

zahlreiche auch unbekannte, für die Messung eines Individuums bedeutsame Einflußfaktoren, d.h. sowohl biologische (z.B. Stoffwechsel, Endokrinum, Mitarbeit) als auch technische (z.B. Temperatur, Kurvenauswertung) summarisch erfaßt, quantifiziert und können damit in jedem Einzelfall bei der Auswertung des Medikamenteneffektes berücksichtigt werden. Beim Zweigruppenvergleich können nur *bekannte* Einflußgrößen Berücksichtigung finden: Dies ist i. allg. – auch in unserer Studie – eine Tagesrhythmik, die beispielsweise durch Kortisolausschüttung hervorgerufen wird. Daß die intraindividuelle Streubreite der Meßwerte am Leertag (Varkoeff₁), die ein Ausdruck sämtlicher Störeinflüsse, d.h. auch unbekannter, darstellt, bei den einzelnen Probanden ganz erhebliche Unterschiede aufweisen kann, belegt Tabelle 1. Die Einzelfallanalyse ist somit spezifischer, möglicherweise aber auch weniger sensitiv, da – im Gegensatz zum Zweigruppenvergleich – als Kontrolle nicht Einzelwerte zu bestimmten Zeitpunkten, sondern die Meßwertschwankungen eines ganzen Tages herangezogen werden. Dies bedeutet, daß beide Auswertungsverfahren unterschiedliche Informationen liefern und damit bei simultaner Durchführung eine differenzierte Beurteilung einer Medikamentenwirkdauer ermöglicht.

Schlußfolgerungen

Serielle Untersuchungen des sRaw bei lungengesunden Rauchern zeigen nach Formoterol-Applikation eine bronchodilatatorische Wirkung von mehr als 16 Stunden. In Übereinstimmung mit der Literatur erweist sich der sRaw bei der Prüfung von Pharmaka als sensitiver, einer Spirometrie überlegener und verlässlicher Parameter zum Nachweis einer Bronchodilatation und gilt damit be-

rechtigerweise als funktionsanalytisches Standardverfahren. Bei der Prüfung der bronchodilatatorischen Wirkdauer von Pharmaka sollte neben dem üblichen Zweigruppenvergleich regelmäßig auch eine Einzelfallanalyse vorgenommen werden. Während beim Zweigruppenvergleich nur bekannte Einflußgrößen, z.B. die Auswirkungen einer tagesrhythmischen Kortisolausschüttung Berücksichtigung finden, können mittels Einzelfallanalyse zahlreiche weitere Störfaktoren, d.h. auch solche unbekannter Ursache, erfaßt und von der eigentlichen Pharmakonwirkung abgegrenzt werden. Somit erhöht die Einzelfallanalyse die Datentransparenz und erlaubt eine spezifischere Erfassung der bronchodilatatorischen Wirkdauer.

LITERATUR

- [1] Bates D. V.: Respiratory function in disease. Saunders, Philadelphia 1989.
- [2] Löllgen H.: Kardiopulmonale Funktionsdiagnostik. Edition CIBA, Wehr 1986.
- [3] Nolte D., A. Burghele: Bronchospasmyse mit Beta-2-Sympathikomimetika – Erfahrungen mit dem langwirkenden Dossier-Aerosol Formoterol. Düstri, München-Deisenhofen 1989.

PD Dr. med H. Kronenberger
Abteilung für Pneumologie
Zentrum der Inneren Medizin
Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Theodor-Stern-Kai 7
D-6000 Frankfurt am Main 70

Der Einfluß von Theophyllin auf die Expression und Funktion von β_2 -Adrenozeptoren an peripheren Lymphozyten von Asthmatikern

I. LANGENMAYER¹, E. HAEN¹, H.-P. EMSLANDER², R. HAUCK³, B. LIEBL¹ und J. REMIEN¹

¹ Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Ludwig-Maximilians-Universität München,

² Medizinische Klinik und Poliklinik, Technische Universität München, Klinikum Rechts der Isar,

³ Medizinische Klinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München

Schlüsselwörter: Asthma bronchiale – β_2 -Adrenozeptoren (Lymphozyten) – cAMP – Theophyllin – zirkadiane Schwankung (Lungenfunktion, β -Rezeptoren).

Key words: Bronchial asthma – β_2 -Adrenoceptors – cAMP – theophylline – circadian variation.

Einleitung

Seit vielen Jahren werden Untersuchungen an β -Rezeptoren peripherer Lymphozyten zur Aufklärung der Ätiologie des Asthma

bronchiale, aber auch zur Aufklärung der Wirkungsmechanismen antiasthmatischer Medikamente durchgeführt. Für die Substanzgruppe der β_2 -Mimetika wurde eine ausgeprägte »Down-Regulation« der Rezeptordichte [1, 2, 3] bei unveränderter Affinität der Rezeptoren zu ihren Liganden beschrieben, die mit einem verminderten basalen cAMP-Gehalt der Zellen und einer verminderten Stimulierbarkeit der Adenylatzyklase durch Isoprenalin einhergeht [2, 5, 7, 10].

Die Auswirkungen einer Therapie mit Theophyllin wurden in ähnlicher Weise interpretiert [12]. Gesunde Probanden zeigten nach einwöchiger oraler Theophyllinmedikation eine Verminderung ihrer Rezeptorzahlen um 25%, begleitet von einer um 22% verminderten Stimulierbarkeit der cAMP-Produktion. Dieser Befund steht im Widerspruch zur gegenwärtigen Vorstellung der Theophyllinwirkung: Über Phosphodiesterasehemmung einerseits und Adenosinantagonismus andererseits wird eine intrazelluläre cAMP-Erhöhung verursacht; der erhöhte cAMP-Spiegel inhibiert die Freisetzung inflammatorisch aktiver Mediatoren und potenziert die Wirkung der β_2 -Mimetika [6, 8, 11].

Wir berichten im folgenden von 7 vorher unbehandelten exogen-allergischen Asthmatikern, bei denen wir den Effekt von zweimal täglich oral verabreichtem Theophyllin auf Rezeptordichte und -funktion verfolgten.

Material und Methoden

Wir untersuchten 7 männliche Asthmtiker im Alter von 19–37 Jahren ohne weitere Begleiterkrankungen. Die exogen-all-

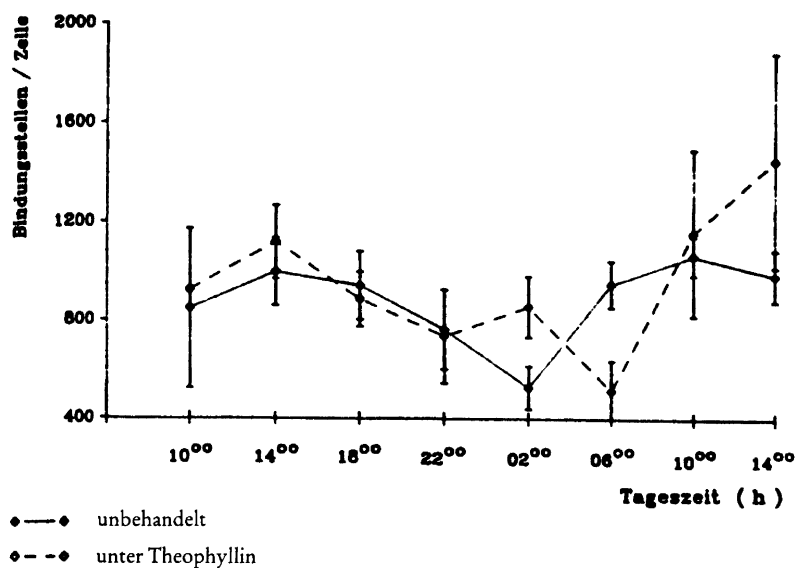


Abb. 1 Tageszeitliche Variation der β_2 -Adrenozeptordichte auf Lymphozyten un behandelter Asthmatiker vor und nach Theophyllintherapie ($x \pm S.E.$, $n = 7$, Anova $p < 0,01$).

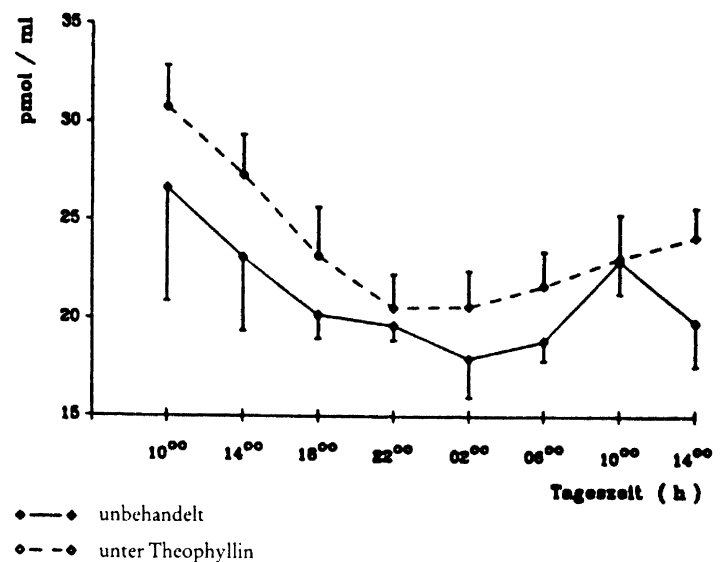


Abb. 2 Zirkadiane Variation der cAMP-Konzentration im Plasma von Asthmatikern vor und nach Theophyllin-Behandlung ($x \pm S.E.$, $n = 7$, Anova $p < 0,01$, t-Test $p < 0,01$).

gische Genese der asthmatischen Beschwerden wurde durch Anamnese, Intrakutantest, den Nachweis spezifischer IgE-Antikörper und Allergenexposition gesichert.

Den Versuchspatienten wurde alle 4 Stunden (siebenmal innerhalb von 24 Stunden) venöses Blut aus der Kubitalvene entnommen. Anschließend wurde die Lungenfunktion mit einem computergetriebenen Spirometer, durch Messung des Ein-Sekunden-Expirationsvolumens (FEV₁), erfasst. Die peripheren mononukleären Zellen wurden durch Dichtegradzentrifugation mit Lymphopaque gewonnen und mit ¹²⁵Iodozyanopindolol inkubiert [4].

Die Zellen wurden teils ohne und teils mit Zusatz von 10^{-7} mol/l(-)Isoproterenol über 5 Minuten bei 37 Grad Celsius inkubiert, hitzezerstört und der basale und stimulierte cAMP-Gehalt in einem Radio-Immuno-Assay bestimmt. Der cAMP-Gehalt im Plasma wurde im gleichen Radio-Immuno-Assay gemessen. Die Untersuchung wurde nach siebentägiger Therapie mit Theophyllin (350 mg Bronchoretard um 8 Uhr, 700 mg um 22 Uhr) wiederholt.

Zur statistischen Sicherung der Ergebnisse wurde für zirkadiane Schwankungen die Varianzanalyse (Anova), zum Vergleich un behandelter Asthmatiker/mit Theophyllin behandelte Asthmatiker wurde der t-Test nach Student verwendet.

Ergebnisse

Unbehandelte ebenso wie mit Theophyllin behandelte Asthmatiker zeigten eine deutliche tageszeitliche Schwankung der β_2 -Adrenozeptordichte, die jeweiligen Minima fanden sich parallel zur Verschlechterung der Lungenfunktion in der zweiten Nachthälfte um 2 bzw. um 6 Uhr (528 ± 88 bzw. 515 ± 124 Rez./Zelle $\pm S.E.$), die Maxima um 10 bzw. 14 Uhr (1069 ± 80 bzw. 1458 ± 436 Rez./Zelle, $p < 0,01$). Die Schwankungsbreite um den 24-Stunden-Mittelwert betrug 63% respektive 102%. Kurvenverlauf, Schwankungsbreite und 24-Stunden-Mittelwerte sowie Rezeptoraffinität wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen auf.

Die cAMP-Konzentration in den Lymphozyten vor Stimulation mit Isoproterenol (Basalwert) war nach Theophyllin-Medikation mit $5,5 \pm 0,6$ pmol/ 10^6 Zellen (24-Stunden-Mittelwert $\pm S.E.$)

gegenüber $4,0 \pm 0,3$ pmol/ 10^6 Zellen deutlich höher. Durch 10^{-7} mol/l Isoproterenol ließ sich der intrazelluläre cAMP-Gehalt um 144% vor bzw. 147% nach Theophyllin steigern.

Die cAMP-Konzentration im Plasma zeigte nach Behandlung zu allen Meßzeitpunkten um 13% höhere Werte als ohne Therapie ($23,9 \pm 1,0$ bzw. $21,2 \pm 1,2$ pmol/ml 24-Stunden-Mittelwerte $\pm S.E.$, t-Test $p < 0,01$). Der Verlauf der Kurve zeigte eine signifikante zirkadiane Schwankung (Anova $p < 0,01$) und eine gute Korrelation mit der β_2 -Adrenozeptordichte ($p < 0,05$).

Diskussion

Ebenso wie die Lungenfunktionswerte zeigte die β_2 -Adrenozeptordichte pro Lymphozyt in den frühen Morgenstunden einen Tiefpunkt an. Die FEV₁-Werte ließen sich durch die Theophyllintherapie deutlich bessern, während die Rezeptoren weiterhin einen frühmorgendlichen Einbruch aufwiesen. Weder die Messung der Rezeptordichtewerte noch die Affinität, die im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen als vermindert beschrieben wurde [4], spiegeln den klinischen Erfolg der Theophyllintherapie wieder.

Als wesentlicher Mechanismus der Theophyllinwirkung erscheint die nicht über den β_2 -Rezeptor laufende Erhöhung des intrazellulären und systemischen cAMP-Gehaltes. Die bei Gesunden im Vergleich zu un behandelten Asthmatikern signifikant höheren cAMP-Plasma-Konzentrationen liefern einen weiteren Hinweis zur Bedeutung dieses »second messenger« für die Symptomatik des Asthma bronchiale [9].

Unsere Ergebnisse sind gut vereinbar mit den postulierten Wirkmechanismen der Theophylline: Phosphodiesterasemmung und Adenosin antagonismus ergänzen sich in der cAMP-Erhöhung; cAMP wiederum inhibiert die Freisetzung von Histamin, Leukotrienen sowie des Plättchen-aktivierenden Faktors (PAF) [6, 8, 11]. Als wichtige Voraussetzung einer synergistisch-potenzierenden Wirkung mit β_2 -Mimetika ist die durch Theophyllin nicht »down-regulierte« Rezeptordichte zu betrachten.

Die von [12] beschriebene »Down-Regulation« der Rezeptordichte und der Stimulierbarkeit der cAMP-Produktion ist wohl durch die deutlichen tageszeitlichen Schwankungen der gemessenen Parameter zu erklären, die bisher nicht berücksichtigt wurden.

Danksagung

Ohne die hervorragende technische Unterstützung unserer Mitarbeiterinnen Iris Reithmeier, Sybille Reder und Ulrike Schwai-ger wäre die Untersuchung nicht durchführbar gewesen.

LITERATUR

- [1] Aarons R.D., A.S. Nies, J.G. Gerber, P.B. Molinoff: Decreased beta adrenergic receptor density on human lymphocytes after chronic treatment with agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 224, 1–6 (1983).
- [2] Brodde O.-E., M. Brinkmann, R. Schemuth, N. O'Hara, A. Daul: Terbutaline-induced desensitization of human lymphocyte β_2 -adrenoceptors. *J. Clin. Invest.* 76, 1096–1101 (1985).
- [3] Galant S.P., L. Duriseti, S. Underwood, P.A. Insel: Decreased beta-adrenergic receptors on polymorphonuclear leukocytes after adrenergic therapy. *New Engl. J. Med.* 299, 933–936 (1978).
- [4] Haen E., H.P. Emslander, B. Liebl, I. Langenmayer, J. Remien: Zirkadiane Variationen bei der Expression von β_2 -Adrenozeptoren auf peripheren Lymphozyten von Gesunden und Asthmatikern. *Atemw.-Lungenkrkh.* 15, 387–389 (1989).
- [5] Köeter G.H., H. Meurs, H.F. Kauffman, J.G.R. de Monchy, H.J. Sluiter, K. de Vries: Changes in the beta-adrenergic system in bronchial asthma induced by terbutaline. *Agents and actions* 13, 259–264 (1983).
- [6] Kuehl F.A.Jr., M.E. Zanetti, D.D. Soderman, D.K. Miller, E.A. Ham: Cyclic AMP-dependent regulation of lipid mediators in white cells. A unifying concept for explaining the efficacy of theophylline in asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 136, 210–213 (1987).
- [7] Martinsson A., K. Larsson, P. Hjerdahl: Reduced β_2 -adrenoceptor responsiveness in exercise-induced asthma. *Chest* 88, 594–600 (1985).
- [8] Nielson C.P., J.J. Crownley, M.E. Morgan, R.E. Vestal: Polymorphonuclear leukocyte inhibition by therapeutic concentrations of theophylline is mediated by cyclic-3',5'-adenosine monophosphate. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137, 25–30 (1988).
- [9] Pangerl A.: Zirkadiane Schwankungen der β -Adrenozeptor-dichte menschlicher Lymphozyten bei gesunden Probanden. *Med. Diss. München* 1987.
- [10] Parker Ch.W., J.W. Smith: Alterations in cyclic adenosine monophosphate metabolism in human bronchial asthma: I. leukocyte responsiveness to β -adrenergic agents. *J. Clin. Invest.* 52, 48–59 (1973).
- [11] Pauwels R.A.: New aspects of the therapeutic potential of theophylline in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 548–553 (1989).
- [12] Scarpace P.J., M.R. Littner, D.P. Tashkin, I.B. Abrass: Lymphocyte beta-adrenergic refractoriness induced by theophylline or metaproterenol in healthy and asthmatic subjects. *Life Sci.* 31, 1567–1573 (1982).

Dr. med. E. Haen
Walter Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Ludwig-Maximilians-Universität
Nußbaumstraße 26
D-8000 München 2

Stimulierende Wirkung von Aminophyllin auf die körpereigene Kortisol-Freisetzung bei Asthma-Kranken im Verlauf langjähriger Glukokortikoid-Therapie

B. PIOTROWSKA, W. DROZCZ, E. WALAJTYS-RODE,
M. MADALIŃSKA und D. BRZOSTEK

Pneumologische Klinik der Medizinischen Akademie Warschau

Schlüsselwörter: Aminophyllin – Nebennierenrinden-Insuffizienz – Stimulation der Kortisol-Freisetzung.

Key words: Aminophylline – supra renal cortex insufficiency – stimulation of cortisol release.

In den 60iger und 70iger Jahren wurden Publikationen veröffentlicht, in denen der Einfluß des Aminophyllins (z.B. Euphyllin) auf die Kortisol-Synthese und -Freisetzung diskutiert wurde. Eigene Beobachtungen [1] bei 8 Asthma-Patienten mit sekundärer Nebennierenrinden-Insuffizienz als Folge langjähriger Glukokortikoid-Therapie zeigten eine deutliche Zunahme der Kortisol-Plas-

makonzentration nach intravenöser Aminophyllin-Applikation. Die geringe Patientenzahl der Studie veranlaßte uns zur Erweiterung der Beobachtungen.

Patienten und Methoden

60 Patienten mit kortikoidbedürftigem Asthma bronchiale (34 Frauen und 26 Männer) unter Kortikoid-Dauerbehandlung wurden in die Studie einbezogen. Die Einteilung in die Gruppen erfolgte aufgrund der Veränderungen der Kortisol-Plasmakonzentration während des Tetracosactrin-Testes [3]. Der stimulierende Effekt des Depots (Synacthen Depot; Ciba Geigy) wurde innerhalb 5 Stunden nach der Applikation beobachtet. Bei 30 Patienten (Gruppe A) wurde eine normale Nebennierenrinden-Funktion nachgewiesen, die anderen 30 Patienten mit sekundärer Nebennierenrinden-Insuffizienz bildeten die Gruppe B (Tab. 1).

Als Referenzwerte der Plasmakortisolkonzentration diente derselbe Test bei 15 Asthma-Patienten, die nie mit Kortikoiden behandelt worden waren; in dieser Kontrollgruppe ließen sich folgende Kortisolwertänderungen beobachten: Ausgangswert 8,4 $\mu\text{g}/\text{dl}$, nach 5 Stunden 30,7 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

Der Aminophyllin-Test und Plazebo-Test (physiologische Kochsalzlösung) wurden an 2 Tagen nach den Regeln von [2] durchgeführt. Jedem Patient wurde um 8.00 Uhr morgens ein Polyäthylkatheter in die Vena mediana cubiti eingelegt. Um 9.00