

Nikotin aktiviert apikale  $\alpha 3 \beta 4$  nikotinsche Rezeptoren, was eine Erhöhung des intrazellulären  $Ca^{2+}$ - und cAMP- Spiegels und eine Aktivierung des TMEM16A  $Cl^-$ -Kanals und des KCNQ1  $K^+$ -Kanals bewirkt.

## Nicotine stimulates ion transport via metabotropic $\beta 4$ subunit containing nicotinic ACh receptors

Praveen Kumar, Petra Scholze, Martin Fronius, Gabriela Krasteva-Christ\* and Monika I. Hollenhorst \*

*British Journal of Pharmacology*

Br J Pharmacol. 2020 Dec;177(24):5595-5608.

doi: 10.1111/bph.15270.



Dezember 2020

Institut für Anatomie und Zellbiologie

Universität des Saarlandes

## Nikotin bewirkt über $\alpha 3 \beta 4$ Rezeptoren in den Atemwegen eine Änderung des Ionentransports

Von Monika Hollenhorst und Gabriela Krasteva-Christ

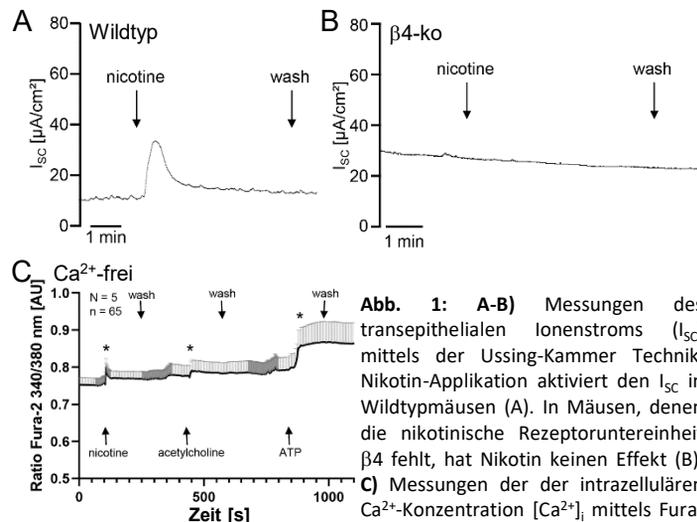
Die Atemwege sind konstant der Gefahr ausgesetzt, dass mit der eingeatmeten Luft Partikel und Bakterien eindringen. Um Krankheiten, wie z.B. Lungenentzündung, die durch diese Pathogene hervorgerufen werden können, zu verhindern, ist der Respirationstrakt mit einer Reihe von Mechanismen der angeborenen Immunabwehr ausgestattet. Einer davon ist die Mukoziliäre Clearance. Hierbei werden eingedrungene Partikel und Bakterien in dem Mukus eingefangen und durch den kontinuierlichen Schlag der Zilien von den zilienträgenden Epithelzellen wieder aus den Atemwegen heraus transportiert. Dieser Prozess kann durch eine Veränderung der Zilienschlagfrequenz und des Ionen- und Wassertransports durch das Epithel hindurch reguliert werden, um ein optimales Milieu zu gewährleisten. In früheren Studien konnten wir zeigen, dass eine Aktivierung des cholinergen Systems der Atemwege eine Veränderung im Ionentransport hervorruft, jedoch wurde der genaue zugrunde liegende Mechanismus bisher nicht entschlüsselt.

In der vorliegenden Arbeit haben wir mittels der Ussing-Kammer Technik den Einfluss einer Aktivierung nikotinscher Acetylcholinrezeptoren (nAChR) auf den transepithelialen Ionentransport untersucht. Applikation von Nikotin führte zu einer transienten Aktivierung des Ionentransports (Abb. 1A). Mittels selektiver Agonisten und Antagonisten konnten wir nachweisen, dass der nAChR Subtyp  $\alpha 3 \beta 4$  für diesen Effekt verantwortlich ist. Eindrücklich zu sehen war die Beteiligung der  $\beta 4$ -Untereinheit. In  $\beta 4$ -defizienten Tieren blieb die durch Nikotin hervorgerufenen Änderungen des Ionenstroms komplett aus (Abb. 1B).

Weiterhin haben wir den intrazellulären Signalweg, welcher der Aktivierung der nAChR nachgeschaltet ist, charakterisiert. Hierbei stellte sich heraus, dass die nAChR durch einen metabotropen Signalweg eine Freisetzung von  $Ca^{2+}$  aus intrazellulären Speichern bewirkt, das eine Applikation von Nikotin unter extrazellulär  $Ca^{2+}$ -freien Bedingungen zu einem Anstieg der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration  $[Ca^{2+}]_i$  führte (Abb. 1C).

Diese Freisetzung war auf die Aktivierung von Ryanodinrezeptoren zurückzuführen. Der  $[Ca^{2+}]_i$  Anstieg führte wiederum zu einer Aktivierung apikaler TMEM16A  $Cl^-$ -Kanäle. Gleichzeitig erfolgte auch eine Steigerung der Aktivität der Proteinkinase A, wodurch basolaterale KCNQ1  $K^+$ -Kanäle aktiviert wurden. Eine Aktivierung der nAChR hat so durch die Aktivierung der Ionenkanäle eine Hydratierung der die Atemwege bedeckende Flüssigkeitsschicht (ASL) zur Folge.

Unsere hier gewonnenen Erkenntnisse zeigen, dass eine selektive Aktivierung des  $\alpha 3 \beta 4$  nAChR eine Stimulation der  $Cl^-$ -Sekretion zur Folge hat, was zu einer Regulation der Mukoziliären Clearance beiträgt. Dies könnte zur Vermeidung von Infektionen führen. Im Hinblick auf Mukoviszidose, bei der die  $Cl^-$ -Sekretion aufgrund eines Defekts des CFTR- $Cl^-$ -Kanals gestört ist, was wiederum eine Malfunktion der Mukoziliären Clearance zur Folge hat, könnte die Aktivierung des von uns identifizierten Signalwegs eine Alternative darstellen, die zur Abmilderung der Symptome führen kann.



**Abb. 1:** A-B) Messungen des transepithelialen Ionenstroms ( $I_{sc}$ ) mittels der Ussing-Kammer Technik. Nikotin-Applikation aktiviert den  $I_{sc}$  in Wildtypmäusen (A). In Mäusen, denen die nikotinsche Rezeptoruntereinheit  $\beta 4$  fehlt, hat Nikotin keinen Effekt (B). C) Messungen der der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration  $[Ca^{2+}]_i$  mittels Fura-2. Unter extrazellulär  $Ca^{2+}$ -freien Bedingungen erhöht Nikotin den  $[Ca^{2+}]_i$  Spiegel.

### Weitere Informationen

Institut für Anatomie und Zellbiologie  
Universität des Saarlandes  
Gebäude 61, Kirrbergerstr. 100  
66424 Homburg  
Gabriela.Krasteva-Christ@uks.eu  
Monika.Hollenhorst@uks.eu