

CharitéCentrum für Innere Medizin und Dermatologie  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie  
Klinikdirektor Pneumologie: Prof. Dr. Martin Witzentrath

## **Habilitationsschrift**

# **Experimentelle Untersuchungen zu Pathophysiologie und Therapieansätzen bei Asthma bronchiale**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Experimentelle Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Christoph Tabeling**

Eingereicht: Juni 2022

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld, Hannover

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Christian Taube, Essen

Ich widme diese Arbeit meiner Familie.

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	5
1. Einleitung .....	7
1.1. Kardiopulmonales System .....	7
1.2. Alveolar- und Bronchialsystem .....	7
1.3. Asthma bronchiale – Definition .....	8
1.4. Asthma bronchiale – Epidemiologie .....	9
1.5. Asthma bronchiale – Phänotypen .....	9
1.6. Allergie-Nomenklatur .....	9
1.7. Pathophysiologie des allergischen Asthma bronchiale .....	10
1.7.1. Sensibilisierung .....	10
1.7.2. Allergische Atemwegsinfammation .....	10
1.7.3. Atemwegshyperreagibilität und -Remodeling .....	11
1.7.4. Milztyrosinkinase .....	11
1.7.5. Sphingosinkinase/Sphingosin-1-Phosphat-System.....	11
1.8. Hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion und Asthma bronchiale .....	12
1.9. Asthma bronchiale – Klinisches Bild .....	12
1.10. Asthma bronchiale – Diagnostik .....	13
1.11. Asthma bronchiale – Therapie.....	14
1.11.1. Nichtmedikamentöse Therapie .....	14
1.11.2. Medikamentöse Stufentherapie.....	14
1.11.3. Zusätzliche Therapieoptionen .....	15
2. Zielsetzung .....	17
3. Eigene Arbeiten.....	18
3.1. Die Effekte der Milztyrosinkinase-Inhibition in der allergischen Atemwegsinfammation .....	18

3.2.	Die Effekte der NOD1-Ligation in der murinen allergischen Atemwegsinfammation .....	31
3.3.	Die Effekte von 25-Hydroxyvitamin D <sub>3</sub> als Adjuvans in der Allergen-spezifischen Immuntherapie .....	41
3.4.	Die Rolle von CFTR und Sphingolipiden in der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion .....	49
3.5.	Die Rolle von p22phox in der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion .....	60
4.	Diskussion .....	74
5.	Zusammenfassung .....	81
6.	Literaturangaben.....	82
	Danksagung.....	91
	Erklärung.....	92

## Abkürzungsverzeichnis

AHR	Atemwegshyperreagibilität
BAL	bronchoalveoläre Lavage
CASMCs	koronararterielle glatte Muskelzellen
CFTR	<i>Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator</i>
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
DAG	Diacylglycerol
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
EPIT	epikutane Immuntherapie
FcεRI	<i>high-affinity</i> IgE-Rezeptor
FeNo	fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid
FEV <sub>1</sub>	Einsekundenkapazität
FVC	forcierte (expiratorische) Vitalkapazität
GINA	<i>Global Initiative for Asthma</i>
HPV	hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion
ICS	inhalative Corticosteroide
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
ILIT	intralymphatische Immuntherapie
IP <sub>3</sub>	Inositol-1,4,5-trisphosphat
LABA	langwirksame Beta-2-Sympathomimetika
LAMA	langwirksamer Muskarinantagonist
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex ( <i>major histocompatibility complex</i> )
NO	Stickstoffmonoxid
NOD	Nucleotid-bindende Oligomerisierungsdomäne
Nox	NADPH-Oxidase
NLR	NOD-ähnlicher Rezeptor ( <i>NOD-like receptor</i> )
nSMase	neutrale Sphingomyelinase
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OVA	Ovalbumin
p38 MAPK	p38-mitogenaktivierte Proteinkinasen
PASMCs	pulmonalarterielle glatte Muskelzellen
PEF	Spitzenfluss bei forcierter Expiration ( <i>peak expiratory flow</i> )
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat

PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
ppb	Teile pro Milliarde ( <i>parts per billion; 10<sup>-9</sup></i> )
RhoK	Rho-Kinase
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
S1P	Sphingosin-1-Phosphat
S1P <sub>1-5</sub>	Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptoren 1-5
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SCIT	subkutane Immuntherapie
SIT	spezifische Immuntherapie
SLIT	sublinguale Immuntherapie
SphK	Sphingosinkinase
Syk	Milztyrosinkinase ( <i>Spleen tyrosine kinase</i> )
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
T <sub>H</sub> 2	Typ 2-T-Helferzelle
TRPC6	<i>Transient Receptor Potential Canonical 6</i>
UV	ultraviolett

# 1. Einleitung

## 1.1. Kardiopulmonales System

Die Lunge dient dem Gasaustausch und übt zentrale immunologische Funktionen aus. Atemwege und pulmonale Gefäßstrombahn sind anatomisch eng miteinander verwoben. Ventilation und Perfusion sind funktionell über die hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion (HPV) aufeinander abgestimmt (1, 2). Infolge der Kontraktion der Inspirationsmuskeln wie Zwerchfell und externe Interkostalmuskeln strömt Luft aufgrund des Luftdruckgefälles in die Atemwege (3, 4). Die Atemwege des Menschen verzweigen sich über rund 23 Generationen, bis sie schließlich in den Alveolargängen münden (3, 5). In den Alveolen findet der Gasaustausch statt (3, 6). Das Volumen, das nicht am Gasaustausch teilnimmt, wird als Totraum bezeichnet (3).

Der rechte Ventrikel des Herzens pumpt das sauerstoffarme und kohlenstoffdioxidreiche Blut in die Lungenstrombahn (6). Die Pulmonalarterien verzweigen sich und begleiten die Bronchien bis hin zu den *Bronchioli terminales*, ehe sie im weiteren Verlauf in Kapillaren münden (6). Die Kapillaren umgeben die Alveolen in Form eines Gefäßplexus (7). Über die alveolokapilläre Membran, die sich aus Typ-1-Alveolarepithelzellen, Basalmembran und Endothelzellen zusammensetzt und das in den Alveolen befindliche Gas vom Kapillarblut trennt (3, 8), diffundieren Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) gemäß Partialdruckgefälle (9). Dem Gasaustausch liegt somit ein Zusammenspiel aus Ventilation, pulmonaler Perfusion und Diffusion zugrunde (9).

Das in den Kapillaren arterialisierte Blut gelangt über die Pulmonalvenen in das linke Atrium des Herzens (6, 9). Von dort aus wird das arterialisierte Blut über den linken Ventrikel in die systemische Zirkulation gepumpt (10). Die Blutversorgung des Lungengewebes erfolgt über Bronchialarterien (7). Auf zellulärer Ebene kommt Sauerstoff im Rahmen der oxidativen Energieumwandlung eine essentielle Bedeutung in der Atmungskette der Mitochondrien zu (11, 12). Neben der Sauerstoffversorgung des Organismus spielt das respiratorische System eine entscheidende Rolle in der Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Haushalts. Mithilfe von Chemorezeptoren werden Abweichungen des pH oder der arteriellen O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Partialdrücke erfasst und kompensatorische ventilatorische Antworten induziert (13).

## 1.2. Alveolar- und Bronchialsystem

Zu den Funktionen des Respirationstrakts zählen Reinigung, Befeuchtung und Erwärmung der eingeatmeten Luft (3). Das Expressionsmuster der einzelnen Atemwegsepithelzellen variiert je nach Atemwegsregion (5, 14, 15).

In der Trachea und im überwiegenden Anteil der proximalen Atemwege findet sich respiratorisches Flimmerepithel, das sich vornehmlich aus Zilien-tragenden Zellen und sekretorischen Zellen wie Mucin-sezernierenden Becherzellen zusammensetzt (5, 16). In der *Lamina propria* der mittels Knorpel stabilisierten Atemwege finden sich zudem Mucin-sezernierende submuköse Drüsen (5, 17). Das mukoziliäre System des Tracheobronchialbaums bildet eine mechanische, chemische sowie

biologische Barriere und dient somit als Abwehrmechanismus der Atemwege (15). Der von den Zilien-tragenden Zellen via rhythmischem Zilienschlag ausgeübte mukoziliäre Transport zum Pharynx dient der Elimination von Mucus, Zelldetritus, Pathogenen, Toxinen, Allergenen und inhalierten Partikeln und trägt somit wesentlich zur Reinigung bei (5, 14-16, 18-20). Basalzellen dienen der Homöostase und Regeneration des respiratorischen Epithels (14, 21). Ebenso wie die Zilien-tragenden Zellen und die Becherzellen liegen die Basalzellen der Basalmembran auf (14, 22).

Im Epithel der kleinen Atemwege nimmt die Häufigkeit an Becherzellen zugunsten der Anzahl der Club-Zellen ab (5, 20). Club-Zellen sind überwiegend in den Bronchiolen exprimiert, setzen den Phospholipoproteinkomplex Surfactant frei und sezernieren darüber hinaus antiinflammatorische und immunmodulatorische Proteine (23-25).

In den Alveolen sind neben den an der Blut-Luft-Schranke beteiligten Typ-1-Alveolarepithelzellen Typ-2-Alveolarepithelzellen exprimiert (5, 8). Typ-2-Alveolarepithelzellen dienen als Progenitorzellen für Typ-1-Alveolarepithelzellen (8). Darüber hinaus setzen Typ-2-Alveolarepithelzellen mittels Exozytose Surfactant frei, das die Oberflächenspannung der Alveolen herabsetzt und dadurch einem Kollabieren entgegenwirkt (3, 6, 8). Die Surfactant-Proteine A und D besitzen darüber hinaus immunmodulatorische Funktionen, indem sie die Infektabwehr unterstützen oder die Allergen-Clearance fördern (26).

Residente Alveolarmakrophagen sind konstitutiv in der Lunge exprimiert und stellen ebenso wie dendritische Zellen, Mastzellen und Lymphozyten zelluläre Vertreter des pulmonalen Immunsystems dar, dem auch Lymphgefäße und drainierende Lymphknoten angehören (27-32).

Im gesamten Bronchialbaum bis hin zu den kleinsten *Bronchioli respiratorii* ist die Bronchialschleimhaut von einer Schicht glatter Muskelzellen umgeben (33, 34). Die glatten Muskelzellen der Atemwege werden von parasymphatischen Nervenfasern innerviert (35). Eine Aktivierung des Parasympathikus ruft eine Bronchokonstriktion hervor (3). Als Neurotransmitter fungiert Acetylcholin (35). Es existieren diverse Stimuli, die eine Bronchokonstriktion induzieren können. Hierzu zählen der Muskarinrezeptor-Agonist Methacholin, Serotonin sowie Sphingosin-1-Phosphat (S1P) (36-39).

### 1.3. Asthma bronchiale – Definition

Asthma bronchiale ist eine obstruktive Ventilationsstörung (40, 41). Gemäß der 2021 aktualisierten Leitlinie der *Global Initiative for Asthma (GINA)* (42) ist Asthma bronchiale wie folgt definiert:

*„Asthma [bronchiale] ist eine heterogene Erkrankung, die üblicherweise durch chronische Atemwegsinfammation charakterisiert ist. Asthma definiert sich durch [...] respiratorische Symptome, wie pfeifendes Atemgeräusch, Luftnot, thorakales Engegefühl und Husten, die im zeitlichen Verlauf und in der Intensität variieren, einhergehend mit variablen expiratorischen Luftflusslimitierungen.“* (Übersetzung durch den Autor; (42); S. 20)



#### 1.4. Asthma bronchiale – Epidemiologie

Weltweit litten im Jahr 2019 rund 262 Millionen Menschen an Asthma bronchiale (43). Im selben Jahr starben 461 Tausend Menschen weltweit an den Folgen der Erkrankung (43). Die jährlichen Gesamtkosten für Asthma bronchiale wurden für Europa auf über 19 Milliarden Euro geschätzt (44). Epidemiologische Studien konnten Assoziationen zwischen Allergen-Sensibilisierung und Asthma bronchiale nachweisen (45-48).

#### 1.5. Asthma bronchiale – Phänotypen

Asthma bronchiale ist ein heterogenes Erkrankungsbild mit unterschiedlichen Phänotypen (42, 49-58). Neben der klassischen Differenzierung zwischen allergischem und nicht-allergischem Asthma bronchiale werden aktuell die Phänotypen *early-onset* allergisches, *late-onset* eosinophiles und *late-onset* nicht-eosinophiles Asthma bronchiale diskutiert (42, 59-63). Darüber hinaus werden weitere Asthmaformen diskutiert, zu denen *Cough-variant-Asthma* und Asthma bei Aspirin-Intoleranz zählen (42, 57).

Basierend auf den zugrundeliegenden Pathomechanismen werden zudem die inflammatorischen Endotypen *Type-2-High* Asthma bronchiale und *Type-2-Low* Asthma bronchiale unterschieden (49, 50, 53, 55-59, 61, 64-68). *Type-2-High* Asthma zeichnet sich durch eine vermehrte Typ 2-Inflammation der Atemwegen aus, die insbesondere durch die Zytokine Interleukin (IL)-4, IL-5 und IL-13 charakterisiert ist (49, 51, 56, 65-67). Zudem finden sich vermehrt eosinophile Granulozyten in den Atemwegen und im peripheren Blut (49, 51, 55, 56, 65-68). Erhöhte Level fraktionierten exhalierten Stickstoffmonoxids (FeNO) deuten auf einen *Type-2-High* Phänotyp hin (49, 51, 55-57, 61). Patienten mit *Type-2-High* Asthma sprechen in der Regel therapeutisch auf Glucocorticoide an (49, 54, 57, 65-69). Im Gegensatz zum *Type-2-High* Asthma finden sich bei *Type-2-Low* Asthma weder eine T<sub>H</sub>2-Signatur noch eine eosinophile Atemwegsinfektion (49, 61, 65, 67). Patienten mit *Type-2-Low* Asthma sprechen unzureichend auf Glucocorticoide an (49, 54, 65, 67, 70). Beim Großteil der Patienten mit schwerem Asthma bronchiale lassen sich Hinweise für eine Typ 2-Inflammation nachweisen (51, 53).

Diese Arbeit fokussiert auf das allergische *Type-2-High* Asthma bronchiale, da die hier zum Einsatz gekommenen präklinischen Modelle der allergischen Atemwegsinfektion der Maus diesen klinischen Phänotyp am ehesten repräsentieren (71-73).

#### 1.6. Allergie-Nomenklatur

Gemäß dem 2004 veröffentlichten Update der revidierten Allergie-Nomenklatur der *World Allergy Organization* (74), das auf der 2001 publizierten revidierten Allergie-Nomenklatur der *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* basiert (75), werden die folgenden (durch den Autor aus dem Englischen übersetzten) Definitionen empfohlen:

- „Der Begriff *Hypersensitivität* sollte angewandt werden zur Beschreibung objektivierbarer, reproduzierbarer Symptome oder Anzeichen, die durch Exposition

- mit einem definierten Stimulus in einer Konzentration ausgelöst werden, die für Menschen normalerweise tolerierbar ist.“ (Übersetzung durch den Autor; (74); S. 833)*
- *„Allergie ist eine durch spezifische immunologische Mechanismen ausgelöste Hypersensitivitätsreaktion.“ (Übersetzung durch den Autor; (74); S. 833)*
  - *„Ein Allergen ist ein Antigen, das eine allergische Erkrankung auslöst.“ (Übersetzung durch den Autor; (74); S. 833)*
  - *„Atopie bezeichnet die persönliche und/oder familiäre Veranlagung, üblicherweise in der Kindheit oder Jugend, als Antwort auf gewöhnliche Expositionen mit Allergenen, in der Regel Proteinen, sensibilisiert zu werden und IgE-Antikörper zu bilden. Als Folge können diese Personen typische Symptome eines Asthma [bronchiale], einer Rhinokonjunktivitis oder eines Ekzems entwickeln.“ (Übersetzung durch den Autor; (74); S. 833)*

## 1.7. Pathophysiologie des allergischen Asthma bronchiale

### 1.7.1. Sensibilisierung

Nach inhalativer Allergen-Exposition werden die Proteine von Antigen-präsentierenden Zellen wie den dendritischen Zellen aufgenommen, prozessiert und an der Zelloberfläche in Form von Peptiden präsentiert (76, 77). Dem Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) kommt hierbei eine besondere Rolle zu, da T-Zell-Rezeptoren die prozessierten Peptide in Form von Peptid-MHC-Komplexen erkennen (76, 77). Kostimulatorische Moleküle und Zytokine sind darüber hinaus für die Aktivierung und Differenzierung naiver T-Helfer-Lymphozyten entscheidend (77, 78). Der Differenzierung naiver T-Helfer-Lymphozyten in IL-4, IL-5 und IL-13 sezernierende Typ 2-T-Helferzellen (T<sub>H</sub>2-Zellen) kommt eine wichtige Bedeutung in der IgE-abhängigen allergischen Reaktion zu (41, 49, 50, 61, 65, 78).

IL-4 und IL-13 induzieren in B-Lymphozyten einen Antikörperklassenwechsel zu IgE, sodass Allergen-spezifische Plasmazellen in der Lage sind, IgE zu produzieren (50, 65, 78-81). IgE wurde erstmals im Jahr 1966 von Ishizaka und Kollegen in einer im *Journal of Immunology* publizierten Arbeit identifiziert und 1968 als neue Immunglobulin-Klasse beschrieben (75, 82, 83). IgE bindet *high-affinity* IgE-Rezeptoren (FcεRI), die auf den Membranen unterschiedlicher Zellen exprimiert sind (84). Hierzu zählen Mastzellen, basophile Granulozyten, dendritische Zellen, Epithelzellen und Muskelzellen (84). Hinweise für eine spezifische Allergen-Sensibilisierung können Hautpricktest und die serologische Bestimmung von Allergen-spezifischem IgE liefern (45, 85-87).

### 1.7.2. Allergische Atemwegsinfammation

Die Bildung von Allergen-spezifischem IgE spielt eine wichtige Rolle in der Entwicklung eines allergischen Asthma bronchiale (74, 88). IgE-vermittelte immunologische Prozesse scheinen sowohl in der frühen als auch in der späten asthmatischen Reaktion von Bedeutung zu sein (28, 75, 89, 90).

Mastzellen haben eine zentrale Funktion in der IgE-vermittelten, allergischen Immunreaktion (28, 84, 91, 92). Infolge der Bindung von spezifischem IgE an FcεRI-Rezeptoren auf Mastzellen und konsekutiver Quervernetzung der IgE-FcεRI-Komplexe durch inhalative Allergene kommt es zur Aktivierung und Degranulation der Mastzellen (28, 50, 84). Diese Granula enthalten Mediatoren wie Histamin, Heparin, und Tryptase (28, 92, 93). Die Mastzellaktivierung hat zudem eine *de novo* Synthese von Prostaglandinen und Leukotrienen zur Folge (28, 92, 93). Darüber hinaus werden Zytokine wie IL-4, IL-5 und IL-13 gebildet und aus dem Zytoplasma der Mastzellen freigesetzt (28, 84, 92, 93).

Die Zytokine IL-4, IL-5, und IL-13 spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der eosinophilen Atemwegsinflammation (39, 49, 50, 71, 94, 95). Insbesondere IL-5 ist hierbei von großer Bedeutung, da es sowohl Reifung als auch Rekrutierung, Aktivierung und Überleben eosinophiler Granulozyten fördert (50, 96). Die eosinophile Inflammation kann sich auch in der systemischen Zirkulation von Asthma-Patienten widerspiegeln. Insbesondere Patienten mit schwerem Asthma bronchiale zeigen erhöhte Level an eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut (97).

Bei Asthma-Patienten ist die Kombination aus Allergen-Sensibilisierung und Allergen-Exposition mit hospitalisierungspflichtigen Exazerbationen assoziiert (45, 85).

### 1.7.3. Atemwegshyperreagibilität und -Remodeling

Asthma bronchiale geht mit Atemwegshyperreagibilität (AHR), einem vermehrten Ansprechen der glatten Atemwegsmuskelzellen auf unspezifische bronchokonstriktorische Stimuli, einher (50, 98). Auf Zytokinebene sind IL-4, IL-9, IL-13 und IL-17A mit der Entstehung der AHR assoziiert (39, 49, 71, 80, 94, 95). Signaltransduktoren der glattmuskulären (Hyper-)Reagibilität der Atemwege umfassen Rho-Kinase, Proteinkinase C (PKC) und p38-mitogenaktivierte Proteinkinasen (p38 MAPK) (37, 38, 99-101). Das für Asthma bronchiale typische Remodeling der Atemwege ist durch Becherzellmetaplasie, glattmuskuläre Hyperplasie und subepitheliale Fibrose charakterisiert und wird durch die Zytokine IL-4, IL-13 und *Transforming Growth Factor beta* (TGF-β) gefördert (49, 65, 71, 94).

### 1.7.4. Milztyrosinkinase

Die Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase Milztyrosinkinase (Syk) spielt in der Entstehung der allergischen Atemwegsinflammation eine wichtige Rolle (102-105). Syk vermittelt die Antigenpräsentation dendritischer Zellen (106) und ist essentiell für die IgE-Rezeptor-vermittelte Mastzelldegranulation (103, 107). Darüber hinaus reguliert Syk die Antikörper-Rezeptor-vermittelte Superoxidproduktion eosinophiler Granulozyten (103). Präklinisch konnte gezeigt werden, dass pharmakologische Syk-Inhibition die T<sub>H</sub>2-vermittelte AHR reduziert (108).

### 1.7.5. Sphingosinkinase/Sphingosin-1-Phosphat-System

Das bioaktive Sphingolipid Sphingosin-1-Phosphat (S1P) wird via Phosphorylierung durch das Enzym Sphingosinkinase (SphK) aus Sphingosinen gebildet (109). Sphingosine entstehen wiederum mittels Hydrolyse aus Ceramiden (109, 110). S1P kann Effekte sowohl intrazellulär als *Second Messenger* als

auch extrazellulär über die Bindung G-Protein-gekoppelter S1P-Rezeptoren ausüben (111, 112). Es sind zwei SphK-Isoenzyme (SphK1 und SphK2) und fünf S1P-Rezeptoren (S1P<sub>1-5</sub>) bekannt (110-112). In der Lunge ist die SphK1 das am stärksten exprimierte SphK-Isoenzym (112, 113). Die Expressionsprofile der S1P-Rezeptoren variieren je nach Zelltyp oder Gewebeart (112). In den Atemwegen fungiert S1P als proinflammatorischer Mediator (114). Die IgE-Rezeptor-vermittelte Mastzellaktivierung hat eine Freisetzung von S1P via ABC-Transporter ABCC1 zur Folge (115, 116). Das freigesetzte S1P kann sowohl autokrin als auch parakrin via S1P-Rezeptor-Aktivierung Effekte vermitteln (110, 115, 117). Die Effekte der S1P-Rezeptor-Aktivierung variieren je nach Zelltyp. Während der S1P<sub>2</sub>-Rezeptor auf Mastzellen die IgE-Rezeptor-vermittelte Degranulation zu regulieren scheint (117, 118), vermittelt er auf den glatten Atemwegsmuskelzellen Kontraktion (119). Neben der Induktion immunologischer Effekte fungiert S1P somit auch als Bronchokonstriktor (37, 38, 119).

### 1.8. Hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion und Asthma bronchiale

Vermehrte Bronchokonstriktion, Mucus-Pfropfen und Bronchialwandödem sind Ursachen der Atemwegsobstruktion bei Asthma bronchiale (120). Infolge von Atemwegsobstruktion kommt es zu regionaler Hypoventilation und Ventilations/Perfusions-Mismatch (1, 120-122). Das Ausmaß des Ventilations/Perfusions-Mismatch scheint mit dem Schweregrad der Exazerbation zu korrelieren (123). Im *Status asthmaticus* ist ausgeprägtes Ventilations/Perfusions-Mismatch ursächlich für die daraus resultierende lebensbedrohliche Hypoxämie (123).

Die hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion (HPV) minimiert physiologischer Weise Ventilations/Perfusions-Mismatch und folglich Hypoxämie, indem Blut in besser ventilerte Lungenareale umgeleitet wird (1, 123). Alveoläre Hypoxie induziert in flussaufwärts gelegenen Arteriolen Vasokonstriktion, nachdem das Hypoxie-Signal im Endothel retrograd via Zell-Zell-Kanäle (*gap junctions*) weitergeleitet wurde (124, 125). Die HPV gliedert sich in unterschiedliche Phasen (1, 126). Die erste Phase der HPV ist durch eine weniger als 30 Minuten andauernde transiente pulmonalarterielle Konstriktion gekennzeichnet (1, 126). In der zweiten Phase der HPV zeigt sich eine anhaltende, sukzessiv zunehmende pulmonale Vasokonstriktion (1, 126).

Neben der HPV scheint in dynamisch überblähten Lungenarealen die mechanische Kompression von Blutgefäßen zusätzlich an der regionalen Umleitung der Perfusion beteiligt zu sein (121, 127, 128).

### 1.9. Asthma bronchiale – Klinisches Bild

Die Symptome des Asthma bronchiale zeichnen sich durch eine hohe Variabilität aus (50, 129). Die Spannbreite der klinischen Ausprägung reicht von asymptomatischen Phasen über milde Exazerbationen bis hin zu schwerwiegenden Exazerbationen, die eine stationäre Behandlung erfordern (41, 122, 129). Bei allergischem Asthma bronchiale wird zwischen saisonaler und perennialer Verlaufsform differenziert (57, 60).

Typische Symptome sind Husten, Dyspnoe, Giemen und thorakales Engegefühl (41, 50, 130). Schwere Atemwegsobstruktion kann den Einsatz der Atemhilfsmuskulatur bedingen (131). Zudem kann es bei

Asthma-Patienten zu Panikgefühl kommen, das wiederum Hyperventilation und Asthma-Exazerbationen zu fördern scheint (132).

Der sogenannte *Status asthmaticus* bezeichnet akutes schweres Asthma bronchiale, das lebensbedrohliche Hypoxämie zur Folge hat (123). Im *Status asthmaticus* können Hypoxämie und Tachypnoe zur Erschöpfung der Atemmuskulatur beitragen (133). Ohne adäquate Therapie kann ein *Status asthmaticus* zu ventilatorischer Insuffizienz und zum Tode führen (122).

### 1.10. Asthma bronchiale – Diagnostik

Standardisierte Spirometrie und Bodyplethysmographie eignen sich zur Objektivierung von Symptomen und zur Detektion von Atemwegsobstruktion (134-136). Für die Beurteilung einer möglichen Atemwegsobstruktion sind insbesondere der Tiffeneau-Index (Quotient aus Einsekundenkapazität und forcierter expiratorischer Vitalkapazität,  $FEV_1/FVC$ ), die absolute Einsekundenkapazität ( $FEV_1$ ) und der Spitzenfluss bei forcierter Expiration (*peak expiratory flow*, PEF) von Bedeutung (60, 136). Bei nachgewiesener Obstruktion kann mittels Bronchodilatationstest die Reversibilität dieser Obstruktion infolge der Inhalation eines kurzwirksamen Beta-2-Sympathomimetikums untersucht werden (41, 134, 136). Mit zunehmendem Grad der Reversibilität steigt die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Asthma bronchiale (136). Der variable Charakter der Obstruktion bei Asthma bronchiale kann die Korrelation mittels Lungenfunktion erschweren (57, 136, 137). Ein Test auf AHR mittels Provokationstest kann der Diagnosestellung dienlich sein, wobei beispielsweise der synthetische Muskarinrezeptor-Agonist Methacholin oder Kaltluft als nichtspezifische Stimuli inhalativ zum Einsatz kommen (36, 41, 57, 60, 136). Ein spezifischer bronchialer Allergen-Provokationstest ist angesichts des erhöhten Komplikationsrisikos lediglich in Ausnahmefällen indiziert (60).

Weiterführende Untersuchungen dienen der Phänotypisierung des Asthma bronchiale (s. 1.5.). Hierzu zählen die Quantifizierung der eosinophilen Granulozyten in Differentialblutbild und/oder Sputum sowie des fraktionierten exhalieren Stickstoffmonoxids (FeNO) (41, 60, 68). Die klinische Abklärung potentieller zugrundeliegender Allergien schließt neben ausführlicher Anamnese und Korrelationen von Symptomen mit möglichen Allergen-Expositionen einen Hautpricktest sowie Serumanalysen auf Gesamt-IgE und Allergen-spezifisches IgE mit ein (60, 68, 86, 87, 138). Neben einer nachweislich allergischen Pathogenese spricht bei Asthma-Patienten unter einer inhalativen Corticosteroid (ICS)-Behandlung das Überschreiten der folgenden Grenzwerte für eine Typ 2-Inflammation: eosinophile Granulozyten im Differentialblutbild  $\geq 150/\mu\text{l}$  und/oder im Sputum  $\geq 2\%$  und/oder FeNO  $\geq 20$  *parts per billion (ppb)* (42, 68).

Die Liste der abzugrenzenden Differentialdiagnosen umfasst *Vocal Cord Dysfunction*, chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Bronchiektasie, Zystische Fibrose, Bronchiolitis obliterans, Hypersensitivitätspneumonitis, allergische bronchopulmonale Aspergillose, eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis und Lungenarterienembolie (41, 136).

## 1.11. Asthma bronchiale – Therapie

Die einzelnen Therapieempfehlungen können je nach Leitlinie (*GINA Guidelines*, S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit Asthma, Nationale VersorgungsLeitlinie Asthma, *European Respiratory Society/American Thoracic Society Guideline*) voneinander abweichen (41, 42, 57, 60, 64, 68). Die Therapie des Asthma bronchiale wird im Folgenden überwiegend auf Grundlage der *GINA Guidelines* skizziert.

### 1.11.1. Nichtmedikamentöse Therapie

Zu den nichtmedikamentösen Therapieoptionen zählen Patientenschulung, Allergenkarenz, Rauchentwöhnung, körperliche Aktivität sowie pneumologische Rehabilitation (41, 42, 60).

### 1.11.2. Medikamentöse Stufentherapie

Die Therapie des Asthma bronchiale hat Symptomkontrolle und Reduktion zukünftiger Exazerbationen zum Ziel (42). Basierend auf Symptomlast, Exazerbationsraten, Patientenzufriedenheit, Lungenfunktion und möglichen unerwünschten Nebenwirkungen der bisherigen Therapie wird die Asthma-Therapie in regelmäßigen Intervallen im Kontext der Stufentherapie gemäß *GINA Guidelines* reevaluiert (42). Die sogenannte *Controller*-Therapie gliedert sich in fünf unterschiedliche Stufen, wobei die Stufen 1-5 durch eine schrittweise Eskalation der medikamentösen Maßnahmen charakterisiert sind (42). Eine Therapie-Eskalation wird als *Step-up* bezeichnet, eine Therapie-Deeskalation als *Step-down* (42).

Alle Stufen umfassen gemäß *GINA Guidelines* die Behandlung mit ICS (42). Die stufenspezifischen Empfehlungen bezüglich des Einsatzes inhalativer langwirksamer Beta-2-Sympathomimetika (LABA) in der *Controller*-Therapie variieren gemäß *GINA Guidelines* je nach ausgewähltem Therapie-Regimen, dem sogenannten *Track 1* oder *Track 2* (42). Die inhalative Gabe eines langwirksamen Muskarinantagonisten (LAMA) wird bei Patienten mit schwerem unkontrollierten Asthma bronchiale trotz adäquater Therapie der Stufen 4-5 gemäß *GINA Guidelines* als *Add-on* empfohlen (42, 64).

Biologika bieten als zusätzliche Therapieoption der Stufe 5 die Möglichkeit, Phänotyp-spezifische Antikörper- oder Zytokin-Antworten zu minimieren (41, 42, 49, 58, 68, 139, 140). Der monoklonale Anti-IgE-Antikörper Omalizumab kann bei Patienten mit unkontrolliertem allergischen Asthma bronchiale und Sensibilisierung gegen ein ganzjähriges Aeroallergen erwogen werden (42, 68), wobei insbesondere Patienten mit Blut-Eosinophilie ( $\geq 260/\mu\text{l}$ ) und/oder FeNo  $\geq 19,5$  ppb von dieser Therapieform zu profitieren scheinen (64). Dupilumab ist ein gegen die  $\alpha$ -Untereinheit des IL-4-Rezeptors gerichteter monoklonaler Antikörper, der neben dem IL-4- auch den IL-13-Signalweg blockiert (64). Er wird sowohl für Patienten mit schwerem eosinophilen Asthma bronchiale als auch für Patienten mit schwerem Steroid-abhängigen Asthma bronchiale als *Add-on* Therapie empfohlen (64). Die Anti-IL-5-Antikörper Mepolizumab und Reslizumab bzw. der Anti-IL-5-Rezeptor-Antikörper Benralizumab stellen für Patienten mit schwerem unkontrollierten Asthma bronchiale eine zusätzliche

Therapieoption dar (64). Der für die Therapie-Entscheidung zugrundeliegende Grenzwert für eosinophile Granulozyten im peripheren Blut liegt gemäß den gemeinsamen Empfehlungen der *European Respiratory Society* und der *American Thoracic Society* bei  $\geq 150/\mu\text{l}$  (64). Dieser Grenzwert wird von über der Hälfte aller Asthma-Patienten überschritten (97).

Parallel zur *Controller*-Therapie kommt bedarfsweise eine sogenannte *Reliever*-Therapie mit ICS/LABA (*Track 1*) oder inhalativen kurzwirksamen Beta-2-Sympathomimetika (*Track 2*) zum Einsatz (42). Darüber hinaus bestehen in Abhängigkeit der jeweiligen *Controller*-Stufe weiterführende Behandlungsoptionen zur Optimierung der Asthma-Kontrolle (42).

### 1.11.3. Zusätzliche Therapieoptionen

#### **Spezifische Immuntherapie**

Bei nachgewiesener Allergen-spezifischer Sensibilisierung und eindeutig Allergen-assoziiertes klinisch relevanter Symptomatik kommt zudem eine spezifische Immuntherapie (SIT) als Therapieoption infrage (42, 60, 138). Die Allergen-spezifische Immuntherapie ist die einzige derzeit verfügbare krankheitsmodifizierende Therapie der Typ I-Allergie (141). Der therapeutische Effekt ist Folge einer immunologischen Toleranz-Entwicklung, in der regulatorische T-Zellen eine zentrale Rolle zu spielen scheinen (142). Zu den Effekten der regulatorische T-Zellen im Rahmen der SIT zählen die Suppression der IgE-Produktion, die Induktion von IgG4 und die Reduktion von  $T_H2$ -Zytokinen (142).

Adjuvantien haben das Ziel, die Wirksamkeit, die Langzeiteffekte und/oder das Nutzen-Risiko-Profil der SIT zu verbessern (141). 1937 wurde erstmals die Verwendung des auch heutzutage zum Einsatz kommenden Aluminiumhydroxid als Adjuvans in der SIT beschrieben (141, 143, 144). Aluminiumhydroxid bezweckt eine lokale Depotwirkung (141, 144-146). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Aluminiumhydroxid-haltiges Adjuvans via Aktivierung des Nalp3-Inflammasoms die humorale Immunantwort fördert (147). Gegenwärtige Untersuchungen zur Etablierung möglicher neuer Adjuvantien schließen den Einsatz von Vitamin D-Metaboliten ein (141, 146, 148-151).

Neben der subkutanen Immuntherapie (SCIT) kommt in der Klinik zur Behandlung der allergischen Rhinitis oder Rhinokonjunktivitis auch die sublinguale Immuntherapie (SLIT) zum Einsatz (152, 153). Basierend auf klinischen Studien (154, 155) wird in den *GINA Guidelines* aus dem Jahr 2021 für Patienten mit suboptimal kontrolliertem Asthma bronchiale trotz ICS-Therapie bei zusätzlich bestehender allergischer Rhinitis mit nachweislicher Sensibilisierung gegen Hausstaubmilben eine *Add-on* SLIT als *Controller*-Therapieoption aufgeführt (42, 153). Voraussetzung für die SLIT ist eine  $FEV_1 > 70\%$  (42). Unkontrolliertes Asthma stellt eine absolute Kontraindikation für eine Allergen-spezifische Immuntherapie dar (153, 156).

#### **Leukotrienrezeptor-Antagonisten**

Leukotrienrezeptor-Antagonisten stellen eine *Add-on Controller*-Option der Stufen 2-5 gemäß *GINA Guidelines* unter Abwägung unerwünschter (neuropsychiatrischer) Nebenwirkungen dar (42).

Insbesondere bei ASS-Intoleranz-Syndrom kann der Einsatz von Leukotrienrezeptor-Antagonisten erwogen werden (42).

### **Orale Glucocorticoid-Therapie**

Akute Exazerbationen des Asthma bronchiale können den vorübergehenden Einsatz oraler Glucocorticoide erfordern (42). Niedrig dosierte orale Glucocorticoide können zudem bei unzureichender Symptomkontrolle und/oder häufigen Exazerbationen als *Add-on* der Stufe 5 gemäß *GINA Guidelines* nach Abwägung der unerwünschten Nebenwirkungen eingesetzt werden (42). Prinzipielles Bestreben sollte sein, die *Controller*-Therapie so zu optimieren, dass kein langfristiger Einsatz oraler Glucocorticoide erforderlich ist (42). Eine Behandlung mit Biologika ist, falls indiziert, dem Einsatz oraler Glucocorticoide vorzuziehen (42).

### **Infektophylaxe und antiinfektive Therapie**

Gemäß *GINA Guidelines* wird für Asthma-Patienten die Impfung gegen *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) empfohlen (42). Ferner wird für Patienten mit moderatem bis schwerem Asthma bronchiale eine jährliche Influenza-Impfung empfohlen (42). Die Influenza-Impfung sollte mindestens analog zur Empfehlung für die restliche Bevölkerung erfolgen (42). Der Evidenzgrad zur routinemäßigen Empfehlung der Pneumokokken-Impfung bei Asthma-Patienten ist laut *GINA Guidelines* aktuell nicht ausreichend (42). Die Nationale VersorgungsLeitlinie Asthma empfiehlt Asthma-Patienten gemäß den Empfehlungen der Ständigen Impfkommission zu impfen (60).

Bei Asthma-Patienten, die trotz adäquater Therapie der Stufe 5 gemäß *GINA Guidelines* durchgehend symptomatisch oder unkontrolliert bleiben, kann eine Antibiotika-Therapie mit Makroliden erwogen werden (64).

### **Bronchiale Thermoplastie**

Bei ausgewählten Patienten der Stufe 5 gemäß *GINA Guidelines*, die trotz optimierter Therapie durch spezialisierte Asthma-Zentren unkontrolliert bleiben, kann als *Add-on* eine bronchiale Thermoplastie erwogen werden (42). *Bis dato* liegen nur wenige Studien zu dieser invasiven Therapieform vor, sodass bronchiale Thermoplastie ausschließlich im Rahmen medizinischer Register oder klinischer Studien erfolgen sollte (41, 42).

### **Mechanische Ventilation**

Respiratorisches Versagen, beispielsweise im Rahmen einer schweren therapierefraktären Exazerbation, kann endotracheale Intubation und maschinelle Beatmung erfordern (57, 122, 157).



## 2. Zielsetzung

Die ersten drei der fünf nachfolgend aufgeführten Arbeiten hatten zum Ziel, mittels präklinischer Analysen, zentrale Mediatoren der Pathogenese des allergischen Asthma bronchiale zu identifizieren und neue Therapiestrategien experimentell zu untersuchen (s. 3.1. – 3.3.). Die vierte und fünfte Arbeit zielten auf die Erforschung der Signaltransduktoren der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion ab, die bei Asthma bronchiale-assoziiertes Hypoventilation von Bedeutung ist (s. 3.4. – 3.5.).

### 3. Eigene Arbeiten

#### 3.1. Die Effekte der Milztyrosinkinase-Inhibition in der allergischen Atemwegsinfammation

Nachfolgender Titel und Text entsprechen Titel und Abstract der Arbeit „*Spleen tyrosine kinase inhibition blocks airway constriction and protects from Th2-induced airway inflammation and remodeling*“ (*Allergy*, 2017 Jul;72(7):1061-1072, DOI: 10.1111/all.13101) (38) der Autoren Christoph Tabeling, Julia Herbert, Andreas C Hocke, David J Lamb, Stefan-Lutz Wollin, Klaus J Erb, Ekaterina Boiarina, Hesam Movassagh, Jörg Scheffel, Jan M Doehn, Stefan Hippenstiel, Marcus Maurer, Abdelilah Soussi Gounni, Wolfgang M Kuebler, Norbert Suttorp und Martin Witzenzath:

**„Die Inhibition der Milztyrosinkinase blockiert Atemwegskonstriktion und schützt vor T<sub>H</sub>2-induzierter Atemwegsinfammation und Remodeling“**

**„Hintergrund:** Die Milztyrosinkinase (Syk) ist eine intrazelluläre Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase, die als zentraler Immunmodulator angesehen wird, der allergische Atemwegsinfammation fördert. Syk-Inhibition wurde als neuer Therapieansatz für Asthma [bronchiale] diskutiert. Die direkten Effekte der Syk-Inhibition auf die Bronchokonstriktion unabhängig von Allergen-Sensibilisierung sind jedoch nur unzureichend bekannt.

**Methoden:** Die Lokalisierung der Syk-Expression in humanem und murinem Lungengewebe erfolgte mittels Konfokalmikroskopie. Die Effekte der prophylaktischen oder therapeutischen Syk-Inhibition auf allergische Atemwegsinfammation, Hyperreagibilität und Atemwegsremodeling wurden in Allergen-sensibilisierten und atemwegsexponierten Mäusen analysiert. Die Effekte der Syk-Inhibitoren BAY 61-3606 oder BI 1002494 auf die Lungenfunktion wurden in isolierten Lungen von Wildtyp-, PKC $\alpha$ -defizienten, Mastzell-defizienten oder eNOS-defizienten Mäusen untersucht.

**Ergebnisse:** Die Milztyrosinkinase war in den glatten Atemwegsmuskelzellen humaner und muriner [Lungen] exprimiert. Syk-Inhibition reduzierte die allergische Atemwegsinfammation, Atemwegshyperreagibilität und pulmonale Kollagen-Deposition. In naiven Mäusen verringerte Syk-Inhibition die Atemwegsreagibilität unabhängig von Mastzellen, PKC $\alpha$ -Expression oder eNOS-Expression und führte NO-unabhängig zu einer raschen Aufhebung von vorbestehender Bronchokonstriktion. Die simultane Inhibition von Syk und PKC hatte additive dilatorische Effekte zur Folge, wohingegen die kombinierte Inhibition von Syk und Rho-Kinase oder Syk und p38 MAPK keine additive Bronchodilatation zur Folge hatte.

**Schlussfolgerungen:** Syk-Inhibition führt zu einer direkten Reduktion der Kontraktion glatter Atemwegsmuskelzellen, unabhängig von den protektiven immunmodulatorischen Effekten [der Syk-Inhibition] auf allergische Atemwegsinfammation, -hyperreagibilität und -remodeling. Syk vermittelt NO-unabhängig Bronchokonstriktion, wahrscheinlich via Rho-Kinase und p38 MAPK, und Syk-Inhibition könnte sowohl für chronisches Asthma [bronchiale] als auch für akute Asthma-Exazerbationen einen vielversprechenden Therapieansatz darstellen.“ (Übersetzung durch den Autor; (38); S. 1061. Siehe auch bereits publizierte Kongress-Abstracts zur selben Forschungsarbeit mit teils identischem Wortlaut: DOI: 10.1055/s-0035-1544603; DOI: 10.1055/s-0035-1548660)

Spleen tyrosine kinase inhibition blocks airway constriction and protects from Th2-induced airway inflammation and remodeling

*Allergy*, 2017 Jul;72(7):1061-1072

<https://doi.org/10.1111/all.13101>

### 3.2. Die Effekte der NOD1-Ligation in der murinen allergischen Atemwegsinfammation

Nachfolgender Titel und Text entsprechen Titel und Abstract der Arbeit „*Nucleotide oligomerization domain 1 ligation suppressed murine allergen-specific T-cell proliferation and airway hyperresponsiveness*“ (Am J Respir Cell Mol Biol, 2014 May;50(5):903-11, DOI: 10.1165/rcmb.2013-0333OC) (158) der Autoren Christoph Tabeling, Heide Scheer, Stefanie M Schönrock, Franziska Runge, Birgitt Gutbier, Jasmin Lienau, Eckard Hamelmann, Bastian Opitz, Norbert Suttorp, Konstantin Mayer, Georg M Behrens, Thomas Tschernig und Martin Witzzenrath:

#### **„NOD1-Ligation reduzierte die murine Allergen-spezifische T-Zell-Proliferation und Atemwegshyperreagibilität“**

„Die zytosolischen Nucleotid-bindende Oligomerisierungsdomäne (NOD)-ähnlichen Rezeptoren (NLR) NOD1 und NOD2 leisten einen wichtigen Beitrag zur intrazellulären Pathogen-Erkennung inklusive *Chlamydomypha pneumoniae*; über die Auswirkungen [der NLR NOD1 und NOD2] auf die Allergen-induzierte Atemwegsinfammation ist jedoch wenig bekannt. In BALB/c Mäusen beobachteten wir, dass die Infektion mit *C. pneumoniae* vor systemischer Sensibilisierung mit Ovalbumin (OVA) und lokaler OVA-Atemwegsexposition die Atemwegshyperreagibilität (AHR) reduzierte. Daher untersuchten wir den Einfluss des NOD1-Agonisten FK156 und des NOD2-Agonisten Muramyl-Dipeptid auf AHR, OVA-spezifische Immunglobuline im Plasma, [Zell-] Differenzierung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit und Zytokine; die Applikation [des jeweiligen Agonisten] erfolgte 6 Stunden vor jeder Sensibilisierung oder Atemwegsexposition. Die dendritischen Zellen der Milzen FK156-behandelter Mäuse wurden isoliert und mit OVA-spezifischen T-Zellen, die aus DO11.10 Mäusen isoliert wurden, co-kultiviert und die T-Zell-Proliferation wurde nach OVA-Restimulation quantifiziert. [Zudem] wurde die T-Zell-Proliferation in vivo in den Lungen und Lymphknoten FK156-behandelter und OVA-exponierter DO11.10 Mäuse untersucht. Im Gegensatz zu Muramyl-Dipeptid reduzierte die Applikation von FK156 vor OVA-Sensibilisierung oder -Atemwegsexposition die AHR und die eosinophile Infiltration der Lunge, wohingegen Typ 2-T-Helferzell ( $T_H2$ )-Zytokine nicht reduziert waren. Die dendritischen Zellen FK156-behandelter Mäuse evozierten weniger OVA-spezifische T-Zell-Proliferation als die [dendritischen Zellen der] mit Lösungsmittel behandelten Kontrollen. Ebenso führte die FK156-Behandlung zur Reduktion der Antigen-spezifischen T-Zell-Aktivierung im Lungengewebe. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die AHR infolge der Allergen-induzierten Infammation der Lunge durch NOD1-Aktivierung reduziert wurde, einhergehend mit einer Reduktion der Allergen-spezifischen T-Zell-Proliferation.“ (Übersetzung durch den Autor; (158); S. 903. Siehe auch bereits publizierte Kongress-Abstracts zur selben Forschungsarbeit mit teils identischem Wortlaut: DOI: 10.1164/ajrccm-conference.2009.179.1\_MeetingAbstracts.A5459; DOI: 10.1055/s-0029-1213834)

Nucleotide oligomerization domain 1 ligation suppressed murine allergen-specific T-cell proliferation and airway hyperresponsiveness

*Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014 May;50(5):903-11

<https://doi.org/10.1165/rcmb.2013-0333OC>

### 3.3. Die Effekte von 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> als Adjuvans in der Allergen-spezifischen Immuntherapie

Nachfolgender Titel und Text entsprechen Titel und Abstract der Arbeit „25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> promotes the long-term effect of specific immunotherapy in a murine allergy model“ (*J Immunol*, 2014 Aug 1;193(3):1017-23, DOI: 10.4049/jimmunol.1301656) (159) der Autoren Guido Heine\*, Christoph Tabeling\*, Bjoern Hartmann, Carla R González Calera, Anja A Kühl, Juliane Lindner, Andreas Radbruch, Martin Witzenthath und Margitta Worm (\*contributed equally):

#### **„25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> verbessert den Langzeiteffekt der spezifischen Immuntherapie in einem murinen Allergie-Modell“**

„Der aktive Vitamin D-Metabolit Calcitriol (1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>) reguliert Allergie-relevante immunologische Funktionen. [Calcitriol-induzierte] toxische Hyperkalzämie limitiert jedoch dessen therapeutischen Einsatz. Wie zuvor von uns gezeigt, hat die Aktivierung des Vitamin D-Rezeptors eine Inhibition der IgE-Produktion zur Folge und B-Zellen sind nach Antigen-Stimulation in der Lage, Calcitriol aus seiner inaktiven Vorstufe 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> [25(OH)D] zu synthetisieren. In dieser Studie untersuchen wir den Einfluss von 25(OH)D auf die Entwicklung der Typ-I-Sensibilisierung und eruieren dessen Rolle in der Allergen-spezifischen Immuntherapie. [Alimentär bedingt] 25(OH)D-defiziente oder -suffiziente BALB/c Mäuse wurden mit OVA sensibilisiert. Die humorale Immunantwort wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten mittels ELISA quantifiziert. Eine OVA-spezifische Immuntherapie wurde etabliert und in einem Mausmodell für allergische Atemwegsinfammation untersucht mittels Lungenhistologie, pulmonalen Zytokin-Expressionsanalysen und [Erhebungen] funktioneller Parameter in isoliert perfundierten Mauslungen. Im Serum 25(OH)D-defizienter Mäuse zeigten sich die Spiegel OVA-spezifischer [Immunglobuline] IgE und IgG1 im Vergleich zu den Kontrollmäusen erhöht. Die OVA-spezifische Immuntherapie reduzierte dosisabhängig die humorale Immunantwort nach erneuter OVA-Exposition nach allergenfreiem Intervall (OVA recall). Der additive Einsatz von 25(OH)D im Rahmen der OVA-spezifischen Immuntherapie reduzierte die allergische Atemwegsinfammation und -reagibilität nach OVA-Exposition. Parallel hierzu zeigte sich die Expression pulmonaler T<sub>H</sub>2-Zytokine reduziert. Zusammenfassend fördert 25(OH)D-Defizienz die Entwicklung der Typ-I-Sensibilisierung und die Korrektur der [25(OH)D-] Serumkonzentrationen erhöht die protektiven Effekte der spezifischen Immuntherapie.“ (Übersetzung durch den Autor; (159); S. 1017. Siehe auch bereits publizierte Kongress-Abstracts zur selben Forschungsarbeit mit teils identischem Wortlaut: DOI: 10.1007/s40629-014-0005-5; DOI: 10.1055/s-0034-1367780; DOI: 10.1055/s-0033-1363100; [https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl\\_58/P860](https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/P860) (letzter Zugriff: 26.09.2022, 10:10 Uhr), *European Respiratory Journal* Sep 2014, 44 (Suppl 58) P860)

25-hydroxvitamin D3 promotes the long-term effect of specific immunotherapy in a murine allergy model

*J Immunol*, 2014 Aug 1;193(3):1017-23

<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301656>

### 3.4. Die Rolle von CFTR und Sphingolipiden in der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion

Nachfolgender Titel und Text entsprechen Titel und Abstract der Arbeit „*CFTR and sphingolipids mediate hypoxic pulmonary vasoconstriction*“ (*Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015 Mar 31;112(13):E1614-23, DOI: 10.1073/pnas.1421190112) (160) der Autoren Christoph Tabeling\*, Hanpo Yu\*, Liming Wang, Hannes Ranke, Neil M Goldenberg, Diana Zabini, Elena Noe, Adrienn Krauszman, Birgitt Gutbier, Jun Yin, Michael Schaefer, Christoph Arenz, Andreas C Hocke, Norbert Suttorp, Richard L Proia, Martin Witzernath und Wolfgang M Kuebler (\*contributed equally):

#### **„CFTR und Sphingolipide regulieren die hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion“**

„Die hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion (HPV) optimiert [einerseits] die pulmonale Feinabstimmung zwischen Ventilation und Perfusion (Ventilations/Perfusions-Matching) im Falle regionaler Hypoxie, fördert jedoch [andererseits] pulmonale Hypertonie im Falle globaler Hypoxie. Ventilations/Perfusions-Mismatch ist eine Hauptursache für Hypoxämie bei Zystischer Fibrose. Wir stellten die Hypothese auf, dass Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) eine entscheidende Rolle in der HPV spielen könnte, möglicherweise via Modulation der Signalkaskaden (response) der Sphingolipide, die Mediatoren der HPV darstellen. HPV und Ventilations/Perfusions-Mismatch wurden in isolierten Mauslungen oder in vivo analysiert.  $Ca^{2+}$  Mobilisierung und Transient Receptor Potential Canonical 6 (TRPC6) Translokation wurden in humanen pulmonalarteriellen (PASCs) oder koronararteriellen (CASCs) glatten Muskelzellen untersucht. CFTR-Inhibition oder -Defizienz reduzierte die HPV und aggravierte Ventilations/Perfusions-Mismatch. In PASCs führte Hypoxie zur Interaktion zwischen CFTR und TRPC6, wohingegen CFTR-Inhibition die Hypoxie-induzierte TRPC6-Translokation in die Caveolae und die  $Ca^{2+}$  Mobilisierung abschwächte. Die Sphingosin-1-Phosphat (S1P)-evozierte  $Ca^{2+}$  Mobilisierung wurde in PASCs ebenfalls infolge von CFTR-Inhibition reduziert, wohingegen sie in CASCs verstärkt wurde. Die Inhibition der neutralen Sphingomyelinase (nSMase) blockierte die HPV; exogene nSMase hingegen induzierte TRPC6-Translokation und Vasokonstriktion, die [jeweils] mittels CFTR-Inhibition gehemmt wurden. nSMase- und Hypoxie-induzierte Vasokonstriktion, jedoch nicht TRPC6-Translokation, wurden durch Inhibition oder Defizienz der Sphingosinkinase 1 (SphK1) oder durch Antagonismus der S1P-Rezeptoren 2 und 4 (S1P<sub>2/4</sub>) gehemmt. S1P und nSMase hatten synergistische Effekte auf die pulmonale Vasokonstriktion, die von TRPC6, Phospholipase C und Rho-Kinase abhing. Unsere Resultate weisen für CFTR und Sphingolipide eine zentrale Rolle in der HPV nach. Infolge von Hypoxie induziert nSMase TRPC6-Translokation, die eine Interaktion [von TRPC6] mit CFTR erfordert. Die begleitende SphK1-abhängige Bildung von S1P und die Aktivierung von S1P<sub>2/4</sub> resultieren in Phospholipase C-vermittelter Aktivierung von TRPC6 und in Aktivierung der Rho-Kinase, die gemeinsam Vasokonstriktion auslösen.“ (Übersetzung durch den Autor; (160); S. E1614. Siehe auch bereits publizierte Kongress-Abstracts zur selben Forschungsarbeit mit teils identischem Wortlaut: [https://www.researchgate.net/publication/326400437\\_CFTR\\_und\\_Sphingolipide\\_regulieren\\_die\\_hypoxisch\\_pulmonale\\_Vasokonstriktion](https://www.researchgate.net/publication/326400437_CFTR_und_Sphingolipide_regulieren_die_hypoxisch_pulmonale_Vasokonstriktion) (letzter Zugriff: 04.06.2022, 15:12 Uhr); DOI: 10.1055/s-0036-1571988; DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4905)



CFTR and sphingolipids mediate hypoxic pulmonary vasoconstriction

*Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015 Mar 31;112(13):E1614-23

<https://doi.org/10.1073/pnas.1421190112>

### 3.5. Die Rolle von p22phox in der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion

Nachfolgender Titel und Text entsprechen Titel und Abstract der Arbeit „*Hypoxic vascular response and ventilation/perfusion matching in end-stage COPD may depend on p22phox*“ (Eur Respir J, 2017 Jul 20;50(1):1601651, DOI: 10.1183/13993003.01651-2016) (161) der Autoren Chandran Nagaraj, Christoph Tabeling, Bence M Nagy, Pritesh P Jain, Leigh M Marsh, Rita Papp, Michael Pienn, Martin Witzentrath, Bahil Ghanim, Walter Klepetko, E Kenneth Weir, Stefan Heschl, Grazyna Kwapiszewska, Andrea Olschewski und Horst Olschewski:

**„Die vaskuläre Druckantwort auf Hypoxie und Ventilations/Perfusions-Matching könnten bei COPD [-Patienten] im Endstadium von p22phox abhängen“**

„Die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) ist eine heterogene Erkrankung, bei der Emphyseausprägung und Erkrankungsgrad der Atemwege sehr stark zwischen den einzelnen Individuen variieren können, selbst im Endstadium der Erkrankung. Die Emphysementstehung könnte mit einer Beteiligung der kleinen Lungengefäße in Zusammenhang stehen. Die NADPH-Oxidase (Nox)-Familie wird zunehmend als zentraler pathogenetischer Faktor in Gefäßkrankungen wahrgenommen; ihre Rolle im Hypoxie-induzierten pulmonalen Remodeling im Rahmen der COPD ist gegenwärtig jedoch unklar. Hier untersuchen wir die Rolle von p22phox, einer regulatorischen Nox-Untereinheit, im Lungen [-gewebe] von COPD [-Patienten], in der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion (HPV), im Hypoxie-induzierten pulmonalvaskulären Remodeling und in der pulmonalen Hypertonie. Im Lungen [-gewebe] der COPD [-Patienten] zeigte sich die p22phox-Expression im Vergleich zu Kontrolllungen signifikant reduziert. Die Expression korrelierte positiv mit dem pulmonalarteriellen Mitteldruck und dem Oxygenierungsindex und negativ mit der Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenstoffmonoxid ( $p < 0,02$ ). Dies deutet auf eine Beteiligung von p22phox in Ventilations/Perfusions-Matching, Gefäßremodeling und pulmonalem Perfusionsverlust hin. In p22phox<sup>-/-</sup> Mäusen zeigte sich die HPV signifikant vermindert. Bei chronischer Hypoxie war die p22phox-Defizienz mit verbesserter rechtsventrikulärer Funktion und reduziertem pulmonalvaskulärem Remodeling assoziiert. Über die Modulation der Phase II der HPV und des chronischen Gefäßremodeling spielt p22phox-abhängige Nox eine wichtige Rolle in [der Entstehung des] COPD-Phänotyps.“

(Übersetzung durch den Autor; (161); S. 1. Siehe auch bereits publizierte Kongress-Abstracts zur selben Forschungsarbeit mit teils identischem Wortlaut: DOI: 10.1007/s00508-013-0434-z; [https://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm-conference.2014.189.1\\_MeetingAbstracts.A3984](https://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm-conference.2014.189.1_MeetingAbstracts.A3984) (letzter Zugriff: 04.06.2022, 15:09 Uhr), Am J Respir Crit Care Med 189;2014:A3984)

Hypoxic vascular response and ventilation/perfusion matching in end-stage COPD may depend on p22phox

*Eur Respir J*, 2017 Jul 20;50(1):1601651

<https://doi.org/10.1183/13993003.01651-2016>

## 4. Diskussion

Anhand differenzierter präklinischer Modelle der akuten und chronischen allergischen Atemwegsinfammation konnten zugrundeliegende Mechanismen identifiziert und neue potentielle Therapiestrategien für das allergische Asthma bronchiale etabliert werden. Darüber hinaus wurden unter Einsatz transgener Mausmodelle zentrale Mediatoren der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion (HPV) detektiert, die unser Verständnis der Signaltransduktion der HPV deutlich erweitert haben.

### **Milztyrosinkinase**

Aus vorherigen Arbeiten war bereits bekannt, dass die Milztyrosinkinase (Syk) die Entstehung der allergischen Atemwegsinfammation und AHR fördert (102-105, 108). Konkordant hierzu führte pharmakologische Syk-Inhibition in unserer in *Allergy* publizierte Arbeit sowohl zur Reduktion der allergischen Atemwegsinfammation als auch zur Reduktion der AHR (38). Hierfür kam der neue, hochselektive Syk-Inhibitor BI 1002494 zum Einsatz (38, 162).

Darüber hinaus konnten wir im Einklang mit einer weiteren Arbeit (163) zeigen, dass Syk unabhängig von Atemwegsinfammation als Signaltransduktor für bronchokonstriktorische Stimuli fungiert (38). Syk ist sowohl im Menschen als auch in der Maus in den glatten Atemwegsmuskelzellen exprimiert und Syk-Inhibition hatte in der isoliert perfundierten und ventilierten Mauslunge eine Reduktion der Bronchokonstriktion auf diverse Stimuli inklusive Methacholin, S1P und Serotonin zur Folge (38). Auch im präkonstringierten Bronchialsystem hatte Syk-Inhibition NO-Synthase-unabhängig eine relevante Bronchodilatation zur Folge (38). Mithilfe defizienter Mausstämmen konnten wir eine Beteiligung von PKC $\alpha$ , Mastzellen und der endothelialen NO-Synthase in der Syk-vermittelten Bronchokonstriktion ausschließen (38). In der Zusammenschau deuten die Ergebnisse unserer funktionellen Analysen auf eine Beteiligung der Rho-Kinase sowie der p38-mitogenaktivierten Proteinkinasen (p38 MAPK) in der Syk-vermittelten glattmuskulären Signaltransduktion hin (38).

Neben der Reduktion der allergischen Atemwegsinfammation und AHR im murinen Modell der akuten allergischen Atemwegsinfammation infolge prophylaktischer Syk-Inhibition, führte auch die therapeutische Syk-Inhibition im Modell der chronischen Dreifach-Allergen-Exposition (Ovalbumin, Hausstaubmilbe und Kakerlaken-Extrakt) zur Reduktion der allergischen Atemwegsinfammation und pulmonalen Kollagen I-Deposition (38). Mittels *in vitro* Analysen in humanen glatten Atemwegsmuskelzellen konnte wir zudem antiproliferative Effekte der Syk-Inhibition nachweisen (38). Neben der Atemwegsinfammation und Atemwegsreagibilität scheint Syk somit auch eine wichtige Rolle im Asthma-assoziierten Remodeling der Atemwege zu spielen (38). Syk wird sowohl in der Therapie des Asthma bronchiale als auch in der Behandlung des *Asthma-COPD-Overlap* als potentielles Target diskutiert (38, 102, 103, 164).

### **NOD1**

Nucleotid-bindende Oligomerisierungsdomäne (NOD)-ähnliche Rezeptoren (*NOD-like receptors*, NLR) NOD1 und NOD2 gehören zur Gruppe der *Pattern-Recognition-Rezeptoren* (165). NOD1 und NOD2 spielen eine wichtige Rolle bei der intrazellulären Pathogenerkennung im Rahmen bakterieller Infekte

und sind somit für die Infektabwehr von zentraler Bedeutung (158, 166-170). Während NOD2 überwiegend in Immunzellen exprimiert ist, zeigt sich NOD1 ubiquitär exprimiert (165, 171). NOD1- und NOD2-Polymorphismen sind interessanterweise mit Asthma bronchiale und erhöhten IgE-Serumspiegeln assoziiert (158, 168, 172, 173). Eine Beteiligung der NLR in der Pathogenese des Asthma bronchiale erscheint somit möglich (158, 168, 169, 172, 173).

In unserer Arbeit untersuchten wir präklinisch die Effekte der pharmakologischen NOD1-Aktivierung sowie der NOD2-Aktivierung auf die allergische Atemwegsinfammation und AHR der Maus (158). Im Gegensatz zur systemischen Behandlung mit dem NOD2-Agonisten Muramyl-Dipeptid reduzierte die systemische Behandlung mit dem NOD1-Agonisten FK156 vor Ovalbumin-Sensibilisierung die AHR (158). Analog hierzu hatte die Applikation des NOD1-Agonisten FK156 vor der Ovalbumin-Atemwegsexposition nach bereits erfolgter systemischer Ovalbumin-Sensibilisierung eine Reduktion der eosinophilen Atemwegsinfammation sowie eine Reduktion der AHR zur Folge (158).

Direkte funktionelle Effekte des NOD1-Agonisten FK156 auf die Bronchokonstriktion konnten ausgeschlossen werden (158). Vielmehr konnte mechanistisch eine Reduktion der Allergenspezifischen T-Zell-Proliferation infolge der NOD1-Ligation sowohl *in vitro* als auch *in vivo* nachgewiesen werden (158).

In der Zusammenschau der in unserer Arbeit aufgezeigten protektiven Effekte der NOD1-Ligation könnte NOD1 ein mögliches Angriffsziel in der Behandlung des allergischen Asthma bronchiale darstellen (158). Weiterführende präklinische und klinische Untersuchungen sind erforderlich, um die gewünschten Therapieeffekte von NOD1-Agonisten näher zu untersuchen. Insbesondere vor dem Hintergrund der ubiquitären Expression von NOD1-Rezeptoren (165, 171) ist zudem eine sorgfältige Analyse möglicher unerwünschten Nebenwirkungen erforderlich.

Interessanterweise werden aktuell neben den NLR auch weitere *Pattern-Recognition-Rezeptoren* wie die Toll-like-Rezeptoren als mögliche Angriffsziele in der Therapie des Asthma bronchiale diskutiert (165).

### **25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>**

Unter dem Titel „*Prophylactic inoculation against hay fever*“ beschrieb Leonard Noon 1911 im medizinischen Fachjournal *The Lancet* erstmals subkutane Injektionen von Pollenextrakt (174, 175). Die Ergebnisse der ersten randomisierten Studie zur Injektionstherapie mit Gräserpollenextrakt erschienen im Jahr 1954 (174, 176). Heutzutage kommen zur Behandlung der allergischen Rhinitis und Rhinokonjunktivitis routinemäßig SCIT und SLIT zum Einsatz (152, 153). Zudem werden neue Applikationswege evaluiert, wie die intralymphatische Immuntherapie (ILIT) und die epikutane Immuntherapie (EPIT) (141, 153, 177, 178). Zur Optimierung von Wirksamkeit, Langzeiteffekten und/oder Nutzen-Risiko-Profil der SIT werden neue Adjuvantien erforscht, wobei auch mögliche protektive Effekte von Vitamin D-Metaboliten untersucht werden (141, 146, 148-151).

Vitamin D-Metabolite scheinen immunmodulatorische Effekte auf allergische Erkrankungen zu haben (179). Es konnte gezeigt werden, dass Calcitriol-vermittelte Vitamin D-Rezeptor-Aktivierung in humanen B-Zellen den Antikörperklassenwechsel zu IgE inhibiert (179, 180).

Calcitriol stellt die aktive Form des Vitamin D dar, wohingegen 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (25(OH)D) die Speicherform darstellt (159, 179). Bei 25(OH)D-Serumspiegeln <50 nmol/l (<20 ng/ml) sprechen die meisten Autoren von Vitamin D-Defizienz (181-183). 25(OH)D-Serumspiegel <75 nmol/l (<30 ng/ml) gelten als suboptimal (181). 25(OH)D-Serumspiegel ≥75 nmol/l (≥30 ng/ml) gelten als suffizient (181-183).

Die endogene Vitamin D-Photosynthese erfolgt in der Haut infolge von UV (Ultraviolett)-B-Strahlen-Exposition (184). Vitamin D-Defizienz ist insbesondere in den UV-armen Wintermonaten häufig zu beobachten (179, 181, 182, 184-187). Asthma bronchiale scheint mit Vitamin D-Defizienz assoziiert zu sein und für Asthma-Patienten konnte eine Dysregulation des Vitamin D-Stoffwechsel aufgezeigt werden (187-190).

In einem systematischen Review zeigte sich, dass Menschen mit suffizienten 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-Serumspiegeln eine geringere Prävalenz für allergische Rhinitis aufwiesen als Menschen mit defizienten 25(OH)D-Serumspiegeln (183). Für Kinder mit Asthma bronchiale wurden inverse Assoziationen ihrer 25(OH)D-Serumspiegel mit Serum-Gesamt-IgE, Anzahl eosinophiler Granulozyten im peripheren Blut, Glucocorticoid-Bedarf und Hospitalisierung aufgezeigt (191, 192).

In unserer im *Journal of Immunology* publizierten Arbeit untersuchten wir präklinisch die Effekte der inaktiven Calcitriol-Vorstufe 25(OH)D als Adjuvans in der Allergen-spezifischen Immuntherapie (159). Im neu etablierten Modell der langanhaltenden SIT reduzierte die additive Gabe von 25(OH)D in alimentär 25(OH)D-defizienten Mäusen die humorale Immunantwort sowie die AHR (159). Darüber hinaus reduzierte SIT mit additiver 25(OH)D-Gabe die pulmonale T<sub>H</sub>2-Entzündung im Gegensatz zur alleinigen SIT (159). In der Zusammenschau deuten die Daten auf eine verstärkte Toleranz-Entwicklung infolge der additiven Vitamin D-Gabe hin (159).

Ähnliche protektive Effekte zeigten sich sowohl in einer 2008 im *Journal of Immunology* als auch in einer 2020 in *Scientific Reports* publizierten präklinischen Arbeit, in denen Vitamin D<sub>3</sub> als Adjuvans die Effektivität der SIT hinsichtlich pulmonaler T<sub>H</sub>2-Entzündung und AHR verbesserte (148, 151).

Eine prospektive, Placebo-kontrollierte Pilot-Studie untersuchte den Effekt der Vitamin D-Einnahme als Ergänzung zur SCIT in erwachsenen Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis und niedrigen 25(OH)D-Serumspiegeln (193). Die protektiven Effekte der SCIT auf Intrakutan- und Hautpricktest zeigten sich in der Vitamin D-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe zu bestimmten Zeitpunkten signifikant verstärkt (193). Auf humoraler Ebene fand sich infolge der zusätzlichen Vitamin D-Einnahme eine deutlich erhöhte Allergen-spezifische Ratio aus IgG4 und IgE (193). Hinweise für Vitamin D-assozierte Toxizität fanden sich nicht (193).

Zwei weitere prospektive, randomisierte, kontrollierte Studien untersuchten in Kindern die Effekte der additiven Vitamin D-Gabe im Rahmen der SIT (149, 150). Zum einen zeigte die zusätzliche Vitamin D-Gabe im Rahmen einer SCIT bei Asthma-Patienten mit Sensibilisierung gegen Hausstaubmilben moderate protektive Effekte auf die Asthma-Symptome (149). Zum anderen hatte die zusätzliche Vitamin D-Gabe im Rahmen einer SLIT mit Gräserpollenextrakt bei Patienten mit allergischer Rhinitis mit und ohne Asthma bronchiale eine höhere Effektivität auf nasale Symptome und Asthma-Symptome zur Folge (150). Alle drei hier genannten klinischen Studien zur Untersuchung der Effekte

der Vitamin D-Gabe auf die SIT umfassten jeweils  $\leq 50$  randomisierte Patienten (149, 150, 193), sodass deren Aussagekraft limitiert ist.

Neben der Untersuchung möglicher Effekte der Vitamin D-Gabe auf die SIT wurden auch potentielle Effekte auf Asthma-Exazerbationen untersucht.

Eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Studie untersuchte in Kindern mit Asthma bronchiale und suboptimalen bzw. defizienten 25(OH)D-Serumspiegeln (14-29 ng/ml), ob Vitamin D<sub>3</sub>-Zufuhr das Intervall bis zu einer schweren Exazerbation verlängern kann (194). In dieser Studie zeigten sich keine protektiven Effekte der Vitamin D<sub>3</sub>-Einnahme (194). Eine wichtige Limitation dieser Arbeit ist jedoch, dass eine relevante Anzahl an Kindern mit ausgeprägter Vitamin D-Defizienz (25(OH)D-Serumspiegel  $< 14$  ng/ml), die möglicherweise am meisten von der Vitamin D<sub>3</sub>-Behandlung profitiert hätten, von der Studie ausgeschlossen wurden (194).

In einer 2017 publizierten Metaanalyse randomisierter Placebo-kontrollierter Studien zeigte sich, dass Vitamin D-Zufuhr mit einer reduzierten Rate an Asthma-Exazerbationen assoziiert war, die eine systemische Behandlung mit Glucocorticoiden erforderten (195). Diese Arbeit steht im Einklang mit vier weiteren Metaanalysen, die protektive Effekte der Vitamin D-Zufuhr aufzeigten (195-199). Jedoch steht die Arbeit auch im Widerspruch zu einer Metaanalyse, die keine protektiven Effekte nachweisen konnte (195, 200).

Weitere klinische Studien müssen folgen, um den möglichen Benefit von Vitamin D-Metaboliten in der SIT oder in der Behandlung des Asthma bronchiale zu evaluieren und ggf. Subgruppen, die von einer Vitamin D-Zufuhr profitieren, zu identifizieren.

### **SphK/S1P-System und CFTR**

Eine Beteiligung des SphK/S1P-Systems in der Pathogenese des Asthma bronchiale wird intensiv diskutiert (37, 111, 114, 201-204). Für Asthma-Patienten konnte gezeigt werden, dass die bronchoalveoläre Lavage (BAL) nach segmentaler Antigen-Challenge erhöhte S1P-Spiegel aufwies und dass die S1P-Spiegel mit der Anzahl eosinophiler Granulozyten in der BAL korrelierten (114). Präklinisch führte die Inhibition der SphK1 in Mäusen zur Reduktion der Allergen-induzierten Atemwegsinfektion und AHR (202).

Wir konnten zeigen, dass die genetische Deletion der SphK1 in der Maus eine Reduktion der eosinophilen Atemwegsinfektion und der AHR zur Folge hat (205). Interessanterweise vermitteln die S1P-Rezeptoren S1P<sub>2</sub> und S1P<sub>4</sub> gegensätzliche Effekte. Während S1P<sub>2</sub>-Inhibition oder -Defizienz AHR und/oder allergische Atemwegsinfektion reduziert (206, 207), hat S1P<sub>4</sub>-Defizienz, wie wir zeigen konnten, aggravierende Effekte auf Allergen-assoziierte pulmonale Infektion und AHR zur Folge (208).

Während die SphK aufgrund ihrer ubiquitären Expression (209) als therapeutische Zielstruktur weniger geeignet zu sein scheint, wird die selektive S1P<sub>2</sub>-Inhibition gegenwärtig als mögliche Therapieoption des Asthma bronchiale diskutiert (206, 207).

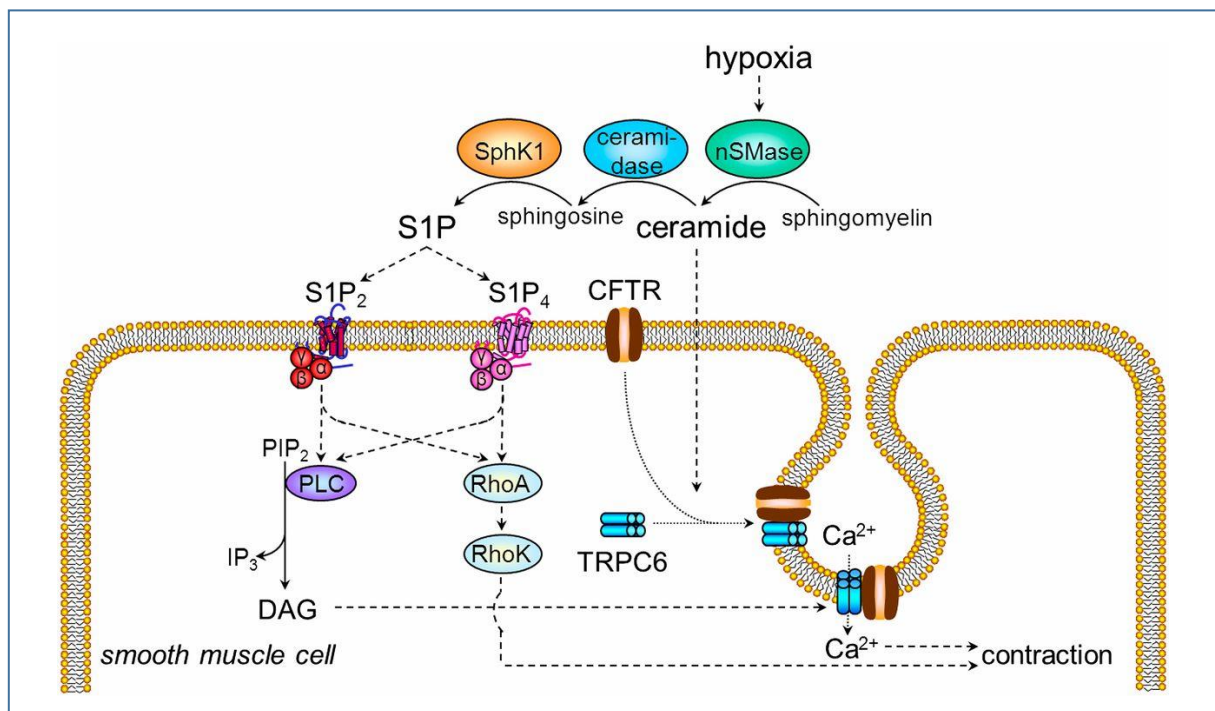
Unsere Untersuchungen zu den Effekten der SphK1-Defizienz wiesen erstmals auch eine funktionelle Beteiligung des SphK/S1P-Systems in T<sub>H</sub>2-induzierter pulmonalvaskulärer Hyperreagibilität nach (205).

Im Folgenden untersuchten wir die Hypothese, dass das SphK/S1P-System auch an der Signaltransduktion der HPV beteiligt ist.

Bei Asthma bronchiale scheint Ventilations/Perfusions-Mismatch die Folge von Atemwegsobstruktion und regionaler Hypoventilation zu sein (1, 120-122). Die Hypoxie-induzierte Vasokonstriktion der Lunge spielt eine entscheidende Rolle im *Matching* von Ventilation und Perfusion (1, 121, 123). Die zugrundeliegenden Mechanismen der HPV sind bis *dato* jedoch nur unzureichend verstanden.

Das Signal der alveolären Hypoxie wird im Endothel retrograd via Connexin 40-Kanäle (*gap junctions*) weitergeleitet, ehe es in flussaufwärts gelegenen Arteriolen an die glatten Muskelzellen übertragen wird und in der Endstrecke der Signalkaskade Vasokonstriktion induziert (124, 125). Ziel unserer präklinischen Analysen war es, Signaltransduktoren der HPV zu identifizieren.

In unserer 2015 in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* publizierte Arbeit konnten wir erstmals für *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR) und Sphingosin-1-Phosphat (S1P) eine zentrale Rolle in der HPV nachweisen und zugleich die Relevanz der Interaktion zwischen CFTR und dem Kationenkanal *Transient Receptor Potential Canonical 6* (TRPC6) für die HPV aufzeigen (160). Gemäß des von uns etablierten Konzepts der glattmuskulären Signaltransduktion der HPV (s. Abb. 1) erfolgt nach S1P<sub>2/4</sub>-Rezeptor-Aktivierung die intrazelluläre Signalweitergabe via Phospholipase C und Rho-Kinase mit konsekutivem TRPC6-vermitteltem Ca<sup>2+</sup>-Einstrom und Ca<sup>2+</sup>-Sensitivierung (160).



**Abbildung 1.** „Konzeptvorschlag für die Rolle von CFTR und Sphingolipiden in der HPV. Hypoxie aktiviert die neutrale Sphingomyelinase mit konsekutiver Bildung von Ceramiden; diese induzieren CFTR-abhängig die Rekrutierung von TRPC6 in die Caveolae-Membranen, einhergehend mit der Bildung eines CFTR/TRPC6-Protein-Komplexes. Die gleichzeitige Umwandlung von Ceramiden in S1P via Ceramidase und SphK1 führt zur Aktivierung der [Sphingosin-1-Phosphat-] Rezeptoren S1P<sub>2</sub> und S1P<sub>4</sub>, wodurch einerseits TRPC6-vermittelter Ca<sup>2+</sup>-Einstrom via Phospholipase C (PLC)-abhängiger Diacylglycerol (DAG)-Synthese und andererseits Rho-Kinase-vermittelte Ca<sup>2+</sup>-Sensitivierung induziert wird, was letztlich zur Kontraktion pulmonalarterieller glatter Muskelzellen führt.“ (Übersetzung durch den Autor; (160), S. E1621). Abkürzungen: CFTR, *Cystic Fibrosis Transmembrane*



*Conductance Regulator*; DAG, Diacylglycerol; IP<sub>3</sub>, Inositol-1,4,5-trisphosphat; nSMase, neutrale Sphingomyelinase; PIP<sub>2</sub>, Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat; PLC, Phospholipase C; RhoK, Rho-Kinase; S1P, Sphingosin-1-Phosphat; S1P<sub>2/4</sub>, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptoren 2 und 4; SphK1, Sphingosinkinase 1; TRPC6, *Transient Receptor Potential Canonical 6*. Die Abbildung entstammt der Originalpublikation von Tabeing & Yu et al. (160) im Einklang mit den Lizenzvorgaben des Journals.

Das in unserer Arbeit neu etablierte Konzept der S1P<sub>2</sub>- und S1P<sub>4</sub>-vermittelten HPV (160) sollte bei der aktuellen Diskussion über die S1P<sub>2</sub>-Inhibition als mögliches neues Therapiekonzept für Asthma bronchiale (206, 207) kritisch mitberücksichtigt werden, da das *Matching* von Ventilation und Perfusion infolge der S1P<sub>2</sub>-Inhibition unerwünschter Weise reduziert werden könnte.

Die neu gewonnenen Erkenntnisse unserer Arbeit sind über das Asthma bronchiale hinaus auch für andere pneumologische Erkrankungen von Bedeutung. Die nachgewiesene funktionelle Rolle von CFTR im *Matching* von Ventilation und Perfusion bildete die Grundlage für einen bis dahin unbeschriebenen Mechanismus der Hypoxämie bei Patienten mit zystischer Fibrose (160). Des Weiteren wiesen die protektiven Effekte der CFTR-Defizienz im präklinischen Modell der Hypoxie-assoziierten pulmonalen Hypertonie auf eine wichtige Rolle von CFTR in der Pathogenese der Hypoxie-assoziierten pulmonalen Hypertonie hin (160). Der Stellenwert von CFTR für die pulmonale Vasokonstriktion und die pulmonale Hypertonie wird aktuell rege diskutiert (210-213). Im *European Respiratory Journal* diskutierten wir jüngst die Hypothese der dualen Funktion von CFTR in der Regulation des Gefäßtonus (212). Unserer Hypothese zufolge besitzt CFTR in glatten Muskelzellen die Fähigkeit, sowohl Relaxation als auch Kontraktion zu induzieren, je nach Funktion und transportiertem Anion (212).

### **NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox**

Die NADPH-Oxidase (Nox) ist in Atemwegsepithelzellen, pulmonalvaskulären Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen sowie in zahlreichen Immunzellen wie Lymphozyten, dendritische Zellen und eosinophile Granulozyten exprimiert (214, 215). Die NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox spielt insbesondere in den Nox-Homologen Nox1-Nox4 eine entscheidende Rolle in der Nox-Aktivierung und der Nox-vermittelten Superoxidproduktion (161, 214, 216-218).

NADPH-Oxidase-vermittelte ROS-Produktion wird als relevanter Baustein in der Pathogenese des Asthma bronchiale diskutiert (214, 219). Eine 2017 von Nagaraj und Kollegen veröffentlichte Arbeit deutet insbesondere auf die Wichtigkeit der NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox für die Pathogenese von Asthma bronchiale hin (219). Bronchial-Biopsate von Asthma-Patienten wiesen in dieser Arbeit im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine erhöhte Expression der NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox auf (219). Im Einklang hierzu führte auch die Induktion der allergischen Atemwegsinfektion in der Maus zu einer erhöhten pulmonalen p22phox-Expression (219). Die Defizienz der NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox führte im Modell der Allergen-induzierten Atemwegsinfektion sowohl zu einer Reduktion der Becherzell-Hyperplasie als auch zu einer abgeschwächten AHR (219). p22phox wird folglich als potentieller therapeutischer Angriffspunkt bei Asthma bronchiale angesehen (219).

In unserer 2017 im *European Respiratory Journal* publizierten Arbeit konnten wir für die NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox eine funktionelle Rolle in der HPV nachweisen (161). Isoliert

perfundierte und ventilierte Lungen homozygot p22phox-defizienter Mäuse zeigten im Rahmen der zweiten Phase der HPV eine reduzierte pulmonalvaskuläre Druckantwort (161). Mechanistisch konnte gezeigt werden, dass die Hypoxie-induzierte Aktivierung der Rho-Kinase, die insbesondere für die zweite Phase der HPV von Bedeutung ist (220-222), in den Lungen der p22phox-defizienten Mäuse ausblieb (161).

Neben der wichtigen Funktion des *Matching* von Ventilation und Perfusion könnte p22phox auch eine Rolle in der Entstehung der Hypoxie-induzierten pulmonalen Hypertonie spielen, da in derselben Arbeit mittels *in vivo* Experimenten gezeigt wurde, dass p22phox-Defizienz in Mäusen Hypoxie-induzierte pulmonale Hypertonie und pulmonalarteriell Remodeling reduziert (161). Konkordant hierzu korrelierte die p22phox-Expression im Lungengewebe von COPD-Patienten mit dem mittleren pulmonalarteriellen Druck (161). Interessanterweise scheinen die funktionellen Effekte von p22phox auf das Gefäßsystem spezifisch für die pulmonale Zirkulation zu sein, da p22phox-defiziente Mäuse einen unveränderten systemischen Blutdruck aufweisen (223).

Die hier aufgezeigte Eigenschaft von p22phox, den Gefäßtonus exklusiv in der Lunge zu regulieren, führt zu einer hohen Attraktivität von p22phox als mögliches therapeutisches *Target* in der pulmonalen Hypertonie (161), da die bis *dato* in der Klinik etablierten Vasodilatoren des kleinen Kreislaufs auch in der systemischen Zirkulation Vasodilatation induzieren.

In Hinblick auf die Diskussion eines möglichen therapeutischen Benefit der p22phox-Inhibition bei Asthma bronchiale (219) sind die aufgezeigten protektiven Effekte auf Becherzell-Hyperplasie und AHR sorgfältig gegen eine mögliche Verminderung des *Matching* von Ventilation und Perfusion infolge einer reduzierten HPV abzuwägen.

Ein weiterer an der HPV beteiligter und auch von uns präklinisch untersuchter intrazellulärer Signaltransduktor stellt der Ryanodin-Rezeptor 2 dar (224). In der Zusammenschau der bislang identifizierten Signaltransduktoren der HPV zeigt sich ein komplexes Zusammenspiel (1, 126). Einige Mechanismen werden kontrovers diskutiert, wie beispielsweise die ROS-vermittelte HPV (1, 126). Weiterführende präklinische Untersuchungen müssen folgen, um die Interaktionen der einzelnen an der HPV involvierten Mediatoren näher zu charakterisieren.

## 5. Zusammenfassung

Im Rahmen der hier aufgeführten präklinischen Arbeiten wurden zentrale Pathomechanismen des allergischen *Type-2-High* Asthma bronchiale erforscht. Mithilfe neu etablierter Modelle und unter Einsatz innovativer Methoden und Technologien erfolgte zudem die experimentelle Untersuchung möglicher neuer Therapiestrategien für das Asthma bronchiale. Diese umfassen die pharmakologische Inhibition der Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase Milztyrosinkinase (Syk) sowie die Aktivierung des *Pattern-Recognition*-Rezeptors NOD1.

Syk-Inhibition in der Maus blockierte für das allergische Asthma bronchiale typische pathologische Charakteristika inklusive pulmonaler  $T_H2$ -Inflammation, Atemwegshyperreagibilität, pulmonaler Kollagen-Deposition und glattmuskulärer Proliferation. Zusätzlich charakterisierten wir Syk als zentralen Signaltransduktor diverser klinisch relevanter bronchokonstriktorischer Stimuli unabhängig von Inflammation. Syk-Inhibition hatte zudem in präkonstringierten Atemwegen eine rasche Bronchodilatation zur Folge. Syk stellt somit sowohl für die Akuttherapie als auch für die Dauertherapie des Asthma bronchiale eine vielversprechende Zielstruktur dar.

NOD1-Aktivierung reduzierte im murinen Modell der allergischen Atemwegsinfammation die Anzahl der eosinophilen Granulozyten in der bronchoalveolären Lavage sowie die Atemwegshyperreagibilität. Mechanistisch zeigte sich eine Reduktion der Allergen-spezifischen T-Zell-Proliferation infolge der NOD1-Ligation. Folglich eignet sich neben weiteren *Pattern-Recognition*-Rezeptoren, die aktuell als mögliche Angriffspunkte in der Behandlung des Asthma bronchiale diskutiert werden, auch der NOD1-Rezeptor zur weiteren präklinischen Evaluation.

Des Weiteren untersuchten wir 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (25(OH)D) als mögliches Adjuvans in der Allergen-spezifischen Immuntherapie (SIT). Unsere experimentellen Daten deuten auf eine verstärkte Toleranz-Entwicklung infolge der additiven 25(OH)D-Gabe in 25(OH)D-defizienten Mäuse hin. Diese Resultate stehen im Einklang mit weiteren präklinischen Arbeiten. Es gibt darüber hinaus mehrere klinische Studien, die auf protektive Effekte der Vitamin D-Einnahme bei Asthma-Patienten hinweisen, sowohl im Kontext der SIT als auch SIT-unabhängig. Jedoch finden sich auch Studien, die keine protektiven Effekte der Vitamin D-Einnahme bei Asthma-Patienten nachweisen konnten. Ein eindeutiger, zufriedenstellender Nachweis, der die Empfehlung einer Vitamin D-Gabe bei Patienten mit Asthma bronchiale rechtfertigen könnte, blieb in der Zusammenschau aller Studien bis *dato* aus. Hier sind weitere klinische Studien gefordert.

Grundlegende Arbeiten zur Signaltransduktion der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion (HPV) erweiterten unser Verständnis dieses wichtigen physiologischen Mechanismus, der im Rahmen des Ventilations/Perfusions-Mismatch bei Asthma bronchiale eine Rolle spielt. Die HPV ist auch bei anderen Krankheitsbildern von Relevanz. Die von uns aufgezeigte Rolle von CFTR im Matching von Ventilation und Perfusion lieferte eine neue Erklärung für die Genese der Hypoxämie bei Patienten mit zystischer Fibrose. Da anhaltende HPV bei fortwährender Hypoxie zur Genese der pulmonalen Hypertonie beitragen kann, bilden die von uns etablierten Konzepte zudem die Basis für mögliche innovative therapeutische Angriffspunkte für die Behandlung von Patienten mit pulmonaler Hypertonie, wie beispielsweise die NADPH-Oxidase-Untereinheit p22phox.

## 6. Literaturangaben

1. Sylvester JT, Shimoda LA, Aaronson PI, Ward JP. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Physiol Rev.* 2012;92(1):367-520.
2. Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, Thakrar A, Parlow LRG, Mewburn JD, et al. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine. *Chest.* 2017;151(1):181-92.
3. Thews O, Kunzelmann K. Ventilation und Atemmechanik. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 327-43.
4. Richter DW. Atmungsregulation. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 382-91.
5. Bustamante-Marin XM, Ostrowski LE. Cilia and Mucociliary Clearance. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(4):a028241.
6. Sly PD, Collins RA. Chapter 7 - Applied Clinical Respiratory Physiology. In: Taussig LM, Landau LI, editors. *Pediatric Respiratory Medicine (Second Edition).* Philadelphia: Mosby; 2008. p. 73-88.
7. Sperandio M, Schubert R, Brandes R. Spezielle Kreislaufabschnitte. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 273-81.
8. Fehrenbach H. Alveolar epithelial type II cell: defender of the alveolus revisited. *Respir Res.* 2001;2(1):33-46.
9. Thews O. Pulmonaler Gasaustausch und Arterialisierung. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 344-53.
10. Daut J. Herzmechanik. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 165-86.
11. Pohl U, de Wit C. Der Sauerstoff im Gewebe. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 365-75.
12. Jelkmann W. Atemgastransport. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 354-64.
13. Katschinski DM. Chemorezeption. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen.* Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg; 2019. p. 376-81.
14. Davis JD, Wypych TP. Cellular and functional heterogeneity of the airway epithelium. *Mucosal Immunol.* 2021;14(5):978-90.
15. Wanner A, Salathé M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(6 Pt 1):1868-902.
16. Fanta CH. Clinical aspects of mucus and mucous plugging in asthma. *J Asthma.* 1985;22(6):295-301.
17. Whitsett JA. Airway Epithelial Differentiation and Mucociliary Clearance. *Ann Am Thorac Soc.* 2018;15(Suppl 3):S143-S8.
18. Gohy ST, Hupin C, Pilette C, Ladjemi MZ. Chronic inflammatory airway diseases: the central role of the epithelium revisited. *Clin Exp Allergy.* 2016;46(4):529-42.
19. Munkholm M, Mortensen J. Mucociliary clearance: pathophysiological aspects. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2014;34(3):171-7.
20. Gras D, Chanez P, Vachier I, Petit A, Bourdin A. Bronchial epithelium as a target for innovative treatments in asthma. *Pharmacol Ther.* 2013;140(3):290-305.
21. Rock JR, Randell SH, Hogan BL. Airway basal stem cells: a perspective on their roles in epithelial homeostasis and remodeling. *Dis Model Mech.* 2010;3(9-10):545-56.
22. Crystal RG. Airway basal cells. The "smoking gun" of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190(12):1355-62.
23. Barnes PJ. Club cells, their secretory protein, and COPD. *Chest.* 2015;147(6):1447-8.
24. Hiemstra PS, Bourdin A. Club cells, CC10 and self-control at the epithelial surface. *Eur Respir J.* 2014;44(4):831-2.
25. Wang H, Liu Y, Liu Z. Clara cell 10-kD protein in inflammatory upper airway diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013;13(1):25-30.
26. Watson A, Madsen J, Clark HW. SP-A and SP-D: Dual Functioning Immune Molecules With Antiviral and Immunomodulatory Properties. *Front Immunol.* 2021;11:622598.
27. Bhattacharya J, Westphalen K. Macrophage-epithelial interactions in pulmonary alveoli. *Semin Immunopathol.* 2016;38(4):461-9.
28. Reuter S, Stassen M, Taube C. Mast cells in allergic asthma and beyond. *Yonsei Med J.* 2010;51(6):797-807.
29. Galli SJ, Maurer M, Lantz CS. Mast cells as sentinels of innate immunity. *Curr Opin Immunol.* 1999;11(1):53-9.

30. Hartl D, Tirouvanziam R, Laval J, Greene CM, Habel D, Sharma L, et al. Innate Immunity of the Lung: From Basic Mechanisms to Translational Medicine. *J Innate Immun.* 2018;10(5-6):487-501.
31. Tschernig T, Pabst R. What is the clinical relevance of different lung compartments? *BMC Pulm Med.* 2009;9:39.
32. Pabst R, Tschernig T. Lymphocytes in the lung: an often neglected cell. Numbers, characterization and compartmentalization. *Anat Embryol (Berl).* 1995;192(4):293-9.
33. Gunst SJ. Chapter 104 - Airway Smooth Muscle and Asthma. In: Hill JA, Olson EN, editors. *Muscle: Academic Press*; 2012. p. 1359-69.
34. Macklin CC. The musculature of the bronchi and lungs. *Physiological Reviews.* 1929;9(1):1-60.
35. Kistemaker LEM, Prakash YS. Airway Innervation and Plasticity in Asthma. *Physiology (Bethesda).* 2019;34(4):283-98.
36. Coates AL, Wanger J, Cockcroft DW, Culver BH, Bronchoprovocation Testing Task Force: Carlsen K-H, Diamant Z, et al. ERS technical standard on bronchial challenge testing: general considerations and performance of methacholine challenge tests. *Eur Respir J.* 2017;49(5):1601526.
37. Rosenfeldt HM, Amrani Y, Watterson KR, Murthy KS, Panettieri RA, Jr., Spiegel S. Sphingosine-1-phosphate stimulates contraction of human airway smooth muscle cells. *FASEB J.* 2003;17(13):1789-99.
38. Tabeling C, Herbert J, Hocke AC, Lamb DJ, Wollin SL, Erb KJ, et al. Spleen tyrosine kinase inhibition blocks airway constriction and protects from Th2-induced airway inflammation and remodeling. *Allergy.* 2017;72(7):1061-72.
39. Brusselle G, Kips J, Joos G, Bluethmann H, Pauwels R. Allergen-induced airway inflammation and bronchial responsiveness in wild-type and interleukin-4-deficient mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995;12(3):254-9.
40. McCravy M, Ingram JL, Que LG. Dysregulated Metabolism in the Pathophysiology of Non-Allergic Obese Asthma. *J Asthma Allergy.* 2021;14:179-86.
41. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J.* 2014;43(2):343-73.
42. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2021 [Available from: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2021/05/GINA-Main-Report-2021-V2-WMS.pdf>; letzter Zugriff: 05.06.2022, 15:12 Uhr].
43. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet.* 2020;396(10258):1204-22.
44. Accordini S, Corsico AG, Braggion M, Gerbase MW, Gislason D, Gulsvik A, et al. The cost of persistent asthma in Europe: an international population-based study in adults. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;160(1):93-101.
45. Del Giacco SR, Bakirtas A, Bel E, Custovic A, Diamant Z, Hamelmann E, et al. Allergy in severe asthma. *Allergy.* 2017;72(2):207-20.
46. Simpson BM, Custovic A, Simpson A, Hallam CL, Walsh D, Marolia H, et al. NAC Manchester Asthma and Allergy Study (NACMAAS): risk factors for asthma and allergic disorders in adults. *Clin Exp Allergy.* 2001;31(3):391-9.
47. Addo-Yobo EO, Custovic A, Taggart SC, Craven M, Bonnie B, Woodcock A. Risk factors for asthma in urban Ghana. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108(3):363-8.
48. Al-Mousawi MS, Lovel H, Behbehani N, Arifhodzic N, Woodcock A, Custovic A. Asthma and sensitization in a community with low indoor allergen levels and low pet-keeping frequency. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(6):1389-94.
49. Busse WW, Kraft M, Rabe KF, Deniz Y, Rowe PJ, Ruddy M, et al. Understanding the key issues in the treatment of uncontrolled persistent asthma with type 2 inflammation. *Eur Respir J.* 2021;58(2):2003393.
50. Papi A, Brightling C, Pedersen SE, Reddel HK. Asthma. *Lancet.* 2018;391(10122):783-800.
51. Heaney LG, Perez de Llano L, Al-Ahmad M, Backer V, Busby J, Canonica GW, et al. Eosinophilic and Noneosinophilic Asthma: An Expert Consensus Framework to Characterize Phenotypes in a Global Real-Life Severe Asthma Cohort. *Chest.* 2021;160(3):814-30.
52. Taube C. Bronchial asthma: is personalized therapy on the horizon? *Allergo J Int.* 2014;23(7):246-51.
53. Lommatzsch M, Klein M, Stoll P, Virchow JC. Type 2 biomarker expression (FeNO and blood eosinophils) is higher in severe adult-onset than in severe early-onset asthma. *Allergy.* 2021;76(10):3199-202.
54. Brown HM. Treatment of chronic asthma with prednisolone; significance of eosinophils in the sputum. *Lancet.* 1958;2(7059):1245-7.
55. Pavlidis S, Takahashi K, Ng Kee Kwong F, Xie J, Hoda U, Sun K, et al. "T2-high" in severe asthma related to blood eosinophil, exhaled nitric oxide and serum periostin. *Eur Respir J.* 2019;53(1):1800938.

56. Carr TF, Zeki AA, Kraft M. Eosinophilic and Noneosinophilic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;197(1):22-37.
57. Buhl R, Bals R, Baur X, Berdel D, Criée CP, Gappa M, et al. Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V. und Deutsche Atemwegsliga e.V., unter Beteiligung der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie e.V. und der Österreichischen Gesellschaft für Pneumologie. S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit Asthma. *Pneumologie.* 2017;71(12):849-919.
58. Haasler I, Taube C. Biologika in der Behandlung des Asthma bronchiale. *Pneumologie.* 2017;71(10):684-98.
59. Pérez de Llano L, Dacal Rivas D, Blanco Cid N, Martín Robles I. Phenotype-Guided Asthma Therapy: An Alternative Approach to Guidelines. *J Asthma Allergy.* 2021;14:207-17.
60. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). Nationale VersorgungsLeitlinie Asthma – Langfassung, 4. Auflage. 2020.
61. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med.* 2012;18(5):716-25.
62. Porsbjerg C, Menzies-Gow A. Co-morbidities in severe asthma: Clinical impact and management. *Respirology.* 2017;22(4):651-61.
63. Pérez de Llano L, Martínez-Moragón E, Plaza Moral V, Trisan Alonso A, Sánchez CA, Callejas FJ, et al. Unmet therapeutic goals and potential treatable traits in a population of patients with severe uncontrolled asthma in Spain. ENEAS study. *Respir Med.* 2019;151:49-54.
64. Holguin F, Cardet JC, Chung KF, Diver S, Ferreira DS, Fitzpatrick A, et al. Management of severe asthma: a European Respiratory Society/American Thoracic Society guideline. *Eur Respir J.* 2020;55(1):1900588.
65. Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma--present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(1):57-65.
66. Gauthier M, Ray A, Wenzel SE. Evolving Concepts of Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192(6):660-8.
67. Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, Jia G, Abbas AR, Ellwanger A, et al. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180(5):388-95.
68. Buhl R, Bals R, Baur X, Berdel D, Criée CP, Gappa M, et al. Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V. und Deutsche Atemwegsliga e.V., unter Beteiligung der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie e.V. und der Österreichischen Gesellschaft für Pneumologie. S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit Asthma - Addendum 2020. *Pneumologie.* 2021;75(3):191-200.
69. Lee LA, Bailes Z, Barnes N, Boulet LP, Edwards D, Fowler A, et al. Efficacy and safety of once-daily single-inhaler triple therapy (FF/UMEC/VI) versus FF/VI in patients with inadequately controlled asthma (CAPTAIN): a double-blind, randomised, phase 3A trial. *Lancet Respir Med.* 2021;9(1):69-84.
70. Lazarus SC, Krishnan JA, King TS, Lang JE, Blake KV, Covar R, et al. Mometasone or Tiotropium in Mild Asthma with a Low Sputum Eosinophil Level. *N Engl J Med.* 2019;380(21):2009-19.
71. Lambrecht BN, Hammad H, Fahy JV. The Cytokines of Asthma. *Immunity.* 2019;50(4):975-91.
72. Hammad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma. *Cell.* 2021;184(6):1469-85.
73. Fallon PG, Schwartz C. The high and lows of type 2 asthma and mouse models. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(2):496-8.
74. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(5):832-6.
75. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy.* 2001;56(9):813-24.
76. Epstein MM, Stingl G, Brügggen MC. Antigen- bzw. Allergenpräsentation. In: Biedermann T, Heppt W, Renz H, Röcken M, editors. *Allergologie: Springer, Berlin, Heidelberg; 2016.* p. 49-67.
77. Lambrecht BN, De Veerman M, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, Thielemans K, Pauwels RA. Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest.* 2000;106(4):551-9.
78. Röcken M, Ghoreishi K. Adaptive Immunität durch T-Lymphozyten. In: Biedermann T, Heppt W, Renz H, Röcken M, editors. *Allergologie: Springer, Berlin, Heidelberg; 2016.* p. 87-93.
79. Radbruch A, Worm M. B-Lymphozyten und der Antikörperklassenwechsel zu IgE. In: Biedermann T, Heppt W, Renz H, Röcken M, editors. *Allergologie: Springer, Berlin, Heidelberg; 2016.* p. 95-103.
80. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(3):193-204.

81. Luger EO, Fokuhl V, Wegmann M, Abram M, Tillack K, Achatz G, et al. Induction of long-lived allergen-specific plasma cells by mucosal allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(4):819-26 e4.
82. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. Physicochemical properties of reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with gamma-E-globulin antibody. *J Immunol*. 1966;97(6):840-53.
83. Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SG, Rowe DS, Stanworth DR, Terry WD. Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology*. 1968;15(3):323-4.
84. Bax HJ, Keeble AH, Gould HJ. Cytokinerig IgE Action in Mast Cell Activation. *Front Immunol*. 2012;3:229.
85. Green RM, Custovic A, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL, Woodcock A. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. *BMJ*. 2002;324(7340):763.
86. Heinzerling LM, Burbach GJ, Edenharter G, Bachert C, Bindslev-Jensen C, Bonini S, et al. GA(2)LEN skin test study I: GA(2)LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy*. 2009;64(10):1498-506.
87. Cox L, Williams B, Sicherer S, Oppenheimer J, Sher L, Hamilton R, et al. Pearls and pitfalls of allergy diagnostic testing: report from the American College of Allergy, Asthma and Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology Specific IgE Test Task Force. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008;101(6):580-92.
88. Bousquet J, Anto JM, Bachert C, Bousquet PJ, Colombo P, Cramer R, et al. Factors responsible for differences between asymptomatic subjects and patients presenting an IgE sensitization to allergens. A GA2LEN project. *Allergy*. 2006;61(6):671-80.
89. Kirby JG, Robertson DG, Hargreave FE, Dolovich J. Asthmatic responses to inhalation of anti-human IgE. *Clin Allergy*. 1986;16(3):191-4.
90. Cockcroft DW, Hargreave FE, O'Byrne PM, Boulet LP. Understanding allergic asthma from allergen inhalation tests. *Can Respir J*. 2007;14(7):414-8.
91. Reuter S, Heinz A, Sieren M, Wiewrodt R, Gelfand EW, Stassen M, et al. Mast cell-derived tumour necrosis factor is essential for allergic airway disease. *Eur Respir J*. 2008;31(4):773-82.
92. Reuter S, Taube C. Mast cells and the development of allergic airway disease. *J Occup Med Toxicol*. 2008;3 Suppl 1:S2.
93. Elieh Ali Komi D, Wöhrl S, Bielory L. Mast Cell Biology at Molecular Level: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020;58(3):342-65.
94. Finkelman FD, Hogan SP, Hershey GK, Rothenberg ME, Wills-Karp M. Importance of cytokines in murine allergic airway disease and human asthma. *J Immunol*. 2010;184(4):1663-74.
95. Grünig G, Warnock M, Wakil AE, Venkayya R, Brombacher F, Rennick DM, et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science*. 1998;282(5397):2261-3.
96. Pelaia C, Paoletti G, Puggioni F, Racca F, Pelaia G, Canonica GW, et al. Interleukin-5 in the Pathophysiology of Severe Asthma. *Front Physiol*. 2019;10:1514.
97. Benson VS, Hartl S, Barnes N, Galwey N, Van Dyke MK, Kwon N. Blood eosinophil counts in the general population and airways disease: a comprehensive review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2022;59(1):2004590.
98. Chapman DG, Irvin CG. Mechanisms of airway hyper-responsiveness in asthma: the past, present and yet to come. *Clin Exp Allergy*. 2015;45(4):706-19.
99. Gosens R, Schaafsma D, Meurs H, Zaagsma J, Nelemans SA. Role of Rho-kinase in maintaining airway smooth muscle contractile phenotype. *Eur J Pharmacol*. 2004;483(1):71-8.
100. Kim SR, Lee KS, Park SJ, Jeon MS, Lee YC. Inhibition of p38 MAPK reduces expression of vascular endothelial growth factor in allergic airway disease. *J Clin Immunol*. 2012;32(3):574-86.
101. Nath P, Leung SY, Williams A, Noble A, Chakravarty SD, Luedtke GR, et al. Importance of p38 mitogen-activated protein kinase pathway in allergic airway remodelling and bronchial hyperresponsiveness. *Eur J Pharmacol*. 2006;544(1-3):160-7.
102. Wex E, Bouyssou T, Duechs MJ, Erb KJ, Gantner F, Sanderson MP, et al. Induced Syk deletion leads to suppressed allergic responses but has no effect on neutrophil or monocyte migration in vivo. *Eur J Immunol*. 2011;41(11):3208-18.
103. Yamamoto N, Takeshita K, Shichijo M, Kokubo T, Sato M, Nakashima K, et al. The orally available spleen tyrosine kinase inhibitor 2-[7-(3,4-dimethoxyphenyl)-imidazo[1,2-c]pyrimidin-5-ylamino]nicotinamide dihydrochloride (BAY 61-3606) blocks antigen-induced airway inflammation in rodents. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;306(3):1174-81.
104. Stenton GR, Ulanova M, Déry RE, Merani S, Kim MK, Gilchrist M, et al. Inhibition of allergic inflammation in the airways using aerosolized antisense to Syk kinase. *J Immunol*. 2002;169(2):1028-36.
105. Huang ZY, Kim MK, Kim-Han TH, Indik ZK, Schreiber AD. Effect of locally administered Syk siRNA on allergen-induced arthritis and asthma. *Mol Immunol*. 2013;53(1-2):52-9.

106. Nakashima K, Kokubo T, Shichijo M, Li YF, Yura T, Yamamoto N. A novel Syk kinase-selective inhibitor blocks antigen presentation of immune complexes in dendritic cells. *Eur J Pharmacol.* 2004;505(1-3):223-8.
107. Costello PS, Turner M, Walters AE, Cunningham CN, Bauer PH, Downward J, et al. Critical role for the tyrosine kinase Syk in signalling through the high affinity IgE receptor of mast cells. *Oncogene.* 1996;13(12):2595-605.
108. Penton PC, Wang X, Amatullah H, Cooper J, Godri K, North ML, et al. Spleen tyrosine kinase inhibition attenuates airway hyperresponsiveness and pollution-induced enhanced airway response in a chronic mouse model of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(2):512-20 e1-10.
109. Maceyka M, Spiegel S. Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature.* 2014;510(7503):58-67.
110. Hait NC, Oskeritzian CA, Paugh SW, Milstien S, Spiegel S. Sphingosine kinases, sphingosine 1-phosphate, apoptosis and diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1758(12):2016-26.
111. Yang Y, Uhlig S. The role of sphingolipids in respiratory disease. *Ther Adv Respir Dis.* 2011;5(5):325-44.
112. Strub GM, Maceyka M, Hait NC, Milstien S, Spiegel S. Extracellular and intracellular actions of sphingosine-1-phosphate. *Adv Exp Med Biol.* 2010;688:141-55.
113. Cordts F, Pitson S, Tabeling C, Gibbins I, Moffat DF, Jersmann H, et al. Expression profile of the sphingosine kinase signalling system in the lung of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Life Sci.* 2011;89(21-22):806-11.
114. Ammit AJ, Hastie AT, Edsall LC, Hoffman RK, Amrani Y, Krymskaya VP, et al. Sphingosine 1-phosphate modulates human airway smooth muscle cell functions that promote inflammation and airway remodeling in asthma. *FASEB J.* 2001;15(7):1212-4.
115. Oskeritzian CA. Mast cell plasticity and sphingosine-1-phosphate in immunity, inflammation and cancer. *Mol Immunol.* 2015;63(1):104-12.
116. Mitra P, Oskeritzian CA, Payne SG, Beaven MA, Milstien S, Spiegel S. Role of ABCC1 in export of sphingosine-1-phosphate from mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(44):16394-9.
117. Rosen H, Goetzl EJ. Sphingosine 1-phosphate and its receptors: an autocrine and paracrine network. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(7):560-70.
118. Jolly PS, Bektas M, Olivera A, Gonzalez-Espinosa C, Proia RL, Rivera J, et al. Transactivation of sphingosine-1-phosphate receptors by FcepsilonRI triggering is required for normal mast cell degranulation and chemotaxis. *J Exp Med.* 2004;199(7):959-70.
119. Chiba Y, Suzuki K, Uechi M, Kurihara E, Goto K, Sakai H, et al. Downregulation of sphingosine-1-phosphate receptors in bronchial smooth muscle of mouse experimental asthma. *Pharmacol Res.* 2010;62(4):357-63.
120. Rodriguez-Roisin R, Wagner PD. Clinical relevance of ventilation-perfusion inequality determined by inert gas elimination. *Eur Respir J.* 1990;3(4):469-82.
121. Kelly VJ, Hibbert KA, Kohli P, Kone M, Greenblatt EE, Venegas JG, et al. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction Does Not Explain All Regional Perfusion Redistribution in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;196(7):834-44.
122. Papiris S, Kotanidou A, Malagari K, Roussos C. Clinical review: severe asthma. *Crit Care.* 2002;6(1):30-44.
123. Rodriguez-Roisin R. Acute severe asthma: pathophysiology and pathobiology of gas exchange abnormalities. *Eur Respir J.* 1997;10(6):1359-71.
124. Grimmer B, Kuebler WM. The endothelium in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol (1985).* 2017;123(6):1635-46.
125. Wang L, Yin J, Nickles HT, Ranke H, Tabuchi A, Hoffmann J, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction requires connexin 40-mediated endothelial signal conduction. *J Clin Invest.* 2012;122(11):4218-30.
126. Sommer N, Strielkov I, Pak O, Weissmann N. Oxygen sensing and signal transduction in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Eur Respir J.* 2016;47(1):288-303.
127. Harris RS, Winkler T, Tgavalekos N, Musch G, Melo MF, Schroeder T, et al. Regional pulmonary perfusion, inflation, and ventilation defects in bronchoconstricted patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(3):245-53.
128. Levy BD, Kitch B, Fanta CH. Medical and ventilatory management of status asthmaticus. *Intensive Care Med.* 1998;24(2):105-17.
129. Wang R, Murray CS, Fowler SJ, Simpson A, Durrington HJ. Asthma diagnosis: into the fourth dimension. *Thorax.* 2021;76(6):624-31.
130. Aaron SD, Boulet LP, Reddel HK, Gershon AS. Underdiagnosis and Overdiagnosis of Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;198(8):1012-20.
131. Agnihotri NT, Saltoun C. Acute severe asthma (status asthmaticus). *Allergy Asthma Proc.* 2019;40(6):406-9.
132. Lehrer PM, Isenberg S, Hochron SM. Asthma and emotion: a review. *J Asthma.* 1993;30(1):5-21.



133. Shapiro JM. Management of respiratory failure in status asthmaticus. *Am J Respir Med.* 2002;1(6):409-16.
134. Graham BL, Steenbruggen I, Miller MR, Barjaktarevic IZ, Cooper BG, Hall GL, et al. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;200(8):e70-e88.
135. Borg BM, Thompson BR. The measurement of lung volumes using body plethysmography: a comparison of methodologies. *Respir Care.* 2012;57(7):1076-83.
136. Criée CP, Baur X, Berdel D, Bösch D, Gappa M, Haidl P, et al. Leitlinie zur Spirometrie. Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga, der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin zur Spirometrie. *Pneumologie.* 2015;69(3):147-64.
137. Thamrin C, Nydegger R, Stern G, Chanez P, Wenzel SE, Watt RA, et al. Associations between fluctuations in lung function and asthma control in two populations with differing asthma severity. *Thorax.* 2011;66(12):1036-42.
138. Pfaar O, Bachert C, Bufe A, Buhl R, Ebner C, Eng P, et al. Guideline on allergen-specific immunotherapy in IgE-mediated allergic diseases: S2k Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI), the Society for Pediatric Allergy and Environmental Medicine (GPA), the Medical Association of German Allergologists (AeDA), the Austrian Society for Allergy and Immunology (ÖGAI), the Swiss Society for Allergy and Immunology (SGAI), the German Society of Dermatology (DDG), the German Society of Oto- Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery (DGHNO-KHC), the German Society of Pediatrics and Adolescent Medicine (DGKJ), the Society for Pediatric Pneumology (GPP), the German Respiratory Society (DGP), the German Association of ENT Surgeons (BV-HNO), the Professional Federation of Paediatricians and Youth Doctors (BVKJ), the Federal Association of Pulmonologists (BDP) and the German Dermatologists Association (BVDD). *Allergo J Int.* 2014;23(8):282-319.
139. Busse WW. Biological treatments for severe asthma: A major advance in asthma care. *Allergol Int.* 2019;68(2):158-66.
140. Jappe U, Beckert H, Bergmann KC, Gülsen A, Klimek L, Philipp S, et al. Biologics for atopic diseases: Indication, side effect management, and new developments. *Allergol Select.* 2021;5:1-25.
141. Pfaar O, Creticos PS, Kleine-Tebbe J, Canonica GW, Palomares O, Schülke S. One Hundred Ten Years of Allergen Immunotherapy: A Broad Look Into the Future. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(5):1791-803.
142. Jutel M, Akdis CA. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy.* 2011;66(6):725-32.
143. Zoss AR, Koch CA, Hirose RS. Alum-ragweed precipitate: Preparation and clinical investigation: Preliminary report. *J Allergy.* 1937;8(4):329-35.
144. Jensen-Jarolim E. Aluminium in Allergies and Allergen immunotherapy. *World Allergy Organ J.* 2015;8(1):7.
145. Pfaar O, Cazan D, Klimek L, Larenas-Linnemann D, Calderon MA. Adjuvants for immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(6):648-57.
146. Moingeon P. Adjuvants for allergy vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2012;8(10):1492-8.
147. Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Sutterwala FS, Flavell RA. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature.* 2008;453(7198):1122-6.
148. Hesse L, van Ieperen N, Petersen AH, Elberink JNGO, van Oosterhout AJM, Nawijn MC. High dose vitamin D<sub>3</sub> empowers effects of subcutaneous immunotherapy in a grass pollen-driven mouse model of asthma. *Sci Rep.* 2020;10(1):20876.
149. Baris S, Kiykim A, Ozen A, Tulunay A, Karakoc-Aydiner E, Barlan IB. Vitamin D as an adjunct to subcutaneous allergen immunotherapy in asthmatic children sensitized to house dust mite. *Allergy.* 2014;69(2):246-53.
150. Jerzynska J, Stelmach W, Rychlik B, Lechańska J, Podlecka D, Stelmach I. The clinical effect of vitamin D supplementation combined with grass-specific sublingual immunotherapy in children with allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc.* 2016;37(2):105-14.
151. Taher YA, van Esch BC, Hofman GA, Henricks PA, van Oosterhout AJ. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> potentiates the beneficial effects of allergen immunotherapy in a mouse model of allergic asthma: role for IL-10 and TGF-beta. *J Immunol.* 2008;180(8):5211-21.
152. Nurmatov U, Dhimi S, Arasi S, Roberts G, Pfaar O, Muraro A, et al. Allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis: a systematic overview of systematic reviews. *Clin Transl Allergy.* 2017;7:24.
153. Passalacqua G, Bagnasco D, Canonica GW. 30 years of sublingual immunotherapy. *Allergy.* 2020;75(5):1107-20.
154. Mosbech H, Deckelmann R, de Blay F, Pastorello EA, Trebas-Pietras E, Andres LP, et al. Standardized quality (SQ) house dust mite sublingual immunotherapy tablet (ALK) reduces inhaled corticosteroid use while maintaining asthma control: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(3):568-75 e7.

155. Virchow JC, Backer V, Kuna P, Prieto L, Nolte H, Villesen HH, et al. Efficacy of a House Dust Mite Sublingual Allergen Immunotherapy Tablet in Adults With Allergic Asthma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2016;315(16):1715-25.
156. Pitsios C, Demoly P, Bilò MB, Gerth van Wijk R, Pfaar O, Sturm GJ, et al. Clinical contraindications to allergen immunotherapy: an EAACI position paper. *Allergy*. 2015;70(8):897-909.
157. Leatherman J. Mechanical ventilation for severe asthma. *Chest*. 2015;147(6):1671-80.
158. Tabeling C, Scheer H, Schönrock SM, Runge F, Gutbier B, Lienau J, et al. Nucleotide oligomerization domain 1 ligation suppressed murine allergen-specific T-cell proliferation and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;50(5):903-11.
159. Heine G, Tabeling C, Hartmann B, González Calera CR, Kühl AA, Lindner J, et al. 25-hydroxvitamin D3 promotes the long-term effect of specific immunotherapy in a murine allergy model. *J Immunol*. 2014;193(3):1017-23.
160. Tabeling C, Yu H, Wang L, Ranke H, Goldenberg NM, Zabini D, et al. CFTR and sphingolipids mediate hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(13):E1614-23.
161. Nagaraj C, Tabeling C, Nagy BM, Jain PP, Marsh LM, Papp R, et al. Hypoxic vascular response and ventilation/perfusion matching in end-stage COPD may depend on p22phox. *Eur Respir J*. 2017;50(1):1601651.
162. Lamb DJ, Wollin SL, Schnapp A, Bischoff D, Erb KJ, Bouyssou T, et al. BI 1002494, a Novel Potent and Selective Oral Spleen Tyrosine Kinase Inhibitor, Displays Differential Potency in Human Basophils and B Cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2016;357(3):554-61.
163. Wang X, Khanna N, Wu J, Godri Pollitt K, Evans GJ, Chow CW, et al. Syk mediates airway contractility independent of leukocyte function. *Allergy*. 2015;70(4):429-35.
164. Li S, Hui Y, Yuan J, Zhang Z, Li X, Fang N, et al. Syk-Targeted, a New 3-Arylbenzofuran Derivative EAPP-2 Blocks Airway Inflammation of Asthma-COPD Overlap in vivo and in vitro. *J Inflamm Res*. 2021;14:2173-85.
165. McKernan DP. Pattern recognition receptors as potential drug targets in inflammatory disorders. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2020;119:65-109.
166. Chen G, Shaw MH, Kim YG, Nuñez G. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:365-98.
167. Magalhaes JG, Sorbara MT, Girardin SE, Philpott DJ. What is new with Nods? *Curr Opin Immunol*. 2011;23(1):29-34.
168. Chaput C, Sander LE, Suttorp N, Opitz B. NOD-Like Receptors in Lung Diseases. *Front Immunol*. 2013;4:393.
169. Tsang MS, Hou T, Chan BC, Wong CK. Immunological Roles of NLR in Allergic Diseases and Its Underlying Mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1507.
170. Martinon F, Tschopp J. NLRs join TLRs as innate sensors of pathogens. *Trends Immunol*. 2005;26(8):447-54.
171. Inohara, Chamailard, McDonald C, Nuñez G. NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. *Annu Rev Biochem*. 2005;74:355-83.
172. Hysi P, Kabesch M, Moffatt MF, Schedel M, Carr D, Zhang Y, et al. NOD1 variation, immunoglobulin E and asthma. *Hum Mol Genet*. 2005;14(7):935-41.
173. Weidinger S, Klopp N, Rümmler L, Wagenpfeil S, Baurecht HJ, Gauger A, et al. Association of CARD15 polymorphisms with atopy-related traits in a population-based cohort of Caucasian adults. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(7):866-72.
174. Durham SR. Allergen immunotherapy: 100 years on. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(9):1171.
175. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet*. 1911;177(4580):1572-3.
176. Frankland AW, Augustin R. Prophylaxis of summer hay-fever and asthma: a controlled trial comparing crude grass-pollen extracts with the isolated main protein component. *Lancet*. 1954;263(6821):1055-7.
177. Senti G, Freiburghaus AU, Larenas-Linnemann D, Hoffmann HJ, Patterson AM, Klimek L, et al. Intralymphatic Immunotherapy: Update and Unmet Needs. *Int Arch Allergy Immunol*. 2019;178(2):141-9.
178. Esposito S, Isidori C, Pacitto A, Salvatori C, Sensi L, Frati F, et al. Epicutaneous immunotherapy in rhinoconjunctivitis and food allergies: a review of the literature. *J Transl Med*. 2018;16(1):329.
179. Worm M, Heine G, Radbruch A. Immunomodulation by vitamin D. *Allergol Select*. 2018;2(1):62-6.
180. Milovanovic M, Heine G, Hallatschek W, Opitz B, Radbruch A, Worm M. Vitamin D receptor binds to the e germline gene promoter and exhibits transrepressive activity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(5):1016-23, 23 e1-4.
181. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266-81.
182. Heine G, Lahl A, Müller C, Worm M. Vitamin D deficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus is prevalent throughout the year. *Br J Dermatol*. 2010;163(4):863-5.

183. Aryan Z, Rezaei N, Camargo CA, Jr. Vitamin D status, aeroallergen sensitization, and allergic rhinitis: A systematic review and meta-analysis. *Int Rev Immunol.* 2017;36(1):41-53.
184. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1678S-88S.
185. Hintzpeter B, Mensink GB, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C. Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62(9):1079-89.
186. Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med.* 2002;112(8):659-62.
187. Freishtat RJ, Iqbal SF, Pillai DK, Klein CJ, Ryan LM, Benton AS, et al. High prevalence of vitamin D deficiency among inner-city African American youth with asthma in Washington, DC. *J Pediatr.* 2010;156(6):948-52.
188. Jolliffe DA, Stefanidis C, Wang Z, Kermani NZ, Dimitrov V, White JH, et al. Vitamin D Metabolism Is Dysregulated in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;202(3):371-82.
189. Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Yakout SM, Alnaami AM, Wani K, Alokail MS. The association of serum 25-OH vitamin D with asthma in Saudi adults. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(36):e12286.
190. Bener A, Ehlayel MS, Tulic MK, Hamid Q. Vitamin D deficiency as a strong predictor of asthma in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;157(2):168-75.
191. Brehm JM, Celedón JC, Soto-Quiros ME, Avila L, Hunninghake GM, Forno E, et al. Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179(9):765-71.
192. Searing DA, Zhang Y, Murphy JR, Hauk PJ, Goleva E, Leung DY. Decreased serum vitamin D levels in children with asthma are associated with increased corticosteroid use. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(5):995-1000.
193. Heine G, Francuzik W, Doelle-Bierke S, Drozdenko G, Frischbutter S, Schumacher N, et al. Immunomodulation of high-dose vitamin D supplementation during allergen-specific immunotherapy. *Allergy.* 2021;76(3):930-3.
194. Forno E, Bacharier LB, Phipatanakul W, Guilbert TW, Cabana MD, Ross K, et al. Effect of Vitamin D3 Supplementation on Severe Asthma Exacerbations in Children With Asthma and Low Vitamin D Levels: The VDKA Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;324(8):752-60.
195. Jolliffe DA, Greenberg L, Hooper RL, Griffiths CJ, Camargo CA, Jr., Kerley CP, et al. Vitamin D supplementation to prevent asthma exacerbations: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Lancet Respir Med.* 2017;5(11):881-90.
196. Riverin BD, Maguire JL, Li P. Vitamin D Supplementation for Childhood Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(8):e0136841.
197. Xiao L, Xing C, Yang Z, Xu S, Wang M, Du H, et al. Vitamin D supplementation for the prevention of childhood acute respiratory infections: a systematic review of randomised controlled trials. *Br J Nutr.* 2015;114(7):1026-34.
198. Pojsupap S, Iliriani K, Sampaio TZ, O'Hearn K, Kovesi T, Menon K, et al. Efficacy of high-dose vitamin D in pediatric asthma: a systematic review and meta-analysis. *J Asthma.* 2015;52(4):382-90.
199. Martineau AR, Cates CJ, Urashima M, Jensen M, Griffiths AP, Nurmatov U, et al. Vitamin D for the management of asthma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;9(9):CD011511.
200. Luo J, Liu D, Liu CT. Can Vitamin D Supplementation in Addition to Asthma Controllers Improve Clinical Outcomes in Patients With Asthma?: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(50):e2185.
201. Mohammed S, Harikumar KB. Sphingosine 1-Phosphate: A Novel Target for Lung Disorders. *Front Immunol.* 2017;8:296.
202. Price MM, Oskeritzian CA, Falanga YT, Harikumar KB, Allegood JC, Alvarez SE, et al. A specific sphingosine kinase 1 inhibitor attenuates airway hyperresponsiveness and inflammation in a mast cell-dependent murine model of allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(2):501-11 e1.
203. Fuerst E, Foster HR, Ward JP, Corrigan CJ, Cousins DJ, Woszczek G. Sphingosine-1-phosphate induces proremodelling response in airway smooth muscle cells. *Allergy.* 2014;69(11):1531-9.
204. Lai WQ, Wong WS, Leung BP. Sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate in asthma. *Biosci Rep.* 2011;31(2):145-50.
205. Haberberger RV, Tabeling C, Runciman S, Gutbier B, König P, Andratsch M, et al. Role of sphingosine kinase 1 in allergen-induced pulmonary vascular remodeling and hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(5):933-41 e1-9.
206. Liu H, Li L, Chen Z, Song Y, Liu W, Gao G, et al. S1PR2 Inhibition Attenuates Allergic Asthma Possibly by Regulating Autophagy. *Front Pharmacol.* 2021;11:598007.

207. Park SJ, Im DS. Blockage of sphingosine-1-phosphate receptor 2 attenuates allergic asthma in mice. *Br J Pharmacol.* 2019;176(7):938-49.
208. Schulze T, Golfier S, Tabeling C, Räbel K, Gräler MH, Witzentrath M, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor 4 (S1P<sub>4</sub>) deficiency profoundly affects dendritic cell function and TH17-cell differentiation in a murine model. *FASEB J.* 2011;25(11):4024-36.
209. Olivera A, Eisner C, Kitamura Y, Dillahunt S, Allende L, Tuymetova G, et al. Sphingosine kinase 1 and sphingosine-1-phosphate receptor 2 are vital to recovery from anaphylactic shock in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(5):1429-40.
210. Le Ribez H, To L, Ghigna MR, Martin C, Nagaraj C, Dreano E, et al. Involvement of CFTR in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2021;58(5):2000653.
211. Declercq M, Treps L, Bousfia S, Carmeliet P, Witters P. Endothelial CFTR dysfunction and its involvement in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2021;58(2):2101645.
212. Tabeling C, Witzentrath M, Kuebler WM. CFTR in the regulation of pulmonary vascular tone and remodeling. *Eur Respir J.* 2021;58(6):2101861.
213. Kotsimbos T, Kaye D, Keating D. Pulmonary arterial hypertension and CFTR: the paradox of going forward by tacking sideways! *Eur Respir J.* 2021;58(5):2101839.
214. van der Vliet A. Nox enzymes in allergic airway inflammation. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1810(11):1035-44.
215. Mittal M, Roth M, König P, Hofmann S, Dony E, Goyal P, et al. Hypoxia-dependent regulation of nonphagocytic NADPH oxidase subunit NOX4 in the pulmonary vasculature. *Circ Res.* 2007;101(3):258-67.
216. Ambasta RK, Kumar P, Griendling KK, Schmidt HH, Busse R, Brandes RP. Direct interaction of the novel Nox proteins with p22phox is required for the formation of a functionally active NADPH oxidase. *J Biol Chem.* 2004;279(44):45935-41.
217. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2007;87(1):245-313.
218. Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(3):181-9.
219. Nagaraj C, Haitchi HM, Heinemann A, Howarth PH, Olschewski A, Marsh LM. Increased Expression of p22phox Mediates Airway Hyperresponsiveness in an Experimental Model of Asthma. *Antioxid Redox Signal.* 2017;27(18):1460-72.
220. Ward JP, McMurtry IF. Mechanisms of hypoxic pulmonary vasoconstriction and their roles in pulmonary hypertension: new findings for an old problem. *Curr Opin Pharmacol.* 2009;9(3):287-96.
221. Aaronson PI, Robertson TP, Knock GA, Becker S, Lewis TH, Snetkov V, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: mechanisms and controversies. *J Physiol.* 2006;570(Pt 1):53-8.
222. Robertson TP, Dipp M, Ward JP, Aaronson PI, Evans AM. Inhibition of sustained hypoxic vasoconstriction by Y-27632 in isolated intrapulmonary arteries and perfused lung of the rat. *Br J Pharmacol.* 2000;131(1):5-9.
223. Wang H, Albadawi H, Siddiquee Z, Stone JM, Panchenko MP, Watkins MT, et al. Altered vascular activation due to deficiency of the NADPH oxidase component p22phox. *Cardiovasc Pathol.* 2014;23(1):35-42.
224. Kaßmann M, Szijártó IA, García-Prieto CF, Fan G, Schleifenbaum J, Anistan YM, et al. Role of Ryanodine Type 2 Receptors in Elementary Ca<sup>2+</sup> Signaling in Arteries and Vascular Adaptive Responses. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(9):e010090.

## Danksagung

Zuallererst danke ich Prof. Dr. Martin Witzenrath, Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Pneumologie, für das Vertrauen und die fortwährende Unterstützung meiner Forschung und Habilitation.

Mein Dank gilt zudem Prof. Dr. Norbert Suttorp, ehemaliger Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie, für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Entfaltung in seiner Klinik.

Ich danke allen Kolleg\*innen und Kooperationspartner\*innen für die fruchtbare Zusammenarbeit. Insbesondere danke ich Prof. Dr. Wolfgang Kübler, Leiter des Instituts für Physiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, für die anhaltende Unterstützung und Inspiration.

Meiner Arbeitsgruppe inklusive der von mir betreuten Doktorand\*innen, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre, danke ich für ihren außerordentlichen wissenschaftlichen Einsatz.

Ich danke allen Mitarbeiter\*innen und *Fellows* des *Clinician Scientist* Programms des *Berlin Institute of Health (BIH)* recht herzlich für das Vertrauen, die hervorragende interdisziplinäre Zusammenarbeit und den innovativen wissenschaftlichen Austausch.

Für die finanzielle Unterstützung der Forschungsarbeiten bedanke ich mich bei der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e. V., Bayer HealthCare sowie Boehringer Ingelheim.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, der diese Arbeit gewidmet ist.

## Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- 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,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....

Datum

.....

Unterschrift