

Johanniskraut

Dem Wirkungsmechanismus einen Schritt näher

Der folgende Artikel ist die schriftliche Fassung des gleichlautenden Referats, das der Autor anlässlich des Symposiums «Johanniskraut – eine potente Arzneipflanze fordert die Wissenschaft» am 16. November 2006 in Bern gehalten hat.

Ulrich Honegger

Einleitung

Anlässlich des ersten Johanniskraut-Symposiums 2001 in Bern haben wir über das Wirkprinzip von Johanniskraut und seinen Inhaltsstoffen gesprochen. Die damals vorgestellten Resultate waren noch recht bescheiden. Für einen Pharmakologen, der es gewohnt ist, sich an streng wissenschaftlichen Grundlagen von Monosubstanzen zu orientieren, war es ungewöhnlich, einen Extrakt, und nicht einzelne Wirkstoffe, zu untersuchen. In den letzten fünf Jahren bin ich von diesem ursprünglichen Denken abgekommen. Deshalb trägt das Referat den Titel «Johanniskraut: Dem Wirkungsmechanismus einen Schritt näher». Es ist meine Aufgabe, Ihnen die Fortschritte dieser fünf Jahre dauernden Johanniskraut-Forschung näher zu bringen. Ein «Schritt» kann ein Schritt mit Siebenmeilenstiefeln sein oder aber auch nur einen kleinen Schritt bedeuten. Ich überlasse es Ihnen, wie gross Sie diesen Schritt einschätzen.

Botanik

Der botanische Name des Johanniskrauts ist *Hypericum perforatum*. *Perforatum*, weil die kleinen Drüsen in den Blättern den Anschein erwecken, man könne durch die Blätter hindurchschauen. Johanniskraut wird 30 bis 60 cm hoch und wird im Juni, zur Zeit der vollen Blüte, geerntet. Weil dies um die Sommersonnenwende am

24. Juni, dem Johannistag, der Fall ist, kam die Pflanze auch zu ihrem Namen. Im englischsprachigen Raum heisst sie St. John's wort. *Hypericum perforatum* kommt praktisch auf der ganzen Welt vor und wird auch auf der ganzen Welt als Heilpflanze eingesetzt.

Inhaltsstoffe

Die Beschäftigung mit einem Gesamtextrakt, mit all den vielen Inhaltsstoffen war damals für mich das Neue und Befremdende. Des Weiteren musste ich erkennen, dass es neben den bekannten, nachweisbaren Substanzen noch etwa 150 weitere Inhaltsstoffe gibt. Welche Stoffe das aktive Prinzip ausmachen, war weder damals noch ist es heute bekannt. Weil bis heute keine einzelne Substanz für die Wirkung verantwortlich gemacht werden kann, gilt für mich: Das Wirkprinzip ist der Gesamtextrakt. Sie werden sich vorstellen können, wie viel es gebraucht hat, bis ich diesen Schritt vollziehen konnte, um vom komplexen Gesamtextrakt als dem Wirkprinzip sprechen zu können!

Pharmakologie der Antidepressiva

An dieser Stelle ist ein kurzer Exkurs in die Neurophysiologie zu machen: An der Synapse, der Verbindung zwischen zwei Nervenzellen, wird ein Signal von einer Zelle, über einen Spalt, auf die nächste weitergeleitet. Dies geschieht durch Ausschüttung einer Überträger-substanz, eines sogenannten Neurotransmitters, in den synaptischen Spalt. An der nächsten Nervenzelle bindet die Überträger-substanz an spezifische Rezeptoren (vgl. *Abbildung 1*). Dies löst in dieser Zelle ein Signal aus, das entlang dieses Neurons weitergeleitet wird.

Die von uns im Zusammenhang mit Depressionen hauptsächlich untersuchten Neuronen sind noradrenerg und/oder serotoninerg. Gemäss unserem heutigen Wissen können Antidepressiva die Wiederaufnahme des Neurotransmitters aus dem synaptischen Spalt hemmen. Damit bleibt diese Überträger-substanz länger und in höherer Konzentration im synaptischen Spalt. Andererseits hemmen ge-

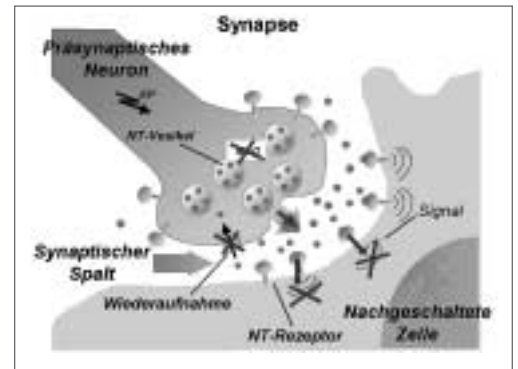


Abbildung 1: Übertragung des Nervenreizes am synaptischen Spalt

wisse Antidepressiva das Enzym Monoaminoxidase Subtyp A, welches Noradrenalin und Serotonin abbaut. Durch die Verminderung dieses Abbaus wird ebenfalls eine Konzentrationserhöhung der Neurotransmitter im synaptischen Spalt bewirkt. Als weiterer möglicher Akuteffekt der Antidepressiva führt auch eine vermehrte Ausschüttung von Neurotransmittern in den synaptischen Spalt zu einer Anreicherung der Überträgersubstanz zwischen den beiden Nervenzellen. Wird eine einzelne Dosis eines Antidepressivums eingenommen, dann führt dies bereits zu einem Ansteigen der Neurotransmitterkonzentration. Erst nach längerer, fortgesetzter Einnahme der Antidepressiva kommt es zu postsynaptischen Veränderungen. Die Zahl der Rezeptoren, an welche die Neurotransmitter binden, werden an der Zelloberfläche reduziert. In Tierversuchen und mit Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt etwa nach ein bis zwei Wochen eintritt. Nach dieser Latenzzeit tritt die klinische Wirkung der Antidepressiva in vivo auch bei Patienten ein. Es ist der Zeitpunkt, in dem diese Rezeptoren reduziert werden.

Darstellung in Modellen

Wir haben versucht, die Akut- und Langzeitwirkungen in Modellen darzustellen. Dazu haben wir ein In-vitro-Modell untersucht, das akute Effekte auf die Neurotransmitteraufnahme in Hirngewebe zeigt.

Als Modell für die Langzeitwirkung von Antidepressiva wurden kultivierte Astrozytomazellen aus dem Cortex von Ratten verwendet. Diese Zellen exprimieren beta-adrenerge Rezeptoren. Nach der Stimulation dieser Rezeptoren mit einem selektiven Agonisten wird zyklisches Adenosin-Monophosphat (cAMP) gebildet. Diese Bildung von cAMP, als zellulärer Signalsubstanz, wurde ebenfalls gemessen.

Untersucht wurden die Effekte von Johanniskraut-Extrakt und mit denen von Trizyklika, wie Imipramin und Desipramin, oder von SSRI, wie Fluvoxamin und Fluoxetin, verglichen. Für Noradrenalin- und Serotonin-Aufnahmemessungen haben wir Gewebeschnitte aus dem Cortex verwendet. Für die Messung der Dopamin-Aufnahme präparierten wir Striatumschnitte des Rattenhirns, in dem man eine hohe Dichte an dopaminergen Nervenzellen findet. Es war nämlich eines unserer Ziele, auch Dopamin zu untersuchen.

Für die praktische Untersuchung inkubierten wir die Hirnschnitte (Durchmesser 1,8 mm, Dicke 0,3 mm) für 30 Minuten in einer antidepressivumhaltigen Wirkstofflösung und bestimmten anschliessend die Aufnahme von radioaktivem Noradrenalin, Serotonin oder Dopamin. Damit lässt sich zeigen, ob die Aufnahme der Neurotransmitter in diese Schnitte gehemmt wird oder unverändert weiterläuft. Die ersten Resultate dieser Messungen konnte ich schon vor fünf Jahren zeigen. Die Standardabweichungen sind in der Zwischenzeit etwas kleiner geworden. (vgl. *Abbildung 2*).

Desipramin hemmt die Noradrenalin-Aufnahme mit der höchsten Potenz, gefolgt von Imipramin mit etwas geringerer Wirkung. Auch Fluvoxamin hemmt die Aufnahme. Dies zeigt, dass SSRI ab einer gewissen Konzentration ihre Serotonin-Selektivität verlieren, und die Noradrenalin-Aufnahme ebenfalls hemmen. Wenn man den Effekt eines Hypericum-Extrakts misst, kann man auch von diesem Extrakt eine Hemmung der Noradrenalin-Aufnahme in diesen Rattenhirnschnitten beobachten. Die *Abbildung* zeigt, dass die Wirkungsstärke (Efficacy) nicht maximal ist. Wir haben eine geringere maximale Hemmung der Noradrenalin-Aufnahme im Vergleich zu den synthetischen Antidepressiva.

Im Falle der Messung der Aufnahmehemmung von Serotonin ist, wie dies zu erwarten ist, das SSRI Fluvoxamin der

Stoff mit der höchsten Hemmpotenz. Das Ausmass des Effektes von Hypericum-Extrakt ist in diesem Fall gleich gross wie das der synthetischen Antidepressiva. Die Aufnahme von Noradrenalin und Serotonin wird von synthetischen Antidepressiva und dem Pflanzenextrakt in Rattenhirnschnitten etwa vergleichbar stark gehemmt.

Aufnahmehemmung von Dopamin

Wir versuchten dann zu bestimmen, ob auch die Aufnahme von Dopamin verändert wird. Und tatsächlich wurde auch die Dopamin-Aufnahme in den Striatumschnitten vom Hypericum-Extrakt gehemmt, während die synthetischen Antidepressiva keine signifikante Hemmwirkung entfalteten. Die Hemmpotenz von Hypericum-Extrakt ist für Noradrenalin am grössten, gefolgt von Dopamin und schliesslich von Serotonin. Die Affinität für den Dopamin-Transport ist siebenmal geringer als die für Noradrenalin aber dreimal höher als die für Serotonin. Hypericum-Extrakt hemmt also die Aufnahme der drei Neurotransmitter. Dies ist eine Ausnahme für ein Antidepressivum, weil die meisten Antidepressiva wenig Effekt auf die dopaminerge Aufnahme haben.

Chronisches Modell

Als Modell zur Untersuchung des chronischen Effektes verwendeten wir Ratten-Astrozytomazellen, die wir in

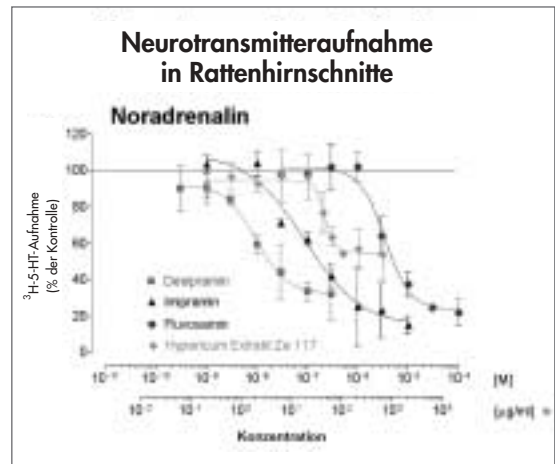


Abbildung 2: Aufnahmehemmung von Noradrenalin durch Antidepressiva

Kultur hielten. Bei diesen Zellen tritt eine partielle Wachstumshemmung auf, deshalb können wir mit denselben Zellen mehrere Tage arbeiten. Wir behandelten sie während sechs bis acht Tagen, weil wir gesehen hatten, dass diese Zeit für die maximale Wirkung ausreicht. Wir haben am Schema des synaptischen Spalts gesehen, dass vor allem die beta-adrenergen Rezeptoren in ihrer Zahl reduziert werden. Diese Reduktion wird von allen Antidepressiva herbeigeführt. Auch in vivo sieht man diese Abnahme der beta-adrenergen Rezeptoren, und deshalb haben wir sie als Modell genommen.

Abbildung 3 zeigt die Verminderung der Beta-Adrenozeptoren-Dichte. Hypericum-Extrakt bewirkt eine hochsignifikante Abnahme im Vergleich zur Kontrolle, jedoch eine weniger ausgeprägte als Desipramin oder Fluoxetin.

Wenn man aber das daraus entstehende Signal misst, die Bildung von

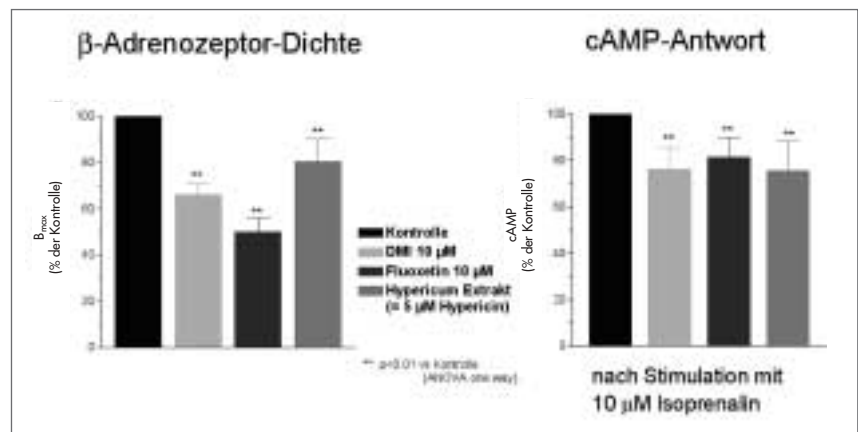


Abbildung 3: Beta-Adrenozeptoren-Dichte und cAMP-Antwort

cAMP, das über die Rezeptorenstimulation mit Isoprenalin gebildet wird, findet man eine für alle drei untersuchten Antidepressiva identische Abnahme. Das heisst, dass wahrscheinlich im Hypericum-Extrakt noch eine weitere Komponente aktiv ist, die diese Signalbildung unterdrückt, denn der Unterschied in der Abnahme der Beta-Adrenozeptoren wird hier vollständig kompensiert. Das haben wir immer wieder gemessen, weil wir es anfänglich nicht glaubten. Aber es hat sich immer wieder bestätigt: Beim Ausmass der Abnahme des relevanten Signals ist zwischen den synthetischen Substanzen und dem Extrakt nicht zu unterscheiden.

Rezeptorrecycling

Warum nehmen die Beta-Adrenozeptoren ab? Wie kann man das erklären? Wenn ein Betarezeptor durch einen Agonisten stimuliert wird, bewegt er sich in der Zellmembran zu einem Ort, wo durch eine Invagination der Membran Vesikel, sogenannte Endosomen, gebildet werden. Diese Vesikel transportieren die stimulierten Rezeptoren ins Zellinnere. Später wird der Rezeptor wieder an die Zelloberfläche zurücktransportiert.

Nebenbei: Dieses Rezeptorrecycling ist meiner Meinung nach eine tolle Einrichtung der Natur.

Ist man Stresssituationen ausgesetzt, schüttet die Nebenniere Adrenalin aus und stimuliert die Betarezeptoren, was die bekannten Stresszeichen wie Schwitzen, Steigerung der Pulsfrequenz und so weiter hervorruft. Damit diese Vorgänge mit der Zeit den Organismus nicht schädigen, schützt er sich dagegen, indem er die stimulierten Rezeptoren in die Zelle hineinverlagert. Dadurch sind weniger funktionelle Rezeptoren an der Oberfläche, und die Stimulation lässt nach. Wenn die Stresssymptome mit der Zeit abnehmen, erfolgt dies nicht etwa, weil weniger Adrenalin ausgeschüttet wird, sondern weil die Zahl der auf den Adrenalinimpuls reagierenden Rezeptoren und deren Signalausbreitung abnimmt.

Wir wollten nun dieses Recycling sichtbar machen und haben die DNS von humanen Beta-1-Adrenozeptoren mit derjenigen eines grün leuchtenden Proteins ligiert. Damit liess sich ein grün leuchtendes Rezeptorkonstrukt bilden, das von den Zellen exprimiert wurde und im Fluoreszenzmikroskop sichtbar war. Man sieht also den nun

grün leuchtenden Rezeptor an der Oberfläche von Zellen, in die dieses Konstrukt eingeschleust wurde. Wenn man diese Zellen mit dem Beta-Agonisten Isoprenalin behandelt – man könnte auch Noradrenalin nehmen – dann geschieht Folgendes: Die vorher nur an der Oberfläche sichtbaren Rezeptoren wandern gemäss dem Rezeptorrecycling in die Zelle hinein, und die fluoreszierende Farbe wird im Zellinnern sichtbar. Wenn wir den Agonisten entfernen, wandern die Rezeptoren-Proteinkonstrukte wieder an die Oberfläche.

Verlangsamung des Recyclings

Wenn wir nun diesen Vorgang an Zellen vornehmen, die chronisch mit dem trizyklischen Antidepressivum Desipramin behandelt wurden, dann sieht man die Rezeptoren zuerst an der Oberfläche, die nach der Stimulation mit Isoprenalin in die Zellen hineinwandern. Nun wäscht man den Agonisten weg, und die Rezeptoren bleiben in der Zelle. Das heisst, das Recycling wird verlangsamt. Nun kann man sich vorstellen, dass ein längeres Verweilen der Rezeptoren in der Zelle eine Verminderung der Zahl dieser Rezeptoren an der Oberfläche bedeutet. Und damit kann man auch in vivo diese Reduktion der funktionellen Betarezeptoren, die durch die chronische Antidepressivaexposition und zusätzlich durch die erhöhten Noradrenalin-Konzentrationen im synaptischen Spalt ausgelöst wird, erklären.

Nun lag es auf der Hand, mit dem Johanniskraut-Extrakt das gleiche Experiment vorzunehmen. Transfizierte Zellen wurden mit dem Extrakt chronisch behandelt und anschliessend durch konfokale Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Dabei wurde die Zelle mit einem Laser bestrahlt und die Fluoreszenz gemessen. Als wir bei unserem ersten Versuch den Laser einschalteten, erlebten wir ein «Feuerwerk». Die Zellen explodierten förmlich, weil sich darin eine grosse Hitze gebildet hatte. Hypericin, ein Inhaltsstoff des Hypericum-Extraktes, ist ein roter Farbstoff, der die Energie des Laserstrahls zurückhält und sie in Wärme umwandelt, was dann zu dem beobachteten Vorgang führte. Um dieses Problem zu umgehen, verwendeten wir einen Hypericin-freien Extrakt. Wir stellten vorgängig fest, dass dieser Hypericin-freie Extrakt sowohl in Bezug auf Neurotransmitteraufnahme und Rezeptoren-

abnahme als auch in Bezug auf die Bildung von cAMP genau so wirksam war wie ein Hypericin-haltiger Extrakt.

Eine Behandlung der Zellkulturen mit dem Hypericum-Extrakt bewirkt eine Verlängerung der Verweildauer der Rezeptoren in der Zelle, das heisst, auch der Extrakt verlangsamt dieses Recycling, wie wir es nach chronischer Einwirkung von synthetischen Antidepressiva (Trizyklika und SSRI) schon beobachtet haben.

Schlussfolgerungen

- Die akute Wirkung von Johanniskraut-Extrakt ist eine Hemmung der zellulären Aufnahme von Noradrenalin, Serotonin und Dopamin, vergleichbar mit Trizyklika und SSRI. Der Dopamin-Effekt ist bei den Trizyklika und bei den SSRI nur ansatzweise vorhanden.
- Die chronische Wirkung von Johanniskraut-Extrakt ist eine Reduktion der funktionellen Beta-Adrenozeptoren-Dichte und eine Abnahme des cAMP-Signals. Die gesamte Beta-Adrenozeptorenzahl wird nicht vermindert, nur ihre Dichte an der Zelloberfläche nimmt ab. Diese Wirkung ist vergleichbar mit derjenigen von Trizyklika und SSRI.
- Wir haben die Untersuchungen an den Modellen auch mit isoliertem Hyperforin respektive Hypericin als Monosubstanzen durchgeführt. Aber weder auf die Neurotransmitteraufnahme noch auf die Rezeptordichte an der Zelloberfläche haben diese beiden Einzelsubstanzen eine Wirkung ausgeübt. Und deshalb gilt für mich nach wie vor, dass das wirksame Prinzip der Gesamtextrakt und nicht eine Einzelsubstanz ist, oder wir haben diese noch nicht entdeckt. Die einzelnen Substanzen üben eine additive oder gar synergistische Wirkung aus und erzielen dadurch eine Gesamtwirkung, die derjenigen eines trizyklischen oder eines SSRI-Antidepressivums entspricht. ■

Anschrift des Referenten:
Prof. emer. Dr. Ulrich Honegger
Musterplatz 43
3033 Wohlen
E-Mail: ulrich.honegger@bluewin.ch