

*Ulrich Honegger, Bern*

## Statement zum Thema

### **Johanniskraut: Dem Wirkmechanismus auf der Spur**

Es ist einfacher eine Spur zu finden, wenn das Ziel klar definiert ist. Umso schwieriger ist es, eine Spur zu verfolgen, wenn das Ziel, wissenschaftlich ausgedrückt, nur aus Hypothesen besteht.

Seit Jahrzehnten werden Psychopharmaka, und im speziellen Antidepressiva verbreitet klinisch angewandt, und dennoch sind ihre Wirkungsmechanismen noch weitgehend ungeklärt. Gesichert ist, dass antidepressiv wirksame Arzneistoffe auf den zentralen Neurotransmitter-Haushalt einwirken. Synthetische Antidepressiva greifen an den Übertragungsstellen der noradrenergen, serotoninergen und teilweise auch an dopaminergen Nervenzellen an. Sie bewirken unmittelbar eine Erhöhung der Neurotransmitter-Konzentration im synaptischen Spalt. Dies erfolgt entweder durch Hemmung der Wiederaufnahme, durch erhöhte Ausschüttung oder durch gehemmten Abbau der Ueberträgersubstanzen im präsynaptischen Teil der Synapse. Nach chronischer Verabreichung und zeitgleich mit dem klinischen Wirkungseintritt, kommt es zu adaptativen Veränderungen postsynaptischer Neurotransmitter-Rezeptordichten. Damit verbunden sind Veränderungen der Weiterleitung postsynaptischer Signale.

*Auf der Suche nach dem antidepressiven Wirkungsmechanismus des Johanniskrautextraktes sind wir der Spur der klassischen, synthetischen Antidepressiva Forschung gefolgt.*

An in-vitro Modellen wurden die biochemischen Effekte von trizyklischen Antidepressiva (TCA) und spezifischen Serotonin-Wiederaufnahmehemmern (SSRI) mit denjenigen von Johanniskraut-Extrakten verglichen.

Frisch präparierte Rattenhirnschnitte (Ø 2.8 mm x 0.3 mm) dienten zur Untersuchung der Neurotransmitter-Aufnahme, während an Kulturen von Ratten Astrozytomazellen zur Messung von Neurotransmitter-Rezeptoren und zelluläre Signalwege gemessen wurden.

Der wässrig-alkoholische Hypericum Gesamtextrakt Ze117, lipophile und hydrophile Pflanzenextrakten, sowie isolierte Pflanzeninhaltsstoffe Hyperforin und Hypericin wurden mit den TCA Imipramin und Desipramin, sowie den SSRI Fluoxetin und Fluvoxamin verglichen.

Die Wirkungen der Extrakte und synthetischen Arzneistoffe auf den Neurotransmitter-Transport wurden durch Messung der Aufnahme von radioaktiv-markierten biogenen Aminen in die Hirnschnitte untersucht.

Die Effekte auf die Neurotransmitter-Rezeptorendichte wurden durch Rezeptorenbindungsstudien und durch die zeitliche Abfolge des Recyclings von grünfluoreszierenden  $\beta$ -Adrenozeptoren an kultivierten, transfizierten Astrocytoma-Zellen mit konfokaler Fluoreszenz-Mikroskopie erfasst. Die Effekte auf die Signalkaskade wurden exemplarisch anhand der  $\beta$ -Adrenozeptor-stimulierten zyklischen Adenosin-monophosphat (cAMP)-Bildung gemessen.

*Das Folgen der Spuren mit den eben beschriebenen Mitteln führte zu den nachfolgenden Resultaten:*

### **Neurotransmitter-Aufnahme in Rattenhirn-Schnitten**

Ähnlich wie die synthetischen Antidepressiva, führten sämtliche Johanniskraut-Extrakte zu einer dosisabhängigen Verminderung der zellulären Aufnahme von Noradrenalin und Serotonin. Die Aufnahme von Noradrenalin wurde mit geringeren Dosen von Hypericum-Extrakten gehemmt, als diejenige von Serotonin. Hingegen war das Ausmass der Serotoninaufnahme-Hemmung vergleichbar mit derjenigen durch TCA und SSRI, während die Noradrenalin-Aufnahme durch die Pflanzenextrakte nicht im gleichen Ausmass wie durch synthetische Arzneistoffe gehemmt werden konnte.

Weder Hyperforin noch Hypericin als Einzelsubstanzen hatten einen hemmenden Effekt auf die Neurotransmitter-Aufnahme in Hirnschnitten.

### **$\beta$ -Adrenozeptorendichte an kultivierten Rattenhirnzellen**

Aufgrund früherer Untersuchungen ist bekannt, dass die chronische Einwirkung von antidepressiv wirksamen Substanzen eine Abnahme der Rezeptorendichte in-vivo und an der Plasmamembran von kultivierten Zellen verursacht. Das Ausmass dieser "Down-Regulation" war sowohl für synthetische Wirkstoffe, als auch für die pflanzlichen Extrakte dosisabhängig und erfolgte in den Zellkulturmodellen erst nach einer Expositionszeit von mindestens 6 Tagen. In vivo benötigt die Dichtereduktion eine Behandlungszeit mit TCA von 10 bis 20 Tagen, analog zum klinischen Wirkungseintritt.

Die Rezeptorenreduktionen waren für alle Behandlungen, einschliesslich für Extrakte ohne Hyperforin bzw. ohne Hypericin statistisch signifikant.

Dagegen waren auch in diesen Tests die isolierten Reinsubstanzen Hyperforin und Hypericin ohne Effekt.

## cAMP-Bildung

Um die Relevanz der induzierten  $\beta$ -Adrenozeptor-Downregulation zu erfassen, wurden Rezeptor-stimulierte cAMP-Konzentrationen gemessen. Die Reduktion der Bildung der „second messenger“-Substanz korrelierte mit derjenigen der Rezeptoren-Abnahme. Dies bedeutet, dass es sich bei den Rezeptoren, die durch die Antidepressiva in ihrer Zahl reduziert wurden, um funktionelle, und nicht etwa um Reserve- oder „spare“-Rezeptoren handelt.

In einer neueren Arbeit (Bürgi, Baltensperger, Honegger. J. Biol. Chem. 278: 1044-1052, 2003) konnten wir zeigen, dass stimulierte  $\beta$ -Adrenozeptoren in chronisch mit TCA behandelten Zellen, gleich wie in Kontrollzellen internalisiert werden, dass aber das Recycling dieser Rezeptoren an die Zelloberfläche verlangsamt ist. Dies führt zu einer Umverteilung der Rezeptoren von der Zelloberfläche ins Zellinnere und damit zu einer Abnahme der funktionellen Oberflächen-Rezeptordichte.

Die Versuche wurden mit konfokaler Fluoreszenz-Mikroskopie durchgeführt. Dabei konnten die mit einem grünfluoreszierenden Protein gekoppelten Rezeptoren in den stabil transfizierten Zellen verfolgt werden.

Erst mit der Verwendung eines Hypericin-freien Hypericum-Extraktes konnte eine analoge Studie durchgeführt werden. Vorgängige Abklärungen hatten ergeben, dass der Hypericin-freie Extrakt in sämtlichen Tests aktiv war und sich vom Ze117-Gesamtextrakt weder qualitativ noch quantitativ unterschied.

Spuren von Rest-Hypericin im Extrakt führen zu einem „Bleaching“-Effekt, so dass Zellen nur einmal und für kurze Zeit im Mikroskop beobachtet werden konnten. Diese Momentaufnahmen zeigten, dass statistisch gesehen, unter Extrakt Behandlung mehr Zellen ein verlangsamtes Rezeptorrecycling zeigten als parallel untersuchte Kontrollzellen.

## Schlussfolgerungen

Aus den Spuren der in-vitro Versuche lassen sich folgende Erkenntnisse über die Wirkungsmechanismen von Johanniskraut-Extrakten machen:

### ***Johanniskraut-Extrakte bewirken vergleichbare biochemische Veränderungen, wie klassische synthetische Antidepressiva (TCA, SSRI).***

- ✓ Die Transportmechanismen für die Neurotransmitter Noradrenalin und Serotonin in Nervenzellen werden akut gehemmt.
- ✓ Die von der überwiegenden Zahl synthetischer Antidepressiva bekannte Reduktion der  $\beta$ -Adrenozeptoren Dichte tritt auch nach chronischer Einwirkung von Johanniskraut-Extrakten ein. Die Abnahme der Rezeptorenzahl korreliert mit einer Modifikation der

Signalkaskade, wie aus der Reduktion der  $\beta$ -Adrenozeptor stimulierten cAMP-Antwort erkennbar ist.

- ✓ Auch die "Down-Regulation" der Zahl an Oberflächenrezeptoren scheint ebenfalls eine Folge des verlangsamten Rezeptor-Recyclings zu sein, ähnlich wie wir dies für TCA und SSRI Antidepressiva zeigen konnten.
- ✓ Isolierte, reine Pflanzeninhaltsstoffe (Hyperforin und Hypericin) zeigten in unseren in vitro Modellen keine Wirkung. Extrakte ohne Hyperforin oder ohne Hypericin waren weiterhin aktiv. Dabei ist festzuhalten, dass die Extrakte umso wirkungsvoller waren, je lipophiler die Inhaltsstoffe waren.

Zur Zeit müssen wir davon ausgehen, dass die Extrakte als Ganzes das wirksame antidepressive Prinzip darstellen, und dass die Wirkung bisher nicht auf einzelne Inhaltsstoffe reduziert werden kann. Antidepressiva zeichnen sich aus durch ihre multiplen Angriffspunkte. Ein Vielstoffgemisch, wie es im Hypericum-Extrakt vorliegt, besitzt genau diese Eigenschaften.

*Prof. Dr. Ulrich E. Honegger  
Institut für Pharmakologie  
Universität Bern  
Friedbühlstrasse 49  
CH-3010 Bern  
Tel. 0041/ 31/ 632 32 81  
Fax 0041/ 31/ 632 49 92  
E-Mail: [ulrich.honegger@pki.unibe.ch](mailto:ulrich.honegger@pki.unibe.ch)*