

6. Zusammenfassung

Cytosolischen Calciumionen kommen bei der Genese der Bronchialobstruktion beim Asthma bronchiale und bei obstruktiven Atemwegserkrankungen eine große Bedeutung zu. Calcium-Antagonisten könnten als Hemmer des Calciumeinstroms in die Bronchialmuskelzelle alternativ zu β -Sympathomimetika einen Bronchospasmus verhindern.

Die bei der antihypertensiven Therapie angewendeten Calcium-Antagonisten Nifedipin, Verapamil und Diltiazem, die einen Calciumeinstrom durch spannungsabhängige Kanäle (VOCs = voltage operated channels) der Zellmembran verhindern, zeigen bei der Bronchialmuskulatur nur geringe Effekte. Daher wird vermutet, daß bei der Bronchialmuskulatur ein rezeptor-vermittelter Calciumeinstrom über ROCs (= receptor-operated channels) vorherrscht.

Zur Klärung dieser Vermutung wurden die neu entwickelten Calcium-Antagonisten SK&F 96365 und LOE 908 untersucht, für die eine Hemmung des rezeptor-vermittelten Calciumeinstroms angenommen wird. Das Ziel der Untersuchungen war es zu prüfen, ob eine Kontraktion der glatten Muskulatur der Meerschweinchentrachea durch diese Pharmaka gehemmt werden kann, und ob an der Meerschweinchentrachea somit auch der rezeptor-vermittelte Calciumeinstrom dominiert.

Das kontraktile Verhalten einer kanülierten und mit Krebs-Henseleit-Puffer (1,7 mmol/l Ca^{2+}) perfundierten Meerschweinchentrachea wurde in vitro untersucht. Als Maß für die Kontraktion wurde der Durchmesser der Trachea mit Hilfe eines Mikroskops und einer Videokamera (Auflösung von 15 μm) fortlaufend gemessen. Mit Histamin wurde eine rezeptor-induzierte Kontraktion und mit KCl eine spannungs-induzierte Kontraktion ausgelöst. Die Kontraktionen wurden mit Nifedipin als Referenzsubstanz und mit den neu entwickelten Calcium-Antagonisten SK&F 96365 und LOE 908 gehemmt.

Die Untersuchungen ergaben, daß der Einstrom extrazellulärer Calciumionen entscheidend zur Histamin- und KCl-induzierten Kontraktion beiträgt. Dies zeigte die Kontraktionshemmung in Ca^{2+} -freiem, EGTA- (0,1 mmol/l) haltigem Puffer. Weitere Untersuchungen konnten die starke hemmende Wirkung von Nifedipin auf den spannungsabhängigen Calciumeinstrom bestätigen. SK&F 96365 und LOE 908 zeigten bei der mit Histamin ausgelösten Kontraktion in einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ stärkere antispasmogene Wirkung als der VOC-Blocker Nifedipin

(10 $\mu\text{mol/l}$). SK&F 96365 (10 $\mu\text{mol/l}$) hemmte die mit 10^{-4} mol/l Histamin maximal auslösbare Kontraktion um 55% bei Innen- und Außenperfusion.

Dies spricht für die Existenz eines SK&F 96365- und LOE 908-sensitiven rezeptor-vermittelten Calciumkanals (ROC) an der Meerschweinchentrachea.

Dagegen war die Kontraktionshemmung von Nifedipin (10 $\mu\text{mol/l}$) bei dieser Perfusion lediglich im Konzentrationsbereich von 10^{-6} mol/l Histamin signifikant, und die maximal auslösbare Kontraktion blieb unverändert.

Die nur geringe Hemmung von Nifedipin bei einer durch Histamin ausgelösten Kontraktion zeigt, daß VOCs für eine Histamin-induzierte Kontraktion der Meerschweinchentrachea nur von untergeordneter Bedeutung sind.

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß an der Meerschweinchentrachea der rezeptor-vermittelte Calciumeinstrom gegenüber dem spannungsabhängigen Calciumeinstrom dominiert. Klinische Studien sind erforderlich, um zu klären, ob diese und weitere neue für die glatte Bronchialmuskulatur spezifische Ca^{2+} -Antagonisten für die Behandlung bei obstruktiven Atemwegserkrankungen mit Erfolg eingesetzt werden können.

Gudrun Baersch:

Role of receptor-operated calcium entry in smooth muscle contraction of guinea-pig trachea

7. Summary

Cytosolic calcium ions are of considerable importance in the induction of airway obstruction in bronchial asthma and obstructive airway diseases. Calcium antagonists may be able to block the calcium influx in bronchial muscle cells and to prevent bronchospasm as an alternative to β -adrenergic drugs.

The calcium channel blockers nifedipine, verapamil and diltiazem which are used for the treatment of hypertension, inhibit calcium influx through voltage-operated channels (VOCs) of the cell membrane. They only have mild effect on airway smooth muscle contraction. Thus Ca^{2+} entry through receptor-operated channels (ROCs) is assumed to be the major underlying mechanism on airway smooth muscle.

To elucidate this question, the author studied the novel calcium channel blockers SK&F 96365 and LOE 908, for which the ability to inhibit the receptor-operated calcium entry has been reported. The aim of this study was to investigate if these drugs are able to inhibit the smooth muscle contraction of the guinea-pig trachea and to find out if the receptor-operated Ca^{2+} entry is the major important mechanism in the guinea-pig trachea.

In in vitro studies the contractility of cannulated tubes of guinea-pig trachea perfused with Krebs-Henseleit buffer ($1,7 \text{ mol/l Ca}^{2+}$) was examined. Diameter changes of trachea tubes were recorded by a computerized video-microscopy bioassay system (resolution $15 \mu\text{mol/l}$). With histamine a receptor-mediated contractile response was induced and with KCl a voltage-mediated one. These contractions were inhibited by nifedipine as a reference agent and by the novel inhibitors SK&F 96365 and LOE 908.

The results indicate that KCl- and histamine evoked contractions are mainly due to an influx of extracellular Ca^{2+} . This was shown by experiments in Ca^{2+} -free medium containing EGTA ($0,1 \text{ mmol/l}$). Further examinations supported the potent ef-

fectiveness of nifedipine on voltage-operated Ca^{2+} -entry. SK&F 96365 and LOE 908 showed a more effective antispasmodic activity on histamine-induced contraction at a concentration of $10\ \mu\text{mol/l}$ than the VOC-blocker nifedipine ($10\ \mu\text{M}$). SK&F 96365 ($10\ \mu\text{mol/l}$) inhibited maximal contraction induced by histamine at concentrations of $10^{-4}\ \text{mol/l}$ by 55% by perfusion intra- and extraluminally.

The results suggest that an SK&F 96365- and LOE 908-sensitive receptor-operated calcium channel exists in the guinea-pig trachea.

In contrast, the inhibition by nifedipine, which was applied at the same concentration, was only significant at concentrations of $10^{-6}\ \text{mol/l}$ histamine, and the maximal contraction was unaffected.

The small effect of nifedipine on histamine-induced contraction suggest that VOCs play no important role in the histamine-induced contraction of the guinea-pig trachea.

These results indicate that the receptor-operated Ca^{2+} -entry is dominant over the voltage-operated Ca^{2+} entry in trachea. Clinical studies are needed to investigate whether these and other novel Ca^{2+} antagonistic drugs will be useful for the treatment of obstructive airway diseases.