

Pelargonium sidoides

Neue Hinweise zum antiviralen Wirkmechanismus

Virale Infektionen des Bronchialepithels gelten als häufigste Ursache von Erkältungskrankheiten, aber auch von akuten Exazerbationen bei Asthma bronchiale und COPD. Zur Behandlung haben sich gut untersuchte pflanzliche Arzneimittel, wie beispielsweise ein Pelargonium sidoides-Wurzelauszug, vielfach bewährt. Die Ergebnisse eines experimentellen Forschungsansatzes deuten jetzt darauf hin, dass den antiinfektiven Effekten dieses Extrakts unter anderem eine Hemmung von Virus-Andockproteinen sowie eine Aktivierung von Wirtsabwehrproteinen zu Grunde liegen.

Einer der Hauptangriffspunkte von Rhinoviren (RV) sind die bronchialen Epithelzellen, wobei unterschiedliche RV-Stämme jeweils spezifische Abwehrmechanismen in Wirtszellen hervorrufen können (Gielen V et al., *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 136: 177–188). EPs® 7630 hat sich als wirksame pflanzliche Therapieoption bei akuten Atemwegserkrankungen (z.B. akute Bronchitis) erwiesen und vermochte als adjuvante Therapie bei Asthma und COPD die Exazerbationsrate zu senken (Matthys et al., *Respir Med.* 2013; 107: 691–701). Wie die meisten Phytopharmaka stellt auch der Pelargonium sidoides-Wurzelauszug EPs® 7630 (Umckaloabo®) eine komplexe Mischung zahlreicher pflanzlicher Inhaltsstoffe dar. Die medizinischen Wirkungen des Extrakts beruhen unter anderem auf der Stimulation unspezifischer antimikrobieller und antiviraler Abwehrmechanismen sowie auf zytoprotektiven Eigenschaften. Bisherige Arbeiten haben gezeigt, dass EPs® 7630 auch die Replikation vieler verschiedener Virus-Typen zu hemmen vermag (Michaelis et al., *Phytomedicine.* 2011; 18: 384–386).

Aufklärung des Wirkprinzips im Fokus

Die genauen Wirkmechanismen von EPs® 7630 sind bislang noch nicht vollständig aufgeklärt. Daher fokussierte sich eine aktuelle pharmakologische Untersuchung auf In-vitro-Experimente, mit denen die antiviralen Effekte am Beispiel von Rhinovirus 16 (RV16) analysiert werden sollten (Roth et al., *Pelargonium sidoides radix extract EPs 7630 reduces rhinovirus infection through modulation of viral binding proteins on human bronchial epithelial cells.* *PLoS One* 2019; 14 (2): 1–18). Evaluiert wurden

die Expressionsmuster von sieben Zellmembranproteinen, die nach bisherigem Kenntnisstand mit immunologischen und antiviralen Abwehrmechanismen in Verbindung gebracht werden können. Im Zusammenhang mit COPD und Asthma wird beispielsweise diskutiert, ob die Inzidenz von RV-Infektionen durch die Blockade von ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule) reduziert werden könnte. Entsprechende Studienergebnisse deuten darauf hin, dass dieses Molekül Rhinoviren das Andocken ermöglicht (Shukla et al., *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2017; 12: 1413–1414; Traub et al. *PLoS Pathog.* 2013; 9; Mukhopadhyay et al., *Respirology.* 2014; 19: 508–513; Shukla et al., *Respir Res.* 2017; 18: 6).

Ob die Anwendung von EPs® 7630 mit einer Veränderung der Expression von RV-Bindungsproteinen einhergeht, wurde bisher noch nicht erforscht. Die Autoren prüften daher die Wirkung von EPs® 7630 auf die Expression ausgewählter Zellmembranproteine und intrazellulärer Wirtsabwehrproteine in primären menschlichen Bronchialepithelzellen. Diese stammten jeweils von Patienten mit schwerem Asthma und mittelschwerer COPD oder von gesunden Kontrollen (jeweils n = 6), die sich aus anderweitigen gesundheitlichen Gründen einer Biopsie unterzogen hatten.

Mittels Western-Blot und Immunfluoreszenz wurden die Expressionsmuster verschiedener viraler Andockproteine (Cq1R – Calreticulin, MyD88 – Myeloid Differentiation primary response, TLR (Toll-like Receptor) 2/4, ICAM-1, ICOS (Inducible Co T-cell Stimulator) und dessen Liganden (ICOSL)) sowie der Zelloberflächenproteine beta-Defensin-1 und SOCS-1 (Suppressor Of Cytokine Signal-

beta-Defensin-1 (grün)
Nuclei (DAPI)

T0

72 Stunden

EPs®7630
(10µg/ml) 72 Stunden

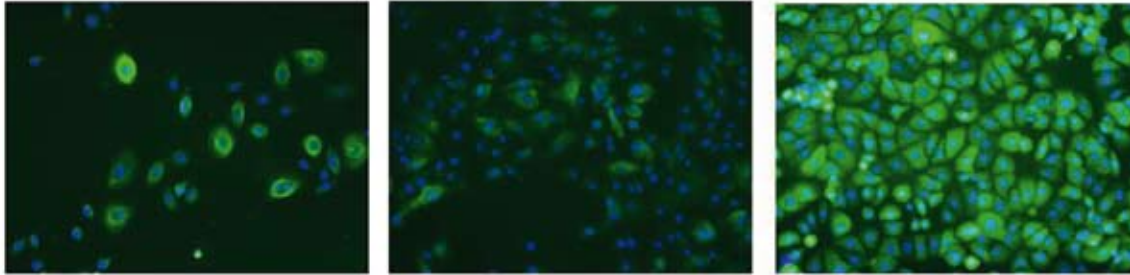


Abbildung 1: Repräsentative Immunfluoreszenz-Bilder der Expression von beta-Defensin-1 nach 72 Stunden in Bronchialzellen ohne (Mitte) und mit (rechts) EPs® 7630-Vorinkubation (10,0 µg/ml). Eine 24-stündige Vorinkubation stimuliert die Expression des antiviralen Andockproteins beta-Defensin-1 beispielsweise von gesunden Kontrollen (Roth et al. 2019).

ling), die der Virusabwehr des Wirtsorganismus dienen, analysiert. Des Weiteren wurden die Infektionsraten des Rhinovirus 16 und das Überleben menschlicher Bronchialepithelzellen erfasst.

Expression viraler Andockproteine gemindert

Die Epithelzellen wurden mit Rhinovirus 16 für einen, zwei und drei Tage inkubiert, danach wurden die Infektionsraten durch Immunfluoreszenzfärbung gegen Rhinovirus 16 bestimmt. Inkubationszeiten von weniger als zwei Tagen zeigten keine signifikanten Auswirkungen auf das Überleben der mit Rhinovirus 16 infizierten Bronchialepithelzellen. Über eine Inkubationszeit von mindestens zwei Tagen hinaus verminderten jedoch die RV16-Infektionen das Überleben der Bronchialzellen im Vergleich zu den Kontrollen signifikant ($p < 0,05$). Wurden die Zellen dagegen mit EPs® 7630 vorbehandelt, konnte der virusbedingten Schädigung entgegen gewirkt werden. Dieser Effekt war konzentrationsabhängig (EPs® 7630 je Ansatz: 0,1, 1,0 oder 10,0 µg/ml, Vorinkubationszeit: mindestens 24 Stunden) und erwies sich bei der höchsten Konzentration von 10,0 µg/ml EPs® 7630 in allen Zelllinien jeweils als signifikant ($p < 0,05$). Es wurden dabei keine Unterschiede zwischen den Bronchialzellen der COPD- und Asthma-Patienten oder den Kontrollzellen gesunder Personen beobachtet. Eine alleinige EPs® 7630-Anwendung zeigte keinen Einfluss auf das Überleben in den Bronchialzelllinien. Wie zu beobachten war, reduzierte die 24-stündige Vorbehandlung mit EPs® 7630 in allen Zelllinien die Expression des viralen Andockproteins ICOS signifikant im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,05$). Dies wurde jeweils mit und ohne RV16-Infektion ab einer Konzentration von 1,0 µg/ml in allen drei humanen Bronchialepithelzelllinien mit ähnlichen Ergebnissen beobachtet. Lediglich bei den

Kontrollen hatte erst eine 10-fach höhere Konzentration EPs® 7630 mit 10,0 µg/ml einen signifikanten Effekt auf die Reduktion der ICOS-Expression ($p < 0,05$).

Eine RV16-Infektion allein erhöhte die Expression des Andockproteins ICOS im Vergleich zu unbehandelten Zellen nur geringfügig, allerdings nicht im Bezug auf den Liganden (ICOSL), dessen Expression sich konzentrationsabhängig in allen Zelllinien reduzierte – in den Asthma-Zelllinien sogar schon bei 1,0 µg/ml EPs® 7630 signifikant gegenüber der Kontrolle ($p < 0,05$).

Primäre Bronchialepithelzellen exprimieren C1qR als Zellmembranprotein und im Zytosol. Im Vergleich zu den gesunden Kontrollen war die Ausgangskonzentration von C1qR in den Bronchialzellen der Asthma- und COPD-Patienten etwas erhöht. Durch eine Inkubation mit EPs® 7630 wurde die Expression von C1qR nach 72 Stunden konzentrationsabhängig mit und ohne Virus-Infektion mit jeweils signifikanten p-Werten ($p < 0,05$) im Vergleich zu den Kontrollen reduziert, wobei eine Infektion mit leicht erhöhter C1qR-Expression in den Asthma- und COPD-Zelllinien einherging. Die Expression weiterer analysierter virusinteraktiven Zellmembranproteine wie MyD88, TLR2/4 oder ICAM-1 blieb bei den In-vitro-Experimenten durch EPs® 7630 unbeeinflusst.

EPs® 7630 fördert Expression von beta-Defensin-1 und SOCS-1

Eine Inkubation der Bronchialzellen mit EPs® 7630 erhöhte jeweils die Expression der antiviralen Wirtsabwehrproteine beta-Defensin-1 (Abbildung 1) und SOCS-1 in den Bronchialzellen mit einer Anwendung im Bereich höherer Konzentrationen bei 1,0 und 10,0 µg/ml signifikant ($p < 0,05$), und zwar unabhängig von einer RV16-Infektion. Eine alleinige Infektion der Zellen über einen Zeitraum von 72 Stunden hinweg zeigte keinen Einfluss

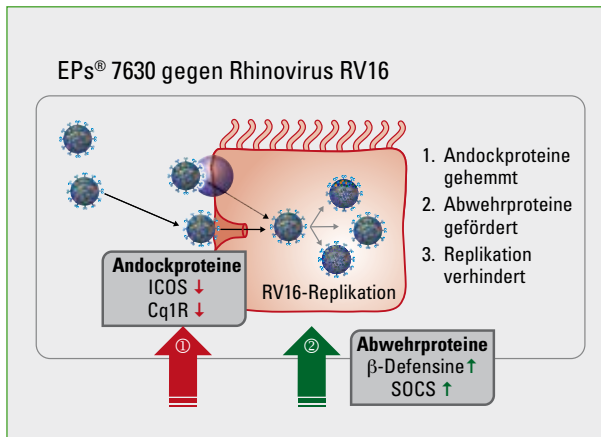


Abbildung 2: EPs® 7630 verlängert konzentrationsabhängig und signifikant das Überleben menschlicher Bronchialepithelzellen nach einer Rhinovirus-Infektion. Dieser Effekt wurde begleitet von einer verminderten Expression des induzierbaren Co-Stimulators (ICOS), seines Liganden ICOSL und des Zelloberflächen-Calreticulin (C1qR). Im Gegensatz dazu reguliert EPs® 7630 die Expression der Wirtsabwehrproteine beta-Defensin-1 und SOCS-1 sowohl bei Rhinovirus-infizierten als auch bei nicht infizierten menschlichen Bronchialepithelzellen hoch (*modifiziert nach Roth et al. 2019*).

auf die Expression von beta-Defensin-1, wohl aber einen leicht reduzierenden Effekt auf die SOCS-1-Expression. Die Ergebnisse der Untersuchung deuten somit darauf hin, dass EPs® 7630 konzentrationsabhängig Protein-Expressionsmuster zur antiviralen Abwehr modifiziert, indem es bestimmte Andockproteine für Rhinovirus 16 (ICOS, ICOSL und C1qR) an der Zellmembran herunterreguliert und die Produktion intrazellulärer Wirtsabwehrproteine (beta-Defensin-1 und SOCS-1) stimuliert (Abbildung 2). Die genauen Mechanismen sind zwar für SOCS-1 und beta-Defensin-1 noch nicht ausreichend erforscht, jedoch liefert das bessere Überleben der Bronchialzellen durch Vorinkubation mit EPs® 7630 Hinweise auf Mechanismen, die eine effektivere intrazelluläre Abtötung des Rhinovirus 16 zur Folge haben, so die Schlussfolgerung der Studienautoren.

In ihrer Studie konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass EPs® 7630 die Andockproteine ICOS und ICOSL nach Rhinovirus 16-Infektion reduziert. Aus der bisherigen Grundlagenforschung an Tiermodellen ist bekannt, dass eine Blockade des ICOS- und ICOSL-Signalwegs mit synthetischen Inhibitoren Entzündungen und pathologische Umbauprozesse der Atemwege reduzieren kann (*Kajiwar et al., Allergol Int. 2009; 58: 573–583; Sato et al., Adv Otorhinolaryngol. 2016; 77: 59–66; Blumer et al., J Biol Chem. 2017; 292: 17928–17938; Humphreys et al., Eur J Immunol. 2006; 36: 2928–2938*). Daher könnte EPs® 7630 durch die Reduktion der zellulären Bindung des Rhinovirus 16 die Infektionsrate und darüber hi-

naus immunzellvermittelte Entzündungen sowie dadurch bedingte Umbauprozesse an humanen Bronchialzellen ebenfalls mindern. Dies sollte durch weiterführende Untersuchungen noch objektiviert werden.

Hemmung der Replikation verschiedener Virustypen

EPs® 7630 kann die Replikation des Influenza A-Virus, des respiratorischen Syncytialvirus, des Coronavirus, des Parainfluenzavirus und des Coxsackievirus hemmen (*Michaelis et al., Phytomedicine. 2011; 18: 384–386*). Die vorliegende Arbeit liefert gleichfalls Hinweise darauf, dass unter Vorinkubation mit EPs® 7630 eine verminderte Infektionsrate auch mit einer verminderten RV16-Replikation einhergehen kann, so die Studienautoren. Die reduzierte Virusreplikation, gepaart mit der Verminderung viraler Andockproteine in allen Zelllinien (Asthma-, COPD- und Kontroll-Bronchialzellen), kann die positiven Auswirkungen des Pelargonium sidoides-Wurzelauszugs EPs® 7630 auf akute Atemwegsinfektionen erklären, wie sie beispielsweise bei Kindern beobachtet wurden (*Carredu & Pettenazzo, Int J Gen Med. 2018; 11: 91–98*), ebenso wie die geringere Rate an Exazerbationen bei COPD-Patienten, die mit EPs® 7630 behandelt wurden (*Matthys et al., Respir Med. 2013; 107: 691–701*). Die molekularbiologischen In-vitro-Ergebnisse unterstützen die klinisch dokumentierten antiviralen Vorteile bei Patienten mit Bronchitis, Asthma und COPD. Wie die Studienautoren schlussfolgern, könnte eine präventive Anwendung von EPs® 7630 virale Infektionen im Hinblick auf saisonal bedingte Erkrankungen der Atemwege verringern, sofern sie mindestens 24 Stunden vor Infektion erfolgt.

Fazit

In der vorliegenden Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass EPs® 7630 die Andockproteine ICOS und ICOSL von Zellen des Bronchialepithels nach einer Infektion mit Rhinovirus 16 reduziert und zugleich die Bildung der Wirtsabwehrproteine SOCS-1 und beta-Defensin-1 steigert. EPs® 7630 verlängerte zudem konzentrationsabhängig und signifikant nach einer Vorinkubationszeit von mindestens 24 Stunden das Überleben von humanen primären Bronchialepithelzellen nach Rhinovirus-Infektion ebenso wie das Überleben nicht infizierter Zellen in den geprüften Zelllinien. EPs® 7630 könnte durch Reduktion der zellulären Bindung des Rhinovirus 16 nicht nur die Infektionsrate senken, sondern darüber hinaus auch immunzellvermittelte Entzündungen und dadurch bedingte Umbauprozesse an menschlichen Bronchialzellen reduzieren.

Dr. rer. nat. Christine Willen

Lukasstr. 20 | 50823 Köln

E-Mail: Christine.Willen@live.de