Einwirkungen auf den Organismus, insbesondere auf das Wachstum, das Immunsystem, den Blutkreislauf und möglicherweise auch auf das Endokrinium, ist für eine organotherapeutische Verwendung prädisponiert. Die einzelnen Anwendungsarten erfolgen in Form verschiedener Thymusextrakte und Hydrolysate sowie auch von Zell- und Gewebstransplantationen. Verständlicherweise beruhen Wirkungsunterschied und Wirkungsgrad auf der Art des jeweiligen Herstellungsverfahrens der verwendeten Präparationen.

Als eine Weiterentwicklung der Zelltherapie in molekularer Richtung verwenden wir bei der Zytoplasmatischen Therapie makromolekulare Organextrakte von den verschiedenen Organarten, einschließlich Thymus, seit fast 25 Jahren. Die Diskussion über Thymusextrakte wurde aber erneut belebt durch GOLDSTEIN und WHITE über Thymosin und andere Thymushormone [3] sowie von ELIS SANDBERG, einem Tierarzt aus Schweden [4].

SANDBERG verwendet als Ausgangsmaterial Thymusdrüsen von 2—4 Monate alten Kälbern. Die Drüsen werden kurz nach der Tötung der Tiere im Schlachthaus entnommen und homogenisiert, d. h. zu einem Brei zerkleinert. Dieser wird im Verhältnis 1 : 2 mit destilliertem Wasser in Flaschen aufgeschüttelt und bei einer Temperatur von 2—4° C im Kühlschrank aufbewahrt. Nach 2 Tagen wird der Überstand vom Sediment getrennt und in Ampullen gefüllt. Dieser wäßrige Extrakt bleibt bei 2—4° C 3—4 Wochen lang haltbar. Das Verfahren hat eine gewisse Ähnlichkeit mit der früheren Methode von FILATOW [5], der später durch Einfrieren der Präparate bei —20° C bessere Gewebewachstumsergebnisse erzielte und seine Präparate biogene Stimulatoren nannte. Bei der Art der Aufarbeitung von SANDBERG wird jedoch keine Kälte angewandt, die autolytische Vorgänge verhindern könnte. Solche erfolgen aber evtl. durch Erwärmen bei der Zerkleinerung der Gewebe und werden durch die Verwen-

dung von nicht isotonem, destilliertem Wasser begünstigt. Es werden 5—10 ml dieses Extraktes s. c. oder i. m., mindestens 3 Wochen lang täglich außer sonntags, injiziert.

Bei der von mir inaugurierten makromolekularen zytoplasmatischen Therapie verwenden wir 2 verschiedene Thymusarten; fötalen Thymus des 2. und 3. Drittels einer Gravidität und jugendlichen Rinderthymus. Diese unterscheiden sich in ihrer Wirkung. Der fötale Thymus hemmt pathogene Immunreaktionen, während der jugendliche Thymus das Immunsystem stimuliert. Dies ließ sich empirisch durch therapeutische Erfahrungen, wie auch experimentell mit der Hämolyse-Plaue-Technik durch SORKIN in Davos, MAYR und BUSCHMANN in München und dem Lymphozytentransformationstest sowie durch die Bestimmung der Aktivität der lysosomalen sauren Phosphatase vor und nach Stimulierung mit Phythaemagglutininen (PHA) an Peritonealzellen nachweisen. Diese Versuche hat GILLISSEN in Aachen durchgeführt [6].

Bei der Herstellung der makromolekularen Präparate für die zytoplasmatische Therapie werden enzymatische bzw. autolytische unkontrollierbare Abbauprozesse verhindert durch sofortiges Einfrieren der schlachtfresh entnommenen Organe in flüsigem Stickstoff bei -196° C. Die steinhart gefrorenen Gewebe werden dann in tiefgekühlten Mühlen gemahlen und das erhaltene Pulver bei separater Anwesenheit von konzentrierter Schwefelsäure im Vakuum gefriergetrocknet. Dieses Verfahren verbessert die Löslichkeit des pulverisierten Lyophilisates und verringert die Artspezifität bei Beibehaltung der Organspezifität. Dies wurde von WEINHOLD, LICHT, GRAUL und VON MAYERSBACH nachgewiesen. In den Präparaten sind Nucleinsäuren, Proteine, Lipide, Polysaccharide sowie deren Bestandteile enthalten. Diese sind dosierbar und gelangen unmittelbar zur Wirkung. Jeweils 15 mg dieser Organrockenpulver stehen eingeschmolzen in Ampullen zur Verfügung und werden mit 2 ml eines beigegebenen Lösungsmittels aus physiologischer Kochsalzlösung oder mit Zusätzen immunologischer Adjuvantien kurz vor der i. m.-Injektion suspendiert [6].

Für eine immunologische Dosierung werden aus dem Lyophilisat verschiedene Verdünnungen, hier Dilutionen genannt, in Konzentrationen von μg , ng und pg , d. h. 10^{-6} , 10^{-9} und 10^{-12} g/ml mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Zur Konservierung der Moleküle wird Natriumlauryl-

sulfat zugesetzt. Experimentell wurde von RÜTHER und GRAUL in Marburg nachgewiesen, daß die immunologische Spezifität erhalten bleibt. KRAFT in München und LICHT in Homburg haben in den Organrockenpulvern, die schon 2—3 Jahre alt waren, noch hohe Enzymaktivitäten festgestellt. PAFFENHOLZ konnte in den Forschungslaboratorien Dr. THEURER die Proliferation menschlicher Zellen in Kultur durch Einsatz der Präparate dosisabhängig steigern sowie deren Wirkung auf die RNA- und DNA-Synthese durch Isotopenmessungen objektivieren. Auch liegen an zellfreien Synthesystemen von JACHERTZ, Bern, und LETNANSKY, Wien, wie auch durch Tierversuche aus verschiedenen Instituten der Veterinärmedizinischen Fakultät in München, durch CHANDRA in Frankfurt, durch WRBA in Wien, VON MAYERSBACH in Hannover, weitere Ergebnisse vor.

Der Vorteil dieser Art von Organpräparaten dürfte in der besonders schonenden Gewinnung und Konservierung der Wirkstoffe sowie in der Dosierbarkeit nach immunologischen Gesichtspunkten und damit in einer differenzierten Anwendung liegen. Wenn auch die biologische Wirksamkeit von Thymuspräparaten ein breites Spektrum aufweist, so ist es doch oft zweckmäßig, zusätzlich noch weitere organspezifische Faktoren aus anderen Organarten zur Therapie mitzuverwenden. Bei der zytoplasmatischen Therapie stehen deshalb von allen lebenswichtigen Organarten Einzelpräparate zur individuellen Behandlung sowie fertige Organkombinationen für bestimmte Indikationen zur Verfügung.

Wegen des Unterschiedes der Wirkung von Präparaten aus fötalem und jugendlichem Thymus möchte ich empfehlen, bei allen hyperergisch-allergischen immunopathogenen Erkrankungen, wie z. B. Ekzemen, Rhinitis vasomotorica und Konjunktivitis, Asthma bronchiale und verschiedenen Formen der Kolitis, bei rheumatischen Erkrankungen und den Kollagenosen, den Muskeldystrophien und der Myasthenia gravis, wie auch bei anderen chronischen Organerkrankungen von Herz, Leber, Niere, Pankreas, dem ZNS, insbesondere der MS bis hin zum Diabetes mellitus, insbesondere, wenn diese mit einer Erhöhung der Immunglobuline, Eosinophilie und bzw. oder Lymphozytose einhergehen, Präparate aus fötalem Thymus zu verwenden. Gegebenenfalls können sich diese Präparate mit solchen aus anderen Organarten oder Kombinationspräparaten abwechseln. Während der Remission bei chronisch-hyper-

ergisch-allergischen Erkrankungen können dann auch Trockensubstanzen aus fötalem Thymus, in Abständen nicht unter einem halben Jahr, mehrmals i. m. injiziert werden.

Bei hypo- und anergischen Zuständen mit Immundefizienzen, insbesondere in der Geriatrie und bei chronischen Infektionen, z. B. der chronischen Bronchitis, Zystitis, Osteomyelitis, Osteoporose wie auch zur Prophylaxe und Therapie vom Krebs kommen Präparate aus dem jugendlichen Thymus in Betracht. Hier sollte bei chronisch-entzündlichen Infekten zunächst mit den Dilutionen, und bei den degenerativen Erkrankungen mit Trockensubstanzen behandelt werden.

Die Auswahl der Präparate bei Durchblutungsstörungen, Hypertonie und Apoplexie richtet sich nach der immunologischen Reaktionslage und sollte durch geeignete Einzelpräparate aus anderen Organarten ergänzt werden.

Die Anwendung von Thymuspräparaten bei Krebs erklärt sich aus der Möglichkeit, die immunologische Abwehr einschließlich der zellulären Abwehr und der Phagozytose allgemein anzuregen.

Vieles spricht dafür, daß diese Art der Stimulierung des Immunsystems gegenüber der Behandlung mit andersartigen Immunstimulantien durch Bakterien, Bakterientoxinen und -extrakten, z. B. durch BCG, Korynebakterien und daraus gewonnenen Extrakten sowie chemischen Stoffen, z. B. dem DNCB (Dinitrochlorobenzol) beträchtliche Vorzüge besitzt. Im Hämolyse-Plaque-Test betrug die Stimulierung mit jugendlichem Thymus bis zum 10fachen der Leerkontrollen. Im Vergleich mit einem Versuchspräparat aus bakteriellen Endotoxinen und chemischen Stoffen BA-1 war die Stimulierung durch ein entsprechend hergestelltes Präparat aus fötalem Herzmuskel doppelt so hoch. Es stimulieren also auch Extrakte aus anderen Organarten die Immunabwehr, insbesondere Nebenniere, fötale Leber und Myokard sowie der materne Anteil der Plazenta vom Rind. Dies haben WRBA, Wien, und SORKIN, Davos, übereinstimmend experimentell mit diesen Präparationen festgestellt [6, 8]. Andererseits können makromolekulare Extrakte aus Milz und dem fötalen Anteil der Plazenta die Entwicklung von Plaque-bildenden Zellen dosisabhängig hemmen. Neben dieser organspezifischen, nicht jedoch tumorspezifischen immunologischen Wirkung erscheint es aufgrund anderer Befunde auch möglich, daß durch solche immunstimulierenden Organex-

trakte eine bestehende Immuntoleranz gegen Tumorantigene durchbrochen werden kann. Dies bedeutet die Zurückgewinnung der verlorenen Fähigkeit zur speziellen tumorspezifischen humoralen und zellulären Immunabwehr [9].

Wichtig war auch die Prüfung der direkten Wirkung von solchen Organextrakten auf Tumorzellen in der Zellkultur. Mein Mitarbeiter PAFFENHOLZ konnte zeigen, daß makromolekulare Extrakte in höheren Verdünnungen der Trockensubstanzen im μg - bis ng -Bereich die Zellproliferation in diploiden menschlichen Zellen stimulieren und in höheren Konzentrationen im mg -Bereich hemmen. Heteroploide Tumorzellen werden hingegen durch Einsatz der Präparate in höheren Verdünnungen nicht zur Proliferation angeregt, sondern eher gehemmt. Eine proliferationshemmende Wirkung wurde auch bei Präparationen aus jugendlichem Thymus, dem maternem Anteil der Rinderplazenta und fötalem Herzmuskel beobachtet. Andererseits vermögen höhere Konzentrationen dieser Präparate die Zellproliferation auch von Tumorzellen in Kultur zu stimulieren. Wir können aufgrund dieser experimentellen Befunde vermuten, daß für den therapeutischen Einsatz der Präparate die Verwendung hoher Verdünnungen im μg -Bereich ggfs. die körpereigene Immunabwehr aktiviert, aber nicht eine erhöhte Onkogenese hervorruft.

Über einen antagonistischen Effekt von Thymussubstanzen und Thymuszellen auf das Wachstum von Zellkulturen und Säugetierzellen haben AOYAMA, KIHARA und NISHIGUCHI von der Universität in Nagasaki 1975 berichtet [10]. Sie verwendeten Ehrlich-Aszites Tumorzellen und heteroploide Mauszellen (L-Zellen). Der stimulierende Effekt in der Zellkultur wurde bei hohen Extraktkonzentrationen und bei Zusatz einer hohen Suspensionsdichte von Thymozyten festgestellt. Demgegenüber wurde ein Hemmungseffekt des Zellwachstums bei niederen Konzentrationen bzw. niederer Suspensionsdichte der zugesetzten Zellen nachgewiesen. Die Thymusextrakte wurden aus 4 Wochen alten ddK-Mäusen ebenfalls unter besonders schonenden Bedingungen in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Diese Extrakte wurden entweder frisch angewandt oder bei -20°C vor dem Gebrauch eingefroren um Autolyse zu verhindern. Gewebefragmente und Faktoren aus normalen Mäusen, die mit 700 R 4 Tage vor der Herstellung der Thymuspräparate röntgenbestrahlt wurden, zeigten keinen Hemmungseffekt mehr. Dieser Unterschied läßt vermu-

ten, daß 2 verschiedene Substanzen für die Beeinflussung des Zellwachstums im Thymus produziert werden und diese verschiedene Konzentrationsoptima für ihre Wirkung besitzen. Da durch Trypsinverdauung ebenfalls der Hemmeffekt verhindert werden konnte, wurde vermutet, daß diese Hemmwirkung durch Proteine oder Polypeptide zustande kommt. Der Thymushemmstoff ist — ähnlich wie die von uns gefundenen Faktoren aus dem maternalen Anteil der Rinder-Plazenta — nicht organspezifisch und bei den verschiedensten Tumorarten wirksam.

Als Konsequenz für die Tumorthherapie, entsprechend der oben genannten Ergebnisse, empfehlen wir die wiederholte Anwendung höherer Verdünnungen des makromolekularen Extraktes aus jungem Thymus in ng-Konzentrationen bei gleichzeitiger Stimulierung des Immunsystems durch Injektionen von Trockensubstanzen eines Kombinationspräparates. Die Anwendung höherer Verdünnungen von jungem Thymus kann z. B. auch mit entsprechend hergestellten Präparaten aus dem maternalen Anteil der Rinder-Plazenta wiederholt abgewechselt werden.

Röntgenbestrahlungen des Thymus sind beim Patienten zu vermeiden. Es könnten dadurch evtl. Stimulationsreize für ein Tumorwachstum ausgelöst werden. Die japanischen Forscher vermuten, daß sich diese Wachstumsfaktoren im Anschluß an die Bestrahlung des Thymus aus Retikulumzellen bilden; der Wachstumshemmfaktor soll hingegen in Thymozyten gebildet werden. LETNANSKY [11] hat im Krebsforschungsinstitut der Universität Wien Hemmfaktoren des Tumorwachstums aus unseren Präparationen aus dem maternalen Anteil der Plazenta isoliert. Diese Isolierung ist jedoch sehr aufwendig und führt leicht zu Wirkungseinbußen. Für die praktische therapeutische Anwendung bietet sie noch keine Vorteile, weil durch wiederholte Anwendung des Rohextraktes in geeigneter Dosierung, die darin enthaltenen Faktoren gleichfalls zur Wirkung gelangen.

Die Therapie mit makromolekularen Organextrakten sollte jedoch zusätzlich in Art einer Korrelationstherapie mit den jeweils erforderlichen Faktoren, ggfs. aus verschiedenen Organarten durchgeführt werden. Thymuspräparationen sind dabei von zentraler Bedeutung und können durch Einsatz weiterer Präparationen den Therapieerfolg wesentlich verbessern.

Zusammenfassung

Die biologische Wirksamkeit von Organpräparaten ist molekularer Art und hängt von der Verfügbarkeit bestimmter Faktoren ab. Deshalb sind das Ausgangsmaterial wie auch das Aufbereitungsverfahren wirkungsbestimmend.

Bei Thymuspräparationen bestehen Wirkungsunterschiede zwischen fötalem und jungem bzw. adultem Thymus. Ersterer wirkt immunsuppressiv und antiallergisch, letzterer immunstimulierend. Bestimmte Wirkungen sind konzentrationsabhängig. Experimentell vermögen hohe Verdünnungen von jungem Thymus das Tumorwachstum zu hemmen, höhere Konzentrationen stimulieren dieses. Nach Röntgenbestrahlung des Thymus entfällt die Hemmwirkung. Die Wachstumsbeeinflussung ist bei Thymus organspezifisch und läßt sich durch proteolytische Enzyme zerstören. Organspezifische wachstumsregulierende Faktoren finden sich zusätzlich in anderen Organarten, so daß für Prophylaxe und Therapie eine Kombination mit solchen Faktoren vorteilhaft erscheint.

Summary

The biological effect of organ preparations is highly linked to macromolecules and the availability of certain cofactors. Biological activity of organ extracts is depending on starting material as well as careful preparation.

Thymus shows a special phenomena. Extracts from fetal thymus exhibit a suppressive and antiallergic effect on the immunological system, while juvenile thymus has stimulatory influences. Some effects depend on the concentrations applied: *In vitro*, diluted extracts from juvenile thymus inhibit tumor cells, while higher concentrations stimulate them. After X-irradiation inhibitory activity is lost.

Thymus influences cell growth of different organs rather unspecifically. The effect depends on proteins and polypeptides. Organspecific factors regulating cell growth are known from different organs. For prophylaxis and therapy, especially in case of cancer, a combination of thymus extracts with these factors is recommended.

Literatur

- [1] WEKERLE, H. und KETELSEN, U.-P.: *Nature* **256**, 493—494 (1975).
- [2] SVEHLA, K.: *Wien. med. Bl.* 46—52 (1896); KNODGEN, H.: *Ärzt. Prax.* **37**, 2397 (1970).
- [3] *Contemporary Topics in Immunobiology*, Vol. 2. Thymus Dependency: Herausgeber: A. J. S. DAVIS and R. L. CARTER: Plenum Press N. Y./London 1973.
- [4] SCHMITZ, B.: Was ist THX? — Vorwort zur deutschen Übersetzung der Monographie von E. SANDBERG.
- [5] FILATOW, W. P.: *Münch. med. Wschr.* **9**, 1950.
- [6] Tagungsbericht „Zytoplasmatische Therapie“ — Vitorgan Ostfildern 1.
- [7] Leitfaden „Zytoplasmatische Therapie“ — Vitorgan Ostfildern 1.
- [8] WRBA, H.: *Österr. Ärztschr.* **23**, 1351 (1974).
- [9] THEURER, K.: *Zeitschr. f. Blut- u. Geschwulstkrankh.* **H 1/1971**.
- [10] AOYAMA, T., KIHARA, K., NISHIGUCHI, K.: *Exptl. Cell Res.* **93**, 427—437 (1975).
- [11] LETNANSKY, K.: *Exp. Path.*, Bd. **8**, S. 205—212 (1973), Bd. **9**, S. 354—360 (1974); *Österr. Ztschr. f. Onkologie* 2/1974.

(Anschrift des Verfassers: Dr. med. Karl Theurer, Forschungslaboratorien für Organo- und Immunotherapie, Brunnwiesenstraße 23, 7302 Ostfildern-Ruit)