

Stephan Johannes Linke  
Dr. med.

## **Suppression der humanen T-Zell-Antwort durch Helleborus Extrakt**

Geboren am 04.09.1972 in Fulda  
Reifeprüfung am 26.06.1992 in Bruchsal  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993/1994 bis WS 1999/2000  
Physikum am 24.08.1995 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr Bern/ London/ Heidelberg  
Staatsexamen am 04.05.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: **Immunologie**  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Peter Terneß

Helleborus spezie Gesamtextrakt ist ein schon seit langer Zeit in südosteuropäischen Ländern bekanntes antiinflammatorisches Therapeutikum. Wir konnten in einem ersten Schritt zeigen, daß von mehreren hochaufgereinigten Helleborus Extrakten nur eine Fraktion stark suppressiv auf Mitogen- oder Alloantigen-stimulierte T-Zellen wirkte.

Alle weiteren Experimente wurden mit dieser Fraktion, die auch als HP12 (Helleborus Purified) bezeichnet und von Chemikern als zykloligomeres Kohlensuboxid (MG = 408.2 D) beschrieben wurde, durchgeführt.

Sowohl die Mitogen- als auch Alloantigen-induzierte Proliferation konnte durch HP12 (40 ng/10<sup>5</sup> Zellen) vollständig supprimiert werden. Ebenso konnte die Proliferation von HeLa- und EBV-transformierten B-Zellen durch HP12 inhibiert werden. Allerdings war es nicht möglich, die Proliferation von Maus- oder Rattenlymphozyten durch vergleichsweise niedrige HP12 Konzentrationen zu supprimieren, was auf eine Speziesspezifität von HP12 hinweist. Mitogen-stimulierte und HP12 supprimierte (24h) T-Zellen konnten nicht restimuliert werden.

Ein durch HP12 induzierter Zelltod konnte mit Hilfe von Propidiumjodidmessungen in der FACS-Analyse ausgeschlossen werden.

HP12 inhibierte die Progressionsphase des Zellzyklus (Übergang von der G<sub>1</sub>-Phase in die S-Phase) während der T-Zell Proliferation, ohne frühe Aktivierungsvorgänge zu beeinflussen.

Die Expression der Aktivierungsmarker CD25 (IL-2-Rezeptor  $\alpha$ -Untereinheit) und HLA-DR war nach 24-stündiger Mitogenstimulation in Anwesenheit von HP12 in der FACS-Analyse stark vermindert, wohingegen die Expression des sehr frühen Aktivierungsmarkers CD69 unverändert blieb.

Das intrazelluläre Zytokinmuster der TH<sub>1</sub>- und TH<sub>2</sub>-Helferzellen wurde durch HP12 in hohem Maße beeinflusst:

die Produktion von TH<sub>1</sub>-Zytokinen (IL-2, IFN- $\gamma$ ) wurde stark reduziert, TH<sub>2</sub>-Zytokine (IL-4 und IL-10) blieben unverändert oder schienen sogar erhöht (IL-5).

Der T-Zell suppressive Effekt von HP12 konnte durch hypernormale KCl-Konzentrationen im Medium partiell aufgehoben werden, was ein Hinweis für die Bindung von HP12 an die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase ist.

Durch subminimale HP12 Konzentration war es möglich, den immunsuppressiven Effekt von Ciclosporin A um den Faktor 200 zu potenzieren.

Weitere chemische Untersuchungen, vor allem die Herstellung eines synthetischen HP12 Produktes, sind erforderlich, um die alleinige Wirkung von HP12 zu erhärten und die Mitwirkung möglicher Verunreinigungen des Pflanzenextraktes auszuschließen.

Schlußfolgernd läßt sich sagen, daß der hochaufgereinigte Helleborus Extrakt HP12 eine potente T-Zell suppressive Wirkung aufweist und mit Ciclosporin A synergistisch agiert.