

Aus der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychosomatik
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i.Br.

**Neurophysiologische Charakterisierung der wasserlöslichen
Fraktion eines Johanniskrautextraktes und dessen Einfluß auf die
Langzeitpotenzierung**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Medizinischen Doktorgrades

Der Medizinischen Fakultät
Der Albert-Ludwigs-Universität
Freiburg i.Br.

Vorgelegt 2004
Von Marianne Heinen
Geboren in Leonberg

Dekan: Prof. Dr. med. J. Zentner

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. J. Walden

2. Gutachter: Prof. Dr. med. D. K. Meyer

Jahr der Promotion: 2004

Für meine Mutter und für meinen Vater

Danksagung:

Die Erstellung dieser Arbeit wäre nicht ohne die Unterstützung zahlreicher Personen möglich gewesen.

Dabei möchte ich insbesondere meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. J. Walden danken, der mir freundlicherweise das Thema überließ und mir mit wissenschaftlichen Rat stets zur Seite stand.

Herrn Prof. Dr. D. K. Meyer möchte ich für die Übernahme des Zweitgutachtens danken.

Auch Herrn Prof. Dr. Berger bin ich sehr dankbar dafür, daß ich meine Doktorarbeit an seiner Klinik durchführen konnte.

Für die hervorragende Betreuung möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Jens Langosch bedanken. Er hat mich in jeder Phase meiner Arbeit unterstützt hat und war stets für Fragen erreichbar.

Frau Xiao-Yan Zhou möchte ich für die geduldige und freundliche Einarbeitung danken.

Dass ich überhaupt erst eine solche Arbeit schreiben konnte, habe ich meinem Vater Raymond Heinen zu verdanken. Er hat mich während meines gesamten Studiums unterstützt. Mit seiner Hilfe konnte ich unter anderem die zahlreichen – in der Zeit aufgetretenen – Computerprobleme lösen.

Auch meine Tanten Kaisa Dietsch und Maikki Aho haben mir mit ihrer Unterstützung unverzichtbare Hilfe geleistet.

Schließlich möchte ich mich bei allen meinen Freunden bedanken, die zur Erstellung meiner Doktorarbeit in der einen oder anderen Weise beigetragen haben, insbesondere Frau Silke Eisele und Herrn Dietrich Lauer, die mir durch das Korrekturlesen meiner Arbeit wertvolle Anregungen gegeben haben.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinem Freund Herrn Mirko Becker für die liebevolle Unterstützung und das geduldige Korrigieren bedanken.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in folgenden Artikeln veröffentlicht:

Langosch, J. M., Zhou, X. Y., Heinen, M., Chatterjee, S. S., Nöldner, M. et Walden, J. (2001). Effects of *Hypericum perforatum* L. on evoked potentials in guinea pig hippocampal slices. *Pharmacopsychiatry*, 34 Suppl 1, S83-8.

Langosch, J. M., Zhou, X.-Y., Heinen, M., Kupferschmid, S., Chatterjee, S. S., Nöldner, M., Walden, J. (2002). St John's wort (*Hypericum perforatum*) modulates evoked potentials in guinea pig hippocampal slices via AMPA and GABA receptors. *Eur Neuropsychopharmacol*, 12(3):209-16.

**„WENN DIE KRANKHEIT JEMANDEN ZWINGT, SICH SELBST ZU TÖTEN,
WENN DER BESSESENE GEISTER UND GESPENSTER SIEHT, WIRKT
HYPERICUM ALS STÄRKSTES ARCANUM.“**

Theoprastus von Hohenheim (1493-1541), genannt Paracelsus

Aus: De Morbis Amentium (von den Krankheiten, so Vernunft berauben), Basel 1568

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	9
1 Einleitung	10
1.1 Ziel der Arbeit	10
1.2 Struktur und Funktion des Hippocampus	10
1.3 Transmittersysteme und Rezeptoren	13
1.3.1 Glutamat	13
1.3.2 GABA	14
1.4 Neurophysiologische Grundlagen	16
1.4.1 Definition und Bedeutung von Feldpotentialen	16
1.4.2 Definition und Bedeutung der Langzeitpotenzierung (LTP)	16
1.4.3 Niedrig-Magnesium-Modell	18
1.5 Hypericum perforatum	19
1.5.1 Beschreibung von Hypericum perforatum	19
1.5.2 Antidepressive Mechanismen von Hypericum perforatum	20
1.5.3 Pharmakokinetik von Hypericum perforatum	23
1.5.4 Klinische Studien zu Hypericum perforatum	24
2 Material und Methoden	27
2.1 Material	27
2.1.1 Versuchstiere	27
2.1.2 Beschreibung der getesteten Substanzen	27
2.1.3 Apparaturen und Versuchsaufbau	28
2.2 Methoden	29
2.2.1 Anfertigung der hippocampalen Gewebsschnitte	29
2.2.2 Lösungen der verwendeten Substanzen	31
2.2.3 Durchführung der Experimente	31
2.3 Auswertungen	32
3 Ergebnisse	34
3.1 HYPWS im Niedrig-Magnesium-Modell	34
3.2 Auswirkungen von HYPWS auf LTP	37
3.3 Kombination von HYPWS mit Antagonisten	40
3.3.1 Kombination von HYPWS mit dem GABA _A -Antagonisten Bicucullin	40
3.3.2 Kombination von HYPWS mit dem GABA _B -Antagonisten Phaclofen	40
3.3.3 Kombination von HYPWS mit dem AMPA-Antagonisten CNQX	41
3.3.4 Kombination von HYPWS mit CNQX und Phaclofen	41

4	Diskussion	47
5	Zusammenfassung.....	61
6	Literatur	62
	Lebenslauf.....	81

ABKÜRZUNGEN

ACSF	Künstlicher Liquor (artificial cerebrospinal fluid)
AMPA	α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
APV	2-Amino-5-phosphonovalerat
CRH	Kortikotropin-Releasing-Hormon (corticotropin-releasing hormone)
fEPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Feldpotential
fp	Feldpotential
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CNQX	6-Cyano-7-nitro-quinoxalin-2,3-dion
DMSO	Dimethylsulfoxid
GABA	γ -Aminobuttersäure
HFS	Hochfrequenzstimulation
5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
HYPWS	Wasserlösliche Fraktion des Johanniskrautes (Hypericum perforatum, water soluble)
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
LTD	Langzeitdepression
LTP	Langzeitpotenzierung
MAO A	Monoaminoxidase Typ A
MAO B	Monoaminoxidase Typ B
MAOI	Monoaminoxidase-Inhibitor
mGluT	Metabotroper Glutamatrezeptor
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
NA	Noradrenalin
NMDA	N-methyl-D-aspartat
PDS	Paroxysmale Depolarisationsverschiebung (paroxysmal depolarisation shift)
PS	Population Spike
SSRI	Selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (selective serotonin reuptake inhibitor)
TCA	Tricyclisches Antidepressivum
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 EINLEITUNG

1.1 Ziel der Arbeit

Die antidepressive Wirksamkeit von *Hypericum perforatum* ist schon lange bekannt [Ferne, 1897; Pickering, 1879]. Heutzutage wird es für leichte bis mittelschwere Depressionen verschrieben und ist zudem auf dem freien Markt rezeptfrei erhältlich. In der Bundesrepublik waren 1997 Hypericumextrakte die meistverkauften Antidepressiva [Volz, 1997]. Die Verschreibungen sind seit 1997 leicht zurückgegangen. 2001 machte Johanniskraut aber immer noch 19,4 % aller Antidepressiva-Verschreibungen aus [Fritze, 2003].

Da es sich um ein Extrakt des Johanniskrautes handelt, enthält es viele verschiedene Wirkstoffe. Zwei der Wirkstoffe, Hypericin und Hyperforin, hielt man bislang für die wesentlichen neuroaktiven Bestandteile. Die Standardisierung einiger Hypericumpräparate beruht daher auf den festgelegten Konzentrationen von Hypericin und Hyperforin.

Allerdings konnte inzwischen in tierexperimentellen Depressionsmodellen gezeigt werden, daß auch ein Extrakt, das weder Hypericin noch Hyperforin enthält, antidepressiv wirksam ist [Butterweck et al., 2003].

HYPWS (*Hypericum perforatum*, water soluble) ist die wasserlösliche Fraktion eines Johanniskrautextraktes. Es enthält weder Hypericin noch Hyperforin. Auch HYPWS war in tierexperimentellen Depressionsmodellen wirksam [bisher unveröffentlicht, persönliche Kommunikation mit Dr. Chatterjee, Firma Schwabe, Karlsruhe]. Eine in Voruntersuchungen beobachtete exzitatorische Wirkung des Gesamtextraktes fand sich ebenfalls für HYPWS [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999]. Folglich enthält auch HYPWS neuroaktive Bestandteile. In der vorliegenden Studie wurde HYPWS elektrophysiologisch untersucht. Ziel war es, den exzitatorischen Wirkmechanismus zu entschlüsseln, um damit eventuell seine antidepressive Wirksamkeit erklären zu können.

1.2 Struktur und Funktion des Hippocampus

Der Hippocampus ist Bestandteil des Archipalliums und liegt den medialen Wänden der Seitenventrikel an. Im histologischen Querschnitt sieht man das Cornu ammonis, das Lorente de Nó 1934 in vier Regionen unterteilt: CA1 bis CA4.

In diesen kann man nach Cajal von außen nach innen 6 Schichten unterscheiden:

1. Alveus
2. Stratum oriens (Korbzellschicht)
3. Stratum pyramidale (Pyramidenzellschicht)
4. Stratum radiatum
5. Stratum lacunosum
6. Stratum moleculare

Der Hippocampus bildet zusammen mit dem Gyrus dentatus, dem Subiculum, dem Präsubiculum, dem Parasubiculum und dem entorhinalen Cortex die hippocampale Formation.

Als trisynaptische Bahn (trisynaptic pathway, siehe Abbildung 1) bezeichnet man die exzitatorische Hauptbahn dieser hippocampalen Formation. Sie setzt sich aus dem Tractus perforans, den Moosfasern und den Schaffer-Kollateralen zusammen:

1. Tractus perforans: Afferenzen aus dem Subiculum ziehen in die Körnerzellschicht des Gyrus dentatus.
2. Moosfasern: Sie verbinden die Körnerzellschicht des Gyrus dentatus mit den Pyramidenzellen der CA3 Region des Hippocampus.
3. Schaffer-Kollaterale: Von den Pyramidenzellen der CA3 Region ziehen sie zu den Pyramidenzellen der CA1 Region

Außerdem existiert eine monosynaptische, exzitatorische Verschaltung zwischen dem entorhinalen Kortex und den CA1-Neuronen [Witter et al., 1988; Yeckel et Berger, 1990].

Glutamat ist der Haupttransmitter in diesen exzitatorischen Systemen. Daneben findet man ein komplexes System von inhibitorischen Interneuronen, denen GABA (γ -Aminobuttersäure) als wichtigster Transmitter dient.

Die meisten Efferenzen des Hippocampus gelangen über den Fornix in die Corpora mamillaria. Dort werden sie an den Thalamus (Visq-d'Azur-Bündel) und danach entweder an den Gyrus cinguli oder an den Gyrus parahippocampalis weitergeleitet, von wo sie schließlich zurück zum Hippocampus gelangen. Dieser Kreis wird als Papez-Neuronenkreis

beziehungsweise dessen Variation bezeichnet und gilt als elementarer Baustein für das Kurzzeitgedächtnis. Die Gedächtnisbildung ist eine sehr wichtige Funktion des Hippocampus [Zola-Morgan et al., 1991]. Er ist für die Überführung des Gedächtnisinhaltes aus dem Primär- in das Sekundär- und Tertiärgedächtnis zuständig, so daß eine Störung des Hippocampus unter anderem zu einem Verlust des Kurzzeitgedächtnisses führt [Zola-Morgan et Squire, 1990].

Auch bei der Raumorientierung scheint er von Bedeutung zu sein [Wilson et McNaughton, 1993]. Als Bestandteil des limbischen Systems ist er an der Entstehung von Bewußtsein, Affektverhalten, Motivation und Aggression beteiligt [Adamec, 1991]. Schließlich ist der Hippocampus das Areal des Gehirns, welches die größte Krampfbereitschaft besitzt. Er ist häufig der Ausgangspunkt von Temporallappenepilepsien und somit auch im Hinblick auf die Epilepsie von Interesse.

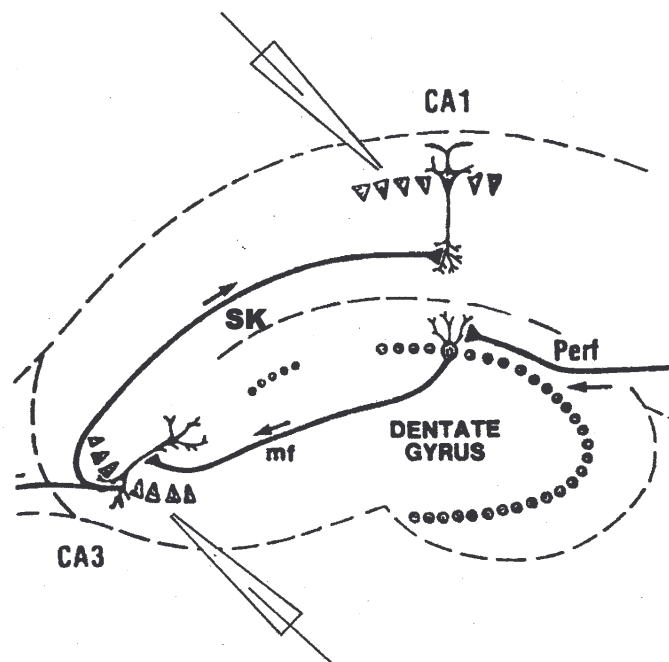


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines hippocampalen Transversalschnittes

Die Körnerzellen des Gyrus dentatus (DENTATE GYRUS) sind als Kreise dargestellt, die Pyramidenzellen der CA1 beziehungsweise CA3 Region des Cornu ammonis als Dreiecke. Eingezeichnet ist die trisynaptische Bahn mit dem Tractus perforans (Perf), den Moosfasern (mf) und den Schaffer-Kollateralen (SK). Die Pipetten befinden sich an den Ableitungspositionen für Population spikes (PS).

1.3 Transmittersysteme und Rezeptoren

1.3.1 Glutamat

Glutamat ist der Überträgerstoff primär-afferenter Neuronen. In einigen Neuronen kommt Glutamat mit Neuropeptiden wie Substanz P gemeinsam vor. Glutamaterg sind unter anderem die kortikalen Projektionen aus der Area entorhinalis zum Hippocampus, die intrahippocampalen Verbindungen und die den Hippocampus verlassenden Axone der Pyramidenzellen [Hablitz et Langmoen, 1986].

Glutamat ist aber nicht nur ein Neurotransmitter, sondern auch einer der Hauptbausteine für die Synthese der Gehirnproteine. Als Glutaminsäure ist es außerdem der Ausgangsstoff für die Synthese anderer Aminosäuren. Im Glutamincycclus kann Glutaminsäure zu Glutamin amidiert werden und dient so der Entfernung von Ammoniak aus dem Gehirn. Über die α -Ketoglutarat steht die Glutaminsäure mit dem Citratcyclus in Verbindung. Schließlich ist Glutamat auch der chemische Vorläufer von GABA.

Ein Teil des Glutamats im Axoplasma der Nervenendigung wird mit Hilfe eines elektrochemischen Protonengradienten in Speichervesikel aufgenommen und steht somit als ein separater vesikulärer Pool zur Freisetzung bereit.

Glutamat kann auf vier Rezeptoren wirken, die jeweils zahlreiche Untertypen haben. Sie wurden nach ihren spezifischen Agonisten benannt [Greenamyre et al., 1985]. Die AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure)-, Kainat- und NMDA (N-methyl-D-aspartat)-Rezeptoren sind ligandenaktivierte Ionenkanäle. Diese Rezeptoren sind Tetramere, wobei die Peptidkette jeder Untereinheit die Membran dreimal durchquert. Der metabotrope Glutamatrezeptor (mGluR) koppelt an G-Proteine.

AMPA- und Kainat-Rezeptoren sind Ionenkanäle für Na^+ - und K^+ -Ionen. Sie führen nach ihrer Öffnung zur Depolarisation der Zellmembran.

Der NMDA-Rezeptor öffnet sich erst bei Glutamatbindung und leichter Depolarisation [Dingledine, 1983; Flatman et al., 1983; Mayer et Westbrook, 1984]. Am Ruhemembranpotential ist die Kanalöffnung durch Mg^{2+} -Ionen blockiert [Nowak et al., 1984; Coan et Collingridge, 1985]. Der NMDA-Rezeptor ist für Na^+ -, K^+ - und Ca^{2+} -Ionen durchlässig [MacDermott et al., 1986]. Der Ca^{2+} -Einstrom führt zu einer intrazellulären Akkumulation von cGMP (zyklisches Guanosinmonophosphat) [Garthwaite, 1982]. Zudem kommt es zu einer verstärkten Hydrolyse von Phosphatidylinositol durch die Phospholipase C, die entweder durch das einströmende Kalzium oder durch die Ankopplung an den Rezeptor aktiviert wird [Nicoletti et Canonico, 1989].

Der NMDA-Rezeptor hat außerdem eine Bindungsstelle für Glycin. Glycin potenziert die Glutamatwirkung [Johnson et Ascher, 1987]. Für eine Reihe von Substanzen besitzt der NMDA-Rezeptor eine weitere Bindungsstelle. Zu diesen Substanzen zählen Ketamin, Amantadin, Memantin und Phencyclidin. Sie bewirken einer Blockierung des Kanals [Wong et al., 1986].

Der NMDA-Rezeptor ist im Niedrig-Magnesium-Modell [Coan et Collingridge, 1985] und bei der Induktion von Langzeitpotenzierungen (LTP) [Bliss et Collingridge, 1993] von zentraler Bedeutung.

Sowohl AMPA- [Greengard et al., 1991; Wang et al., 1991] als auch NMDA-Rezeptoren können durch verschiedene Proteinkinasen phosphoryliert und so in ihrer Funktion moduliert werden [Raymond et al., 1993].

Freigesetztes Glutamat wird durch spezifische Carrier zum einen in die Nervenendigungen wieder aufgenommen, zum anderen in Gliazellen transportiert. In den Nervenendigungen kann es dann zur erneuten vesikulären Speicherung kommen. In den Gliazellen wird Glutamat zu Glutamin umgewandelt und den Nervenzellen in dieser Form zur Resynthese von Glutamat angeboten.

1.3.2 GABA

GABA ist der wichtigste inhibitorische Transmitter im Zentralnervensystem (ZNS). Die meisten GABA-Neurone sind Interneurone, einige auch GABAerge Projektionsneurone. Viele GABA-Neurone enthalten Peptid-Cotransmitter.

GABA wird aus Glutamat mit Hilfe der Glutamat-Decarboxylase synthetisiert [Wu et al., 1973]. Diese Glutamat-Decarboxylase wird im Zentralnervensystem ausschließlich in GABA-Neuronen exprimiert und kann daher zu deren immun-histochemischen Darstellung verwendet werden. GABA wird aus dem Axoplasma in Speichervesikel aufgenommen und steht dort zur Freisetzung bereit. Tetanustoxin hemmt diese Freisetzung und führt auf diesem Wege zu Krämpfen.

GABA-Rezeptoren lassen sich in drei Haupttypen unterteilen: GABA_A-, GABA_B- und GABA_C-Rezeptoren [Hill et Bowery, 1981].

GABA_A- und GABA_C-Rezeptoren sind ligandengesteuerte Ionenkanäle [Schofield et al., 1987]. Die Bindung von GABA öffnet den Kanal und führt zu einem Cl⁻-Einstrom, der die Zelle hemmt [Levitan et al., 1988].

Man hat inzwischen 19 verschiedene Untereinheiten des GABA_A-Rezeptors gefunden, die in die α -, β -, γ -, δ -, ϵ -, ρ - und π -Familien eingeordnet werden. Der Rezeptor besteht aus fünf

Untereinheiten, so daß es eine Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten gibt. Am häufigsten sind Pentamere aus $\alpha 1$ -, $\beta 2$ - und $\gamma 2$ -Untereinheiten.

Ein selektiver GABA_A-Agonist ist Muscimol, ein giftiger Bestandteil des Fliegenpilzes. Ein kompetitiver Antagonist ist das Alkaloid und Krampfgift Bicuculline [Curtis et al., 1970]. Viele Pharmaka binden ebenfalls an den GABA_A-Rezeptor, allerdings nicht an die GABA-Bindungsstelle. Die einzelnen Pentamere unterscheiden sich in ihrer Sensitivität für diese Stoffe [Olsen et Tobin, 1990]. Beispiele dafür sind das Krampfgift Picrotoxin, Benzodiazepine, Ethanol sowie Phenobarbital und Steroide. Picrotoxin verschließt den Ionenkanal direkt. Benzodiazepine und Ethanol [Ticku et Kulkarni, 1988] hingegen binden an spezielle Benzodiazepin-Rezeptoren an der Kontaktstelle zwischen α - und γ -Untereinheiten und verstärken so den GABA induzierten Cl⁻-Einstrom [Hunkeler et al., 1981]. Phenobarbital und Steroide binden an eine weitere Struktur des GABA_A-Rezeptors und führen zu einer verstärkten Bindungsaffinität von GABA und Muscimol [Harrison et Simmonds, 1984; Levitan et al., 1988; Ticku et Kulkarni, 1988].

GABA_C-Rezeptoren sind ligandengesteuerte Chloridkanäle, die sich aus fünf identischen Untereinheiten zusammensetzen [Chebib et Johnston, 1999]. Sie werden nicht von Bicuculline geblockt und werden auch nicht von Steroiden, Barbituraten oder Benzodiazepinen beeinflusst. Ein selektiver Agonist von GABA_C-Rezeptoren ist (1S,2R)-2-(Aminomethyl)-1-Corboxycyclopropan, ein selektiver Antagonist ist (1,2,5,6-Tetrahydropyridin-4-yl)-Methyphosphorsäure. GABA_C-Rezeptoren scheinen jedoch im Hippocampus keine Rolle zu spielen [Chebib et Johnston, 1999].

Der GABA_B-Rezeptor ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor. Seine Aktivierung bewirkt eine erhöhte Offenwahrscheinlichkeit von K⁺-Kanälen [Newberry et Nicoll, 1984] sowie eine verminderte Offenwahrscheinlichkeit von Ca²⁺-Kanälen.

Im Gegensatz zu GABA_A-Rezeptoren kommen die GABA_B-Rezeptoren nicht nur postsynaptisch, sondern auch präsynaptisch vor [Bowery et al., 1981]. Die präsynaptischen GABA_B-Rezeptoren bewirken eine Inhibition der Transmitterfreisetzung, die postsynaptischen GABA_B-Rezeptoren erzeugen ein langsames inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP).

Ein selektiver Agonist für den GABA_B-Rezeptor ist Baclofen [Penn et al., 1989], selektive Antagonisten sind Phaclofen [Dutar et al., 1988] und Saclofen [Kerr et al., 1995].

Durch die Wiederaufnahme in GABA-Axone und Gliazellen wird GABA inaktiviert. In den Axonen kann es erneut in Vesikeln gespeichert werden. In den Gliazellen wird es in Glutamin umgewandelt. Das Glutamin gelangt in die GABA-Axone und wird dort über Glutamat

wieder zu GABA resynthetisiert. Es kann aber auch mit Hilfe von GABA-Transaminasen zu Succinatsemialdehyd abgebaut werden. Succinatsemialdehyd tritt nach der Oxidation zu Bernsteinsäure in den Citratcyclus ein.

Der GABA-Abbau wird durch Vigabatrin und Valproat gehemmt.

1.4 Neurophysiologische Grundlagen

1.4.1 Definition und Bedeutung von Feldpotentialen

Feldpotentiale (fp) werden von extrazellulären Strömen erzeugt und können im Zwischenzellraum der Zellen des ZNS abgeleitet werden [Speckmann et Walden, 1991; Speckmann, 1997]. Die so entstandenen Feldpotentiale scheinen vor allem mit der synaptischen Aktivität in Verbindung zu stehen. Man nimmt an, daß exzitatorische postsynaptische Feldpotentiale (fEPSP) die synaptische Übertragung repräsentieren, wohingegen Population spikes (PS) die Integration der synaptischen Signale in einen neuronalen Output darstellen [Langosch et al., 1998].

1.4.2 Definition und Bedeutung der Langzeitpotenzierung (LTP)

Die Stärke der synaptischen Übertragung ist dynamisch reguliert: Synapsen reagieren auf verschiedene Aktivierungsmuster mit kurz- oder langanhaltenden Veränderungen ihrer synaptischen Übertragungseigenschaften [Dobrunz et Stevens, 1997]. Die Langzeitpotenzierung wurde erstmals 1973 am Hippocampus entdeckt [Bliss et Lomo, 1973]. Sie war die Folge einer ausgeprägten Stimulation afferenter Fasern. Die LTP-Induktion in der CA1 Region des Hippocampus wird entweder durch eine tetanische Stimulation (Hochfrequenzstimulation, HFS: 100Hz) [Sarvey et al., 1989] oder durch eine "Theta burst"-Stimulation [Pacelli et al., 1989] erreicht. LTP führt zu einer erhöhten synaptischen Übertragungsstärke und zu einer veränderten synaptischen Plastizität. Diese Veränderungen können Stunden bis Tage bestehen bleiben.

Entscheidend für die LTP-Entstehung ist eine bestimmte Glutamatkonzentration im synaptischen Spalt, die durch Glutamattransporter reguliert wird [Katagiri et al., 2001]. Nur bei einer bestimmten Glutamatkonzentration wird über den NMDA-Rezeptor LTP induziert [Malenka et Nicoll, 1993; Katagiri et al., 2001]. Zudem ist der NMDA-Rezeptor im hyperpolarisierten Zustand durch Mg^{2+} -Ionen blockiert und wird erst ab einer bestimmten

Depolarisation freigegeben. Der NMDA-Rezeptor induziert also nur unter bestimmten Bedingungen LTP und wird deshalb auch als molekularer Zufallsdetektor bezeichnet.

Für die LTP-Entstehung scheint vor allem der hohe Kalziumeinstrom über den NMDA-Rezeptor von Bedeutung zu sein [Artola et Singer, 1993]: Die stark erhöhte postsynaptische intrazelluläre Kalziumkonzentration triggert die kalziumabhängigen Kinasen, die für die LTP-Induktion nötig sind [Lisman, 1989]. Neben diesen postsynaptischen Wirkungen werden auch Veränderungen der synaptischen Morphologie sowie präsynaptische Wirkungen durch den NMDA-Rezeptor vermittelt: Die postsynaptische Zelle setzt membrangängige retrograde Transmitter, zum Beispiel Stickoxid, frei, die in der präsynaptischen Zelle Kinasen beeinflussen und so zu einer verstärkten Transmitterfreisetzung führen [Bliss et Collingridge, 1993; Rison et Stanton, 1995]. Man diskutiert außerdem, daß LTP das Ergebnis einer Rekrutierung von zusätzlichen Synapsen sei [Manabe et al., 1993].

Auch andere Glutamat Rezeptoren, wie der AMPA-Rezeptor, der mGluR und der Kainatrezeptor, sind bei der LTP-Entstehung von Bedeutung. Sie werden durch direkte Phosphorylierung in ihrer Funktion moduliert [Raymond et al., 1993].

Der AMPA-Rezeptor ist vor allem bei der LTP-Vermittlung im neonatalen Hippocampus wichtig. Er erfüllt dort die zentrale Funktion, die der NMDA-Rezeptor beim adulten Hippocampus übernimmt. Daher spricht man von einem „developmental shift“ der LTP-Verschaltungen [Grosshans et al., 2002].

Der mGluR wird auch als molekularer Schalter für LTP bezeichnet. Es konnte nachgewiesen werden, daß nicht nur die Aktivierung des NMDA-Rezeptors notwendig ist, sondern auch die einmalige Aktivierung des mGluR, damit es zu einer LTP-Induktion kommen kann. Nach dieser ersten Aktivierung muß er für weitere LTP-Induktionen nicht mehr geöffnet werden [Bortolotto et al., 1994]

Die Langzeitpotenzierung ist ein weit verbreitetes und akzeptiertes Modell für Lern- und Gedächtnisvorgänge [Bliss et Collingridge, 1993]. Man nimmt außerdem an, daß die synaptische Plastizität ein wichtige Rolle bei epileptogenen Mechanismen spielt [Birnstiel et Haas, 1991; Mody, 1999; Nayak et Browning, 1999]. Ein Erklärungsmodell für den zyklischen Verlauf affektiver Störungen ist die Kindling-Hypothese. Sie postuliert den Einfluß der synaptischen Plastizität auf die Entstehung und den Verlauf affektiver Störungen [Ghaemi et al., 1999; Post et Weiss, 1996]. In vielen pharmakologischen Studien versucht man, die molekularen Grundlagen für die synaptische Plastizität zu erforschen. Außerdem wird der Einfluß verschiedener Pharmaka auf die synaptische Plastizität getestet.

Ein weiteres Modell für die synaptischer Plastizität und somit auch für Lern- und

Gedächtnisvorgänge ist die Langzeitdepression (LTD). Die LTD scheint vor allem für das erlernte Timing bei motorischen Abläufen wichtig zu sein [Koekkoek et al., 2003].

Die LTD ist das Gegenteil der LTP [Bear et Malenka 1994]. LTD kann durch eine Hyperpolarisation der Zellmembran auf -100 mV während einer tetanischen Stimulation erzeugt werden [Xie et al., 1992]. Auch bei der LTD-Induktion scheinen in erster Linie Glutamatrezeptoren beteiligt zu sein. Dabei benötigt die LTD-Induktion in den Synapsen des Corpus geniculatum mediale eine Aktivierung von mGluR, die LTD-Induktion in den Synapsen der Pyramidenzellen eine Aktivierung von NMDA-Rezeptoren [Kudoh et al, 2002]. Eine LTD-Induktion in den Synapsen der Parallelfasern des Cerebellums konnte durch Aktivierung von AMPA-Rezeptoren erreicht werden [Vigot et al., 2002]. Über welchen Glutamatrezeptor die LTD-Induktion vermittelt wird, scheint also von den involvierten Nervenbahnen abhängig zu sein.

1.4.3 Niedrig-Magnesium-Modell

Im Niedrig-Magnesium-Modell können Substanzen auf eine kalziumantagonistische Wirkung und ihren Einfluß auf NMDA-Rezeptoren überprüft werden. Außerdem eignet es sich, um antiepileptische Eigenschaften der getesteten Substanzen nachzuweisen [Grunze et al., 1997]. Es beruht auf der Vorstellung, daß epileptiforme Potentiale über den NMDA-Rezeptorkomplex vermittelt werden. Durch einen Kalziumeinstrom in die Zelle erzeugt der NMDA-Rezeptor charakteristische Membranveränderungen, die als PDS (paroxysmale Depolarisationsverschiebung, paroxysmal depolarisation shift) bezeichnet werden.

Im Niedrig-Magnesium-Modell wird die Magnesiumionenkonzentration im ACSF (künstlicher Liquor, artificial cerebrospinal fluid) auf unter $1 \mu\text{mol/l}$ gesenkt, so daß der NMDA-Ionenkanal geöffnet ist. Aufgrund des Kalziumeinstroms kommt es zu regelmäßigen Entladungsmustern der Neurone [Coan, 1985, Herron et al., 1985; Avoli et al., 1987].

Eine antiepileptische Wirkung wird Substanzen zugeschrieben, die dieses Entladungsmuster hemmen. Das ist unter anderem der Fall bei kalziumantagonistisch wirkende Pharmaka [Walden et Speckmann, 1988; Aicardi et Schwartzkroin, 1990] und bei Wirkstoffen, die den NMDA-Rezeptor blockieren [Herron et al., 1985b; Pohl et al., 1992]. Um nähere Informationen über den antikonvulsiven Mechanismus zu erhalten, kann man die zu untersuchende Substanz zusammen mit einer unterschwelligen Konzentration eines NMDA-Rezeptor-Antagonisten, zum Beispiel APV (2-Amino-5-phosphonovalerat), beziehungsweise mit einer unterschwelligen Konzentration eines Kalziumantagonisten, zum Beispiel

Verapamil, geben. Ist der antikonvulsive Mechanismus kalziumvermittelt, so tritt der additive Effekt bei der unterschwelligen Gabe des Kalziumantagonisten auf. Ist er NMDA vermittelt, tritt der additive Effekt bei der unterschwelligen Gabe des NMDA-Antagonisten auf [Pohl et al., 1992; Walden et al., 1993].

Das Modell ist auch im Hinblick auf antidepressive Eigenschaften von Substanzen interessant. Viele Antidepressiva, zum Beispiel Trimipramin, sind unter anderem kalziumantagonistisch wirksam [Walden et al., 1993].

Im Verlauf von affektiven Störungen kommt es zur Beeinträchtigung der intra- und extrazellulären Kalziumhomöostase [Dubovsky, 1993; Bothwell et al., 1994]. Es wurde eine Vermehrung von freien intrazellulären Kalziumionen in den Thrombozyten und Lymphozyten von Patienten mit bipolaren affektiven Störungen gefunden [van Calker et al., 1993; Dubovsky et al., 1994].

1.5 Hypericum perforatum

1.5.1 Beschreibung von Hypericum perforatum

Hypericum perforatum wird seit mehr als 2000 Jahren für die Behandlung einer Vielzahl von „nervous conditions“ eingesetzt [Shelton et al., 2001]. So beschrieben schon Hippocrates und Galen den Einsatz von *Hypericum perforatum* zur Therapie gegen dämonische Besessenheit im antiken Griechenland [Ferne, 1897; Pickering, 1879]. Auch heute ist es ein häufig eingesetztes Medikament, dessen Anwendungsgebiete sehr vielfältig sind. Es wird zum Beispiel zur Wundheilung, bei Nieren- und Lungenleiden, bei Schlaflosigkeit [Cott, 1997], bei dyspeptischen Beschwerden oder bei Enuresis genutzt. Eine anti-inflammatorische Wirkung konnte in Form einer Reduzierung der Myeloperoxidase-Aktivität in menschlichen Leukozyten [Pabuccuoglu et al., 2003] sowie in einer Hemmung der Substanz P induzierten Interleukin-6-Synthese [Fiebich et al., 2001] nachgewiesen werden. Seine größte Bedeutung liegt allerdings in der Behandlung von leichten bis mittelschweren Depressionen. Es ist ein weitverbreitetes Antidepressivum in vielen Ländern Europas, in den USA und in Australien [Nathan, 2001]. In Deutschland ist es für die Behandlung leichter depressiver Störungen zugelassen und macht circa 20 % aller Verschreibungen für Antidepressiva aus [Fritze, 2003].

Hypericum perforatum ist eine mehrjährige Pflanze, die zur Familie der Guttiferae gehört [Cronquist, 1988]. Es ist weitverbreitet in Europa, Nordafrika, Asien und Nordamerika. Das Adjektiv "perforatum" ist auf eine Sage zurückzuführen, in der sich der Teufel so über die

Heilkraft der Pflanze ärgerte, daß er ihre Blütenblätter zerstach. Mit dieser Sage wurde das Aussehen der Blütenblätter von Johanniskraut erklärt, die durch viele durchscheinende Punkte gekennzeichnet sind. Diese Punkte sind Drüsenzellen, die vor allem Hypericin sezernieren. Den Namen „Johanniskraut“ verdankt es seiner Blütezeit um den Johannistag am 24. Juni. Die Rohsubstanz wird *Herba hyperici* genannt und besteht aus den oberen Sproßteilen der Pflanze. Sie wird kurz vor oder während der Blütezeit geerntet [Erdelmeier, 1998].

Die meisten *Hypericum*produkte sind ethanolische oder methanolische Extrakte. Sie enthalten normalerweise ein Spektrum aus sechs natürlichen Hauptgruppen: Naphthodianthrone (0,05-0,15%), Acylphloroglucinole (bis zu 5%), flavonolische Glycoside, Biflavone, Proanthocyanide (6-15%) und Phenylpropane [Erdelmeier, 1998]. Bisher wurden vor allem die *Hypericum*bestandteile Hypericin, welches zu den Naphthodianthronen gehört, und Hyperforin, das zu den Acylphloroglucinolen gehört, eingehender untersucht [Wagner et Blatt, 1994; Chatterjee et al., 1998; Zhou, Inaugural Dissertation, 1999]. Sie wurden als die wesentlichen therapeutisch wirksamen Bestandteile von *Hypericum perforatum* angesehen. Aber nicht alle beobachteten Wirkungen des *Hypericum perforatum* können allein durch diese beiden Bestandteile erklärt werden. Daher beschäftigt sich die vorliegende Arbeit nun mit einer wasserlöslichen Fraktion des *Hypericum perforatum*, welche weder Hypericin noch Hyperforin enthält. Die exzitatorische Wirkung von *Hypericum perforatum* auf EPSP und PS kann zum Beispiel weder durch Hypericin noch durch Hyperforin bedingt sein. Beide Substanzen wirken zwar exzitatorisch, aber erst ab solch hohen Konzentrationen, die im Gesamtextrakt nicht mehr vorkommen. HYPWS hingegen kann diese exzitatorische Wirkung erklären [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999].

1.5.2 Antidepressive Mechanismen von *Hypericum perforatum*

Der antidepressive Wirkmechanismus von *Hypericum perforatum* ist nicht vollständig geklärt. Es zeigt einige der Wirkmechanismen von herkömmlichen Antidepressiva. Daneben wurden aber auch andere, ungewöhnliche Mechanismen nachgewiesen.

Der Wirkmechanismus der meisten klassischen Antidepressiva besteht in einer synaptosomalen Wiederaufnahmehemmung von zerebralen Monoaminen oder in einer Blockierung der Monoaminoxidase Typ A oder B (MAO A oder MAO B). Als sekundäre Mechanismen werden die Modulation von Rezeptoreigenschaften (Dichte, Affinität und funktionaler Status) sowie die Beeinflussung von Second messengern angesehen [Baker et Greenshaw, 1989; Leonard, 1993]. Ihre Wirkung läßt sich auf der Grundlage der

Monoaminmangel-Hypothese der Depression erklären. Diese beschreibt als Ursache von Depressionen eine verminderte Konzentration von zerebralen Monoaminen, vor allem von Noradrenalin (NA) und Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT).

Die MAO A- und MAO B-Aktivität wird von dem Hypericumextrakt LI 160 leicht gehemmt. Diese Wirkung wird vor allem durch die im Extrakt enthaltenen Flavonoide vermittelt [Bladt et Wagner, 1994]. Allerdings ist die Inhibition so schwach, daß sie die antidepressive Wirksamkeit von Johanniskraut nicht erklären kann [Müller et al., 1997].

Die synaptosomale Wiederaufnahme von 5-HT, NA und Dopamin wird von *Hypericum perforatum* mit gleicher Affinität für jeden dieser Transmitter nicht-kompetitiv und beinahe vollständig gehemmt [Müller et al., 1997]. Die synaptosomale Wiederaufnahmehemmung der Tricyclischen Antidepressiva (TCA) und der Selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI) erfolgt im Gegensatz dazu kompetitiv und weist nicht die gleiche Affinität für die einzelnen Transmitter auf. Der für *Hypericum perforatum* gefundene Wirkmechanismus der synaptosomalen Wiederaufnahmehemmung für 5-HT, NA und Dopamin wird durch andere Studien unterstützt: So fand man in in-vitro und in-vivo Studien mit Ratten, daß es nach Gabe von *Hypericum perforatum* zu einer erhöhten Freisetzung von Monoaminen im Kortex, im Dienzephalon, im Hirnstamm [Calapai et al., 1999; Yu, 2000], im Locus coeruleus [Kaehler et al., 1999], im Striatum und im Nucleus accumbens [Di Matteo et al., 2000] kommt. In menschlichen und tierischen neuroendokrinen Studien konnte nach Gabe von *Hypericum perforatum* eine vermehrte Sekretion des Wachstumshormones und eine verminderte Sekretion von Prolaktin als Maß für eine erhöhte dopaminerge Funktion nachgewiesen werden [Butterweck et al., 1997; Franklin et al., 1999]. Es konnte gezeigt werden, daß diese dopaminerge Wirkung nicht auf eine direkte agonistische Wirkung von Hypericum-inhaltsstoffen am Dopaminrezeptor zurückzuführen ist und daß sie für die antidepressive Wirksamkeit von Hypericumextrakten mitverantwortlich ist [Butterweck et al., 1998]. Eine gesteigerte serotinerge Funktion unter *Hypericum perforatum* wurde anhand einer vermehrten Kortisolsekretion gezeigt [Laakmann et al., 2000]. Schließlich fand man auch elektroenzephalographische Veränderungen im α -Frequenzband nach der Gabe von *Hypericum perforatum*, die auf eine serotinerge und dopaminerge Modulation hindeuten [Dimpfel et Schombert, 1997; Dimpfel et al., 1999].

Als Wirkmechanismus der Wiederaufnahmehemmung wird eine Erhöhung der intrazellulären freien Na^+ -Ionenkonzentration angenommen [Singer et al., 1999]. Diese Erhöhung kommt durch die Aktivierung eines Na^+/H^+ -Austauschers zustande [Reith et O'Reilly, 1990; Singer

et al., 1999]. Sie wird vor allem durch die Hypericumbestandteile Hyperforin und Proanthocyanide vermittelt [Müller et al., 1998].

Aber nicht nur die Wiederaufnahme, sondern auch der intrazelluläre Transport von 5-HT und NA wird von *Hypericum perforatum* gehemmt [Neary et Bu, 1999]. Dieses Phänomen kennt man von SSRI, die den intrazellulären Transport von 5-HT hemmen. *Hypericum perforatum* erzeugt eine Transporthemmung, deren Ausmaß in etwa 70% der Hemmungsintensität erreicht, die durch SSRI erzeugt werden kann.

Desweiteren konnte eine Inhibition der Aufnahme von GABA und Glutamat nachgewiesen werden [Chatterjee et al., 1998b; Wonnemann et al., 2000]. Auch diesem Effekt liegt eine erhöhte intrazelluläre Na^+ -Ionenkonzentration zugrunde [Wonnemann et al., 2000]. Die erhöhte Na^+ -Ionenkonzentration wird durch die Aktivierung des Na^+/H^+ -Austauschers oder durch die Aktivierung des amiloridsensitiven Na^+ -Kanals erzeugt [Wonnemann et al., 2000]. Diese Wirkung beruht ebenfalls auf den Inhaltsstoffen Hypericin und Proanthocyanide [Wonnemann et al., 2000]. In vivo-Studien an Ratten zeigen zudem eine verstärkte Freisetzung von Glutamat nach der Gabe von Hypericumextrakt [Kaehler et al., 1999].

Insgesamt kann also vermutet werden, daß dieses Extrakt ein einzigartiger und bis jetzt unbekannter Typ eines nicht-selektiven synaptosomalen Neurotransmitterwiederaufnahme-Inhibitors ist [Nathan, 2001].

Die Kortikoid-Rezeptor-Hypothese der Depression besagt, daß eine erhöhte Kortikotropin-Releasing-Hormon-Konzentration (corticotropin-releasing hormon, CRH) in verschiedenen Hirnregionen an der Pathogenese der Depression beteiligt ist. Dabei soll eine verminderte Signalwirkung von Kortikoidrezeptoren zu einer vermehrten Produktion von CRH führen [Holsboer, 2000]. Sowohl Imipramin als auch *Hypericum* bewirken nach längerer Gabe eine Reduktion von CRH-mRNA (messenger Ribonukleinsäure) im hypothalamischen paraventriculären Nukleus. Da bei beiden ein ähnlich verzögerter Wirkungseintritt beobachtet werden konnte, wird ein gemeinsamer Wirkmechanismus auf die Kontrollzentren der hypothalamisch-hypophysär-suprarenalen Achse vermutet. Eine Reduktion der bei Streß erhöhten CRH-mRNA-Konzentration konnte hingegen nur durch Imipramin nicht aber durch *Hypericum* nachgewiesen werden [Butterweck et al., 2001].

Die subchronische Behandlung von Ratten mit dem *Hypericum*extrakt LI 160 führt zu einer signifikanten Down-Regulierung von β -Rezeptoren und zu einer signifikanten Up-Regulierung von 5-HT₂-Rezeptoren im frontalen Kortex [Müller et al., 1997]. Nach einer

Langzeitgabe von Hypericumextrakt an Ratten (26 Wochen, 2700 mg/kg täglich) nimmt die Anzahl sowohl der 5-HT_{1A}-Rezeptoren als auch der 5-HT_{2A}-Rezeptoren um 50 % im Vergleich zur Kontrolle zu. Die Affinität bleibt dabei unverändert [Teufel-Mayer et Gleitz, 1997]. Konventionelle Antidepressiva führen zwar zu einer Down-Regulierung von β -Rezeptoren [Beer et al., 1987; Heal et al., 1989] und zu einer Up-Regulierung der 5-HT_{1A}-Rezeptoren [de Montigny et Aghajanian, 1978; Welner et al., 1989], aber nicht zu einer Up-Regulierung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren [Stolz et al., 1983; Nelson et al., 1989]. Die Up-Regulierung der 5-HT_{2A}-Rezeptoren wird durch Xanthone, die in den Wurzeln von *Hypericum perforatum* enthalten sind, vermittelt [Nathan, 2001]. Die Bedeutung dieser Up- und Down-Regulierung ist nicht vollständig geklärt. Eine Up-Regulierung von 5-HT₂-Rezeptoren findet sich jedoch auch nach der wiederholten Elektrokrampftherapie.

Die in *Hypericum perforatum* enthaltenen Flavonoide hemmen die Myeloperoxidase. Dies hat nicht nur die schon beschriebene anti-inflammatorische Wirkung zur Folge, sondern führt auch zu einer Hemmung der Myeloperoxidase-katalysierten Enkephalin-Dimerisierung. Die somit erhöhte Enkephalin-Konzentration könnte Teil der antidepressiven Wirkung von Johanniskraut sein, denn nicht nur der Monoaminmangel, sondern auch ein β -Endorphinmangel scheint bei der Pathogenese der Depression von Bedeutung zu sein [Denke et al., 1999a; Schempp et al., 1999].

Schließlich könnte auch die anti-inflammatorisch wirksame Hemmung der Interleukin-6-Synthese zur antidepressiven Wirkung von Johanniskraut beitragen [Fiebich et al., 2001; Thiele et al., 1994]. Es konnte nachgewiesen werden, daß das Interleukin-Plasmalevel bei depressiven Patienten erhöht ist [Merendino et al., 2002; Owen et al., 2001; Dentino et al., 1999] und durch wiederholte Gabe von Antidepressiva gesenkt wird [Kim et al., 2002].

1.5.3 Pharmakokinetik von *Hypericum perforatum*

Die klinisch relevante Tagesdosis von *Hypericum perforatum* beträgt zwischen 900 mg und 1800 mg. Allerdings unterscheiden sich die im Handel erhältlichen Hypericumpräparate hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und enthalten daher unterschiedliche Mengen der einzelnen Wirkkomponenten.

Hypericum perforatum induziert nach längerer Anwendung die Expression des Isoenzymes CYP 3A4 in der Leber, das andere Medikamente metabolisiert [Wang et al., 2001]. Die

Induktion erfolgt über eine Aktivierung des Steroid-X-Rezeptors [Wentworth et al., 2000; Moore et al., 2000]. Auf diese Weise reduziert *Hypericum perforatum* die Plasmakonzentration und damit auch die therapeutischen Wirksamkeit anderer Medikamente. So kann zum Beispiel die gleichzeitige Einnahme von *Hypericum*präparaten mit verschiedenen HIV-Protease-Inhibitoren oder mit HIV-Nicht-Nukleosid-Reverse-Transkriptase-Inhibitoren zu einem Verlust der HIV-Suppression führen [Piscitelli et al., 2000]. Auch der antikoagulative Effekt von Cumarinen [Ernst, 1999; Koupparis, 2000], der immunsuppressive von Cyclosporin [Koupparis, 2000; Ruschitzka et al., 2000], der antikonvulsive von Carbamazepin, Phenobarbital und Phenytoin sowie die Wirkungen von Digoxin [Johne et al., 1999], Theophyllin und niedrigdosierten hormonalen Kontrazeptiva [Ernst, 1999; Nebel et al., 1999; Koupparis, 2000] werden bei gleichzeitiger Einnahme von *Hypericum*präparaten vermindert. Desweiteren erhöht *Hypericum perforatum* die Serotonin-Konzentration durch eine Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibition und eine schwache MAO-Inhibition. Dies ist bei einer Kombination von *Hypericum*präparaten mit SSRI oder Triptanen zu beachten. Sie führt zu einer Addition und Potenzierung der serotonergen Effekte der einzelnen Substanzen [Nathan, 2001].

Die Wirkung vieler anderer Medikamente könnte auf ähnliche Weise beeinflusst werden, allerdings liegen keine Daten über weitere Interaktionen vor. Eine Interaktion kann lediglich bei topisch angewandten Medikamenten, die einer eingeschränkten systemischen Absorption unterliegen, sowie nicht-psychotrope Medikamenten, die renal ausgeschieden werden, sicher ausgeschlossen werden [Alhassan, 2000].

1.5.4 Klinische Studien zu *Hypericum perforatum*

Viele klinische Studien haben die Wirksamkeit von *Hypericum perforatum* bei leichten bis mittelschweren Depressionen im Vergleich zu Placebos bewiesen [Hansgen et al., 1994; Harrer et al., 1994; Hubner et al., 1994; Laakmann et al., 1998].

*Hypericum*extrakte haben bei leichten bis mittelschweren Depressionen im Vergleich zu tricyclischen Antidepressiva (Maprotilin, Imipramin und Amitriptylin) [Harrer et al., 1994; Vorbach et al., 1994; Wheatley, 1997] und im Vergleich zu SSRI (Fluoxetin und Sertralin) [Brenner et al., 2000; Schrader, 2000; Behnke et al., 2002] eine äquivalente Wirksamkeit.

Die häufigsten Nebenwirkungen während einer Therapie mit *Hypericum*präparaten waren Photosensitivität, Kopfschmerzen, trockener Mund, Schwindel, Verstopfung und andere

gastrointestinale Beschwerden. Sie führten allerdings nur bei 4 % der Patienten zu einem Ausscheiden aus Studien, wohingegen 7,7 % der Patienten, die mit anderen Antidepressiva behandelt wurden, nebenwirkungsbedingt aus Studien ausschieden [Linde et al., 1996]. Aufgrund der besseren Verträglichkeit von Hypericumpräparaten im Vergleich zu konventionellen Antidepressiva wird Hypericum perforatum sogar als Mittel der ersten Wahl zur Behandlung von leichten bis mittelschweren Depressionen empfohlen [Woelk, 2000].

Bei älteren Patienten ist der Einsatz vieler herkömmlicher Antidepressiva wegen ihrem Nebenwirkungsspektrum, vor allem wegen ihren kardialen Auswirkungen, nur begrenzt möglich [Stokes, 1993a]. Hypericumextrakte hingegen beeinflussen selbst in hohen Dosen (1800 mg/Tag) die kardiale Überleitung nicht. Für Patienten mit vorbestehenden kardialen Überleitungsstörungen und für ältere Patienten sind Hypericumpräparate daher wesentlich besser verträglich als TCA [Czekalla et al., 1997].

Die 20-fache tägliche Dosis eines TCA kann bereits letal sein. Bei Hypericumpräparaten ist im Gegensatz dazu bislang kein einziger Fall einer letalen Intoxikation beschrieben worden [Vorbach et al., 1997].

Die Wirksamkeit von Hypericum perforatum bei schweren Depressionen wird unterschiedlich bewertet: Vorbach zeigte 1997, daß das Hypericumextrakt LI 160 nahezu gleich wirksam ist wie Imipramin. Die Untersuchung schloß 209 schwer Depressive in einer multizentrischen, doppelblinden und randomisierten Studie ein. Die Patienten wurden 6 Wochen lang entweder mit dem Hypericumpräparat LI 160 (1800 mg/Tag) oder mit Imipramin (150 mg/Tag) behandelt. Auch in dieser Studie fand sich eine wesentlich bessere Verträglichkeit des Hypericumpräparates im Vergleich zu Imipramin [Vorbach et al., 1997].

Dem gegenüber steht das Ergebnis einer Studie von Shelton (2001). Ein Vergleich der Wirksamkeit von einem Hypericumextrakt mit einem Placebo bei der Behandlung von schwer Depressiven erbrachte keinen signifikanten Unterschied. In dieser multizentrischen, randomisierten, doppelblinden Studie waren 200 Patienten eingeschlossen. Hypericum perforatum wurde in einer Dosis von 900 mg/Tag für 4 Wochen gegeben. Im Falle einer fehlenden Verbesserung wurde die Dosis auf 1200 mg/Tag für die nächsten 4 Wochen erhöht. Aus den Ergebnissen dieser Studie wurde geschlossen, daß Patienten mit schweren Depressionen nicht mit Hypericumpräparaten behandelt werden sollten.

Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der beiden Studien wurde mit Mängeln in der Studie von Vorbach erklärt [Shelton et al., 2001]. Diese Mängel waren nach Shelton eine

nicht standardisierten Methode der Symptomerfassung, eine zu geringe Imipramin-Dosis sowie die fehlende Kontrolle der Imipramin-Plasmawerte. Die in der Studie von Vorbach eingesetzte Imipramin-Dosierung (150 mg/Tag) entspricht allerdings der üblichen Dosierungsempfehlung. Vielleicht läßt sich die Diskrepanz zwischen den beiden Studien durch die niedrigere Dosierung des Hypericumpräparates in der Studie von Shelton erklären (1800 mg/Tag bei Vorbach im Gegensatz zu 900 beziehungsweise 1200 mg/Tag bei Shelton). In einer Studie von 2002 aus den USA wurden indes die Ergebnisse der Studie von Shelton bestätigt [Hypericum Depression Trial Study Group, 2002]. Auch in dieser doppelblinden, randomisierten, multizentrischen Studie konnte keine Wirksamkeit von Hypericumpräparaten bei schwer depressiven Patienten im Vergleich zur Placebogruppe nachgewiesen werden. Allerdings konnte auch kein Unterschied zu Sertralin festgestellt werden. Weder die Patientengruppe, die mit Sertralin (50 – 100 mg für 8 Wochen) behandelt wurde, noch die Patientengruppe, die mit Hypericum perforatum (900 – 1500 mg über 8 Wochen) behandelt wurde, zeigte einen signifikanten Unterschied zur Placebogruppe [Hypericum Depression Trial Study Group, 2002]. Auch hier lag die Hypericumdosierung unter der Dosierung, die Vorbach einsetzte. Zudem erscheint es verwunderlich, daß auch in der Sertralingrouppe, die im Design der Studie als aktive Vergleichsgruppe vorgesehen war, keine Wirkung nachweisbar war.

Nicht nur in klinischen Studien, sondern auch in tierexperimentellen Depressionsmodellen konnte die Wirksamkeit von Hypericum perforatum nachgewiesen werden: Ein Tiermodell für Depression ist der forcierte Schwimmtest mit Ratten. Er ist ein gut etabliertes Verhaltensmodell bei Tieren für die Evaluation der Wirksamkeit von antidepressiven Medikamenten und korreliert gut mit deren klinischen Wirksamkeit [Porsolt et al., 1977; Willner, 1984]. Sowohl Hypericum perforatum selbst, als auch die Hypericuminhaltsstoffe Hyperforin, Hypericin, Pseudohypericin, Flavonoide und Xanthone zeigten im forcierten Schwimmtest mit Ratten eine antidepressive Wirkung [Butterweck et al., 1997; Bhattacharya et al., 1998].

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten juvenile, weiße, weibliche Meerschweinchen (*Cavia aperea*), die zwischen 280 und 350 g wogen (Charles River, Sulzfeld, Deutschland).

2.1.2 Beschreibung der getesteten Substanzen

Bicucullin-Metochlorid

([R-(R*,S*)]-5-(6,8-Dihydro-8-oxofuro[3,4-e]-1,3-benzodioxol-6-yl)-5,6,7,8-tetrahydro-6,6-dimethyl-1,3-dioxolol[4,5-g]isoquindinium chlorid)

Wasserlöslicher GABA_A-Antagonist

Hersteller: Tocris, Bristol, UK

CNQX

(6-Cyano-7-nitro-quinoxalin-2,3-dion)

AMPA-Antagonist

Hersteller: Sigma, Deisendorf, Deutschland

HYPWS

Wasserlösliche Fraktion eines ethanolischen *Hypericum*-Extraktes

Hersteller: Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe, Deutschland

Phaclofen

((RS)-3-Amino-2-(4-chlorophenyl)propylphosphonische Säure)

GABA_B-Antagonist

Hersteller: Tocris, Bristol, UK

2.1.3 Apparaturen und Versuchsaufbau

Die Versuche wurden in einer Meßkammer durchgeführt, die bei einer konstanten Durchflußgeschwindigkeit von 3-6 ml/min ständig mit Nährmedium durchspült wurde.

Der Zufluß erfolgte aus einem höher gelegenen Reservoir und wurde zum einen durch die Schwerkraftwirkung und zum anderen durch die Pumpvorrichtung (PD5001, Heidolph, Deutschland) gewährleistet. Dieses Zuflußreservoir enthielt die Nährlösung und wurde ständig mit Carbogen begast, so daß eine Sättigung des Nährmediums gegeben war.

Der Flüssigkeitstransport erfolgte durch Silikonschläuche und konnte mit einer Schlauchklemme reguliert werden. Die Temperatur wurde mit einem thermostatgeregelten Wärmekolben (HAAKE D1, Deutschland) eingestellt.

Der Abfluß aus der Meßkammer führte zunächst in eine Unterdruckflasche, die das rhythmische Ansaugen der Pumpe ausglich und so einen kontinuierlichen Abfluß garantierte.

Die ganze Apparatur war in einem Faraday'schen Käfig aufgebaut, um elektrische Störfaktoren zu vermeiden.

Die Meßkammer (1,5 × 4 cm, Volumen: 2 ml) bestand aus Plexiglas. Ihr Boden wurde aus einem Objektträger angefertigt (siehe Abbildung 2). Zwei Trennwände sowie zwei Walzen in der Meßkammer gewährleisteten einen laminaren Fluß der durchgeleiteten Lösung. Durch die seitlichen Öffnungen wurde der Temperaturfühler eines Digitalthermometers sowie eine indifferente Elektrode (chlorierte Ag/AgCl-Elektrode) eingeführt.

Die Meßkammer befand sich auf dem Objektträger eines Mikroskops und war somit beweglich. Daneben gab es Vorrichtungen mit einem Feintrieb. Mit diesem Feintrieb konnten die Elektroden positioniert werden.

Die elektrischen Impulse wurden durch einen isolierten Pulsstimulator (A-M Systems, Everett, WA, USA) evoziert und an eine oder zwei stimulierende Elektroden weitergeleitet.

Die abgeleiteten elektrischen Signale der differentiellen und indifferenten Elektroden wurden an einen Signalverstärker (SEC 1L, NPI Electronic, Tamm, Deutschland) übermittelt und danach mit Laboratory Interface (ITC, Instrutech Corp. Great Neck, NY, USA) digitalisiert.

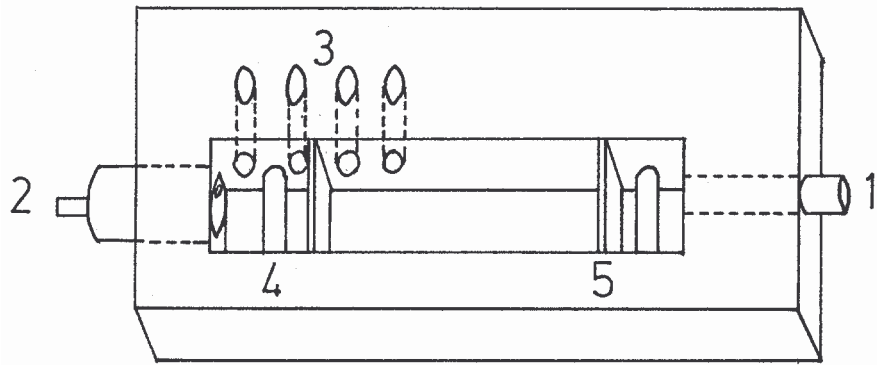


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Meßkammer

- (1) Zuflußrohr für die jeweilige Lösung
- (2) Abflußrohr
- (3) Öffnungen für Temperaturfühler und indifferente Elektrode
- (4) Walze zur Verringerung von Strömungsturbulenzen
- (5) Trennwand

2.2 Methoden

2.2.1 Anfertigung der hippocampalen Gewebsschnitte

Die hippocampalen Gewebsschnitte wurden nach der von Bingmann und Speckmann beschriebenen Methode hergestellt [Bingmann et al., 1989]:

Die Meerschweinchen wurden mit Äther anästhesiert und das Gehirn nach Eröffnung der Schädeldecke entnommen. Nach der Freilegung des Archacortex wurden die Hippocampi freipräpariert und in einer Schneideapparatur in circa 400 µm dicke Transversalschnitte zerlegt. Diese Schneideapparatur bestand aus einem Plexiglasblock, in dem eine Führungsschiene eingelassen war. In diese wurden die Hippocampi gelegt. Unter mikroskopischer Kontrolle (Carl Zeiss, 10-fache Vergrößerung) wurde dann eine Rasierklinge manuell in einen vertikal zur Führungsschiene verlaufenden Spalt eingeführt, während die Hippocampi mit einem Dachshaarpinsel positioniert wurden.

Die gesamte Präparation erfolgte in eiskaltem, sauerstoffgesättigtem, künstlichem Liquor (ACSF).

Die so gewonnenen Schnitte wurden sofort in eine mit ACSF gefüllte Kammer überführt und dort bei 28 °C, 95 % O₂ + 5 % CO₂ Äquilibration und einem konstanten pH-Wert von 7,4 für mindestens 90 Minuten inkubiert [Yamamoto, 1972]. So konnte die beim Präparationsvorgang gestörte Homöostase in den Hippocampuschnitten wieder hergestellt werden.

ACSF bestand aus den folgenden Komponenten:

NaCl	124,0 mmol/l
KCl	3,0 mmol/l
KH ₂ PO ₄	1,24 mmol/l
MgSO ₄	1,3 mmol/l
CaCl ₂	2,0 mmol/l
NaHCO ₃	26,0 mmol/l
Glukose	10,0 mmol/l

Für die Niedrig-Magnesium-Versuchen wurde eine magnesiumfreie ACSF-Lösung verwendet. Die erhöhte Kalium-Konzentration führt zu einer leichten Depolarisation der Neurone und somit zu einer vereinfachten Auslösung epileptischer Potentiale. Die magnesiumfreie ACSF-Lösung setzte sich folgendermaßen zusammen:

NaCl	124,0 mmol/l
KCl	8,0 mmol/l
KH ₂ PO ₄	1,24 mmol/l
MgSO ₄	-
CaCl ₂	2,0 mmol/l
NaHCO ₃	26,0 mmol/l
Glukose	10,0 mmol/l

2.2.2 Lösungen der verwendeten Substanzen

HYPWS: 10 mg HYPWS wurden in 1 l ACSF gelöst. Für die Niedrig-Magnesium-Versuche wurde magnesiumfreies ACSF verwendet. Die so entstandene Stammlösung mit einer Konzentration von 10^{-2} g/l wurde im Kühlschrank bei + 4 °C gelagert und für die Experimente auf die entsprechenden Konzentrationen mit ACSF verdünnt.

Bicucullin und Phaclofen: Die GABA-Antagonisten wurden in destilliertem Wasser gelöst und mit ACSF weiter verdünnt. Die verwendeten Endkonzentrationen betragen 10 µM für Bicucullin und 100 µM für Phaclofen. Diese Konzentrationen entsprachen in unseren Versuchen Schwellenwertkonzentrationen.

CNQX: Der AMPA-Antagonist wurde in DMSO (Dimethylsulfoxid) gelöst und mit ACSF weiter verdünnt. In der Endlösung betrug die CNQX-Konzentration 0,1 µM und die DMSO-Konzentration 0,002 %. Die DMSO-Konzentration war damit zu gering, um die Ergebnisse beeinflussen zu können [Langosch et al., 1998b; Rammes et al., 1994].

2.2.3 Durchführung der Experimente

Nach abgelaufener Inkubationszeit überführten wir pro Versuch ein Schnitt des Hippocampus in die Meßkammer. Dort wurde er von mit Carbogen gesättigtem ACSF bei 28 °C umspült. Für die Versuche mit CNQX fügten wir diesem Nährmedium 0,002 % DMSO bei, für die Niedrig-Magnesium-Versuche verwendeten wir magnesiumfreies ACSF.

Die Spülflüssigkeit konnte an einem Dreiwegehahn ausgetauscht werden. Die so verabreichten Testsubstanzen erreichten die Meßkammer nach circa 30 Sekunden.

Bei den Niedrig-Magnesium-Versuchen wuschen wir HYPWS für 20 Minuten ein. Bei den LTP-Versuchen war es 20 Minuten vor, während und 60 Minuten nach der tetanischen Stimulation in der Badelösung vorhanden.

Für die Versuche mit den Antagonisten waren diese 30 Minuten in der Badelösung vorhanden, bevor wir sie zusammen mit HYPWS für 20 Minuten gaben.

Bei allen Experimenten wurden extrazelluläre Potentiale durch einen elektrischen Stimulus erzeugt und abgeleitet. Dieser Stimulus ($f = 0,066$ Hz; $t = 50$ μ s; $I = 0,8-4$ mA) wurde durch den isolierten Pulsstimulator hervorgerufen und mit einer isolierten, bipolaren Wolframelektrode (Durchmesser: 0,05 mm) auf den Schnitt übertragen. Wir wählten die Stimulusintensität so, daß sie circa zwei Drittel der maximal möglichen Antwort erzeugte. Die Elektrode plazierten wir mit Hilfe eines binokularen Transmissionsmikroskops (40-fache Vergrößerung) im Stratum radiatum von CA1 (Schaffer-Collateralen).

Die ableitende Elektrode bestand aus einer gläsernen Mikroelektrode, die mit 3 mol/l NaCl gefüllt war und einen Widerstand von 2 –5 Ω hatte. Sie wurde in einer Elektrodenpulle (Sutter Instrument Co. P-87, Novato, USA) aus Borosilikatglas-Filament-Kapillaren (Hilgenberg, Malsfeld) hergestellt. Diese Elektrode plazierten wir für die Ableitung von PS im Bereich der Pyramidenzellen von CA1 und für die Ableitung von EPSP im dendritischen Bereich.

Die so abgeleiteten Signale wurden an den Verstärker weitergeleitet, der sie mit einem Durchlaßfilter von 3 kHz filterte. Anschließend wurden sie mit einer Rate von 10 kHz mit Laboratory Interface digitalisiert und schließlich im Computer (Apple Macintosh Power PC7300, Cupertino, CA) mit dem Programm Pulse-8.09 (HEKA, Deutschland) und der Igor Software (Wave Metrics, Version 3.03, Inc., USA) gespeichert und verarbeitet.

Das elektrische Signal bei den Niedrig-Magnesium-Versuchen stellten wir mit einem Speicheroszilloskop (Hameg HM 205-3, Frankfurt) und einem nachgeschaltetem Thermodrucker (Hameg HM 8148-2, Frankfurt) optisch dar. Ein Tintenschreiber (Rikadenki R-001 D, Freiburg) registrierte über einen Differentialfilter die Feldpotentiale.

2.3 Auswertungen

Bei den Niedrig-Magnesium-Versuchen ermittelten wir die Änderungen der fp-Frequenz.

Für die Versuche, bei denen wir mit PS arbeiteten, bestimmten wir die Amplitudenveränderungen innerhalb eines 3 – 18 ms dauernden Intervalls nach dem Stimulus und werteten sie mit einer Igor Software aus. Bei den Versuchen mit EPSP berechneten wir die Veränderungen der Steilheit des Amplitudenanstieges.

Die LTP-Versuche führten wir mit zwei Stimulationselektroden durch, von denen eine den Kontrollwert lieferte. Es wurden zunächst für 30 Minuten Feldpotentiale erzeugt und abgeleitet, um einen stabilen Grundwert zu erhalten. Diesen definierten wir als 100 %. Die Langzeitpotenzierung erreichten wir mit zwei hochfrequenten Stimulationsimpulsen von 100

Hz und einer Dauer von je einer Sekunde bei gleicher Intensität wie die der Teststimuli. Die LTP-Wirkung gaben wir in der prozentualen Abweichung des ermittelten Grundwertes an.

Diese Daten wurden genormt und die resultierenden Mittelwerte \pm Standardfehler von n Versuchen dargestellt. Zur statistischen Evaluation zogen wir den Student-t-Test heran. Eine Wahrscheinlichkeit von 0.05 bewerteten wir als statistisch signifikant.

3 ERGEBNISSE

Wir untersuchten HYPWS in verschiedenen Versuchsreihen mit extrazellulären Feldpotentialen. Zunächst wurde es im Niedrig-Magnesium-Modell der Epilepsie getestet, um die Wirkung von HYPWS auf Ca^{2+} - und NMDA-Rezeptoren zu untersuchen (3.1). Des Weiteren führten wir LTP-Versuche mit HYPWS durch, um eventuelle Einflüsse von HYPWS auf die kognitiven Funktionen Lernen und Gedächtnis zu prüfen und um eine Wirkung auf den NMDA-Rezeptor auszuschließen (3.2). Schließlich befaßten wir uns mit dem exzitatorischen Wirkungsmechanismus von HYPWS, den wir durch die Kombination von HYPWS mit verschiedenen Antagonisten entschlüsseln konnten (3.3).

3.1 HYPWS im Niedrig-Magnesium-Modell

In den Versuchen des Niedrig-Magnesium-Modells testeten wir HYPWS in einer Konzentration von 10^{-5} g/l. Die neurophysiologische Wirksamkeit von HYPWS in dieser Konzentration ist erwiesen [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999].

Die Evokation von PDS erfolgte durch den Wechsel der Spüllösung von ACSF zu magnesiumfreiem ACSF. Die PDS traten mit einer Latenz von 7 - 10 Minuten nach dem Wechsel auf. Anschließend ermittelten wir den 1. Kontrollwert.

Während einer darauf folgenden 20-minütigen Einwaschphase mischten wir der Spüllösung unter Beobachtung der fp-Frequenz HYPWS 10^{-5} g/l bei.

In der abschließenden Auswaschphase gaben wir nur magnesiumfreie ACSF-Lösung. Damit konnten wir die Reversibilität der aufgetretenen Frequenzänderungen überprüfen. In dieser Phase ermittelten wir den 2. Kontrollwert (siehe Abbildung 3).

Insgesamt bewirkte HYPWS 10^{-5} g/l eine leichte Erhöhung der fp-Frequenz ($108,9 \pm 7,37$ %, $n = 9$), die statistisch nicht signifikant war ($p = 0,24$, Student-t-Test). Die durch HYPWS 10^{-5} g/l ausgelöste fp-Frequenzerhöhung war in 75 % der Fälle reversibel (siehe Abbildung 4).

Extrazelluläre Feldpotentiale im Niedrig-Magnesium-Modell

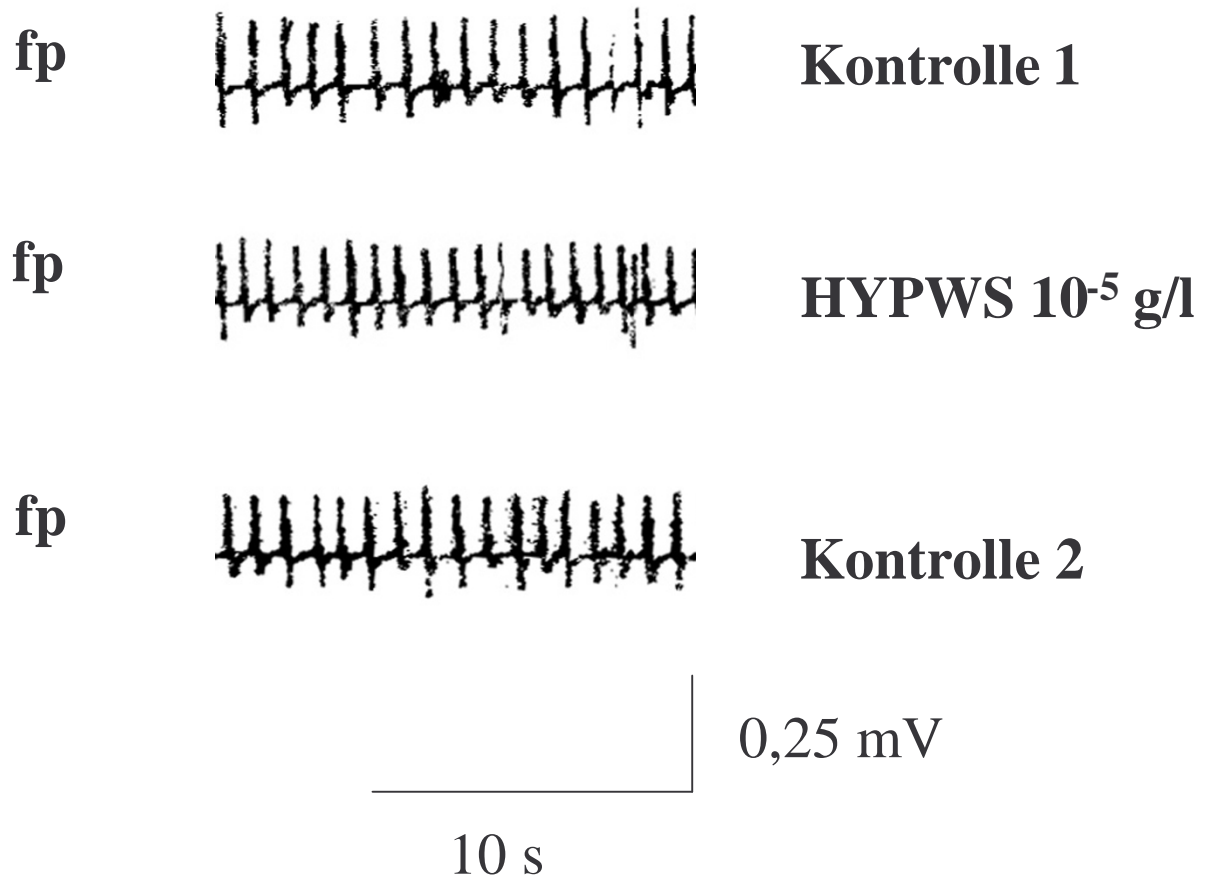


Abbildung 3: Extrazelluläre Feldpotentiale (fp) im Niedrig-Magnesium-Modell

1. Kontrollwert: 1 Minute vor Zugabe von HYPWS 10⁻⁵ g/l
Wirkung von HYPWS 10⁻⁵ g/l: Wert am Ende der 20-minütigen Einwaschphase
2. Kontrollwert: Wert am Ende der 20-minütigen Auswaschphase
HYPWS 10⁻⁵ g/l steigerte in 4 von 9 Versuchen die fp-Frequenz während einer 30-minütigen Einwaschphase. Dieser Effekt war in 3 von 4 Fällen reversibel.
Hippocampus-Gewebsschnittpräparate vom Meerschweinchen. Ableitung in der Region CA3.

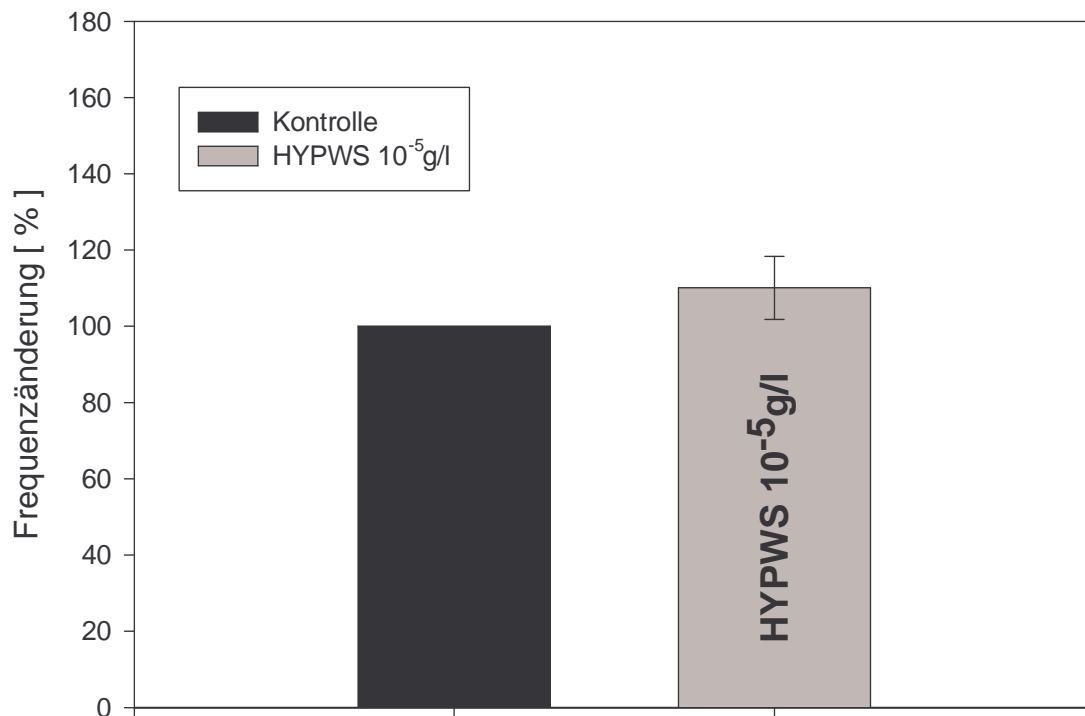
HYPWS 10^{-5} g/l im Niedrig-Magnesium-Modell

Abbildung 4: HYPWS 10^{-5} g/l im Niedrig-Magnesium-Modell

Dargestellt sind der 1. Kontrollwert sowie die Wirkung von HYPWS 10^{-5} g/l mit dem Standardmeßfehler.

HYPWS 10^{-5} g/l führt zu einer leichten fp-Frequenzsteigerung: $108,9 \pm 7,37$, $n = 9$. Diese ist statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$, Student-t-Test).

3.2 Auswirkungen von HYPWS auf LTP

HYPWS wurde in einer Konzentration von 10^{-4} g/l für diese Versuche verwendet.

Wir leiteten PS oder EPSP ab und mischten anschließend HYPWS 10^{-4} g/l der ACSF-Badelösung bei. Die exzitatorische HYPWS-Wirkung glichen wir durch Regulation des elektrischen Stimulus aus, so daß die Amplitude unter HYPWS 10^{-4} g/l der Ausgangsamplitude entsprach. Nach 30 Minuten erfolgte eine Hochfrequenzstimulation (HFS). Wir beobachteten PS beziehungsweise EPSP 60 Minuten lang und wuschen HYPWS 10^{-4} g/l anschließend aus (siehe Abbildung 5).

Die Potenzierung der PS wurde eine Stunde nach HFS gemessen. Unter dem Einfluß von HYPWS 10^{-4} g/l betrug sie $149,7 \pm 15,5$ %, $n = 5$; ohne HYPWS 10^{-4} $137,1 \pm 13,7$ %, $n = 5$. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$, Student-t-Test).

Die Potenzierung der EPSP wurde durch Zugabe von HPWS 10^{-4} g/l leicht verringert: $149,4 \pm 4$ %, $n = 5$ im Vergleich zur Kontrolle $162,7 \pm 10,3$ %, $n = 5$ (siehe Abbildung 6). Auch diese Veränderung war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$, Student-t-Test).

HYPWS Langzeitpotenzierung

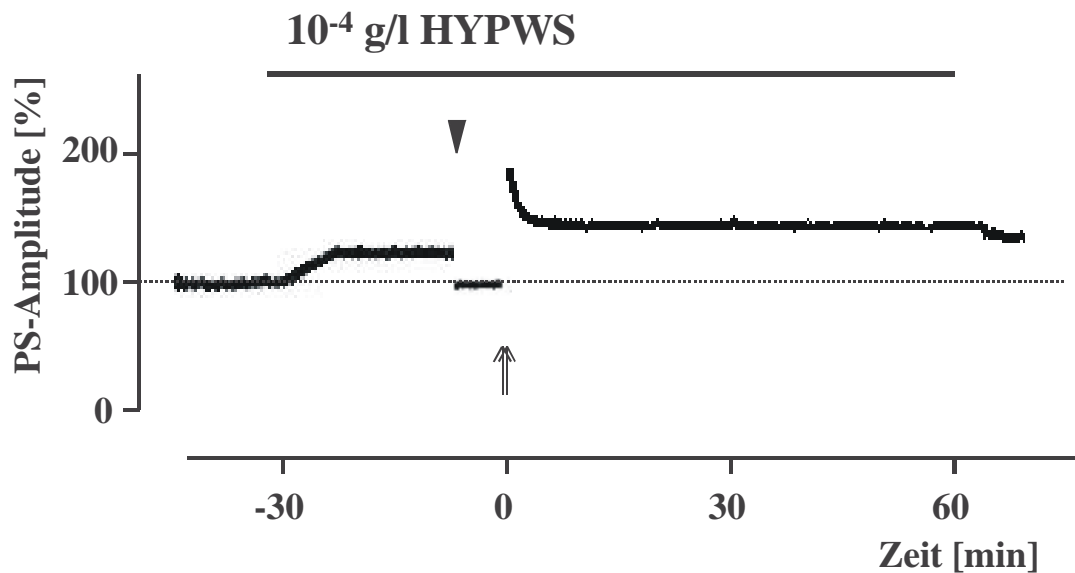


Abbildung 5: Versuchsablauf der Langzeitpotenzierung durch HFS mit HYPWS 10^{-4} g/l
 30 Minuten vor HFS wird HYPWS 10^{-4} g/l der Spüllösung beigemischt. HYPWS 10^{-4} g/l führt zu einer PS-Amplitudenzunahme. \blacktriangledown : Regulation des Stimulus, so daß die Amplitudengröße wieder dem Ausgangswert entspricht. $\uparrow\uparrow$: zweifache Hochfrequenzstimulation (HFS). Die PS-Amplituden werden 60 Minuten unter HYPWS 10^{-4} g/l gemessen, danach wird HYPWS 10^{-4} g/l ausgewaschen.
 Hippocampus-Gewebsschnittpräparate vom Meerschweinchen. Ableitung in der Region CA1.

Einfluß von HYPWS 10^{-4} g/l auf die Langzeitpotenzierung

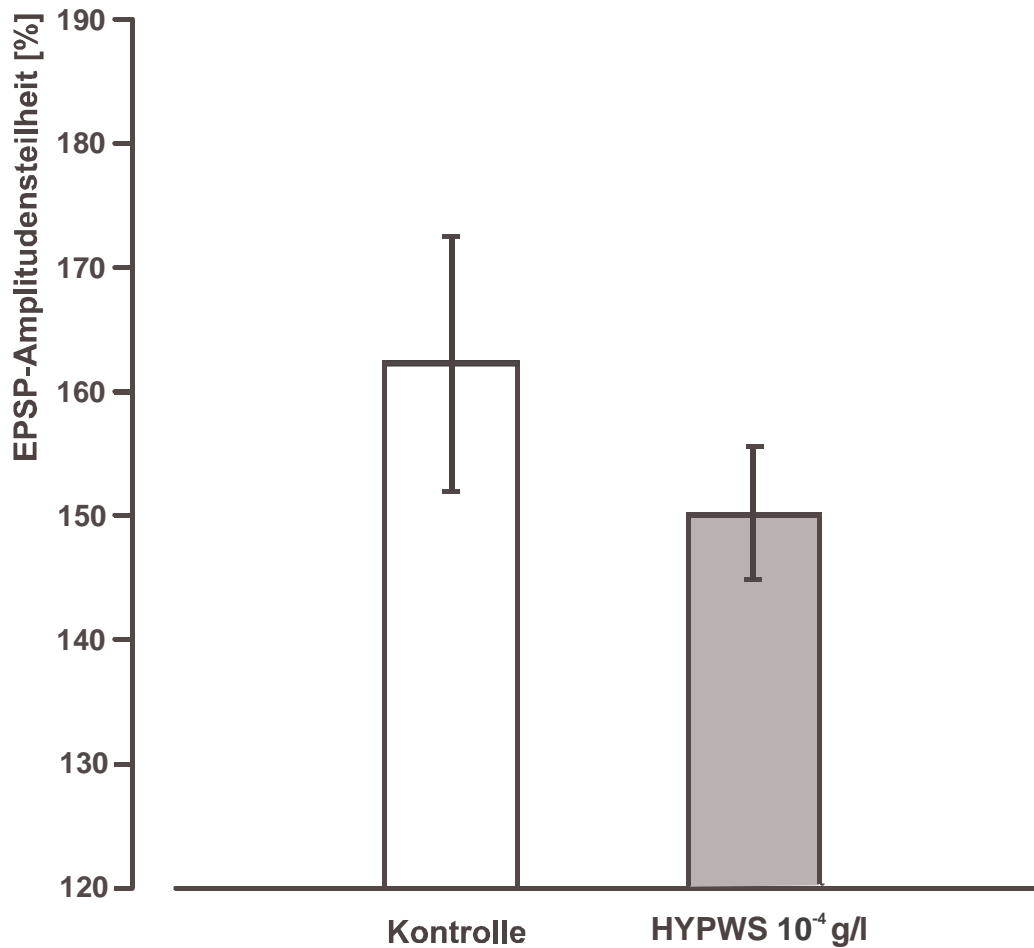


Abbildung 6: Auswirkungen von HYPWS 10^{-4} g/l auf LTP

Die Balken stellen die prozentuale Veränderung der EPSP-Amplitudensteilheit 1 Stunde nach Hochfrequenzstimulation dar. Im Vergleich zur Kontrolle vermindert HYPWS 10^{-4} g/l die Amplitudensteilheit der EPSP leicht (Kontrolle: $162,7 \pm 10,3$ %, $n = 5$; HYPWS 10^{-4} g/l: $149,4 \pm 5,6$ %, $n = 5$). Diese Inhibition ist statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$, Student-t-Test).

3.3 Kombination von HYPWS mit Antagonisten

HYPWS 10^{-4} g/l wirkt exzitatorisch: Es erhöht die Steilheit der PS-Amplitude um $111,9 \pm 2,9$ %, $n = 13$ [Zhou, Inaugural Dissertaton, 1999]. Auf der Suche nach dem zugrunde liegenden Wirkmechanismus wurde HYPWS 10^{-4} g/l mit verschiedenen Antagonisten kombiniert.

Wir leiteten PS ab und ermittelten einen Ausgangswert der Amplitudensteilheit. Dann wuschen wir den zu untersuchenden Antagonisten ein. Eventuelle Eigenwirkungen des Antagonisten auf die Amplitudensteilheit regulierten wir, indem wir den elektrischen Stimulus so einstellten, daß wieder der Ausgangswert erreicht wurde. Nach der 20-minütigen Einwaschphase mischten wir der Badelösung HYPWS 10^{-4} g/l bei. HYPWS 10^{-4} g/l wurde zusammen mit dem jeweiligen Antagonisten für 30 Minuten gegeben, bevor wir beide Substanzen aus der Badelösung auswuschen (siehe Abbildung 6).

3.3.1 Kombination von HYPWS mit dem GABA_A-Antagonisten Bicucullin

Für Bicucullin ermittelten wir in Vorversuchen eine Schwellenkonzentration, bei der Bicucullin in unserer Versuchsanordnung gar keine oder nur eine leichte Eigenwirkung aufwies. Diese Schwellenkonzentration lag bei $10 \mu\text{M}$. In der Einwaschphase wirkte es leicht exzitatorisch oder zeigte gar keine Eigenwirkung. Den elektrischen Stimulus paßten wir bei Bedarf vor der Einwaschung von HYPWS 10^{-4} g/l entsprechend an.

Bicucullin $10 \mu\text{M}$ erhöhte die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l leicht von $111,9 \pm 2,9$ % ($n = 13$) auf $120,1 \pm 4,1$ % ($n = 7$) (siehe Abbildung 7). Diese Wirkung war statistisch nicht signifikant ($p = 0,067$, Student-t-Test).

3.3.2 Kombination von HYPWS mit dem GABA_B-Antagonisten Phaclofen

Wie für den GABA_A-Antagonisten Bicucullin bestimmten wir auch für den GABA_B-Antagonisten Phaclofen in Vorversuchen eine Schwellenwertkonzentration für unsere Versuchsanordnung. Sie lag für Phaclofen bei $100 \mu\text{M}$. In der Einwaschphase wirkte Phaclofen $100 \mu\text{M}$ nicht exzitatorisch oder zeigte keine Eigenwirkung. Den elektrische Stimulus paßten wir bei Bedarf an, so daß die PS-Amplitude unter Phaclofen $100 \mu\text{M}$ Ausgangsamplitude entsprach.

Phaclofen $100 \mu\text{M}$ erhöhte die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l deutlich von $111,9 \pm 2,9$ % ($n = 13$) auf $140,9 \pm 7,0$ % ($n = 8$) (siehe Abbildung 8). Diese Auswirkung war statistisch signifikant ($p = 0,0012$, Student-t-Test).

3.3.3 Kombination von HYPWS mit dem AMPA-Antagonisten CNQX

CNQX 0,1 μM wirkte in der Einwaschphase inhibitorisch. Der elektrische Stimulus wurde daher hochreguliert, um die PS-Amplitude unter CNQX 0,1 μM der Ausgangsamplitude anzugleichen.

CNQX 0,1 μM blockierte die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ($111,9 \pm 2,9$ %, n = 13) komplett: $97,3 \pm 4,39$ %, n = 11 (siehe Abbildung 9). Dieses Ergebnis war statistisch signifikant (p = 0,0182, Student-t-Test).

3.3.4 Kombination von HYPWS mit CNQX und Phaclofen

Bei der Gabe von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem AMPA-Antagonisten CNQX 0,1 μM und dem GABA_B-Antagonisten Phaclofen 100 μM wurde die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ($111,9 \pm 2,9$ %, n = 13) komplett aufgehoben: $99,4 \pm 6,7$ %, n = 8 (siehe Abbildung 10). Dieses Ergebnis war statistisch signifikant (p = 0,0004, Student-t-Test).

Versuchsablauf der Kombinationsversuche von HYPWS 10^{-4} g/l mit Antagonisten

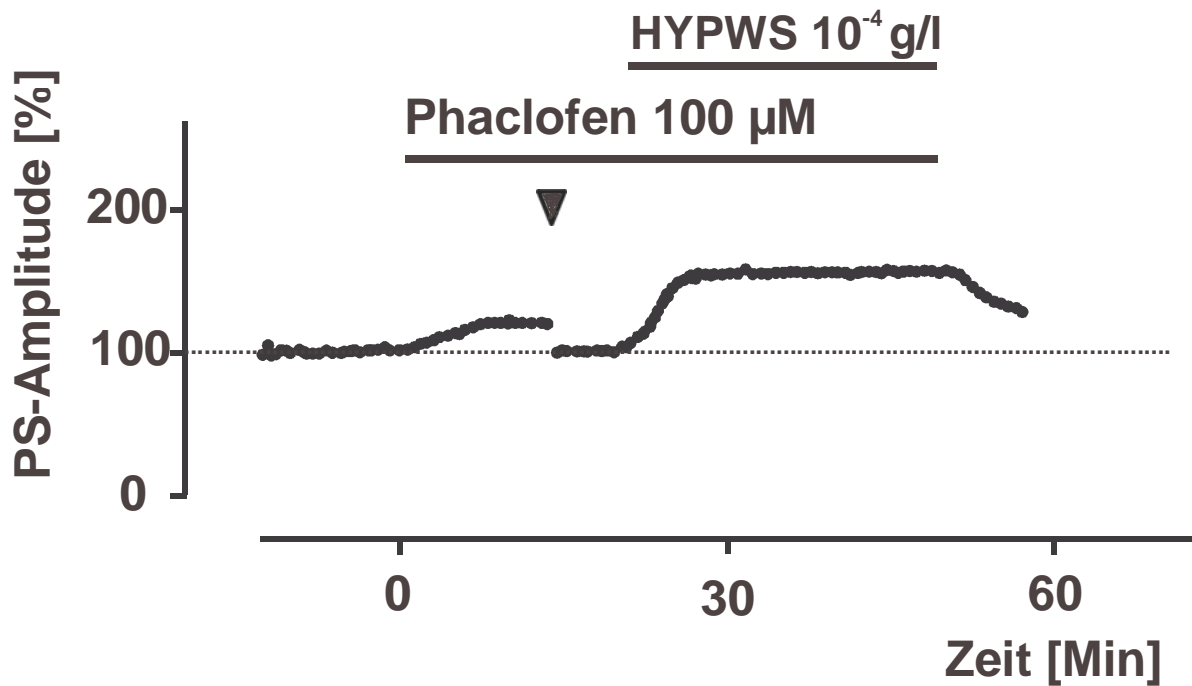


Abbildung 6: Versuchsablauf der Kombinationsversuche von HYPWS 10^{-4} g/l mit Antagonisten (hier am Beispiel von Phaclofen 100 µM)

Aufzeichnung von PS, Ermittlung eines Ausgangswertes der Amplitudensteilheit. Einwaschen eines Antagonisten (hier Phaclofen 100 µM) für 20 Minuten. Phaclofen 100 µM führt zu einer leichten Zunahme der Amplitudensteilheit. ▼: Regulation des elektrischen Stimulus, so daß die Amplitudensteilheit unter Phaclofen 100 µM dem Ausgangswert entspricht. Gabe von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem Antagonisten für 30 Minuten. Auswaschen von HYPWS 10^{-4} g/l und des Antagonisten.

Hippocampus-Gewebsschnittpräparate vom Meerschweinchen. Ableitung in der Region CA1.

Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem GABA_A-Antagonisten Bicucullin $10 \mu\text{M}$

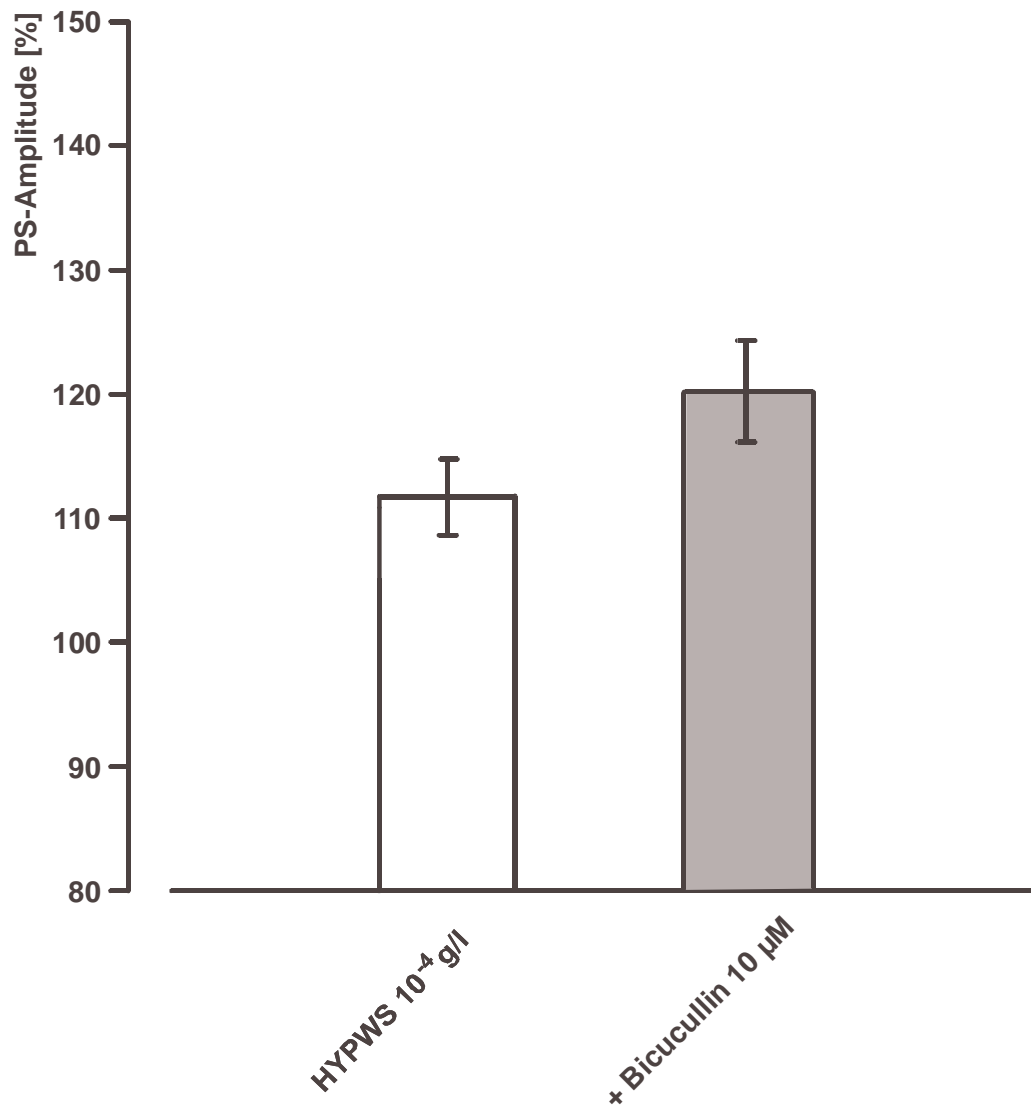


Abbildung 7: Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem GABA_A-Antagonisten Bicucullin $10 \mu\text{M}$

Die Balken stellen die prozentuale Veränderung der PS-Amplitude unter dem Einfluß von HYPWS 10^{-4} g/l und von HYPWS 10^{-4} g/l in Kombination mit Bicucullin $10 \mu\text{M}$ dar. Bicucullin $10 \mu\text{M}$ erhöht die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ($111,9 \pm 2,9 \%$, $n = 13$) leicht auf $120,1 \pm 4,1 \%$, $n = 7$. Diese Erhöhung ist statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$, Student-t-Test).

Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem GABA_B-Antagonisten Phaclofen 100 μ M

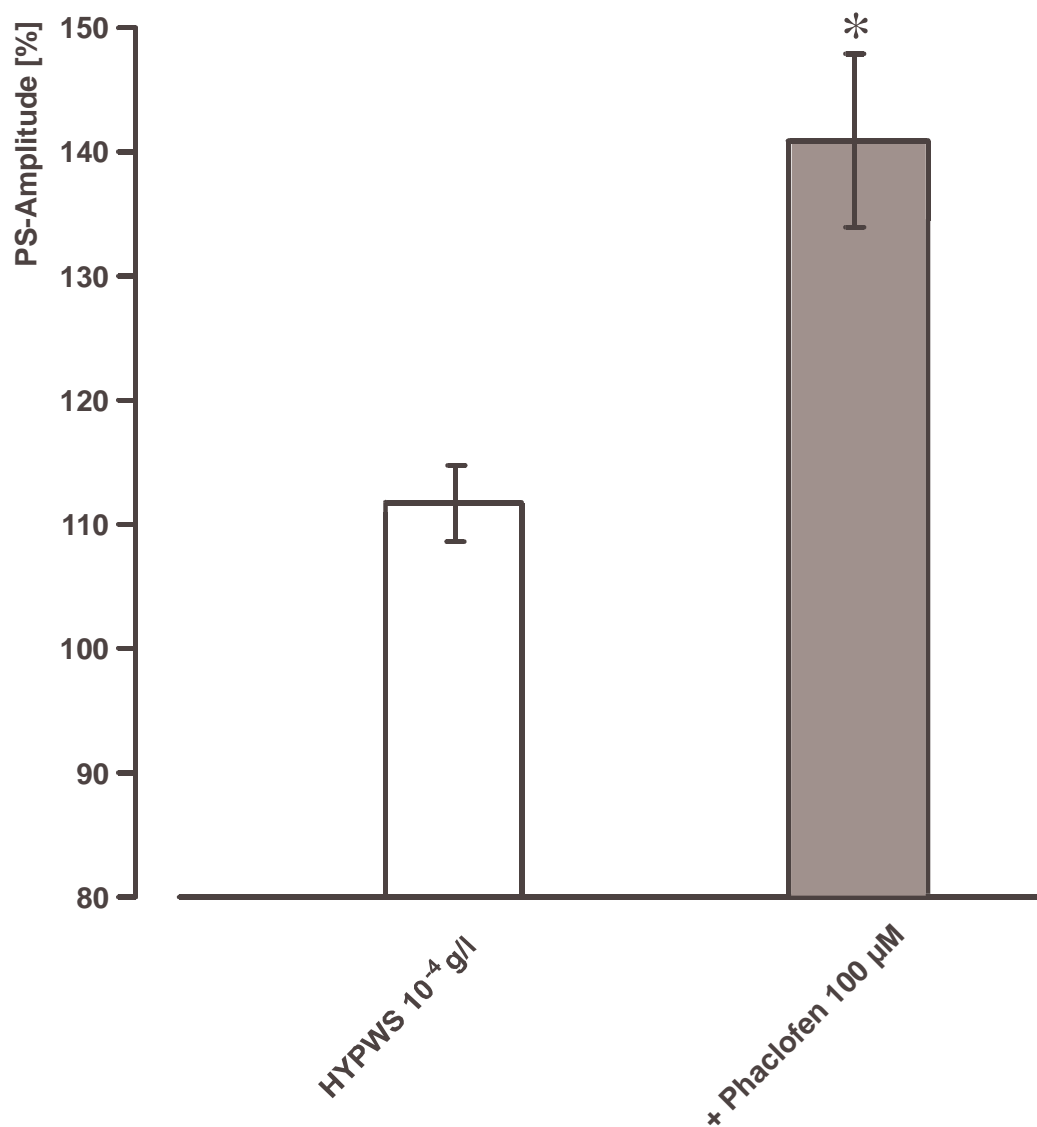


Abbildung 8: Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem GABA_B-Antagonisten Phaclofen 100 μ M

Die Balken stellen die prozentuale Veränderung der PS-Amplitude unter dem Einfluß von HYPWS 10^{-4} g/l und von HYPWS 10^{-4} g/l in Kombination mit Phaclofen 100 μ M dar. Phaclofen erhöht die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ($111,9 \pm 2,9$ %, $n = 13$) deutlich auf $140,9 \pm 7,0$ %, $n = 8$. Diese Erhöhung ist statistisch signifikant (* = $p < 0,05$, Student-t-Test).

Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem AMPA-Antagonisten CNQX $0,1 \mu\text{M}$

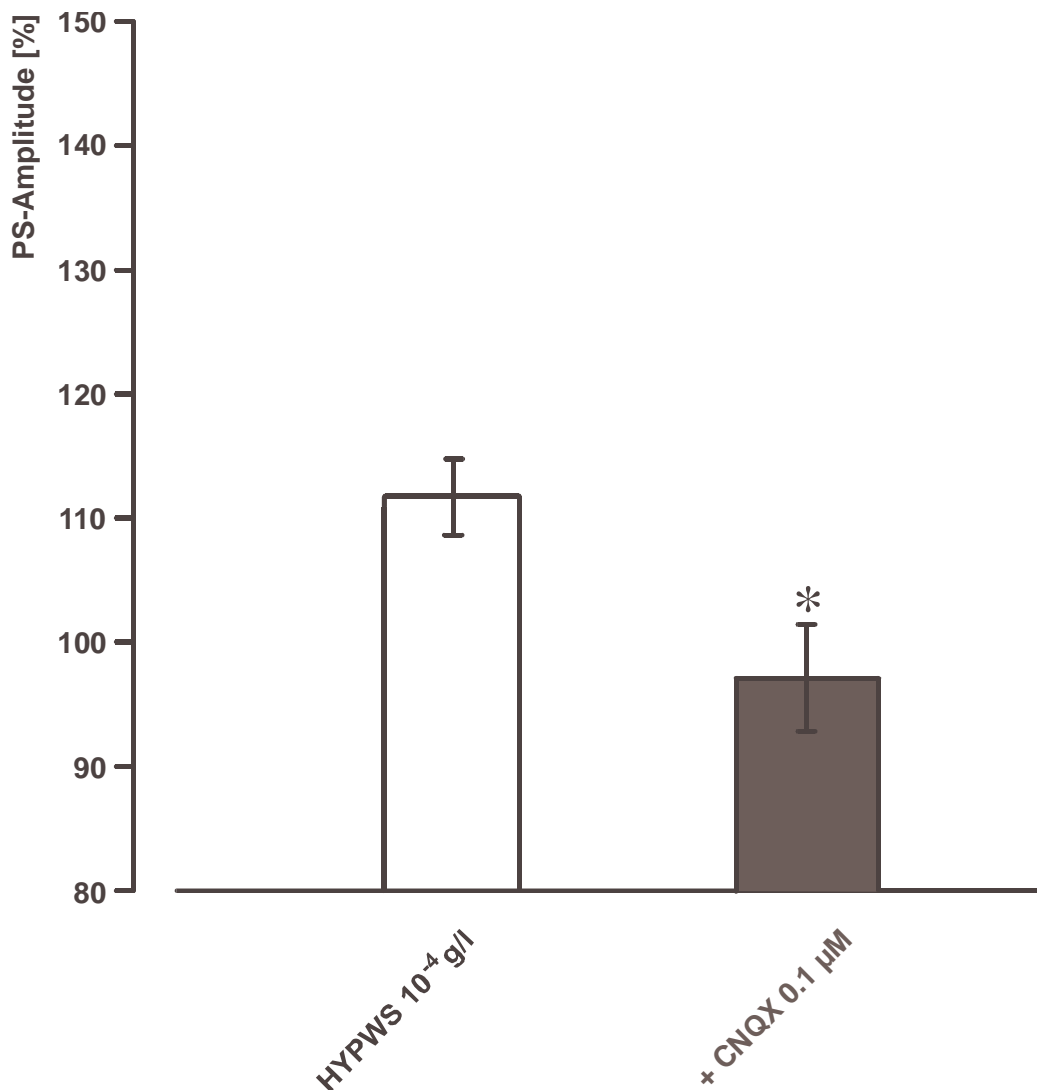


Abbildung 9: Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit dem AMPA-Antagonisten CNQX $0,1 \mu\text{M}$

Die Balken stellen die prozentuale Veränderung der PS-Amplitude unter dem Einfluß von HYPWS 10^{-4} g/l und von HYPWS 10^{-4} g/l in Kombination mit CNQX $0,1 \mu\text{M}$ dar. CNQX $0,1 \mu\text{M}$ blockiert die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ($111,9 \pm 2,9 \%$, $n = 13$): $97,3 \pm 4,39 \%$, $n = 11$. Dieses Ergebnis ist statistisch signifikant (* = $p < 0,05$, Student-t-Test).

**Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit den Antagonisten
CNQX 0,1 μ M, Phaclofen 100 μ M und Bicucullin 10 μ M sowie mit
der Kombination von CNQX 0,1 μ M und Phaclofen 100 mM**

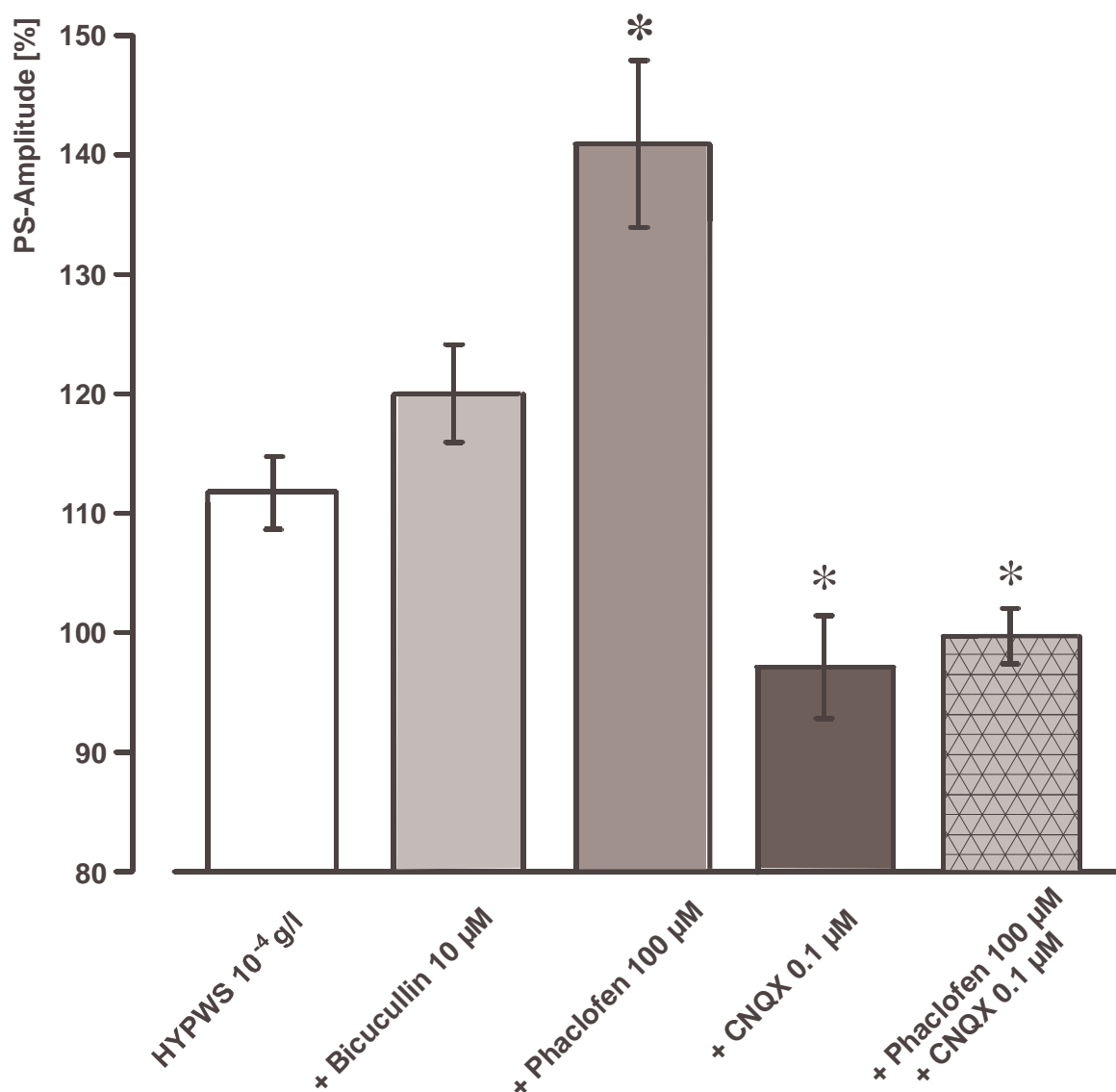


Abbildung 10: Übersichtsdiagramm zu den Kombinationsversuchen

Die Balken stellen die prozentualen Veränderungen der PS-Amplituden unter HYPWS 10^{-4} g/l und HYPWS 10^{-4} g/l in Kombination mit CNQX 0,1 μ M, Phaclofen 100 μ M, Bicucullin 10 μ M und der Kombination von CNQX 0,1 μ M und Phaclofen 100 μ M dar. Phaclofen 100 μ M und Bicucullin 10 μ M erhöhen die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ($111,9 \pm 2,9$ %, $n = 13$) auf $140,9 \pm 7,0$ %, $n = 8$, beziehungsweise $120,1 \pm 4,1$ %, $n = 7$. CNQX 0,1 μ M hingegen hebt die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l auf: $97,3 \pm 4,39$ %, $n = 11$. In der Kombination von HYPWS 10^{-4} g/l mit Phaclofen 100 μ M und CNQX 0,1 μ M wird die exzitatorische Wirkung von HYPWS 10^{-4} g/l ebenfalls komplett aufgehoben: $99,4 \pm 6,7$ %. Die statistisch signifikanten Ergebnisse sind mit * markiert (* = $p < 0,05$, Student-t-Test).

4 DISKUSSION

Johanniskraut ist ein Naturheilmittel, dessen antidepressive Wirksamkeit schon seit langer Zeit genutzt wird [Shelton et al., 2001]. Heutzutage wird es häufig zur Behandlung leichter bis mittelschwerer Depressionen eingesetzt und stellt eine Alternative zu konventionellen Antidepressiva dar. Seine antidepressive Wirksamkeit ist sowohl in klinischen Studien [Hansgen et al., 1994; Harrer et al., 1994; Hubner et al., 1994; Laakmann et al., 1998] als auch in tierexperimentellen Depressionsmodellen [Butterweck et al., 1997; Bhattacharaya et al., 1998] nachgewiesen worden. Sein antidepressiver Wirkmechanismus ist noch nicht vollständig geklärt, scheint sich aber aus verschiedenen Komponenten zusammensetzen.

Die Geschichte der konventionellen Antidepressiva ist im Vergleich zur langen Tradition des Johanniskrautes noch jung. Sie begann 1957 mit der Entdeckung der antidepressiven Wirksamkeit von Imipramin durch Kuhn [Kuhn, 1957]. Die tricyclischen Antidepressiva (TCA) sowie die Monoaminoxidase-Inhibitoren (MAOI) eroberten daraufhin den Markt der Antidepressiva. Beide Stoffe erhöhen die Konzentration der Monoamine im synaptischen Spalt. Ihre antidepressive Wirksamkeit wird daher auf der Grundlage der Monoaminmangel-Hypothese der Depression erklärt. Auch Hypericumpräparate führen zu einer Erhöhung der Monoaminkonzentration im synaptischen Spalt. Dies wird zum einen durch eine leichte Hemmung der MAO-A- und MAO-B-Aktivität [Bladt et al., 1994] zum anderen durch eine Neurotransmitterwiederaufnahme-Inhibition erreicht [Nathan, 2001].

Die MAOI werden heutzutage nur noch zurückhaltend verschrieben, da sie die Gefahr der Interaktion mit zahlreichen Nahrungsmitteln bergen. Ihre Verschreibung bleibt therapieresistenten, gehemmt-depressiven Syndromen vorbehalten. Der „cheese effect“ ist bei Hypericumpräparate jedoch nicht zu befürchten, da die MAO-Inhibition bei *Hypericum perforatum* nur sehr schwach ausgeprägt ist [Müller et al., 1997].

Die TCA hingegen sind weit verbreitet. Sie erhöhen die Serotonin- und Noradrenalkonzentration im synaptischen Spalt, indem sie die präsynaptische Wiederaufnahme dieser Neurotransmitter hemmen [Potter et al., 1991]. Auch bei den Hypericumpräparaten ist eine Neurotransmitterwiederaufnahmehemmung mitverantwortlich für die antidepressive Wirksamkeit. Allerdings ist die Inhibition bei Hypericumpräparaten im Gegensatz zu der Inhibition bei TCA nicht-kompetitiv und zeigt die gleiche Affinität für 5-HT, NA und Dopamin [Müller et al., 1997].

Neben der erwünschten antidepressiven Wirkung beeinflussen die TCA auch eine Reihe von postsynaptischen Rezeptoren, zu denen die Muskarin-, Acetylcholin-, α_1 -Adrenalin-, 5HT₂- und Histamin(H1)-Rezeptoren gehören [Kanof et Greengard, 1978; Hall et Ogren, 1981]. Dieser Einfluß ist für die Entstehung der typischen Nebenwirkungen verantwortlich. Im Vordergrund stehen anticholinerge Wirkungen wie Mundtrockenheit, Obstipation, Akkomodationsstörungen, Mydriasis mit der Gefahr eines Glaukomanfalls, Miktionsbeschwerden bis zur Harnsperrung, Tachykardien und Verwirrung [Cookson, 1993]. Die Intoxikation mit TCA ähnelt daher einer Atropin-Vergiftung. Anticholinerge Nebenwirkungen sind bei Hypericumpräparaten hingegen nicht bekannt.

Die TCA können aber auch direkte kardiale Wirkungen in Form von Erregungsleitungsstörungen verursachen, die sich im EKG als PQ-Verlängerung und QRS-Verbreiterung zeigen. Sie sind auf chinidinartige Eigenschaften zurückzuführen und können eine Verlangsamung der Überleitung bis zum AV-Block verursachen. Die Blockade zentraler Muskarinrezeptoren kann vor allem bei älteren Menschen zum Delir führen. Daher ist eine Überdosierung der TCA insbesondere für ältere Patienten und für Patienten mit vorbestehenden kardiovaskulären Problemen gefährlich. Im Gegensatz dazu, beeinflussen Hypericumpräparate die kardiale Überleitung selbst in hohen Dosen nicht. Daher sind sie für Patienten mit vorbestehenden kardialen Überleitungsstörungen und für ältere Patienten wesentlich besser verträglich als TCA [Czekalla et al., 1997].

Weitere Nebenwirkungen der TCA können durch die Blockade von α_1 -Adrenalin-, 5HT₂- und Histamin(H1)-Rezeptoren erklärt werden: Orthostase und reflektorische Tachykardie durch eine Hemmung peripherer α_1 -Adrenorezeptoren, Sedation und Schläfrigkeit durch eine Blockade zentraler H1-Rezeptoren, Appetitsteigerung und Gewichtszunahme aufgrund einer Inhibition von 5HT_{2A}-Rezeptoren. Auch das Auftreten von Schlafstörungen und eine Senkung der Krampfschwelle werden beschrieben.

Diese unerwünschten und unangenehmen Nebenwirkungen führen zu einer signifikanten Reduktion der Compliance und können den behandelnden Arzt dazu verleiten, eine zu geringe Dosis zu verschreiben [Beaumont, 1989; Montgomery et Kasper, 1995].

Hypericumextrakte zeigen für leichte bis mittelschwere Depressionen eine gleichwertige Wirksamkeit wie TCA [Harrer et al., 1994; Vorbach et al., 1994; Wheatley, 1997] bei einer besseren Verträglichkeit [Linde et al., 1996]. Letale Intoxikationen sind nicht bekannt [Vorbach et al., 1997]. Die Anwendung von Hypericumpräparaten für schwere Depressionen als Alternative zu TCA ist bislang umstritten [Vorbach et al., 1997, Shelton et al., 2001; Hypericum Depression Trial Study Group, 2002].

Im letzten Jahrzehnt wurden die selektiven Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren (SSRI) und die selektiven Noradrenalin-Wiederaufnahme-Inhibitoren (SNRI) entwickelt. Derzeit stellen sie die am häufigsten verschriebenen Antidepressiva dar [Fritze, 2003]. Im Unterschied zu TCA wirken SSRI und SNRI selektiv auf die Serotonin- beziehungsweise Noradrenalinwiederaufnahme. Daher fehlen die Nebenwirkungen, die bei den TCA durch Blockierung von muskarinischen, cholinergen, α -adrenergen und H1-histaminergen Rezeptoren erzeugt werden. Vorzeitige Therapieabbrüche sind deshalb seltener [Feighner et al., 1993; Stokes, 1993b]. Aufgrund der fehlenden kardiovaskulären Nebenwirkungen sind sie bei einer Überdosis relativ untoxisch [Stokes, 1993b]. Im Vergleich zu TCA verursachen SSRI weniger häufig ein Koma und führen seltener zur Intensivpflichtigkeit der intoxikierten Patienten [Whyte et al., 2003]. Im Falle einer Intoxikation kann es zum Serotoninsyndrom kommen. Dieses ist durch Hyperthermie, Übelkeit, Erbrechen, Verwirrtheit, Unruhe, Tremor, Myoklonus und eventuell Krämpfe gekennzeichnet. Auch Hypericumpräparate erhöhen die Serotoninkonzentration. Daher kann es bei einer Kombination von Hypericumpräparaten und SSRI zu einer Addition der serotonergen Effekte kommen.

Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen der Wirksamkeit von SSRI und TCA bei einer besseren Verträglichkeit der SSRI [Finley, 1994; Montgomery et Kasper, 1995; MacGillivray et al., 2003]. Hypericumextrakten zeigen bei leichten bis mittelschweren Depressionen die gleiche Wirksamkeit wie SSRI [Brenner et al., 2000; Schrader, 2000; Behnke et al., 2002].

Hypericumextrakte sind in ihrer Wirksamkeit also durchaus vergleichbar mit konventionellen Antidepressiva. Zudem zeichnen sie sich durch eine sehr gute Verträglichkeit aus [Linde et al., 1996]. Dies spiegelt sich in den Verschreibungen von Antidepressiva wider, an denen Hypericumpräparate einen hohen Anteil haben [Fritze, 2003].

Eine wissenschaftliche Standardisierung erscheint daher wünschenswert. Bislang wurden Hypericumpräparate lediglich anhand ihres Trockengewichtes dosiert. Inzwischen konnte allerdings nachgewiesen werden, daß die Wirksamkeit von Hypericumpräparaten stark variiert. Sie wird von verschiedenen Faktoren wie die Herkunft der Samen, genetischen Faktoren und der Düngung mit Stickstoff bestimmt, die die Zusammensetzung von Hypericumpräparaten beeinflussen [Denke et al., 1999]. Die Bedeutung der einzelnen Inhaltsstoffe von *Hypericum perforatum* ist noch nicht vollständig geklärt. Hypericin und Hyperforin wurde in der Vergangenheit die antidepressive Hauptwirkung des Johanniskrautes zugeschrieben [Wagner et Blatt, 1994; Chatterjee et al., 1998a/b]. Eine wasserlösliche

Fraktion des Johanniskrauts (HYPWS), die weder Hypericin noch Hyperforin enthält, war jedoch in tierexperimentellen Depressionsmodellen auch antidepressiv wirksam [persönlich Kommunikation mit Dr. Chatterjee, Firma Schwabe, Karlsruhe].

Elektrophysiologische Untersuchungen ließen ebenfalls vermuten, daß HYPWS neuroaktive Bestandteile enthält. In der Elektrophysiologie gibt die Messung von fEPSP Aufschluß über die synaptische Übertragung. Eine PS-Messung gibt Hinweise auf die Integration eines synaptischen Signals in einen neuronalen Output [Langosch et al., 1998b]. Auswirkungen von Substanzen, die durch Interaktionen an Synapsen die neuronale Übertragung und Erregbarkeit modulieren, können so erfaßt werden.

In den bisherigen Untersuchungen konnte auf diese Weise eine exzitatorische Wirkung von *Hypericum perforatum* in der CA1 Region des Hippocampus nachgewiesen werden [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999]. Dies erscheint bemerkenswert, da eine solche Wirkung bei konventionellen Antidepressiva nicht bekannt ist. Einige von ihnen, wie zum Beispiel Trimipramin, führen sogar zu einer Verminderung der PS-Amplitude [Willner, 1984; Langosch et al., 1998a]. Weder Hypericin, das überhaupt nicht exzitatorisch wirksam war, noch Hyperforin, das nur einen leichten exzitatorischen Effekt zeigte, konnten diese *Hypericum*wirkung erklären [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999].

Im Gegensatz hierzu zeigte HYPWS eine deutliche exzitatorische Wirkung [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999]. Somit erscheint es unwahrscheinlich, daß Hyperforin und Hypericin die einzigen neuroaktiven Substanzen in *Hypericum*präparaten sind. Um dem Wirkmechanismus von HYPWS nachzugehen und eventuell seine antidepressive Wirkung zu erklären, wurde es in der vorliegenden Arbeit elektrophysiologisch näher untersucht.

HYPWS wurde im Niedrig-Magnesium-Modell der Epilepsie getestet. Dieses Modell erlaubt nicht nur Aussagen über die pro- oder antikonvulsive Wirksamkeit eines Präparates, sondern auch über eine Modulation des Ca^{2+} -Systems [Walden et Speckmann, 1988; Aicardi et Schwartzkroin, 1990] und über eine Beeinflussung von NMDA-Rezeptoren [Herron et al., 1985a; Pohl et al., 1992]. In dieser Studie erscheint vor allem die Modulation des Ca^{2+} -Systems interessant, da bei affektiven Störungen eine Beeinträchtigung der intra- und extrazellulären Kalziumhomöostase auftritt [Dubovsky, 1993; Bothwell et al., 1994]. In den Thrombozyten und Lymphozyten von Patienten mit bipolaren affektiven Störungen wurde eine Vermehrung von freien intrazellulären Kalziumionen festgestellt [van Calker et al., 1993; Dubovsky et al., 1994].

Dies könnte erklären, warum Kalziumkanalblockern wie Nimodipin, Nifedipin, Nitrendipin und Verapamil sowohl in Tiermodellen für Depression [Geoffroy et al., 1988; Czyrak et al., 1989] als auch in klinischen Fallstudien [Dubovsky, 1993; Walden et al., 1995] eine antidepressive Wirkung nachgewiesen werden konnte. Auch viele Substanzen, die zur Behandlung von affektiven Störungen eingesetzt werden, zeigen eine kalziummodulierende Wirkung, die wahrscheinlich zu ihrer therapeutischen Wirksamkeit beiträgt [Langosch et Walden, 1998]. Carbamazepin und Lamotrigin, die unter anderem zur Behandlung bipolarer affektiver Störungen eingesetzt werden [Okuma, 1983; Post et al., 1983; Walden et al., 1996; Erfurth et al., 1998], wirken durch die Blockade spannungsabhängiger Kalziumkanäle kalziumantagonistisch [Walden et al., 1992; Walden et al., 1993; von Wegerer et al., 1997]. Lithium beeinflusst viele kalziumabhängige Prozesse [Metzler, 1986]. So verstärkt es die membrangebundene Kalziumpumpe [Metzler, 1990], hemmt die Inositol-Monophosphatase nicht-kompetitiv [Fauroux et al., 1999] und reduziert die inhibitorische Wirkung von 5-HT auf die Adenylatcyclase [Mork et al., 1989]. TCA und Trimipramin wirken kalziumantagonistisch, indem sie die K^+ -stimulierte Ca^{2+} -Aufnahme in Synaptosomen hemmen [Beauchamp et al., 1992; Aronstam et al., 1985], Imipramin, indem es L-Typ-Kalziumkanäle blockiert [Choi et al., 1992]. Trimipramin wurde bereits im Niedrig-Magnesium-Modell getestet und führte zu einer Verminderung der fp-Rate. Ein additiver Effekt zeigte sich bei der gleichzeitigen Gabe einer unterschwelligen Konzentration des Kalziumkanalblockers Verapamil, nicht aber bei einer unterschwelligen Konzentration des NMDA-Antagonisten APV. Daraus wurde eine antagonistische Wirkung von Trimipramin auf L-Typ-Kalziumkanäle gefolgert [Langosch et al., 1998a]. Man nimmt an, daß die kalziumantagonistische Wirkung eine bedeutende Rolle bei der antidepressiven Wirksamkeit der TCA spielt [Dubovsky, 1993].

HYPWS 10^{-5} g/l zeigte im Niedrig-Magnesium-Modell eine leichte Erhöhung der fp-Rate, die statistisch nicht relevant war. Daraus läßt sich folgern, daß es weder eine kalziumantagonistische noch eine NMDA-antagonistische Potenz besitzt. Eine Beeinflussung der Ca^{2+} -Homöostase als Grundlage seiner antidepressiven Wirkung erscheint daher unwahrscheinlich. Es unterscheidet sich damit von den herkömmlichen Antidepressiva und unterstreicht die Theorie eines alternativen antidepressiven Wirkmechanismus.

Es kann somit keine antikonvulsive Wirkung angenommen werden. Es scheint im Gegenteil eher eine Zunahme der Feuerungsfrequenz in unserem Modell zu bewirken. Sie ist mit den bekannten exzitatorischen Eigenschaften vereinbar [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999]. Eine

mögliche Erklärung für die Frequenzzunahme könnte eine agonistische Wirkung auf L-Typ-Kalziumkanäle oder auf NMDA-Rezeptoren sein. Beides konnte nicht bestätigt werden: Die gemeinsame Gabe von HYPWS und dem organischen Kalziumkanalblocker Verapamil zeigte keinerlei Effekt auf die exzitatorische HYPWS-Wirkung [Zhou Inaugural Dissertation, 1999]. Auch die gemeinsame Gabe von Hypericum und dem NMDA-Antagonisten APV konnte keine Blockierung der Exzitation herbeiführen [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999].

Ob die beobachtete Frequenzzunahme einer tatsächlichen prokonvulsiven Wirkung entspricht, läßt sich daraus nicht folgern. Eine Senkung der Krampfschwelle ist als Nebenwirkung von Hypericumpräparaten bislang nicht beschrieben worden. Dieser eher erregende Effekt könnte eine der Ursachen für die – im Gegensatz zu anderen Antidepressiva – fehlende Sedation im Nebenwirkungsspektrum von Hypericumpräparaten sein. In einer Studie, die verschiedene Nebenwirkungen von Hypericum und Amitriptylin verglich, wurde nachgewiesen, daß es unter einer Hypericum-Therapie zu keiner Aktivitätssenkung, unter einer Amitriptylin-Therapie aber zu einer statistisch signifikanten Sedation der Testpersonen kam [Siepmann et al., 2002].

Des weiteren wurden die Auswirkungen von HYPWS auf die Langzeitpotenzierung (LTP) untersucht. LTP ist Ausdruck einer veränderten synaptischen Plastizität und einer gesteigerten synaptischen Wirksamkeit, die der Stimulation einer Synapse mit einem bestimmten Stimulationsmuster folgt [Dobrunz et Stevens, 1997]. Die Vermittlung von LTP erfolgt vor allem über NMDA-Rezeptoren [Katagiri et al., 2001; Malenka et al., 1993]. Das Testen von Substanzen mit LTP läßt daher unter anderem Aussagen über den Einfluß der Testsubstanz auf NMDA-Rezeptoren zu. LTP ist zudem ein weit verbreitetes und akzeptiertes Modell für Lernen und Gedächtnis [Bliss et Collingridge, 1993]. Die synaptische Plastizität scheint außerdem bei epileptogenen Mechanismen [Birnstiel et Haas, 1991; Mody, 1999; Nayak et Browning, 1999] sowie bei der Entstehung und dem Verlauf von affektiven Störungen [Post, 1992; Post et Weiss, 1996; Calabrese et al., 1998] wichtig zu sein.

Imipramin, Desipramin und Amitriptylin haben einen inhibitorischen Effekt auf LTP [Reynolds et Miller, 1988; Sernagor et al., 1989; Watanabe et al., 1993]. Dies spiegelt sich in einer durch diese Substanzen verursachten Einschränkung der Gedächtnisleistung wider: Amitriptylin und Imipramin führten in einer tierexperimentellen Studie zu statistisch signifikanten Gedächtniseinschränkungen [Kumar et al., 1996]. Eine Minderung der Gedächtnisleistung, die direkt auf eine Therapie mit TCA zurückzuführen ist, scheint bei

Patienten mit vorbestehender organischer Gehirnschädigung vermehrt aufzutreten [Cole et al., 1983]. Trimipramin zeigt einen inhibitorischen Effekt auf LTP [Langosch et Walden, 2002] und führt zu leichten Gedächtniseinschränkungen [Danion et al., 1990]. Die wiederholte Elektrokrampftherapie bewirkt ebenfalls eine LTP-Verminderung und eine Einschränkung des Lernvermögens [Stewart et Reid, 2000]. Fluoxetin führt zu einer Verminderung von LTP im Gyrus dentatus von Ratten nach einer vierzehntägigen Behandlungsdauer [Stewart et Reid, 2000]. In den meisten Studien konnte Fluoxetin allerdings keine Beeinträchtigung der kognitiven Funktionen nachgewiesen werden [Levkovitz et al., 2002; Stewart et Reid, 2000; Kumar et al., 1996]. Allerdings traten bei der Behandlung eines Jugendlichen mit Fluoxetin statistisch signifikante und nach Absetzen des Fluoxetins reversible Minderungen der Gedächtnisleistung auf [Bangs et al., 1994].

Der Einfluß von *Hypericum perforatum* selbst wie auch von seinen Komponenten Hypericin und Hyperforin auf LTP wurde bereits geprüft. Es konnten keine signifikanten Auswirkungen festgestellt werden [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999].

HYPWS 10^{-4} g/l zeigte im Vergleich zur Kontrolle eine leichte Verstärkung der LTP bei der PS-Potenzierung und eine leichte Verminderung der LTP bei der fEPSP-Potenzierung. Beide Auswirkungen waren statistisch nicht signifikant. Es kann also keine über den NMDA-Rezeptor vermittelte Komponente der gefundenen Exzitation von PS und fEPSP angenommen werden, sowie eine antagonistische Wirkung auf den NMDA-Rezeptor ausgeschlossen werden. Diese Folgerungen decken sich mit den Ergebnissen der HYPWS-Versuche im Niedrig-Magnesium-Modell, die einen Antagonismus für NMDA-Rezeptoren unwahrscheinlich erscheinen ließen. Sie unterstützen außerdem die Ergebnisse der Kombinationsversuche von *Hypericum* mit APV. Diese ließen keinen agonistischen Einfluß auf NMDA-Rezeptoren als Ursache der exzitatorischen *Hypericum*-Wirkung vermuten [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999].

Die leichte Erhöhung der LTP bei der PS-Potenzierung läßt sich vielleicht mit der von uns nachgewiesenen agonistischen Wirkung von HYPWS auf AMPA-Rezeptoren erklären. AMPA-Rezeptoren spielen bei der LTP-Entstehung eine Rolle, auch wenn diese nicht so bedeutend ist wie die Rolle der NMDA-Rezeptoren. Dies würde zu der nur leichten, statistisch nicht signifikanten Erhöhung der PS-Potenzierung durch HYPWS passen. Eine andere mögliche Erklärung könnte ein noch nicht vollständig abgeschlossener „developmental shift“ in den Gehirnen der noch jungen Meerschweinchen sein. Bei diesem „developmental shift“ handelt es sich um eine Verschiebung der tragenden Rolle für LTP von AMPA-

Rezeptoren im neonatalen Gehirn zu NMDA-Rezeptoren im adulten Gehirn [Grosshans et al., 2002]. So könnte den AMPA-Rezeptoren in den Gehirnen der Versuchstiere durchaus noch eine gewisse, wenn auch kleine Rolle in der LTP-Entstehung zukommen. Dieser Einfluß könnte durch die AMPA-agonistische Wirkung von HYPWS verstärkt werden.

Die Frage, welche unterschiedliche Bedeutung der PS- beziehungsweise fEPSP-Potenzierung bei den LTP-Versuchen zukommt, ist nicht geklärt. Eine Deutung der gegensätzlichen Ergebnisse erscheint deshalb schwierig. Da aber beide Auswirkungen statistisch nicht signifikant sind, könnten sie zufälligen Abweichungen entsprechen.

Es bleibt aber zu beachten, daß in der Versuchsanordnung eine Anpassungsregulierung des elektrischen Stimulus vorgenommen wurde. Die exzitatorische HYPWS-Wirkung wurde durch Verkleinerung des elektrischen Stimulus ausgeglichen, so daß die Amplitude unter HYPWS-Gabe der Ausgangsamplitude entsprach. Ohne diese Regulierung hätte HYPWS möglicherweise eine signifikant verstärkende Wirkung auf LTP gezeigt, da das allgemeine Niveau erhöht gewesen wäre. Mit der Anpassungsregulierung wurde sichergestellt, daß eventuelle Auswirkungen auf LTP tatsächlich auf einer Beeinflussung des NMDA-Rezeptors beruhen. Da wir uns die Aufklärung des exzitatorischen Wirkmechanismus von HYPWS zum Ziel gesetzt hatten, war der Nachweis einer NMDA-agonistischen oder NMDA-antagonistischen Wirkung für uns entscheidender als der Nachweis einer LTP-Verstärkung durch HYPWS.

Die Bedeutung einer Verstärkung von LTP ist nicht bekannt. Da LTP als Modell für Lernen und Gedächtnis anerkannt ist, könnte man bei Substanzen, die zu einer LTP-Verstärkung führen, einen nootropen Effekt vermuten. So wurde eine Verstärkung von LTP bei 4-Aminopyridin festgestellt [Lee et al., 1986]. 4-Aminopyridin erhöht das Kurzzeitgedächtnis von alten Ratten [Barnes et al., 1989], verstärkt das Lernvermögen von Mäusen [Vanover et Barrett, 1998] und zeigt im Vergleich zu Piracetam eine starke antiamnestische Wirkung [Andreani et al., 2000]. Die LTP-Verstärkung durch 4-Aminopyridin ließ sich auf einen erhöhten Ca^{2+} -Einstrom zurückführen [Lee et al., 1986]. Dieser Mechanismus erscheint bei HYPWS auf Grund der Ergebnisse in den Niedrig-Magnesium-Versuchen unwahrscheinlich. Hypericumpräparate scheinen allerdings dennoch eine nootrope Wirksamkeit zu haben. In tierexperimentellen Untersuchungen zeigte es nootrope Eigenschaften [Khalifa, 2001, Klusa et al., 2001], die mit der Wirkung von Piracetam vergleichbar waren [Kumar et al., 2002, Kumar et al., 2000]. Nach einer langfristigen Therapie von Ratten mit *Hypericum perforatum* zeigte sich eine Verbesserung von Lern- und Gedächtnisleistungen, die mit einer erhöhten

Monoaminkonzentration in verschiedenen Hirnregionen korrelierte [Widy-Tyszkiewicz et al., 2002]. Bei gesunden Testpersonen konnte nach Gabe von *Hypericum perforatum* allerdings kein nootroper Effekt nachgewiesen werden [Ellis et al., 2001]. Das Auftreten von kognitiven Störungen unter HYPWS-Gabe ist jedenfalls nach der Interpretation dieser Ergebnisse als unwahrscheinlich zu bewerten. Vielmehr erscheint es möglich, daß *Hypericum*präparate vor allem bei Patienten mit vorbestehenden kognitiven Störungen eine nootrope Wirksamkeit zeigen.

Die exzitatorische Wirksamkeit von HYPWS ist für ein Antidepressivum sehr ungewöhnlich. Um den Wirkmechanismus dieser Exzitation zu entschlüsseln, wurde es in Kombination mit mehreren Antagonisten getestet. Einer der möglichen Angriffspunkte für Substanzen, die eine Exzitation im Hippocampus bewirken, ist die agonistische Wirkung an Glutamatrezeptoren auf der postsynaptischen Seite des synaptischen Spaltes [Collingridge et al., 1983]. Daher wurde eine mögliche agonistische Wirkung von HYPWS an den unterschiedlichen Typen von Glutamatrezeptoren untersucht.

Die Vermittlung der Exzitation durch einen NMDA-Agonismus von HYPWS erschien nach den Ergebnissen der LTP- und der Niedrig-Magnesium-Versuche unwahrscheinlich. Die Kombinationsversuche von *Hypericum* mit den NMDA-Antagonisten APV und MK-801 ließen ebenfalls keinen Agonismus von *Hypericum perforatum* mit NMDA-Rezeptoren vermuten [Zhou, Inaugural Dissertation, 1999]. Da HYPWS für die exzitatorische Wirkung von *Hypericum perforatum* verantwortlich zu sein scheint, ist somit auch keine Inhibition seiner exzitatorischen Wirkung durch eine Kombination mit APV oder MK-801 zu erwarten. In Kombinationsversuche von HYPWS mit dem metabotropen Glutamatrezeptorantagonisten MCPG wurde ebenfalls keine Inhibition der exzitatorischen Wirkung von HYPWS gefunden [Langosch et al., 2002].

Der AMPA-Antagonist CNQX hingegen konnte den exzitatorischen Effekt von HYPWS komplett inhibieren. Es erscheint also wahrscheinlich, daß die Exzitation über AMPA-Rezeptoren vermittelt wird. AMPA-Rezeptoren können über Proteinkinasen moduliert werden. Eine Aktivierung der Proteinkinase C kann zu einer erhöhten Sensitivität des AMPA-Rezeptors für Glutamat führen [Wang et al., 1991]. Allerdings werden diese Kinasen nachweislich von *Hypericum*extrakten geblockt [Cott, 1997; Cott et Fugh-Berman, 1998], so daß dieser Mechanismus unwahrscheinlich erscheint. Die Sensitivität des AMPA-Rezeptors kann aber auch durch die Kalzium/Kalmodulin-abhängige Proteinkinase II gesteigert werden [McGlade-McCulloh et al., 1993]. Eine andere Möglichkeit der Modulation besteht in der

Bindung von Proteinen wie NSF, AFB, GRIP und PICK1 an die GLU(A2)-Untereinheit des AMPA-Rezeptors [Collingridge et Isaac, 2003]. Bislang gibt es jedoch noch keine Hinweise darauf, daß Hypericum die Proteinkinase II moduliert oder einen Einfluß auf die Expression dieser Proteine hat. Die Modulationsweise ist somit noch nicht nachgewiesen, jedoch erscheint eine Modulation über intrinsische Aktivitäten wahrscheinlich.

Eine agonistische Wirkung auf AMPA-Rezeptoren durch andere Antidepressiva ist bislang nicht bekannt. Eine chronische Therapie mit Desipramin beziehungsweise Paroxetin führte allerdings zu einer erhöhten Membranexpression von AMPA-Rezeptoren [Martinez-Turrillas et al., 2002]. Die AMPA-Rezeptor potenzierende Substanz LY392098 hatte in tierexperimentellen Depressionsmodellen eine antidepressive Wirksamkeit [Li et al., 2001]. In einer unterschwelligen Dosierung bewirkte LY392098 im forcierten Schwimmtest mit Ratten eine Potenzierung der antidepressiven Wirksamkeit von SSRI, SNRI, TCA und Risperidon. Umgekehrt potenzierten auch unterschwellige Dosen der traditionellen Antidepressiva die antidepressive Wirksamkeit von LY392098 [Li et al., 2003]. Die AMPA-agonistische Wirkung von HYPWS könnte also dessen antidepressive Wirksamkeit erklären. Zudem könnte es in Kombination mit traditionellen Antidepressiva deren antidepressive Wirksamkeit potenzieren, vielleicht auch zu einem früheren Wirkungseintritt der Antidepressiva führen. Hyperforin steigert die Glutamat-Konzentration zusätzlich [Kaehler et al., 1999]. Eine mögliche Erklärung könnte ein verminderter Abbau von Glutamat sein. Hypericum hemmt die streß-induzierten Glutamatdecarboxylase und somit die Umwandlung von Glutamat zu GABA [Butterweck et al., 2001]. Im Gesamtextrakt könnte also die Erhöhung der Glutamatkonzentration durch Hyperforin die AMPA-agonistische Wirkung von HYPWS verstärken und so dessen antidepressive Wirksamkeit potenzieren.

Eine Exzitation kann durch inhibitorische Interneurone moduliert werden. Der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter im ZNS ist GABA. Die GABA-Rezeptoren lassen sich in drei Hauptgruppen unterteilen: GABA_A-, GABA_B- und GABA_c-Rezeptoren. Im Hippocampus scheinen jedoch nur GABA_A- und GABA_B-Rezeptoren eine Rolle zu spielen [Chebib et Johnston, 1999]. GABA_A-Rezeptoren sind ligandengesteuerte Rezeptoren, die vor allem auf der postsynaptischen Seite des synaptischen Spaltes gefunden werden. GABA_B-Rezeptoren hingegen sind an G-Proteine gebunden und finden sich sowohl auf der postsynaptischen als auch auf der präsynaptischen Seite. Eine Aktivierung des präsynaptischen GABA_B-Rezeptors bewirkt eine verminderte Neurotransmitter-Freisetzung aus der Nervenendigung.

Die exzitatorische Wirkung einer Substanz kann durch einen agonistischen Einfluß auf erregende Rezeptorsysteme und durch einen antagonistischen Einfluß auf inhibitorische Rezeptorsysteme zustande kommen. Um einen antagonistischen Einfluß von HYPWS auf das inhibitorische GABA-System zu überprüfen, wurde HYPWS in Kombination mit Schwellenkonzentrationen von GABA-Antagonisten gegeben. Eine Potenzierung der exzitatorischen HYPWS-Wirkung durch GABA-Antagonisten läßt auf eine GABA-antagonistische Wirksamkeit von HYPWS schließen.

Die HYPWS-Exzitation konnte durch die gleichzeitige Gabe von GABA-Antagonisten vergrößert werden. Die Kombination von HYPWS mit dem GABA_A-Antagonisten Bicucullin führte zu einer leichten Erhöhung der exzitatorischen Wirkung von HYPWS. Diese war statisch nicht signifikant. Die Gabe von HYPWS mit dem GABA_B-Antagonisten Phaclofen erhöhte die HYPWS-Exzitation hingegen signifikant. Somit kann angenommen werden, daß HYPWS vor allem auf GABA_B-Rezeptoren antagonistisch wirkt. Eine inhibitorische Wirkung auf GABA-Rezeptoren wurde für Hypericumextrakte bereits beschrieben [Cott, 1997]. Es konnte eine moderate Affinität zu GABA_A- und GABA_B-Rezeptoren nachgewiesen werden [Cott, 1997]. Die antagonistische Wirkung von HYPWS auf GABA-Rezeptoren könnte die Ursache der Up-Regulierung von GABA-Rezeptoren [Muruganandam et al., 2000] unter Hypericum-Gabe sein. Es ist vorstellbar, daß eine Anpassungsreaktion auf die HYPWS-vermittelte GABA-Blockade diese Rezeptor-Up-Regulierung hervorruft. Auch andere Antidepressiva führen zu einer Up-Regulierung von GABA-Rezeptoren, vor allem von GABA_B-Rezeptoren. Antidepressiva aller Gruppen unterdrücken die Aktivität von präsynaptischen 5-HT₃-Rezeptoren an GABA-Neuronen und führen so zu einer Reduktion der GABA-Freisetzung. Die Abschwächung der GABA-vermittelten Neurotransmission führt zur Vermehrung der GABA_B-Rezeptoren [Nakawaga et Ishima, 2003]. Die klinische Bedeutung einer Up-Regulierung von GABA_B-Rezeptoren ist noch unbekannt.

Eine Inhibition des präsynaptischen GABA_B-Rezeptors führt zu einer vermehrten Freisetzung von Neurotransmittern. Somit wird unter anderem auch Glutamat verstärkt freigesetzt. Dies könnte die AMPA-agonistischen Wirksamkeit verstärken und eine weitere Erklärung für die erhöhte Glutamatkonzentration nach Hypericum-Gabe sein. Die unter Phaclofen-Gabe beobachtete signifikante Verstärkung der HYPWS-Exzitation könnte also durch die Erhöhung der Glutamt-Konzentration bedingt sein. Um diese Hypothese zu überprüfen wurde HYPWS mit CNQX und Phaclofen gegeben. Der beobachtete Effekt unter Phaclofen-Gabe konnte durch Beimischung von CNQX komplett inhibiert werden. Es erscheint also wahrscheinlich, daß HYPWS den exzitatorischen Effekt über eine Aktivierung von AMPA-Rezeptoren

bewirkt, die durch eine erhöhte Glutamat-Konzentration verstärkt wird. Die erhöhte Glutamatkonzentration wird durch eine Blockade von GABA_B-Rezeptoren erreicht. Dieser Wirkmechanismus könnte auch die antidepressive Wirkung von HYPWS erklären.

Ethanol wirkt ebenfalls auf diese beiden Rezeptorsysteme, wobei es allerdings eine entgegengesetzte Wirkung zeigt: es wirkt agonistisch auf GABA-Rezeptoren und hemmt die AMPA-Feuerungsrate im Locus coeruleus [Fröhlich et al., 1994]. Dies könnte vielleicht eine Erklärung dafür sein, daß Hypericumpräparate den Alkoholkonsum in Versuchen mit genmanipulierten, alkohol-bevorzugenden Ratten signifikant vermindern [Rezvani et al., 1999; De Vry et al., 1999]. Der Blutalkoholspiegel wird von Hypericumpräparaten nicht beeinflusst. Daher erscheint es unwahrscheinlich, daß der verminderte Alkoholkonsum durch Hypericumpräparate über Veränderungen der Ethanol-Pharmakokinetik hervorgerufen wird [Perfumi et al., 1999]. Ein GABA-agonistischer Einfluß von Hypericum als Wirkmechanismus des verminderten Alkoholkonsums konnte ausgeschlossen werden [Perfumi et al., 2002]. Es wäre also vorstellbar, daß Hypericumpräparate durch die entgegengesetzte Wirkung von HYPWS auf AMPA- und GABA-Rezeptoren die Wirkung von Ethanol aufheben und so den Alkoholkonsum unattraktiv machen. Wahrscheinlich führen im Gesamtextrakt noch andere Wirkmechanismen zu einer Hemmung des Alkoholkonsums. Denn auch Hyperforin, welches in HYPWS nicht enthalten ist, bewirkt einen verminderten Alkoholkonsum [Perfumi et al., 2001]. Die Alkoholkonsum-hemmende Eigenschaft von Hypericumpräparaten könnte bei der Behandlung von Alkoholismus von Nutzen sein. Da Alkoholabhängigkeit und Depression häufig kombiniert auftreten, ist es vorstellbar, daß Hypericumpräparate für diesen Patientenkreis eine sehr effektive Behandlung darstellen. Umgekehrt könnte Alkoholgenuß während einer Therapie mit Hypericumpräparaten die antidepressive Wirksamkeit abschwächen. Studien zu dieser Fragestellung liegen derzeit nicht vor. Es ist zu erwägen, Patienten auf diese mögliche Interaktion hinzuweisen und von der Zufuhr größerer Alkoholmengen während der Therapie mit Johanniskrautpräparaten abzuraten.

Die inhibitorische Wirksamkeit von HYPWS auf den GABA_B-Rezeptor hat nicht nur eine vermehrte Freisetzung von Glutamat, sondern auch eine vermehrte GABA-Freisetzung zur Folge. Diese indirekte GABAerge Wirkung von HYPWS könnte zu seiner antidepressiven Wirkung beitragen. Denn sowohl das GABAerge wirksame Mittel Fengabin [Lloyd et al., 1987; Aley et al., 1988; Nielsen et al., 1990] als auch die GABA-agonistisch wirksamen

Benzodiazepine [Petty et al., 1995b] entfalten eine antidepressive Wirkung. Die Plasma-GABA-Spiegel sind bei Patienten mit bipolaren affektiven Störungen erniedrigt [Petty et al., 1981; Bjork et al., 2001]. Die Plasma-GABA-Spiegel sind unabhängig vom klinischen Zustand der Patienten. Daher wurden niedrige Plasma-GABA-Spiegel als biologischer Marker für Gemütskrankheiten diskutiert [Petty et al., 1990; Petty et al. 1995a]. Weitere Untersuchungen haben ergeben, daß der GABA-Plasma-Spiegel genetisch reguliert ist [Petty et al., 1999, Bjork et al., 2001]. Das GABA-System scheint also von großer Bedeutung bei bipolaren affektiven Störungen. Allerdings erscheint es unwahrscheinlich, daß der GABAergen HYPWS-Wirkung eine tragende Rolle in der antidepressiven Wirkung von HYPWS zufällt. Denn zum einen bewirkt HYPWS zwar eine vermehrte GABA-Freisetzung, auf der anderen Seite wirkt es jedoch hemmend auf die postsynaptischen GABA-Rezeptoren. Dabei ist die Hemmung der GABA_B-Rezeptor signifikant und die Hemmung der GABA_A-Rezeptor etwas schwächer ausgeprägt. Es ist anzunehmen, daß HYPWS somit zwar zu einer erhöhten GABA-Konzentration im synaptischen Spalt führt, diese aber nur in einer abgeschwächten GABAergen Wirkung resultiert. Dies kommt auch in der insgesamt exzitatorischen Wirkung von HYPWS zum Ausdruck.

Die Inhibition des GABA_B-Rezeptors durch HYPWS könnte außerdem die nootrope Wirksamkeit von Hypericumpräparaten erklären. Der GABA_B-Rezeptor scheint bei den kognitiven Funktionen Wiedererkennen und Gedächtnis eine Rolle zu spielen. Während der GABA_B-Rezeptor-Agonist Baclofen die Gedächtnisleistung minderte, konnte der GABA_B-Rezeptor-Antagonisten CGP 35348 dieses Defizit aufheben [Pitsikas et al., 2003]. So könnte die nootrope Wirksamkeit von Hypericumpräparaten [Khalifa, 2001; Kumar et al., 2002] ohne Beeinflussung des Ca²⁺-Systems und des NMDA-Rezeptors erklärt werden. Der Wirkmechanismus könnte auch begründen, warum bei gesunden Testpersonen kein nootroper Effekt nachgewiesen werden konnte [Ellis et al., 2001]. Er unterstreicht vielmehr die These, daß Hypericumpräparate vor allem bei Patienten mit vorbestehenden kognitiven Störungen eine nootrope Wirkung zeigen könnten.

Die exzitatorische Wirkung des Hypericumextraktes ist also wahrscheinlich auf dessen wasserlöslichen Fraktion HYPWS zurückzuführen. Der exzitatorische Wirkmechanismus läßt sich nach diesen Ergebnissen mit einer agonistischen Wirkung auf AMPA-Rezeptoren erklären, die durch eine erhöhte Glutamatkonzentration verstärkt wird. Die Erhöhung der Glutamatkonzentration ist auf eine Blockierung von GABA_B-Rezeptoren zurückzuführen.

Dieser Mechanismus bietet auch eine mögliche Erklärung für die nachgewiesene antidepressive Wirksamkeit von HYPWS und könnte die hemmende Hypericum-Wirkung auf den Alkoholkonsum erklären. Die antagonistische Wirkung auf den GABA_B-Rezeptor könnte außerdem die nootrope Wirksamkeit von Hypericumpräparaten begründen sowie die antidepressive Wirkung durch eine indirekte GABAerge Komponente unterstützen.

Hypericin und Hyperforin sind somit nicht die einzigen neuroaktiven Bestandteile des Hypericumextraktes. Die wasserlöslichen Bestandteile des Hypericumextraktes sollten daher bei der Standardisierung von Hypericumpräparaten berücksichtigt werden. Eine nähere Untersuchungen der einzelnen Bestandteile von HYPWS wäre wünschenswert und würde eine exaktere Standardisierung von Hypericumpräparaten erlauben. Dies könnte eine festgelegte Zusammensetzung der Präparate ermöglichen und somit den Präparaten eine konstantere Wirksamkeit verleihen. Die Dosierung von Hypericumpräparaten wäre dadurch verlässlicher möglich. Bei der Synthetisierung von Hypericumpräparaten könnte bei genauer Kenntnis der Wirksamkeit der einzelnen Bestandteile versucht werden, nur die antidepressiv wirksamen Bestandteile zu nutzen und andere, nicht-antidepressiv wirksame Inhaltsstoffe zu eliminieren. Dadurch könnten möglicherweise Nebenwirkungen und Interaktionen mit anderen Substanzen vermindert werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Eine wasserlösliche Fraktion von *Hypericum perforatum* (HYPWS), die weder Hypericin noch Hyperforin enthält, zeigte exzitatorische Eigenschaften und war in tierexperimentellen Depressionsmodellen antidepressiv wirksam. Die elektrophysiologische Untersuchung des Wirkmechanismus von HYPWS und sein Verhalten im Niedrig-Magnesium-Modell sowie auf LTP sind Inhalt dieser Arbeit. Die Untersuchungen wurden an hippocampalen Gewebsschnitten von Meerschweinchen vorgenommen.

Im Niedrig-Magnesium-Modell führte HYPWS zu einer nicht signifikanten Erhöhung der Feuerungsrate. Die eher erregende Wirkung von HYPWS im Niedrig-Magnesium-Modell paßt zu der nachgewiesenen exzitatorischen HYPWS-Wirkung.

Auch auf LTP hatte HYPWS keinen signifikanten Einfluß. Allerdings wurde eine Anpassungsregulierung im Versuchsablauf vorgenommen, ohne die eventuell eine signifikante LTP-Erhöhung zu beobachten gewesen wäre. Dies wäre mit der nachgewiesenen nootropen Wirkung von Hypericumpräparaten vereinbar.

Durch Kombinationsversuche mit Antagonisten konnte die Ursache der exzitatorischen Wirkung von HYPWS geklärt werden. Die exzitatorische HYPWS-Wirkung wurde durch den AMPA-Rezeptor-Antagonisten CNQX komplett aufgehoben. Der GABA_A-Rezeptor-Antagonist führte zu einer leichten, statistisch nicht signifikanten Verstärkung der exzitatorischen HYPWS-Wirkung. Der GABA_B-Rezeptor-Antagonist Phaclofen bewirkte hingegen eine signifikante Verstärkung. Dieser Effekt konnte durch CNQX komplett inhibiert werden. Daraus läßt sich folgern, daß die Exzitation durch eine agonistische Wirkung auf AMPA-Rezeptoren erzeugt und durch eine erhöhte Glutamatkonzentration im synaptischen Spalt verstärkt wird. Die erhöhte Glutamatkonzentration wird durch die Blockierung der GABA_B-Rezeptoren erreicht. Dieser Mechanismus erklärt nicht nur die Exzitation, sondern kann auch die antidepressive Wirkung von HYPWS erklären. Die antidepressive Wirkung wird wahrscheinlich durch ein indirekte GABAerge Komponente unterstützt.

6 LITERATUR

- Adamec, R. E.** (1991). Partial kindling of the ventral hippocampus: identification of changes in limbic physiology which accompany changes in feline aggression and defense. *Physiol Behav*, 49, 443-53.
- Aicardi, G. et Schwartzkroin, P. A.** (1990). Suppression of epileptiform burst discharges in CA3 neurons of rat hippocampal slices by the organic calcium channel blocker, verapamil. *Exp Brain Res*, 81, 288-96.
- Aley, K.O., Kulkarni S.K.,** (1988). Studies on the neuropsychopharmacological profile of fenganbine (SL 79229) in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 10(9):563-8.
- Alhassan, A.** (2000). Interactions between St John's wort and Prescribed Medicines. *The University College London Hospitals*.
- Andreani, A., Leoni, A., Locatelli, A., Morigi, R., Rambaldi, M., Pietra, C., Villetti, G.** (2000). 4-Aminopyridine derivatives with anti-amnesic activity. *Eur J Med Chem*, 35(1):77-82.
- Aronstam, R.S., Hoss, W.** (1985). Tricyclic antidepressant inhibition of depolarization-induced uptake of calcium by synaptosomes from rat brain. *Biochem Pharmacol*, 34:902-904.
- Artola, A. et Singer, W.** (1993). Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation. *Trends Neurosci*, 16, 480-7.
- Baker, G. B. et Greenshaw, A. J.** (1989). Effects of long-term administration of antidepressants and neuroleptics on receptors in the central nervous system. *Cell Mol Neurobiol*, 9, 1-44.
- Bangs, M.E., Petti, T.A., Janus, M.D.** (1994). Fluoxetine-induced memory impairment in an adolescent. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 33(9):1303-6.
- Barnes, C.A., Eppich, C., Rao, G.** (1989). Selective improvement of aged rat short-term spatial memory by 3,4-diaminopyridine. *Neurobiol Aging*, 10(4):337-41.
- Bear, M.F., Malenka, R.C.** (1994). Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol*, 4(3):389-99.
- Beauchamp, G., Lavoie, P. A. et Elie, R.** (1992). Effect of trimipramine on depolarization-induced and Na(+)-Ca²⁺ exchange-induced ⁴⁵calcium uptake in synaptosomes from the cortex of the rat brain. *Neuropharmacology*, 31, 229-34.
- Beaumont, G.** (1989). The toxicity of antidepressants. *Br J Psychiatry*, 154, 454-8.
- Beer, M., Hacker, S., Poat, J. et Stahl, S. M.** (1987). Independent regulation of beta 1- and beta 2-adrenoceptors. *Br J Pharmacol*, 92, 827-34.

- Behnke, K., Jensen, G.S., Graubaum, H.J., Gruenwald, J.** (2002). Hypericum perforatum versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression. *Adv. Ther.* 19(1):43-52.
- Bhattacharya, S. K., Chakrabarti, A. et Chatterjee, S. S.** (1998). Activity profiles of two hyperforin-containing hypericum extracts in behavioral models. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 1, 22-9.
- Bingmann, D. et Speckmann, E. J.** (1989). Specific suppression of pentylenetetrazol-induced epileptiform discharges in CA3 neurons (hippocampal slice, guinea pig) by the organic calcium antagonists flunarizine and verapamil. *Exp Brain Res*, 74, 239-48.
- Birnstiel, S. et Haas, H. L.** (1991). Anticonvulsants do not suppress long-term potentiation (LTP) in the rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 122, 61-3.
- Bjork, J.M., Moeller, F.G., Kramer, G.L., Kram, M., Suris, A., Rush, A.J., Petty, F.** (2001). Plasma GABA levels correlate with aggressiveness in patients with relatives of patients with unipolar depressive disorders. *Psychiatry Res*, 101(2):131-6.
- Bladt, S. et Wagner, H.** (1994). Inhibition of MAO by fractions and constituents of hypericum extract. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7 Suppl 1, S57-9.
- Bliss, T. V. et Collingridge, G. L.** (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31-9.
- Bliss, T. V. et Lomo, T.** (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*, 232, 331-56.
- Bortolotto, Z. A., Bashir, Z. I., Davies, C. H. et Collingridge, G. L.** (1994). A molecular switch activated by metabotropic glutamate receptors regulates induction of long-term potentiation. *Nature*, 368, 740-3.
- Bothwell, R. A., Eccleston, D. et Marshall, E.** (1994). Platelet intracellular calcium in patients with recurrent affective disorders. *Psychopharmacology (Berl)*, 114, 375-81.
- Bowery, N. G., Doble, A., Hill, D. R., Hudson, A. L., Shaw, J. S., Turnbull, M. J. et Warrington, R.** (1981). Bicuculline-insensitive GABA receptors on peripheral autonomic nerve terminals. *Eur J Pharmacol*, 71, 53-70.
- Brenner, R., Azbel, V., Madhusoodanan, S. et Pawlowska, M.** (2000). Comparison of an extract of hypericum (LI 160) and sertraline in the treatment of depression: a double-blind, randomized pilot study. *Clin Ther*, 22, 411-9.
- Butterweck, V., Wall, A., Lieflander-Wulf, U., Winterhoff, H. et Nahrstedt, A.** (1997). Effects of the total extract and fractions of Hypericum perforatum in animal assays for antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 117-24.

- Butterweck, V., Wall, A., Lieflander-Wulf, U., Winterhoff, H. et Nahrstedt, A.** (1998). Tierexperimentelle Untersuchungen zur antidepressiven Aktivität eines Gesamtextraktes sowie von Fraktionen aus *Hypericum perforatum* L., *Psychopharmakotherapie*, 8:56-63.
- Butterweck, V., Winterhoff, H., Herkenham, M.** (2001). St John's wort, hypericin, and imipramine: a comparative analysis of mRNA levels in brain areas involved in HPA axis control following short-term and long-term administration in normal and stressed rats. *Mol Psychiatry*, 6(5):547-64.
- Butterweck, V., Christoffel, V., Nahrstedt, A., Petereit, F., Spengler, B., Winterhoff, H.** (2003). Step by step removal of hyperforin and hypericin: activity profile of different *Hypericum* preparations in behavioral models. *Life Sci.*, 73(5), 627-39.
- Calabrese, J. R., Rapport, D. J., Shelton, M. D., Kujawa, M. et Kimmel, S. E.** (1998). Clinical studies on the use of lamotrigine in bipolar disorder. *Neuropsychobiology*, 38, 185-91. PS et action=render et rendertype=fulltext et uid=NPS.nps38185.
- Calapai, G., Crupi, A., Firenzuoli, F., Costantino, G., Inferrera, G., Campo, G. M. et Caputi, A. P.** (1999). Effects of *Hypericum perforatum* on levels of 5-hydroxytryptamine, noradrenaline and dopamine in the cortex, diencephalon and brainstem of the rat. *J Pharm Pharmacol*, 51, 723-8.
- Chatterjee, S. S., Bhattacharya, S. K., Wonnemann, M., Singer, A. et Muller, W. E.** (1998a). Hyperforin as a possible antidepressant component of hypericum extracts. *Life Sci*, 63, 499-510.
- Chatterjee, S. S., Noldner, M., Koch, E. et Erdelmeier, C.** (1998b). Antidepressant activity of hypericum perforatum and hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 1, 7-15.
- Chebib, M. et Johnston, G. A.** (1999). The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 26, 937-40.
- Choi, J. J., Huang, G. J., Shafik, E., Wu, W. H. et McArdle, J. J.** (1992). Imipramine's selective suppression of an L-type calcium channel in neurons of murine dorsal root ganglia involves G proteins. *J Pharmacol Exp Ther*, 263, 49-53.
- Coan, E. J. et Collingridge, G. L.** (1985). Magnesium ions block an N-methyl-D-aspartate receptor-mediated component of synaptic transmission in rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 53, 21-6.
- Cole, J.O., Branconnier, R., Salomon, M., Dessain, E.** (1983). Tricyclic use in the cognitively impaired elderly. *J Clin Psychiatry*, 44(9 Pt 2):14-9.

- Collingridge, G. L., Kehl, S. J. et McLennan, H.** (1983). Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J Physiol*, 334, 33-46.
- Collingridge, G. L., Isaac, J.T.** (2003). Functional roles of protein interactions with AMPA and kainate receptors. *Neurosci Res*, 47(1):3-15.
- Cookson, J.** (1993). Side-effects of antidepressants. *Br J Psychiatry Suppl*, 20-4.
- Cott, J. M.** (1997). In vitro receptor binding and enzyme inhibition by *Hypericum perforatum* extract. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 108-12.
- Cott, J. M. et Fugh-Berman, A.** (1998). Is St. John's wort (*Hypericum perforatum*) an effective antidepressant? *J Nerv Ment Dis*, 186, 500-1.
- Cronquist, A.** (1988). The Evolution and Classification of Flowering Plants. *Bronx NY: The New York Botanical Garden*.
- Curtis, D. R., Duggan, A. W., Felix, D. et Johnston, G. A.** (1970). GABA, bicuculline and central inhibition. *Nature*, 226, 1222-4.
- Czekalla, J., Gastpar, M., Hubner, W. D. et Jager, D.** (1997). The effect of hypericum extract on cardiac conduction as seen in the electrocardiogram compared to that of imipramine. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 86-8.
- Czyrak, A., Mogilnicka, E. et Maj, J.** (1989). Dihydropyridine calcium channel antagonists as antidepressant drugs in mice and rats. *Neuropharmacology*, 28, 229-33.
- Danion, J.M., Zimmermann, M.A., Willard-Schroeder, D., Grange, D., Welsch, M., Imbs, J.L., Singer, L.** (1990). Effects of scopolamine, trimipramine and diazepam on explicit memory and repetition priming in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 102(3):422-4.
- Denke, A., Schneider, W., Elstner, E.F.** (1999). Biochemical Activities of Extracts from *Hypericum perforatum* L.: 2nd Communication: Inhibition of met-enkephalin- and tyrosine-dimerization. *Arzenimittel-Forschung/Drug research*, 49(1), 2, 109-114.
- Denke, A., Schrempp, H., Mann, E., Schneider, W., Elstner, E.F.** (1999). Biochemical Activities of Extracts from *Hypericum perforatum* L.: 4th Communication: Influence of different cultivation methods. *Arzenimittel-Forschung/Drug research*, 49(1), 120-125.
- de Montigny, C. et Aghajanian, G. K.** (1978). Tricyclic antidepressants: long-term treatment increases responsivity of rat forebrain neurons to serotonin. *Science*, 202, 1303-6.
- Dentino, A.N., Pieper, C.F., Rao, M.K., Currie, M.S., Harris, T., Blazer, D.G., Cohen, H.J.** (1999). Association of interleukin-6 and other biologic variables with depression in older people living in community. *J Am Geriatr Soc*, 47(9):1161.

- De Vry, J., Maurel, S., Schreiber, R., de Breun, R., Jentsch, K.R.** (1999). Comparison of hypericum extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. *Eur Neuropharmacol*, 9(6):461-8.
- Di Matteo, V., Di Giovanni, G., Di Mascio, M. et Esposito, E.** (2000). Effect of acute administration of hypericum perforatum-CO₂ extract on dopamine and serotonin release in the rat central nervous system. *Pharmacopsychiatry*, 33, 14-8.
- Dimpfel, W. et Schombert, L.** (1997). Central action of hyperici herba cum flore extractum siccum in freely moving rats. *Eur J Med Res*, 2, 491-6.
- Dimpfel, W., Todorova, A. et Vonderheid-Guth, B.** (1999). Pharmacodynamic properties of St. John's wort-A single blind neurophysiological study in healthy subjects comparing two commercial preparations. *Eur J Med Res*, 4, 303-12.
- Dingledine, R.** (1983). N-methyl aspartate activates voltage-dependent calcium conductance in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol*, 343, 385-405.
- Dobrunz, L. E. et Stevens, C. F.** (1997). Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron*, 18, 995-1008.
- Dubovsky, S. L.** (1993). Calcium antagonists in manic-depressive illness. *Neuropsychobiology*, 27, 184-92.
- Dubovsky, S. L., Thomas, M., Hijazi, A. et Murphy, J.** (1994). Intracellular calcium signalling in peripheral cells of patients with bipolar affective disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 243, 229-34.
- Dutar, P., Nicoll, R.A.** (1988). A physiological role for GABA_B receptors in the central nervous system. *Nature*, 332, 156-158.
- Edwards, J. G.** (1992). Selective serotonin reuptake inhibitors. *Bmj*, 304, 1644-6.
- Ellis, K.A., Stough, C., Vitetta, L., Heinrich, K., Nathan, P.J.** (2001). An investigation into the acute nootropic effects of Hypericum perforatum L. (St. John's Wort) in healthy volunteers. *Behav Pharmacol*, 12(3):173-82.
- Erdelmeier, C. A.** (1998). Hyperforin, possibly the major non-nitrogenous secondary metabolite of Hypericum perforatum L. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 1, 2-6.
- Erfurth, A., Walden, J. et Grunze, H.** (1998). Lamotrigine in the treatment of schizoaffective disorder. *Neuropsychobiology*, 38, 204-5. PS et action=render et rendertype=fulltext et uid=NPS.nps38204.
- Ernst, E.** (1999). Second thoughts about safety of St John's wort. *Lancet*, 354, 2014-6.
- Fauroux, C.M, Freeman, S.** (1999). Inhibitors of inositol monophosphatase. *J Enzyme Inhib*, 14(2):97-108.

- Feighner, J. P., Cohn, J. B., Fabre, L. F., Jr., Fieve, R. R., Mendels, J., Shrivastava, R. K. et Dunbar, G. C.** (1993). A study comparing paroxetine placebo and imipramine in depressed patients. *J Affect Disord*, 28, 71-9.
- Fernie, WT.** (1897). Herbal simples. *Bristol: John Wright*.
- Fiebich, B.L., Hollig, A., Lieb, K.** (2001). Inhibition of substance P-induced cytokine synthesis by St. John's wort extracts. *Pharmacopsychiatry*, 34(1):26-8.
- Finley, P. R.** (1994). Selective serotonin reuptake inhibitors: pharmacologic profiles and potential therapeutic distinctions. *Ann Pharmacother*, 28, 1359-69.
- Flatman, J. A., Schwindt, P. C., Crill, W. E. et Stafstrom, C. E.** (1983). Multiple actions of N-methyl-D-aspartate on cat neocortical neurons in vitro. *Brain Res*, 266, 169-73.
- Franklin, M., Chi, J., McGavin, C., Hockney, R., Reed, A., Campling, G., Whale, R. W. et Cowen, P. J.** (1999). Neuroendocrine evidence for dopaminergic actions of hypericum extract (LI 160) in healthy volunteers. *Biol Psychiatry*, 46, 581-4.
- Fritze, J.** (2003). Ergebnisse und Kommentare zum Arzneiverordnungsreport 2002. *psychoneuro*, 29(3):78-85.
- Fröhlich, R., Patzelt, C. et Illes, P.** (1994). Inhibition by ethanol of excitatory amino acid receptors and nicotinic acetylcholine receptors at rat locus coeruleus neurons. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 350, 626-31.
- Garthwaite, J.** (1982). Excitatory amino acid receptors and guanosine 3',5'-cyclic monophosphate in incubated slices of immature and adult rat cerebellum. *Neuroscience*, 7, 2491-7.
- Geoffroy, M., Mogilnicka, E., Nielsen, M. et Rafaelsen, O. J.** (1988). Effect of nifedipine on the shuttlebox escape deficit induced by inescapable shock in the rat. *Eur J Pharmacol*, 154, 277-83.
- Ghaemi, S. N., Boiman, E. E. et Goodwin, F. K.** (1999). Kindling and second messengers: an approach to the neurobiology of recurrence in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, 45, 137-44.
- Greenamyre, J. T., Olson, J. M., Penney, J. B., Jr. et Young, A. B.** (1985). Autoradiographic characterization of N-methyl-D-aspartate-, quisqualate- and kainate-sensitive glutamate binding sites. *J Pharmacol Exp Ther*, 233, 254-63.
- Greengard, P., Jen, J., Nairn, A. C. et Stevens, C. F.** (1991). Enhancement of the glutamate response by cAMP-dependent protein kinase in hippocampal neurons. *Science*, 253, 1135-8.

- Grosshans, D. R., Clayton, D. A., Coultrap, S. J. et Browning, M. D.** (2002). LTP leads to rapid surface expression of NMDA but not AMPA receptors in adult rat CA1. *Nat Neurosci*, 5, 27-33.
- Grunze, H. et Walden, J.** (1997). Reduction of the frequency of occurrence of low magnesium induced field potentials in the hippocampus slice preparation of guinea pigs: a good screening tool for calcium antagonistic effects of anticonvulsant and antipsychotic drugs. *Magnes Res*, 10, 119-26.
- Hablitz, J. J. et Langmoen, I. A.** (1986). N-methyl-D-aspartate receptor antagonists reduce synaptic excitation in the hippocampus. *J Neurosci*, 6, 102-6.
- Hall, H. et Ogren, S. O.** (1981). Effects of antidepressant drugs on different receptors in the brain. *Eur J Pharmacol*, 70, 393-407.
- Hansgen, K. D., Vesper, J. et Ploch, M.** (1994). Multicenter double-blind study examining the antidepressant effectiveness of the hypericum extract LI 160. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7 Suppl 1, S15-8.
- Harrer, G., Hubner, W. D. et Podzuweit, H.** (1994). Effectiveness and tolerance of the hypericum extract LI 160 compared to maprotiline: a multicenter double-blind study. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7 Suppl 1, S24-8.
- Harrison, N. L. et Simmonds, M. A.** (1984). Modulation of the GABA receptor complex by a steroid anaesthetic. *Brain Res*, 323, 287-92.
- Heal, D. J., Bristow, L. M., Hurst, E. M., Elliott, J. M. et Buckett, W. R.** (1989). Sex-related differences in central adrenergic function and responsiveness to repeated administration of desipramine or electroconvulsive shock. *Br J Pharmacol*, 97, 111-8.
- Herron, C. E., Lester, R. A., Coan, E. J. et Collingridge, G. L.** (1985a). Intracellular demonstration of an N-methyl-D-aspartate receptor mediated component of synaptic transmission in the rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 60, 19-23.
- Herron, C. E., Williamson, R. et Collingridge, G. L.** (1985b). A selective N-methyl-D-aspartate antagonist depresses epileptiform activity in rat hippocampal slices. *Neurosci Lett*, 61, 255-60.
- Hill, D. R. et Bowery, N. G.** (1981). 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABA B sites in rat brain. *Nature*, 290, 149-52.
- Holsboer, F.** (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology*, 23, 477-501.
- Hubner, W. D., Lande, S. et Podzuweit, H.** (1994). Hypericum treatment of mild depressions with somatic symptoms. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7 Suppl 1, S12-4.

- Hunkeler, W., Mohler, H., Pieri, L., Polc, P., Bonetti, E. P., Cumin, R., Schaffner, R. et Haefely, W.** (1981). Selective antagonists of benzodiazepines. *Nature*, 290, 514-6.
- Hypericum Depression Study Group** (2002). Effect of *Hypericum perforatum* (St John's wort) in major depressive disorder: a randomized controlled trial. *JAMA*, 287 (10):1807-14.
- Johne, A., Brockmoller, J., Bauer, S., Maurer, A., Langheinrich, M. et Roots, I.** (1999). Pharmacokinetic interaction of digoxin with an herbal extract from St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Clin Pharmacol Ther*, 66, 338-45.
- Johnson, J. W. et Ascher, P.** (1987). Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature*, 325, 529-31.
- Kaehler, S. T., Sinner, C., Chatterjee, S. S. et Philippu, A.** (1999). Hyperforin enhances the extracellular concentrations of catecholamines, serotonin and glutamate in the rat locus coeruleus. *Neurosci Lett*, 262, 199-202.
- Kanof, P. D. et Greengard, P.** (1978). Brain histamine receptors as targets for antidepressant drugs. *Nature*, 272, 329-33.
- Katagiri, H., Tanaka, K. et Manabe, T.** (2001). Requirement of appropriate glutamate concentrations in the synaptic cleft for hippocampal LTP induction. *Eur J Neurosci*, 14, 547-53.
- Kerr DIB, Ong J.** (1995). GABA_B receptors. *J. Pharmacol. Ther.*, 67, 187-46.
- Khalifa, A.E.** (2001). *Hypericum perforatum* as a nootropic drug: enhancement of retrieval memory of a passive avoidance conditioning paradigm in mice. *J Ethnopharmacol*, 76(1):49-57.
- Kim, Y.K., Suh, I.B., Kim, H., Han, C.S., Lim, C.S., Choi, S.H., Licinio, J.** (2002). The plasma levels of interleukin-12 in schizophrenia, major depression, and bipolar mania: effects of psychotropic drugs. *Mol Psychiatry*, 7(10):1107-14.
- Klusa, V., Germane, S., Noldner, M., Chatterjee, S.S.** (2001). *Hypericum* extract and hyperforin: memory-enhancing properties in rodents. *Pharmacopsychiatry*, 34 Suppl 1:61-9.
- Koekkoek, S.K., Hulscher, H.C., Dortland, B.R., Hensbroek, R.A., Elgersma, Y., Ruigrok, T.J., Zeeuw, C.I.** (2003). Cerebellar LTD and learning-dependent timing of conditioned eyelid responses. *Science*, 301(5640):1736-9.
- Koupparis, L. S.** (2000). Harmless herbs: a cause for concern? *Anaesthesia*, 55, 101-2.
- Kudoh, M., Sakai, M., Shibuki, K.** (2002). Differential dependence of LTD on glutamate receptors in the auditory cortical synapses of cortical and thalamic inputs. *J Neurophysiol*, 88(6):3167-74.

- Kuhn, R.** (1957). Über die Behandlung depressiver Zustände mit einem Iminodibenzyl-Derivat (G22355). *Schweizer Medizinische Wochenschrift*, 87:1135-1140.
- Kumar, S., Kulkarni, S.K.** (1996). Influence of antidepressant drugs on learning and memory paradigms in mice. *Indian J exp Biol.*, 34(5):431-5.
- Kumar, V., Singh, P.N., Muruganandam, A.V., Bhattacharya, S.K.** (2000). Effect of Indian *Hypericum perforatum* Linn on animal models of cognitive dysfunction. *J Ethnopharmacol*, 72(1-2):119-28.
- Kumar, V., Khanna, V.K., Seth, P.K., Singh, P.N., Bhattacharya, S.K.** (2002). Brain neurotransmitter receptor binding and nootropic studies on Indian *Hypericum perforatum* Linn. *Phytother Res*, 16(3):210-6.
- Laakmann, G., Schule, C., Baghai, T. et Kieser, M.** (1998). St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 1, 54-9.
- Laakmann, G., Schule, C., Dienel, A.** (2000). Effects of hypericum extract on adenohipophysial hormone secretion and Symposium on Drug Therapy: pharmacology of St John's Wort (*Hypericum perforatum*) and its constituents. *Universität Frankfurt, Deutschland*.
- Langosch, J. M., Repp, M., Berger, M. et Walden, J.** (1998a). Effects of the atypical antidepressant trimipramine on field potentials in the low Mg²⁺-model in guinea pig hippocampal slices. *Eur Neuropsychopharmacol*, 8, 209-12.
- Langosch, J. M., Normann, C., Schirmacher, K., Berger, M. et Walden, J.** (1998b). The influence of (+/-)-kavain on population spikes and long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 120, 545-9.
- Langosch, J. M. et Walden, J.** (1998). Calcium antagonistic actions of drugs used in treatment of affective disorders. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 66(12):570-9.
- Langosch, J. M., Zhou, X. Y., Heinen, M., Chatterjee, S. S., Noldner, M. et Walden, J.** (2001). Effects of *Hypericum perforatum* L. on evoked potentials in guinea pig hippocampal slices. *Pharmacopsychiatry*, 34 Suppl 1, S83-8.
- Langosch, J. M. et Walden, J.** (2002). Effects of the atypical antidepressant trimipramine on neuronal excitability and long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 26, 299-302.
- Langosch, J. M., Zhou, X.-Y., Heinen, M., Kupferschmid, S., Chatterjee, S.S., Nöldner, M., Walden, J.** (2002). St John's wort (*Hypericum perforatum*) modulates evoked potentials in guinea pig hippocampal slices via AMPA and GABA receptors. *Eur Neuropsychopharmacol*, 12(3):209-16.

- Lee, W. L., Anwyl, R. et Rowan, M.** (1986). 4-Aminopyridine-mediated increase in long-term potentiation in CA1 of the rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 70, 106-9.
- Leonard, B. E.** (1993). The comparative pharmacology of new antidepressants. *J Clin Psychiatry*, 54 Suppl, 3-15; discussion 6-7.
- Levitan, E. S., Schofield, P. R., Burt, D. R., Rhee, L. M., Wisden, W., Kohler, M., Fujita, N., Rodriguez, H. F., Stephenson, A., Darlison, M. G., et al.** (1988). Structural and functional basis for GABAA receptor heterogeneity. *Nature*, 335, 76-9.
- Levkovitz, Y., Caftori, R., Avital, A., Richter-Levin, G.** (2002). The SSRI drug Fluoxetine, but not the adrenergic tricyclic drug Desipramine, improves memory performance during acute major depression. *Brain Res Bull.*, 58(4):345-50.
- Li, X., Tizzano, J.P., Griffey, K., Clay, M., Lindstrom, T., Skolnick, P.** (2001). Antidepressant-like actions of an AMPA receptor potentiator (LY39208). *Neuropharmacology*, 40(8):1028-33.
- Li, X., Witkin, J.M., Need, A.B., Skolnick, P.** (2003). Enhancements of antidepressant potency by a potentiator of AMPA receptors. *Cell Mol Neurobiol*, 23(3):419-30.
- Linde, K., Ramirez, G., Mulrow, C. D., Pauls, A., Weidenhammer, W. et Melchart, D.** (1996). St John's wort for depression--an overview and meta-analysis of randomised clinical trials. *Bmj*, 313, 253-8.
- Lisman, J.** (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86, 9574-8.
- Lloyd, K.G., Zivkovic, B., Sanger, D., Depoortere, H., Bartholini, G.** (1987). Fengabine, a novel antidepressant GABAergic agent. Activity in models for antidepressant drugs and psychopharmacological profile. *J Pharmacol Exp Ther*, 241(1):245-50.
- MacDermott, A. B., Mayer, M. L., Westbrook, G. L., Smith, S. J. et Barker, J. L.** (1986). NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*, 321, 519-22.
- MacGillivray, S., Arroll, B., Hatcher, S., Ogston, S., Reid, I., Sullivan, F., Williams, B., Crombie, I.** (2003). Efficacy and tolerability of selective serotonin reuptake inhibitors compared with tricyclic antidepressants in depression treated in primary care: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 326(7397):1014
- Malenka, R. C. et Nicoll, R. A.** (1993). NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci*, 16, 521-7.

- Manabe, T., Wyllie, D. J., Perkel, D. J. et Nicoll, R. A.** (1993). Modulation of synaptic transmission and long-term potentiation: effects on paired pulse facilitation and EPSC variance in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurophysiol*, 70, 1451-9.
- Martinez-Turrillas, R., Frechilla, D., Del Rio, J.** (2002). Chronic antidepressant treatment increases the membrane expression of AMPA receptors in rat hippocampus. *Neuropharmacology*, 43(8):1230-7.
- Mayer, M. L. et Westbrook, G. L.** (1984). Mixed-agonist action of excitatory amino acids on mouse spinal cord neurones under voltage clamp. *J Physiol*, 354, 29-53.
- McGlade-McCulloh, E., Yamamoto, H., Tan, S. E., Brickey, D. A. et Soderling, T. R.** (1993). Phosphorylation and regulation of glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *Nature*, 362, 640-2.
- Merendino, R.A., Di Rosa, A.E., Di Pasquale, G., Minciullo, P.L., Mangraviti, C., Constantino, A., Ruello, A., Gangemi, S.** (2002). Interleukin-18 and CD30 serum levels in patients with moderate-severe depression. *Mediators Inflamm*, 11(4):265-7.
- Metzler, H.L.** (1986). Lithium in bipolar illness and altered intracellular calcium functions. *Biol Psychiatry*, 21(5-6):492-510.
- Metzler, H.L.** (1990). Mode of action of lithium in affective disorders. an influence on intracellular calcium functions. *Pharmacol Toxicol.*, 66 Suppl 3:84-99.
- Mody, I.** (1999). Synaptic plasticity in kindling. *Adv Neurol*, 79, 631-43.
- Montgomery, S. A. et Kasper, S.** (1995). Comparison of compliance between serotonin reuptake inhibitors and tricyclic antidepressants: a meta-analysis. *Int Clin Psychopharmacol*, 9 Suppl 4, 33-40.
- Moore, L.B., Goodwin B., Jones, S.A., Wisely, G.B., Serabjit-Singh, C.J., Willson, T.M., Collins, J.L., Kliwer, S.A.** (2000). St. John's wort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane X receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97(13):7500-2.
- Mork, A., Geisler, A.** (1989). Effects of lithium ex vivo on the GTP-mediated inhibition of calcium-stimulated adenylate cyclase activity in rat brain. *Eur J Pharmacol*, 168(3):347-54.
- Müller, W. E., Rolli, M., Schafer, C. et Hafner, U.** (1997). Effects of hypericum extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 102-7.
- Müller, W. E., Singer, A., Wonnemann, M., Hafner, U., Rolli, M. et Schafer, C.** (1998). Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 1, 16-21.

- Muruganandam, A.V., Ghosal, S., Bhattacharya, S.K.** (2000). The role of xanthenes activity of *Hypericum perforatum* involving dopaminergic and serotonergic systems. *Biogenic amines*, 15:553-557.
- Nakagawa, Y., Ishima, T.** (2003). Possible involvement of GABA_B receptors in action of antidepressants. *Nihon Shinkei Yakurigaku Zasshi*, 23(2), 83-9.
- Nathan, P. J.** (2001). *Hypericum perforatum* (St John's Wort): a non-selective reuptake inhibitor? A review of the recent advances in its pharmacology. *J Psychopharmacol*, 15, 47-54.
- Nayak, A. et Browning, M. D.** (1999). Presynaptic and postsynaptic mechanisms of long-term potentiation. *Adv Neurol*, 79, 645-58.
- Neary, J. T. et Bu, Y.** (1999). *Hypericum LI 160* inhibits uptake of serotonin and norepinephrine in astrocytes. *Brain Res*, 816, 358-63.
- Nebel, A., Schneider, B. J., Baker, R. K. et Kroll, D. J.** (1999). Potential metabolic interaction between St. John's wort and theophylline. *Ann Pharmacother*, 33, 502.
- Nelson, D. R., Thomas, D. R. et Johnson, A. M.** (1989). Pharmacological effects of paroxetine after repeated administration to animals. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 350, 21-3.
- Newberry, N. R. et Nicoll, R. A.** (1984). Direct hyperpolarizing action of baclofen on hippocampal pyramidal cells. *Nature*, 308, 450-2.
- Nicoletti, F. et Canonico, P. L.** (1989). Glycine potentiates the stimulation of inositol phospholipid hydrolysis by excitatory amino acids in primary cultures of cerebellar neurons. *J Neurochem*, 53, 724-7.
- Nielsen, N. P., Cesana, B., Zizolfi, S., Ascalone, V., Priore, P. et Morselli, P. L.** (1990). Therapeutic effects of fengabine, a new GABAergic agent, in depressed outpatients: a double-blind study versus clomipramine. *Acta Psychiatr Scand*, 82, 366-71.
- Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A. et Prochiantz, A.** (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307, 462-5.
- Okuma, T.** (1983). Therapeutic and prophylactic effects of carbamazepine in bipolar disorders. *Psychiatr Clin North Am*, 6, 157-74.
- Olsen, R. W. et Tobin, A. J.** (1990). Molecular biology of GABAA receptors. *Faseb J*, 4, 1469-80.
- Owen, B.M., Eccleston, D., Ferrier, I.N., Young, A.H.** (2001). Raised levels of plasma interleukin-1beta in major and postviral depression. *Acta Psychiatr Scand*, 103(3):226-8.

- Pabuccuoglu, A., Konyalioglu, S., Bas, M., Meral, GE.** (2003). The in vitro effects of Hypericum species on human leucocyte myeloperoxidase activity. *Ethnopharmacol.*, 87(1), 89-92.
- Pacelli, G. J., Su, W. et Kelso, S. R.** (1989). Activity-induced depression of synaptic inhibition during LTP-inducing patterned stimulation. *Brain Res*, 486, 26-32.
- Penn, R. D., Savoy, S. M., Corcos, D., Latash, M., Gottlieb, G., Parke, B. et Kroin, J. S.** (1989). Intrathecal baclofen for severe spinal spasticity. *N Engl J Med*, 320, 1517-21.
- Perfumi, M., Ciccocioppo, R., Angeletti, S., Cucculelli, M., Massi, M.** (1999). Effects of Hypericum perforatum extraction on alcohol intake in Marchigian Sardinian alcohol-preferring rats. *Alcohol Alcohol*, 34(5):690-8.
- Perfumi, M., Panocka, I., Ciccocioppo, R., Vitali, D., Froidi, R., Massi, M.** (2001). Effects of a methanolic extract and a hyperforin-enriched CO₂ extract of Hypericum perforatum on alcohol intake in rats. *Alcohol Alcohol*, 36(3):199-206.
- Perfumi, M., Santoni, M., Ciccocioppo, R., Massi, M.** (2002). Blockade of gamma-aminobutyric acid receptors does not modify the inhibition of ethanol intake by Hypericum perforatum in rats. *Alcohol Alcohol*, 37(6):540-6.
- Petty, F., Schlessner, M.A.** (1981). Plasma GABA in affective illness. a preliminary investigation. *J Affect Disord*, 3(4):339-43.
- Petty, F., Kramer, G.L., Dunnam, D., Rush, A.J.** (1990). Plasma GABA in mood disorders. *Psychopharmacol Bull*, 26(2):157-61.
- Petty, F., Kramer, G.L., Fulton, M., Davis, L., Rush, A.J.** (1995). Stability of plasma GABA at four-year follow-up in patients with primary unipolar depression. *Biol Psychiatry*, 37(11):806-10.
- Petty, F., Triveldi, M.H., Fulton, M., Rush, A.J.** (1995). Benzodiazepines as antidepressants: does GABA play a role in depression? *Biol Psychiatry*, 38(9):578-91.
- Petty, F., Fulton, M., Kramer, G.L., Kram, M., Davis, L.L., Rush, A.J.,** (1999). Evidence for the segregation of a major gene for human plasma GABA levels. *Mol Psychiatry*, 4(6):587-9.
- Pickering, C.** (1879). Chronological history of plants. *Boston: Little Brown.*
- Piscitelli, S. C., Burstein, A. H., Chaitt, D., Alfaro, R. M. et Falloon, J.** (2000). Indinavir concentrations and St John's wort. *Lancet*, 355, 547-8.
- Pitsikas, N., Rigamonti, A.E., Cella, S.G., Muller, E.E.** (2003). The GABAB receptor and recognition memory: possible modulation of its behavioral effects by the nitrenergic system. *Neuroscience*, 118(4):1121-7.

- Pohl, M., Straub, H. et Speckmann, E. J.** (1992). Low magnesium-induced epileptiform discharges in guinea pig hippocampal slices: depression by the organic calcium antagonist verapamil. *Brain Res*, 577, 29-35.
- Porsolt, R. D., Le Pichon, M. et Jalfre, M.** (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266, 730-2.
- Post, R. M., Uhde, T. W., Ballenger, J. C. et Squillace, K. M.** (1983). Prophylactic efficacy of carbamazepine in manic-depressive illness. *Am J Psychiatry*, 140, 1602-4.
- Post, R. M.** (1992). Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. *Am J Psychiatry*, 149, 999-1010.
- Post, R. M. et Weiss, S. R.** (1996). A speculative model of affective illness cyclicality based on patterns of drug tolerance observed in amygdala-kindled seizures. *Mol Neurobiol*, 13, 33-60.
- Potter, W. Z., Rudorfer, M. V. et Manji, H.** (1991). The pharmacologic treatment of depression. *N Engl J Med*, 325, 633-42.
- Rammes, G., Parsons, C., Müller, W., Swandulla, D.** (1994). Modulation of fast excitatory synaptic transmission by cyclothiazide and GYKI 52466 in the rat hippocampus. *Neurosci Lett*. 175 (1-2):21-4.
- Raymond, L. A., Blackstone, C. D. et Huganir, R. L.** (1993). Phosphorylation and modulation of recombinant GluR6 glutamate receptors by cAMP-dependent protein kinase. *Nature*, 361, 637-41.
- Reith, M. E. et O'Reilly, C. A.** (1990). Inhibition of serotonin uptake into mouse brain synaptosomes by ionophores and ion-channel agents. *Brain Res*, 521, 347-51.
- Reynolds, I. J. et Miller, R. J.** (1988). Tricyclic antidepressants block N-methyl-D-aspartate receptors: similarities to the action of zinc. *Br J Pharmacol*, 95, 95-102.
- Rezvani, A.H., Overstreet, D.H., Yang, Y., Clark, E. Jr.** (1999). Attenuation of alcohol intake by extract of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) in two different strains of alcohol-preferring rats. *Alcohol Alcohol*, 34(5):699-705.
- Rison, R. A. et Stanton, P. K.** (1995). Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors: foundations of memory and neurologic disease? *Neurosci Biobehav Rev*, 19, 533-52.
- Ruschitzka, F., Meier, P. J., Turina, M., Luscher, T. F. et Noll, G.** (2000). Acute heart transplant rejection due to Saint John's wort. *Lancet*, 355, 548-9.
- Sarvey, J. M., Burgard, E. C. et Decker, G.** (1989). Long-term potentiation: studies in the hippocampal slice. *J Neurosci Methods*, 28, 109-24.

- Schempp, H., Denke, A., Mann, E., Schneider, W., Elstner, E.F.** (1999). Biochemical Activities of Extracts from *Hypericum perforatum* L.: 3rd Communication: Modulation of peroxidase activity as a simple method for standardization. *Arzenimittel-Forschung/Drug research*, 49(1), 2, 115-119.
- Schofield, P. R., Darlison, M. G., Fujita, N., Burt, D. R., Stephenson, F. A., Rodriguez, H., Rhee, L. M., Ramachandran, J., Reale, V., Glencorse, T. A., et al.** (1987). Sequence and functional expression of the GABA A receptor shows a ligand-gated receptor super-family. *Nature*, 328, 221-7.
- Schrader, E.** (2000). Equivalence of St John's wort extract (Ze 117) and fluoxetine: a randomized, controlled study in mild-moderate depression. *Int Clin Psychopharmacol*, 15, 61-8.
- Sernagor, E., Kuhn, D., Vyklícky, L., Jr. et Mayer, M. L.** (1989). Open channel block of NMDA receptor responses evoked by tricyclic antidepressants. *Neuron*, 2, 1221-7.
- Shelton, R. C.** (2000). Intracellular mechanisms of antidepressant drug action. *Harv Rev Psychiatry*, 8, 161-74.
- Shelton, R. C., Keller, M. B., Gelenberg, A., Dunner, D. L., Hirschfeld, R., Thase, M. E., Russell, J., Lydiard, R. B., Crits-Cristoph, P., Gallop, R., et al.** (2001). Effectiveness of St John's wort in major depression: a randomized controlled trial. *Jama*, 285, 1978-86.
- Siepmann, M., Krause, S., Joraschky, P., Muck-Weymann, M., Kirch, W.** (2002). The effects of St John's wort extract on heart rate variability, cognitive function and quantitative EEG: a comparison with amitriptyline and placebo in healthy men. *Br J Clin Pharmacol*, 54(3):277-82.
- Singer, A., Wonnemann, M. et Muller, W. E.** (1999). Hyperforin, a major antidepressant constituent of St. John's Wort, inhibits serotonin uptake by elevating free intracellular Na⁺. *J Pharmacol Exp Ther*, 290, 1363-8.
- Speckmann, E. J. et Walden, J.** (1991). Mechanisms underlying the generation of cortical field potentials. *Acta Otolaryngol Suppl*, 491, 17-23.
- Speckmann, E. J.** (1997). Generation of field potentials in the brain. *J Clin Pharmacol*, 37, 8S-10S.
- Stewart, C. A. et Reid, I. C.** (2000). Repeated ECS and fluoxetine administration have equivalent effects on hippocampal synaptic plasticity. *Psychopharmacology (Berl)*, 148, 217-23.
- Stokes, P. E.** (1993). Current issues in the treatment of major depression. *J Clin Psychopharmacol*, 13, 2S-9S.

- Stokes, P. E.** (1993). Fluoxetine: a five-year review. *Clin Ther*, 15, 216-43; discussion 5.
- Stolz, J. F., Marsden, C. A. et Middlemiss, D. N.** (1983). Effect of chronic antidepressant treatment and subsequent withdrawal on [3H]-5-hydroxytryptamine and [3H]-spiperone binding in rat frontal cortex and serotonin receptor mediated behaviour. *Psychopharmacology*, 80, 150-5.
- Teufel-Mayer, R. et Gleitz, J.** (1997). Effects of long-term administration of hypericum extracts on the affinity and density of the central serotonergic 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 113-6.
- Thiele, B., Brink, I., Ploch, M.** (1994). Modulation of cytokine expression by hypericum extract. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7(1):60-2.
- Ticku, M. K. et Kulkarni, S. K.** (1988). Molecular interactions of ethanol with GABAergic system and potential of RO15-4513 as an ethanol antagonist. *Pharmacol Biochem Behav*, 30, 501-10.
- van Calker, D., Forstner, U., Bohus, M., Gebicke-Harter, P., Hecht, H., Wark, H. J. et Berger, M.** (1993). Increased sensitivity to agonist stimulation of the Ca²⁺ response in neutrophils of manic-depressive patients: effect of lithium therapy. *Neuropsychobiology*, 27, 180-3.
- Vanover, K.E., Barrett, J.E.** (1998). An automated learning and memory model in mice: pharmacological and behavioral evaluation of an autoshaped response. *Behav Pharmacol*, 9(3):273-83.
- Vigot, R., Batini, C., Kado, R.T., Yamamori, T.** (2002). Synaptic long-term depression (LTD) in vivo recorded on the rat cerebellar cortex. *Arch Ital Biol*, 140(1):1-12.
- Volz, H. P.** (1997). Controlled clinical trials of hypericum extracts in depressed patients-- an overview. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 72-6.
- von Wegerer, J., Hesslinger, B., Berger, M. et Walden, J.** (1997). A calcium antagonistic effect of the new antiepileptic drug lamotrigine. *Eur Neuropsychopharmacol*, 7, 77-81.
- Vorbach, E. U., Hubner, W. D. et Arnoldt, K. H.** (1994). Effectiveness and tolerance of the hypericum extract LI 160 in comparison with imipramine: randomized double-blind study with 135 outpatients. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7 Suppl 1, S19-23.
- Vorbach, E. U., Arnoldt, K. H. et Hubner, W. D.** (1997). Efficacy and tolerability of St. John's wort extract LI 160 versus imipramine in patients with severe depressive episodes according to ICD- 10. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 81-5.
- Wagner, H. et Bladt, S.** (1994). Pharmaceutical quality of hypericum extracts. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 7 Suppl 1, S65-8.

- Walden, J. et Speckmann, E. J.** (1988). Suppression of recurrent generalized tonic-clonic seizure discharges by intraventricular perfusion of a calcium antagonist. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 69, 353-62.
- Walden, J., Grunze, H., Bingmann, D., Liu, Z. et Dusing, R.** (1992). Calcium antagonistic effects of carbamazepine as a mechanism of action in neuropsychiatric disorders: studies in calcium dependent model epilepsies. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2, 455-62.
- Walden, J., Grunze, H., Mayer, A., Dusing, R., Schirmacher, K., Liu, Z. et Bingmann, D.** (1993). Calcium-antagonistic effects of carbamazepine in epilepsies and affective psychoses. *Neuropsychobiology*, 27, 171-5.
- Walden, J., Fritze, J., Van Calker, D., Berger, M. et Grunze, H.** (1995). A calcium antagonist for the treatment of depressive episodes: single case reports. *J Psychiatr Res*, 29, 71-6.
- Walden, J., Hesslinger, B., van Calker, D. et Berger, M.** (1996). Addition of lamotrigine to valproate may enhance efficacy in the treatment of bipolar affective disorder. *Pharmacopsychiatry*, 29, 193-5.
- Wang, L. Y., Salter, M. W. et MacDonald, J. F.** (1991). Regulation of kainate receptors by cAMP-dependent protein kinase and phosphatases. *Science*, 253, 1132-5.
- Wang, Z., Gorski, J.C., Hamman, M.A., Huang, S.M., Lesko, L.J., Hall, S.D.** (2001). The effects of St John's wort (*Hypericum perforatum*) on human cytochrome P450 activity. *Clin Pharmacol Ther.*, 70(4):317-26.
- Watanabe, Y., Saito, H. et Abe, K.** (1993). Tricyclic antidepressants block NMDA receptor-mediated synaptic responses and induction of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Neuropharmacology*, 32, 479-86.
- Welner, S. A., De Montigny, C., Desroches, J., Desjardins, P. et Suranyi-Cadotte, B. E.** (1989). Autoradiographic quantification of serotonin_{1A} receptors in rat brain following antidepressant drug treatment. *Synapse*, 4, 347-52.
- Wentworth, J.M., Agostini, M., Love, J., Schwabe, J.W., Chatterjee, V.K.** (2000). St John's wort, a herbal antidepressant, activates the steroid X receptor. *J Endocrinol*, 166(3):R11-6.
- Wheatley, D.** (1997). LI 160, an extract of St. John's wort, versus amitriptyline in mildly to moderately depressed outpatients--a controlled 6-week clinical trial. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 77-80.

- Whyte, I.M., Dawson, A.H., Buckley, N.A.** (2003). Relative toxicity of venlafaxine and selective serotonin reuptake inhibitors in overdose compared to tricyclic antidepressants. *QJM*, 96(5):369-74.
- Widy-Tyszkiewicz, E., Piechtal, A., Joniec, I., Blecharz-Klin, K.** (2002). Long term administration of *Hypericum perforatum* improves spatial learning and memory in the water maze. *Biol Pharm Bull*, 25(10):1289-94.
- Willner, P.** (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, 83, 1-16.
- Wilson, M. A. et McNaughton, B. L.** (1993). Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science*, 261, 1055-8.
- Witter, M. P., Griffioen, A. W., Jorritsma-Byham, B. et Krijnen, J. L.** (1988). Entorhinal projections to the hippocampal CA1 region in the rat: an underestimated pathway. *Neurosci Lett*, 85, 193-8.
- Woelk, H.** (2000). Comparison of St John's wort and imipramine for treating depression: randomised controlled trial. *Bmj*, 321, 536-9.
- Wong, E. H., Kemp, J. A., Priestley, T., Knight, A. R., Woodruff, G. N. et Iversen, L. L.** (1986). The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83, 7104-8.
- Wonnemann, M., Singer, A. et Muller, W. E.** (2000). Inhibition of synaptosomal uptake of 3H-L-glutamate and 3H-GABA by hyperforin, a major constituent of St. John's Wort: the role of amiloride sensitive sodium conductive pathways. *Neuropsychopharmacology*, 23, 188-97.
- Wu, J. Y., Matsuda, T. et Roberts, E.** (1973). Purification and characterization of glutamate decarboxylase from mouse brain. *J Biol Chem*, 248, 3029-34.
- Xie, X., Berger, T.W., Barrionuevo, G.** (1992). Isolated NMDA receptor-mediated synaptic response express both LTP and LTD. *J Neurophysiol*, 67(4):1009-13.
- Yamamoto, C.** (1972). Intracellular study of seizure-like afterdischarges elicited in thin hippocampal sections in vitro. *Exp Neurol.*, 35(1):154-64.
- Yeckel, M. F. et Berger, T. W.** (1990). Feedforward excitation of the hippocampus by afferents from the entorhinal cortex: redefinition of the role of the trisynaptic pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87, 5832-6.
- Yu, P. H.** (2000). Effect of the *Hypericum perforatum* extract on serotonin turnover in the mouse brain. *Pharmacopsychiatry*, 33, 60-5.
- Zhou, X.-Y.** (1999). Effects of *Hypericum* extract and its constituents on neuronal excitability and long term potentiation in guinea pig hippocampal slices. *Inaugural Dissertation an der*

*Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychosomatik der Albert-Ludwigs-Universität
Freiburg im Breisgau*

Zola-Morgan, S. M. et Squire, L. R. (1990). The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science*, 250, 288-90.

Zola-Morgan, S., Squire, L. R., Alvarez-Royo, P. et Clower, R. P. (1991). Independence of memory functions and emotional behavior: separate contributions of the hippocampal formation and the amygdala. *Hippocampus*, 1, 207-20.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 13.02.1977
 Geburtsort: Leonberg
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: luxemburgisch

Ausbildung

1987 – 1996 Gymnasium in der Glemsaue, Ditzingen
 1996 Abitur
 09/1996 Aufnahme des Medizinstudiums an der Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg
 08/1998 Ärztliche Vorprüfung
 04/2000 Erstes Staatsexamen
 03/2001 – 10/2001 Auslandssemester an der Wellington School of Medicine/Neuseeland im Rahmen eines DAAD-Stipendiums
 09/2002 Zweites Staatsexamen
 10/2002 Wechsel an die Humboldt-Universität zu Berlin
 11/2003 Abschluß des Medizinstudiums mit dem Dritten Staatsexamen
 Gesamtnote: gut (1,6)

Pflegepraktika und Famulaturen

03 und 07/1997 Pflegepraktika, Chirurgische Universitätsklinik Freiburg
 09/1997 Pflegepraktikum, Padhar Hospital, Betul, Indien
 08/2000 Centro Medico Continental, Caracas, Venezuela
 03/2001 Geriatrie, Wellington School of Medicine, Neuseeland
 04/2001 Clinical Skills, Wellington School of Medicine, Neuseeland
 05/2001 Gastroenterologie, Wellington School of Medicine, Neuseeland
 06/2001 Neurologie/HNO/Ophthalmologie, Wellington School of Medicine, Neuseeland
 07/2001 Anästhesie/Notfallmedizin, Wellington School of Medicine, Neuseeland
 08/2001 Allgemeinmedizin, Wellington School of Medicine, Neuseeland

Praktisches Jahr

10/02 – 02/03 Innere Medizin, Palmerston North Hospital, Neuseeland
 02/03 – 06/03 Pädiatrie, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Lindenhof, Berlin
 06/03 – 09/03 Chirurgie, Elisabeth Krankenhaus, Berlin

Promotion

Seit März 1999 Experimentelle Doktorarbeit im elektrophysiologischen Labor der Psychiatrie bei Prof. Dr. Dr. Walden an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i.Br., Betreuer Dr. J. Langosch.

Beruflicher Werdegang

Seit 12/2003 Ärztin im Praktikum unter Professor Dr. V. Hesse, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Lindenhof, Berlin