

CharitéCentrum 12 für Innere Medizin und Dermatologie
Medizinische Klinik m. S. Psychosomatik
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Burghard F. Klapp

Habilitationsschrift

**Die sensible und sympathische Innervation bei
allergischen Atemwegserkrankungen**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach
Experimentelle Pneumologie und Allergologie

vorgelegt dem Fakultättrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Herrn Dr. med. Quoc Thai Dinh
geboren am 10. August 1971 in Saigon/Vietnam

Dekan: Herr Prof. Dr. med. Martin Paul

eingereicht: November 2006

Öffentlich-wissenschaftlicher Vortrag: April 2008

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Gerhard Schultze-Werninghaus
2. Prof. Dr. med. J. Chr. Wirchow

Für meine Frau

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Vorwort.....	1
1.2 Die autonome und sensible Innervation der Atemwege und der Lunge.....	3
1.2.1 Anatomischer Hintergrund.....	3
1.2.1.1 Obere Atemwegsinnervation.....	3
1.2.1.2 Innervation der unteren Atemwege und der Lunge.....	3
1.2.2 Sympathische Innervation.....	4
1.2.2.1 Sympathische Innervation der oberen Atemwege.....	4
1.2.2.2 Sympathische Innervation der unteren Atemwege und der Lunge.....	5
1.2.3 Parasympathische Innervation.....	6
1.2.3.1 Parasympathische Innervation der oberen Atemwege.....	6
1.2.3.2 Parasympathische Innervation der unteren Atemwege und der Lunge.....	7
1.2.4 Sensible Innervation.....	8
1.2.4.1 Sensible Innervation der oberen Atemwege.....	8
1.2.4.2 Sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge.....	9
1.3 Mediatoren und Rezeptoren in den Atemwegen.....	11
1.3.1 Tachykinine.....	11
1.3.2 Noradrenalin.....	13
1.3.3 NPY.....	15
1.4 Ziel und Fragestellung.....	17
2 Veränderung der Atemwegsinnervation	19
2.1 Die obere Atemwegsinnervation.....	19
2.1.1 Trigeminale sensible Innervation.....	19
2.1.2 obere Atemwegsinnervation unter pathologischen Bedingungen.....	20
2.2 Die Innervation der unteren Atemwege und der Lunge.....	20

2.2.1	Sympathische Innervation unter pathologischen Bedingungen.....	20
2.2.2	Sympathische Innervation und Tachykinine unter pathologischen Bedingungen.....	21
2.2.3	Vagal Sensible Innervation unter normalen und pathologischen Bedingungen.....	22
2.2.4	Spinale sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge.....	23
3	Neuromediatoren und Entzündung.....	24
4	Interaktion zwischen Nerven- und Immunsystem bei der allergischen Atemwegsentszündung.....	25
4.1	Neuronale Einflüsse auf Zellen des Immunsystems.....	27
4.2	Immunologische Einflüsse auf Zellen des Nervensystems.....	28
5	Diskussion.....	30
6	Zusammenfassung.....	41
7	Literatur.....	43
8	Danksagung.....	61
9	Erklärung.....	63

10 Veröffentlichungen zum Thema

- 10.1 **Dinh, Q. T.**, Groneberg, D. A., Mingomataj, E., Peiser, C., Heppt, W., Dinh, S., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2003). Expression of substance P and vanilloid receptor (VR1) in trigeminal sensory neurons projecting to the mouse nasal mucosa. *Neuropeptides*. 37, 245-250.
- 10.2 Heppt W, **Dinh QT**, Cryer A, Zweng M, Noga O, Peiser C, et al. Phenotypic alteration of neuropeptide-containing nerve fibres in seasonal intermittent allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1105-10.
- 10.3 **Dinh, Q. T.**, Groneberg, D. A., Witt, C., Peiser, C., Cifuentes, B. L., Frossard, N., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2004). Expression of Tyrosine Hydroxylase and Neuropeptide Tyrosine in Mouse Sympathetic Airway-specific Neurons under Normal Situation and Allergic Airway Inflammation. *Clin Exp Allergy*. 34, 1934-1941.
- 10.4 **Dinh, Q. T.**, Mingomataj, E., Quarcoo, D., Groneberg, D. A., Witt, C., Klapp, B. F., Braun, A. und Fischer, A., (2005). Allergic airway inflammation induces tachykinin peptides expression in vagal sensory neurons innervating mouse airways. *Clin Exp Allergy*. 35, 820-825.
- 10.5 Kollarik, M., **Dinh, Q. T.**, Fischer, A. und Udem, B. J., (2003). Capsaicin-sensitive and -insensitive vagal bronchopulmonary C-fibres in the mouse. *J Physiol*. 15;551(Pt 3):869-79.
- 10.6 **Dinh, Q. T.**, Groneberg, D. A., Peiser, C., Mingomataj, E., Joachim, R. A., Witt, C., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2004a). Substance P expression in TRPV1 and trkA-positive dorsal root ganglion neurons innervating the mouse lung. *Respir Physiol Neurobiol*. 144, 15-24.

- 10.7 Trevisani, M., Mazzieri, D., Benvenuti, F., Campi, B., **Dinh, Q.T.**, Groneberg, D.A., Rigoni, M., Emonds-Alt, X., Creminon, C., Fischer, A., Geppetti, P., Harrison, S., (2004). Ethanol causes inflammation in the airways by a neurogenic and TRPV1-dependent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther*; 309:1167-73.
- 10.8 Joachim, R. A., Cifuentes, L. B., Sagach, V., Quarcoo, D., Hagen, E., Arck, P. C., Fischer, A., Klapp, B. F. und **Dinh, Q. T.**, (2006). Stress induces substance P in vagal sensory neurons innervating the mouse airways. *Clin Exp Allergy*. 36, 1001-1010.
- 10.9 **Dinh, Q. T.**, Groneberg, D. A., Peiser, C., Springer, J., Joachim, R. A., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2004). Nerve growth factor-induced substance P in capsaicin-insensitive vagal neurons innervating the lower mouse airway. *Clin Exp Allergy*. 34, 1474-1479.

Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
AChE	ACh-Abbauenzym Acetylcholinesterase
CGRP	Calcitonin Gene-related Peptide
ChAT	Cholin Acetyltransferase
COPD	chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
DC	Dendritische Zelle
DMSO	Dimethylsulfoxid
eNANC	exzitatorisches nicht-adrenerges- nicht-cholinerges System
iNANC	inhibitorisches nicht-adrenerges nicht- cholinerges System
FB	Fast blue
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
NANC	nicht-adrenerges-nicht-cholinerges System
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
NA	Noradrenalin
NEP	Neutrale Endopeptidase
NGF	Nervenwachstumsfaktor
NKA	Neurokinin A
NKB	Neurokinin B
NK-1-Rezeptor	Neurokinin-1-Rezeptor
NK-2-Rezeptor	Neurokinin-2-Rezeptor
NK-3-Rezeptor	Neurokinin-3-Rezeptor
NPK	Neuropeptid K
NPY	Neuropeptid Tyrosin
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	NO-Synthase
nNOS	neuronale NO-Synthase
PAF	platelet-activating factor
PB	Phosphat buffer
PBS	phosphate buffered saline

PGP 9.5	Proteingenproduct 9.5
PPT-A-Gen	Präprotachykinin-A-Gen
PPT-B-Gen	Präprotachykinin-B-Gen
p75 Neurotrophin Rezeptor	Neurotrophin Rezeptor p75
RAR	schnell adaptierende Dehnungsrezeptoren
RT-PCR	Reverse Transkriptase- Polymerasekettenreaktion
SCG	Superior cervical ganglion
SP	Substanz P
TH	Tyrosin Hydroxylase
TRPV1	Transient Rezeptor Potential Vanilloid 1
trkA	Tyrosin Kinase Rezeptor trkA
trkB	Tyrosin Kinase Rezeptor trkB
VIP	Vasoactives intestinales Polypeptid
VR1	Vanilloid Rezeptor 1

1. Einleitung

1.1 Vorwort

Die Forschung der letzten Jahre hat gezeigt, dass allergische Erkrankungen, wie Atopische Dermatitis, Allergische Rhinitis und Asthma bronchiale, weder als eine rein immunologische noch als eine ausschließlich neuronale Erkrankung angesehen werden können (Barnes, 1986, Barnes, 2004). Die den entzündlichen Veränderungen zu Grunde liegenden Mechanismen werden dabei von einer Vielzahl an Mediatoren neuronalen Ursprungs beeinflusst. Im Bereich der Pathophysiologie und Pathobiochemie des Asthma bronchiale sind mittlerweile bereits über fünfzig Mediatoren mit Effekten auf verschiedenste pulmonale Funktionen beschrieben worden (Barnes et al., 1998). Fortschritte auf diesem Gebiet wurden vor allem durch die Entwicklung neuer, potenter Inhibitoren gemacht, die entweder die Rezeptoren der Mediatoren blockieren oder sie selbst inhibieren (Joos and Pauwels, 2001, Eynott et al., 2002, Eynott et al., 2003). Der Ort der Synthese der einzelnen Mediatoren liegt sowohl im Bereich von Entzündungszellen wie Mastzellen, Eosinophilen, Basophilen, Neutrophilen oder T-Lymphozyten, als auch im Bereich gewebständiger Zellen wie Epithelzellen, Endothelzellen, Myozyten oder Atemwegsneuronen (Barnes et al., 1998). Neben den klassischen Mediatoren Noradrenalin in postganglionären sympathischen Nervenfasern und Acetylcholin in parasympathischen Nervenfasern existieren eine Reihe von Neuropeptiden, die ausgeprägte pharmakologische Effekte auf den Muskeltonus der Blutgefäße und der Bronchien, die Drüsensekretion und auf Entzündungs- und Immunzellen haben (Dinh et al., 2006b). Diese Neuropeptide gehören zu keinem morphologischen eingrenzbaeren System. Die Effekte, die diese Neuropeptide hervorrufen, werden unter dem Begriff des nicht-adrenergen nicht-cholinergen (NANC)-Systems zusammengefaßt.

Die Rolle des Nervensystems wurde bisher geschichtlich sehr unterschiedlich gewichtet und bewertet. Sehr früh begann man sich für das Nervensystem der humanen Lunge zu interessieren und es anatomisch detailliert zu beschreiben, da ein Zusammenhang zwischen dem Nervensystem und der Pathophysiologie des Asthma bronchiale vermutet wurde (Willis, 1681). Zu Beginn des 19.

Jahrhunderts mit der Gründung der modernen Allergologie durch Portier P. und Richet C. (1902) (Portier and Richet, 1902) wurde eine Epoche der immunologischen Forschung eingeleitet, dabei rückte das Interesse am Nervensystem der Atemwege wieder in den Hintergrund. In den sechziger Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts konnte gezeigt werden, dass Stimulation von Nervenfasern die Entzündung verstärkt und eine komplexe Reaktionsantwort auslöst. Diese komplexe Reaktion kann zu einer gesteigerten Gefäßpermeabilität, Plasmaextravasation, Schleimsekretion, Einwanderung von Entzündungszellen und Gefäßremodelling durch die lokale Freisetzung von pro-inflammatorischen Mediatoren führen. Diese durch Neuropeptide ausgelösten Entzündungen wurden von Jancso N. (1967) (Jancso et al., 1967) damals als „neurogene Entzündung“ bezeichnet. Das Phänomen der neurogenen Entzündung führte zu einem zunehmenden Interesse am Nervensystem der Atemwege. Gestützt durch diese Beobachtung wurde die Hypothese „Asthma sei ein Axonreflex“ von Peter J. Barnes (1986) (Barnes, 1986) aufgestellt. Seitdem wurden unterschiedliche Aspekte der neurogenen Entzündung im Tiermodell untersucht. Über die Rolle der neurogenen Atemwegsentzündung beim Menschen ist aber bisher wenig bekannt. Im Hinblick auf die Komplexität der neuro-immunen Interaktion bei chronisch entzündlichen Atemwegserkrankungen soll die genauere Rolle der Atemwegsinnervation und deren Neuropeptidexpression in weiteren Studien bezüglich deren Aktivierung und Interaktion zwischen Entzündungszellen und Atemwegsneuronen in Zukunft untersucht werden.

1.2 Die autonome und sensible Innervation der oberen und unteren Atemwege und der Lunge

1.2.1 Anatomischer Hintergrund

Heute ist bekannt, dass die Atemwege von zahlreichen Nervenfasern mit unterschiedlichem Ursprung innerviert werden. Die Nervenversorgung der Atemwege wird nach der klassischen Einteilung in ein autonomes efferentes System mit einem sympathischen und einem parasympathischen Anteil und in ein sensibles System gegliedert.

1.2.1.1 Obere Atemwegsinnervation

Die sensible Versorgung der oberen Atemwege stammt aus dem Ganglion trigeminale, wobei die vorderen Anteile der Nase vom N. Ophthalmicus und sowie dem Septum und die hinteren Anteile aus dem N. Maxillaris versorgt werden (Hunter and Dey, 1998, Dinh et al., 2003). Die zentrale Projektion dieser sensiblen Neuronen endet in den Nucleus tractus spinalis n. trigemini. Präganglionäre sympathische Neurone sind in dem Nucleus intermediolaterales des oberen thorakalen Rückenmarks lokalisiert. Deren Axone erreichen das Ganglion cervicale superius über die Vorderwurzel und den zervikalen sympathischen Grenzstrang. Postganglionäre sympathische Nervenfasern formen einen Plexus um die Arteria carotis interna und erreichen über das Ganglion sphenopalatinum die Nasenschleimhaut. Präganglionäre parasympathische Neurone liegen im Nucleus salivatorius superior und erreichen den N. facialis und das Ganglion sphenopalatinum. Postganglionäre parasympathische Neurone ziehen von dort aus zur Nasenschleimhaut (Lundberg et al., 1981a).

1.2.1.2 Innervation der unteren Atemwege und der Lunge

Die Neurone der sensiblen Atemwegsinnervation liegen in den vagalen sensiblen Ganglien jugulare und nodosum. Es handelt sich hier um pseudounipolare Neurone, deren Axone mit dem N. vagus verlaufen. Über den N. vagus (N. laryngeus recurrens, Rr. bronchiales) erreichen die Axone die Lunge. Die zentrale Projektion dieser Neurone endet in den Nucleus des tractus

solitarii. Eine zusätzliche sensible Versorgung der Atemwege stammt aus den thorakalen Spinalganglien (Lundberg et al., 1988, Kummer et al., 1992). Die Axone der spinalen sensiblen Neurone verlaufen zusammen mit den sympathischen Axonen, durchqueren die sympathischen Grenzstrangganglien und ziehen über die Hinterwurzel zu den Laminae I & II der Substantia gelatinosa im Hinterhorn des Rückenmarks.

Das Zentrum der sympathischen Innervation der unteren Atemwege und der Lunge liegt im Nucleus intermediolaterales und im Nucleus intercalatus des thorakalen Rückenmarks. Axone der sympathischen präganglionären Neurone verlassen gemeinsam mit allen motorischen Fasern über die Vorderwurzel das Rückenmark und ziehen zu den prä- und paravertebralen Grenzstrangganglien, hauptsächlich zu dem Ganglion cervicale superius und medius sowie zu dem Ganglion stellatum. Von hier ziehen postganglionäre sympathische Axone über den R. pulmonales zur Lunge.

Die präganglionären parasympathischen Neurone liegen im Nucleus dorsalis nervi vagi und im Nucleus ambiguus des Hirnstamms. Die Axone dieser Neurone ziehen zum Teil mit dem N. laryngeus recurrens (Myers et al., 1988, Myers et al., 1990) zu den kleinen intramuralen Ganglien der Trachea. Ein anderer Teil erreicht die postganglionären Neurone über die vagalen Rami bronchiales (Kalia and M., 1980, Kalia and Mesulam, 1980). Kurze Axone der postganglionären Neurone versorgen die glatte Muskulatur der Trachea, Bronchi, Bronchioli, die Drüsen und sekretorischen Zellen des Epithels sowie die großen Pulmonalgefäße der Atemwege (Partanen et al., 1982). Sympathische, parasympathische und sensible Nervenfasern vereinigen sich zu einem Nervengeflecht um die Atemwege, das an der Hinterwand der Trachea liegt und am Lungenhilus in die Lunge eintritt (Lundberg et al., 1984).

1.2.2 Sympathische Innervation

1.2.2.1 Sympathische Innervation der oberen Atemwege

Die oberen Atemwege werden von einem dichten Geflecht aus sympathischen Nervenfasern versorgt. Während Gefäße wie Arterien und Venen, Veniolen und Arteriolen der Nasenschleimhaut reichlich von sympathischen Nervenfasern

innerviert werden (Dahlström and Fuxe, 1965), findet sich bei den Drüsen der Nasenschleimhaut eine spärliche sympathische Innervation mit einigen Fasern. Die Stimulation von präganglionären wie postganglionären sympathischen Fasern führt zu einer nasalen Vasokonstriktion und Kontraktion von venösen Gefäßen mit einer Verminderung des Volumens der Nasenhöhle.

Noradrenalin (NA) ist der klassische Neurotransmitter von postganglionären sympathischen Nervenfasern in den Gefäßen der Nasenschleimhaut. Die Stimulation der sympathischen Nervenfasern kann zu einer Freisetzung von NA mit Kontraktion der Gefäße der Nasenschleimhaut führen. Sympathische Innervation spielt offenbar eine wichtige Bedeutung bei der Kontrolle der Tonus der Gefäße der Nasenschleimhaut.

Ein weiteres wichtiges Neuropeptid der Nasenschleimhaut ist das Neuropeptid Tyrosin (NPY), welches fast von der Hälfte aller sympathischen Neurone im SCG synthetisiert wird. NPY wirkt an den Gefäßen der Nasenschleimhaut über einen non-adrenergen Mechanismus vaso-konstriktorisch und ist an der Kontrolle des Blutflusses der Nasenschleimhaut beteiligt.

1.2.2.2 Sympathische Innervation der unteren Atemwege und der Lunge

Sympathische Nervenfasern konnten um die tracheobronchialen und pulmonalen Gefäße und die exokrinen Drüsen der unteren Atemwege bei verschiedenen Spezies wie Meerschweinchen, Ratte, Maus, Affen und Mensch nachgewiesen werden (Mann, 1971, Doidge und Satchell, 1982). Die sympathische Innervation der glatten Atemwegsmuskulatur ist bei den verschiedenen Spezies unterschiedlich ausgeprägt. Bei den Meerschweinchen wurde eine dichte Innervation an sympathischen Nerven gefunden, während bei den Affen nur eine spärliche Versorgung der glatten Atemwegsmuskulatur mit sympathischen Nervenfasern beobachtet wurde (Doidge und Satchell, 1982). Für den Fall, dass im Vergleich zu den Meerschweinchen nur eine spärliche sympathische Innervation in den Atemwegen beim Menschen vorkommt, kann aufgrund der geringeren Dichte der Innervation keine Aussage über deren funktionelle Bedeutung getroffen werden (Sheppard et al., 1983). Da die glatte Atemwegsmuskulatur eine funktionelle Einheit bildet, sind vielleicht nur

Kontakte von einzelnen glatten Muskelzellen mit den sympathischen Nervenfasern erforderlich, um eine Aktion der bronchialen Atemwegsmuskulatur auszulösen. In Rezeptorbindungs-Studien konnte eine hohe Dichte an β -Rezeptoren in den Lungengeweben verschiedener Spezies einschließlich des Menschen nachgewiesen werden. Die Stimulation von sympathischen Nervenfasern kann über Aktivierung von β -Rezeptoren zu einer Erweiterung der Bronchien führen (Barnes et al., 1980). Weiterhin konnte eine Zunahme der Dichte dieser β -Rezeptoren von der Trachea bis in die terminalen Bronchiolen beobachtet werden, während nur vereinzelte α -Rezeptoren in den Atemwegen lokalisiert wurden (Barnes et al., 1979).

Sympathische Nervenfasern enthalten neben dem klassischen Transmitter Noradrenalin (NA) weitere Neuropeptide wie NPY, Stickstoffmonoxid (NO) und vasoaktives intestinales Polypeptid (VIP) als postganglionäre Mediatoren. NPY wurde oft zusammen mit NA in sympathischen Nervenfasern um die Arterien, Arteriolen und in der glatten Bronchialmuskulatur der unteren Atemwege angetroffen (Lundberg et al., 1983, Uddman et al., 1984) und auch in sympathischen Atemwegsneuronen gefunden (Kummer et al., 1992). NPY kommt teilweise gemeinsam mit NA oder mit VIP in sympathischen Atemwegsneuronen vor (Bowden and Gibbins, 1992). Bekannt ist auch, dass zahlreiche sympathische Atemwegsneurone NO produzieren (Fischer et al., 1993). Aufgrund der zahlreichen Neuromediatoren, die von sympathischen Nervenfasern synthetisiert und freigesetzt werden, kann eine wichtige Rolle der sympathischen Atemwegsinnervation sowohl unter normalen als auch unter pathologischen Bedingungen nicht ausgeschlossen werden.

1.2.3 Parasympathische Innervation

1.2.3.1 Parasympathische Innervation der oberen Atemwege

Die Blutgefäße und Drüsen der Nasenschleimhaut werden von einem dichten Netzwerk parasympathischer Nervenfasern versorgt. Stimulation der parasympathischen Nervenfasern und Neurone im Ganglion sphenopalatinum führt zu einer Freisetzung von Acetylcholin (ACh) mit einer Aktivierung von muskarinergen Rezeptoren zu einer nasalen Hypersekretion. Sowohl durch den

Nachweis des ACh-Abbauenzym Acetylcholinesterase (AChE) als auch des ACh-synthetisierenden Enzyms, Cholin Acetyltransferase (ChAT), konnte der Ursprung parasympathischer Innervation der exokrinen Drüsen und Gefäße der Nasenschleimhaut aus dem Ganglion sphenopalatinum nachgewiesen werden (Lundberg et al., 1981a). Ein weiteres wichtiges Neuropeptid der Nasenschleimhaut ist VIP. VIP kommt häufig mit ACh in Nervenfasern der Nasenschleimhaut vor (Lundberg et al., 1981b). Die Stimulation von parasympathischen Nervenfasern kann zu einer Freisetzung von VIP führen. VIP vermittelt über nikotinerge Rezeptoren eine non-cholinerge Vasodilatation der Gefäße der Nasenschleimhaut (Lundberg et al., 1981b). Weiterhin konnte das Calcitonin Gene-Related Peptid (CGRP) in parasympathischen Neuronen des Ganglion sphenopalatinum gezeigt werden (Stjarne et al., 1989).

1.2.3.2 Parasympathische Innervation der unteren Atemwegen und der Lunge

Die unteren Atemwege und die Lunge werden zahlreich von parasympathischen Nervenfasern aus dem N. vagus versorgt. Klassischer Mediator der prä- und postganglionären parasympathischen Neurone ist Acetylcholin (ACh). Bei vielen Untersuchungen mit verschiedenen Säugerspezies konnte durch Nachweis des ACh-Abbauenzym Acetylcholinesterase (AChE) als Mediator in postganglionären parasympathischen Neuronen, die mit ihren Nervenendigungen die glatte Atemwegsmuskulatur und die exokrinen Drüsen innervieren, nachgewiesen werden (Mann, 1971). Mit immunhistochemischen Methoden zur Lokalisation des ACh-synthetisierenden Enzyms, Cholin Acetyltransferase (ChAT) wurden cholinerge Nervenendigungen um Blutgefäße und in der Lamina propria mucosae beim Meerschweinchen gefunden (Canning and Fischer, 1997). Ebenso wurde über die Abwesenheit von cholinergen Nervenfasern in der Lamina propria mucosae und um Blutgefäße der Atemwege des Menschen berichtet (Partanen et al., 1982).

Neben dem bereits erwähnten klassischen Mediator Acetylcholin wurden in den intrinsischen parasympathischen Neuronen der Atemwege beim Menschen

weitere Mediatoren wie VIP (Dey et al., 1981) und NO (de Rada et al., 1993), welche unterschiedliche und teilweise entgegengesetzte pharmakologische Wirkungen besitzen, nachgewiesen. Diese Mediatoren kommen mit ChAT sogar teilweise kolokalisiert vor (Fischer et al., 1996a). Bei den anderen Spezies konnten noch weitere Mediatoren wie Galanin (Cheung et al., 1985), Substanz P (SP) (Dey et al., 1988), (Fontan et al., 2000), Calcitonin Gene-Related Peptide (Nohr et al., 1995), und Opioide (Shimosegawa et al., 1990) nachgewiesen werden. Aktivierung der parasympathischen Atemwegsinnervation führt zu Bronchokonstriktion und Schleimsekretion.

1.2.4 Sensible Innervation

1.2.4.1 Sensible Innervation der oberen Atemwege

Die Nasenschleimhaut enthält eine dichte sensible Versorgung aus dem Ganglion trigeminale. Die Herkunft sensibler Nervenfasern der Nasenschleimhaut aus dem Ganglion trigeminale konnte durch neuronale Tracing Studien gezeigt werden (Hunter and Dey, 1998, Dinh et al., 2003, Dinh et al., 2005b). Sensible Nervenfasern können im Rahmen nasaler protektiver Reflexe über Mechano-Rezeptoren und chemosensitive Nervenendigungen die unteren Atemwege vor Inhalation von schädlichen Partikeln und Chemikalien schützen. Immunhistochemische Färbungen zeigten, dass Tachykinine wie SP in den nasal-spezifischen Neuronen und den Nervenfasern in der Nasenschleimhaut vorkommen (Hunter and Dey, 1998, Dinh et al., 2003). Eine Reihe von Stimuli wie Zigarettenrauch, schädliche Partikel und Chemikalien sind in der Lage sensible Neurone zu aktivieren (Lundblad et al., 1983). Durch Stimulation der sensiblen Neurone kann es zu einer Freisetzung von pro-inflammatorischen Neuropeptiden wie SP aus den Nervenfasernendigungen kommen. Nach deren unmittelbaren Freisetzung kann es zu einer Entzündung in der Nasenschleimhaut kommen. Weitere Neuropeptide wie CGRP wurden in sensiblen Nervenfasern der Nasenschleimhaut identifiziert. CGRP kommt oft mit SP kolokalisiert vor. Nach der Freisetzung induziert CGRP eine Vasodilatation in den Gefäßen der Nasenschleimhaut (Stjarne et al., 1989).

1.2.4.2 Sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge

Die sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge verläuft im N. vagus. Sie erhält nicht nur Informationen aus Erregungen von Berührungs- und Dehnungsrezeptoren an der Trachea, den Bronchi, den Bronchioli und sondern auch denen unter der Pleura. Außerdem ist bekannt, dass die sensible Innervation der unteren Atemwege funktionell ähnlich wie die obere sensible Atemwegsinnervation auf Reize reagieren kann. Stimuli wie Capsaicin, Bradykinin, hyperosmotische Salzlösung, Zigarettenrauch, Allergene, Ozon, pro-inflammatorische Mediatoren und kalte trockene Luft sind in der Lage, die sensible Innervation der unteren Atemwege zu aktivieren. Aktivierung dieser Neurone kann zu einer Freisetzung von pro-inflammatorischen Neuropeptiden führen, die zu einer Entzündung in den Atemwegen führen kann.

Nach ihren elektrophysiologischen Eigenschaften lassen sich die sensiblen Nervenfasern in drei Klassen einteilen: Langsam adaptierende Dehnungsrezeptoren, schnell adaptierende Dehnungsrezeptoren und C-Fasern-Rezeptoren. C-Fasern unterscheiden sich nicht nur elektrophysiologisch, sondern auch neuroanatomisch von den Fasern der Dehnungsrezeptoren (Ricco et al., 1996). Die Perikaryen der Dehnungsrezeptoren des Meerschweinchens befinden sich im Ganglion nodosum, die der C-Fasern im Ganglion jugulare. Im Gegensatz zu den Dehnungsrezeptoren sind C-Fasern aufgrund ihrer unmyelinisierten Axone sehr langsam im Leiten (<1 m/s) (Coleridge and Coleridge, 1984). Sie dienen nicht nur der Informationsübermittlung, sondern können auch unmittelbar nach Stimulation pro-inflammatorische Neuropeptide wie die Tachykinine synthetisieren und freisetzen. Zur Familie der Tachykinine zählt die Neuropeptid SP und Neurokinin A (NKA), die eine pro-inflammatorische Wirkung in den Atemwegen haben. Ein wichtiges in der Atemwegsinnervation vorkommendes und strukturell aber mit den Tachykininen nicht verwandtes Neuropeptid ist Calcitonin Gene-Related Peptid (CGRP). CGRP kommt sehr gehäuft mit Tachykininen in sensiblen Neuronen der Atemwege vor und spielt bei der Vermittlung der Vasodilatation in den Gefäßen der unteren Atemwege eine wichtige Rolle (Kummer et al., 1992, Verastegui et al., 1997b).

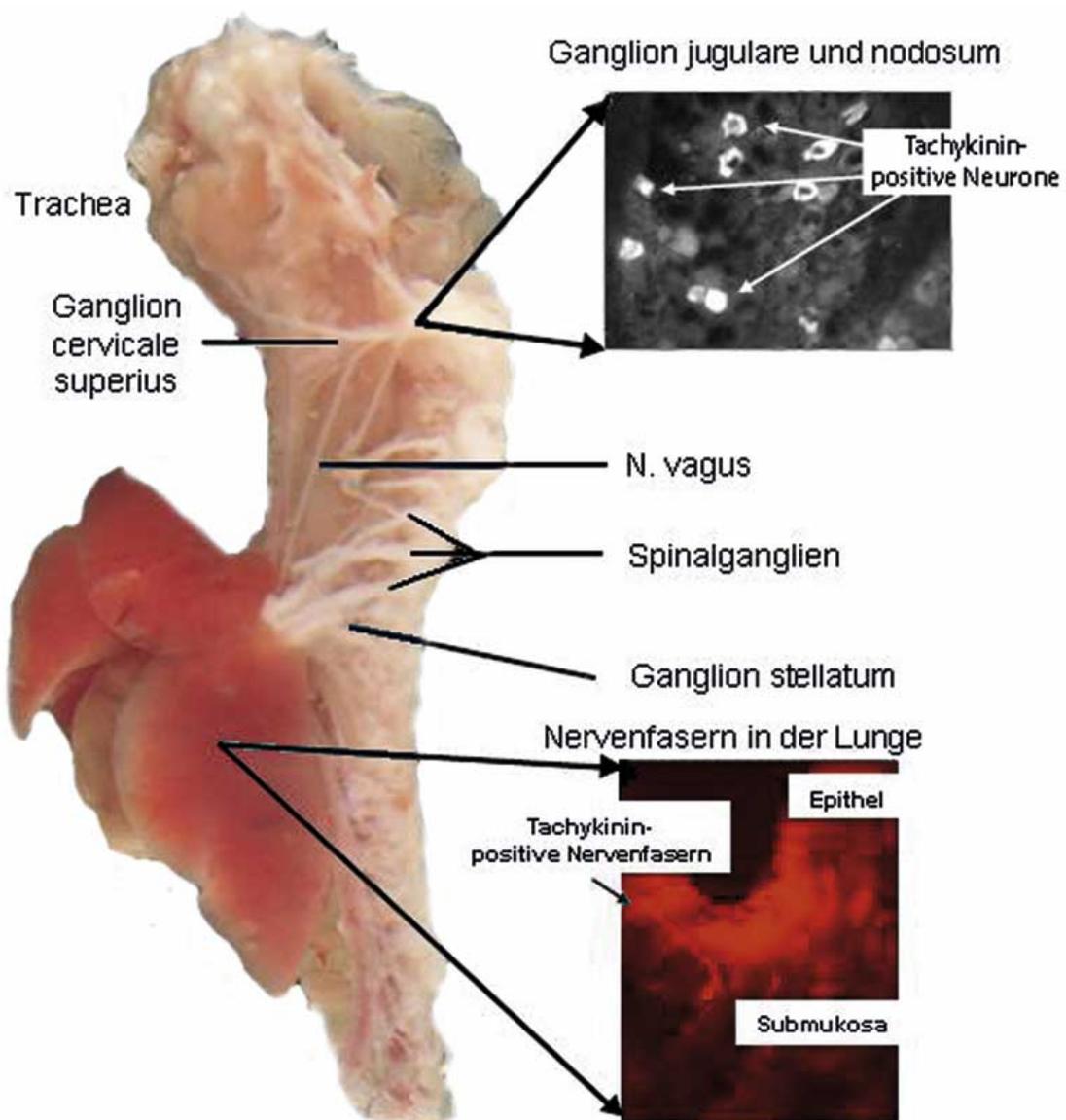


Abb. 1 Atemwegsinnervation der Mäuselunge (Dinh et al. 2006b)

1.3 Mediatoren und Rezeptoren in den Atemwegen

1.3.1 Tachykinine

Bei den Tachykininen handelt es sich um eine Familie von Neuropeptiden, die alle an ihrem C-terminalen Ende die gleiche Aminosäuresequenz besitzen. Substanz P (SP) wurde erstmals 1931 beschrieben (Euler and Gaddum, 1931) aber erst 1971 sequenziert (Chang et al., 1971).

In den Atemwegen kommen neben SP weitere Tachykinine wie Neurokinin A (NKA) (Springer et al., 2004), sowie dessen N-terminal verlängerte Peptide Neuropeptid K (NPK) (Tatemoto et al., 1985) und Neuropeptid γ (Kage et al., 1988, Harmar et al., 1990) vor. Diese Peptide werden vom gleichen Gen, dem Präprotachykinin A (PPT-A)-Gen, kodiert (Nawa et al., 1983). Aus dem Präprotachykinin A-Gen wird mRNA transkribiert und alternativ gespleißt, so dass 4 mRNA-Formen ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) entstehen können (Nawa et al., 1983). Allen vier ist gemeinsam, dass die entsprechenden Prä-pro-Peptide die Sequenz von SP enthalten. Neurokinin A (NKA) und seine N-terminal verlängerten Formen, Neuropeptid K und Neuropeptid γ , entstehen nur in solchen Zellen, die von diesem Gen die β -(Neuropeptid K) oder γ -Form der mRNA (Neuropeptid γ) spleißen. Es wird vom PPT-B-Gen kodiert (Kotani et al., 1986). Weitere Tachykinine wie Virokinin und Hemokinin wurde vor kurzem entdeckt und charakterisiert (Patacchini et al., 2004).

Die Tachykinine werden von den Nervenfasern der unteren Atemwege der Maus, des Meerschweinchens und des Menschen synthetisiert (Lundberg et al., 1984, Hua et al., 1985). Ort der Tachykinin Synthese sind sensible Neurone der vagalen Ganglien (Kummer et al., 1992, Dinh et al., 2005c) und der thorakalen Spinalganglien (Dinh et al., 2004a), deren Axone versorgen die glatte Muskulatur des Bronchus und der Bronchiolen, die Blutgefäße und die Schleimdrüsen der Atemwege. Ihre Wirkungen vermitteln die Tachykinine über Neurokinin-1-(NK-1) und Neurokinin-2-(NK-2) (Helke et al., 1990), die in dem Trachea- und Bronchialmuskel, Drüsen- und respiratorischen Epithel und in den einzeln liegenden Zellen der Lamina propria nachgewiesen werden konnten (Fischer et al., 1992). Durch die unterschiedliche Affinität der Tachykinine zu ihren Rezeptoren lassen diese sich pharmakologisch differenzieren. SP

vermittelt ihre Wirkung bevorzugt über NK-1-Rezeptor (Joachim et al., 2004, Springer et al., 2005) und Neurokinin A bevorzugt über NK-2-Rezeptor (Springer et al., 2004). Die Wirkung von Tachykininen in den Atemwegen kann als „pro-inflammatorisch“ bezeichnet werden.

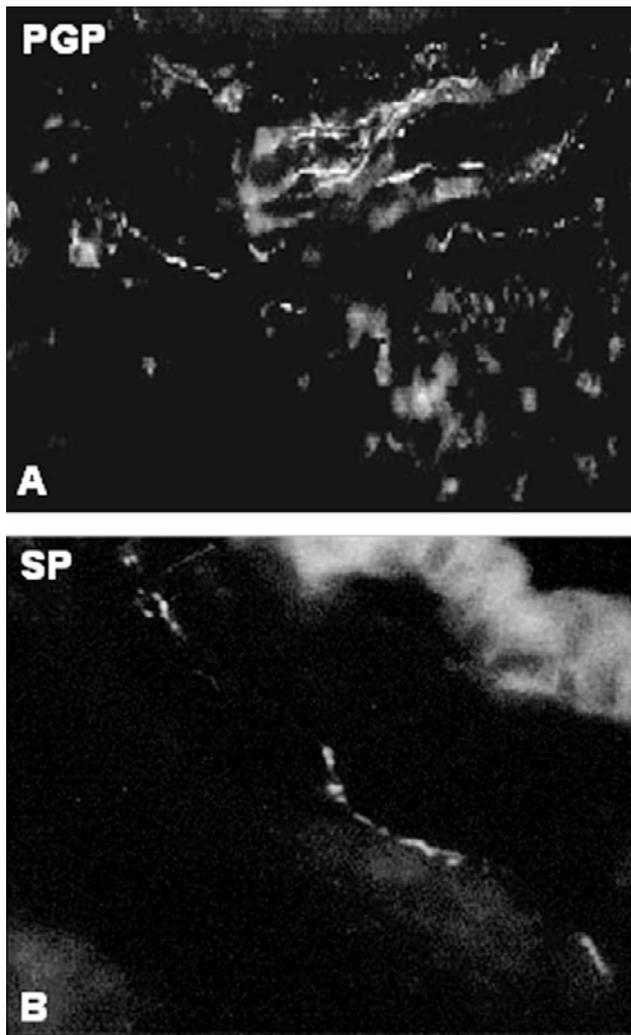


Abb. 2 Die dichte Innervation der unteren Atemwege des Menschen wird dargestellt durch PGP-positive Nervenfasern in dem humanen Bronchus. A) Immunhistochemische Darstellung mittels eines gegen PGP 9,5 (Pan-neuronaler Marker) und B) SP gerichteten Primärantikörpers und eines fluoreszierenden Sekundärantikörpers. Die Nervenfasern verlaufen unter dem Epithel eines Bronchus. Originalvergrößerung $\times 250$. (Dinh et al. 2006b)

1.3.2 Noradrenalin

Klassischer Neurotransmitter der postganglionären sympathischen Nervenfasern in den unteren Atemwegen der Säuger einschließlich des Menschen ist Noradrenalin (NA). Das Ausgangssubstrat der Biosynthese von Noradrenalin und Adrenalin ist Tyrosin, das durch das Schrittmacherezym Tyrosin-Hydroxylase (TH) in Dihydroxyphenylalanin (Dopa) und weiter in Dopamin umgewandelt wird. Durch Hydroxylierung des β -Kohlenstoffes der Seitenkette des Dopamin mit Hilfe des Enzyms Dopamin- β -Hydroxylase entsteht Noradrenalin. In einem weiteren biochemischen Reaktionsschritt entsteht durch die Methylierung des Noradrenalins Adrenalin. Diese Katecholamine werden in den Zellen des Nebennierenmarks und des sympathischen Nervensystems in Sekretgranula gespeichert und unmittelbar nach Stimulation freigesetzt.

Immunhistochemische Färbungen konnten die Expression von TH in Nervenfasern zeigen, die die Gefäße und die glatte Muskulatur der Trachea und der Bronchien der unteren Atemwege innervieren. Viele TH-positive Nervenfasern besitzen NPY. Mittels Tracingstudien konnte die Herkunft dieser TH-+/NPY-+-Nervenfasern nachgewiesen werden. TH-+/NPY-+-Nervenfasern stammen hauptsächlich aus den Neuronen des sympathischen Ganglion stellatum und des Ganglion cervicale superius (Kummer et al., 1992, Dinh et al., 2004c). Es wurden bisher aber auch TH-positive Neurone in Vagalganglien der Ratte mit Projektion zum Ösophagus und Magen gefunden (Kummer et al., 1993).

NA vermittelt vorwiegend über β 2-Rezeptoren durch eine Aktivierung der Adenylatzyklase eine Bronchodilatation, eine Sekretionssteigerung sowie eine Steigerung der Zilien-Schlagfrequenz beim Menschen (Coburn and Tomita, 1973).

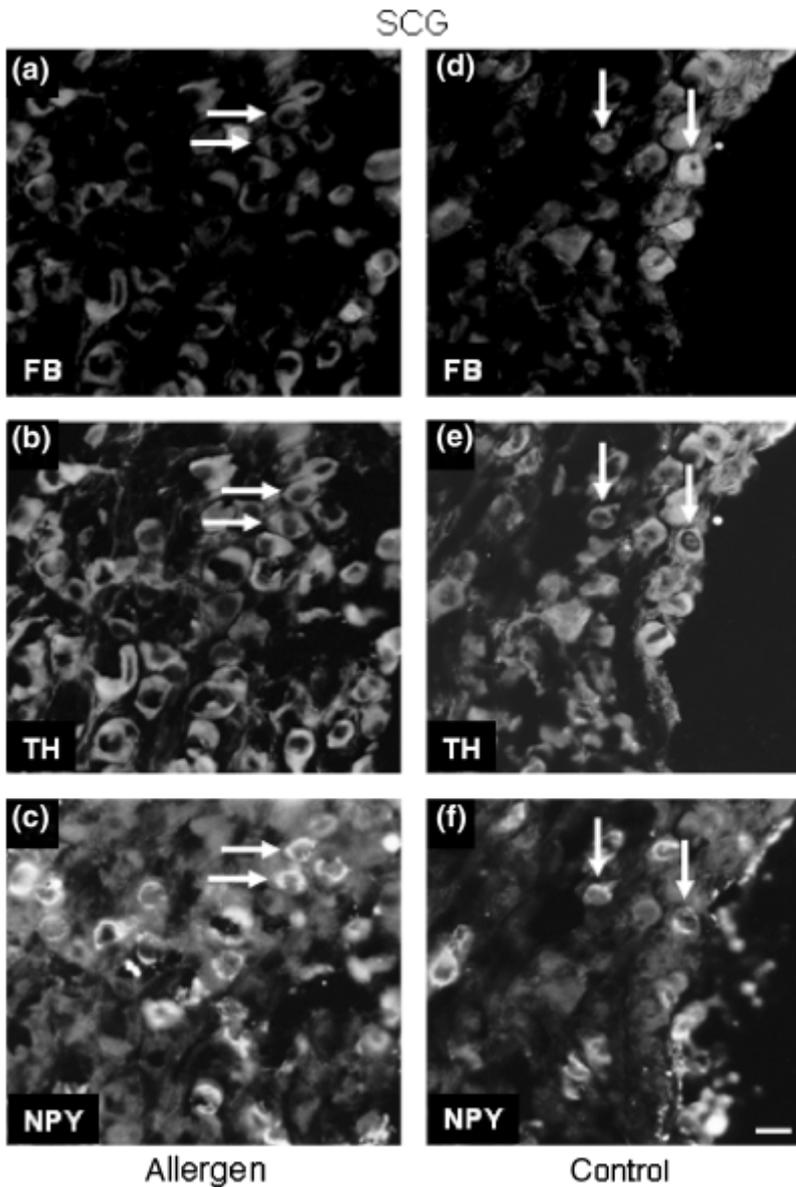


Abb. 3: Tyrosin-Hydroxylase (TH), Schrittmacherenzym von NA und Neuropeptide Tyrosine (NPY) in retrograd FB-markierten Neuronen des Ganglion cervicale superius (SCG) vor und nach der Allergen Sensibilisierung und Provokation, scale bar: 25 μ m. (Dinh et al. 2004c)

1.3.3 Neuropeptid Tyrosin

Neuropeptid Tyrosin (NPY) ist ein aus 36 Aminosäuren aufgebautes Peptid (Tatemoto et al., 1982). Es gehört zusammen mit Peptid YY zu der großen Familie der pankreatischen Polypeptide. NPY kommt in hohen Konzentrationen im Gehirn vor, während Peptid YY vorwiegend im gastrointestinalen Trakt nachgewiesen wird. In den Atemwegen der Katze, des Meerschweinchens, der Ratte (Uddman et al., 1984), der Maus (Verastegui et al., 1997a, Dinh et al., 2004c) und des Menschen (Lundberg et al., 1982) konnten zahlreiche Nervenfasern mit NPY-Immunreaktivität nachgewiesen werden. Nervenfasern mit NPY finden sich reichlich um die Blutgefäße, seromukösen Drüsen, in der Tunica mucosa und der glatten Muskulatur der tracheobronchialen Wand. Eine gehäufte Kolokalisation von NPY mit TH in Nervenfasern, die die Lunge innervieren, wurde mit immunohistochemischen Färbungen gefunden. Tracing Studien am Meerschweinchen und an der Maus zeigten, dass diese NPY- und TH-positiven Nervenfasern aus den sympathischen Ganglien wie dem Ganglion cervicale superius und Ganglion stellatum stammen (Kummer et al., 1992).

Die Wirkungen von NPY und Peptid YY werden über NPY-Rezeptoren vermittelt. Die zentrale Wirkung von NPY liegt wahrscheinlich in der Regulation des Blutdrucks und der Nahrungsaufnahme (Kummer et al., 1992, Bing et al., 1999). NPY relaxiert die glatte Atemwegsmuskulatur, führt aber zu einer Vasokonstriktion der Blutgefäße der Atemwege und ist an der Regulation der Drüsensekretion beteiligt (Lundberg and Modlin, 1994).

Tab. 1 Vorkommen von Mediatoren in sympathischen, parasympathischen und sensiblen Ganglien der oberen und unteren Atemwege und der Lunge

Funktionelles System	Herkunft	klass.Transmitter	NANC-Mediatoren
Nase			
Sympathisch	Ggl. cervicale superius	NA	NPY
Parasympathisch	Ggl. Sphenopalatinum	ACh	VIP
Sensibel	Ggl. Trigeminale	Aspartat Glutamat	SP,NKA,CGRP, NO
Trachea			
Sympathisch	Ggl. cervicale superius Ggl. stellatum	NA	NPY,VIP,NO Dynorphin
Parasympathisch	lokale Ggll.	ACh	VIP,NO,Enkephalin
Sensibel	Ggl. nodosum Ggl. jugulare Spinalggl.?	Aspartat Glutamat	SP,NKA,CGRP NO, Dynorphin
Lunge			
Sympathisch	Ggl. cervicale superius Ggl. stellatum Grenzstranggl. T3-T5	NA	NPY,VIP,NO Dynorphin
Parasympathisch	lokale Ggll.	ACh	VIP,NO,Enkephalin*
Sensibel	Ggl. nodosum Ggl. jugulare Spinalggl. C7-T6	Aspartat Glutamat	SP,NKA,CGRP, NO, Dynorphin

1.4 Ziel und Fragestellung

Nach dem Stand der Forschung vor den experimentellen Untersuchungen der vorliegenden kumulativen Arbeit gab es nur Hinweise für Unterschiede in der Neuropeptid Expression und Effekte in den Atemwegen bei verschiedenen Spezies. Im Gegensatz zum Meerschweinchen wurde die Atemwegsinnervation der Maus und des Menschen bisher aber wenig untersucht. In den vorliegenden Arbeiten sollen anatomische, patho-physiologische und patho-biochemische Grundlagen der Atemwegsinnervation der Maus, des Menschen und des Meerschweinchen unter normalen und auch unter patho-physiologischen Bedingungen experimentell ausgearbeitet und miteinander verglichen werden. Die gewonnenen Daten über die sensible und sympathische Innervation der zwei verschiedenen Atmungsorgane wie die der oberen Atemwege und unteren Atemwege der verschiedenen Spezies sollen hier helfen, die Rolle der Atemwegsinnervation unter mehreren Gesichtspunkten wie der Organ-, Spezies- und Krankheits-Spezifität zu verstehen.

Dabei soll die Tachykinin-Expression in mehreren Nervensystemen der oberen und der unteren Atemwege der verschiedenen Spezies im Hinblick auf ihren Einfluss auf die Entzündungsprozesse in den Atemwegen untersucht werden. Darüber hinaus sollen Untersuchungen zum Mechanismus der Tachykinin-Induktion in mehreren Nervensystemen der Atemwege unter verschiedenen patho-physiologischen Bedingungen durchgeführt werden. Als ein weiterer wichtiger Aspekt der Arbeiten sollen die Veränderungen der Atemwegsinnervation während der allergischen Entzündungsreaktionen beim Menschen und bei der Maus bezüglich der neuro-immun Interaktion untersucht werden.

Folgende Fragen sollen hierbei beantwortet werden.

1. Wie verändert sich die sensible und sympathische Atemwegsinnervation bezüglich deren Neuropeptid Expression bei allergischer Atemwegsentzündung in einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündungen?

2. Gibt es Spezies-spezifische Unterschiede in der Atemwegsinnervation bezüglich deren Neuropeptid-Expression und Wirkungen in den Atemwegen?
3. Gibt es am Beispiel der oberen und unteren Atemwege Organ-spezifische Unterschiede in der Atemwegsinnervation bezüglich deren Neuropeptid-Expression und Neuropeptid Effekte?
4. Gibt es Krankheits-spezifische Unterschiede in der Atemwegsinnervation bezüglich derer Neuropeptid Expression und Neuropeptid Effekte?
5. Faktoren, die bei der Tachykinin-Induktion während der allergischen Atemwegsentzündungen eine Rolle spielen können, sollen identifiziert werden
6. Auswirkungen der Veränderungen der sensiblen und sympathischen Atemwegsinnervation auf die Atemwegsentzündung und insbesondere auf Zellen des Immunsystems sollen hier auch untersucht werden

2 Veränderung der Atemwegsinnervation unter patho-physiologischen Bedingungen

2.1 Die obere Atemwegsinnervation

2.1.1 Trigemurale sensible Innervation (10.1)

Mit Hilfe von neuronalen Tracing Methoden konnte der Ursprung der sensiblen Innervation der oberen Atemwege aus dem Ganglion trigeminale nachgewiesen werden. Mittels eines neuronalen Farbstoffes, welcher in die Nasenschleimhaut appliziert und von den Nervenfasern an der Injektionsstelle aufgenommen wurde, konnten Neurone, die die Gefäße und das Epithel der Nasenschleimhaut innervieren (nasal-spezifische), im Ganglion trigeminale identifiziert werden. Die Verteilung der nasal-spezifischen Neurone im Bereich der Aufteilung der Nervi ophthalmicus und maxillaris lassen eine somatotopische Organisation dieser Neurone innerhalb des Ganglions vermuten (Hunter und Dey, 1998, Dinh et al., 2005, Dinh et al., 2003). Mit der Anwendung von neuronalen Tracing Techniken in Kombination mit der Einfachen- oder Doppel-Immunhistochemie konnten etwa 5 - 6 % der nasal-spezifischen Neurone mit SP Expression bei der Maus unter normalen Bedingungen nachgewiesen werden. Im Vergleich zu anderen Spezies wie der Ratte (81 %), ist die Anzahl bei der Maus sehr gering.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war die Untersuchung der Verteilung und Kolokalisation der Capsaicin-Rezeptoren (TRPV1, früher VR1) mit SP in nasal-spezifischen Neuronen. Ergebnisse der Untersuchung zeigten eine fast komplette Kolokalisation von SP und TRPV1 in nasal-spezifischen Neuronen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass TRPV1 an der Biosynthese und Freisetzung von SP aus den sensiblen Neuronen beteiligt sein kann. Pharmakologische Studien mit NK-Antagonisten und TRPV1 Antagonist wie Capsazepine konnten zeigen, dass Neuropeptide wie SP und CGRP aus den Nervenfasern an der Pathogenese entzündlicher Prozesse beteiligt sind (Trevisani et al., 2002, Trevisani et al., 2004).

2.1.2 Obere Atemwegsinnervation unter pathologischen Bedingungen (10.2)

Bei Patienten mit allergischer Rhinitis wurden im Gegensatz zu den anderen Rhinitisformen wie toxische und Aspirin-sensitive Rhinitis viel mehr Nervenfasern mit SP Expression in der Nasenschleimhaut und vermehrte SP Konzentration in nasaler Lavage gefunden (Groneberg et al., 2003a, Groneberg et al., 2003b, Nieber et al., 1992, Heppt et al., 2004), während die Anzahl der Nervenfasern mit CGRP in allen Rhinitisformen unverändert war. Da vermehrt Nervenfasern mit VIP bei allen Formen der Rhinitis und NPY bei toxischer und allergischer Rhinitis gefunden wurden, ist eine Änderung der autonomen Innervation der oberen Atemwege und somit eine Beteiligung des autonomen Nervensystems an der Pathophysiologie der Rhinitis sehr wahrscheinlich.

Immunohistochemische Analyse der Nervenfasern in den Nasenschleimhautbiopsien hat den Nachteil, dass der Ursprung der Nervenfasern nicht eindeutig zugeordnet werden kann. Die Frage, welche (sensible, sympathische oder parasympathische) Innervation einer Veränderung während Entzündungsprozessen unterworfen ist, bleibt daher offen. Nur mit Hilfe von Tracing Techniken lassen sich die Ursprünge der Nervenfasern identifiziert werden.

2.2 Die Innervation der unteren Atemwege und der Lunge

2.2.1 Sympathische Innervation der unteren Atemwege und der Lunge unter pathophysiologischen Bedingungen (10.3)

Seit langem ist bekannt, dass das autonome Nervensystem an der Pathogenese von chronisch entzündlichen Erkrankungen wie Asthma bronchiale und COPD beteiligt ist. Stimulation der sympathischen Atemwegsinnervation führte, vermittelt über die Effekte auf die glatte bronchiale Muskulatur, die bronchialen Gefäße und Drüsen, zu einer Erweiterung der Bronchien und Bronchiolen. Im Gegensatz zu anderen Spezies sind Effekte der sympathisch-adrenergen Atemwegsinnervation auf den Tonus der glatten Muskulatur der Atemwege des Menschen weniger ausgeprägt (de Jongste et al., 1991, Canning und Fischer, 2001, Canning, 2002).

Bei der Maus konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass viele sympathische Neurone aus dem SCG und Stellatum NA oder/und NPY produzieren. Die sympathische Innervation der Atemwege der Maus stammt aus beiden sympathischen Ganglien, dem SCG und Ganglion stellatum (Dinh et al. 2004c). Nach der Sensibilisierung und Provokation mit Allergene wurde keine signifikante Veränderung der Anzahl von Neuronen in SCG und Stellatum, die NA und/oder NPY produzieren, gefunden (Dinh et al., 2004c). Es ist nicht ganz abwegig, die Expression von NA und NPY bei Atemwegsentzündungen zu untersuchen, da eine Beteiligung von NA und NPY an allergischen Erkrankungen in früheren Arbeiten bereits vermutet wurde. NPY ist in der Lage, die Hauptsymptome wie Niesen, Juckreiz und Hypersekretion bei Rhinitis zu lindern (Lacroix und Mosimann, 1996). Weiterhin moduliert NPY die cholinerge Neurotransmission und verhindert Tachykinin Freisetzung von sensiblen Nerven. NPY Plasma Level wurde bei Patienten mit Asthma bronchiale nach Exazerbation erhöht gefunden, während wenige Nervenfasern mit NPY in Biopsien von Patienten mit Asthma bronchiale und COPD im Vergleich zu den Gesunden beschrieben wurden (Cardell et al., 1994, Chanez et al., 1998). Daher wurde eine protektive Rolle von NPY bei allergischen Atemwegsentzündungen vermutet (Lacroix und Mosimann, 1996).

2.2.2 Sympathische Innervation und Tachykinine unter pathologischen Bedingungen (10.3)

In der vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass SP von sympathischen Neuronen im SCG und Ganglion Stellatum unter normalen und pathologischen Bedingungen wie bei allergischen Atemwegserkrankungen im Gegensatz zu den vagal sensiblen Ganglien nicht exprimiert werden. Diese Ergebnisse bestätigen frühere Untersuchungen, dass Tachykinine nur von sensiblen Neuronen produziert werden. Vereinzelt Studien von Jonakait berichteten, dass, ähnlich wie bei den sensiblen Neuronen, auch sympathische Neurone aus dem SCG durch eine Reihe von Stimuli angeregt werden, Tachykinin zu produzieren (Shadiack et al., 1993, Shadiack et al., 1994, Ding et al., 1995).

2.2.3 Vagal sensible Innervation unter normalen und pathologischen Bedingungen (10.4, 10.5)

Ergebnisse aus den vorliegenden Arbeiten können zeigen, dass sensible Nervenfasern, die die unteren Atemwege und die Lunge der Maus innervieren, ähnlich wie bei den anderen Spezies z. B. beim Meerschweinchen aus dem Ganglion jugulare und des Ganglion nodosum stammen (Fischer et al., 1996b, Udem et al., 1999, Myers et al., 2002, Dinh et al., 2005c, Dinh et al., 2005d). Um zu überprüfen, ob Tachykinine auch an der Pathophysiologie der allergischen Atemwegsentzündungen bei der Maus beteiligt sind, wurde die Expression von Tachykininen in einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündungen untersucht. Pharmakologische Studien mit NK-1 Rezeptor Antagonisten lieferten den Nachweis für eine Beteiligung von Tachykininen an der Pathophysiologie der allergischen Atemwegsentzündungen bei der Maus (Quarcoo et al., 2004). Unter normalen Bedingungen werden Tachykinine ausschließlich in kleinen sensiblen Neuronen mit einem Durchmesser von weniger als 20 µm gefunden. Weiterhin konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden, dass Tachykinine in atemspezifischen Neuronen vorkommen, die gleichzeitig Capsaicin-sensitiv sind und den Transient Rezeptor Potential Vanilloid (TRPV1) besitzen (Kollarik et al., 2003). Im Vergleich zu den Meerschweinchen wurden bei den Mäusen sehr viel weniger atemspezifische Neurone mit Tachykinin Expression gefunden, welches auf einen Spezies-spezifischen Unterschied in der Neuropeptid Expression hindeutet.

Unter allergischen Atemwegsentzündungen wurden Tachykinine in atemspezifischen Neuronen mit größerem Durchmesser gefunden. Die Induktion von Tachykininen in sensiblen Neuronen wurde bereits beim Meerschweinchen nach Allergensensibilisierung und Provokation beobachtet (Fischer et al., 1996b). Ähnlich wie beim Meerschweinchen wurde die Induktion von Tachykininen in sensiblen atemwegsspezifischen Neuronen mit myelinisierten Axonen (A δ -Fasern) (die hohe Leitungsgeschwindigkeit erreichen können) bei der Maus gefunden (Dinh et al. 2005d). Es handelt sich hier um eine ganz neue neuronale Subpopulation, die durch einen Stimulus wie

Allergen mit der Synthese und Freisetzung von pro-inflammatorischen Neuropeptiden reagieren. Die genaue physiologische Bedeutung dieser neuronalen Subpopulation muss in Zukunft weiter untersucht werden.

2.2.4 Spinale sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge (10.6)

Ein weiteres wichtiges Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die Neuropeptidexpression in den atemwegsspezifischen Spinalganglienneuronen zu untersuchen. Im Hinblick auf neuronale Plastizität sensibler Neuronen unter verschiedenen patho-physiologischen Bedingungen wurde zuerst Expression für trkA, TRPV1 und SP in Spinalganglienneuronen von unbehandelten, gesunden, erwachsenen BALB/c Mäusen untersucht (Michael et al., 1997, Michael und Priestley, 1999, Udem et al., 1999, Fukuoka et al., 2002).

In Kolokalisationstudien mit der Kombination der Doppel-Immunhistochemie und der Tracing Technik wurden Fast blue-markierte (atemspezifische) Neurone auf die Expression und Kolokalisation von SP und TRPV1 oder SP und trkA untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass atemspezifische Neurone mit SP Expression fast immer den Rezeptor TRPV1 exprimieren. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass atemspezifische Spinalganglienneurone auch an der neurogenen Entzündung in den Atemwegen beteiligt sind. Alle atemspezifischen Spinalganglienneurone mit SP Expression zeigten außerdem den Rezeptor für Neurotrophine wie NGF (Bennett et al., 1996). Sie exprimierten den trkA Rezeptor an ihren Nervenfasern und Zellkörpern, so dass NGF als Ligand an den trkA-Rezeptor binden und diesen aktivieren kann. Daher haben Neurotrophine vermutlich eine wichtige Funktion bei der Aktivierung dieser Neurone im Hinblick auf die Neuropeptid Expression und Freisetzung von pro-inflammatorischen Neuropeptiden (de Vries et al., 1999, Dinh et al., 2004b, de Vries et al., 2006). SP, welches aus spinalen sensiblen Nervenfasern freigesetzt wird, kann über Aktivierung des NK-1 Rezeptors neurogene Entzündung induzieren (Barnes, 2001).

Aufgrund der morphologischen Kolokalisation von SP mit TRPV1 oder trkA in atemwegsspezifischen Spinalganglienneuronen wird eine Beteiligung der

sensiblen spinalen Atemwegsinnervation an der neurogenen Entzündung von Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale und COPD vermutet. Jedoch sind weitere Untersuchungen in dieser Richtung in Zukunft erforderlich um eine genauere Rolle der spinalen sensiblen Versorgung der Atemwege ausmachen zu können.

3 Neuromediatoren und Entzündung (10.7)

In den sechziger Jahren des 20. Jahrhunderts konnte ein direkter Beweis für eine neurogene Entzündung erbracht werden. Es wurde nachgewiesen, dass eine Denervierung oder eine Vorbehandlung mit Capsaicin die neurogene Entzündung abschwächen konnte (Jancso et al., 1967). Peter Barnes hat, basierend auf diesen Erkenntnissen, seine Axonreflex-Theorie für das Asthma bronchiale aufgestellt (Barnes, 1986).

Pharmakologische Studien mit NK-Antagonisten und TRPV1 Antagonist wie Capsazepine konnten zeigen, dass Neuropeptide wie SP und CGRP aus den Nervenfasern an der Pathogenese entzündlicher Prozesse wie bei den Ethanol-induzierten Entzündungen in den Atemwegen beteiligt sind (Trevisani et al., 2002, Trevisani et al., 2004). Es konnte nachgewiesen werden, dass der TRPV1 Rezeptor an der neurogenen Entzündungen der Atemwege verantwortlich ist (Trevisani et al., 2004).

Diese durch pro-inflammatorische Neuropeptide induzierten Entzündungen wurden als neurogene Entzündungen beschrieben. Neurogene Entzündung kann als eine komplexe Reaktionsantwort, bestehend aus gesteigerter Gefäßpermeabilität, Plasmaextravasation, Schleimsekretion, Einwanderung von Entzündungszellen und Gefäßremodelling bewirkt, durch die lokale Freisetzung pro-inflammatorischer Mediatoren, beschrieben werden (Barnes, 2001). Weitere Tachykinine wie Virokinin und Hemokinin wurden vor kurzem entdeckt und charakterisiert. In den Atemwegen werden Tachykinine nach ihrer Freisetzung von Neutraler Endopeptidase (NEP) und einem Angiotensin-umwandelnden Enzym abgebaut. Neben der neurogenen Entzündung steuern Tachykinine den Tonus der glatten Atemwegsmuskulatur und die bronchiale Blutzirkulation sowie die Immunzellen nach Aktivierung des NK-1 oder NK-2 Rezeptors und sind an

der Pathogenese von Asthma bronchiale und COPD beteiligt (Dinh et al., 2006b, Groneberg et al., 2006). Mit der Entwicklung von neuen hochwirksamen spezifischen tachykinergen und non-tachykinergen Rezeptor Antagonisten können entzündliche Erkrankungen wie Asthma bronchiale und Allergische Rhinitis in Zukunft besser therapiert werden (Patacchini und Maggi, 2001, Peiser et al., 2005, Geppetti et al., 2006).

Neben den bereits erwähnten klassischen Mediatoren Noradrenalin in postganglionären sympathischen und Acetylcholin in parasymphatischen Nervenfasern, existiert eine Reihe von Neuropeptiden, die ausgeprägte pharmakologische Effekte auf den Muskeltonus der Blutgefäße und der Bronchien, die Drüsensekretion und auf Entzündungs- und Immunzellen haben (Boichot et al., 1993, Barnes et al., 1998). Diese Neuropeptide gehören zu keinem morphologisch eingrenzbaeren Nervensystem und werden unter dem Begriff des nicht-adrenergen nicht-cholineren (NANC)-System zusammengefaßt.

Aufgrund physiologischer und pharmakologischer Erkenntnisse können die NANC-Mediatoren in zwei funktionelle Gruppen eingeordnet werden (Widdicombe, 1998). Die Tachykinine und CGRP einerseits gehören zum exitatorischen NANC-System (eNANC) (Karlsson et al., 1984), NOS, VIP und NPY andererseits zum inhibitorischen NANC-System (i-NANC) (Li und Rand, 1991) (Lundberg und Modlin, 1994). In den letzten Jahren erlangten die NANC-Mediatoren immer mehr an Bedeutung, da sie möglicherweise an der Pathogenese des Asthmas bronchiale beteiligt sind.

4 Interaktion zwischen Zellen des Nerven- und des Immunsystems bei allergischen Atemwegsentzündungen

Im Gegensatz zu neuronalen Mechanismen der allergischen Entzündungen wurde bisher die immunologische Antwort in allergischen Entzündungsprozessen gut untersucht. Seit langem ist bekannt, dass das Immunsystem nicht allein als autonomes System aufgefasst werden kann, sondern als ein integriertes Netzwerk betrachtet werden muss. Es stellt sich darüber hinaus die Frage, inwieweit Neuropeptide immunkompetente Zellen

und umgekehrt inwieweit immunkompetente Zellen die Zellen des Nervensystems beeinflussen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war auch, die neuro-immunologischen Wechselwirkungen in allergischen Entzündungsprozessen der oberen Atemwege in saisonaler und perennialer allergischer Rhinitis zu untersuchen. Studien an humanen Nasenschleimhaut-Biopsien von Patienten mit Rhinitis sollen zu weiteren Erkenntnissen von patho-physiologischen immunologischen Prozessen der allergischen Rhinitis beitragen und weitere Grundlagen zum Verständnis dieser Erkrankungen liefern.

Rezeptoren wie der PAR2 Rezeptor, der von sensiblen nasal-spezifischen Neuronen im Ganglion trigeminale exprimiert wird und für neurogene Entzündungen in den Atemwegen verantwortlich ist (Dinh et al., 2005b), konnten sowohl in Eosinophilen als auch in Mastzellen nachgewiesen werden (Dinh et al., 2006a). Eosinophile und auch Mastzellen zählen zu den wichtigsten Entzündungszellen bei allergischer Rhinitis. In Nasenschleimhautbiopsien von Patienten mit saisonal allergischer Rhinitis wurden erhöhte Anzahlen von Eosinophilen und gleichzeitig von Nervenfasern mit SP Expression gefunden, welches auf eine Interaktion zwischen Eosinophilen und Nervenfasern mit SP in der Nasenschleimhaut während der allergischen Entzündungen vermuten lässt (Heppert et al., 2004). Dabei kann die Erhöhung der SP-positiven Nervenfasern der Nasenschleimhaut die Induktion einer neuronalen Plastizität in den zur Nasenschleimhaut projizierenden Neuronen durch einen spezifischen Stimulus wie Allergen oder andere Stimuli widerspiegeln.

Weitere Rezeptoren wie die Histamin Rezeptoren, diese spielen eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie von nasaler Allergie. Die Aktivierung von Histamin Rezeptor 1 und 2 kann allergische Symptome verursachen, die aber effektiv von Antihistaminen blockiert werden können. Trotz der klinischen Anwendung von Antihistaminen gab es bisher keine ausreichenden Untersuchungen über die Expression, Distribution und Lokalisation von Histamin Rezeptor in der Nasenschleimhaut. Da spezifische Antikörper gegen den Histamin Rezeptor zurzeit nicht vorhanden sind, wurde die Expression von mRNA von Histamin Rezeptoren 1 und 2 in verschiedenen Zellen der Nasenschleimhaut untersucht.

Mit einer Laser-gesteuerten Mikrodissektion wurden epitheliale Zellen, endotheliale Zellen, Schleimdrüsen- und Entzündungszellen der Nasenschleimhaut isoliert und die Gewebeproben wurden dann mit einer quantitativen PCR Technik auf mRNA Expression für Histamin Rezeptoren 1 durchgeführt. Das Genexpressions-Level für H1R mRNA war in PAR im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht. Im Gegensatz zu den endothelialen Zellen wurde in epithelialen ($p= 0.001$) und Schleimdrüsenzellen ($p= 0.05$) vermehrte Expression von H1R mRNA gefunden. Nicht nur in ortständige Zellen sondern auch in Entzündungszellen konnte eine verstärkte Expression von H1R mRNA nachgewiesen werden. Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass Entzündungszellen mit Expression von H1R an den Histamin-vermittelten allergischen Entzündungen der oberen Atemwege eine wichtige Rolle einnehmen (Dinh et al., 2005a). Die Rolle von Histamin Rezeptoren in sensiblen Nervenfasern oder sensiblen Neurone ist bisher leider nicht genügend untersucht.

4.1 Neuronale Einflüsse auf Zellen des Immunsystems (10.4, 10.8)

Da im Gegensatz zu den zahlreichen Studien hinsichtlich der pharmakologischen Effekte von Tachykininen bisher wenige Untersuchungen zur Expression von Tachykininen in sensiblen Atemwegsneuronen in Beziehung zu den immunkompetenten Entzündungszellen durchgeführt wurden, war es auch Ziel der vorliegenden Arbeit, die Expression von Tachykininen in sensiblen Atemwegsneuronen in Korrelation zu den Entzündungszellen in einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündung zu untersuchen. Allergensensibilisierung und Provokation kann sensible Atemwegsneurone induzieren, Tachykinine zu synthetisieren und freizusetzen, die zu einer Verstärkung der Einwanderung von Entzündungszellen wie Eosinophilen und Leukozyten in den Atemwegen führen. Tachykinin wurde durch *de novo* Synthese in sensiblen Atemwegsneuronen induziert, 24 Stunden nach der Allergensensibilisierung und Provokation waren Eosinophilen und Leukozyten in der bronchoalveolären Lavage (BAL) auch erhöht (Dinh et al., 2005d, Joachim et al., 2006).

Behandlung mit Tachykinin-Rezeptor-Antagonisten wie NK-1-Rezeptor Antagonist kann allergische Atemwegsentzündung, bronchiale Hyperreaktivität nach Stress Exposition (Joachim et al., 2004) und Adhäsion von Eosinophilen und Neutrophilen an der trachealen Venenwand nach Zigarettenrauch verhindern (Baluk et al., 1996)..

4.2 Immunologische Einflüsse auf Zellen des Nervensystems (10.9)

Unter normalen physiologischen Bedingungen wurde Neurotrophin primär von Neuronen und Nerven-verwandten Zellen wie Gliazellen und Schwannzellen (Levi-Montalcini, 1987; Levi-Montalcini et al., 1996) und auch von einer Reihe von immunkompetenten Zellen, einschließlich Mastzellen (Leon et al., 1994), Eosinophilen (Noga et al., 2005), T-Zellen und B-Zellen (Barouch et al., 2000, Barouch und Schwartz, 2002, Braun et al., 1999), synthetisiert. Immunzellen können wiederum als Zielzellen von Neurotrophinen dienen.

Der Nervenwachstumsfaktor (NGF) wurde erhöht in allergischen Entzündungen gefunden (Virchow et al., 1998, Nassenstein et al., 2003). Immunohistochemische Färbungen zeigten, dass sensible Atemwegsneurone Neurotrophinrezeptoren wie trkA, trkB und p75 Neurotrophinrezeptor in ihren Zellkörpern und Nervenfasern exprimieren (Kerzel et al., 2003, Dinh et al., 2004b, Nassenstein et al., 2006). Aktivierung derer Rezeptoren können Veränderungen an den Neuronen hervorrufen. In der vorliegenden Arbeit soll der Effekt von NGF auf die Tachykinin Expression in Atemwegsneuronen im Hinblick auf die Funktion von NGF als Schlüsselmolekül für die neuro-immune Interaktion untersucht werden. NGF war in der Lage, 24 Stunden nach der Injektion in den Hauptbronchus nicht nur beim Meerschweinchen sondern auch bei der Maus, Tachykininsynthese in den Atemwegsneuronen, die sieben Tage zuvor unter Anwendung einer mikrochirurgischen Technik mit einem neuronalen Farbstoff markiert und identifiziert wurden, zu induzieren. Untersuchungen zur weiteren Aufklärung über die Mechanismen der Induktion, die bei der Tachykinininduktion involviert sind, zeigten, dass die Tachykinininduktion in sensiblen Neuronen einen Durchmesser größer als 25 μm haben und dass diese Neurone ausschließlich Neurotrophinrezeptor trkA exprimieren.

Ergebnisse dieser Untersuchungen weisen auf eine Schlüsselrolle von Neurotrophin und Neurotrophinrezeptor trkA an der neuronalen Veränderung sensibler Atemwegsneurone hin (Dinh et al., 2004b, Hunter et al., 2000a). Für die neuro-immune Kommunikation scheint der Panneurotrophinrezeptor p75 auch eine wichtige Funktion zu übernehmen. Nach der Allergensensibilisierung und Provokation zeigten p75-defiziente Mäuse wenige allergische Atemwegsentzündung und neuronale Hyperreaktivität (Kerzel et al. 2003). Es verdichten sich die Hinweise, dass die Neurotrophine als Signalmoleküle bei der neuro-immunen Interaktion eine Schlüsselrolle einnehmen und dass sie darüber hinaus einen immunologischen Einfluss auf die sensiblen Atemwegsneurone ausüben können.

5 Diskussion

Eine Reihe von Stimuli wie Capsaicin, Bradykinin, hyperosmotische Salzlösung, Zigarettenrauch, Allergene, Ozon, pro-inflammatorische Mediatoren und kalte trockene Luft sind in der Lage, sensible Atemwegsneurone zu aktivieren und zu einer Freisetzung von einer Vielzahl an Mediatoren wie SP (SP) und Neurokinin A (NKA) zu führen. Im Bereich der Pathophysiologie und -biochemie des Asthma bronchiale sind mittlerweile bereits über fünfzig Mediatoren mit Effekten auf verschiedenste pulmonale Funktionen beschrieben worden. Diese Neuropeptide konnten immunhistochemisch im gesamten Atemtrakt und in der Haut nachgewiesen werden. Sie haben starke Effekte auf den bronchomotorischen Tonus, die Atemwegssekretion, den Gefäßtonus und Entzündungs- und Immunzellen (Barnes et al., 1998). Tachykinine werden in den Zellkörpern des Ganglion trigeminale, des Ganglion jugulare und des Ganglion nodosum synthetisiert, haben einen pro-inflammatorischen Effekt auf die Atemwege und sind an den Entzündungen in den Atemwegen beteiligt (Dinh et al., 2006b). In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle der Atemwegsinnervation im Hinblick auf die Neuropeptid- und Rezeptorexpression bei entzündlichen Atemwegserkrankungen wie Allergischer Rhinitis und Asthma bronchiale untersucht.

Trigeminale sensible Innervation

Die Unterschiede in der SP Expression im Ganglion trigeminale bei der Maus im Vergleich zu anderen Spezies wie bei der Ratte und bei dem Meerschweinchen liegen wahrscheinlich in den Spezies-spezifischen Unterschieden, die bezüglich der Neuropeptid Expression bereits für die Ratte und Meerschweinchen berichtet wurden (Dinh et al., 2003, Lazarov, 2002, Dinh et al., 2005b). Da aber verschiedene Tracer Substanzen bei den Versuchen appliziert wurden, ist nicht auszuschließen, dass die Diskrepanz durch die Eigenschaft des neuronalen Tracers verursacht wurde. Fast blue erreicht alle Schichten der Schleimhaut während Rhodamine-markierte Latex Partikel nur das Epithel der Schleimhaut anfärbt (Hunter und Dey, 1998).

Eine fast komplette Kolo­kalisierung von SP und TRPV1 in nasal-spezifischen Neuronen im Ganglion trigeminale lassen vermuten, dass TRPV1 bei der Biosynthese und Freisetzung von SP aus den sensiblen Neuronen eine wichtige Rolle spielen. Pharmakologische Untersuchungen mit Tachykininrezeptor Antagonist und TRPV1 Antagonist wie Capsazepine konnten zeigen, dass Neuropeptide wie SP und CGRP aus den Nervenfasern an der Pathogenese entzündlicher Prozesse beteiligt sind (Trevisani et al., 2002, Trevisani et al., 2004).

Nachdem in der vorliegenden Arbeit die sensible Innervation der oberen Atemwege bezüglich des Neuropeptidexpressionsmusters unter normalen Bedingungen untersucht wurde, war ein weiteres wichtiges Ziel die Veränderung der Innervation der Nasenschleimhaut im Hinblick auf das Neuropeptidexpressionsmuster unter verschiedenen Entzündungsprozessen zu vergleichen. Da bisher für das Verständnis der neuronalen Veränderung wichtige anatomische, patho-physiologische und patho-biochemische Grundlagen der Atemwegsinnervation fehlen, war es wichtig zu untersuchen, ob verschiedene entzündlichen Erkrankungen der oberen Atemwege am Beispiel der Rhinitis, die in ihrer allergischen Form häufig mit Asthma bronchiale vorkommt und auch zum Vorläufer des allergischen Asthma bronchiale werden kann, zu unterschiedlichen Expressionsmustern der Innervation der Schleimhaut führen können. Da sich das Expressionsprofil der nasalen Innervation bei den verschiedenen Rhinitisformen unterscheidet, ist eine krankheitsspezifische Änderung der Innervation der oberen Atemwege anzunehmen.

Im Gegensatz zu den zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen in den unteren Atemwegen bei verschiedenen Spezies wie bei der Maus (Dinh et al., 2005d) und beim Meerschweinchen (Fischer et al., 1996b, Udem et al., 1999, Hunter et al., 2000a, Myers et al., 2002), gibt es nur wenige Untersuchungen zur oberen Atemwegsinnervation. Da sich die oberen und unteren Atemwege funktionell und anatomisch unterscheiden, stellten sich die Fragen, ob hier ähnliche Mechanismen bezüglich der „neurogenen Entzündung“ existieren.

Kolokalisationsstudien zeigten, dass viele nasal-spezifische SP-positive Neurone auch TRPV1 und PAR2 Rezeptoren exprimieren. Aktivierung dieser Rezeptoren kann unter patho-physiologischen Bedingungen zu einer Freisetzung von Tachykininen aus dem Ganglion trigeminale führen und damit eine neurogene Entzündung in den oberen Atemwegen auslösen. Weiterhin wurde berichtet, dass sensible Neurone im Ganglion trigeminale durch verschiedene Stimuli wie Tolylen-2,4-diisocyanat (TDI) oder Noxen zu einer Induktion und Freisetzung von pro-inflammatorischen Neuropeptiden wie Tachykininen und CGRP führen können (Hunter et al., 2000b). Diese Ergebnisse lassen auf einen ähnlichen neuronalen Mechanismus bei der Pathogenese entzündlicher Veränderungen in den Atemwegen vermuten.

Vagal sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge

Im Gegensatz zum Meerschweinchen und zur Ratte wurde die vagal sensible Atemwegsinnervation des Menschen und der Maus bisher wenig untersucht. Da Basiswissen über die Innervation der Atemwege beider Spezies für das Verständnis der (patho-) physiologischen und (patho-) biochemischen Vorgänge bei allergischen Atemwegsentzündungen, auch im Hinblick der Spezies-spezifischen Unterschiede in der Neuropeptid Expression und deren neuropharmakologischen Effekte, unverzichtbar sind, soll auch als Ziel der vorliegenden kumulativen Arbeiten die Atemwegsinnervation in einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündung untersucht werden.

Im Vergleich zu den Meerschweinchen wurden bei den Mäusen sehr viel weniger atemspezifische Neurone mit Tachykinin Expression gefunden, welches auf einen Spezies-spezifischen Unterschied in der Neuropeptid Expression hindeutet (Dinh et al. 2005d, Lazarov, 2002). Unter allergischen Atemwegsentzündungen wurden Tachykinine in atemspezifischen Neuronen mit größerem Durchmesser induziert (Meyers et al. 2002, Dinh et al. 2005d).

Bei der Induktion von pro-inflammatorischen Neuropeptiden wie Tachykininen handelt sich hier um ein Spezies-übergreifendes Phänomen der neuronalen Antwort auf einen Reiz wie Allergene. In weiteren Studien sollen dann die Mechanismen, die zu einer neuronalen Veränderung führen, aufgeklärt werden.

Bei der Analyse der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Ergebnisse, unter Berücksichtigung der gegenwärtigen Forschung, könnten mehrere potentielle Rezeptoren wie der TRPV1, die Neurotrophin Rezeptoren trkA, trkB und p75 NTR sowie der Nervenwachstumsfaktor (NGF) als Schlüsselkandidaten für die neuronale Veränderung in Frage kommen (Dinh et al. 2004b, Hunter et. Al. 2000a, Kerzel et al. 2003). Aktivierung der TRPV1 (Capsaicin- -Rezeptor) kann zu einer Freisetzung von pro-inflammatorischen Neuropeptiden wie Tachykinin SP /Neurokinin A und CGRP aus den sensiblen Nervenfasern führen (Trevisani et al. 2004). Nach deren Freisetzung können diese pro-inflammatorischen Neuropeptide neurogene Entzündungen in den Atemwegen verursachen. Stimulation der tachykininergen Nervenfasern führt beim Meerschweinchen zu einer Bronchokonstriktion (Barnes, 1986) während es bei einer Studie bei der Maus zu einem gegenteiligen Effekt mit Bronchodilatation kommt (Manzini, 1992). Für das Verständnis über die tachykinerge Atemwegsinnervation der Maus sind daher weitere Untersuchungen erforderlich.

Unter anderen patho-physiologischen Bedingungen wie bei chronischem Husten, konnte einen Anstieg von Nervenfasern mit TRPV1 Expression beobachtet werden, während die Gesamtnervenfaserdichte, die mit einem neuronalen Marker PGP 9.5 markiert wurde, im Vergleich zu den Gesunden nicht zunahm. Bei den Hustenpatienten handelte es sich um eine Kohorte von Patienten mit einem breiten Spektrum aus unterschiedlichen Ursachen des Hustens wie Asthma bronchiale, gastroösophagealem Reflux und Rhinosinusitis. Bei vielen Patienten war die Ursache nicht bekannt. Alle diese Patienten aber haben eine Gemeinsamkeit. Sie reagieren sehr sensitiv auf Inhalation mit Capsaicin. Die Expression von PGP 9.5 und TRPV1 bei den Patienten mit bekannter Ursache des Hustens und den Patienten mit unbekannter Ursache unterschied sich nicht voneinander (Groneberg et al., 2004). Capsaicin-induzierter Husten wird vermutlich durch den TRPV1 vermittelt, da Capsaicin-Antagonist Capsazepine den Husten verhindern und Husten durch TRPV1 Agonisten wiederum induziert werden kann. Es ist bekannt, dass die Expression des TRPV1 Rezeptors von Wachstumsfaktoren

wie NGF reguliert wird. NGF kann Mastzellen, deren Anzahl in Biopsien von Nicht-Asthmatikern mit Husten erhöht gefunden wurde (Niimi et al., 2005), aktivieren Entzündungsmediatoren freizusetzen, die den TRPV1 Rezeptor stimulieren können (Hwang und Oh, 2002).

Spinale sensible Innervation der unteren Atemwege und der Lunge

In den vorliegenden Arbeiten wurden Spinalganglien mit Projektion zu den unteren Atemwegen mittels neuronalem Tracing identifiziert. Im Gegensatz zu den Meerschweinchen und den Ratten, gab es bis vor diesen Untersuchungen keine ausreichende Information zu der sensiblen Versorgung der unteren Atemwege aus den Spinalganglien der Maus. Eine zusätzliche Versorgung der Atemwege der Maus aus den thorakalen Spinalganglien wurde bereits beim Meerschweinchen und der Ratte nachgewiesen (Springall et al., 1987, Kummer et al., 1992). Diese afferenten Nervenfasern verlaufen zusammen mit den sympathischen Axonen, durchqueren die sympathischen Grenzstrangganglien und ziehen über die Hinterwurzel zu den Laminae I & II (Substantia gelatinosa) im Hinterhorn des Rückenmarks. Die Zellkörper dieser Neurone liegen in den Spinalganglien (Springall et al., 1987, Kummer et al., 1992). Spinalganglienneurone mit Projektion zu den unteren Atemwegen der Maus wurden auf der thorakalen segmentalen Höhe T1-T6 am häufigsten gefunden, aber bis zur zervikalen Höhe C7 und hinunter bis zur thorakalen Höhe T8 wurden vereinzelt auch Neurone mit Tracer Fast blue gesehen. Die Ergebnisse der Untersuchung lassen vermuten, dass die spinale sensible Atemwegsinnervation bei allen Spezies ähnlich aufgebaut ist und diese keine Spezies-spezifischen Unterschiede aufweisen (Dinh et al., 2004a). Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass, wie bei den anderen Spezies, eine bilaterale Versorgung der unteren Atemwege der Maus aus den Spinalganglien neuronen stammt (Springall et al., 1987), da Neurone sowohl auf der linken als auch rechten Seite der thorakalen Spinalganglien mit Fast blue markiert wurden. Jedoch konnte nicht ganz ausgeschlossen werden, dass durch den Husten der Farbstoff Fast blue auch in den linken Hauptbronchus

gelangen und zur Anfärbung von Spinalganglienneuronen der linken Seite führen kann (Dinh et al., 2004a).

Unter normalen Bedingungen zeigten atemwegsspezifische Spinalganglienneurone mit SP Expression keine Neurofilamente, da diese Neurone der C-Fasern Population angehören (Myers et al., 2002). Atemwegsspezifische Spinalganglienneurone, die Substanz P enthalten, exprimieren gleichzeitig einen exzitatorischen Neurotransmitter wie Glutamat (Schaffar et al., 1997), das beim vagalen Reflex eine Rolle spielt (Bonham et al., 1993). Die Kolokalisation von Glutamat und Tachykininen (SP /neurokinin A) wurde bereits in vagalen Nervenfasern (Talman et al., 1980), im Nukleus des Tractus Solitarius und dem spinalen Hinterhorn gefunden (Saha et al., 1995). SP steigerte die Freisetzung von Glutamat (Kangrga und Randic, 1990). Weitere Untersuchungen zur Charakterisierung von nicht-atemwegsspezifischen Spinalganglienneuronen zeigten außerdem, dass der größte Teil der sensiblen Spinalganglienneurone Neurofilamente exprimiert. Die physiologischen Eigenschaften dieser Neurone wurden bisher noch nicht untersucht.

Sympathische Innervation der unteren Atemwege und der Lunge unter pathophysiologischen Bedingungen

Im Hinblick auf die bisher wenig untersuchte sympathische Atemwegsinnervation war das Ziel der kumulativen Arbeit, die sympathische Atemwegsinnervation unter der allergischen Entzündung in einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündung zu untersuchen. Neben der Plastizität der sensiblen Atemwegsinnervation wurde auch die Veränderung der sympathischen Innervation im ZNS und peripheren Nervensystem beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die Effekte der Sensibilisierung und Provokation mit Allergene auf die sympathische Atemwegsinnervation untersucht. Bei der Maus konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass viele sympathische Neurone aus dem SCG und Stellatum NA oder/und NPY produzieren. Die sympathische Innervation der Atemwege der Maus stammt aus beiden sympathischen Ganglien, dem SCG und Ganglion stellatum (Dinh et al. 2004c).

Im Gegensatz zu vereinzelte Studien konnte hier in sympathischen Neuronen in SCG und Stellatum der Maus weder unter normalen noch unter allergischen Bedingungen SP Expression gezeigt werden. Es wurde berichtet, dass SP in kultivierten sympathischen Ganglienneuronen vorkommen und durch Interleukin-1 (IL-1) induziert wurde (Shadiack et al., 1993, Shadiack et al., 1994, Ding et al., 1995). Das Fehlen von Tachykinin Expression in sympathischen Neuronen vor und 24 Stunden nach der Allergen Sensibilisierung und Provokation in der hier untersuchten Studie im Vergleich zu der Jonakait Studie lässt sich vielleicht durch die Spezies-spezifischen Unterschiede in dem Neuropeptid Profil und dem Alter der Versuchstiere erklären, da die Versuche von Jonakait mit neugeborenen Ratten durchgeführt wurden.

Es ist nicht ganz abwegig, die Expression von NA und NPY bei Atemwegsentzündungen zu untersuchen, da Änderungen in der Protein Expression katecholaminerger Neuronen nach Hämorrhagie, Stress Exposition (Chan und Sawchenko, 1998, Rutkoski et al., 2002) und Axotomie (Sun und Zigmond, 1996) beobachtet wurde. Neben Noradrenalin wurde NPY als ein wichtiges Neuropeptid der sympathischen Innervation, welches als Vasokonstriktor an der Regulation der nasalen, trachealen und bronchialen Gefäßen in verschiedenen Spezies einschließlich des Menschen beteiligt ist, identifiziert (Lacroix et al., 1989, Lacroix et al., 1990, Lacroix et al., 1992, Lacroix et al., 1994). Als einer der stärksten Vasokonstriktoren kontrollieren die Katecholamine die pulmonale und bronchiale Blutversorgung. Aufgrund deren hormoneller und neuronaler Herkunft war es bisher nicht möglich, deren hormonelle von deren neuronalen Effekten zu unterscheiden. Diese Schwierigkeiten tragen dazu bei, dass die funktionelle Rolle der sympathischen Atemwegsinnervation, die an der Biosynthese und Freisetzung der Katecholamine beteiligt ist, nicht genügend untersucht und verstanden wurde (Ind, 1994).

Nach der Sensibilisierung und Provokation mit Allergene wurde in der vorliegenden kumulativen Arbeit keine signifikante Veränderung der Anzahl von Neuronen in SCG und Stellatum, die NA und/oder NPY produzieren, gefunden (Dinh et al., 2004c). Zwei Möglichkeiten würden in Frage kommen, bei denen

Neuropeptide in gesteigerter Menge nach Stimulation freigesetzt werden können. Neurone, die vorher kein Neuropeptid synthetisieren, werden auf einmal in die Lage versetzt, *de novo* Gen-Expression des Neuropeptides zu induzieren. Diese Möglichkeit der phänotypischen Umschaltung der Neurone wurde in der vorliegenden Untersuchung ausgeschlossen, da sich die Anzahl der sympathischen Neurone mit NA und/oder NPY nach der Allergen Sensibilisierung und Provokation nicht verändert hat. Die zweite Möglichkeit besteht darin, die bereits bestehende Neuropeptid Gen-Expression durch den erhöhten Umsatz zu steigern und freizusetzen. Dabei verändert sich die Anzahl der Neurone nicht, so dass diese Möglichkeit durch die durchgeführte Studie nicht ausgeschlossen werden kann. Die hohe Anzahl von sympathischen Neuronen mit NA und NPY Expression lässt auf eine wichtige Rolle der Katecholamine und NPY bei der (patho-) physiologischen Regulation der Atemwegsfunktion der Maus, ähnlich wie bei Meerschweinchen, vermuten (Kummer et al., 1992).

Neuronale Einflüsse auf Zellen des Immunsystems

Viele primäre und sekundäre Organe des Immunsystems werden von einem dichten Netzwerk von Nervenfasern innerviert (Felten et al., 1981, Felten, 1993). Nervenfasern mit der Zielinnervation zu den immunkompetenten Organen können neuronale Informationen in chemische Signale überführen, die mit spezifischen zellulären Elementen des Immunsystems interagieren (Madden et al., 1994). Katecholamine können von sympathischen Nervenfasern freigesetzt werden und die Immunantwort regulieren (Livnat et al., 1985). Da die von den Nervenfasern freigesetzten pro-inflammatorischen Neuropeptide sehr schnell inaktiviert werden, muss eine sehr enge Beziehung zwischen Zellen des Immunsystems und Zellen des Nervensystems bestehen, um überhaupt an pathophysiologischen Prozessen beteiligt zu sein. Allergene können SP Induktion und Freisetzung von vagal sensiblen Neuronen führen, die zu einer neurogenen Entzündungen in den Atemwegen führen könne (Dinh et al. 2005d, Fischer et al. 2006b, Myers et al. 2002). SP kann zu einer Degranulation von humanen Mastzellen sowohl in den Atemwegen als auch in der Haut führen

(Foreman, 1987, Peters et al., 2005, Kawana et al., 2006). Aktivierung von NK-1 Rezeptoren in Mastzellen führte zu einer entsprechenden Zytokinproduktion bei erhöhter Genexpression. SP kann zu einer Aktivierung von humanen Eosinophilen (Iwamoto et al., 1990) und zu einer Steigerung der Mitoseaktivität von Lymphozyten (Payan et al., 1983) führen.

Es ist bekannt, dass immunkompetente Entzündungszellen Rezeptoren für Neuropeptide enthalten können und durch Bindung an den Rezeptoren der immunkompetenten Zellen können die Neuropeptide Einfluss auf das Immunsystem ausüben. Die entsprechenden Rezeptoren für Tachykinine wie NK-1, NK-2 und NK-3 sind nicht nur im peripheren Nervensystem, sondern auch an B- und T-Zellen und alveolaren Makrophagen nachgewiesen (Mapp et al., 2000, Bardelli et al., 2005). Durch Behandlung allergisierter Mäusen mit NK-1 oder NK-2 Antagonisten kann die Anzahl von Eosinophilen und Leukozyten in der BAL in einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündung reduziert werden (Quarcoo et al., 2004). Einem anderen Neuropeptid wie das Calcitonin Gen-verwandte Peptid (CGRP), welches oft mit Tachykinin in sensiblen Atemwegsneuronen kolokalisiert vorkommt, wurde eine chemotaktische Wirkung auf Dendritische Zellen (DC) zugeschrieben. CGRP konnte das Abwandern von reifen DC Richtung regionärer Lymphknoten verhindern (Dunzendorfer et al., 2001). Weiterhin hat CGRP einen modulierenden Effekt auf Antigen-präsentierende Zellen (Hosoi et al., 1993)

Immunologische Einflüsse auf Zellen des Nervensystems

Bei einigen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Entzündungszellen in direktem Kontakt mit benachbarten Neuronen liegen und darüber kommunizieren. So konnte zwischen sensiblen Neuronen mit CGRP und SP Expression und Mastzellen eine sehr enge Nachbarschaft festgestellt werden. In parasymphatischen intramuralen Ganglien von isolierten Bronchien der Ovalbumin-sensibilisierten Meerschweinchen wurden Mastzellen mit direkter Nachbarschaft an Neuronen gefunden, die auch nach Antigen-Provokation degranulieren (Myers et al., 1991). Eine direkte Mast-Nerven Interaktion kann daher vermutet werden. Es ist weiterhin bekannt, dass DC in räumlicher Nähe

zu Neuronen stehen und Neuropeptide wie SP und CGRP anlocken. Sie kommen in vagal sensiblen Ganglien jugulare und nodose vor, wobei DC im Ganglion nodosum im Vergleich zu den lokalen Ganglien weniger häufig sind, sich aber nach Allergen Sensibilisierung und Provokation quantitativ erhöht. Diese Veränderung der DC im Ganglion nodosum lassen auf eine funktionelle Bedeutung von DC in Atemwegsganglien während des allergischen Entzündungsgeschehens vermuten (Brenner, 2005).

Entzündungszellen können über die Immunzytokine und Entzündungsmediatoren wie Histamin das Wachstum von Neuronen und die Neurotransmission verstärken. Das neuroaktive 8,15-Hydroxy-Eicosatetraensäure (8,15-di-HETE), welche durch Eosinophile, Leukozyten und Epithelzellen synthetisiert und freigesetzt wird, kann die Reaktivität nozizeptiver Neuronen auf Entzündungsreize erhöhen. Interleukine wie Interleukin-3 können die Sprossung von sensiblen Nervenfasern mit cholinerg Aktivität stimulieren. Weiterhin wurde berichtet, dass Interleukin-1, Tumornekrosefaktor (TNF), Interferon-gamma (IFN- γ) über die Freisetzung von Neurotrophin wie NGF eine vermehrte Tachykininsynthese in sensiblen Neuronen induziert. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass NGF in der Lage war, 24 Stunden nach der Injektion in den Hauptbronchus nicht nur beim Meerschweinchen sondern auch bei der Maus, Tachykininsynthese in den Atemwegsneuronen zu induzieren. Ergebnisse dieser Untersuchungen weisen auf eine Schlüsselrolle von Neurotrophin und Neurotrophinrezeptor trkA und p75 Neurotrophin Rezeptor an der neuronalen Veränderung sensibler Atemwegsneurone hin (Dinh et al., 2004b, Hunter et al., 2000a, Kerzel et al. 2003).

Während unterschiedliche Aspekte der neurogenen Entzündung im Tiermodell bisher viel untersucht wurden, ist über die Rolle der neurogenen Atemwegsentszündung beim Menschen wenig bekannt. Um die genauere Rolle der sensiblen Atemwegsinnervation und Tachykininen in chronisch-entzündlichen Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale und COPD verstehen zu können, sind jedoch weitere Studien im Hinblick auf die

Aktivierung der sensiblen Nervenfasern und die Interaktion zwischen Entzündungszellen und Atemwegsneuronen in Zukunft erforderlich.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle der Atemwegsinnervation im Hinblick auf die Neuropeptid- und Rezeptorexpression bei entzündlichen Atemwegserkrankungen wie Allergischer Rhinitis und Asthma bronchiale untersucht. 1) Da über die Herkunft und die Verteilung der Neuronen mit ihren Neuropeptiden und Rezeptoren der Atemwege der Maus wenig bekannt war, wurden zuerst die Expression und Verteilung von Substanz P in trigeminal und vagal sensiblen Ganglien der Maus zuerst unter normalen Bedingungen untersucht. 1a) Die Ergebnisse der Arbeit konnten zeigen, dass sensible Neurone, die die oberen und unteren Atemwege der Maus innervieren, in der Lage sind, Neuropeptide wie Substanz P in ihren Zellkörpern zu synthetisieren. 1b) Es wurden eine geringere Anzahl von atemwegsspezifischen Neuronen mit Substanz P Expression im Ganglion trigeminale bei der Maus (4,9% der retrogard-markierten Neuronen) im Vergleich zu Vordaten von anderem Spezies wie bei der Ratte (81,6%) gefunden. Die SP Expression im Ganglion trigeminale bei der Maus im Vergleich zu anderen Spezies wie bei der Ratte liegen wahrscheinlich in den Spezies-spezifischen Unterschieden. Dies konnte bedeuten, dass neuronale Regulation von Entzündungsprozessen in den Atemwegen zwischen den verschiedenen Spezies sich unterscheidet.

2) Eine Kolo-kalisationuntersuchung von Substanz P und wichtigen Rezeptoren wie trkA, PAR2 und TRPV1 Rezeptoren in sensiblen Atemwegsneuronen des Ganglion trigeminal und Ganglion Jugulare/nodosum der Maus wurden durchgeführt. 2a) Expression von Substanz P wurden häufig in trigeminal Atemwegsneuronen, die auch PAR2 oder TRPV1 Rezeptoren besitzen, gefunden. 2b) Für die untere Atemwege, Expression von Substanz P wurde unter normalen Bedingungen verstärkt in vagal sensiblen Atemwegsneuronen, die auch trkA oder TRPV1 Rezeptoren besitzen, gefunden. 2c) Weiterhin konnte in vivo Studien nachgewiesen werden, dass das Nervenwachstumsfaktor NGF wahrscheinlich über eine Aktivierung des trkA Rezeptors zu eine Induktion von Substanz P in vagal sensiblen Atemwegsneuronen führt. 3) In einem Mausmodell für allergische Atemwegsentzündung wurden Expression von Substanz P in vagal sensiblen und von TH und NPY in sympathischen Ganglien

der Maus untersucht. 3a) Bei allergischen Atemwegsentzündungen wurde Substanz P in einer neuen Subpopulation von Neuronen synthetisiert. 3b) Mit der Induktion von Substanz P in sensiblen Neuronen kam es zu einer Verstärkung der allergischen Entzündungen in den Atemwegen. Die allergische Atemwegsentzündung wurde durch eine Zunahme der Anzahl von Eosinophilen in den bronchoalveolären Lavage der Atemwege charakterisiert. 3c) Weiterhin konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass allergische Atemwegsentzündung zu keinen Veränderungen der Expression von TH und NPY in sympathischen Atemwegsneuronen führte. 3d) Die Induktion von Substanz P unter allergischen Atemwegsentzündungen findet nur in vagal-sensiblen Neuronen statt, da Substanz P Expression in sympathischen Atemwegsneuronen weder unter normalen noch unter allergischen Atemwegsentzündungen gefunden wurde. 4) In der vorliegenden Arbeit konnten zwei neuronale Rezeptoren, trkA und TRPV1 Rezeptor, die für die Induktion und Freisetzung von Substanz P und CGRP verantwortlich sind, immunhistochemisch und auch mittels pharmakologische *in vivo* und *in vitro* Studien nachgewiesen werden. Entwicklung von spezifischen Antagonisten für den trkA und TRPV1 Rezeptor stellen einen neuen Weg für eine mögliche therapeutische Intervention bei allergischen Atemwegsentzündungen dar.

7 Literaturverzeichnis

- Baluk, P., Bertrand, C., Geppetti, P., McDonald, D. M. und Nadel, J. A., (1996). NK1 receptor antagonist CP-99,994 inhibits cigarette smoke-induced neutrophil and eosinophil adhesion in rat tracheal venules. *Exp Lung Res.* 22, 409-418.
- Bardelli, C., Gunella, G., Varsaldi, F., Balbo, P., Del Boca, E., Bernardone, I. S., Amoruso, A. und Brunelleschi, S., (2005). Expression of functional NK1 receptors in human alveolar macrophages: superoxide anion production, cytokine release and involvement of NF-kappaB pathway. *Br J Pharmacol.* 145, 385-396.
- Barnes, P., Karliner, J., Hamilton, C. und Dollery, C., (1979). Demonstration of alpha 1-adrenoceptors in guinea pig lung using 3H-prazosin. *Life Sci.* 25, 1207-1214.
- Barnes, P. J., (1986). Asthma as an axon reflex. *Lancet.* 1, 242-245.
- Barnes, P. J., (2001). Neurogenic inflammation in the airways. *Respir Physiol.* 125, 145-154.
- Barnes, P. J., (2004). Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev.* 56, 515-548.
- Barnes, P. J., Chung, K. F. und Page, C. P., (1998). Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol Rev.* 50, 515-596.
- Barnes, P. J., Karliner, J. S. und Dollery, C. T., (1980). Human lung adrenoreceptors studied by radioligand binding. *Clin Sci (Lond).* 58, 457-461.
- Barouch, R., Appel, E., Kazimirsky, G., Braun A. Renz, H. und Brodie, C., (2000). Differential regulation of neurotrophin expression by mitogens and neurotransmitters in mouse lymphocytes. *J Neuroimmunol.*,103, 2, 112-21.
- Barouch, R. und Schwartz, M. (2002). Autoreactive T cells induce neurotrophin production by immune and neural cells in injured rat optic nerve: implications for protective autoimmunity. *Faseb J* 16, 10, 1304-6.
- Bennett, D. L., Dmietrieva, N., Priestley, J. V., Clary, D. und McMahon, S. B., (1996). trkA, CGRP and IB4 expression in retrogradely labelled

- cutaneous and visceral primary sensory neurones in the rat. *Neurosci Lett.* 206, 33-36.
- Bing, C., King, P., Pickavance, L., Brown, M., Ziegler, D., Kaan, E. und Williams, G., (1999). The effect of moxonidine on feeding and body fat in obese Zucker rats: role of hypothalamic NPY neurones. *Br J Pharmacol.* 127, 35-42.
- Boichot, E., Lagente, V., Paubert-Braquet, M. und Frossard, N., (1993). Inhaled substance P induces activation of alveolar macrophages and increases airway responses in the guinea-pig. *Neuropeptides.* 25, 307-313.
- Bonham, A. C., Coles, S. K. und McCrimmon, D. R., (1993). Pulmonary stretch receptor afferents activate excitatory amino acid receptors in the nucleus tractus solitarius in rats. *J Physiol.* 464, 725-745.
- Bowden, J. J. und Gibbins, I. L., (1992). Vasoactive intestinal peptide and neuropeptide Y coexist in non-noradrenergic sympathetic neurons to guinea pig trachea. *J Auton Nerv Syst.* 38, 1-19.
- Braun, A., Lommatzsch, M., Mannsfeldt, A., Neuhaus-Steinmetz, U., Fischer, A., Schnoy, N., Lewin, G. R. und Renz, H. (1999). Cellular sources of enhanced brain-derived neurotrophic factor production in a mouse model of allergic inflammation *Am J Respir Cell Mol Bio* 21, 4, 537-46.
- Brenner, U., (2005). Quantitative Veränderungen Dendritischer Zellen in Ganglien der Atemwegsinnervation des Meerschweinchens nach Sensibilisierung und Allergenprovokation. Justus-Liebig Universität Giessen; Dissertation.
- Canning, B. J., (2002). Neurology of allergic inflammation and rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2, 210-215.
- Canning, B. J. und Fischer, A., (1997). Localization of cholinergic nerves in lower airways of guinea pigs using antisera to choline acetyltransferase. *Am J Physiol.* 272, L731-738.
- Canning, B. J. und Fischer, A., (2001). Neural regulation of airway smooth muscle tone. *Respir Physiol.* 125, 113-127.

- Cardell, L. O., Uddman, R. und Edvinsson, L., (1994). Low plasma concentrations of VIP and elevated levels of other neuropeptides during exacerbations of asthma. *Eur Respir J.* 7, 2169-2173.
- Chan, R. und Sawchenko, P., (1998). Differential time- and dose-related effects of haemorrhage on tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y mRNA expression in medullary catecholamine neurons. *Eur J Neurosci.* 10, 3747–3758.
- Chanez, P., Springall, D., Vignola, A. M., Moradoghi-Hattvani, A., Polak, J. M., Godard, P. und Bousquet, J., (1998). Bronchial mucosal immunoreactivity of sensory neuropeptides in severe airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 158, 985-990.
- Chang, M. M., Leeman, S. E. und Niall, H. D., (1971). Amino-acid sequence of substance P. *Nat New Biol.* 232, 86-87.
- Cheung, A., Polak, J. M., Bauer, F. E., Cadieux, A., Christofides, N. D., Springall, D. R. und Bloom, S. R., (1985). Distribution of galanin immunoreactivity in the respiratory tract of pig, guinea pig, rat, and dog. *Thorax.* 40, 889-896.
- Coburn, R. F. und Tomita, T., (1973). Evidence for nonadrenergic inhibitory nerves in the guinea pig trachealis muscle. *Am J Physiol.* 224, 1072-1080.
- Coleridge, J. C. und Coleridge, H. M., (1984). Afferent vagal C fibre innervation of the lungs and airways and its functional significance. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 99, 1-110.
- Dahlström, A. und Fuxe, K., (1965). The adrenergic innervation of the nasal mucosa of certain mammals. *Acta Otolaryngol.* 59, 65-72.
- de Jongste, J. C., Jongejan, R. C. und Kerrebijn, K. F., (1991). Control of airway caliber by autonomic nerves in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis.* 143, 1421-1426.
- de Rada, O. D., Villaro, A. C., Montuenga, L. M., Martinez, A., Springall, D. R. und Polak, J. M., (1993). Nitric oxide synthase-immunoreactive neurons in human and porcine respiratory tract. *Neurosci Lett.* 162, 121-124.

- de Vries, A., Dessing, M. C., Engels, F., Henricks, P. A. und Nijkamp, F. P., (1999). Nerve growth factor induces a neurokinin-1 receptor- mediated airway hyperresponsiveness in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med.* 159, 1541-1544.
- de Vries, A., Engels, F., Henricks, P. A., Leusink-Muis, T., McGregor, G. P., Braun, A., Groneberg, D. A., Dessing, M. C., Nijkamp, F. P. und Fischer, A., (2006). Airway hyper-responsiveness in allergic asthma in guinea-pigs is mediated by nerve growth factor via the induction of substance P: a potential role for trkA. *Clin Exp Allergy.* 36, 1192-1200.
- Dey, R. D., Hoffpauir, J. und Said, S. I., (1988). Co-localization of vasoactive intestinal peptide- and substance P-containing nerves in cat bronchi. *Neuroscience.* 24, 275-281.
- Dey, R. D., Shannon, W. A., Jr. und Said, S. I., (1981). Localization of VIP-immunoreactive nerves in airways and pulmonary vessels of dogs, cat, and human subjects. *Cell Tissue Res.* 220, 231-238.
- Ding, M., Hart, R. P. und Jonakait, G. M., (1995). Tumor necrosis factor-alpha induces substance P in sympathetic ganglia through sequential induction of interleukin-1 and leukemia inhibitory factor. *J Neurobiol.* 28, 445-454.
- Dinh, Q. T., Cryer, A., Dinh, S., Peiser, C., Wu, S., Springer, J., Hamelmann, E., Klapp, B. F., Heppt, W. und Fischer, A., (2005a). Transcriptional up-regulation of histamine receptor-1 in epithelial, mucus and inflammatory cells in perennial allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 35, 1443-1448.
- Dinh, Q. T., Cryer, A., Dinh, S., Trevisani, M., Georgiewa, P., Chung, F., Geppetti, P., Heppt, W., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2005b). Protease-activated receptor 2 expression in trigeminal neurons innervating the rat nasal mucosa. *Neuropeptides.* 39, 461-466.
- Dinh, Q. T., Cryer, A., Trevisani, M., Dinh, S., Wu, S., Cifuentes, L. B., Feleszko, W. K., Williams, A., Geppetti, P., Fan Chung, K., Heppt, W., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2006a). Gene and protein expression of protease-activated receptor 2 in structural and inflammatory cells in the nasal mucosa in seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 36, 1039-1048.

- Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Mingomataj, E., Peiser, C., Heppt, W., Dinh, S., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2003). Expression of substance P and vanilloid receptor (VR1) in trigeminal sensory neurons projecting to the mouse nasal mucosa. *Neuropeptides*. 37, 245-250.
- Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Peiser, C., Joachim, R. A., Frossard, N., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2005c). Expression of substance P and nitric oxide synthase in vagal sensory neurons innervating the mouse airways. *Regul Pept*. 126, 189-194.
- Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Peiser, C., Mingomataj, E., Joachim, R. A., Witt, C., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2004a). Substance P expression in TRPV1 and trkA-positive dorsal root ganglion neurons innervating the mouse lung. *Respir Physiol Neurobiol*. 144, 15-24.
- Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Peiser, C., Springer, J., Joachim, R. A., Arck, P. C., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2004b). Nerve growth factor-induced substance P in capsaicin-insensitive vagal neurons innervating the lower mouse airway. *Clin Exp Allergy*. 34, 1474-1479.
- Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Witt, C., Peiser, C., Cifuentes, B. L., Frossard, N., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2004c). Expression of Tyrosine Hydroxylase and Neuropeptide Tyrosine in Mouse Sympathetic Airway-specific Neurons under Normal Situation and Allergic Airway Inflammation. *Clin Exp Allergy*. 34, 1934-1941.
- Dinh, Q. T., Klapp, B. F. und Fischer, A., (2006b). [Airway sensory nerve and tachykinins in asthma and COPD]. *Pneumologie*. 60, 80-85.
- Dinh, Q. T., Mingomataj, E., Quarcoo, D., Groneberg, D. A., Witt, C., Klapp, B. F., Braun, A. und Fischer, A., (2005d). Allergic airway inflammation induces tachykinin peptides expression in vagal sensory neurons innervating mouse airways. *Clin Exp Allergy*. 35, 820-825.
- Doidge, J. M. und Satchell, D. G., (1982). Adrenergic and nonadrenergic inhibitory nerves in mammalian airways. *J Auton Nervous System*. 5, 83-99.

- Dunzendorfer, S., Kaser, A., Meierhofer, C., Tilg, H. und Wiedermann, C. J., (2001). Cutting edge: peripheral neuropeptides attract immature and arrest mature blood-derived dendritic cells. *J Immunol.* 166, 2167-2172.
- Euler, U. und Gaddum, J., (1931). An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J Physiol.* 72, 74-87.
- Eynott, P. R., Groneberg, D. A., Caramori, G., Adcock, I. M., Donnelly, L. E., Kharitonov, S., Barnes, P. J. und Chung, K. F., (2002). Role of nitric oxide in allergic inflammation and bronchial hyperresponsiveness. *Eur J Pharmacol.* 452, 123-133.
- Eynott, P. R., Paavolainen, N., Groneberg, D. A., Noble, A., Salmon, M., Nath, P., Leung, S. Y. und Chung, K. F., (2003). Role of nitric oxide in chronic allergen-induced airway cell proliferation and inflammation. *J Pharmacol Exp Ther.* 304, 22-29.
- Felten, D. L., (1993). Direct innervation of lymphoid organs: substrate for neurotransmitter signaling of cells of the immune system. *Neuropsychobiology.* 28, 110-112.
- Felten, D. L., Overhage, J. M., Felten, S. Y. und Schmedtje, J. F., (1981). Noradrenergic sympathetic innervation of lymphoid tissue in the rabbit appendix: further evidence for a link between the nervous and immune systems. *Brain Res Bull.* 7, 595-612.
- Fischer, A., Canning, B. J. und Kummer, W., (1996a). Correlation of vasoactive intestinal peptide and nitric oxide synthase with choline acetyltransferase in the airway innervation. *Ann N Y Acad Sci.* 805, 717-722.
- Fischer, A., Kummer, W., Couraud, J. Y., Adler, D., Branscheid, D. und Heym, C., (1992). Immunohistochemical localization of receptors for vasoactive intestinal peptide and substance P in human trachea. *Lab Invest.* 67, 387-393.
- Fischer, A., McGregor, G. P., Saria, A., Philippin, B. und Kummer, W., (1996b). Induction of tachykinin gene and peptide expression in guinea pig nodose primary afferent neurons by allergic airway inflammation. *J Clin Invest.* 98, 2284-2291.

- Fischer, A., Mundel, P., Mayer, B., Preissler, U., Philippin, B. und Kummer, W., (1993). Nitric oxide synthase in guinea pig lower airway innervation. *Neurosci Lett.* 149, 157-160.
- Fontan, J. J., Cortright, D. N., Krause, J. E., Velloff, C. R., Karpitskyi, V. V., Carver, T. W., Jr., Shapiro, S. D. und Mora, B. N., (2000). Substance P and neurokinin-1 receptor expression by intrinsic airway neurons in the rat. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 278, L344-355.
- Foreman, J. C., (1987). Substance P and calcitonin gene-related peptide: effects on mast cells and in human skin. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 82, 366-371.
- Fukuoka, T., Tokunaga, A., Tachibana, T., Dai, Y., Yamanaka, H. und Noguchi, K., (2002). VR1, but not P2X(3), increases in the spared L4 DRG in rats with L5 spinal nerve ligation. *Pain.* 99, 111-120.
- Gatti, R., Andre, E., Amadesi, S., Dinh, T.Q., Fischer, A., Bunnnett, N.W., Harrison, S., Geppetti, P. und Trevisani, M. (2006) Protease activated receptor 2 activation exaggerates TRPV1-mediated cough in guinea pigs. *J Appl Physiol.* 101(2):506-11.
- Geppetti, P., Materazzi, S. und Nicoletti, P., (2006). The transient receptor potential vanilloid 1: role in airway inflammation and disease. *Eur J Pharmacol.* 533, 207-214.
- Groneberg, D. A., Harrison, S., Dinh, Q. T., Geppetti, P. und Fischer, A., (2006). Tachykinins in the respiratory tract. *Curr Drug Targets.* 7, 1005-1010.
- Groneberg, D. A., Heppt, W., Cryer, A., Wussow, A., Peiser, C., Zweng, M., Dinh, Q. T., Witt, C. und Fischer, A., (2003a). Toxic rhinitis-induced changes of human nasal mucosa innervation. *Toxicol Pathol.* 31, 326-331.
- Groneberg, D. A., Heppt, W., Welker, P., Peiser, C., Thai Dinh, Q., Cryer, A., Zweng, M., Witt, C. und Fischer, A., (2003b). Aspirin-sensitive rhinitis-associated changes in upper airway innervation. *Eur Respir J.* 22, 986-991.
- Groneberg, D. A., Niimi, A., Dinh, Q. T., Cosio, B., Hew, M., Fischer, A. und Chung, K. F., (2004). Increased expression of transient receptor potential

- vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med.* 170, 1276-1280.
- Harmar, A. J., Hyde, V. und Chapman, K., (1990). Identification and cDNA sequence of delta-preprotachykinin, a fourth splicing variant of the rat substance P precursor. *FEBS Lett.* 275, 22-24.
- Helke, C. J., Krause, J. E., Mantyh, P. W., Couture, R. und Bannon, M. J., (1990). Diversity in mammalian tachykinin peptidergic neurons: multiple peptides, receptors, and regulatory mechanisms. *Faseb J.* 4, 1606-1615.
- Heppt, W., Thai Dinh, Q., Cryer, A., Zweng, M., Noga, O., Peiser, C., Melvan, M., Witt, C., Fischer, A. und Groneberg, D. A., (2004). Phenotypic alteration of neuropeptide-containing nerve fibres in seasonal intermittent allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 34, 1105-1110.
- Hosoi, J., Murphy, G. F., Egan, C. L., Lerner, E. A., Grabbe, S., Asahina, A. und Granstein, R. D., (1993). Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. *Nature.* 363, 159-163.
- Hua, X. Y., Theodorsson-Norheim, E., Brodin, E., Lundberg, J. M. und Hokfelt, T., (1985). Multiple tachykinins (neurokinin A, neuropeptide K and substance P) in capsaicin-sensitive sensory neurons in the guinea-pig. *Regul Pept.* 13, 1-19.
- Hunter, D. D. und Dey, R. D., (1998). Identification and neuropeptide content of trigeminal neurons innervating the rat nasal epithelium. *Neuroscience.* 83, 591-599.
- Hunter, D. D., Myers, A. C. und Udem, B. J., (2000a). Nerve growth factor-induced phenotypic switch in guinea pig airway sensory neurons. *Am J Respir Crit Care Med.* 161, 1985-1990.
- Hunter, D. D., Satterfield, B. E., Huang, J., Fedan, J. S. und Dey, R. D., (2000b). Toluene diisocyanate enhances substance P in sensory neurons innervating the nasal mucosa. *Am J Respir Crit Care Med.* 161, 543-549.
- Hwang, S. W. und Oh, U., (2002). Hot channels in airways: pharmacology of the vanilloid receptor. *Curr Opin Pharmacol.* 2, 235-242.

- Ind, P., (1994). Role of the sympathetic nervous system and endogenous catecholamines in the regulation of the airways smooth muscle tone, in: Raeburn D, Gymbiec M, eds. Airways smooth muscle: structure, innervation and neurotransmission. Basel: Birkhauser Verlag, 29–41.
- Iwamoto, I., Yamazaki, H., Nakagawa, N., Kimura, A., Tomioka, H. und Yoshida, S., (1990). Differential effects of two C-terminal peptides of substance P on human neutrophils. *Neuropeptides*. 16, 103-107.
- Jancso, N., Jancso-Gabor, A. und Szolcsanyi, J., (1967). Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother*. 31, 138-151.
- Joachim, R. A., Cifuentes, L. B., Sagach, V., Quarcoo, D., Hagen, E., Arck, P. C., Fischer, A., Klapp, B. F. und Dinh, Q. T., (2006). Stress induces substance P in vagal sensory neurons innervating the mouse airways. *Clin Exp Allergy*. 36, 1001-1010.
- Joachim, R. A., Sagach, V., Quarcoo, D., Dinh, Q. T., Arck, P. C. und Klapp, B. F., (2004). Neurokinin-1 receptor mediates stress-exacerbated allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice. *Psychosom Med*. 66, 564-571.
- Joos, G. F. und Pauwels, R. A., (2001). Tachykinin receptor antagonists: potential in airways diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 1, 235-241.
- Kage, R., McGregor, G. P., Thim, L. und Conlon, J. M., (1988). Neuropeptide-gamma: a peptide isolated from rabbit intestine that is derived from gamma-preprotachykinin. *J Neurochem*. 50, 1412-1417.
- Kalia, M. und M., M., (1980). Brainstem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat: II. Laryngeal tracheobronchial, pulmonary, cardiac and gastrointestinal branches. *J Comp Neurol*. 193, 467-508.
- Kalia, M. und Mesulam, M. M., (1980). Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat: I. The cervical vagus and nodose ganglion. *J Comp Neurol*. 193, 435-465.

- Kangrga, I. und Randic, M., (1990). Tachykinins and calcitonin gene-related peptide enhance release of endogenous glutamate and aspartate from the rat spinal dorsal horn slice. *J Neurosci.* 10, 2026-2038.
- Karlsson, J. A., Finney, M. J., Persson, C. G. und Post, C., (1984). Substance P antagonists and the role of tachykinins in non-cholinergic bronchoconstriction. *Life Sci.* 35, 2681-2691.
- Kawana, S., Liang, Z., Nagano, M. und Suzuki, H., (2006). Role of substance P in stress-derived degranulation of dermal mast cells in mice. *J Dermatol Sci.* 42, 47-54.
- Kerzel, S., Path, G., Nockher, W. A., Quarcoo, D., Raap, U., Groneberg, D. A., Dinh, Q. T., Fischer, A., Braun, A. und Renz, H., (2003). Pan-neurotrophin receptor p75 contributes to neuronal hyperreactivity and airway inflammation in a murine model of experimental asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 28, 170-178.
- Kollarik, M., Dinh, Q. T., Fischer, A. und Udem, B. J., (2003). Capsaicin-sensitive and -insensitive vagal bronchopulmonary C-fibres in the mouse. *J Physiol.* 15;551(Pt 3):869-79.
- Kotani, Y., Hirota, Y., Sugiyama, K., Joh, S., Shibutani, T., Matsuura, H. und Inoki, R., (1986). Effects of noxious stimuli and anesthetic agents on substance P content in rat central nervous system. *Jpn J Pharmacol.* 40, 143-147.
- Kummer, W., Bachmann, S., Neuhuber, W. L., Hanze, J. und Lang, R. E., (1993). Tyrosine-hydroxylase-containing vagal afferent neurons in the rat nodose ganglion are independent from neuropeptide-Y-containing populations and project to esophagus and stomach. *Cell Tissue Res.* 271, 135-144.
- Kummer, W., Fischer, A., Kurkowski, R. und Heym, C., (1992). The sensory and sympathetic innervation of guinea-pig lung and trachea as studied by retrograde neuronal tracing and double-labelling immunohistochemistry. *Neuroscience.* 49, 715-737.
- Lacroix, J. S., Anggard, A., Hokfelt, T., O'Hare, M. M., Fahrenkrug, J. und Lundberg, J. M., (1990). Neuropeptide Y: presence in sympathetic and

- parasympathetic innervation of the nasal mucosa. *Cell Tissue Res.* 259, 119-128.
- Lacroix, J. S., Auberson, S., Morel, D. R., Theodorsson, E., Hokfelt, T. und Lundberg, J. M., (1992). Vascular control of the pig nasal mucosa: distribution and effect of somatostatin in relation to noradrenaline and neuropeptide Y. *Regul Pept.* 40, 373-387.
- Lacroix, J. S. und Mosimann, B. L., (1996). Attenuation of allergen-evoked nasal responses by local pretreatment with exogenous neuropeptide Y in atopic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 98, 611-616.
- Lacroix, J. S., Stjarne, P., Anggard, A. und Lundberg, J. M., (1989). Sympathetic vascular control of the pig nasal mucosa (III): Co-release of noradrenaline and neuropeptide Y. *Acta Physiol Scand.* 135, 17-28.
- Lacroix, J. S., Ulman, L. G. und Potter, E. K., (1994). Sympathetic and parasympathetic interaction in vascular control of the nasal mucosa in anaesthetized cats. *J Physiol.* 480, 325-331.
- Lazarov, N. E., (2002). Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol.* 66, 19-59.
- Leon, A., Buriani, A., Dal Toso, R., Fabris, M., Romanello, S. und Aloe, L., (1994). Mast cells synthesize, store, and release nerve growth factor *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 9, 3739-43
- Levi-Montalcini, R., (1987). The nerve growth factor 35 years later. *Science* 237, 4819, 1154-62.
- Levi-Montalcini, R., Skaper, S. D., Dal Toso, R., Petrelli, L. und Leon, A., (1996). Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokinin *Trends Neurosci* 19, 11, 514-20
- Li, C. G. und Rand, M. J., (1991). Evidence that part of the NANC relaxant response of guinea-pig trachea to electrical field stimulation is mediated by nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 102, 91-94.
- Livnat, S., Felten, S. Y., Carlson, S. L., Bellinger, D. L. und Felten, D. L., (1985). Involvement of peripheral and central catecholamine systems in neural-immune interactions. *J Neuroimmunol.* 10, 5-30.

- Lundberg, J. M., Anggard, A., Emson, P., Fahrenkrug, J. und Hokfelt, T., (1981a). Vasoactive intestinal polypeptide and cholinergic mechanisms in cat nasal mucosa: studies on choline acetyltransferase and release of vasoactive intestinal polypeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 78, 5255-5259.
- Lundberg, J. M., Anggard, A. und Fahrenkrug, J., (1981b). Complementary role of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and acetylcholine for cat submandibular gland blood flow and secretion. II. Effects of cholinergic antagonists and VIP antiserum. *Acta Physiol Scand.* 113, 329-336.
- Lundberg, J. M., Hemsén, A., Larsson, O., Rudehill, A., Saria, A. und Fredholm, B. B., (1988). Neuropeptide Y receptor in pig spleen: binding characteristics, reduction of cyclic AMP formation and calcium antagonist inhibition of vasoconstriction. *Regul Pept.* 20, 125-139.
- Lundberg, J. M., Hokfelt, T., Martling, C. R., Saria, A. und Cuello, C., (1984). Substance P-immunoreactive sensory nerves in the lower respiratory tract of various mammals including man. *Cell Tissue Res.* 235, 251-261.
- Lundberg, J. M. und Modlin, A., (1994). Neuropeptide Y in the airways. In M.A. Kaliner, P. J. Barnes, G.H.H. Kunkel, and J. N. Baraniuk, editors. *Neuropeptides in Respiratory Medicine.* Marcel Dekker, New York, 161-172.
- Lundberg, J. M., Terenius, L., Hokfelt, T. und Goldstein, M., (1983). High levels of neuropeptide Y in peripheral noradrenergic neurons in various mammals including man. *Neurosci Lett.* 42, 167-172.
- Lundberg, J. M., Terenius, L., Hokfelt, T., Martling, C. R., Tatemoto, K., Mutt, V., Polak, J., Bloom, S. and Goldstein, M., (1982). Neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity in peripheral noradrenergic neurons and effects of NPY on sympathetic function. *Acta Physiol Scand.* 116, 477-480.
- Lundblad, L., Lundberg, J. M., Brodin, E. und Anggard, A., (1983). Origin and distribution of capsaicin-sensitive substance P-immunoreactive nerves in the nasal mucosa. *Acta Otolaryngol.* 96, 485-493.
- Madden, K. S., Felten, S. Y., Felten, D. L., Hardy, C. A. und Livnat, S., (1994). Sympathetic nervous system modulation of the immune system. II.

- Induction of lymphocyte proliferation and migration in vivo by chemical sympathectomy. *J Neuroimmunol.* 49, 67-75.
- Mann, S. P., (1971). The innervation of mammalian bronchial smooth muscle: The localization of catecholamines and cholinesterase. *Histochemistry.* 3, 319-331.
- Manzini, S., (1992). Bronchodilatation by tachykinins and capsaicin in the mouse main bronchus. *Br J Pharmacol.* 105, 968-972.
- Mapp, C. E., Miotto, D., Braccioni, F., Saetta, M., Turato, G., Maestrelli, P., Krause, J. E., Karpitskiy, V., Boyd, N., Geppetti, P. und Fabbri, L. M., (2000). The distribution of neurokinin-1 and neurokinin-2 receptors in human central airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 161, 207-215.
- Michael, G. J., Averill, S., Nitkunan, A., Rattray, M., Bennett, D. L., Yan, Q. und Priestley, J. V., (1997). Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J Neurosci.* 17, 8476-8490.
- Michael, G. J. und Priestley, J. V., (1999). Differential expression of the mRNA for the vanilloid receptor subtype 1 in cells of the adult rat dorsal root and nodose ganglia and its downregulation by axotomy. *J Neurosci.* 19, 1844-1854.
- Myers, A., Weinreich, D. und BJ., U., (1988). A reidentifiable parasympathetic ganglion on The bronchus of the guinea pig: anatomical and electrophysiological characteristics. *Fedii Am Socs exp Biol J.* 2:A1056.
- Myers, A. C., Kajekar, R. und Udem, B. J., (2002). Allergic inflammation-induced neuropeptide production in rapidly adapting afferent nerves in guinea pig airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 282, L775-781.
- Myers, A. C., Udem, B. J. und Weinreich, D., (1990). Electrophysiological properties of neurons in guinea pig bronchial parasympathetic ganglia. *Am J Physiol.* 259, L403-409.
- Myers, A. C., Udem, B. J. und Weinreich, D., (1991). Influence of antigen on membrane properties of guinea pig bronchial ganglion neurons. *J Appl Physiol.* 71, 970-976.

- Nassenstein, C., Braun, A., Erpenbeck, V. J., Lommatzsch, M., Schmidt, S., Krug, N., Luttmann, W., Renz, H. und Virchow, J. C., Jr., (2003). The neurotrophins nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4 are survival and activation factors for eosinophils in patients with allergic bronchial asthma. *J Exp Med.* 198, 455-467.
- Nassenstein, C., Dawbarn, D., Pollock, K., Allen, S. J., Erpenbeck, V. J., Spies, E., Krug, N. und Braun, A., (2006). Pulmonary distribution, regulation, and functional role of Trk receptors in a murine model of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 118, 597-605.
- Nawa, H., Hirose, T., Takashima, H., Inayama, S. und Nakanishi, S., (1983). Nucleotide sequences of cloned cDNAs for two types of bovine brain substance P precursor. *Nature.* 306, 32-36.
- Nieber, K., Baumgarten, C. R., Rathsack, R., Furkert, J., Oehme, P. und Kunkel, G., (1992). Substance P and beta-endorphin-like immunoreactivity in lavage fluids of subjects with and without allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 90, 646-652.
- Niimi, A., Torrego, A., Nicholson, A. G., Cosio, B. G., Oates, T. B. und Chung, K. F., (2005). Nature of airway inflammation and remodeling in chronic cough. *J Allergy Clin Immunol.* 116, 565-570.
- Noga, O., Hanf, G., Gorges, D., Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Suttorp, N. und Kunkel, G., (2005). Regulation of NGF and BDNF by dexamethasone and theophylline in human peripheral eosinophils in allergics and non-allergics. *Regul Pept.* 132, 74-79.
- Nohr, D., Eiden, L. E. und Weihe, E., (1995). Coexpression of vasoactive intestinal peptide, calcitonin gene-related peptide and substance P immunoreactivity in parasympathetic neurons of the rhesus monkey lung. *Neurosci Lett.* 199, 25-28.
- Partanen, M., Laitinen, A., Hervonen, A., Toivanen, M. und Laitinen, L. A., (1982). Catecholamine- and acetylcholinesterase-containing nerves in human lower respiratory tract. *Histochemistry.* 76, 175-188.

- Patacchini, R., Lecci, A., Holzer, P. und Maggi, C. A., (2004). Newly discovered tachykinins raise new questions about their peripheral roles and the tachykinin nomenclature. *Trends Pharmacol Sci.* 25, 1-3.
- Patacchini, R. und Maggi, C. A., (2001). Peripheral tachykinin receptors as targets for new drugs. *Eur J Pharmacol.* 429, 13-21.
- Payan, D. G., Brewster, D. R. und Goetzl, E. J., (1983). Specific stimulation of human T lymphocytes by substance P. *J Immunol.* 131, 1613-1615.
- Peiser, C., Trevisani, M., Groneberg, D. A., Dinh, Q. T., Lencer, D., Amadesi, S., Maggiore, B., Harrison, S., Geppetti, P. und Fischer, A., (2005). Dopamine type 2 receptor expression and function in rodent sensory neurons projecting to the airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 289, L153-158.
- Peters, E. M., Kuhlmei, A., Tobin, D. J., Muller-Rover, S., Klapp, B. F. und Arck, P. C., (2005). Stress exposure modulates peptidergic innervation and degranulates mast cells in murine skin. *Brain Behav Immun.* 19, 252-262.
- Portier, P. und Richet, C., (1902). De Taction anaphylactique de certain venins. *Bulletin de la soclete de biologie.* 2, 170-172.
- Quarcoo, D., Schulte-Herbruggen, O., Lommatzsch, M., Schierhorn, K., Hoyle, G. W., Renz, H. und Braun, A., (2004). Nerve growth factor induces increased airway inflammation via a neuropeptide-dependent mechanism in a transgenic animal model of allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy.* 34, 1146-1151.
- Ricco, M. M., Kummer, W., Biglari, B., Myers, A. C. und Udem, B. J., (1996). Interganglionic segregation of distinct vagal afferent fibre phenotypes in guinea-pig airways. *J Physiol (Lond).* 496, 521-530.
- Rutkoski, N. J., Lerant, A. A., Nolte, C. M., Westberry, J. und Levenson, C. W., (2002). Regulation of neuropeptide Y in the rat amygdala following unilateral olfactory bulbectomy. *Brain Res.* 951, 69-76.
- Saha, S., Batten, T. F. und McWilliam, P. N., (1995). Glutamate-immunoreactivity in identified vagal afferent terminals of the cat: a study

- combining horseradish peroxidase tracing and postembedding electron microscopic immunogold staining. *Exp Physiol.* 80, 193-202.
- Schaffar, N., Rao, H., Kessler, J. P. und Jean, A., (1997). Immunohistochemical detection of glutamate in rat vagal sensory neurons. *Brain Res.* 778, 302-308.
- Shadiack, A. M., Carlson, C. D., Ding, M., Hart, R. P. und Jonakait, G. M., (1994). Lipopolysaccharide induces substance P in sympathetic ganglia via ganglionic interleukin-1 production. *J Neuroimmunol.* 49, 51-58.
- Shadiack, A. M., Hart, R. P., Carlson, C. D. und Jonakait, G. M., (1993). Interleukin-1 induces substance P in sympathetic ganglia through the induction of leukemia inhibitory factor (LIF). *J Neurosci.* 13, 2601-2609.
- Sheppard, M. N., Kurian, S. S., Henzen-Logmans, S. C., Michetti, F., Cocchia, D., Cole, P., Rush, R. A., Marangos, P. J., Bloom, S. R. und Polak, J. M., (1983). Neurone-specific enolase and S-100: new markers for delineating the innervation of the respiratory tract in man and other mammals. *Thorax.* 38, 333-340.
- Shimosegawa, T., Foda, H. D. und Said, S. I., (1990). [Met]enkephalin-Arg6-Gly7-Leu8-immunoreactive nerves in guinea-pig and rat lungs: distribution, origin, and co-existence with vasoactive intestinal polypeptide immunoreactivity. *Neuroscience.* 36, 737-750.
- Springall, D. R., Cadieux, A., Oliveira, H., Su, H., Royston, D. und Polak, J. M., (1987). Retrograde tracing shows that CGRP-immunoreactive nerves of rat trachea and lung originate from vagal and dorsal root ganglia. *J Auton Nerv Syst.* 20, 155-166.
- Springer, J., Groneberg, D. A., Pregla, R. und Fischer, A., (2005). Inflammatory cells as source of tachykinin-induced mucus secretion in chronic bronchitis. *Regul Pept.* 124, 195-201.
- Springer, J., Wagner, S., Subramamiam, A., McGregor, G. P., Groneberg, D. A. and Fischer, A., (2004). BDNF-overexpression regulates the reactivity of small pulmonary arteries to neurokinin A. *Regul Pept.* 118, 19-23.
- Stjarne, P., Lundblad, L., Anggard, A., Hokfelt, T. und Lundberg, J. M., (1989). Tachykinins and calcitonin gene-related peptide: co-existence in sensory

- nerves of the nasal mucosa and effects on blood flow. *Cell Tissue Res.* 256, 439-446.
- Sun, Y. und Zigmond, R. E., (1996). Involvement of leukemia inhibitory factor in the increases in galanin and vasoactive intestinal peptide mRNA and the decreases in neuropeptide Y and tyrosine hydroxylase mRNA in sympathetic neurons after axotomy. *J Neurochem.* 67, 1751-1760.
- Talman, W. T., Perrone, M. H. und Reis, D. J., (1980). Evidence for L-glutamate as the neurotransmitter of baroreceptor afferent nerve fibers. *Science.* 209, 813-815.
- Tatemoto, K., Carlquist, M. und Mutt, V., (1982). Neuropeptide Y--a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature.* 296, 659-660.
- Tatemoto, K., Lundberg, J. M., Jornvall, H. und Mutt, V., (1985). Neuropeptide K: isolation, structure and biological activities of a novel brain tachykinin. *Biochem Biophys Res Commun.* 128, 947-953.
- Trevisani, M., Gazzieri, D., Benvenuti, F., Campi, B., Dinh, Q. T., Groneberg, D. A., Rigoni, M., Emonds-Alt, X., Creminon, C., Fischer, A., Geppetti, P. und Harrison, S., (2004). Ethanol Causes Inflammation in the Airways by a Neurogenic and TRPV1-Dependent Mechanism. *J Pharmacol Exp Ther.*
- Trevisani, M., Smart, D., Gunthorpe, M. J., Tognetto, M., Barbieri, M., Campi, B., Amadesi, S., Gray, J., Jerman, J. C., Brough, S. J., Owen, D., Smith, G. D., Randall, A. D., Harrison, S., Bianchi, A., Davis, J. B. und Geppetti, P., (2002). Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1. *Nat Neurosci.* 5, 546-551.
- Uddman, R., Sundler, F. und Emson, P., (1984). Occurrence and distribution of neuropeptide-Y-immunoreactive nerves in the respiratory tract and middle ear. *Cell Tissue Res.* 237, 321-327.
- Undem, B. J., Hunter, D. D., Liu, M., Haak-Frendscho, M., Oakragly, A. und Fischer, A., (1999). Allergen-induced sensory neuroplasticity in airways. *Int Arch Allergy Immunol.* 118, 150-153.

- Verastegui, C., Fernandez-Vivero, J., Prada, A., Rodriguez, F., Romero, A., Gonzalez-Moreno, M. und de Castro, J. M., (1997a). Presence and distribution of 5HT-, VIP-, NPY-, and SP-immunoreactive structures in adult mouse lung. *Histol Histopathol.* 12, 909-918.
- Verastegui, C., Prada Oliveira, A., Fernandez-Vivero, J., Romero, A. und de Castro, J. M., (1997b). Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in adult mouse lung. *Eur J Histochem.* 41, 119-126.
- Virchow, J. C., Julius, P., Lommatzsch, M., Luttmann, W., Renz, H. und Braun, A., (1998). Neurotrophins are increased in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation. *Am J Respir Crit Care Med.* 158, 2002-2005.
- Widdicombe, J. G., (1998). Autonomic regulation. i-NANC/e-NANC. *Am J Respir Crit Care Med.* 158, S171-175.
- Willis, T., (1681). *De asthmate. Opera omnia.* Band II, Sect. 1, Cap. XI.

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich ganz herzlich einen besonderen Dank an meine akademischen Lehrer, die mich in den letzten Jahren sowohl in der Forschung als auch in der Klinik gefördert haben, aussprechen.

Besonders zu erwähnen sind:

Herr Prof. Dr. Burghard F. Klapp, der mich in allen Bereichen der Forschung, der Lehre und der Klinik als hervorragender akademischer Lehrer gefördert und mir ermöglicht hat, unter den besten Bedingungen zu arbeiten.

Herr Prof. Dr. Axel Fischer möchte ich ganz besonders herzlich für die Möglichkeit der Mitarbeit in seiner Arbeitsgruppe und für die geduldige und freundliche Unterstützung und Beratung während der gesamten Arbeit danken.

Herr Prof. Dr. Ulrich Wahn, der mir ermöglicht hat, zu Beginn in seiner Abteilung wissenschaftlich zu arbeiten, und mir weiterhin die Möglichkeit in enger Kooperation eröffnet.

Herr Prof. Dr. Norbert Suttorp, der mich in meiner klinischen Weiterbildung und Forschung durch viele persönliche Gespräche unterstützte.

Herr Prof. Dr. K. Fan Chung, der mir durch die vielen Korrespondenzen immer beratend zur Seite stand und mich in wissenschaftlichem Bereich bei den vielen Aufenthalten am National Heart and Lung Institute in London unterstützte.

Herr Prof. Dr. Christian Witt, von ihm habe ich die klinischen Grundlagen der Pneumologie zu Beginn meiner Zeit an der Charité als junger Assistenzarzt vermittelt bekommen.

Herr Prof. Dr. Bradley J. Udem, ihm danke ich für die wertvolle Zusammenarbeit auf dem Gebiet der Neurophysiologie. Durch die enge Zusammenarbeit und persönliche Kontakte habe ich das Verständnis für neurophysiologische Vorgänge vermittelt bekommen.

Herr Prof. Dr. Piero Geppetti und Frau Prof. Dr. Nelly Frossard, ihnen danke ich für die Zusammenarbeit auf dem Gebiet der Neuropharmakologie

Frau Prof. Dr. Maria Belvisi, für die wissenschaftlichen Gespräche während der Zeit am National Heart and Lung Institute in London.

Herr Prof. Dr. Dr. Gerhard Danzer, ihm danke ich für die Zeit in der Klinik, er brachte mir das Verständnis einer integrierten Medizin bei.

Für die geduldige und freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeiten möchte ich mich von ganzen Herzen bei meinen Kollegen und Freunden Herr Prof. Dr. David A. Groneberg, Herr Prof. Dr. Alexander Schmidt, Herr Dr. Dr. med. Christian Peiser, Frau Dr. med. Tanja Fischer, Herr Dr. med. Stephen Dinh, Frau Dr. phil. Petra Georgewia, Herr Dr. med. Peter Cong Chinh Duong, Herr Oberarzt Dr. med. Frank Schöneich, Frau Dr. sc. hum Yvonne Rothmund, Herr Dr. med. Ervin Mingomataj, Herr Dr. rer. nat. Marcello Trevisani, Frau Dr. med. Ricarda Joachim, Frau Dr. rer. nat. Allison Williams, Herr Dr. rer. nat. Jochen Springer, Frau Petra Hartmann, Herr Dr. med. Arne Kuhlmei, Herr cand. med. Thomas Medveczky, Frau cand. med. Anne Radtke, Frau cand. med. Sabine Sander, Frau Rita Strozynski, Frau Loreen Kirckhoff, Frau Silke Wiegand, Herr Martin Bodenbenner und Herr Marc Scheibner bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich mich ganz besonders bei meinen weiteren Koautoren bedanken. Ohne die Zusammenarbeit wäre diese kumulative Arbeit nicht möglich gewesen:

Frau Dr. med. Annete Cryer, Herr Prof. Dr. Werner Heppt, Herr Dr. rer. nat. Kollarik, Frau Dr. med. Shuling Wu, Herr Prof. Dr. Eckard Hamelmann, Herr Dr. med. David Quarcoo, Herr Dr. med. Oliver Noga, Herr Dr. med. Wojciech Feleszko, Herr Dr. rer. nat. Armin Braun, Herr Prof. Dr. Harald Renz, Frau Prof. Dr. Petra Arck,

Der Europäischen Akademischen Gesellschaft für Allergie und Immunologie „The European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI)“ und Asthma European Network (GA²LEN) sowie der European Respiratory Society, die mir ermöglicht national und auch international Forschungsprojekte durchzuführen, danke ich für die Unterstützung meiner Forschung,

An dieser Stelle möchte ich mich für die liebevolle Hilfe und Unterstützung bei meiner Frau, meinen Eltern und bei meinen Geschwistern bedanken.

9 Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt:

dass weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde, welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,

dass die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.

dass mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 1. November 2006

10.1

10.2

10.3

10.4

10.5

10.6

10.7

10.8

10.9