

4 DISKUSSION

Als ein effektives, nebenwirkungsarmes Tokolytikum hat der Oxytocin-Antagonist Atosiban sich in klinischen Alltag in den letzten Jahren etablieren können. In einer 2006 veröffentlichten Meta-Analyse, die Vorteile und Nachteile der zur Zeit am meisten verwendeten Tokolytika wie den Betamimetika, den Ca^{2+} -Kanal-Antagonisten, Magnesium, den nichtsteroidalen Antiphlogistika und dem Oxytocin-Antagonisten Atosiban evaluierte, musste jedoch Tan feststellen, dass es immer noch nicht ein eindeutiges Tokolytikum der ersten Wahl gibt [69]. Tokolytische Substanzen sollten, so Tan, individuell eingesetzt werden, basierend auf dem mütterlichen Zustand, möglichen Nebenwirkungen und dem Gestationsalter.

In der hier vorliegenden *in vitro*-Studie wurden drei Tokolytika von den oben zitierten Substanzklassen verwendet: Atosiban, Nifedipin und Fenoterol. Die Arbeit folgt einer Serie von *in vitro* Untersuchungen des Labors für Perinatalmedizin zur Wirkung verschiedener Substanzen an humanem Myometrium von Schwangeren [67, 70]. Die Experimente wurden unter Oxytocinstimulation durchgeführt. Büscher et al. machten die Beobachtung, dass während der Versuchsphase mit Atosiban die Spontanaktivität nicht gänzlich ausgeschaltet wurde und eine Restaktivität blieb. Vergleich man diese Aktivität mit der spontanen Kontraktibilität genau vor der Atosiban-Messung, war eine deutliche Verminderung der Aktivität unter die der Spontanaktivität festzustellen [67]. Diese Beobachtung ist in Abbildung 10 nachvollziehbar. Büscher et al. setzten 15 Minuten Spontanaktivität mit 100% gleich und verglichen die Aktivität mit der von Atosiban unter Oxytocinstimulation. Eine

Konzentration von 1 µg/ml Atosiban bewirkte eine Aktivitätsminderung auf 65% der Grundaktivität. Mit ansteigender Atosibanmenge wurde diese Hemmung verstärkt: bei 25 µg/ml und 50 µg/ml Atosiban lagen die Aktivitäten bei 55% der Grundaktivität [71]. Basierend auf diesen Voruntersuchungen [67] wurde die Hypothese aufgestellt, dass Atosiban auch einen Einfluss auf die basale Aktivität der glatten uterinen Muskulatur haben müsse. Aus dieser Überlegung ergab sich, für die hier vorgestellte Untersuchung, den Vergleich tokolytischer Substanzen nicht nur an oxytocinstimulierten, sondern auch an spontanen Kontraktionen zu erheben.

Für alle drei Substanzen Atosiban, Nifedipin und Fenoterol wurde bei spontanen wie auch bei Oxytocin stimulierte Myometriumkontraktionen eine tokolytische Wirkung nachgewiesen. Atosiban erwies sich bei oxytocinstimulierten Versuchen als bestes der drei Tokolytika, was nicht anders zu erwarten ist, stellt es einen kompetitiven Antagonisten zu Oxytocin dar. Es ist als bemerkenswertes Ergebnis hervorzuheben, dass Atosiban zu einer deutlichen Hemmung bei den Versuchen ohne Stimulation führte. Das zweite herausragende Ergebnis dieser Studie ist, dass Nifedipin insgesamt bei den spontanen Versuchreihen die stärkste tokolytische Wirkung erzielte. Fenoterol konnte weder bei spontanen noch bei oxytocinstimulierten Versuchreihen eine bessere Wirkung als Atosiban oder Nifedipin erzielen. Als Konsequenz aus diesen Ergebnissen ist der Einsatz von Fenoterol überprüft worden und hat Nifedipin in unserer Klinik als Tokolytikum der 1. Wahl Einzug gehalten, da sich die Ergebnisse auch klinisch bestätigten.

4.1 Atosiban

4.1.1 Atosiban, stärkstes Tokolytikum bei Oxytocinstimulation

In unseren Versuchen ist deutlich geworden, dass Atosiban unter Stimulation mit Oxytocin mit einer Restkontraktion von 30% die stärkste Hemmung am Myometrium bewirkt. Bei dem Vergleich der drei Nifedipin-Konzentrationen mit 58-77% Restkontraktion versus 500 pg/ml Fenoterol mit 74% Restkontraktion ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Die inhibitorische Wirkung von Atosiban an oxytocinstimulierten Myometriumgewebe konnte vielfach mit einer ähnlichen *in vitro* Versuchsmethode am Tiermodell [72, 73] wie auch an humanem Gewebe von schwangeren Frauen [67, 74, 75, 76, 77] demonstriert werden. Dabei korrelierte die Wirkung von Atosiban mit der Anzahl der Oxytocin-Rezeptoren [75] und wirkte dosisabhängig [67].

Es gibt eine Untersuchung an Myometriumgewebe von schwangeren Wistar Ratten von Chimura [78], in der Atosiban mit dem β -Agonist Ritodrin sowohl an spontanen und mit 0.005 E/ml Oxytocin stimulierten Kontraktionen verglichen wurde. Es wurde eine andere Methode, „Micro-Balloon“, verwendet. Als Wertbestimmung galt die Zeit bis eine 100 %ige Hemmung erreicht wurde. 5 μ g/ml Ritodrin zeigte sowohl bei stimulierten wie unstimulierten Myometriumkontraktionen innerhalb von einer Minute eine 100 %ige Hemmung. Hingegen hatte Atosiban bei spontanen Myometriumkontraktionen bei einer ansteigenden Gabe von jeweils 1 μ g/ml bis maximal 50 μ g/ml keinerlei Wirkung.

Bei Kontraktionen nach Oxytocinstimulation führte Atosiban, bei variierenden Konzentrationen von 5-50 µg/ml nach $14,8 \pm 1,1$ min. zu einer vollständigen Hemmung.

Im Vergleich zu dieser Studie muss bedacht werden, dass bei Chimura die fünffache Menge Oxytocin zur Stimulation und eine 10 bis 100fache Atosiban-Konzentration verwendet wurde. Chimura bestätigt eine Hemmung durch Atosiban bei oxytocinstimulierten Kontraktionen. Es ist eine zu erwartende Reaktion, da Atosiban als direkter Antagonist die Interaktion des Agonisten Oxytocin mit dem Rezeptor blockiert und es somit zu einer Herabsetzung der intrazellulären Ca^{2+} Freisetzung kommt.

Hingegen widerspricht unseren Ergebnissen das Ausbleiben einer Hemmung durch Atosiban bei spontanen Myometriumkontraktionen bei Chimura.

4.1.2 Inhibitorische Wirkung von Atosiban: ein möglicher Inverser Agonist?

Unsere Untersuchungen von Atosiban an spontan kontrahierendem Myometrium stimmten mit den Beobachtungen von Büscher et al. aus unserer Arbeitsgruppe überein [67]. Mit einer Restaktivität von 86% muss ein Einfluss von Atosiban auf die basale Aktivität der glatten uterinen Muskulatur vermutet werden. Eine dosisabhängige Hemmung spontaner Kontraktionen durch Atosiban in *in vitro* Studien wird ebenfalls von Doret et al. an Myometrium von schwangeren Ratten [79] und Wilson et al. an humanem Myometrium [80] beschrieben.

Aus diesen Beobachtungen stellt sich die Frage, welche Mechanismen hinter diesem Phänomen stehen. In einem ersten Erklärungsmodell kann festgehalten werden, dass eine inhibitorische Wirkung des Antagonisten Atosiban offensichtlich in Abwesenheit von systemischem Oxytocin, dem eigentlichen kompetitiven Gegenspieler, stattfindet. Hieraus kann die Annahme gemacht werden, dass der Oxytocin-Rezeptor ohne Agonist eine spontane Aktivität generieren kann (auch in der *in vitro* Situation) und dass dadurch der Antagonist Atosiban einen Einfluss auf die „basale“ Aktivität des glatten uterinen Muskels nehmen kann. Ein weiterer Erklärungsversuch zu der inhibitorischen Wirkung von Atosiban in Abwesenheit von „systemischen“ Oxytocin, ist die Annahme eines Antagonismus von parakrin gebildetem Oxytocin im Uterus.

Die klassischen Konzepte pharmakologischer Wirkungen von Substanzen besagen, dass Agonisten entweder voll oder partiell die rezeptorvermittelte funktionale Antwort stimulieren, während Antagonisten die Interaktion des Agonisten mit dem Rezeptor blockieren und keine eigene intrinsische Aktivität aufweisen.

Es ist jedoch mittlerweile anerkannt, dass G-Protein-gekoppelte Rezeptoren gelegentlich auch in Abwesenheit eines Liganden aktiviert werden. Dieses Phänomen wird als *konstitutive Aktivierung* bezeichnet [81] und wurde unter anderem für die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren von Benzodiazepinen, Cannabinoiden und Dopamin beschrieben [82]. Rezeptormutationen, die entweder spontan, bei gewissen Erkrankungen oder experimentell geschaffen

werden, können dafür verantwortlich sein [81].

Liegt eine konstitutive Aktivierung vor, können Antagonisten den Grad der Aktivierung verringern. Antagonisten, die eine konstitutive Aktivierung hemmen, werden als *inverse Agonisten* bezeichnet. Obwohl alle Antagonisten die Rezeptor-Bindung des Agonisten verhindern, kann nur ein Teil der Antagonisten als Inverse Agonisten agieren [83].

Eine konstitutive Aktivierung kann für den Oxytocin-Rezeptor vermutet werden. 1999 haben Fanelli et al. die erste konstitutiv aktive Mutation des Oxytocin-Rezeptors identifiziert. Fanelli konnte des weiteren durch den Oxytocin-Rezeptor-Mutant R137A demonstrieren, dass der spezifische Antagonist OTA (d(CH₂)₅[Tyr(Me)₂,Thr₄,Tyr-9-NH₂]-OVT), einer der am meisten verwendeten Analoga, um pharmakologische und funktionale Aspekte des humanen Oxytocin-Rezeptors zu beschreiben, sich als inverser Agonist verhielt [84].

Die *konstitutive Aktivierung* von Rezeptoren scheint vor allem dann aufzutreten, wenn eine hohe Rezeptor-Konzentration vorhanden ist. So zeigten Bond et al. bei transgenen Mäusen, dass die Überexprimierung von β -Adrenorezeptoren in einer gezüchteten Zelllinie zu einer konstitutiven Aktivierung führt [85].

Es findet im Vergleich zu nichtschwangerem Myometrium ein beträchtlicher Anstieg der Oxytocin-Rezeptor-Expression am menschlichen Uterus im Verlauf der Schwangerschaft statt [33, 86]. Mit der Geburt wird das Maximum der Rezeptorenanzahl erreicht. Maggi et al. konnten sogar nachweisen, dass die spontane uterine Aktivität während der späten Schwangerschaft und am Termin mit der Anzahl der Oxytocin-Rezeptoren korreliert [87].

Wenn eine hohe Rezeptor-Konzentration die konstitutive Aktivierung von

Rezeptoren fördert, ist die Möglichkeit gegeben, dass auch Oxytocin-Rezeptoren zur Geburt hin aktiviert werden und dies mit zu der Initiierung der Geburt führen kann ohne eine zusätzliche Oxytocin-Synthese oder Freisetzung. Denn interessanterweise ist die Geburt beim Menschen nicht mit einem Anstieg der Konzentration an Plasma-Oxytocin assoziiert, auch wenn einige Studien [14], aber nicht alle Studien [15] pulsatile Anstieg der Plasmakonzentration annehmen.

Die Hypothese einer konstitutiven Aktivierung des Oxytocin-Rezeptors und die Rolle eines inversen Agonisten für Atosiban wurde auch von Wilson et al. aufgestellt [80]. In seiner *in vitro* Studie an spontanen Kontraktionen bei Myometriumstreifen von schwangeren Frauen werden für Atosiban und dem im Vergleich zu Atosiban, viel spezifischeren und selektiveren Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten L-371,257, eine Inhibition der Aktivität des Oxytocin-Rezeptors beobachtet. Vor allem die Inhibition des spezifischen L-371,257 stützt die Annahme, dass der Rezeptor fundamental für die Generation von spontaner Aktivität (*in vitro*) zu sein scheint [80].

Ein weiterer Erklärungsversuch der inhibitorischen Wirkung von Atosiban in Abwesenheit von systemischen Oxytocin, ist die Annahme eines Antagonismus von lokal gebildetem Oxytocin.

Mittlerweile konnte gezeigt werden, dass Oxytocin nicht nur im Hypothalamus gebildet wird. Eine intrauterine Produktion von Oxytocin konnte zuerst an Ratten demonstriert werden [25] und wurde später auch für den Menschen durch den Nachweis einer gesteigerten Synthese von Oxytocin mRNA mit

Beginn der Geburt in Amnion-, Chorion- und Deziduagewebe bestätigt [22]. Blanks et al. konnten an humanem Gewebe nicht nur für Oxytocin mRNA eine signifikante Steigerung in Chorion-, Dezidua-, Amnion- und Uterusgewebe zur Geburt hin zeigen, sondern auch für das Oxytocin-Peptid an sich [88]. Somit kann für Oxytocin eine parakrine wie auch autokrine Auswirkung auf die Oxytocin-Rezeptoren postuliert werden.

Für die *in vitro* Situation dieser Versuchsreihe wäre jedoch eine kontinuierliche autokrine Oxytocin-Synthese über mehrere Stunden erforderlich, um eine Rezeptorstimulation aufrecht zu erhalten. Oxytocin würde dann entweder aus den Gewebestreifen während der Spülphasen diffundieren oder durch proteolytische Proteine abgebaut werden [80]. Von daher erscheint uns die autokrine Synthese von Oxytocin in dieser *in vitro* Situation unwahrscheinlich.

4.2 Nifedipin

4.2.1 Nifedipin, stärkstes Tokolytikum bei spontanen Kontraktionen

Das hervorstechende und überraschende Ergebnis ist, dass unter den drei untersuchten Substanzen Nifedipin als stärkste tokolytische Substanz an spontanen Myometriumkontraktionen wirkt.

Für Nifedipin wurde eine dosisabhängige hemmende Wirkung in *in vitro* Versuchen an spontankontrahierenden [89, 90] wie auch bei oxytocinstimulierten [90, 91] Myometriumgeweben von schwangeren Frauen nachgewiesen.

In unseren Versuchen können wir zum ersten Mal die signifikant bessere

tokolytische *in-vitro*-Wirkung von Nifedipin an spontan kontrahierendem Myometriumphgewebe von Schwangeren zeigen. Von Forman et al. gibt es eine einzige Untersuchung, die sowohl an spontanen wie auch an oxytocinstimulierten Kontraktionen durchgeführt wurde. Forman et al. beschreibt für beide Zustände nicht nur die dosisabhängige Wirkung, sondern auch eine komplette Aufhebung der Kontraktionen mit Nifedipin in Konzentrationen von 2.9×10^{-6} M [90]. Diese Konzentration liegt 10 bis 100fach höher im Vergleich zu unseren verwendeten Konzentrationen.

Die weitaus bessere Hemmung von Nifedipin im Vergleich zu β -Agonisten oder Oxytocin-Antagonisten bei unstimulierten Kontraktionen *in vitro* wird durch Studien von Ballejo und Doret bestätigt.

Ballejo zeigt an schwangerem humanen Myometrium im Vergleich Nifedipin mit Fenoterol ($>10 \times 10^{-6}$ M), dass Fenoterol keinen hemmenden Effekt, lediglich eine Verminderung der Kontraktionsfrequenz aufweist, während Nifedipin zu einer konzentrationsabhängigen Inhibition der spontanen Kontraktionen führte [89]. Im Vergleich dazu liegen unsere verwendeten Fenoterol Konzentrationen um das 1000fache niedriger (Fenoterol $1,65 \times 10^{-9}$ M, $3,3 \times 10^{-9}$ M und $6,6 \times 10^{-9}$ M).

Eine Gegenüberstellung aller drei Substanzklassen Ca^{2+} -Antagonisten, β -Agonisten und Oxytocin-Antagonisten findet sich in der Literatur nur in einer einzigen Studie von Doret [79].

Doret et al. verglich Nicardipin anstelle von Nifedipin mit Ritodrin und Atosiban. Die tokolytische Wirkung wurde an spontanen Kontraktionen von Myometriumphgewebe schwangerer Wistar-Ratten gemessen. Es fand keine Stimulation der Kontraktionen statt. Auch bei Doret erwies sich, dass der Ca^{2+} -

Antagonist an unstimuliertem Myometrium im Vergleich zu Atosiban und Ritodrin die wirksamste Hemmung aufwies. Sowohl der Ca^{2+} -Antagonist wie auch Atosiban waren dem β -Agonisten überlegen. Es wurden verschiedene Konzentrationen verglichen. Alle drei Substanzen zeigten ab einer gewissen Dosis ähnliche Kontraktionshemmungen.

Die unterschiedliche Hemmwirkung von Nifedipin an unstimulierten und oxytocinstimulierten Myometriumkontraktionen könnte damit erklärt werden, dass Oxytocin durch andere Mechanismen, auf die der Ca^{2+} -Kanal-Antagonist keinen Einfluss hat, zu einem Anstieg von Ca^{2+} -Ionen in der glatten Muskelzelle und damit zur Auslösung der Kontraktionen führt.

Der wichtigste Faktor, der die Kraft im Myometrium bestimmt, ist die Konzentration der freien intrazellulären Ca^{2+} -Ionen. Dabei spielt vor allem der Calciumeinstrom durch spannungsabhängige L-Typ Ca^{2+} -Kanäle eine wichtige Rolle. Die Hauptquelle des für die Kontraktion benötigten Ca^{2+} liegt im extrazellulären Raum. Nifedipin als Ca^{2+} -Kanal-Antagonist hemmt direkt am L-Typ Ca^{2+} -Kanal den Einstrom von Ca^{2+} -Ionen und damit die Kontraktion.

Die kontraktionsfördernde Wirkung von Oxytocin hingegen bedient sich eines anderen Freisetzung-Mechanismus von Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum.

Nach Bindung von Oxytocin aktiviert der Oxytocin-Rezeptor das Guanosin-Bindungsprotein (G-Protein), welches der Subfamilie $\text{G}\alpha_q$ angehört. Das aktivierte $\text{G}\alpha_q$ -Protein stimuliert die Phospholipase C_β (PPLC_β). Dieses Enzym hydrolysiert Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) zu Inositol-1,4,5-Triphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG). IP_3 bewirkt eine Mobilisation und

Freisetzung von gespeichertem intrazellulären Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytoplasma. Auf diesen Weg der Calciumfreisetzung in die Myometriumzelle scheint Nifedipin keinen Einfluss nehmen zu können. Nifedipin erzielt zwar eine Inhibition bei oxytocinstimulierten Versuchen, diese war aber weitaus schwächer als die Inhibition in Abwesenheit von Oxytocin (siehe Vergleich Tabelle 4). Dagegen ist Atosiban als Antagonist von Oxytocin ein effektiver Inhibitor der Kontraktionen.

4.3 Fenoterol

4.3.1 Fenoterol ein schwaches, von Oxytocin unabhängiges Tokolytikum

In der vorliegenden *in vitro* Versuchskonzeption hat Fenoterol bei Konzentrationen um den empfohlenen Plasmaspiegel, sowohl bei Versuchen mit und ohne Oxytocinstimulation einen hemmenden Effekt auf die Myometriumkontraktionen. Die Stärke der Hemmung war nicht dosisabhängig und zeigte keinen Unterschied zwischen den spontanen oder mit Oxytocin stimulierten Kontraktionen.

Dies entspricht den Ergebnissen einer vorangegangenen Arbeit unserer perinatalen Arbeitsgruppe, in der für Fenoterol an oxytocinstimulierten schwangeren humanen Myometriumstreifen eine Hemmung, aber keine deutliche Dosisabhängigkeit oder eine totale Hemmung nachgewiesen wurde[70]. Auch Bauer et al. [92] konnten für Versuche unter

Oxytocinstimulation an humanem schwangeren Myometrium eine Hemmung durch Fenoterol nachweisen.

Für spontane Kontraktionen wird dagegen für Versuche mit Fenoterol sowohl bei Bauer wie Ballejo ein Ausbleiben einer Kontraktionshemmung beschrieben [89, 92].

Die Verwendung von Fenoterol als Tokolytikum beschränkt sich vor allem auf den deutschsprachigen Raum und so finden sich in der internationalen Literatur wenige Studien zu Fenoterol im Gegensatz zu Ritodrin, das als Standardtokolytikum weltweit eingesetzt wird. Für Ritodrin gibt es sehr unterschiedliche Ergebnisse zu dessen Relaxationsstärke, von keiner Wirkung bis zur kompletten Hemmung der Myometriumkontraktionen. So wurde in einer weiteren Arbeit unserer Arbeitsgruppe für Ritodrin-Konzentrationen von 50 bis 1.000.000 ng/ml (entsprechend $1,7 \times 10^{-7}$ M bis 0,035 M) eine signifikante Hemmung der Spontanaktivität gemessen [93]. Dagegen konnten Chen et al. für Ritodrin eine dosisabhängige und in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l eine komplette Inhibition von spontanen Kontraktionen an Myometriumgewebe von nicht-schwangeren Ratten beschreiben [94]. Auch Chimura berichtet, dass sowohl an spontanen und mit 0.005 E/ml Oxytocin stimulierten Kontraktionen an Myometrium von schwangeren Wistar-Ratten, 5 µg/ml Ritodrin innerhalb von einer Minute eine 100%ige Hemmung der Myometriumkontraktionen bewirkte [78].

Für die gleiche Substanz demonstrierte Yeagley et al. unter KCl-Stimulation, eine deutliche dosisabhängige Relaxation von schwangeren Rattenmyometrium und eine fast vollständige Inhibition der Kontraktionen [95].

Im Vergleich zu Atosiban und Nifedipin zeigte sich in unserer Untersuchung, dass bei oxytocinstimulierten Versuchen zwischen Fenoterol und Nifedipin kein Unterschied in ihrer Hemmwirkung bestand. Beide Substanzen waren Atosiban unterlegen. Bei den unstimulierten Versuchen zeigten hingegen Atosiban und Fenoterol ähnlich starke Wirkung und waren beide dem Nifedipin unterlegen.

Studien, die ebenfalls einen Vergleich von tokolytischen Substanzen durchgeführt haben, wurden in den vorhergehenden Kapiteln detailliert besprochen und werden hier zusammenfassend in Hinblick auf Fenoterol betrachtet. So belegen Ballejo und Doret die schwächere Wirkung für β -Agonisten bzw. Fenoterol an spontanen Myometriumkontraktionen [79, 89].

Ballejo zeigte für Fenoterol ($>10 \times 10^{-6}$ M) an schwangerem humanen Myometrium lediglich eine Verminderung der Kontraktionsfrequenz, während Nifedipin zu einer konzentrationsabhängigen Inhibition der spontanen Kontraktion führte [89].

In der Gegenüberstellung aller drei Substanzenklassen von Doret an spontanen Kontraktionen von Myometriumgewebe schwangerer Wistar-Ratten, mit Nicardipin als Ca^{2+} -Antagonisten, Ritodrin als β -Agonisten und Atosiban, hatte Ritodrin einen EC_{50} (IC) in einer molaren Konzentration von 3.1×10^{-7} (1.8×10^{-7} – 5.5×10^{-7}) und eine Hemmung der Aktivität $>95\%$ bei 3.1×10^{-5} . Diese Hemmstärke lag deutlich unter der von Atosiban [$\text{EC}_{50}: 10^{-7}$ (6×10^{-8} – 1.8×10^{-7})], Hemmung der Aktivität $>95\%$ 7.5×10^{-6}] und in einem noch weiteren Maße unter der erzielten Hemmung von Nicardipin [$\text{EC}_{50}: 5.8 \times 10^{-9}$ (3.9×10^{-9} – 8.9×10^{-9})], Hemmung der Aktivität $>95\%$ 1.9×10^{-7}] [79].

Die oxytocinstimulierten Versuche von Dehn aus unserer Arbeitsgruppe

entsprechen unseren Ergebnissen. Dehn konnte an Myometriumgewebe von Schwangeren zeigen, dass unter der Stimulation durch Oxytocin für Ritodrin in Plasmakonzentrationen um 100 ng/ml eine deutlich geringere Kontraktionshemmung von nur 15% erreicht werden konnte im Vergleich zu Atosiban 1000 ng/ml mit 67%. Auch in sehr hohen Konzentrationen von bis zu 1.000.000 ng/ml konnte für Ritodrin keine wesentlich bessere Hemmung erzielt werden [93].

Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den Untersuchungen von Chimura, der mit 5 µg/ml (entspricht 500 ng/ml) Ritodrin innerhalb von einer Minute eine 100 %ige Hemmung sowohl bei oxytocinstimulierten als auch bei unstimulierten Kontraktionen am Myometrium von schwangeren Wistar-Ratten erreichte.

Es muss bedacht werden, dass die verwendete Menge an Ritodrin sehr hoch ist. Sie übersteigt die verwendeten Plasmakonzentrationen in den Untersuchungen von Dehn aus unserer Arbeitsgruppe um das 100fache. Dagegen hatte im Vergleich Atosiban bei spontanen Myometriumkontraktionen keinerlei Wirkung. Bei oxytocinstimulierten Kontraktionen führte Atosiban bei Konzentrationen von 5-50 µg/ml zu einer vollständigen Hemmung innerhalb von $14,8 \pm 1,1$ Minuten [78].

Das Interessante an den hier erzielten Ergebnissen ist, dass Fenoterol zwar im Vergleich eine schwache hemmende Wirkung hatte, diese aber gleichförmig ohne Unterschied zwischen den spontanen oder mit Oxytocin stimulierten Kontraktionen blieb.

Es wurde sowohl von Hamann wie auch von Dehn die Vermutung aufgestellt, dass die von ihnen festgestellte schwächere Hemmung durch β_2 -Rezeptoragonisten, Fenoterol versus GTN [65] und Ritodrin versus Atosiban [93], am oxytocinstimulierten schwangeren Myometriumpräparat, auf einen Mangel an antagonistischer Kraft gegenüber Oxytocin liegt, also, dass die β_2 -Rezeptoragonisten sich nicht gegen das zusätzlich eingesetzte Oxytocin durchsetzen könnten.

Unsere Ergebnisse relativieren diese Vermutung. Der β_2 -Rezeptoragonisten kann sich offensichtlich weder bei den Versuchen mit Oxytocinstimulation noch bei denen ohne Stimulation durchsetzen.

4.4 Diskussion des *in vitro* Modells

Ergebnisse von *in vitro* Untersuchungen können nur bedingt eine Aussage über die Wirksamkeit einer Substanz *in vivo* geben.

Das hier verwendete Modell eignet sich gut, um die pharmakologische Beeinflussung des Myometriums zu prüfen. Aus den erzielten Ergebnissen Aussagen über die Wirksamkeit einer Substanz *in vivo* zu postulieren, muss mit Vorsicht geschehen.

Wie in der Diskussion deutlich wurde, ist es schwierig zu beurteilen, ob die geprüfte Substanz tatsächlich nur Einfluss auf ein Element der Kontraktionskaskade hat oder möglicherweise noch andere Elemente beeinflusst, deren Bedeutung im Versuchsaufbau nicht berücksichtigt werden können.

Umgekehrt ist es nicht möglich, eine Aussage darüber zu treffen, inwieweit der gesamte Organismus mit seinen hochkomplexen und zum Großteil noch nicht verstandenen Reaktionswegen, die in diesen Versuchsaufbau nicht mit einbezogen werden können, die Wirkung einer Substanz beeinflusst.

Es ist zu bedenken, dass in dieser Untersuchung Myometriumphgewebe von gesunden Frauen in der 36. bis 41. Woche entnommen wurde und zum größten Teil vor Einsetzen der Wehen. Das Versuchskollektiv von Patientinnen repräsentiert nicht das Kollektiv an Frauen, die frühgeburtliche Wehen und das Risiko einer Frühgeburt haben.

Das verwendete Gewebe ist in seinem Reifungsgrad auf einem anderen Stand als der Uterus bei einer Frühgeburt. Es muss davon ausgegangen werden, dass in dem verwendeten Gewebe eine höhere Oxytocin-Rezeptordichte und Sensitivität gegenüber Oxytocin besteht, wie es für die späte Schwangerschaft nachgewiesen worden ist [27, 34]. Oxytocin wird als Stimulans verwendet und kann sicherlich nicht als vergleichender Maßstab für Induktion der Frühgeburt angesehen werden, zumal bis jetzt nicht eindeutig belegt werden konnte, dass erhöhte Plasma-Oxytocin-Spiegel eine Rolle bei der Geburtsinduktion spielen [15].

Die Pathomechanismen der frühgeburtlichen Wehen können in diesem Versuchsmodell nicht berücksichtigt werden und die Möglichkeit besteht, dass sich Tokolytika in einem durch die Pathologie veränderten Milieu anders verhalten.

4.5 Bedeutung für *in vivo* Situation

In dieser Studie konnte Fenoterol, als das in Deutschland meist verwendete Tokolytikum, sich in seiner hemmenden Wirkstärke nicht gegen Atosiban und Nifedipin durchsetzen. Es zeigt jedoch eine von Oxytocin unabhängige und beständige Wirkung.

Obwohl für β -Agonisten eine effektive Wirkung in klinischen Studien bei der akuten Tokolyse gezeigt werden konnten, gibt es keine Beweise für eine Wirkung über die akute Situation hinaus. Es ist zu bedenken, dass aufgrund der Down-Regulation der β -adrenergen-Rezeptoren, β -Agonisten nur in akuten Situationen für eine limitierte Zeit verwendet werden können [96]. Es sind vor allem die Nebenwirkungen, meistens eine Folge der Unspezifität von Tokolytika für die uterine Muskulatur, die Ursache für einen Abbruch einer Behandlung darstellen. Die Stimulation von β -sympathomimetischen Rezeptoren führt bei Frauen in Behandlung mit β -Agonisten zu einer gesteigerten Frequenz von mütterlichen Herzklopfen (48% vs. 5% unter Placebo), Tremor, (39% vs. 4%), Hyperglykämie (39% vs. 6%), Kopfschmerz (23% vs. 6%), Nausea (20% vs. 12%), Dyspnoe (14% vs. 1%), Erbrechen (13% vs. 8%) and Brustschmerzen (10% vs. 1%) [60]. Es kommt selten zu der Entwicklung eines Lungenödems, welches aber eine Ursache für den mütterlichen Tod sein kann [60, 61].

Insgesamt muss der Einsatz von Fenoterol als Standardtokolytikum kritisch evaluiert werden.

In Anbetracht der β -agonistischen Nebenwirkungen ist verständlich, dass sehr viel Aufwand betrieben wird, um spezifischere Substanzen wie Atosiban zu entwickeln. Atosiban hat als wichtigste Nebenwirkung Nausea (11% vs. 5% Placebo). In großen randomisierten vergleichenden Studien mit β -Agonisten war Atosiban mit einer 10-fachen Reduktion der mütterlichen kardiovaskulären Nebenwirkungen (8% vs. 81%) assoziiert und hatte eine viel niedrigere Rate an Behandlungsabbrüchen auf Grund von Nebenwirkungen (1% vs. 15%) [40].

Die gute tokolytische Wirksamkeit von Atosiban konnte hier bestätigt werden. Von der Tatsache, dass Atosiban als direkter Antagonist von Oxytocin fungiert und die beste hemmende Wirkung bei Versuchen unter oxytocinstimulierten Myometriumkontraktionen hat, kann gesagt werden, dass die Gabe von Atosiban bei erhöhter Oxytocin-Rezeptordichte sinnvoll ist.

Die Oxytocin-Rezeptordichte nimmt zum Ende der Schwangerschaft zu. Für das Auslösen von Kontraktionen ist anscheinend eine erhöhte Oxytocinsensitivität des Rezeptors und nicht ein erhöhter Oxytocinspiegel verantwortlich. Bossmar et al. konnte zeigen, dass die inhibitorische Wirkung von Atosiban bei vollendeter Schwangerschaftsdauer aber ebenso bei Frühgeburten mit der Anzahl von Oxytocin-Rezeptoren korreliert [75]. Dies bedeutet, dass Atosiban nur dann eine gute Wirkung bei drohender Frühgeburt hat, wenn die entsprechende Anzahl von Oxytocin-Rezeptoren vorhanden ist. So gibt es Belege, dass unterhalb der 28. Schwangerschaftswoche Atosiban keine Wirkung hat [97]. Die Einschätzung der Oxytocin-Rezeptordichte ist jedoch in einem klinischen Rahmen schwierig. Eine herabgesetzte Oxytocin-

Rezeptordichte kann aber als mögliche Ursache bei einem Versagen der Therapie mit Atosiban in Erwägung gezogen werden.

Trotz des Plädoyers, Atosiban erst in der späteren Schwangerschaft einzusetzen, weist das Ergebnis der hemmenden Wirkung auf den basalen Uterus-Tonus auch auf einen Einsatz von Atosiban in Frühschwangerschaften, möglicherweise in Kombinationen mit anderen Substanzen, beziehungsweise auch bei Dysmenorrhoe hin.

Als herausragendes Ergebnis dieser Studie ist die effektive tokolytische Wirkung von Nifedipin zu werten. Randomisierte Studien haben für Ca^{2+} -Antagonisten im Vergleich zu β -Agonisten ebenfalls eine Reduktion der Wahrscheinlichkeit von Nebenwirkungen (17% vs. 43%) und Behandlungsabbrüchen auf Grund der Nebenwirkungen (0,3% vs. 6%) gezeigt. Es wird des Weiteren für Ca^{2+} -Antagonisten im Vergleich zu β -Agonisten eine vorteilhafte neonatale Outcome und eine günstigere Verlängerung der Schwangerschaft angeführt. Für einen Beleg stehen jedoch bis heute noch placebo-kontrollierte Studien aus [98]. Die Einführung von Nifedipin als Tokolytikum muss neu überdacht werden.

Die Wirkung über die verschiedenen Ebenen der Kontraktionskaskade im Uterusmuskel durch die hier vorgestellten tokolytischen Substanzen, spiegelt sich in verschiedenen Hemmungsmustern. Atosiban und Nifedipin unterscheiden sich in ihrer Wirkung je nach Anwesenheit von Oxytocin, während Fenoterol eine schwache aber von Oxytocin unabhängige, beständige Wirkung zeigt.

Die Kontrolle der Aktivität des Myometriums auf den verschiedenen Ebenen

ermöglicht einen Ausblick auf die tokolytische Therapie der Zukunft, in der die simultane Blockade der verschiedenen Reaktionswege genutzt wird. Jede einzelne Substanz kann dabei zu einer potenzierten Hemmung der uterinen Kontraktionen beitragen. Entscheidend dabei ist, dass die synergetische Wirkung eine Reduktion der therapeutischen Konzentrationen ermöglicht, die sonst bei den einzelnen Substanzen nötig wäre und damit eine Senkung der mütterlichen und fetalen Nebenwirkungen mit sich bringt.