

Klinische, zelluläre und immunologische Charakterisierung des  
Asthmas im Hinblick auf die Asthma-Kontrolle

**Dissertation**

Zur Erlangung des Grades

Doktor der Naturwissenschaften

am Fachbereich Biologie

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Matthias Jung**

Geb. am 18.11.1980 in Wiesbaden

Bingen, 10.09.2015

**Aus der**  
**III. Medizinischen Klinik**  
**Schwerpunkt Pneumologie**  
Universitätsmedizin Mainz

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.2015

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation mitsamt den Ergebnissen selbstständig verfasst und erarbeitet habe und keine anderen Hilfsmittel und Quellen als die angegebenen verwendet habe.

Mainz, den

---

(Matthias Jung)

## Kongressbeiträge

- 03/2013      **Jahreskongress der deutschen Gesellschaft für Pneumologie (DGP)**  
  
Posterpräsentation: Asthma-Phänotypisierung durch Zytokinprofile mononukleärer Zellen des Blutes
- 09/2012      **Jahreskongress der European Respiratory Society (ERS)**  
  
Posterdiskussion: Non-invasive parameters in patients with asthma: short- and long term reproducibility
- 03/2012      **Jahreskongress der deutschen Gesellschaft für Pneumologie (DGP)**  
  
Posterpräsentation: Nicht-invasive Parameter bei Patienten mit Asthma: kurz- und langfristige Reproduzierbarkeit
- 03/2012      **Jahreskongress der Saarländischen – Pfälzischen Internistengesellschaft**  
  
Posterpräsentation: Nicht-invasive Parameter bei Patienten mit Asthma: kurz- und langfristige Reproduzierbarkeit
- 05/2011      **Jahreskongress der Amerikan Thoracic Society (ATS)**  
  
Posterpräsentation: Reproducibility of non-invasive bronchial and inflammatory parameters in patients with asthma
- 02/2011      Jahreskongress der Saarländischen – Pfälzischen Internistengesellschaft  
  
Posterpräsentation: Reproduzierbarkeit nicht-invasiver bronchialer und inflammatorischer Parameter bei Patienten mit Asthma

# Danksagung



## Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung .....	I
Kongressbeiträge .....	II
Danksagung .....	III
Inhaltsverzeichnis .....	11
1 Einleitung.....	1
1.1 Asthma.....	1
1.2 Pathogenese .....	1
1.2.1 Asthma-Formen .....	1
1.2.2 Immunpathogenese .....	2
1.2.3 Remodeling.....	11
1.2.4 Symptome .....	11
1.3 Asthma-Management .....	12
1.3.1 Diagnostik .....	12
1.3.2 Schweregrade .....	15
1.3.3 Asthma-Kontrolle.....	16
1.3.4 Therapie.....	18
1.4 Ziele der Arbeit.....	19
2 Material und Methoden.....	21
2.1 Materialien.....	21
2.1.1 Patientenkollektiv .....	21
2.1.2 Labor-/ medizintechnische Geräte .....	23
2.1.3 Verbrauchsmaterialien .....	25
2.1.4 Chemikalien und Reagenzien .....	27
2.1.5 Material und Reagenzien für Serumallergologie .....	29
2.1.6 Allergene für Hautallergie-(Prick-)Test.....	30

2.1.7	Antikörper für Durchflusszytometrie .....	32
2.1.8	Antikörper für Zellstimulation.....	33
2.1.9	Puffer, Medien und Zusätze .....	33
2.1.10	Metacholin-Provokation.....	33
2.1.11	Sputum-Induktion.....	33
2.1.12	Zellkultur.....	33
2.1.13	Zellaufarbeitung .....	34
2.1.14	Durchflusszytometrie.....	34
2.1.15	Software .....	35
2.2	Methoden .....	35
2.2.1	Studiendesign .....	35
2.2.2	Klinische Methoden.....	36
2.2.3	Zellbiologische Methoden.....	45
3	Ergebnisse .....	51
3.1	Demographische Charakterisierung des Patientenkollektives bei Studienbeginn (V0) .....	51
3.2	Klinische Parameter bei Studienbeginn (V0).....	52
3.3	Zellbiologische Parameter bei Studienbeginn (V0).....	53
3.4	Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn (V0) .....	56
3.5	Patientencharakteristika und Untersuchungsergebnisse bei Studieneinschluss (V0) getrennt nach Asthma-Kontrolle .....	57
3.5.1	Klinische Untersuchungen bei Studienbeginn (V0) .....	60
3.5.2	Zellbiologische Untersuchungen bei Studienbeginn (V0).....	63
3.6	Asthma-Kontrolle im Verlauf.....	64
3.6.1	Einzel-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA.....	66



3.6.2	Gegenüberstellung der Änderungen der Asthma-Kontrolle mit den intraindividuellen Unterschieden der klinischen Parameter zwischen Visite 0 und 2 .....	67
3.6.3	Zellbiologische Untersuchungen nach 6 Monaten.....	69
3.7	Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA und klinische und zellbiologische Untersuchungsergebnisse .....	71
3.7.1	Veränderungen der Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA und Untersuchungsergebnisse zwischen Visite 0 und Visite 2 .....	72
3.8	Asthma-Kontrolle und Untersuchungsparameter bei atopischen Patienten	78
3.8.1	Eigenschaften, Therapie und Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten bei Studienbeginn.....	78
3.9	Demographie und Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) in Bezug zur Asthma-Kontrolle .....	82
3.10	Klinische Untersuchungen der atopischen Patienten bei Studienbeginn (V0) .....	85
3.10.1	Zellbiologische Untersuchungen der atopischen Patienten bei Studienbeginn (V0).....	88
3.11	Asthma-Kontrolle der atopischen Patienten im Verlauf der Studie .....	89
3.11.1	Änderungen der Asthma-Kontrolle in Bezug zu klinischen Parametern atopischer Patienten zwischen Visite 0 und 2 .....	90
3.11.2	Änderungen der Asthma-Kontrolle in Bezug zu zellbiologischen Parametern atopischer Patienten zwischen Visite 0 und 2.....	91
3.12	Einzel-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA bei atopischen Patienten.....	92
3.12.1	Korrelationen zwischen Veränderungen der einzelnen Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA und den	

Untersuchungsergebnissen der atopischen Patienten zwischen Visite 0 und	
Visite 2 .....	94
3.12.2 Untersuchungsparameter, die mit den Änderungen des GINA-	
Kriteriums „Gebrauch von Notfallmedikation“ zwischen V0 und V2 korrelierten ....	
.....	95
4 Diskussion .....	98
4.1 Allgemeine Beobachtungen zu Studienbeginn (V0) .....	101
4.1.1 Demographie und klinische Parameter .....	101
4.2 Kurzzeit-Reproduzierbarkeit .....	104
4.3 Langzeit-Reproduzierbarkeit .....	105
4.3.1 Stabile Asthma-Kontrolle .....	105
4.3.2 Veränderungen der Asthma-Kontrolle .....	106
4.4 Korrelation zwischen GINA-Kriterien und den einzelnen	
Untersuchungsparametern.....	109
4.5 Fazit .....	110
4.6 Ausblick.....	111
5 Zusammenfassung .....	112
Literatur .....	114
Tabellenverzeichnis .....	126
Abbildungsverzeichnis .....	132
Abkürzungsverzeichnis .....	140
Anhang .....	147
Gesamtkollektiv .....	147
Atopische Patientinnen und Patienten .....	177
Lebenslauf .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Asthma

Asthma ist eine der häufigsten Atemwegserkrankungen, von der weltweit über 300 Millionen Menschen betroffen sind. Die Zahl der Betroffenen hat in den letzten 30 Jahren kontinuierlich zugenommen [1-3]. Asthma ist charakterisiert durch verschiedene Symptome wie „pfeifende“ Atmung, Kurzatmigkeit, Brustenge und oder Husten, sowie unterschiedliche expiratorische Atemflusseinschränkungen. Symptome und Atemflusseinschränkungen verändern sich typischerweise mit der Zeit und in der Intensität. Diese Veränderungen sind oftmals bedingt durch Faktoren wie Anstrengung, dem Kontakt mit Allergenen oder Reizmitteln, Wetterveränderungen oder virale Infektionen der Atemwege [4]. Bei einem Teil der Patienten können sich mittel- und langfristig irreversible strukturelle Veränderungen im Bereich der Atemwege ausbilden (sog. airway remodeling). Die Ursachen des Asthmas sind noch unklar, sicher ist jedoch, dass die Entwicklung sowohl von genetischen (atopische Disposition), als auch von Umweltfaktoren (Viren, Allergene und Luftverschmutzung wie beispielsweise Feinstaub oder Zigarettenrauch) beeinflusst werden kann [5].

## 1.2 Pathogenese

### 1.2.1 Asthma-Formen

Asthma wird oft in extrinsisches (allergisches) Asthma und intrinsisches (nicht-allergisches) Asthma unterschieden. Allergisches Asthma beginnt meist in der Kindheit oder im jungen Erwachsenenalter, es kann sich aber auch zu jeder Zeit später entwickeln. Dem allergischen Asthma liegt eine genetische Disposition (Atopie) und eine durch Immunglobulin E (IgE) vermittelte Atemwegsallergie vom Soforttyp zugrunde. In den letzten 25 Jahren lag das Hauptaugenmerk der Asthmathherapie und -forschung auf dem allergischen Asthma, der häufigsten Form eines Asthmas [2]. Das intrinsische Asthma entwickelt sich meist im fortgeschrittenen Lebensalter, wird häufig durch Infektionen der Atemwege getriggert und zeichnet sich durch einen meist schwierigen klinischen Verlauf aus. Beim intrinsischen Asthma sind Atopie und allergische Disposition nicht relevant [2, 6, 7]. Mischformen sind möglich, allerdings dann als Koinzidenz voneinander unabhängiger Erkrankungen anzusprechen.

Die Unterscheidung zwischen intrinsischem und extrinsischem Asthma ist Gegenstand aktueller klinischer Forschung. Studien zeigten, dass es bei beiden Varianten zur Infiltration der Lunge mit eosinophilen Granulozyten und Th<sub>2</sub>-Zellen kommt, es einen direkten Zusammenhang von Asthma-Häufigkeit und der Höhe der IgE-Spiegel im Serum bei allen

Asthmatikern und weitreichende Übereinstimmungen u.a. im Zytokin-Profil bei allergischen und nicht-allergischen Asthmatikern gibt [6, 8]. Dabei wird Asthma heute nicht mehr nur auf der Basis ätiologischer, physiologischer oder pathophysiologischer Charakteristika wie dem Asthmaschweregrad oder der Asthma-Kontrolle differenziert, sondern zunehmend auch auf der Grundlage molekularer und zellulärer Merkmale, wie beispielsweise nach dem überwiegend vorliegenden Entzündungsmuster (z.B. eosinophil, Th2-dominiert) oder nach Auslösern (z.B. Allergie, Anstrengung) [9].

## 1.2.2 Immunpathogenese

### 1.2.2.1 Effektor-Zellen, -Moleküle und regulatorische Asthma-Elemente

Asthma wird gegenwärtig als eine immunologische Erkrankung verstanden, da sowohl die Prozesse der Entstehung, als auch der Persistenz von immunologisch kompetenten Zellen, insbesondere T-Helferzellen (Th-Zellen) gesteuert werden [10, 11]. Diese beeinflussen mittels Chemo- und Zytokinen ein komplexes Netzwerk von Effektorzellen, welche wiederum durch Sekretion von Chemokinen, Zytokinen und anderen Mediatoren eine Entzündungsreaktion hervorrufen bzw. modulieren. T-Zellen spielen generell eine wesentliche Rolle bei der Regulierung von Immunantworten. Sie sind in der Lage, gezielt Zellen zu töten (*natural killer T-cells*, NK-T-Zellen, CD8+ zytotoxische T-Zellen), indirekt das Abtöten pathogener Zellen zu unterstützen, indem sie B-Zellen veranlassen, zu Plasmazellen auszureifen und deren Antikörperproduktion beeinflussen, sowie die Aktivität einiger anderer immunologisch relevanter Zellen herauf-, bzw. herunter zu regulieren (CD4+ T-Helferzellen, Th-Zellen). Die meisten dieser T-Zell-Funktionen sind durch die Fähigkeit der Zellen vermittelt, Chemokine, Zytokine und andere Mediatoren zu produzieren [11-13].

CD4+ T-Effektor-Zellen werden auf der Grundlage der Zytokine, die sie sezernieren, in verschiedene Subklassen unterteilt. Zunächst wurden als die zwei wichtigsten Klassen Th<sub>1</sub>- und Th<sub>2</sub>- Zellen unterschieden [12]. Zu deren Entwicklung kommt es, wenn ein Antigen von einer Antigen präsentierenden Zelle (APC) aufgenommen, prozessiert und in den regionalen Lymphknoten naiven T-Helferzellen (Th<sub>0</sub>-Zellen) präsentiert wird. Je nach Beschaffenheit des präsentierten Peptids und dem umgebenden Mediator-Milieu entwickeln sich die Th<sub>0</sub>-Zellen zu Th<sub>1</sub>- oder Th<sub>2</sub>-Zellen [14].

#### Th<sub>1</sub>-Zellen

Th<sub>1</sub>-Zellen bewirken eher eine zytotoxische Immunantwort. Sie produzieren in erster Linie die Zytokine IL-2, IL-12 sowie IFN- $\gamma$  und bewirken einen Immunglobulin (Ig)G-Isotypen-Wechsel (IgG-Klassenwechsel) in B-Zellen. Sie aktivieren spezifische zytotoxische Lymphozyten (CD8+ T-Zellen und natürliche Killer (NK) -Zellen) durch die Freisetzung von IL-2 und IFN- $\gamma$ .

IFN- $\gamma$  ist ein Aktivierungsfaktor für Makrophagen und fördert wiederum deren Zytokinproduktin (IL-1 und Tumor Nekrose Faktor- $\beta$ , TNF- $\beta$ ) [3, 15]. Th<sub>1</sub>-Zellen und CD 8+ T-Zellen scheinen eher eine Rolle bei schwerem Asthma und Asthma-Exazerbationen zu spielen. Ihre direkten und indirekten zytotoxischen Eigenschaften könnten zur Erklärung des aggressiven und gewebsschädigenden Verlaufs der Krankheit beitragen. Die genauen Mechanismen sind jedoch noch weitestgehend unklar [16].

Th<sub>2</sub>-Zellen

Th<sub>2</sub>-Zellen segregieren Zytokine wie IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 und Chemokine wie Eotaxin. Sie sind die Haupteffektoren bei allergischen Erkrankungen vom IgE-abhängigen Soforttyp, wie beispielsweise dem allergischen Asthma. In den letzten Jahrzehnten lag das Hauptaugenmerk der Asthmaforschung und -therapie auf diesem häufigsten Asthma-Phänotyp. Diesem Umstand ist es zu verdanken, dass viele dem allergischem Asthma zugrundeliegenden immunologischen Prozesse gut verstanden sind. Zur Ausreifung naiver Th<sub>0</sub>-Zellen zu Th<sub>2</sub>-Zellen kommt es, wenn inhalierte Allergene von antigenpräsentierenden Zellen (wie Makrophagen oder dendritische Zellen) aufgenommen, prozessiert und auf der Oberfläche mit Hilfe von MHC-II- und anderen kostimulatorischen (B7) Molekülen präsentiert werden [16, 17].

Durch die Sezernierung von IL-4 und IL-13 und deren Bindung an entsprechende Rezeptoren auf B-Lymphozyten wird ein Immunglobulin-Klassenwechsel zu IgE bewirkt. IL-13 hat ebenso einen direkten Einfluss auf Mucus-Produktion und AHR [18]. IL-5 stimuliert die Ausreifung, Differenzierung und Migration (zusätzlich durch Eotaxin) von eosinophilen Granulozyten [2, 15]. IL-9 beeinflusst das Wachstum von Mastzellen [19].

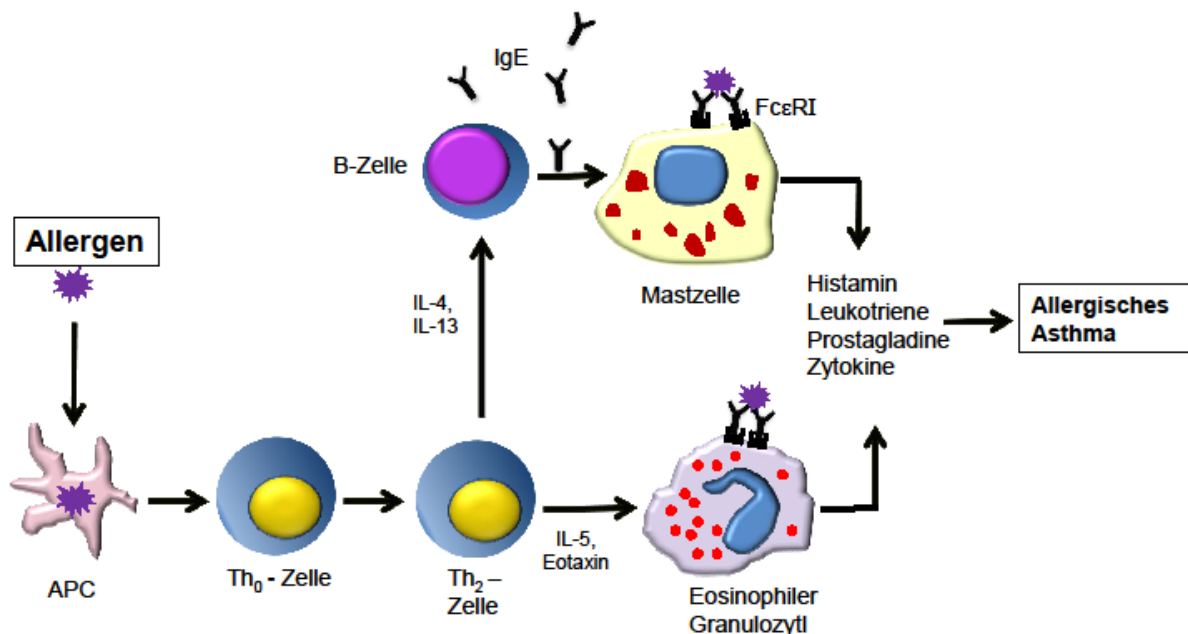


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entzündungskaskade des allergischen Asthmas

### Th<sub>17</sub>-Zellen

Th<sub>17</sub>-Zellen sind ebenfalls CD4<sup>+</sup> und durch ihre Produktion der Zytokine IL-17A und IL-17F charakterisiert. Sie wurden erst vor kurzem als eigene Untergruppe der T-Helferzellen identifiziert [19, 20]. Diesen Zellen kommt möglicherweise eine wichtige Rolle beim schweren, corticosteroid-resistenten Asthma zu. Hierbei sind sie maßgeblich für die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten verantwortlich. Dies geschieht zum einen direkt durch Produktion von IL-8 oder indirekt durch die Beeinflussung von gewebsständigen Zellen via IL-17. Durch IL-17 werden diese Zellen veranlasst, neutrophile Chemoattraktoren und Aktivatormoleküle wie *colony stimulatory factors* (CSF) und CXCL8 zu produzieren [19, 21].

### Regulatorische T (T<sub>reg</sub>)-Zellen

T-regulatorische Zellen sind eine phänotypisch und funktionell eigenständige Subklasse der T-Zellen. Sie sind CD4 und CD25 positiv und exprimieren den Transkriptionsfaktor Foxp<sup>3</sup>. Werden diese Zellen durch den T-Zellrezeptor aktiviert, unterdrücken sie die Proliferation und Zytokin-Produktion von konventionellen T-Zellen. Dies geschieht Antigen- und Zytokin-unabhängig über Zell-Zell-Kontakt. Gleichzeitig induzieren sie regulatorische Eigenschaften auf Suppressor-T-Zellen und erzeugen so eine weitere Generation von regulatorischen T-Zellen, die induzierten T<sub>reg</sub> (iT<sub>reg</sub>)-Zellen [22-24]. Diese regulieren die Immunantwort hauptsächlich durch die Produktion von TGF-β und IL-10. Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass Toleranz-Induktion von CD25<sup>+</sup>, Foxp<sup>3</sup>+ T<sub>regs</sub> auf 2 Wegen geschieht, zum einen direkt durch Zell-Zell-Kontakt, zum anderen indirekt durch die Induktion von iT<sub>reg</sub>s und deren Sezernierung von suppressiven Zytokinen wie IL-10 [25]. IL-10 kann eine Immunantwort unterdrücken, indem es die Antigenpräsentation von beispielsweise dendritischen Zellen deutlich herabsetzt [26] oder die Zytokinbildung von aktivierten Makrophagen vermindert. IL-10 scheint jedoch in erster Linie die Produktion von TH<sub>1</sub>-Zytokinen, nicht jedoch von Th<sub>2</sub>-Zytokinen zu verhindern [27, 28].

### Immunglobulin E

IgE kommt bei der allergischen Soforttyp-Reaktion in Verbindung mit Mastzellen eine zentrale Bedeutung zu. IgE wird in Gegenwart von IL-4 und IL-13 von B-Lymphozyten produziert. Bei Nicht-Allergikern nimmt es eher einen geringen Teil der Immunglobuline ein. Zirkulierend im Blut kann es als freies IgE gemessen und im Rahmen der Allergie-Diagnostik genutzt werden. Seine Wirkung entfaltet es über zwei zelluläre Rezeptoren, die jeweils am Fc-Teil des IgE's binden. Mastzellen und basophile Granulozyten besitzen den hochaffinen FcεRI-Rezeptor. Einmal an diesen Rezeptor gebunden, dient das IgE diesen Zellen als Oberflächenrezeptor. Bindet ein Allergen an mindestens 2 dieser Rezeptoren (*Crosslinking*),

werden durch eine Signaltransduktionskaskade Prostaglandine und Leukotriene, welche Bronchokonstriktion, Schleimproduktion und mukusale Ödeme hervorrufen, freigesetzt. Außerdem wird ein breites Spektrum an proinflammatorischen Chemokinen und Zytokinen (IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13, IL-16, IL-25, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  und GM-CSF), die Einfluss auf IgE-Produktion und Rekrutierung eosinophiler Granulozyten haben (siehe auch 0 und 0), produziert und sezerniert [29]. Der niedrigaffine Fc $\epsilon$ R2-Rezeptor befindet sich auf relativ vielen immunologisch aktiven Zellen (B-Zellen, T-Zellen, Makrophagen, Eosinophilen und Langerhans-Zellen) und scheint eine regulatorische Funktion in der Steuerung der IgE-Immunantwort zu haben [30]. Durch den Einfluss auf die Frühreaktion von Mastzellen und basophilen Granulozyten und indirekt auf die allergische Spätreaktion, durch Einfluss auf andere Effektor-Zellen (Eosinophile, Makrophagen, T-Zellen und B-Zellen) ist IgE ein attraktives Ziel einer antiallergischen und antiasthmatischen Therapie [31]. Gegen IgE gerichtete Therapien beispielsweise in Form monoklonaler Antikörper werden heute bereits erfolgreich eingesetzt [32-34].

### Basophile Granulozyten und Mastzellen

Basophile Granulozyten sind, im Gegensatz zu Mastzellen, normalerweise nicht im Lungengewebe, sondern im peripheren Blut zu finden. Mastzellen kommen in verschiedenen Kompartimenten des Lungengewebes vor, so im Bronchoalveolarraum, an der Basalmembran der kleinen Blutgefäße, in der Schleimhaut und in den Bündeln der glatten Muskelfasern. Die Anwesenheit von Mastzellen in der glatten Muskulatur der Atemwege ist ein Merkmal obstruktiver Lungenerkrankungen [35, 36]. Die Mastzellendichte ist korreliert mit der bronchialen Hyperreagibilität gegenüber Metacholin bzw. Allergenen [35].

Beide Zelltypen sind jedoch höchst mobil und können mit Hilfe zahlreicher gemeinsamer chemotaktischer Rezeptoren ins Gewebe, an den Ort der Entzündung einwandern [37-39]. Basophile Granulozyten und Mastzellen besitzen den hoch affinen IgE-Rezeptor Fc $\epsilon$ R1 und synthetisieren Histamin [40] und viele andere Entzündungsmediatoren. Während Mastzellen jedoch ein breites Chemokin- und Zytokinspektrum produzieren (*siehe oben*), produzieren Basophile neben Leukotrienen nur ein begrenztes Zytokinprofil (IL-4 und IL-13) [41, 42].

Bei beiden Zelltypen führt eine IgE-vermittelte Aktivierung durch Kreuzvernetzung des membranständigen IgEs zu Degranulation, d.h. zur Freisetzung bestimmter vorproduzierter, in den Granula gespeicherten proinflammatorischen Mediatoren (z.B. Histamin) und zur Initiierung der Synthese anderer Mediatoren (siehe oben).



## Eosinophile Granulozyten

Eine eosinophile Infiltration der Atemwege ist charakteristisch für das allergische Asthma. Eosinophile sind im Gewebe der Atemwegswand, im Sputum und in der Flüssigkeit der bronchoalveolaren Lavage (BAL) zu finden [43]. Es besteht ein klarer Zusammenhang zwischen der Eosinophilenzahl im Blut, der asthmatischen Entzündung der Atemwege und klinischen Parametern wie AHR und dem Grad der Atemwegsobstruktion [44, 45].

Eosinophile Granulozyten entwickeln sich aus CD34+ Vorläuferzellen im Knochenmark. Die Differenzierung zu ausgereiften Eosinophilen wird außer von IL-5 auch von *Granulocyte/Monocyte Colony-Stimulating Factor* (GM-CSF), welcher von T- und Endothelzellen stammt und IL-3, welches von Th-Zellen (Typ1 und 2) gebildet wird, reguliert. IL-5 sorgt terminal für das Ausreifen der Zellen. Neben IL-5 bilden aktivierte T-, Epithel- und pulmonale Endothelzellen einen weiteren hochpotenten Chemoattraktor für Eosinophile, das Eotaxin. Dieses sorgt in Verbindung mit IL-5 für die Migration zum Entzündungsort [46, 47]. Außerdem verlängert IL-5 das Überleben der Eosinophilen im Gewebe [48].

Die Rekrutierung an den Entzündungsort beinhaltet den Übertritt aus dem vaskulären Kompartiment in das submucosale Gewebe der Atemwege. Dies setzt zunächst die Bildung von Adhäsionsmolekülen, speziellen Glykoproteinen, auch Integrine genannt und deren Liganden auf vaskulären Endothelzellen bzw. auf Eosinophilen voraus. Ein Beispiel hierfür ist *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) auf vasculären Endothelzellen. Wie Studien mit einem monoklonalen Antikörper gegen ICAM-1 gezeigt haben, erfolgt nach Blockierung von ICAM-1 kein Anstieg der Eosinophilen nach Allergenprovokation in den Atemwegen und es bildet sich keine Hyperreagibilität aus [49]. Leider ist ICAM-1 nicht selektiv für Eosinophile und somit für eine Therapie eher ungeeignet. Erfolgversprechender, da selektiver für Eosinophile, scheinen die Adhäsionsmoleküle VLA4 und *vascular cell adhesion molecule* (VCAM)-1 auf Eosinophilen zu sein [50].

Die biologischen Effekte von Eosinophilen rühren von ihrem reichhaltigen Repertoire an proinflammatorischen und zytotoxischen Substanzen. Zu diesen Substanzen gehören zum Beispiel granuläre kationische Proteine *Major Basic Protein* (MBP) und *Eosinophilic Cationic Protein* (ECP)), Enzyme wie *Matrixmetalloproteasen* (MMP), gewebsschädigende Peroxidasen, Phospholipase wie *Platelet Activating Factor* (PAF), Leukotriene, sowie einige Chemokine und Zytokine [51].

Eosinophile Granulozyten spielen in der Pathophysiologie des Asthmas eine Schlüsselrolle. Die vielfältigen und pathogenetisch relevanten biologischen Eigenschaften eosinophiler Granulozyten machen diese Zellpopulation zu einem attraktiven und zudem relativ

asthmaspezifischen Ziel einer therapeutischen Intervention. Die Behandlung von Asthma-Patienten aller Schweregrade mit inhalativ oder oral verabreichten Glukokortikoiden führt zu einer klinischen Besserung des Asthmas, die mit einem Rückgang der Eosinophilenzahl in Sputum und Gewebe korreliert [52, 53]. Auch konnte gezeigt werden, dass eine Behandlungsstrategie bei Asthma, bei der in Abhängigkeit von der Zahl der Eosinophilen im Sputum die antiinflammatorische Therapie angepasst wird, die Zahl der Asthmaanfälle und Hospitalisierungen gegenüber einer Standardtherapie reduziert [54].

### Neutrophile Granulozyten

Neutrophile sind genau wie Eosinophile und Basophile polymorphkernige Leukozyten. Sie spielen eine essentielle Rolle in der Erstabwehr gegen bakterielle und Pilzinfektionen. Es wurde lange angenommen, dass ihre Rolle im Entzündungsprozess allein in Phagozytose oder der Produktion von Enzymen oder anderen zytotoxischen Agentien läge. Zwischenzeitlich liegen jedoch Hinweise vor, dass neutrophile Granulozyten einige Mediatoren mit profunden Effekten in den Atemwegen von Asthma produzieren und generell bei allergischen Prozessen, insbesondere auch beim Asthma, eine pathophysiologische Rolle spielen können [55].

Erhöhte Neutrophilenzahlen wurden im Sputum, in der BAL-Flüssigkeit und in Biopsien von schweren Asthmatikern gefunden, insbesondere bei Patienten ohne eine nennenswerte Eosinophilie, die schlecht auf inhalative Kortikosteroide ansprechen, sowie während Exazerbationen oder Asthma-Anfällen [56-59].

Ihre biologischen Effekte liegen ebenfalls in einem reichhaltigen Repertoire von Mediatoren begründet, die zu einer Entzündungsreaktion beitragen können. Es besteht in erster Linie aus gewebsschädigenden Enzymen wie Matrixmetalloproteasen (MMP), Peroxidasen und Phospholipiden wie dem *Platelet Activating Factor* (PAF). Darüber hinaus produzieren sie eine Reihe von Chemokinen und Zytokinen [55].

### Monozyten und Makrophagen

Monozyten können in Gegenwart von GM-CSF zu Makrophagen und dendritischen Zellen, die letzteren benötigen zusätzlich IL-4, ausreifen. Beim chronischen Asthma sind Monozyten und Makrophagen die am häufigsten in der Atemwegsschleimhaut vorkommende Zellpopulation und spielen zweifelsfrei eine große Rolle in der Pathogenese der Erkrankung. Während sie eine wichtige Quelle für Leukotriene, reaktive Sauerstoff-Metabolite und verschiedene lysosomale Enzyme sind, ist ihre genaue Rolle bei Gewebsschädigung sowie ihr allgemeiner Beitrag zur Pathologie von Asthma noch unklar. Sie scheinen ähnlich wie Neutrophile eher eine Rolle bei schweren, kortikosteroidresistenten Formen zu spielen [16].

## Zytokine

Zytokine sind extrazelluläre Signalproteine. Sie werden von vielen verschiedenen Zelltypen produziert und sind über hochaffine Oberflächenrezeptoren der Zielzellen an der Zell-Zell-Interaktion beteiligt. Sie beeinflussen Zellen in unmittelbarer Umgebung ihres Ursprungsortes (parakrine Wirkung), Zellen in großer Distanz, (endokrine Wirkung), aber auch ihre eigenen Ursprungszellen (autokrine Wirkung). Sie beeinflussen darüber hinaus ein großes Spektrum von Zellfunktionen wie Aktivierung, Proliferation, Chemotaxis, Immunmodulation, Produktion anderer Zytokine oder Mediatoren, Wachstumsfaktoren, Zelldifferenzierung und Apoptose [60].

Zytokine spielen eine integrale Rolle in der Koordination und dem Fortbestand von Entzündungsprozessen in der chronischen Entzündung der Atemwege bei Asthma. Die chronische Entzündung des Asthmas ist besonders geprägt durch die Infiltration des Atemwegsgewebes mit T-Lymphozyten, Eosinophilen, Makrophagen, Mastzellen und manchmal auch Neutrophilen [58, 61, 62]. Eine besonders wichtige Zytokin-Quelle scheinen T-Zellen, insbesondere T-Helferzellen, zu sein. Dadurch spielen diese eine besonders kritische Rolle in der Pathogenese von Asthma. Die wichtigsten Zytokine, ihre Quelle und ihre Effekte sind in der folgenden Tabelle noch einmal zusammengefasst:

Tabelle 1: Zytokine in der Pathogenese von Asthma

Zytokine	Quelle	Ziel	Effekt oder Funktion
GM-CSF ( <i>Granulocyte/Monocyte Colony-Stimulating Factor</i> )	Aktivierte Makrophagen, T-Zellen	Eosinophile, Neutrophile, Makrophagen	Proliferation, Differenzierung, Aktivierung und Verlängerung der Lebenszeit der Zielzellen; Erhöhung der Zytokinproduktion; Degranulation von Eosinophilen
Interferon- $\gamma$	CD4+ Th <sub>1</sub> -Zellen, NK-Zellen, einige CD8+ T-Zellen	Makrophagen	Differenzierung und Aktivierung von Makrophagen, führt zur Expression von Fc $\gamma$ Rezeptoren, MHC Klasse I und II Molekülen, Stickstoffmonoxid-Synthase, IL-1, Tumornekrose-Faktor
		CD4+ T-Zellen	Zytokinprofilwechsel von Th <sub>2</sub> zu Th <sub>1</sub> , erhöhte Expression von IL-2, verhindert IL-10-Produktion
		CD8+ T-Zellen	Erhöhung der Zytotoxizität von CD8+ T-Zellen
		NK-Zellen	Aktivierung von NK-Zellen
IL-3	T-Zellen	Hämatopoetische Stammzellen	Proliferation und Differenzierung der Zielzellen
IL-4	CD4+ Th <sub>2</sub> -Zellen, CD8+ T-Zellen	B-Zellen	Wachstum und Aktivierung von B-Zellen, IgE-Klassenwechsel
		CD4+ Th <sub>0</sub> -Zellen	Verhinderung der Differenzierung zu Th <sub>1</sub> -Zellen und der Produktion von INF- $\gamma$ Differenzierung zu Th <sub>2</sub>
		CD8+ T-Zellen	Differenzierung, Produktion von IL-5
IL-5	CD4+ T-Zellen, CD8+ T-Zellen	Eosinophile	Proliferation, Chemoattraktion, Adhäsion, Aktivierung, Lebenszeitverlängerung und Degranulation

Zytokine	Quelle	Ziel	Effekt oder Funktion
IL-10	CD4+ T <sub>reg</sub> -Zellen, Th <sub>1</sub> -Zellen, Th <sub>2</sub> -Zellen, CD8+ T-Zellen	Monozyten,  Makrophagen	Differenzierung zu Makrophagen, Verhinderung der Differenzierung zu dendritischen Zellen  Inhibition der MHCII –Moleküle und vieler Adhäsionsmoleküle sowie Verhinderung der IFN- $\gamma$ -Produktion, somit Begünstigung der Th <sub>2</sub> -Immunantwort. Erhöhung der IL-4- Produktion
IL-13	CD4+ Th <sub>2</sub> -Zellen, Th <sub>1</sub> -Zellen, CD8+ T-Zellen	B-Zellen  Monozyten	Wachstum und Aktivierung von B-Zellen, IgE- Klassenwechsel, ähnlich IL-4.  Inhibition der Produktion u.a. von IL-10, IFN- $\gamma$ und GM-CSF
IL-17	CD4+ Th <sub>17</sub> -Zellen	Neutrophile	Chemoattraktion, Adhäsion, Aktivierung, Lebenszeitverlängerung und Degranulation

### 1.2.3 Remodeling

Einige Aspekte der Asthmaerkrankung, insbesondere die hohe Variabilität des Schweregrades, können nicht allein durch die entzündlichen Prozesse der Erkrankung erklärt werden. Im individuellen Langzeitverlauf der Asthmaerkrankung einiger Patienten entwickelt sich eine offensichtlich strukturell begründete, irreversible Atemwegsobstruktion. Dieses Phänomen wird als *Remodeling* bezeichnet. Zwei wesentliche Aspekte führen zum klinischen Bild dieser fixierten obstruktiven Ventilationsstörung:

- Verdickung der bronchialen Basalmembran mit subepithelialer Fibrose
- Zunahme bzw. Hypertrophie der glatten Muskulatur insbesondere der kleinen Atemwege [63].

### 1.2.4 Symptome

Asthma-Symptome sind insbesondere bei intermittierendem oder leichtem Schweregrad der Erkrankung nur episodenhaft vorhanden und selbst dann von variabler Ausprägung. Längere Perioden völliger Beschwerdefreiheit sind möglich. Dies gilt besonders für Patienten

mit allergischem Asthma und Sensibilisierung durch nur saisonal oder intermittierend auftretende Allergene bzw. Arbeitsstoffe. Die wichtigsten Asthma-Symptome sind:

- Atemnot (häufig anfallsartig)
- Giemen
- Husten
- Brustenge [1]

### 1.3 Asthma-Management

Wesentliche Elemente des Asthma-Managements sind:

- eine exakte Diagnose als Grundlage einer effektiven und differenzierten Therapie
- präventive Maßnahmen, besonders die Ausschaltung von Risikofaktoren
- die medikamentöse und nichtmedikamentöse Langzeittherapie
- die Behandlung akuter Exazerbationen bzw. von Asthma-Anfällen [1]

#### 1.3.1 Diagnostik

Die initiale Diagnostik des Asthmas besteht aus der Kombination einer genauen Anamnese und einem hinweisgebenden klinischen Bild. Im Mittelpunkt stehen hierbei Untersuchungen der Lungenfunktion zur Dokumentation einer variablen und zumindest teilweise reversiblen Atemwegobstruktion sowie einer Überempfindlichkeit der Atemwege. Die Verlaufskontrolle dient weitestgehend der Überprüfung der Stabilität der Asthma-Kontrolle.

##### 1.3.1.1 Lungenfunktionsdiagnostik

Das Ausmaß der obstruktiven Ventilationsstörung sowie die funktionelle Reversibilität nach Gabe bronchodilatatorischer (bronchienerweiternder) Medikamente (vor allem Beta2-Sympathikomimetika, Anticholinergika) kann mittels Spirometrie, Analyse von Fluss-Volumen-Diagrammen oder der Ganzkörperplethysmographie sowie durch wiederholte Messungen des expiratorischen Spitzenflusses (*Peak Expiratory Flow*, PEF) dokumentiert werden. Die PEF-Messungen sind besonders für den „Hausgebrauch“ beim Patienten zu empfehlen, da die Messgeräte günstig zu erstehen, besonders handlich und die Manöver unkompliziert durchzuführen sind. Die gemessenen Werte sind den Selbsteinschätzungen der Asthma-Symptome durch die Patienten in vielerlei Hinsicht überlegen [64, 65]. Die aussagekräftigste Messmethode bei Spirometrie und Ganzkörperplethysmographie ist die 1-Sekunden-Kapazität (*Forced Expiratory Volume in 1 second*, FEV1). Sie gibt das Volumen

der forciert ausgeatmeten Luft in einer Sekunde an. Je enger die Bronchien, desto geringer das Volumen, welches in einer Sekunde ausgeatmet werden kann. Die Messung der FEV1 geschieht im Rahmen eines standardisierten Atemmanövers [66, 67]. Die Messung ist von der Mitarbeit der Patienten abhängig, deshalb bedarf es einer genauen Anleitung während des Manövers. Sollwerte berücksichtigenden Alter, Geschlecht, Gewicht und Größe [1]

### 1.3.1.2 Messung der bronchialen Überempfindlichkeit (Hyperreagibilitätstest)

Eine bronchiale Hyperreagibilität auf inhalative Reizstoffe ist ein Charakteristikum des Asthmas. Selbst bei Patienten, die keine weiteren messbaren Einschränkungen der Lungenfunktion aufweisen, ist oft eine Hyperreagibilität als leichteste Form des Asthmas festzustellen. Die Überempfindlichkeit der Atemwege kann durch Provokation mit Metacholin bzw. Histamin, nach Anstrengung (standardisierte Laufbelastung), oder sogar nach Kaltluftinhalation (insbesondere bei Kindern) bestimmt werden. Kriterien zum Nachweis einer AHR ist ein Abfall der FEV1 um mindestens 20% bzw. eine Verdopplung des Atemwegwiderstandes (auf mindestens 0,5 kPa x s/l, bzw. 2,0 kPa x s [1, 68-70]). Je nach verwendeter Methode erfolgt die Quantifizierung über die Angabe der Konzentration bzw. der Dosis der Provokationssubstanz, bei der die FEV1 um 20% abgenommen hat. Der angegebene Wert ist die PC<sub>20</sub> (Provocative Concentration causing a 20% drop of FEV1) [68].

### 1.3.1.3 Allergologische Stufendiagnostik

Die Mehrzahl der Patienten mit Asthma leidet an einem allergischen Asthma. Dem entsprechend ist eine der häufigsten Ursachen der Erkrankung eine Sensibilisierung gegen Allergenen. Deshalb ist eine allergologische Untersuchung zur initialen Diagnostik bzw. bei Auftreten zusätzlicher allergischer Beschwerden im Verlauf zu empfehlen [1]. Diese Untersuchung erfolgt in Stufen. Hierzu gehören neben einer sorgfältigen Allergie-Anamnese, Hauttests (z.B. Prick-Test), die Bestimmung des Gesamt- und spezifischen IgEs im Blut sowie ggf. die nasale bzw. bronchiale Allergen-Provokationen [1].

Prick- (engl. Einstich) Hauttestungen sind das primäre diagnostische Verfahren. Die Bestimmung des spezifischen IgEs im Serum dient der Unterstützung nicht eindeutiger Hauttestergebnisse. Die Bestimmung des Gesamt-IgE-Spiegels kann unter Einschränkung ebenfalls Rückschlüsse auf den Atopie-Status, jedoch nicht auf das zwingende Vorliegen einer Allergie geben, da spezifische IgE-Antikörper oft auch ohne klinische Relevanz vorliegen können („stumme Sensibilisierung“).

#### 1.3.1.4 Labor-Untersuchungen

Untersuchungen des Blutbildes können Hinweise auf den Entzündungsstatus geben. Hierbei ist die Betrachtung der Leukozyten (weißen Blutkörperchen)-Zahlen von Interesse, besonders der neutrophilen und eosinophilen Granulozyten. Erhöhte Eosinophilenzahlen im Blut korrelieren oft mit einem erhöhten Eosinophilenanteil in den Atemwegen, wie vergleichende Blut und Sputumuntersuchungen gezeigt haben [71].

#### 1.3.1.5 Sputum-Untersuchungen

Die Untersuchung des Sputums ist ein weiteres nützliches nicht invasives Werkzeug zur Feststellung und Untersuchung des Entzündungsstatus der Atemwege [72]. Eine Sputum-Probe kann spontan oder durch standardisierte Inhalation von vernebelter, hypertoner Kochsalzlösung [73] abgehustet werden. Lichtmikroskopisch können dann Zellzahlen sowie das Differentialzellbild immunologisch aktiver Zellen wie Eosinophile, Neutrophile, Makrophagen oder Lymphozyten bestimmt werden [74].

#### 1.3.1.6 Exhalierendes Stickstoffmonoxid (NO)

Ein weiterer nicht-invasiver Parameter, der Rückschluss auf den Entzündungsstatus in den Atemwegen geben kann, ist das exhalierendes Stickstoffmonoxid (NO). NO scheint eine Rolle bei der Rekrutierung und Aktivierung (nicht nur) von Eosinophilen zu spielen. Daher kann ein erhöhter NO-Wert in der exhalierenden Atemluft generell auf aktive entzündliche Prozesse der Bronchialschleimhaut und mit Einschränkungen auf einen erhöhten Anteil aktivierter Eosinophiler in den Atemwegen hindeuten [75, 76]. Die NO-Werte sind besonders bei Patienten, die keine Glucocorticosteroide inhalieren, erhöht und eignen sich daher zur Erkennung von Rückfällen nach Reduktion oder Absetzen dieser Medikamente [77, 78]. Die Validität im Rahmen der Asthmadagnostik wurde noch nicht hinreichend gesichert [1].

#### 1.3.1.7 Lebensqualität bei Asthma

Asthma ist eine chronische Erkrankung, die schweregradabhängig zu einer beträchtlichen Einschränkung der physischen, emotionalen und sozialen Aspekte des Lebens von Patienten und Angehörigen führen kann. Darüber hinaus ist der persönliche und volkswirtschaftliche Schaden durch Fehlzeiten in der Schule und am Arbeitsplatz nicht unerheblich. Die Bedeutung emotionaler Faktoren nimmt noch zu, wenn Asthma-Beschwerden nicht adäquat kontrolliert werden können und die medizinische Betreuung unzureichend ist.



Die Erfassung der subjektiv empfundenen, krankheitsbezogenen Lebensqualität ist daher ein wichtiger Bestandteil der Diagnostik. Sie sollte anhand zuverlässiger für die spezifische Gruppe der Asthmapatienten entwickelter Messinstrumente (Lebensqualitäts-Indizes und Fragebögen) erfolgen. Die Instrumente sollten geeignet sein, Veränderungen der Lebensqualität in Abhängigkeit von unterschiedlichen Rahmenbedingungen (z.B. der sozialen Umgebung und des objektiven Gesundheitsstatus) und Therapieverlauf quantitativ abzubilden [1].

### 1.3.2 Schweregrade

Ein Mittel zum adäquaten Management des Asthmas ist die Einteilung in Schweregrade. Prinzipiell kann Asthma auf Grundlage von Symptomen, der Obstruktion der Atemwege sowie der Variabilität der Lungenfunktion in vier Schweregrade eingeteilt werden (**Tabelle 2**).

**Tabelle 2: Schweregrad-Einteilung des stabilen Asthmas bei Erwachsenen [4]**

Schweregrad	Einteilung vor Behandlung	
	Symptomatik	Lungenfunktion
IV Schwergradig persistierend	Anhaltende Symptomatik hoher Intensität und Variabilität Häufig nächtliche Symptome Einschränkung der körperlichen Aktivität Häufige Exazerbationen	$FEV_1 \leq 60\%$ des Sollwertes oder $PEF \leq 60\%$ des Sollwertes  $PEF$ Tageswertvarianz $> 30\%$
III Mittelgradig persistierend	Tägliche Symptome Nächtliche Asthmasymptome $>1x/$ Woche Beeinträchtigung der körperlichen Aktivität und des Schlafs bei Exazerbation Täglicher Bedarf an rasch wirkenden $\beta_2$ -Sympathomimetika	$FEV_1 > 60\% < 80\%$ des Sollwertes  $PEF$ 60-80% des Sollwertes  $PEF$ -Tagesvariabilität $< 30\%$

<b>II</b>  Geringgradig persistierend	1x / Woche < Symptome am Tag < 1x / Tag  Nächtliche Symptome ≤ 2x / Monat  Beeinträchtigung von körperlicher Aktivität und des Schlafes bei Exazerbationen	FEV <sub>1</sub> ≥ 80% des Sollwertes  PEF <sub>1</sub> ≥ 80% des Sollwertes  PEF-Tagesvariabilität >20-30%
<b>I</b>  intermittierend	Intermittierende Symptome (< 1x / Woche)  Nächtliche Asthmasymptome ≤ 2x / Monat  Kurze Exazerbationen (von einigen Stunden bis zu einigen Tagen)	FEV <sub>1</sub> ≥ 80% des Sollwertes  FEV <sub>1</sub> ≥ 80% des Sollwertes  PEF-Tagesvariabilität < 20%

Bereits eines der genannten Kriterien definiert den Schweregrad. Wichtig ist, die gegenwärtige Therapie in die Einschätzung des Schweregrades einzubeziehen, da neben dem Schweregrad der zugrunde liegenden Erkrankung auch das Ansprechen auf die Therapie in die Beurteilung eingeht. Die Beurteilung des Asthma-Schweregrades ist deshalb eigentlich nur im Rahmen der Erstvorstellung therapie-naiver Patienten und im Rahmen von klinischen Studien sinnvoll [79].

### 1.3.3 Asthma-Kontrolle

Ziel der Asthma-Therapie ist es, das Asthma zu kontrollieren und oder die Symptome zu lindern, somit die Lebensqualität der Patienten zu verbessern und zukünftige Risiken durch Exazerbationen, beschleunigte Verschlechterung der Lungenfunktion und Nebenwirkungen der Therapie zu minimieren. Mit diesem Ziel hat die Globale Initiative für Asthma (GINA) Leitlinien zur Behandlung von Asthma definiert, bei denen sich die Therapie nach dem Status der Kontrolle des Asthmas richtet [80]. Es wird zwischen kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma unterschieden. Zur Einstufung in die entsprechende Kategorie werden nicht- klinische Parameter wie tägliche Symptome, Beeinträchtigung im Alltag, nächtliche Symptome und Gebrauch von Notfallmedikation sowie klinische Parameter wie Lungenfunktion und Exazerbationen herangezogen.

Zur Einschätzung der Asthma-Kontrolle sind alle klinischen Parameter, mit Ausnahme der Lungenfunktionstestung, leicht und ohne Hilfsmittel in jeder ärztlichen Praxis zu erfragen (Tabelle 3: Stufen der Asthma-Kontrolle). Validierte Fragebögen, wie der Asthma Control Test (ACT) [81] oder der Asthma Control Questionnaire (ACQ) [82] können dabei zusätzlich

helfen, den aktuellen Asthmakontrollgrad zu erfassen und im Verlauf zu beurteilen. Der Grad der Asthma-Kontrolle soll in regelmäßigen Abständen überprüft werden, um festzustellen, ob die Therapieziele erreicht werden und eine Anpassung der Therapie (Intensivierung/Reduktion) indiziert ist.

Ziel der Asthma-Therapie ist die Kontrolle der Erkrankung. Bei unkontrolliertem oder nur partiell kontrolliertem Asthma wird die Intensität der Therapie so lange erhöht, bis die Kontrolle der Erkrankung erreicht ist. Umgekehrt kann bei längerfristig (> 3 Monate) kontrollierter Erkrankung die Therapie-Intensität graduell bei Erhalt der Asthma-Kontrolle reduziert werden, um die optimale zur Erhaltung der Asthma-Kontrolle notwendige Therapie-Intensität zu erreichen [83, 84].

**Tabelle 3: Stufen der Asthma-Kontrolle**

	Kontrolliert (alle Kriterien erfüllt)	Teilweise kontrolliert (ein Kriterium erfüllt)	unkontrolliert
Tägliche Symptome	keine ( $\leq 2x$ / Woche)	Öfter als $2x$ / Woche	3 oder mehr Kriterien eines teilweise kontrollierten Asthmas erfüllt
Einschränkungen von Aktivität	keine	Einige	
Nächtliche Symptome Erwachen	Keine(s)	Einige	
Gebrauch von Notfallmedikation	keine ( $\leq 2x$ / Woche)	Öfter als $2x$ / Woche	
Lungenfunktion (FEV <sub>1</sub> oder PEF)	Normal ( $> 80\%$ )	$< 80\%$	
Exazerbationen	keine	Eine oder mehrere /	

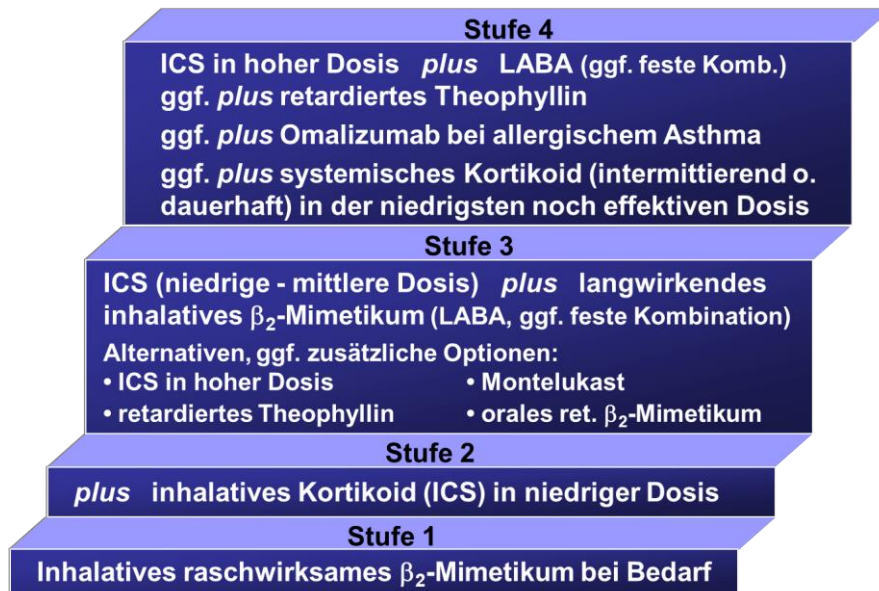
	Kontrolliert (alle Kriterien erfüllt)	Teilweise kontrolliert (ein Kriterium erfüllt)	unkontrolliert
		Jahr	

### 1.3.4 Therapie

Ziel der Asthma-Therapie ist eine optimale Kontrolle der Asthmaerkrankung. Im Einzelnen können folgende Ziele formuliert werden [1]:

- Vermeidung akuter und chronischer Krankheitserscheinungen (z.B. Symptome, Asthma-Anfälle)
- Normalisierung bzw. das Anstreben der bestmöglichen Lungenfunktion und die Reduktion der bronchialen Hyperreagibilität
- Vermeidung einer Progredienz der Krankheit
- Vermeidung von Komplikationen und Folgeschäden
- Vermeidung unerwünschter Wirkungen der Therapie
- Reduktion der Asthma-bedingten Letalität
- Verbesserung der gesundheits- und asthmabezogenen Lebensqualität
- Vermeidung einer krankheitsbedingten Beeinträchtigung der physischen, psychischen und geistigen Entwicklung bei Kindern und Jugendlichen
- Vermeidung krankheitsbedingter Beeinträchtigungen der körperlichen und sozialen Aktivitäten im Alltag

Die medikamentöse Therapie des Asthmas erfolgt auf der Grundlage von Leitlinien stufenweise. Falls mit der aktuellen Therapie keine ausreichende Asthma-Kontrolle erreicht wird, muss die Therapie intensiviert werden. Dies setzt allerdings eine adäquate Mitarbeit des Patienten voraus.



**Abbildung 2: Stufenschema der Asthma-Therapie nach Leitlinie [11]**

Trotz maximaler antientzündlicher und antiobstruktiver Therapie erreichen manche Patienten keine völlige Kontrolle des Asthmas. Diese Patienten sind auf zusätzliche Therapien angewiesen. In den letzten Jahren wurden Therapien mit monoklonalen Antikörpern entwickelt, die sich gezielt gegen pathogenetische Mechanismen klinischer Phänotypen des Syndroms Asthma richten. Beispiele hierfür sind monoklonale Antikörper gegen IgE (Omalizumab), seit 2005 in Deutschland zur Behandlung des schweren, allergischen Asthmas zugelassen [85] und die noch in der Zulassungsprüfung befindlichen Antikörper gegen IL-5 (Mepolizumab und Reslizumab) und gegen IL-17 (Secukinumab).

## 1.4 Ziele der Arbeit

Eine frühzeitige Diagnose und die Identifizierung spezifischer Phänotypen bei Asthma-Patienten unter Berücksichtigung der Schwere der Erkrankung ist die Basis für gezielte und individuelle therapeutische Interventionen. Die unterschiedlichen Therapien zielen auf eine Verbesserung und Stabilisierung der Erkrankung. Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Kurz- und Langzeit-Reproduzierbarkeit verschiedener klinischer Parameter, die zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle herangezogen werden. Hierfür wurden sowohl Patienten mit konstanter als auch sich verbessernder oder verschlechternder Asthma-Kontrolle am Stichtag, nach einer Woche und nach 6 Monaten untersucht mit dem Ziel, klinische Parameter zu identifizieren, die sich bei konstantem Krankheitsbild ebenfalls konstant und

damit reproduzierbar darstellen, sowie Parameter, die besonders sensitiv im Hinblick auf Veränderungen der Asthma-Kontrolle sind. Die untersuchten klinischen Parameter werden täglich in der Praxis eingesetzt und dienen der Diagnostik und Verlaufskontrolle des Asthmas. Hierzu gehören Mess-Parameter der Lungenfunktion (z. B. FEV<sub>1</sub>), der Atemwegsentzündung (z. B. Eosinophile im Sputum, exhalierendes NO) und der daraus resultierenden Hyperreagibilität der Bronchien (PC20), sowie systemische Parameter aus Blutbildanalysen, die auf Entzündungs- und Allergiestatus hinweisen können.

Asthma wird heute als immunologische Erkrankung verstanden. Sowohl die Initiierung als auch die Persistenz wird insbesondere von T-Helferzellen gesteuert. T-Helferzellen werden aufgrund der Zytokine, die sie produzieren, in verschiedene Subklassen eingeteilt. Diese Zytokine modulieren und steuern inflammatorische Prozesse. Th<sub>1</sub>-Zellen tragen durch Produktion von IFN- $\gamma$  in erster Linie zur Infektionsabwehr, bei Asthma am ehesten zu Gewebsschädigung bei schwergradiger Erkrankung bei [16]. Th<sub>2</sub>-Zellen tragen mit den für sie typischen Zytokinen (u.a. IL-4, IL-5 und IL-13) zu allergischen Immunreaktionen bei. Sie begünstigen sowohl die IgE-Synthese als auch die Ausreifung, Differenzierung und Migration von eosinophilen Granulozyten [86]. Th<sub>17</sub>-Zellen tragen durch die Produktion von IL-17 und dessen Einfluss auf neutrophile Granulozyten zum schwergradigen, kortikosteroid-resistenten Asthma bei [19-21]. Ein anderer T-Zelltyp, der zur Immunantwort des Asthmas beitragen kann, sind T-regulatorische Zellen. Diese fördern jedoch keine Inflammation, sondern erzeugen Toleranz. Dies geschieht zum einen direkt über Zell-Zell-Kontakt, zum anderen durch die Produktion von IL-10 [22-29].

Deshalb wurden, um auf immunologischer Ebene ebenfalls Aussagen über die Konstanz und Veränderung der Asthma-Phänotypen treffen zu können, intrazelluläre Zytokine verschiedener T-Helferzellen und T-regulatorischer Zellen mittels Durchflusszytometrie analysiert und den klinischen Parametern der Asthma-Kontrolle gegenübergestellt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Materialien

#### 2.1.1 Patientenkollektiv

In die Studie wurden 120 nicht rauchende Probanden mit ärztlich diagnostiziertem Asthma beiderlei Geschlechts einbezogen, die zu den Untersuchungszeitpunkten Woche 0 und 1 konsistent entweder ein kontrolliertes oder ein nur teilweise bzw. unkontrolliertes Asthma aufwiesen.

Die Patienten wurden in der Klinischen Forschung Pneumologie der III. Medizinischen Klinik der Universitätsmedizin Mainz untersucht.

Letztendlich wurden 76 weibliche und 44 männliche Probanden im Alter von 19 bis 75 Jahren (Mittelwert 47 Jahre, Standardabweichung (SD) 14,3) in die Studie aufgenommen, wovon die meisten Personen aus früheren Studien bekannt waren und nun erneut rekrutiert wurden. Vier Probanden konnten aus persönlichen Gründen an der dritten Visite nicht teilnehmen, eine Probandin nahm nur an der ersten Visite teil; diese Visite(n) wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt. Die durchschnittlichen Charakteristika der Probandinnen und Probanden können Tabelle 4: Patientenkollektiv entnommen werden, eine genaue Aufstellung aller Merkmale und Werte findet sich im Anhang.

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Universitätsmedizin Mainz genehmigt (positives Votum im Anhang, siehe Anlage).

Alle Probanden erhielten eine ausführliche mündliche und schriftliche Aufklärung über Ziele und Ablauf der Studie sowie über mögliche Nebenwirkungen. Die Teilnahme erfolgte freiwillig und mit schriftlichem Einverständnis, ein Abbruch der Studie war jederzeit und ohne Angabe von Gründen für alle Probanden möglich.

**Tabelle 4: Patientenkollektiv**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD
Anzahl der Probanden (n)	120
Geschlecht (m / w)	44 / 76

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD
Alter (Jahre)	47 $\pm$ 14
Größe (cm)	170 $\pm$ 9
Gewicht (kg)	79 $\pm$ 19
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27 $\pm$ 6
Kontrolliert (n;%)	29/24
Teilweise kontrolliert (n;%)	39/32,5
Unkontrolliert (n;%)	52/43
NO (ppb)	30 $\pm$ 26
FEV <sub>1</sub> (l/s)	2,6 $\pm$ 0,9
FEV <sub>1</sub> (% v. Soll)	82,7 $\pm$ 21,3
Neutrophile im Blut (/nl)	4,71 $\pm$ 1,94
Eosinophile im Blut (/nl)	0,25 $\pm$ 0,26
Sputumeosinophile (%)	2,6 $\pm$ 7,7
Ges. IgE (kU/l)	219,6 $\pm$ 460,3
ACQ-7	2,3 $\pm$ 3,5
PC20	97,6 $\pm$ 271,8



## 2.1.2 Labor-/ medizintechnische Geräte

Tabelle 5: Labor- und medizintechnische Geräte

Gerät	Modell	Hersteller
Autoklav	3150 EL	Tuttnauer, USA
Bodyplethysmograph	Jaeger® MasterScreen® Body	Jaeger, Würzburg
Brutschrank	Hera cell 150	Thermo scientific, Dreieich
Digitalwaage	Acculab	Sartorius Group, Göttingen
Dispenser	Handys Step	Brand, Wertheim
Durchflusszytometer	FACS Canto	Becton Dickinson, Heidelberg
Einsatzklammern Zytofuge	BMP Funnel-Clip	Biomedical Polymers, Inc.
ImmunoCAP® Bluttestgerät	uniCAP 100 <sup>e</sup>	Phadia GmbH, Freiburg
Kühlschränke	+4°C -20°C -80°C	
Mikroskop	Leica CME Olympus CK2	Leica, Buffalo New York (USA) Olympus, Hamburg
Pipetierhilfe	Pipetus®	Hirschmann Laborgeräte,

Gerät	Modell	Hersteller
	Macro	Erbstadt Brand GmbH und Co. KG, Wertheim
Probenkammern Zytofuge	Cellfunnel	Tharamac GmbH, Waldsolms
Rollenmischer	RM5	A.Hartenstein GmbH, Würzburg
Rüttler	VF2	IKA®-Werke GmbH&Co. KG, Staufen
Spirometer	Jaeger Masterscope Spirometrie System	Jaeger, Würzburg
Sterilwerkbank	Hera safe	Heraeus instruments, Hanau
Stickoxid-Analysator	Niox Mino®	Aerocrine, Solna (Schweden)
Ultraschallvernebler	Aerosonic® mobil  Omron ultrasonic Nebulizer NE-U17	Flores medical GmbH, Probstzella  Omron Medizintechnik Handelsgesellschaft GmbH Mannheim
Vakuumsaugpumpe	AC	HLC Biotech, Bovenden
Zählhilfe	Handstückzähler	Roth, Karlsruhe

Gerät	Modell	Hersteller
Zählkammer	0,1 mm tief, 0,0025 mm <sup>2</sup>	VWR Darmstadt
Zentrifuge	Megafuge 1.0 R  Megafuge 40R	Thermo electron corporation, Osterode  Thermo Scientific, Dreieich
Zytofuge	Shandon Cytospin 4	Thermo scientific, Astmoor (UK)

### 2.1.3 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien

Material	Bezeichnung	Hersteller
Blutsammelcontainer	7,5 ml Serum-Gel 7,5 ml LI-Hep-Gel 2,7 ml EDTA K S-Monovette®	Sarstedt Ag & Co., Nümbrecht
Einmalspritze	Discardit™ II, 20 ml	Becton Dickinson, Erembodegen, Belgien
FACS-Röhrchen	5 ml Polystyrene Rundbodenröhrchen	Becton Dickinson, Erembodegen, Belgien

Material	Bezeichnung	Hersteller
Handschuhe	Nitril	MaiMed GmbH, Neunkirchen
Kanülen	0,9 mm x 40 mm, Microlance™ 3 0,45x0,25 mm Einmal- Injektions-Kanüle	Becton, Dickensen, Fraga (Spanien) B. Braun Melsungen AG., Melsungen
Kryoröhrchen	CRYO.STM	Greiner, Frickenhausen
Kulturplatten	Falcon Multiwell™ 24well, mit Deckel	Greiner, Frickenhausen
Objektträger	75x 25x1,0 mm	Gerhard-Menzel GmbH, Braunschweig
Parafilm M		Brand GmbH und CO KG, Wertheim
Pasteurpipetten aus Glas	150 mm	Braun, Melsungen
Pipetten und dazugehörige Spitzen	1-10 µl, 10-100 µl, 50- 200 µl, 200-1000 µl	Eppendorf, Hamburg
Polypropylen-Röhrchen	15 / 50 ml	Greiner, Frickenhausen
Präzisions Dispenser-Tips	2,5 / 50 ml	Brand GmbH und CO KG, Wertheim
Prick-Test-Lanzetten		Allergopharma Joachim

Material	Bezeichnung	Hersteller
		Ganze KG, Reinbeck
Reaktionsgefäß	1,5 ml/ 2 ml	Eppendorf, Hamburg
Schmetterlingskanüle	Safty-Lok™ Blood collection set	Becton, Dickenson and Company, Franklinlakes (USA)
Schutzfolie	Parafilm N	Nationalcan™, Chicago (USA)
Stabpipetten	5 / 10 / 25 ml, Cellstar®, steril	Greiner, Frickhausen

## 2.1.4 Chemikalien und Reagenzien

Tabelle 7: Chemikalien und Reagenzien

Substanz	Hersteller
Antibiotic/Antimycotic mit 100 µg/ml	PAA, Cölbe
Aqua dest.	B. Braun, Melsungen
DMSO (Dimethylsulfoxid)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Fetales Kälberserum (FCS)	PAA, Cölbe
Ficoll 1.077	PAA, Cölbe
Foxp3 Staining Buffer Set	eBioscience, Frankfurt

Substanz	Hersteller
Golgi Stop	BD Biosciences, Heidelberg
Hautantiseptikum (Octeniderm®)	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt
Hemacolor Schnellfärbung	Meck, Darmstadt
Heparin-Natrium-2500 (Liquemin®)	Ratiopharm GmbH, Ulm
IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium)	PAA, Cölbe
Isotonische Kochsalzlösungen (0,9%)	B. Braun, Melsungen Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim
Kochsalz (NaCl)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Metacholinchlorid-Lösung 16 mg /ml	Apotheke der Universitätsmedizin Mainz
Natriumazid (NaN <sub>3</sub> )	Merck, Darmstadt
PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)	Invitrogen, Karlsruhe
Trypanblau, 0,4%	Sigma, Steinheim

## 2.1.5 Material und Reagenzien für Serumallergologie

Tabelle 8: Material und Reagenzien für Serumallergologie

Bezeichnung/Einheit	Hersteller
ImmunoCAP Specific IgE Anti-IgE ImmunoCAP	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Specific IgE Calibrators 0-100	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Specific IgE Conjugate 0-100	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Specific IgE Curve Controls	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Specific IgE Control	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Development Solution	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP System Washing Solution	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Stop Solution	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Total IgE Calibrators	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Total IgE Control LMH	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Total IgE Curve Controls	Phadia GmbH, Freiburg
ImmunoCAP Total IgE (Kit)	Phadia GmbH, Freiburg
d1 D. pteronyssinus	Phadia GmbH, Freiburg
d2 D. farinae	Phadia GmbH, Freiburg

Bezeichnung/Einheit	Hersteller
g6 Lieschgras	Phadia GmbH, Freiburg
e1 Katzenschuppen/-epithelien	Phadia GmbH, Freiburg
e5 Hundeschuppen	Phadia GmbH, Freiburg
w6 Beifuss	Phadia GmbH, Freiburg
t3 Birke	Phadia GmbH, Freiburg
m1 Penicillium notatum	Phadia GmbH, Freiburg
m2 Cladosporium herbarum	Phadia GmbH, Freiburg

### 2.1.6 Allergene für Hautallergie-(Prick-)Test

Tabelle 9: Allergene für Hautallergie-(Prick-)Test

Allergen	Hersteller
Kontrolle (enthält Phenol und Glycerol)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Histamine	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Roggen	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Gräserpollen	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Spitzwegerich	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf



Allergen	Hersteller
Gemeiner Beifuß	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Hasel	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Birke	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Erle	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Eiche	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Buche	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Hausstaubmilbe (Dermatophagoides pteronyssinus)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Hausstaubmilbe (Dermatophagoides farinae)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Schimmelpilz (Aspergillus fumigatus)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Schimmelpilz (Penicillium notatum)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Schimmelpilz (Cladosporium Herbarum)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Schimmelpilz (Alternaria alternata)	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Hundepithelien	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Katzenepithelien	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf
Pferdeepithelien	HAL Allergie GmbH , Düsseldorf

## 2.1.7 Antikörper für Durchflusszytometrie

Tabelle 10: Antikörper für Durchflusszytometrie

Antikörper	Klon	Spezifität / Isotyp	Hersteller
CD3-FITC	UCHT1	Maus IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
CD4-Alexa-Fluor 647	MT 310	Maus IgG1	Santa Cruz Biotechnology Inc., Oregon (USA)
CD8-PE	RPA – T8	Maus IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
CD25-FITC	M – A251	Maus IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
IL4-PE	MP4 – 25D2	Ratte IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
IL5-PE	TRFK5	Ratte IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
IL10-PE	JES3 – 19F1	Ratte IgG2a	BD Pharmingen, Heidelberg
IL13-PE	JES10 – 5A12	Ratte IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
IL17A-PE	eBio64CAP17	Maus IgG1	eBioscience, Frankfurt
IFN- $\gamma$ -PE	4S.B3	Maus IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
FoxP <sub>3</sub> -PE	PCH101	Ratte IgG2a	eBioscience, Frankfurt
FoxP <sub>3</sub> -Isotype-PE		Ratte IgG2a	eBioscience, Frankfurt
Isotyp- Kontrolle	R3 – 34	Ratte IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg

## 2.1.8 Antikörper für Zellstimulation

Tabelle 11: Antikörper für Zellsuspension

Antikörper	Klon	Spezifität / Isotyp	Hersteller
CD3	UCHT1	Maus IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg
CD28	CD28.2	Maus IgG1	BD Pharmingen, Heidelberg

## 2.1.9 Puffer, Medien und Zusätze

Die eingesetzten Puffer, Medien und Lösungen wurden, sofern vom Hersteller nicht anders empfohlen, bei 4°C aufbewahrt.

### 2.1.10 Metacholin-Provokation

Die von der Apotheke angelieferte Metacholin-Chlorid-Lösung (16 mg/ml) wurde in 4er Schritten mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnt. Es wurden Lösungen mit 4 mg/ml, 1 mg/ml, 0,25 mg/ml und 0,0625 mg/ml hergestellt.

### 2.1.11 Sputum-Induktion

Zur Sputum-Induktion wurden Kochsalzlösungen mit unterschiedlicher Salzkonzentration hergestellt. Dazu wurde die entsprechende Menge Kochsalz berechnet, eingewogen und in destilliertem Wasser gelöst.

## 2.1.12 Zellkultur

### 2.1.12.1 Plasma

Autologes Plasma der Blutspender befand sich nach der PBMC-Aufreinigung (s. 2.2.3.1 Gewinnung und Isolierung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC's)) im oberen Bereich des Polypropylenröhrchens. Zur Eliminierung unerwünschter Antikörperaktivität wurde das Plasma bei 56°C im Wasserbad 30 min hitzeinaktiviert und im Anschluss 5 min bei 3000 rpm und bei 4°C zentrifugiert.

### 2.1.12.2 Kulturmedium (IMDM „Iscove’s Modified Dulbecco’s Medium“)

Gebrauchsfertiges glutaminhaltiges IMDM wurde mit 1% Antibiotic/Antimycotic versetzt und für die Zellkultur verwendet.

### 2.1.12.3 Humane Antikörper für die Zellkultur

Die humanen Antikörper CD3 (Katalognummer-Nr. MAB100) und CD28 (Katalog-Nr.: 555725 BD Pharmingen) wurden über die klinikinterne Apotheke bestellt und in den angegebenen Konzentrationen in die Zellkultur eingesetzt. Eine Lagerung der Antikörperstocklösungen erfolgte für CD3 bei -20 °C und für CD28 bei +4°C.

## 2.1.13 Zellaufarbeitung

### 2.1.13.1 PBS

Für die Waschschritte bei der PBMC - Gewinnung aus dem Patientenblut wurde gebrauchsfertiges 1xPBS („phosphate buffered saline“) von Gibco, Invitrogen, Karlsruhe verwendet.

## 2.1.14 Durchflusszytometrie

### 2.1.14.1 FACS-Waschpuffer

Für die Waschschritte bei der intrazellulären Antikörperfärbung wurde ein Puffer aus gebrauchsfertigem 1xPBS, 1% fetalen Kälber-Serum und 0,1 % Natriumazid hergestellt.

### 2.1.14.2 Foxp3-Färbepufferset

Das Foxp3-Färbepufferset besteht aus Fixier- und Permeabilisierungspuffer. Die Puffer wurden für den intrazellulären Proteinnachweis nach Herstellerangaben angesetzt und von eBioscience (Bestellnummer: 00-5523) bezogen.

## 2.1.15 Software

Tabelle 12: Analyseprogramme

Programm	Zweck
Labmanager	Am Gerät installiertes Programm zur Berechnung der Lungenfunktion
Phadia IDM	Am Gerät installiertes Programm zur IgE-Messung
Flojo	Auswertung der FACS-Messungen
FACS-Diva	Am FACS-Gerät installiertes Programm zum Auswerten der FACS-Messung
SPSS	Statistische Analyse der Messdaten

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Studiendesign

Im Rahmen der Studie sollten Asthma-Patienten sorgfältig charakterisiert werden. Hierzu wurden zu drei Zeitpunkten (Woche 0, 1 und 24) folgende Untersuchungen durchgeführt:

Erhebung der Krankengeschichte

Erfassung demografischer Daten (Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht)

Erfassung der Medikation

Körperliche Untersuchung

Fragebögen (Asthma Control Questionnaire, ACQ)

NO-Messung

Lungenfunktion mit Reversibilitätstest

Metacholinprovokation

Allergietest

Induziertes Sputum

Blutuntersuchungen: Basislabor und spezielles Labor (insg. 105 ml)

Die Studie dauerte also für jeden Patienten insgesamt ca. 6 Monate. Die durchgeführten Methoden sind gängige Methoden zur Asthmadagnostik und Verlaufskontrolle.

## **2.2.2 Klinische Methoden**

### **2.2.2.1 Stickstoffmonoxid (NO):**

Stickstoffmonoxid (NO) ist ein gasförmiges Molekül, das von dem in 3 Isoformen vorkommenden Enzym NO-Synthase aus L-Arginin hergestellt wird. Diese Synthase sitzt unter anderem in den Epithelzellen der Bronchien, so dass es bei Entzündung der Atemwege, wie beispielsweise beim Asthma, zu einem messbaren Anstieg des exhalieren NOs kommt. NO spielt eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung und Aktivierung von eosinophilen Granulozyten. [75]

#### **Stickstoffmonoxidmessung:**

Zur Messung des NO-Gehaltes der exhalieren Luft wurde ein Niox mino Gerät der Firma Aerocrine verwendet. Die Messung wurde nach dem Protokoll des Herstellers durchgeführt. Die Patienten atmeten zunächst im Sitzen tief durch ein auf das Gerät aufgesetztes Mundstück mit integriertem Filter ein und direkt im Anschluss für 10 Sekunden in einem konstanten Fluss wieder aus. Um eine Kontamination mit NO aus den oberen Atemwegen zu vermeiden wurde die Messung bei geschlossenem Velum durchgeführt. Diese Schließung wird durch das Ausatmen gegen einen konstanten Widerstand erreicht. Die ausgeatmete Luft wurde nach dem Chemilumineszenzverfahren automatisch im Gerät analysiert.



**Abbildung 3: Niox Mino**

### 2.2.2.2 Lungenfunktionsmessung:

Die Messung der Lungenfunktion bei Patienten mit Asthma bronchiale dient in erster Linie dem Nachweis einer Bronchialobstruktion. Dies kann durch bestimmte Atemmanöver wie tiefer Inspiration und forciertes Expiration geschehen [66].

Die Messung der Lungenfunktion mittels der Spirometrie ist von der Mitarbeit des Patienten abhängig und beruht auf der Messung verschiedener Atemvolumina, die dann in Bezug zu Mittelwerten von Menschen gleichen Geschlechts, Alters und gleicher Konstitution (Größe und Gewicht) gesetzt werden. Zusätzlich wird der Atemfluss als Gasströmungsgeschwindigkeit gemessen und gegen das geatmete Volumen aufgetragen. Aus dieser Fluß-Volumen-Kurve können die Atemstromstärken bei verschiedenen Füllungszuständen der Lunge bestimmt werden. Als Methode der Wahl mit besonderen Atemmanövern gilt heute die Bestimmung der FEV<sub>1</sub> (Einsekundenkapazität: maximal in einer Sekunde ausgeatmetes Volumen als Maß für die Weite der Atemwege), da sie gut standardisiert und die Aussage anhand dieses Parameters bestens untersucht ist [66].

#### Lungenfunktionsmessplatz:

Die Lungenfunktionsprüfung erfolgte mit Hilfe des Bodyplethysmographiesystems MasterScreen Body der Firma Jaeger, Würzburg. Das System wurde vor jeder Messung den Herstellerangaben gemäß kalibriert.



Abbildung 4: Bodyplethysmograph MasterScreen

### Praktische Durchführung der Lungenfunktionsmessung:

Die Atemmanöver wurden vor der Messung mit den Patienten besprochen, um eine größtmögliche Reproduzierbarkeit und Vermeidung von Ungenauigkeiten oder Fehlern durch mangelhafte Mitarbeit sicherzustellen.

Der Patient atmete über ein Mundstück in ein Messsystem, während seine Nase durch eine Nasenklemme verschlossen war. Die Messung wurde im Sitzen durchgeführt. Der Patient wurde gebeten, einige normale Atemzüge durchzuführen (Bestimmung des Atemzugvolumens), anschließend wurde ein Verschluss im Gerät freigeschaltet, gegen den der Patient mit einer möglichst normalen Atembewegung atmen sollte (Bestimmung des intrathorakalen Gasvolumens und des Atemwegswiderstandes). Nach Ein- und Ausatmung öffnete sich der Verschluss automatisch und der Patient wurde aufgefordert komplett auszuatmen (Bestimmung des expiratorischen Reservevolumens), dann maximal einzuatmen (Bestimmung des inspiratorischen Reservevolumens) und in einem möglichst festem Atemstoß wieder maximal auszuatmen (Bestimmung des forcierten expiratorischen Volumens in der ersten Sekunde:  $FEV_1$ ). Diese Messungen wurden dreimal wiederholt. Die entsprechenden Bestwerte wurden zur Auswertung verwendet bzw. dienten als Ausgangswerte für weitere Bestimmungen.



### 2.2.2.3 Metacholinprovokation:

Zur Applikation der Metacholin-Dosen wurde der ZAN 200 ProvAir II der Firma ZAN Messgeräte GmbH (nSpire Health Gruppe) verwendet. Bei dem Gerät handelt es sich um ein Dosimetersystem.

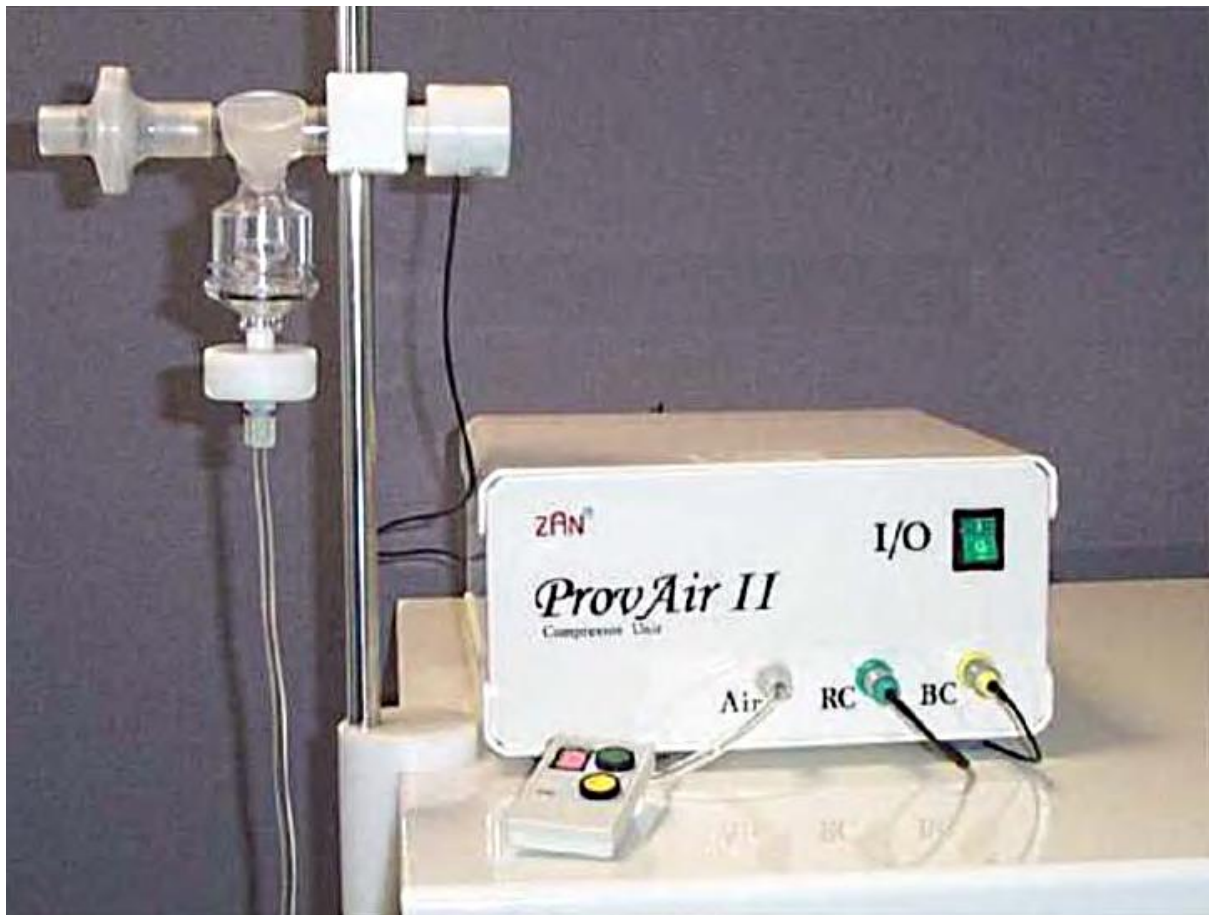


Abbildung 5: Zan Prov Air II

Dies sind Systeme, die automatisch bei Einatmung (atemzuggetriggert) eine definierte Aerosolmenge freisetzen. Ihre Anwendung ist im allgemeinen mit einer besseren Reproduzierbarkeit verbunden als eine vom Patienten selbst aktivierte Vernebelung oder eine Dauervernebelung mit Ruheatmung [68]. Nach Einschalten des Gerätes ist der Kompressor nach wenigen Sekunden betriebsbereit. Vor jeder Vernebelung muss die Starttaste auf der Fernbedienung betätigt werden.

Die Nase des Patienten ist mittels einer Nasenklemme zu verschließen. Wenn der Patient anschließend vertieft einatmet, wird, durch den Atemsensor getriggert, die Vernebelung der Provokationssubstanz während der Inspiration für 0,6 Sekunden automatisch ausgelöst. Am Ende der Inspiration sollte der Patient jeweils für einige weitere Sekunden die Luft anhalten, um eine adäquate Deposition der Provokationssubstanz in den peripheren Atemwegen zu

gewährleisten [69]. Der Betriebsdruck beträgt 2,4 bar +/- 5%, der Flow 7 l/min +/- 5%. Die Einatmung erfolgt nur über das Verneblersystem. Die Partikelgröße beträgt laut Herstellerangaben 0,3 - 0,5 µm. Vor jeder Vernebelung ist die Start-Taste erneut zu betätigen. Die Anzahl der Verneblungen wird bis zehn Verneblungen in der Anzeige auf der Fernbedienung mitgezählt. Aus der ausgeatmeten Luft wird mittels eines Atemfilters, dem ein Einwegventil vorgeschaltet ist, die Provokationssubstanz herausgefiltert, um die Kontamination der Raumluft so minimal als möglich zu halten. Auch eine Rückatmung durch den Probanden ist somit nicht möglich.

#### Provokationssubstanz:

Metacholin, ein β-Methyl-Derivat des Acetylcholins aus der Gruppe der quartären Ammoniumverbindungen, ist ein Wirkstoff aus der Gruppe der langsam hydrolysierenden Muskarinrezeptor-Agonisten. Die Substanz ist unter den Handelsnamen Provocholine® oder Provokit® für inhalative Provokationstests zu beziehen. Pharmakokinetisch wird Metacholin langsamer durch Cholinesterasen abgebaut als Acetylcholin. Synonyme sind Acetylmethylcholin oder 2-Acetyloxypropyl-trimethyl-azanium (IUPACNomenklatur).

Aufgrund seiner Eigenschaft als direktes Parasympathomimetikum und damit Bronchokonstriktor wird es als gängigste Testsubstanz zur unspezifischen Provokationstestung verwendet. Für den Provokationstest wird Metacholinchlorid (engl.: Metacholine chloride) verwendet. Der chemische Name nach IUPAC lautet: 2-Acetoxypropyltrimethylammoniumchlorid. Es handelt sich um farblose Kristalle oder weißes, kristallines Pulver, welches stark hygroskopisch und hydrophil und daher in Wasser sehr leicht löslich, in Ethanol 96 % leicht löslich und in Diethylether unlöslich ist. Der Schmelzpunkt liegt bei 172 - 173 °C. Die lineare Formel von Metacholinchlorid lautet  $\text{CH}_3\text{COOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}(\text{Cl})(\text{CH}_3)_3$ , die Summenformel lautet  $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{ClNO}_2$ , das molekulare Gewicht beträgt 195.69 g/mol (Wikipedia, 2009a).

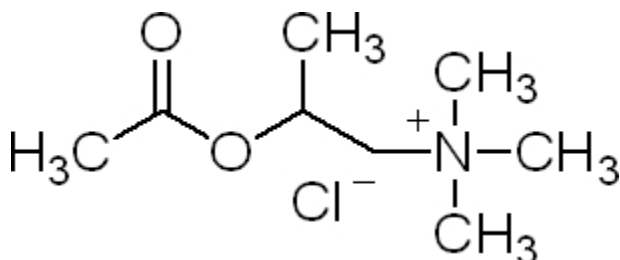


Abbildung 6: Metacholin, Strukturformel

### Provokationsprotokoll:

Es wurden verschiedene Verdünnungsstufen der Metacholinchloridlösung verwendet, wobei die Konzentrationsstufen vervierfacht wurden. Die 5 verwendeten Konzentrationen lagen zwischen 0,0625 und 16 mg/ml. Pro Stufe wurden 5 Atemzüge inhaliert.[68, 70]

Zunächst wurde bei allen Probanden und Patienten eine Ausgangslungenfunktion gemessen. Danach wurde mit der Inhalation der kleinsten Verdünnungsstufe (0,0625 mg/ml) begonnen. Nach Inhalation der jeweiligen Dosisstufe wurde nach 90 Sekunden mit der Lungenfunktionsmessung begonnen.

Im Anschluss wurde die Verneblerkammer gründlich mit Wasser ausgewaschen und trockengerieben, um eine weitere Verdünnung der nächsten Stufe durch Rückstände zu vermeiden. Danach erfolgte die Inhalation der nächsten Dosisstufe.

Die Untersuchung wurde abgebrochen, wenn die FEV1 um 20 % vom Ausgangswert abgefallen war.

Wenn es einen Abfall der FEV1 gab, wurden anschließend zwei Hübe eines kurzwirksamen  $\beta$ 2-Mimetikums zur Bronchodilatation appliziert und nach ca. 20 Minuten eine erneute Lungenfunktionsmessung durchgeführt.

Abschließend wurde die sog. Provokationskonzentration 20 FEV1 (PC20FEV1) ermittelt.

### 2.2.2.4 Sputum

Durch die Auswertung von aus Sputumproben hergestellten Differentialzellbildern (Zytospins) lässt sich ein konkreter Überblick über die durch die asthmatische Entzündung der oberen Atemwege verursachte Zellmigration gewinnen, ohne invasives Vorgehen.

### Sputum-Induktion

Für die Durchführung der Sputum-Induktion wurde ein Standardverfahren nach Pin *et al.* [87] angewandt. Grundlage der Sputum-Induktion ist eine Mobilisierung von Zellen und Sekreten der bronchialen Schleimhaut durch Einatmen hypertoner Kochsalz-Lösung. Zu diesem Zweck inhalierten die Patienten über einen Zeitraum von 5 Minuten hypertone NaCl-Aerosole ein, die mit Hilfe eines Ultraschallverneblers (Eorsonic mobil Flores medical GmbH; 07330 Probstella, Deutschland oder Ultra sonic Nebulizer NE-U17 Omron Medizintechnik Handelsgesellschaft GmbH, Mannheim, Deutschland) erzeugt wurden. Im Anschluss an die Inhalation wurden die Probanden aufgefordert, Mund und Rachen gründlich mit Wasser auszuspülen, die Nase zu putzen, um abgeschilferte, tote Epithelzellen aus Mund-, Nasen-

und Rachenraum zu entfernen und durch stoßartiges Ausatmen (ähnlich dem FEV<sub>1</sub>-Manöver) das Sputum in eine Plastikpetrischale zu expektorieren. In seltenen Fällen kann die Sputum-Induktion mit obstruktiven Atemwegsproblemen einhergehen, so dass vorbeugend vor und nach jeder NaCl-Inhalation eine Lungenfunktionsprüfung mit Hilfe eines Spirometers (Firma Jaeger, Würzburg, Deutschland) durchgeführt wurde. Ein Abfall der FEV<sub>1</sub> von > 20% vom Ausgangswert galt als absolutes Abbruchkriterium. War dies nicht der Fall wurde die Inhalation mit Kochsalz bis zu insgesamt 3mal fortgesetzt. Die Konzentrationen der Inhalationslösungen wurden nach jedem Durchgang gesteigert, beginnend mit 3%, 4%, bis zu 5% NaCl-Gehalt.

### Sputum-Aufbereitung und –zytologie

Die Sputum-Aufbereitung erfolgte in modifizierter Form [88] nach den standardisierten Vorgaben von Holz *et al.* [89]. Unter Mikroskopsicht wurden die Sputumflocken mittels Pinzette sorgfältig von dem flüssigen Speichel getrennt. Für eine Isolierung der Zellen aus dem Sputum, einem mukösen Konglomerat aus Muzinen und Zellen der bronchialen Schleimhaut, ist es notwendig, Disulfidbrücken der darin enthaltenen Proteoglykane aufzuspalten. Ein diesbezüglich geeignetes Agens stellt Dithiothreitol (Bestandteil von Sputolysin) dar [90]. Hierzu wurde zunächst ein 15 ml Polypropylenröhrchen (Falcon-Tube) gewogen und eine angemessene Sputumprobe hinein gegeben, erneut gewogen und mit dem Vierfachen des Sputumvolumens an Sputolysin (1 Teil Sputolysin + 9 Teile dest. H<sub>2</sub>O) mittels Vortex und einer 1-ml-Pipette vorsichtig gemischt und 15 Minuten auf einen Rollenmischer gelegt, um eine homogene Lösung zu erhalten.

Im Anschluss an die Inkubation wurde ebenfalls die vierfache Menge des Sputumgewichts an PBS hinzugegeben. Die Zellsuspension wurde anschließend in ein neues, zuvor eingewogenes 15 ml Falcon-Tube durch einen Filter überführt und für 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde separiert, bei 3000 U/min 5 Minuten erneut zentrifugiert und in mehrere 1500 µl Eppendorf Cups für spätere Analysen bei –80°C eingefroren (Aliquotierung zu mindestens 200 µl Portionen).

Das verbliebene Zellpellet wurde gewogen und mit 200 – 500 µl PBS je nach Menge des Zellpellets resuspendiert. Die Bestimmung der Zellzahl erfolgte mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer. Zu diesem Zweck wurden 10 µl dieser Suspension mit 10 µl des Vitalfarbstoffs Trypan-Blau versetzt. 10 µl der Zell-Suspension wurden in eine Neubauer-Zählkammer gegeben und unter Berücksichtigung der Zellvitalität (lebende Zellen: hyaline Erscheinung, tote Zellen: blau-violette Färbung) in einem großen Quadrat (16 kleine Quadrate) ausgewertet. Die Plattenepithelzellen wurden gesondert zur Beurteilung der Sputumqualität

herangezogen. Das Auszählen der Zellen erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops. Aus der Zahl der vitalen Zellen wurde die Zellzahl pro ml Sputum errechnet.

Für die Zytospins wurde eine ausreichende Menge an Sputumsuspension genommen, um eine Mindestzahl von 30.000 Zellen pro Zytospin zu erhalten. Gegebenenfalls wurde die benötigte Menge Zellsuspension mit PBS auf 100 µl aufgefüllt. Die Zellen wurden über 4 Minuten bei 400 U/min auf einen Objektträger zentrifugiert.

Nach einer Trockenzeit an der Luft von mindestens 5 Minuten erfolgte eine Methanolfixierung. Hierzu wurden die Objektträger fünf Mal für jeweils 1 - 2 Sekunden in die Fixierlösung getaucht und anschließend mindestens 5 Minuten luftgetrocknet. In dieser Phase ist eine Zwischenlagerung bis zur weiteren Verarbeitung möglich. Die Färbung der Zellpräparate erfolgte mit Hemacolor Schnellfärbung. Hierzu wurden die Objektträger nach abgeschlossener Fixierung zunächst fünfmal für jeweils 1 – 2 Sekunden in Lösung 1, in direktem Anschluss in gleichem Verfahren in Lösung 2 getaucht und mit einem Puffer (nach Weise) abgespült und getrocknet.

Zur Auswertung der Präparate wurden mindestens 100 Zellen an einem Mikroskop durch zwei unabhängige Auswerter analysiert. Zur Auswertung gelangten Epithelzellen, Makrophagen, neutrophile und eosinophile Granulozyten und Lymphozyten; der jeweilige Anteil an „Nicht-Epithelzellen“ wurde dann relativ zur Gesamtzahl angegeben.

### 2.2.2.5 Allergologie

Zum Nachweis von einer allergischen Sensibilisierung wurden zwei gängige Verfahren verwendet: Haut-Prick-Test und Gesamt- und Spezifische-Serum-IgE-Bestimmung.

#### Prick-Test

Der Pricktest (englisch: prick = Einstich) dient zum Nachweis einer sogenannten Typ-I-Allergie, wie zum Beispiel einer Sensibilisierung gegenüber Pollen oder Tierhaaren. Hierfür wurde ein Tropfen eines definierten Allergenextrakts (ALK-Abello Arzneimittel GmbH) auf die volare Seite des Unterarms aufgetropft und diese anschließend mit einer Lanzette leicht angeritzt, sodass die jeweiligen Substanzen in die Oberhaut eindringen konnten. Zum Vergleich wurden eine Negativkontrolle (Kochsalzlösung) und eine Positivkontrolle (verdünnte Histaminlösung) mit durchgeführt.

Bei einem positiven Ergebnis entsteht nach 15 bis 20 Minuten eine Quaddel mit umgebendem Rötungshof. Notiert wurde jeweils der Quaddeldurchmesser und mit dem der

Positivkontrolle verglichen. Hierbei wurden für vergleichsweise kleine Quaddeln ein + notiert, für gleichgroße zwei ++ und für größere drei +++.

### Bestimmung von Gesamt und spezifischem Serum-IgE

Die Gesamt-IgE- und Spezifische-IgE-Bestimmung (Referenzbereich <100 kU/L) wurde mit einem Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay (FIA) durchgeführt. Es handelt sich um eine quantitative Untersuchung, die die Konzentration des Gesamt- und Spezifischen-IgE's in Serum oder Plasma-Proben bestimmt. Benutzt wurde das UniCAP100® IgE-System der Firma Phadia GmbH (Freiburg, Deutschland).

### Bestimmung des Atopiestatus

Ein positiver Atopiestatus wurde über einen positiven Prick-Test auf Aeroallergene der Umwelt und/oder einen positiven spezifischen IgE-Test im Serum definiert.

### Blutentnahme

Zur Bestimmung des Serum IgE's und Gewinnung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC's) wurde allem Patienten ca. 105 ml venöses Blut aus der Armbeuge [70] entnommen.

#### 2.2.2.6 Bestimmung von Basislaborwerten

Zur Bestimmung von Basislaborwerten einschließlich des Anteils eosinophiler oder neutrophiler Granulozyten am Differentialzellbild des peripheren Blutes wurde jeweils ein Blutsammelcontainer (7,5 ml Serum-Gel, 7,5 ml LI-Hep-Gel, 2,7 ml EDTA K) in das Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz geschickt und dort mittels automatisierter Standardverfahren analysiert.

### Bestimmung eosinophile Granulozyten

Das Vorliegen einer Eosinophilie wurde über einen Eosinophilenanteil von >0,3 /nl Blut definiert.

#### 2.2.2.7 Bestimmung der Asthma-Kontrolle

Nach den klinischen Untersuchungen wurde vom Prüfer der Status der Asthma-Kontrolle nach Definition der *Global Initiative for Asthma* (GINA) beurteilt. Die von der GINA vorgegebenen Kriterien sind:

das Auftreten von täglichen Symptomen öfter als 2-mal pro Woche,

das Auftreten von nächtlichen Symptomen,

Beeinträchtigung im Alltag,

der Gebrauch von Notfallmedikation,

Ergebnisse von Lungenfunktionstests ( $FEV_1$  größer oder kleiner 80% vom Soll),

die Häufigkeit von Asthma-Exazerbationen [80, 84, 91]

Man unterscheidet zwischen kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma. Kontrollierte Patienten durften keines dieser Kriterien aufweisen, teilweise kontrollierte Patienten maximal 2. Das Erfüllen von 3 oder mehr dieser Merkmale bedeutet das Vorliegen eines unkontrollierten Asthmas.

### **2.2.3 Zellbiologische Methoden**

Sowohl die Isolation als auch die Stimulation von Zellen geschah unter sterilen Bedingungen. Hierzu wurden sämtliche Arbeiten an einer sterilen Werkbank durchgeführt und ausschließlich sterile Verbrauchsmaterialien verwendet. Die Materialien wurden entweder steril vom Hersteller geliefert oder vor Gebrauch im laboreigenen Autoklaven sterilisiert. Festkörper wurden bei 121°C bei 3 bar für 20 Minuten autoklaviert. Flüssigkeiten wurden mit sterilen Spritzenfiltern oder unter Verwendung von Filtereinheiten sterilisiert. Die Sterilisation gläserner Gebrauchsmaterialien erfolgte für 3 Stunden bei 180°C.

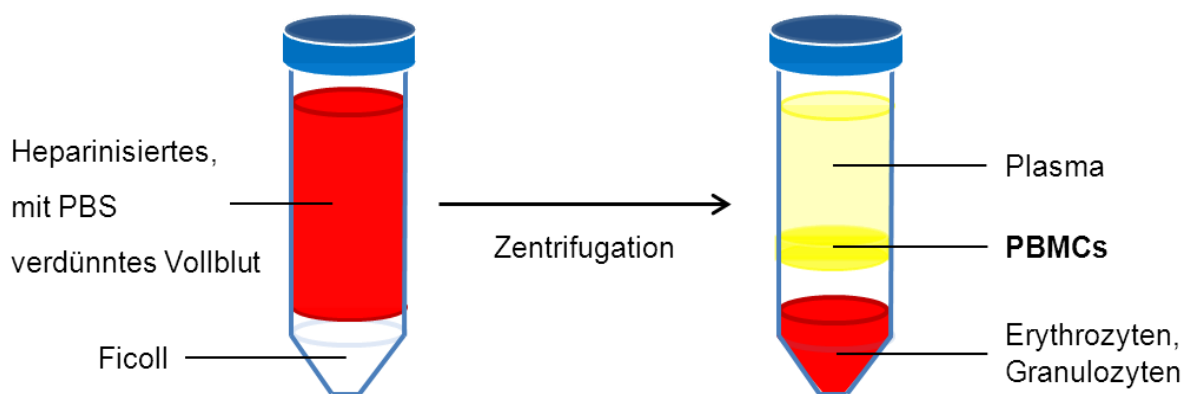
#### **2.2.3.1 Gewinnung und Isolierung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC's)**

PBMC's wurden aus 80 ml frischem Vollblut des jeweiligen Patienten gewonnen. Das Blut wurde zunächst in 20 ml Spritzen gesammelt, die zuvor (unter sterilen Bedingungen) mit etwa 50 µl Natrium-Heparin befüllt worden waren, um der schnell einsetzenden Blutgerinnung entgegenzuwirken. Die Aufreinigung der humanen PBMCs erfolgte bis spätestens 2 Stunden nach der Blutentnahme.

Die Isolierung selbst erfolgte mittels Dichtegradientenzentrifugation über Ficoll [92]. Hierzu wurde das Blut auf vier 50 ml- Röhren, die zuvor mit PBS befüllt und auf 36 °C vorgewärmt worden waren, aufgeteilt. Das Blut-PBS-Gemisch wurde dann vorsichtig mit 10 ml Ficoll unterschichtet, wobei ein Vermischen der beiden Phasen vermieden wurde. Es erfolgte eine Zentrifugation bei 2.000 U/min für 20 min bei Raumtemperatur (RT) und abgeschalteter Bremse. Nach Abschluss dieses Vorganges war eine deutliche Phasenauffrennung sichtbar. Im Röhren ganz oben auf Grund der geringsten Dichte

sammelten sich die flüssigen und löslichen Bestandteile des Blutes (Plasma) sowie Thrombozyten. Unter dem Blutplasma befanden sich in einem dünnen Ring die PBMC`s, vorwiegend Lymphozyten und Monozyten. Direkt darunter befand sich eine klare Phase, welche das ursprünglich untergeschichtete Ficoll darstellte. Am Boden des Röhrchens befanden sich Erythro- und Granulozyten.

Aus einem der Röhrchen wurden dann ca. 10 ml Serum entnommen. Dieses Serum wurde später für die Zellkultur benötigt (siehe 2.2.3.4 Kultivierung und Stimulierung von PBMC`s). Zur Gewinnung der PBMCs wurden diese nun vorsichtig mit einer Stabpipette aufgenommen und in ein neues 50 ml-Röhrchen mit PBS übertragen und vorsichtig bei 1400 U/min und 4 °C bei eingeschalteter Bremse zentrifugiert. Danach wurde der Überstand vorsichtig dekantiert und verworfen, anschließend das Zellpellet wie zuvor gewaschen. Hiernach wurde der Überstand abgeschüttet. Im Anschluss daran wurde die Lebendzellzahl bestimmt und die Zellen mit Kulturmedium auf  $2 \times 10^7$  Zellen / ml eingestellt.



**Abbildung 7: PBMC Isolierung mit Ficoll**

### 2.2.3.2 Ermittlung der Lebendzellzahl

Zur Bestimmung der Anzahl lebender Zellen aus dem Blut wurden zunächst 10 µl der Zellsuspension 1:10 in 6%iger Essigsäure verdünnt und gut resuspendiert, um die noch vorhandenen Erythrozyten zu lysieren. Dieser Schritt wurde bei Suspensionen, die keine Erythrozyten enthielten, weggelassen. Die folgenden Schritte waren für Suspensionen mit und ohne Erythrozyten gleich. Sie wurden 1:10 in Trypanblau verdünnt. Die gut resuspendierte Verdünnung wurde dann in die Neubauer-Zählkammer pipettiert. Trypanblau durchdringt die Zellmembran toter Zellen und bindet an Proteine des Zytoplasmas. Tote Zellen werden somit unter dem Mikroskop durch ihre blaue Färbung von lebenden Zellen differenzierbar. In der Zählkammer von Neubauer befinden sich vier größere Quadrate, bestehend aus 16 Kleinquadraten. Zur Bestimmung der Lebendzellzahl wurde mindestens



eines der vier Kleinquadrate ausgezählt, wobei die toten, blau gefärbten Zellen ausgelassen wurden. Die Zellzahl konnte dann mit folgender Formel berechnet werden:

$$\frac{\text{Zellzahl der 16 Kleinquadrate}}{\text{Anzahl größere Quadrate}} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times \text{Kammerfaktor} (10^4) = \text{Zellzahl / ml}$$

### 2.2.3.3 Einfrieren und Auftauen von Zellen

Überschüssige PBMCs wurden für mögliche spätere Experimente bei  $-80^{\circ}\text{C}$  kryokonserviert. In einem Kryoröhrchen konnten bis zu  $1 \times 10^8$  Zellen eingefroren werden. Dafür wurden die Zellen zentrifugiert und in  $450 \mu\text{l}$  Zellkulturmedium aufgenommen. Dazu wurden  $450 \mu\text{l}$  autologes Plasma pipettiert. Nach Zugabe von  $100 \mu\text{l}$  DMSO wurde das Röhrchen invertiert und unverzüglich bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. DMSO wirkt als Gefrierschutz, der die Bildung von Eiskristallen, welche die Zellen zerstören würden, verhindert. Aufgrund seiner Toxizität ist das sofortige Einfrieren nach Zugabe unverzichtbar.

### 2.2.3.4 Kultivierung und Stimulierung von PBMC's

Zur Stimulierung der isolierten PBMC's wurden zunächst  $800 \mu\text{l}$  Zellkulturmedium in eine 24-Loch-Zellkulturplatte vorgelegt, anschließend wurden  $150 \mu\text{l}$  aus der zuvor hergestellten Zellsuspension ( $3 \times 10^6$  Zellen) dazu gegeben.

Zusätzlich wurde in jedes mit Zellen versehene Loch der Platte  $50 \mu\text{l}$  des inaktivierten Serums gegeben. Ein Teil der Zellen wurde anschließend noch mit  $0,33 \mu\text{g}$  anti-CD3 und  $1 \mu\text{g}$  anti-CD28 Antikörper behandelt, um einen physiologischen Reiz via T-Zellrezeptor Komplex (antigenpräsentierenden dendritischen Zellkontakt) zu simulieren und somit die Zytokinproduktion anzuregen. So behandelt wurden die Zellkulturplatten bei  $37^{\circ}\text{C}$  im Brutschrank unter 5%  $\text{CO}_2$ -Begasung in gesättigter Wasserdampfatmosphäre über Nacht verwahrt.

Am nächsten Morgen wurden die Platten aus dem Brutschrank entnommen und alle Zellen mit einer Endkonzentration von  $1 \mu\text{l/ml}$  Ionomycin,  $50 \text{ ng/ml}$  Phorbol 12-myristat 13-acetat (PMA) und  $0,7 \mu\text{l/ml}$  GolgiStop<sup>TM</sup> behandelt. PMA aktiviert die Protein Kinase C und Ionomycin ist ein Calcium Ionophor, beide aktivieren verschiedene intrazelluläre Signaltransduktionswege, die die Produktion unterschiedlicher Zytokine fördern [93]. Die Zugabe von GolgiStop<sup>TM</sup> blockiert die intrazellulären Protein-Transport-Prozesse und führt zu einer Anhäufung der von der Zelle produzierten Zytokin-Proteine und erhöht so ihre Detektierbarkeit mittels FACS-Analyse [94-97]. Nach dieser Behandlung kamen die Zellen für weitere 4 Stunden Inkubation zurück in den Brutschrank. Im Anschluss an diese Inkubationszeit wurden die Zellen entsprechend ihrer Behandlung vereinigt und mittels Antikörperfärbung für die FACS-Analyse vorbereitet.

### 2.2.3.5 FACS-Analyse

Die Durchflusszytometrie, die oft auch als FACS-Analyse („Fluorescent activated cell sorting“) bezeichnet wird, ist ein optisches Verfahren, das eine schnelle Bestimmung zellspezifischer Parameter erlaubt. Dabei wird in einem hydrodynamischen System ein Flüssigkeitsstrom erzeugt. In diesem Flüssigkeitsstrom werden einzelne Zellen, die zuvor mit Fluorochrom-gekoppelten Antikörpern gefärbt wurden, separat an einem Beobachtungspunkt vorbeigeführt. An diesem Beobachtungspunkt wird ein durch Laser erzeugtes Licht eingestrahlt. Basierend auf Lichtstreuungseffekten durch Größe und Granularität der Zellen und Floreszenzen der verwendeten Färbeantikörper werden die spezifischen Messgrößen einzelner Zellen erfasst. Das Verfahren ermöglicht ebenfalls die Sortierung von Zellen eines spezifischen Phänotyps aus einer heterogenen Zellsuspension.

Generell werden die Größe und Granularität detektiert. Die Größe wird mit Hilfe der Beugung des Lichtes, auch als Vorwärtsstreulicht (FSC, „Forward Scatter“) bezeichnet, dargestellt. Die Granularität wird durch die Brechung des Lichts im 90°-Winkel zur Laserachse, auch Seitwärtsstreulicht (SSC, „Side Scatter“) genannt, dargestellt. Durch die extra- und intrazelluläre Bindung der Fluorochrom-markierten Antikörper lassen sich die Zellen genauer klassifizieren. Zur exakten Bestimmung bestimmter Zelltypen werden oft mehrere Merkmale benötigt. Dazu werden Antikörper mit unterschiedlichen Farbstoffen (Fluorochromen) gleichzeitig eingesetzt. Das Licht des eingesetzten Lasers ist monochromatisch und somit von einer ganz bestimmten Wellenlänge. Die verschiedenen Fluorochrome absorbieren jeweils einen ganz bestimmten Teil dieses Lichtes. Das „übrige“, emittierte Licht hat nun auch wieder eine ganz spezifische Wellenlänge und wird in einem komplexen System aus Filtern, Spiegeln und Linsen getrennt und in verschiedenen Fluoreszenzkanälen detektiert. Die hierbei entstehenden Überlappungen der Wellenlängen der verschiedenen Lichtemissionen müssen durch sogenannte „Kompensation“ herausgerechnet werden, da sonst auch Ergebnisse (Zellen) in einem nicht vorgesehenem Kanal detektiert würden [98].

### Zellanalyse mittels FACS

Die gefärbten und fixierten Zellen wurden mittels Durchflusszytometrie (FACS = Fluorescence Activated Cell Sorting) in der Tumor Vakzinations Zentrale der Universitätsmedizin Mainz analysiert. Für die Erfassung der Daten stand die FACS Diva Software zur Verfügung. Zur qualitativen und quantitativen Auswertung wurde die Flowjo-Software 7.6.1 (Treestar) verwendet.

### Extrazelluläre FACS-Färbung von PBMC's

Durch extrazelluläre Antikörperfärbung lassen sich auf Grund spezifischer Oberflächenmarker verschiedene Zellpopulationen differenzieren. In dieser Arbeit wurden PBMC's aus dem Vollblut der Patienten analysiert. Genauer sollte die Zytokinin-Produktion von T-Zellen und hierbei die Untergruppe der T-Helferzellen betrachtet werden. Um diese zu detektieren wurden Antikörper verwendet, die für die oberflächenständigen Marker CD3 für T-Zellen und CD4 für Helferzellen spezifisch sind. Sowohl vom CD3 als auch vom CD4 Antikörper wurden 25 µl des 1:40 vorverdünnten Antikörpers zu den Zellen gegeben. Die Färbung selbst wurde gleichzeitig mit der intrazellulären Färbung (s. 0 Intrazelluläre FACS-Färbung von PBMC's) durchgeführt.

### Intrazelluläre FACS-Färbung von PBMC's

Für die Intrazelluläre Färbung der Zytokine wurde ein Foxp<sup>3</sup> Färbepufferset verwendet. Dieses ist prinzipiell zur Färbung des Transkriptionsfaktors Foxp<sup>3</sup> vorgesehen, kann aber auch laut Hersteller für den Nachweis andere intrazellulärer Proteine verwendet werden. Die Färbung insgesamt wurde nach den Angaben des Herstellers durchgeführt.

Nach der Isolierung (s. 2.2.3.1 Gewinnung und Isolierung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC's) und Stimulierung (s. 2.2.3.4 Kultivierung und Stimulierung von PBMC's) wurden die Zellen der unterschiedlich behandelten Gruppen jeweils in einem 5 ml FACS- Röhren vereinigt und für 5 Minuten bei 1400 U/min zentrifugiert.

Anschließend wurden die Zellpellets der verschiedenen Ansätze zur Fixierung und Permeabilisierung jeweils mit 1 ml /  $3 \times 10^6$  Zellen Fixierpuffer resuspendiert und für 30 Minuten bei 4°C in Dunkelheit inkubiert. Im Anschluss daran wurden sie mit jeweils 2 ml FACS- Waschpuffer gewaschen. Nach der Fixierung wurden die Zellen mit dem zuvor frisch mit destilliertem Wasser angesetzten (1:10) Permeabilisierungspuffer für 5 Minuten permeabilisiert. Dies macht die Zellmembran durchgängig für die Antikörper während des Färbeprozesses. Während dieser Inkubationszeit wurden die Zellen auf neue FACS-Röhren aufgeteilt. Hierzu wurden jeweils 300 µl, also  $9 \times 10^5$  Zellen der entsprechenden Ansätze in die neuen Röhren gegeben, zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Zellpellet vorsichtig aufgebrochen. Danach wurden für die intrazelluläre Zytokinfärbung jeweils 25 µl des zuvor 1:20 vorverdünnten Zytokinantikörpers (IL-4, IL-5, IL-10 und IFN $\gamma$ ) hinzugegeben. Vom IL-17A Antikörper wurden 5 µl 1:4 vorverdünnt und vom IL-13-Antikörper 10 µl, nicht vorverdünnt, sowie die Antikörper für die Oberflächenmarkierung (s. 0 Extrazelluläre FACS-Färbung von PBMC's) zugegeben. Im Anschluss wurden die Röhren für 30 min. bei 4°C in Dunkelheit inkubiert. Nach Inkubation wurde noch einmal mit 1 ml

FACS-Waschpuffer gewaschen und schließlich in 50 µl FACS-Waschpuffer resuspendiert. Bis zur Auslesung der Zellen durch das FACS-Gerät lagerten die Proben bei 4°C in Dunkelheit.

### Statistische Auswertungen

Die Datenerfassung erfolgte mit Microsoft Excel 2010 und wurde zur Auswertung in das Statistikprogramm IBM SPSS 21 exportiert.

Bei den erhobenen Daten handelte es sich um nicht normalverteilte Variablen, daher wurde als Lagemaß der Median und der Interquartilenabstand (IQR) verwendet.

Bei abhängigen, stetig verteilten Variablen wurde der Vorzeichen-Test angewandt; bei nicht-normalverteilten, unabhängigen und stetigen Variablen der U-Test nach Mann und Whitney. Bei dichotomen Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson angewandt. Bei kategorischen Variablen mit mehr als 2 Ausprägungen wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt.

Zur Bestimmung von Korrelationen wurde die Rangkorrelation nach Spearman für dichotome, ordinalskalierte oder nicht normalverteilte Variablen angewandt.

Als Signifikanzniveau galt  $\alpha=0,05$ .

### 3 Ergebnisse

Insgesamt wurden 120 Patienten mit einem vom Arzt diagnostizierten Asthma umfassend untersucht. Die Untersuchungen fanden an drei Zeitpunkten, Visite 0 (V0) bei Erstvorstellung, Visite 1 (V1) eine Woche später und Visite 2 (V2) nach 6 Monaten statt.

Ziel dieser Untersuchungen war es, das Asthma der Patienten im Hinblick auf die Asthma-Kontrolle zu charakterisieren. Diese Charakterisierung bestand darin, klinische (siehe 3.2) und zellbiologische Parameter (siehe 3.3) der Asthma-Kontrolle, wie sie die *Global Initiative for Asthma* (GINA) definiert hat, im zeitlichen Verlauf einander gegenüber zu stellen. Dazu wurden die Untersuchungsergebnisse mit der Asthma-Kontrolle zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt in Beziehung gesetzt.

#### 3.1 Demographische Charakterisierung des Patientenkollektives bei Studienbeginn (V0)

Nach Studieneinschluss wurden zunächst demographische Charakteristika wie Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht und der daraus berechnete *Body Mass Index* (BMI), sowie Atopie und andere im Hinblick auf die Fragestellung relevante Laborparameter (z.B. eosinophile Granulozyten in Blut und Sputum) dokumentiert. Atopische Patienten wurden über einen positiven Prick-Test auf Aeroallergene der Umwelt und/oder einen positiven spezifischen IgE-Test im Serum definiert. Zur Erfassung einer Eosinophilie im Blut wurden Patienten mit mehr als 0,3 eosinophilen Granulozyten pro nl Blut als eosinophil bezeichnet. Des Weiteren wurden die medikamentösen Therapien der Patienten dokumentiert, insbesondere inhalative Kortikosteroide (ICS), langwirksame  $\beta$ 2-Mimetika (LABA), kurz wirksame  $\beta$ 2-Mimetika (SABA), langwirksame Anticholinergika (LAMA) und oral verabreichte Kortikosteroide (OCS). Zusätzliche Therapien wurden unter „sonstige“ zusammengefasst.

**Tabelle 13: Patientencharakteristika und Therapie des gesamten Patientenkollektivs bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
Anzahl der Probanden (n)	120 (100,0)			
Männlich	44 (36,7)			
weiblich	76 (63,3)			

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
Alter, Jahre	120 (100,0)	47,3 $\pm$ 14,3	48,0 (41 / 56,8)	19,0 / 75,0
Größe, cm	120 (100,0)	169,9 $\pm$ 9,2	168,0 (163,0 / 176,0)	152,0 / 198,0
Gewicht, kg	120 (100,0)	79,2 $\pm$ 18,8	75,0 (66,0 / 88,8)	48,0 / 140,0
BMI, kg/m <sup>2</sup>	120 (100,0)	27,4 $\pm$ 5,9	26,45 (23,0 / 30,0)	18,4 / 51,4
Atopie	82 (68,3)			
Eosinophilie	29 (25,7)*			
ICS	103 (85,8)			
LABA	80 (66,7)			
SABA	103 (85,8)			
LAMA	9 (7,5)			
OCS	20 (16,7)			
Sonstige	39 (32,5)			

\*gültige n=113

### 3.2 Klinische Parameter bei Studienbeginn (V0)

Anschließend wurden die Untersuchungsergebnisse der Untersuchungen der Lungenfunktion (z.B. FEV1), der Atemwegsüberempfindlichkeit gegenüber Metacholin (PC20), der Entzündungsparameter aus dem Blut (Eosinophile, Neutrophile), des exhalierten Stickstoffmonoxids (NO) und des Sputums sowie der Gesamt-IgE-Messung und der Scores

des *Asthma Control Questionnaire* (ACQ-5), einem validierten Fragebogen zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle bestehend aus 5 Fragen, dokumentiert. Alle diese Parameter werden routinemäßig zur Diagnose und Verlaufskontrolle des Asthmas eingesetzt.

**Tabelle 14: Klinische Parameter bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
NO (ppb)	120 (100,0)	30,1 $\pm$ 25,8	23,0 (13,6 / 34,0)	5,0 / 160,0
FEV <sub>1</sub> (l)	120 (100,0)	2,6 $\pm$ 0,9	2,6 (1,9 / 3,1)	0,8 / 5,2
FEV <sub>1</sub> (% vom Soll)	120 (100,0)	82,7 $\pm$ 21,3	88,0 (66,3 / 96,0)	26,0 / 130,0
Bluteosinophile (/nl)	113 (94,2)	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 (0,1 / 0,3)	0,0 / 2,1
Sputumeosinophile (%)	48 (40,0)	2,6 $\pm$ 7,7	0,0 (0,0 / 1,6)	0,0 / 40,5
Ges. IgE (kU/l)	118 (98,3)	298,8 $\pm$ 768,9	85,3 (38,7 / 275,0)	2,0 / 5000,0
PC20	95 (79,2)	4,8 $\pm$ 6,0	1,4	0,4 / 8,4
ACQ-5	119 (99,1)	1,7 $\pm$ 1,3	1,6 (0,8 / 2,6)	0,0 / 7,0

### 3.3 Zellbiologische Parameter bei Studienbeginn (V0)

Als in der Asthma-Pathogenese wesentliche zellbiologische Parameter wurden die Zytokin-produzierenden Anteile von T-Lymphozyten ermittelt. T-Lymphozyten gelten als eine besonders wichtige Quelle für Zytokine. Als Effektoren werden sie klassischerweise in die beiden Untergruppen, T-Helferzellen und zytotoxische T-Zellen, unterschieden. Die Anteile dieser beiden Untergruppen an der Zytokin-Produktion wurden zusätzlich differenziert betrachtet. T-Helferzellen werden ihrerseits auf Grund der von ihnen sezernierten Zytokine

und ihrer Funktion in Effektorzellen und regulatorische Zellen unterschieden. Deshalb wurden bewusst Zytokine und Marker ausgewählt, mit denen sich diese Untergruppen identifizieren lassen. Alle Zellen wurden mit anti-CD3-Äntikörpern gefärbt. CD3 wird ausschließlich auf der Oberfläche von T-Lymphozyten exprimiert. Färbt man zusätzlich mit anti-CD4-Antikörpern, lassen sich T-Helferzellen, bzw. bei fehlender Bindung von CD4, zytotoxische T-Zellen identifizieren. Färbt man Zellen mit anti-CD4, anti-CD25- und Antikörpern gegen den Transkriptionsfaktor Foxp3, lassen sich regulatorische T-Zellen (T<sub>regs</sub>) identifizieren. Die Kombination aus CD3- bzw. CD4-Oberflächenmarkern und der Färbung verschiedener Zytokine lässt eine Quantifizierung des Beitrags der verschiedenen T-Helferzellen bzw. zytotoxischen T-Zellen an der Zytokinproduktion der gesamten T-Lymphozyten-Population zu.

IFN $\gamma$  wird sowohl von T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) als auch von zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) exprimiert. Über die Expression von CD4 und IFN $\gamma$  werden T-Helfer-Typ1 (Th<sub>1</sub>)-Zellen definiert. IL-4, IL-5 und IL-13 sind Zytokine, die hauptsächlich von T-Helfer-Typ 2 (Th<sub>2</sub>)-Zellen (CD4+) und nur zu ganz geringen Mengen von zytotoxischen T-Zellen produziert werden. Über die Expression von IL-17 definieren sich Th<sub>17</sub>-Zellen. IL-10 gilt als Zytokin einer suppressorischen Immunantwort. Es wird in erster Linie von T<sub>regs</sub>, aber auch von Th<sub>2</sub>-Zellen produziert und unterdrückt hauptsächlich Th<sub>1</sub>-Immunantworten.

**Tabelle 15: Anteile der das jeweilige Zytokin produzierenden CD3-positiven Zellen (T-Zellen) des gesamten Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
IFN $\gamma$ (% CD3+)	27,9 $\pm$ 15,9	25,9 (15,1 / 36,3)	4,6 / 73,6
IL-10 (% CD3+)	1,9 $\pm$ 1,3	1,6 (1,1 / 2,5)	0,4 / 9,7
IL-4 (% CD3+)	4,1 $\pm$ 2,9	3,4 (2,2 / 5,1)	0,0 / 14,9
IL-5 (% CD3+)	1,1 $\pm$ 1,3	0,8 (0,5 / 1,2)	0,0 / 10,6
IL-13 (% CD3+)	2,9 $\pm$ 2,8	2,2 (1,2 / 3,7)	0,0 / 18,5
IL-17 (% CD3+)	1,7 $\pm$ 1,4	1,1 (0,9 / 2,0)	0,0 / 8,7



Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
FoxP3 (%CD3+)	8,3 $\pm$ 4,2	7,6 (5,1 / 10,8)	0,0 / 25,6

**Tabelle 16: Anteile der das jeweilige Zytokin produzierenden CD3-positiven, CD4-negativen Zellen (zytotoxischen T-Zellen) des Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
IFN $\gamma$ (% CD3+ / CD4-)	16,6 $\pm$ 11,1	14,5 (9,3 / 22,3)	0,5 / 64,5
IL-10 (% CD3+ / CD4-)	0,5 $\pm$ 0,8	0,3 (0,2 / 0,5)	0,0 / 7,4
IL-4 (% CD3+ / CD4-)	1,1 $\pm$ 1,2	0,8 (0,4 / 1,4)	0,0 / 8,1
IL-5 (% CD3+ / CD4-)	0,5 $\pm$ 0,9	0,3 (0,1 / 0,5)	0,0 / 7,6
IL-13 (% CD3+ / CD4-)	1,0 $\pm$ 1,7	0,5 (0,2 / 0,9)	0,0 / 14,1
IL-17 (% CD3+ / CD4-)	0,4 $\pm$ 0,9	0,1 (0,1 / 0,3)	0,0 / 6,7

**Tabelle 17 : Anteile der das jeweilige Zytokin produzierenden CD3-positiven, CD4-positiven Zellen (T-Helferzellen) des gesamten Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
IFN $\gamma$ (% CD3+ / CD4+)	11,4 $\pm$ 7,1	9,9 (6,2 / 15,4)	1,5 / 38,3
IL-10 (% CD3+ / CD4+)	1,4 $\pm$ 0,9	1,2 (0,8 / 1,8)	0,2 / 5,1
IL-4 (% CD3+ / CD4+)	3,0 $\pm$ 2,1	2,4 (1,6 / 3,9)	0,0 / 12,5
IL-5 (% CD3+ / CD4+)	0,6 $\pm$ 0,4	0,5 (0,3 / 0,7)	0,0 / 3,0
IL-13 (% CD3+ / CD4+)	1,9 $\pm$ 1,6	1,6 (0,7 / 2,7)	0,0 / 7,3
IL-17 (% CD3+ / CD4+)	1,3 $\pm$ 0,8	0,1 (0,1 / 0,3)	0,0 / 6,7

Die Betrachtung der Zytokinprofile zeigt, dass IFN $\gamma$  das von den meisten T-Zellen exprimierte Zytokin ist. Analysiert man die Beiträge der beiden T-Zell-Subpopulationen an der gesamten Expression der CD3-positiven (T)-Zellen, so kann deutlich gezeigt werden, dass IFN $\gamma$  sowohl von Th(1)-Zellen als auch zum etwas größeren Teil von zytotoxischen T-Zellen exprimiert wird. Die anderen untersuchten Zytokine werden überwiegend von CD4-positiven (Th)-Zellen exprimiert. IL-5 wurde von den wenigsten Zellen exprimiert. IL-17 wurde wie erwartet fast ausschließlich in CD4-positiven (Th<sub>17</sub>)-Zellen detektiert.

### 3.4 Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn (V0)

Die Einteilung der Patienten nach den GINA-Kriterien (2.2.2.8) ergab:

**Tabelle 18: Asthma-Kontrolle nach GINA bei Studienbeginn (V0)**

Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Anzahl n (%)	Anzahl n (%)	Anzahl n (%)
29 (24,2)	39 (32,5)	52 (43,3)

Innerhalb der drei Gruppen verteilten sich die GINA-Merkmale wie folgt:

**Tabelle 19: Verteilung der Gina-Kriterien bei Studienbeginn (V0)**

GINA-Kriterien	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
	Anzahl n (%)	Anzahl n (%)
Tägliche Symptome $\geq$ 2 mal pro Woche	13 (33,3)	44 (84,6)
Einschränkung im Alltag	10 (25,6)	43 (82,7)
Nächtliche Symptome	5 (12,8)	26 (50,0)
Gebrauch von Notfallmedikation, $\geq$ 2 mal pro Woche	5 (12,8)	30 (57,7)
FEV1 < 80%	16 (41,0)	31 (59,6)
Exazerbationen ( mindestens 1 pro Jahr)	9 (23,1)	28 (53,8)

Definitionsgemäß erfüllten Patienten mit einem kontrollierten Asthma keines der zu beurteilenden Kriterien. Hauptkriterium der teilweise kontrollierten Patienten war mit über 41% eine FEV1 unter 80% vom Soll. Die Hauptmerkmale für ein unkontrolliertes Asthma waren mit 84,5 % Asthma-Symptome am Tag öfter als 2-mal pro Woche und mit 82,7% Einschränkungen im Alltag. 59,6% hatten eine Lungenfunktion von unter 80% (Tabelle 19).

### **3.5 Patientencharakteristika und Untersuchungsergebnisse bei Studieneinschluss (V0) getrennt nach Asthma-Kontrolle**

Ein Ziel der Arbeit war eine Gegenüberstellung der untersuchten Parameter und der Asthma-Kontrolle. In einem ersten Schritt wurden deshalb die Patientencharakteristika, der Therapiestatus, sowie die klinischen und zellbiologischen Untersuchungsergebnisse der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma verglichen.

**Tabelle 20: Patientencharakteristika und Therapiestatus der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Anzahl n (%)	29 (24,2)	39,0 (32,5)	52,0 (43,3)
Geschlecht (m/w)	13 / 16	14 / 25	17 / 35
Atopie n (%)	25 (86,2)	25 (64,1)*	31 (59,6)**
Eosinophilie n (%)	8 (30,8)	8 (21,1)	12 (25,0)
ICS n (%)	16 (55,0)	35 (89,7)***	52 (100,0)***
LABA n (%)	13 (44,8)	25 (64,0)	42 (80,8)**
SABA n (%)	21 (72,4)	33 (84,6)	49 (94,2)*
LAMA n (%)	0	2 (5,1)	7 (13,5)*
OCS n (%)	1 (3,4)	2 (5,1)	17 (32,7)**
Sonstige	7 (24,1)	6 (15,4)	26 (50,0)*
Alter Median (Q1 / Q3)	47,0 (37,5 / 54,0)	48,0 (33,0 / 57,0)	49,5 (42,2 / 62,0)
Min. / Max. (Jahre)	19,0 / 61,0	20,0 / 74,0	19,0 / 75,0
Größe Median (Q 1/ Q3)	172,0 (163,5 / 181,0)	169,0 (164,0 / 175,0)	166,0 (162,0 / 175,5)
Min. / Max. (cm)	160,0 / 188,0	152,0 / 197,0	155,0 / 198,0

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Gewicht Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (kg)	75,0 (65,5 / 88,5) 48,0 / 138,0	70,0 (62,0 / 87,0) 52,0 / 108,0	78,5 (70,0 / 93,5) 55,0 / 140,0
BMI Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (kg/m <sup>2</sup> )	24,7 (22,3 / 28,9) 18,8 / 39,3	25,7 (22,2 / 28,1) 18,4 / 38,2	28,6 (24,7 / 31,2)* 20,5 / 51,4
Dauer des Asthmas Median (Q1 / Q3) Min./Max. (Jahre)	12,0 (6,0 / 27,0) 3,0 / 49,0	11,0 (7,0 / 23,0) 0,0 / 70,0	16,0 (8,0 / 30,8) 1,0 / 62,0

Vergleich jeweils zu „kontrolliert“ als Referenzgruppe. \*)  $p \leq 0,050$ ; \*\*)  $p \leq 0,010$ ; \*\*\*)  $p \leq 0,001$

Verglich man die Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma hinsichtlich ihrer Charakteristika und ihrer Therapie miteinander, so zeigte sich, dass sich Patienten mit kontrolliertem und teilweise kontrolliertem Asthma nur hinsichtlich ihres Atopie- und Therapiestatus unterschieden. Signifikant mehr Patienten mit einem positiven Atopiestatus waren kontrolliert als teilweise kontrolliert ( $p=0,019$ ). Signifikant mehr Patienten mit teilweise kontrolliertem Asthma als Patienten mit kontrolliertem Asthma erhielten ICS ( $p=0,001$ ). Insgesamt hatten die meisten Patienten ein unkontrolliertes Asthma (43,3%). Davon waren 59,6% Atopiker, also signifikant weniger als im Kollektiv kontrollierter Patienten ( $p=0,006$ ). Unkontrollierte Patienten wurden am intensivsten therapiert. Signifikant mehr Patienten erhielten ICS ( $p<0,001$ ), SABA ( $p=0,005$ ), LABA ( $p=0,002$ ), LAMA ( $p=0,042$ ), OCS ( $p=0,003$ ) und zusätzliche Therapien (Sonstige) ( $p=0,013$ ) als Patienten mit kontrolliertem Asthma. Außerdem hatten Patienten mit unkontrolliertem Asthma einen signifikant höheren *Body Mass Index* (Median: 28,6 kg/m<sup>2</sup>) als Patienten mit kontrolliertem Asthma (Median: 24,7 kg/m<sup>2</sup>) ( $p=0,023$ ).

Keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen gab es im Eosinophiliestatus sowie bei Alter, Gewicht, Größe und Dauer des Asthmas.

### 3.5.1 Klinische Untersuchungen bei Studienbeginn (V0)

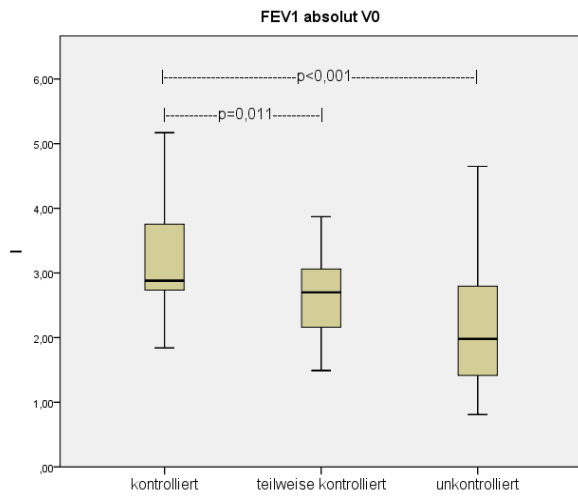


Abbildung 8: Lungenfunktion und Asthma-Kontrolle

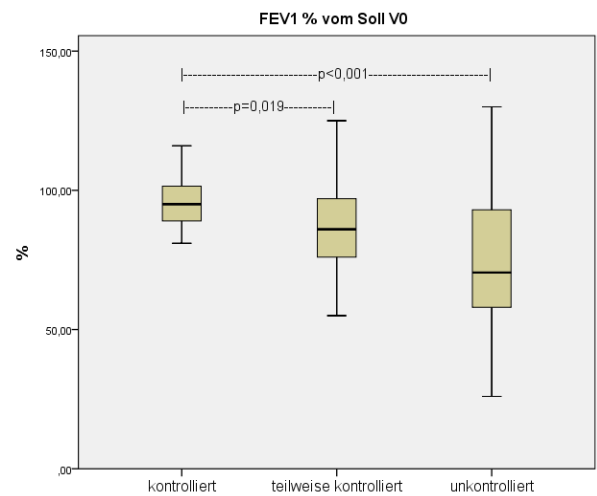


Abbildung 9: FEV1 (% vom Soll) und Asthma-Kontrolle

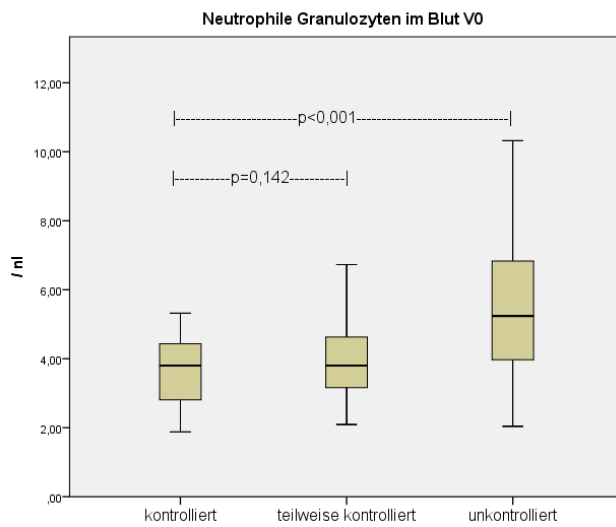


Abbildung 10: Neutrophile Granulozyten im Blut und Asthma-Kontrolle

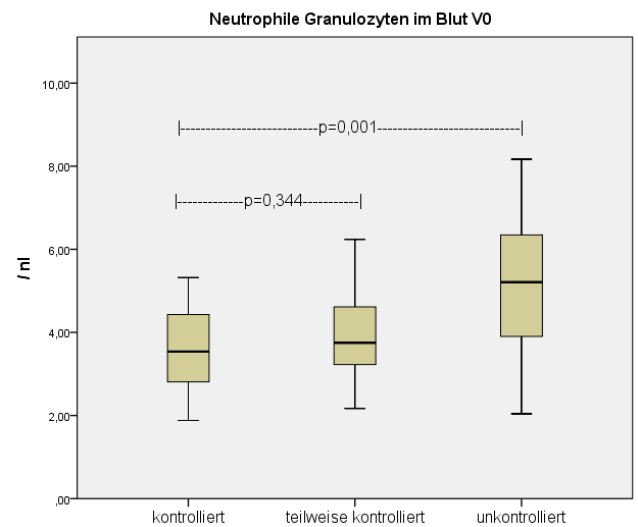
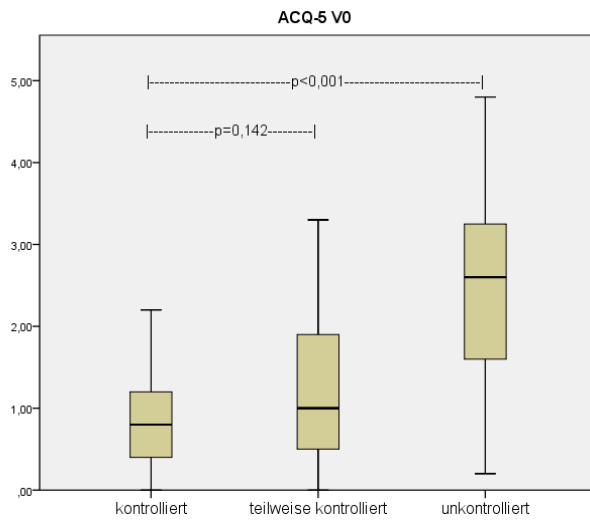
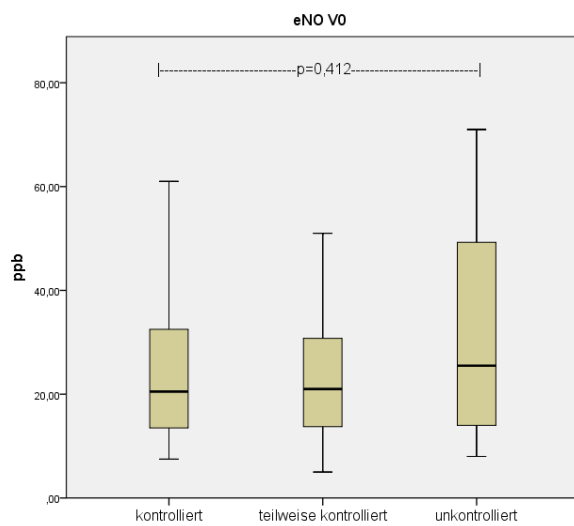


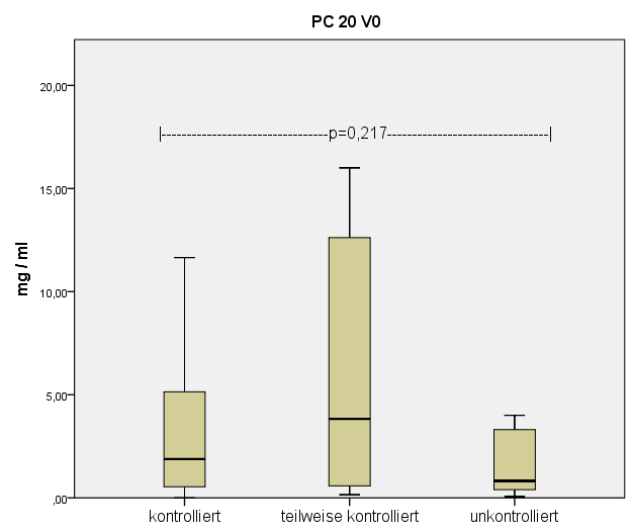
Abbildung 11: Neutrophile Granulozyten im Blut der Patienten, die keine oralen Kortikosteroide (OCS) einnahmen, und Asthma-Kontrolle



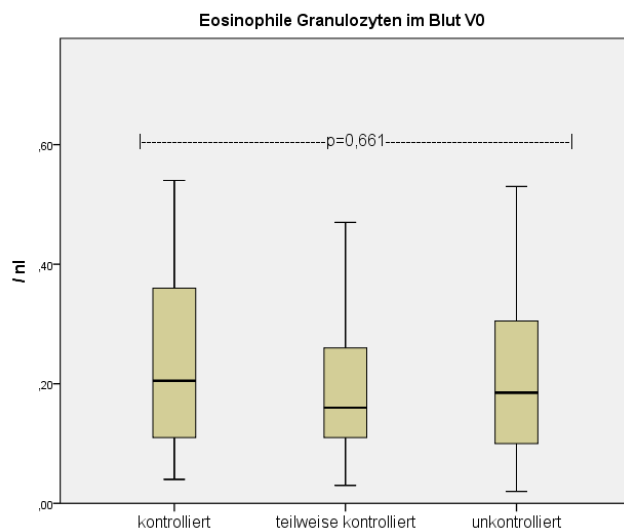
**Abbildung 12: Asthma-Kontrolle: ACQ-5-Score versus GINA-Kriterien**



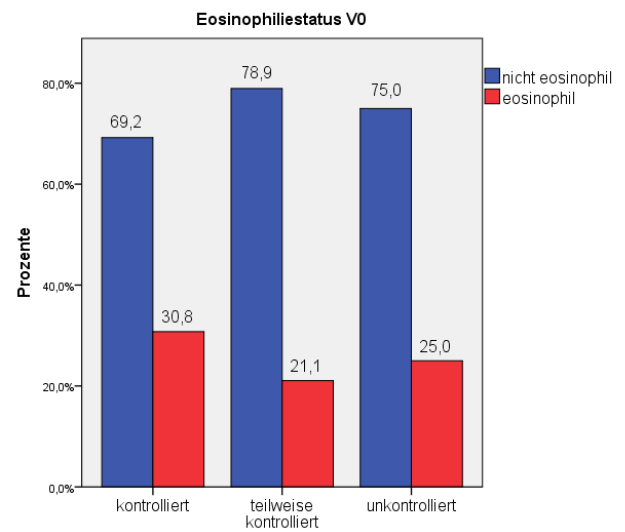
**Abbildung 13: Stickoxid (NO) in der exhaliierten Atemluft und Asthma-Kontrolle**



**Abbildung 14: Bronchiale Hyperreagibilität (Metacholin-Konzentration, die zu einem Rückgang der FEV1 um 20% führten) und Asthma-Kontrolle**



**Abbildung 15: Eosinophile Granulozyten im Blut und Asthma-Kontrolle**



**Abbildung 16: Eosinophile (>300 / µl Blut) und nicht-eosinophile (<300 / µl Blut) Patienten und Asthma-Kontrolle**

Patienten mit unkontrolliertem Asthma unterschieden sich signifikant von Patienten mit kontrolliertem Asthma in ihrer Lungenfunktion (FEV1 Median: 2,9 l, bzw. 95,0 % im Vergleich zu FEV1 Median: 2,0 l, bzw. 70,5 %; absolut  $p < 0,001$ ; relativ  $p < 0,001$ ) (Abbildung 8 und Abbildung 9). Ebenso hatten sie signifikant mehr neutrophile Granulozyten im Blut als kontrollierte Patienten ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 10). Dies war auch bei Patienten der Fall, die keine systemisch wirkenden oralen Kortikosteroide bekamen (Abbildung 11). Patienten mit unkontrolliertem Asthma hatten ebenfalls signifikant höhere ACQ-5 Werte als Patienten mit kontrolliertem Asthma ( $p < 0,001$ ) (

Abbildung 12). Die eosinophilen Granulozyten unterschieden sich zwischen den Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma weder in Sputumanalysen noch im Blut (Sputum  $p = 0,135$ ; Blut  $p = 0,661$ ). Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle unterschieden sich auch nicht im Anteil des exhalieren Sickerstoffmonoxids (NO) (Abbildung 13) ( $p = 0,486$ ).

Patienten mit teilweise kontrolliertem Asthma unterschieden sich nur in ihrer Lungenfunktion von Patienten mit kontrolliertem Asthma (absolut  $p = 0,011$ ; relativ  $p = 0,019$ ) (Abbildung 8 und Abbildung 9). Im Median lagen teilweise kontrollierte Patienten bei einer FEV1 von 2,7 l/s und 86% vom Soll. Im Gegensatz zu den unkontrollierten Asthmatikern unterschieden sie sich nicht signifikant in den Neutrophilen im Blut ( $p = 0,378$ ) (Abbildung 10 und Abbildung 11) und den ACQ-5 Werten ( $p = 0,142$ ) von den Patienten mit kontrolliertem Asthma (



Abbildung 12). Der ACQ-5 gibt somit die Grenze zwischen kontrolliertem und teilweise kontrolliertem Asthma nicht entsprechend der Beurteilung nach GINA wieder.

### 3.5.2 Zellbiologische Untersuchungen bei Studienbeginn (V0)

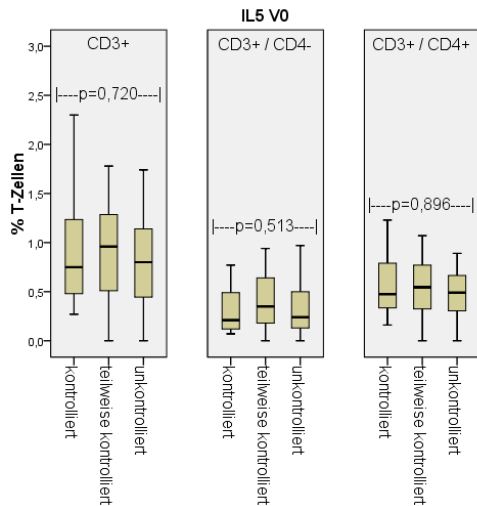


Abbildung 17: Interleukin-5 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn

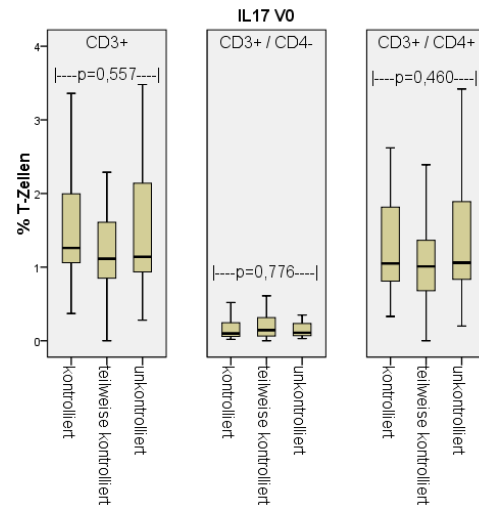


Abbildung 18: Interleukin-17 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn

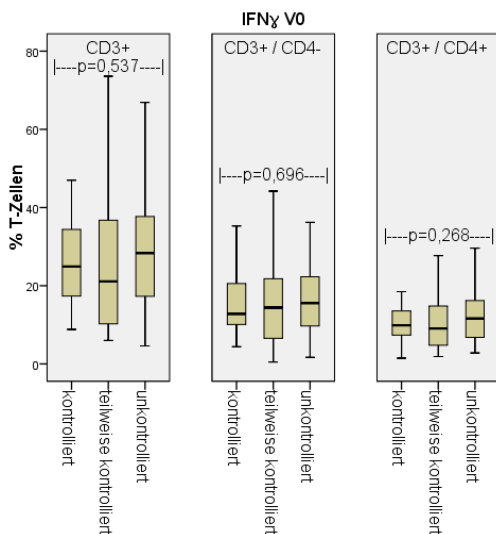


Abbildung 19: Interferon-γ produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn

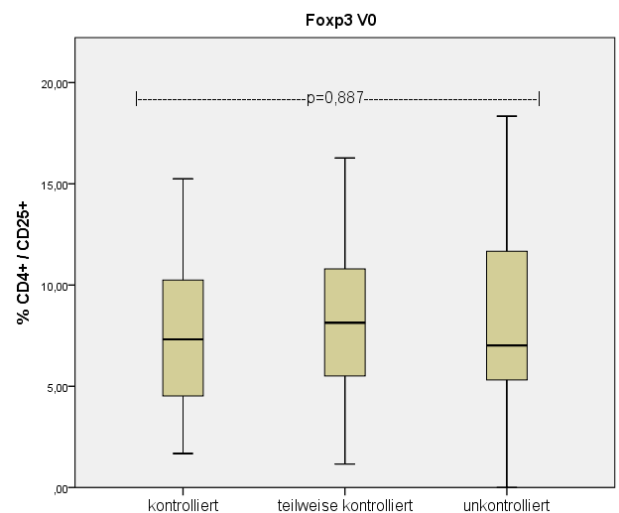


Abbildung 20: Regulatorische T-Zellen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn

Hinsichtlich der Frequenz Zytokin-produzierender T-Zellen gab es keinen Unterschied zwischen den Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle.

Generell konnte gezeigt werden, dass IL-17 fast ausschließlich (Abbildung 18), IL-10, IL-4, IL-5 (Abbildung 17) und IL-13 zu einem wesentlich größeren Teil von T-Helferzellen (CD4+) als von zytotoxischen T-Zellen exprimiert wurden. Im Anteil IFN $\gamma$ -produzierender T-Zellen gab es keinen Unterschied zwischen den drei Gruppen. Es konnte aber gezeigt werden, dass IFN $\gamma$  prinzipiell zwar sowohl von zytotoxischen T-Zellen (CD4-) als auch von T-Helferzellen exprimiert wird, allerdings zu einem größeren Anteil von zytotoxischen T-Zellen (Abbildung 19). Die Frequenz regulatorischer T-Zellen unterschied sich zwischen den drei Gruppen ebenfalls nicht (Abbildung 20).

Fasst man die Ergebnisse der Eingangsuntersuchung zusammen, so ist festzustellen, dass sich Patienten mit kontrolliertem und teilweise kontrolliertem Asthma in der Therapieintensität (Tabelle 20) und der FEV1 unterschieden (Abbildung 8 und Abbildung 9).

Patienten mit unkontrolliertem Asthma waren am therapeutischsten und hatten im Vergleich den höchsten BMI (Tabelle 20). Außerdem wiesen sie im Median die schlechteste Lungenfunktion (FEV1) (Abbildung 8 und Abbildung 9) auf und hatten den höchsten Anteil neutrophiler Granulozyten im Blut (Abbildung 10) und die höchsten ACQ-5 Werte (

Abbildung 12). In den Anteilen Zytokin-produzierender Lymphozyten gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle (Abbildung 17 - Abbildung 20).

Insgesamt hatten atopische Patienten signifikant öfter ein kontrolliertes als ein teilweise oder unkontrolliertes Asthma (Tabelle 20).

### 3.6 Asthma-Kontrolle im Verlauf

Die Untersuchung der Patienten wurde nach einer Woche und nach 6 Monaten wiederholt. Die Asthma-Kontrolle wurde erneut beurteilt und die Patienten in solche unterteilt, bei denen die Asthma-Kontrolle stabil blieb, sich verschlechterte oder verbesserte. Ziel war es, Parameter zu identifizieren, die sich entsprechend der Asthma-Kontrolle verhalten, d.h. bei stabiler Kontrolle stabil bleiben oder möglichen Änderungen folgen.

**Tabelle 21: Asthma-Kontrolle im Verlauf**

Visite	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert	Ausgeschieden
V0 (n / %)	29 / 24,2	39 / 32,5	52 / 43,3	0 / 0,0

Visite	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert	Ausgeschieden
V1 (n / %)	28 / 23,3	40 / 33,3	51 / 42,5	1 / 0,8
V2 (n / %)	36 / 31,5	34 / 29,8	44 / 36,7	6 / 5,0

**Tabelle 22: Änderungen der Asthma-Kontrolle zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (V0-V1 und V0-V2)**

	Asthma-Kontrolle V0-V1	Asthma-Kontrolle V0-V2
Stabil (n / %)	112 / 93,3	78 / 65,0
Schlechter (n / %)	3 / 2,5	14 / 11,7
Besser (n / %)	4 / 3,3	22 / 18,3

Bei der Mehrzahl der Patienten blieb die Asthma-Kontrolle innerhalb einer Woche stabil (93,3%). Nur 3 (2,5%) Patienten waren schlechter und 4 (3,3%) waren besser. Auf Grund der geringen Fallzahlen wird auf die Änderungen dieser insgesamt 7 Patienten nicht weiter eingegangen. Ihre Untersuchungsergebnisse wurden aber in der Langzeitbetrachtung weiterhin berücksichtigt. Nach 6 Monaten änderte sich die Asthma-Kontrolle bei ca. 1/3 der Patienten. Bei 11,7% verschlechterte, bei 18,3% verbesserte sie sich.

### 3.6.1 Einzel-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA

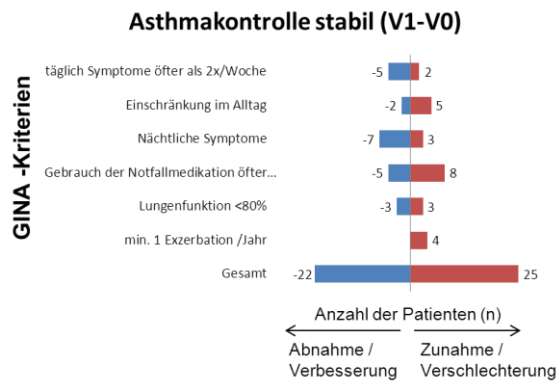


Abbildung 21: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle innerhalb einer Woche

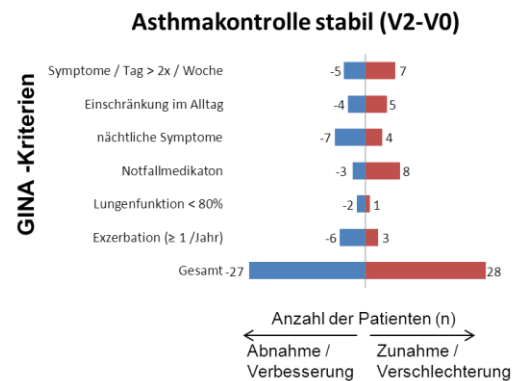


Abbildung 22: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten

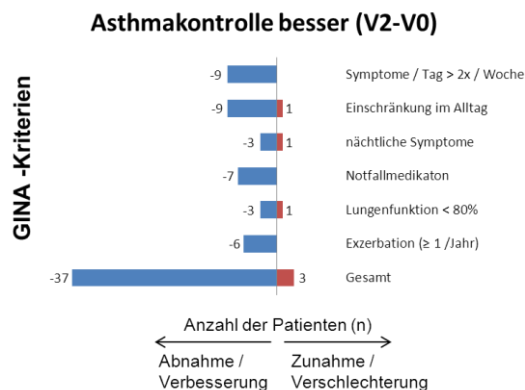


Abbildung 23: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten

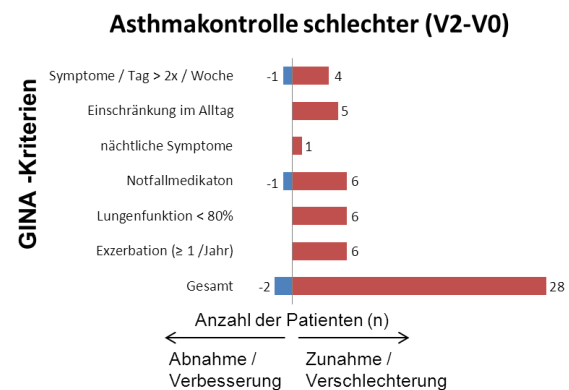


Abbildung 24: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten

Bei genauer Betrachtung der Einzelkriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle wird deutlich, dass eine stabile Asthma-Kontrolle nicht bedeutet, dass es keine Änderungen in den einzelnen Kriterien gibt. Bei Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle halten sich lediglich Veränderungen der einzelnen Kriterien die Waage. Wirklich stabil bleiben nur Patienten, bei denen sich keines der Kriterien ändert und die über den jeweiligen Beobachtungszeitraum ein kontrolliertes Asthma aufweisen. Patienten mit stabilem teilweise kontrolliertem und stabilem unkontrolliertem Asthma sind lediglich in der Summe der erfüllten Merkmale stabil. Dies zeigt sich sogar trotz der hohen Stabilität der Asthma-Kontrolle von über 93% innerhalb einer Woche (Abbildung 21). Bei Änderung der Kontrolle verschiebt sich das Verhältnis von Verbesserungen und Verschlechterungen der einzelnen Merkmale in die entsprechende Richtung.

### 3.6.2 Gegenüberstellung der Änderungen der Asthma-Kontrolle mit den intraindividuellen Unterschieden der klinischen Parameter zwischen Visite 0 und 2

Auf Grund der geringen Fallzahlen der Patienten mit einer Änderung der Asthma-Kontrolle innerhalb einer Woche werden diese Untersuchungsergebnisse nicht dargestellt.

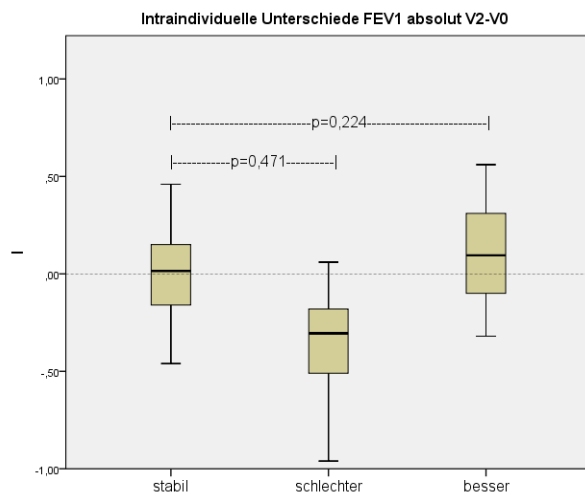


Abbildung 25: Intraindividuelle Unterschiede der absoluten FEV1-Werte zwischen Visite 2 und Visite 0

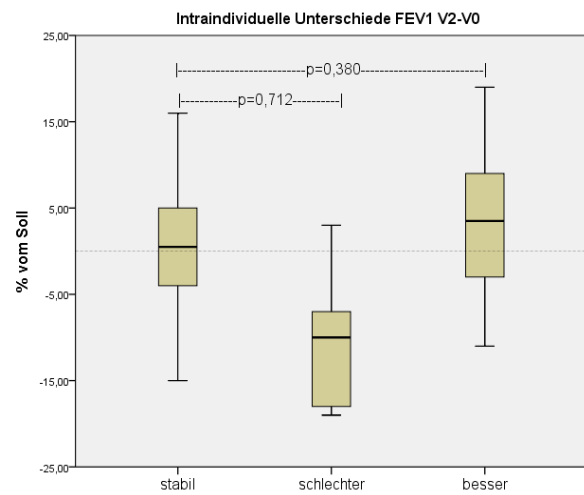


Abbildung 26: Intraindividuelle Unterschiede der FEV1-Werte % vom Soll zwischen Visite 2 und Visite 0

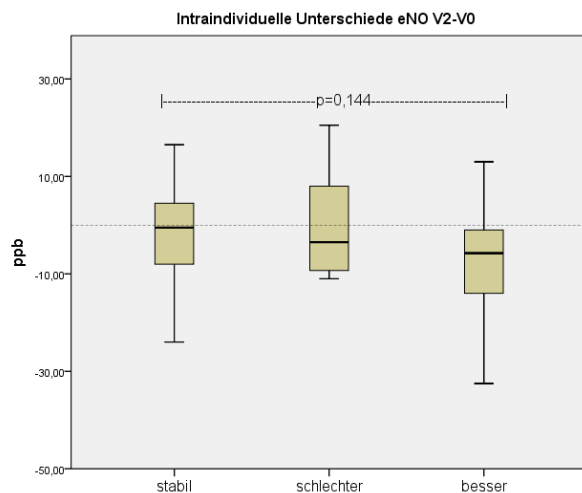


Abbildung 27: Intraindividuelle Unterschiede der NO-Werte zwischen Visite 2 und Visite 0

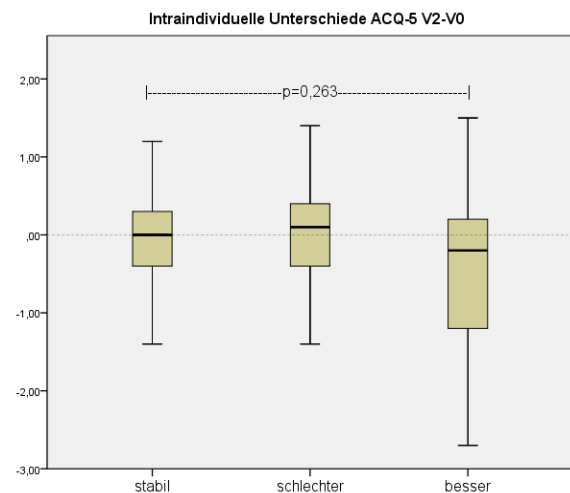


Abbildung 28: Intraindividuelle Unterschiede der ACQ 5-Werte zwischen Visite 2 und Visite 0

Bei Patienten mit einer stabilen Asthma-Kontrolle ergaben sich keine relevanten Änderungen in den untersuchten klinischen Parametern. In der Summe der Patienten änderten sich

weder nach einer Woche noch nach 6 Monaten FEV1, Entzündungsparameter wie NO, eosinophile, neutrophile Granulozyten oder der Gesamt-IgE-Spiegel. Auch der ACQ-5 als einfaches Messinstrument für die Asthma-Kontrolle blieb unverändert, spiegelte also die Stabilität der Asthma-Kontrolle wieder (siehe Anhang Tabelle 34; Tabelle 38/ Abbildung 28).

Die Anteile der IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 und IL-17-produzierenden T-Zellen der Patienten mit einer stabilen Asthma-Kontrolle wiesen ebenfalls keine relevanten Änderungen auf. Der einzige statistisch signifikante Unterschied ergab sich für IFN $\gamma$  ( $p=0,034$ ) innerhalb der T-Helferzellen (CD3+ / CD4+). Im Median ging der Anteil der IFN $\gamma$  produzierenden (CD3/4 positiven) Th-Zellen um 0,7% zurück ( siehe Anhang Tabelle 35 – Tabelle 37; Tabelle 41 - Tabelle 43).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine stabile Asthma-Kontrolle in der Kurz- und Langzeitbetrachtung die Stabilität sowohl der klinischen als auch der zellbiologischen Parameter abbildet.

Eine Verschlechterung der Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten ging mit einer schlechteren Lungenfunktion ( $\Delta$ FEV1 absolut Median: -0,3 l;  $p=0,090$ ;  $\Delta$ FEV1 relativ: -10,0 %;  $p=0,013$ ) (siehe Anhang Tabelle 39 / Abbildung 26) einher. Trotz Verschlechterung der Asthma-Kontrolle blieben die übrigen Parameter stabil, auch der ACQ-5 Wert, der somit die Veränderung der Asthma-Kontrolle nicht anzeigte ( $\Delta$ ACQ5 Median: 0,1;  $p=0,624$ ) (siehe Anhang Tabelle 39 / Abbildung 28). Die verbesserte Asthma-Kontrolle ging mit einer statistisch signifikanten Abnahme des NOs im Median um 5,8 ppb ( $p=0,016$ ) einher (siehe Anhang Tabelle 40 / Abbildung 27). Die übrigen Parameter blieben im Verlauf trotz besserer Asthma-Kontrolle stabil. Entzündungszellen im Blut und Lungenfunktion lieferten keine Hinweise auf die Verbesserung der Asthma-Kontrolle. Der ACQ-5 zeigte auch hier keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Visiten der Patienten, die nach 6 Monaten eine bessere Asthma-Kontrolle zeigten ( $\Delta$ ACQ-5 Median: -0,2;  $p=0,106$ ) (siehe Anhang Tabelle 40/ Abbildung 28).

### 3.6.3 Zellbiologische Untersuchungen nach 6 Monaten

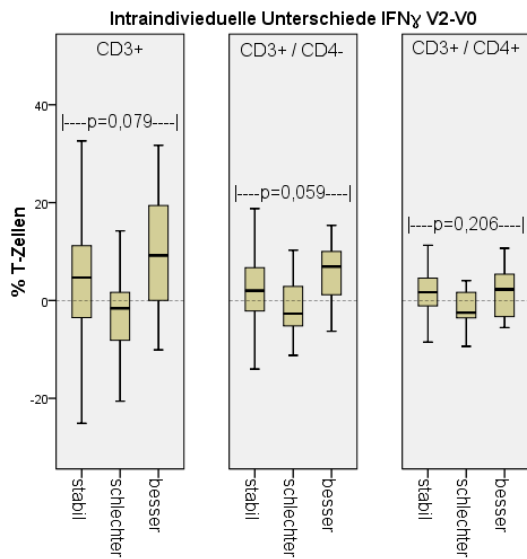


Abbildung 29: IFN $\gamma$ -produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2

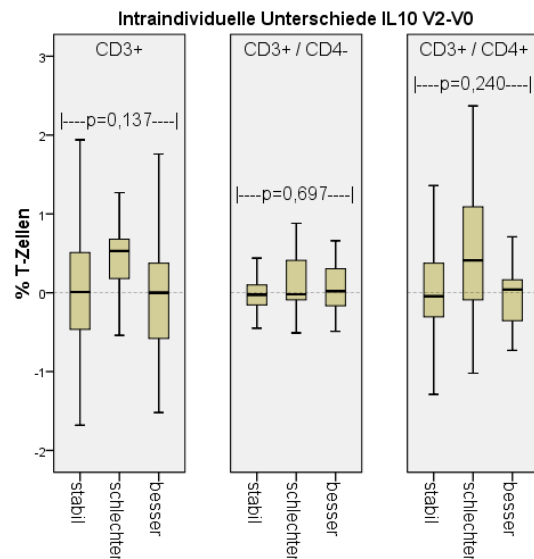


Abbildung 30: IL-10-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2

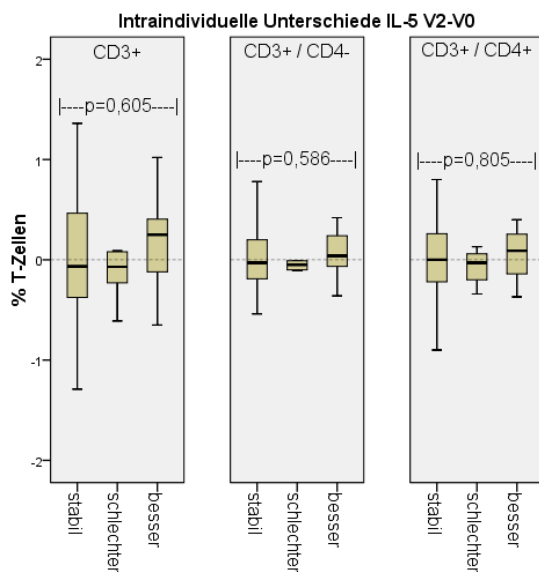


Abbildung 31: IL-5-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2

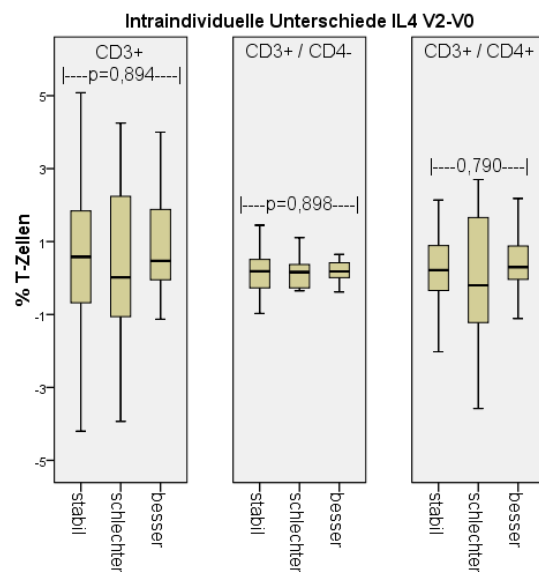
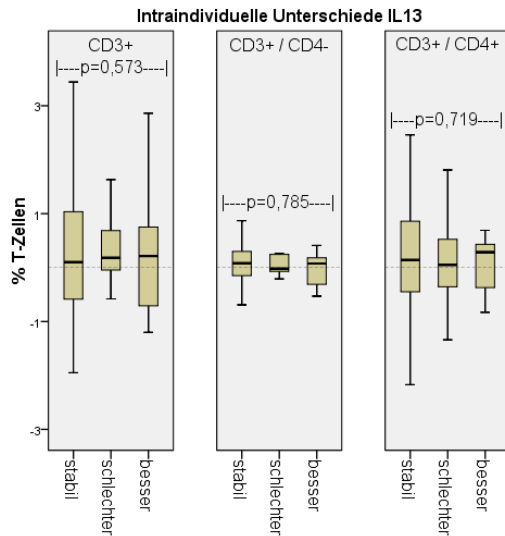
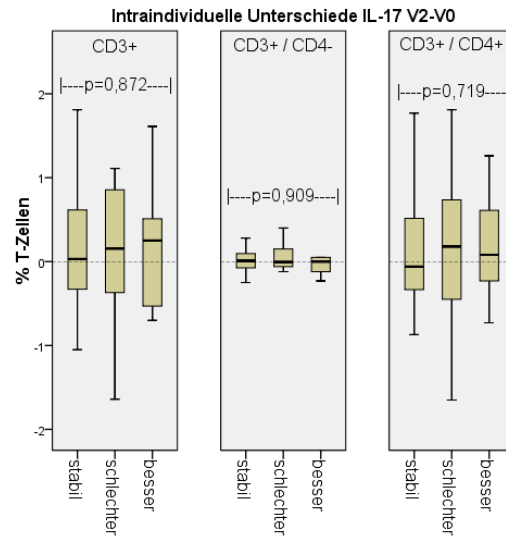


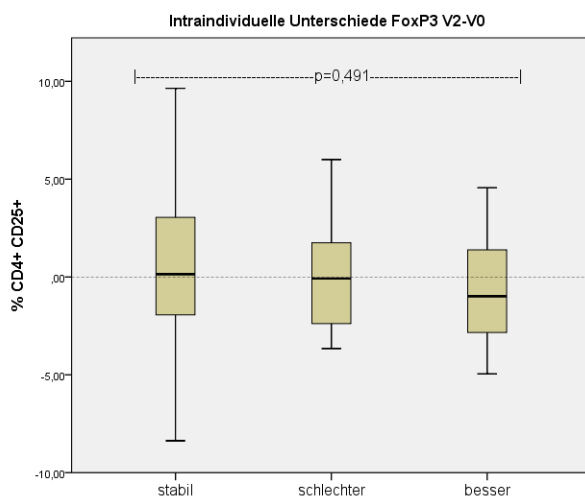
Abbildung 32: IL-4-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2



**Abbildung 33:** IL-13-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2



**Abbildung 34:** IL-17-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2



**Abbildung 35:** CD4-, CD25-positive FoxP3-exprimierende Zellen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2

Nach 6 Monaten zeigte sich bei Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle, dass die Frequenz der Zytokin-produzierenden T-Zellen für IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-17 ebenso wie die Frequenz regulatorischer T-Zellen im Median unverändert blieben (siehe Anhang Tabelle 41 -Tabelle 43/ Abbildung 30- Abbildung 35). Der Anteil der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Zellen stieg signifikant ( $p=0,011$ ) um 4,6 % (Median) (siehe Anhang Tabelle 41). Diese signifikante Änderung zeigte sich auch in der IFN $\gamma$ -produzierenden Subpopulation (CD3+ / CD4+) (siehe Anhang Tabelle 43/ Abbildung 29).



Trotz schlechterer Asthma-Kontrolle ergaben sich nach einem halben Jahr keine relevanten Änderungen in den Anteilen Zytokin-produzierender T-Zellen (siehe Anhang Tabelle 44 - Tabelle 46).

Eine verbesserte Asthma-Kontrolle nach einem halben Jahr ging mit einer deutlichen Zunahme der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Zellen einher (CD3+), im Median um 9,2 % ( $p=0,016$ ) (siehe Anhang Tabelle 47 / Abbildung 29). Dieser Anstieg ist hauptsächlich in der Zunahme der zytotoxischen Zellen begründet (Median= 6,9%;  $p=0,011$ ) (siehe Anhang Tabelle 48 / Abbildung 29). In der T-Helferzellpopulation gab es keinen signifikanten Anstieg des IFN $\gamma$ -produzierenden Anteils ( $p=0,245$ ) (siehe Anhang Tabelle 49/ Abbildung 29). Die Frequenz der die Zytokine IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 und IL-17 produzierenden T-Zellen blieb unverändert. Es konnte auch kein Unterschied in den FoxP3 exprimierenden, CD4positiven, T-regulatorischen Zellen detektiert werden (siehe Anhang Tabelle 41; Tabelle 44; Tabelle 47/ Abbildung 30 - Abbildung 35).

Insgesamt gab es keine signifikanten Unterschiede in der Differenz der Anteile Zytokin-produzierender T-Zellen und T-Zellsubpopulationen der Patienten mit stabiler oder veränderter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 (Abbildung 29 - Abbildung 35).

### **3.7 Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA und klinische und zellbiologische Untersuchungsergebnisse**

Zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle werden sechs Kriterien abgefragt, das Auftreten von Symptomen (tags / nachts), die Einschätzung der Einschränkung im Alltag, der Gebrauch von Notfallmedikation, der aktuelle Wert der Einsekundenkapazität (FEV $_1$ ) und das Auftreten von Exazerbationen innerhalb eines Jahres (vgl. Abschnitt 3.4). Bisher wurde lediglich das Ergebnis dieser Beurteilung, die Asthma-Kontrolle, mit den Ergebnissen der klinischen und zellulären Untersuchungen verglichen. Im Folgenden wurden nun die einzelnen GINA-Parameter den klinischen und zellbiologischen Untersuchungsergebnissen gegenüber gestellt, um zu untersuchen, ob das Auftreten bzw. der Rückgang der einzelnen Kriterien mit Veränderungen der klinischen bzw. zellbiologischen Parameter korreliert. Da sich zwischen den Untersuchungen bei Visite 0 (V0) und Visite 1 (V1) nur wenige Veränderungen zeigten, wird im Folgenden nur die Korrelation zwischen den GINA-Kriterien und den Differenzen der Untersuchungen zu den Zeitpunkten V0 und V2 betrachtet. In die Analyse flossen nur Ergebnisse von Patienten ein, die das jeweilige GINA-Merkmal an zumindest einer Visite aufwiesen. Es ergaben sich folgende Korrelationen:

### 3.7.1 Veränderungen der Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA und Untersuchungsergebnisse zwischen Visite 0 und Visite 2

#### 3.7.1.1 Parameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „Symptome am Tag“ zwischen V0 und V2 korrelierten:

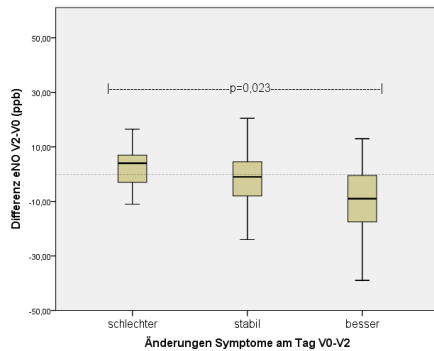


Abbildung 36: Exhalieretes Stickstoffmonoxid zwischen Visite 2 und Visite 0 der Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden öfter als 2x / Woche Symptome am Tag zeigten

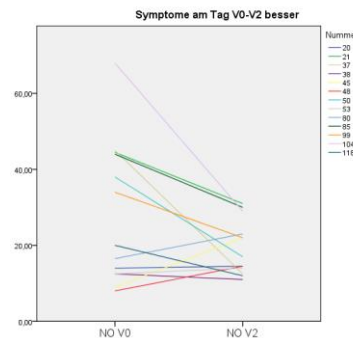


Abbildung 37: Individuelle Unterschiede der NO-Werte der Patienten, die nach 6 Monaten weniger Symptome am Tag aufwiesen

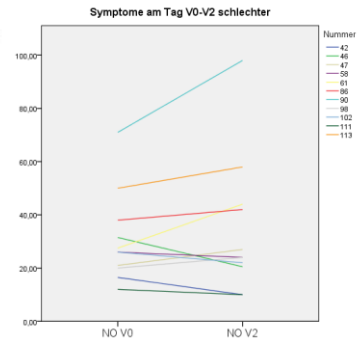


Abbildung 38: Individuelle Unterschiede der NO-Werte der Patienten, die nach 6 Monaten mehr Symptome am Tag aufwiesen

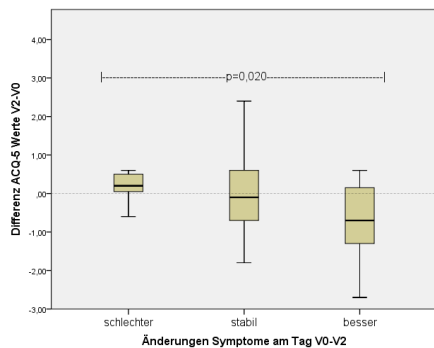


Abbildung 39: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und 0 der Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden öfter als 2x / Woche Symptome am Tag zeigten



Abbildung 40: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die nach 6 Monaten weniger Symptome am Tag aufwiesen

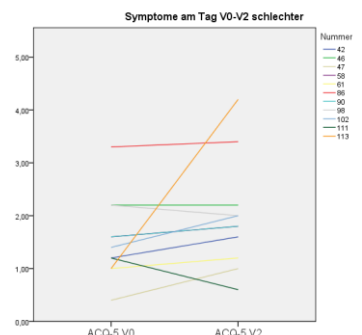


Abbildung 41: Individuellen Unterschiede der NO-Werte der Patienten, die nach 6 Monaten mehr Symptome am Tag aufwiesen

### 3.7.1.2 Parameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „Einschränkungen im Alltag“ zwischen V0 und V2 korrelierten

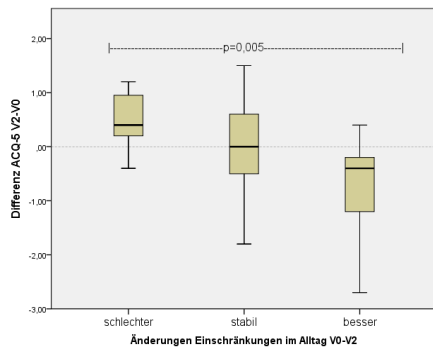


Abbildung 42: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und 0 der Patienten, die sich an Visite 0, 2 oder beiden durch ihr Asthma in ihrem Alltag eingeschränkt fühlten

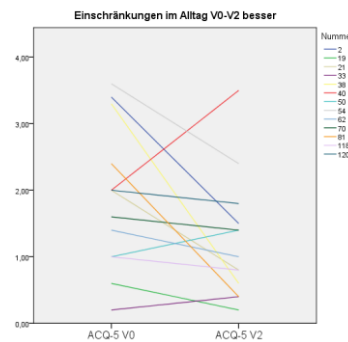


Abbildung 43: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die sich nach 6 Monaten weniger durch ihr Asthma im Alltag eingeschränkt fühlten

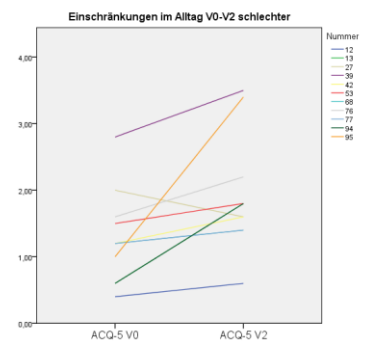


Abbildung 44: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die sich nach 6 Monaten mehr durch ihr Asthma im Alltag eingeschränkt fühlten

### 3.7.1.3 Parameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „nächtliche Symptome“ zwischen V0 und V2 korrelierten

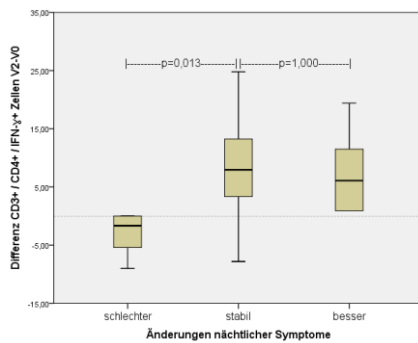


Abbildung 45: IFN $\gamma$ -produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 der Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden über nächtliche Symptome klagten

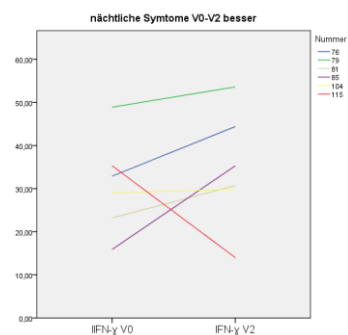


Abbildung 46: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der Patienten, die nach 6 Monaten keine nächtlichen Symptome mehr hatten

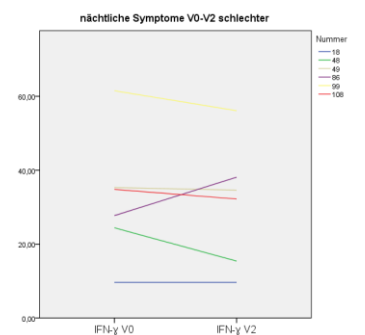
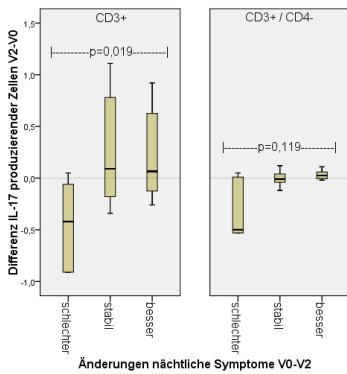
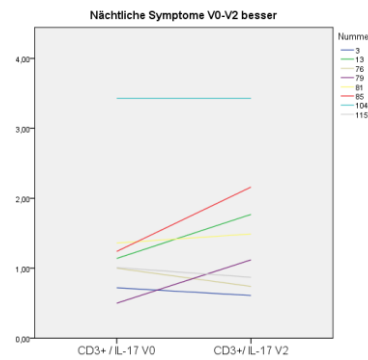


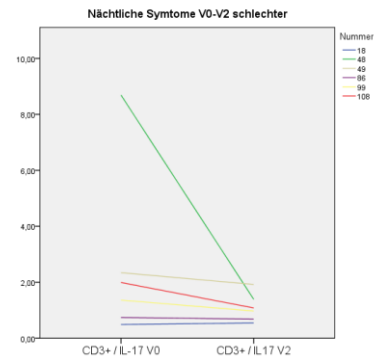
Abbildung 47: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der Patienten, die nach 6 Monaten nächtliche Symptome entwickelten



**Abbildung 48:** IL-17-produzierende T- und zytotoxische T-Zellen zwischen Visite 2 und 0 von Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden über nächtliche Symptome klagen

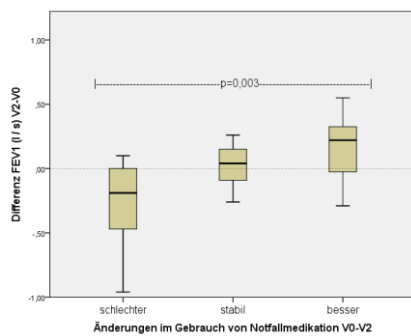


**Abbildung 49:** Individuelle Unterschiede der IL-17-produzierenden T-Zellen der Patienten, die nach 6 Monaten keine nächtlichen Symptome mehr hatten

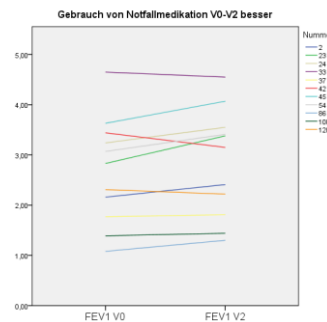


**Abbildung 50:** Individuelle Unterschiede der IL-17-produzierenden T-Zellen der Patienten, die nach 6 Monaten nächtliche Symptome entwickelten

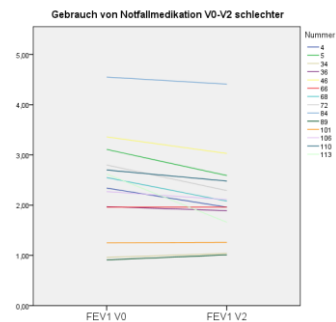
### 3.7.1.4 Parameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „Gebrauch von Notfallmedikation“ zwischen V0 und V2 korrelierten



**Abbildung 51:** FEV1 (absolute Werte) zwischen Visite 2 und 0 von Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden ihre Notfallmedikation öfter als 2x / Woche einnahmen

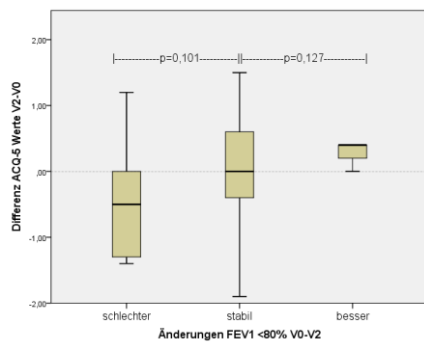


**Abbildung 52:** Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten seltener als 2x / Woche einnahmen

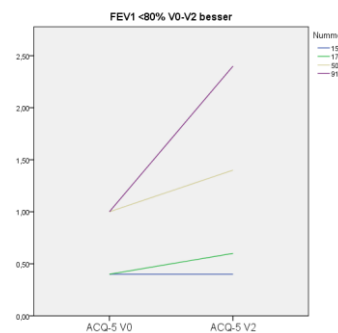


**Abbildung 53:** Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten häufiger als 2x / Woche einnahmen

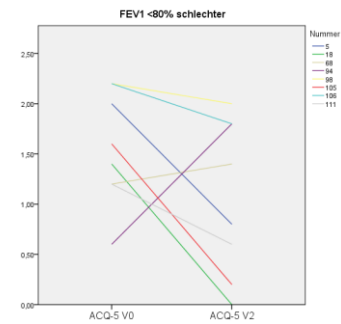
### 3.7.1.5 Parameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „FEV1 <80% von Soll“ zwischen V0 und V2 korrelierten



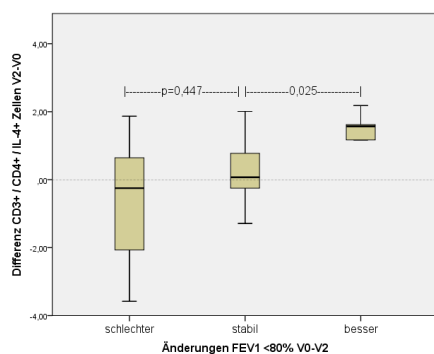
**Abbildung 54:** ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und 0 bei Patienten, deren FEV1 an Visite 0, 2 oder beiden unter 80% vom Soll lag



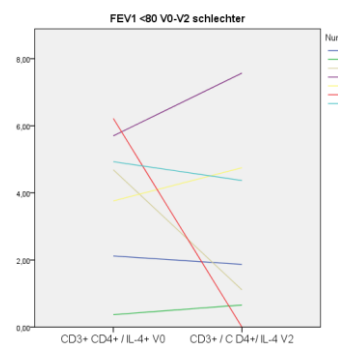
**Abbildung 55:** Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten über 80% vom Soll gestiegen ist



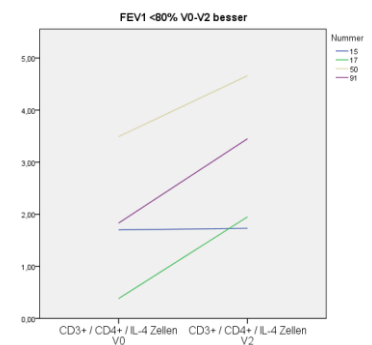
**Abbildung 56:** Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten unter 80% vom Soll gefallen ist



**Abbildung 57:** IL-4-produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 bei Patienten, deren FEV1 an Visite 0, 2 oder beiden unter 80% vom Soll lag



**Abbildung 58:** Individuelle Unterschiede der IL-4-produzierenden T-Helferzellen der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten über 80% vom Soll gestiegen ist



**Abbildung 59:** Individuelle Unterschiede der IL-4-produzierenden T-Helferzellen der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten unter 80% vom Soll gefallen ist

Bei Betrachtung der Beziehungen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle und den klinischen und zellbiologischen Untersuchungsergebnissen zwischen Visite 0 und 2 ergaben sich signifikante Korrelationen zwischen dem exhalieren Stickstoffmonoxid (NO) und dem Auftreten von Symptomen am Tag öfter als zweimal pro Woche ( $r=-0,332$ ;  $p=0,006$ ) (siehe Anhang Tabelle 50/ Abbildung 36). Bei genauer Betrachtung zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den NO-Werten der Patienten, bei denen das Merkmal neu auftrat (schlechter), es an beiden Visiten vorhanden war (stabil) oder bei Visite 2 verschwand (besser) ( $p=0,023$ ). Patienten bei denen das Merkmal an Visite 2 neu auftrat, wiesen höhere NO-Werte auf (Abbildung 38). Patienten, bei denen das Merkmal nach einem halben Jahr verschwand, wiesen niedrigere NO-Werte auf (Abbildung

37). Eine ähnliche Korrelation ergab sich zwischen den Symptomen am Tag öfter als 2x / Woche und den ACQ-5 Werten ( $r=-0,353$ ;  $p=0,005$ ). In gleicher Weise ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den ACQ-5 Werten bei Patienten mit schlechterer, stabiler und besserer Asthma-Kontrolle für das Merkmal „Symptome am Tag öfter als 2x pro Woche“ ( $p=0,020$ ) (Abbildung 39). In der Einzelbetrachtung zeigte sich, dass bei den meisten Patienten mit einer Verbesserung der Asthma-Kontrolle die ACQ-5 Werte sanken (Abbildung 43), bei einer Verschlechterung dagegen anstiegen (Abbildung 44).

Für die Änderungen des Merkmals „Einschränkungen im Alltag“ zwischen V0 und V2 ergab sich eine signifikante Korrelation mit den Änderungen der ACQ-5 Werte ( $r=-0,417$ ;  $p=0,001$ ). Zwischen den Patienten, die für dieses Merkmal besser wurden, stabil blieben oder schlechter wurden, ergab sich ein signifikanter Unterschied in den Differenzen der ACQ-5 Werte ( $p=0,005$ ) (Abbildung 39). Die meisten Patienten, die sich nach 6 Monaten weniger eingeschränkt durch ihr Asthma fühlten, wiesen niedrigere ACQ-5 Werte auf (Abbildung 43). Patienten, die sich nach einem halben Jahr eingeschränkt fühlten, wiesen höhere ACQ-5 Werte an V2 als an V0 auf (Abbildung 44).

Bei den Änderungen im „Auftreten nächtlicher Symptome“ gab es signifikante Korrelationen hinsichtlich des Anteils IFN $\gamma$ -produzierender T-Helferzellen ( $r=0,428$ ;  $p=0,026$ ), des Anteils der IL-17-produzierenden T-Zellen und des Anteils der zytotoxischen T-Zell-Subpopulation ( $r=0,372$ ;  $p=0,047$  und  $r=0,412$ ;  $p=0,037$ ). Die für dieses Merkmal schlechteren, stabilen und besseren Patienten wiesen einen signifikanten Unterschied im Anteil der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen auf ( $p=0,027$ ). Von insgesamt 6 Patienten, die in diesem Merkmal besser wurden (und von denen an beiden Visiten ein IFN $\gamma$ -Wert ermittelt werden konnte), wiesen 5 einen Anstieg im Anteil IFN $\gamma$ -produzierender T-Helferzellen auf (Abbildung 46). Bei denjenigen, die schlechter wurden, ließ sich kein eindeutiger Trend zeigen (Abbildung 47). Für dasselbe Merkmal bestand ebenfalls eine Korrelation mit den IL-17-produzierenden T-Zellen ( $r=0,327$ ;  $p=0,047$ ) und den zytotoxischen T-Zellen ( $r=0,412$ ;  $p=0,037$ ). Es ließen sich jedoch keine eindeutigen Tendenzen identifizieren (Abbildung 48 - Abbildung 50).

Zwischen den Änderungen im „Gebrauch von Notfallmedikation“ und der Differenz der FEV1-Werte bestand eine signifikante Korrelation (absolut  $r=0,500$ ;  $p<0,001$ ). Die Unterschiede der FEV1-Werte zwischen den Patienten, deren Bedarf an Notfallmedikation nach einem halben Jahr auf öfter als zweimal pro Woche anstieg (schlechter), gleich blieb (stabil) oder abnahm (besser), waren signifikant ( $p=0,003$ ) (Abbildung 51). Die meisten Patienten mit einer Abnahme des Gebrauchs an Notfallmedikation hatten nach einem halben Jahr auch höhere FEV1-Werte (Abbildung 52). Patienten mit einem Anstieg im Bedarf an Notfallmedikation zeigten niedrigere FEV1-Werte (Abbildung 53). Eine signifikante

Korrelation zwischen Einschränkungen im Alltag oder dem Gebrauch von Notfallmedikation oder der PC20 konnte nicht gezeigt werden ( $p=0,712$  /  $p=0,861$ ).

Die Änderungen im Merkmal einer „FEV1 <80% vom Soll“ zwischen V0 und V2 korrelierten mit der Differenz der ACQ-5 Werte zwischen V0 und V2 ( $r=0,327$ ;  $p=0,017$ ). Bei genauer Betrachtung stellte sich heraus, dass es keine signifikanten Unterschiede gab zwischen den Patienten, die nach einem halben Jahr in der FEV1 unter 80% vom Soll fielen, stabil darunter blieben ( $n=40$ ) oder darüber stiegen ( $p=0,061$ ) (Abbildung 54). In der individuellen Betrachtung zeigte sich, dass von 4 Patienten, die nach einem halben Jahr über die 80%-Marke der FEV1 stiegen, 3 größere ACQ-5 Werte an V2 aufwiesen als an V0 und einer unverändert blieb (Abbildung 55). Von insgesamt 8 Patienten, die unter 80% vom Soll fielen, zeigten 6 Patienten an V2 kleinere und 2 größere ACQ-5 Werte als an V0 (Abbildung 56). Für das gleiche Merkmal ergab sich auch eine Korrelation mit den Differenzen der IL4-produzierenden T-Helferzellen ( $r=0,326$ ;  $p=0,033$ ). Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten, die stabil für dieses Merkmal blieben und denjenigen, die besser wurden ( $p=0,025$ ) (Abbildung 57). Alle 4 Patienten, die besser wurden, wiesen mehr IL4-produzierende T-Helferzellen auf (Abbildung 59). Bei den Patienten, die sich verschlechterten, wurden bei 4 weniger und bei 3 mehr IL-4-produzierende T-Helferzellen gemessen (Abbildung 58). Auf Grund der geringen Fallzahlen haben diese Beobachtungen jedoch eine sehr geringe Aussagekraft und sollen lediglich eine mögliche Tendenz aufzeigen.

### 3.8 Asthma-Kontrolle und Untersuchungsparameter bei atopischen Patienten

Da sich das untersuchte Patientenkollektiv aus Asthmatikern mit den unterschiedlichsten Phänotypen zusammensetzte, wurde im letzten Schritt dieser Arbeit untersucht, wie sich die einzelnen Messergebnisse zur Asthma-Kontrolle in der Subpopulation der atopischen Asthmatiker verhalten.

#### 3.8.1 Eigenschaften, Therapie und Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten bei Studienbeginn

Die atopischen Patienten wiesen zu Studienbeginn folgende Charakteristika und Therapien auf:

**Tabelle 23: Demographie und Therapie atopischer Patienten bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
Anzahl der Probanden (n)	82 (100)			
Männlich	31 (37,8)			
weiblich	51 (62,2)			
Alter (Jahre)	82 (100)	47 $\pm$ 14	48 (42 / 56)	19 / 74
Größe (cm)	82 (100)	169 $\pm$ 9	168 (162 / 176)	152 / 197
Gewicht (kg)	82 (100)	77 $\pm$ 17	75 (75 / 66 / 86)	48 / 138
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	82 (100)	26,9 $\pm$ 5,7	25,8 (22,9 / 29,4)	18,4 / 49,5
Eosinophilie	23 (28,0)			
ICS	66 (80,5)			



Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
LABA	49 (59,8)			
SABA	70 (85,4)			
LAMA	7 (8,5)			
OCS	14 (17,0)			
Sonstige	29 (35,4)			

Die Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten stellten sich bei Visite 0 wie folgt dar:

**Tabelle 24: Klinische Parameter atopischer Patienten bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
NO (ppb)	82 (100)	30,1 $\pm$ 23,4	23,3 (15,5 / 34,0)	5,0 / 155,5
FEV1 (L)	82 (100)	2,6 $\pm$ 0,9	2,6 (1,9 / 3,1)	0,8 / 5,17
FEV1 (% v. Soll)	82 (100)	83,5 $\pm$ 21,3	90,0 (71,0 / 97,0)	26,0 / 125,0
Bluteosinophile (/nl)	82 (100)	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 ( 0,1 / 0,3)	0,0 / 2,1
Sputumeosinophile (%)	32 (39,0)	3,4 $\pm$ 9,2	0,0 (0,0 / 1,7)	0,0 / 40,5
Gesamt-IgE i. Serum (kU/l)	81 (98,8)	403,0 $\pm$ 908,8	182,0 (66,0 / 298,0)	2,1 / 5000,0

## Ergebnisse

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
PC20 (mg/ml)	60 (73,2)	3,9 $\pm$ 5,4	1,1 (0,4 / 6,3)	0,0 / 16,0
ACQ-5 (Score)	81 (98,8)	1,6 $\pm$ 1,1	1,4 (0,6 / 2,2)	0,0 / 4,8

**Tabelle 25: Zytokinprofil der CD3positiven Zellen (T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
IFN $\gamma$ (%)	27,2 $\pm$ 15,6	25,6 (14,5 / 35,2)	4,6 / 73,6
IL-10 (%)	2,1 $\pm$ 1,4	1,8 (1,1 / 2,7)	0,4 / 9,7
IL-4 (%)	4,1 $\pm$ 3,1	3,3 (2,3 / 4,8)	0,4 / 11,8
IL-5 (%)	1,2 $\pm$ 1,4	0,9 (0,4 / 1,3)	0,0 / 10,6
IL-13 (%)	3,1 $\pm$ 3,1	2,3 (1,3 / 3,7)	0,2 / 18,5
IL-17 (%)	1,7 $\pm$ 1,5	1,8 (0,9 / 2,1)	0,0 / 8,7
FoxP3 (%)	8,3 $\pm$ 4,5	7,8 (4,8 / 11,8)	0,0 / 25,8

**Tabelle 26: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen (zytotoxischen T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
IFN $\gamma$ (%)	16,7 $\pm$ 11,2	14,7 (8,7 / 22,8)	0,5 / 64,5
IL-10 (%)	0,5 $\pm$ 0,9	0,3 (0,2 / 0,5)	0,0 / 7,4
IL-4 (%)	1,2 $\pm$ 1,4	0,8 (0,4 / 1,4)	0,1 / 8,0
IL-5 (%)	0,6 $\pm$ 1,0	0,3 (0,1 / 0,6)	0,0 / 7,6
IL-13 (%)	1,1 $\pm$ 2,0	0,6 (0,3 / 1,0)	0,1 / 14,1
IL-17 (%)	0,4 $\pm$ 1,0	0,1 (0,1 / 0,3)	0,0 / 6,7

**Tabelle 27 : Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen (Th-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1 / Q3)	Min. / Max.
IFN $\gamma$ (%)	10,7 $\pm$ 6,8	9,5 (6,5 / 14,1)	1,5 / 38,3
IL-10 (%)	0,5 $\pm$ 0,9	1,4 (0,8 / 2,2)	0,2 / 5,1
IL-4 (%)	3,0 $\pm$ 2,2	2,5 (1,7 / 3,5)	0,4 / 12,5
IL-5 (%)	0,6 $\pm$ 0,5	0,5 (0,3 / 0,8)	0,0 / 3,0
IL-13 (%)	2,0 $\pm$ 1,6	1,6 (0,8 / 2,8)	0,2 / 7,3
IL-17 (%)	1,3 $\pm$ 0,8	1,1 (0,8 / 1,8)	0,0 / 3,6

Signifikante Unterschiede zwischen dem Gesamtkollektiv und den Atopikern bestanden zum einen klinisch in der Menge des Gesamt-IgEs im Blut ( $p \leq 0,001$ ) und zellbiologisch im Anteil der IL-10 produzierenden T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) ( $p=0,046$ ).

### 3.9 Demographie und Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) in Bezug zur Asthma-Kontrolle

Wie beim gesamten Kollektiv wurden die Charakteristika und Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten der individuellen Asthma-Kontrolle zugeordnet und untereinander verglichen.

**Tabelle 28: Demographie und Therapiestatus der atopischen Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bei Studienbeginn (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Anzahl n (%)	25 (30,5)	26 (31,7)	31(37,8)
Geschlecht (m/w)	10 / 15	13 / 13	8 / 23

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Eosinophilie n (%)	6 (26,1)	4 (16,7)	8 (27,6)
ICS n (%)	13 (15,9)	21 (25,6)**	31 (37,8)***
LABA n (%)	10 (12,2)	13 (15,9)	25 (30,5)**
SABA n (%)	18 (22,0)	21 (25,6)	30 (36,6)*
LAMA n (%)	0 (0)	2 (2,4)	5 (6,1)*
OCS n (%)	1 (1,2)	1 (1,2)	12 (14,6)**
Sonstige n (%)	6 (7,3)	3 (3,7)	19 (23,2)**
Alter Median (Q1 / Q3)	47(41 / 51)	46 (29 / 62)	49 (43 / 56)
Min. / Max. (Jahre)	19 / 61	20 / 74	19 / 74
Größe Median (Q 1/ Q3)	168 (163 /180)	170 (165 / 177)	164 (160 / 170)
Min. / Max. (cm)	160 / 188	152 / 197	155 / 186
Gewicht Median (Q1 / Q3)	73 (65 / 84)	75 (70 / 87)	77 (68 / 86)
Min. / Max. (kg)	48 / 138	52 / 107	55 / 130
BMI Median (Q1 / Q3)	23,9 (22,2 / 28,2)	26,6 (22,7 / 28,1)	26,1 (23,5 / 31,2)
Min. / Max. (kg/m2)	18,8 / 39,3	18,4 / 38,0	20,5 / 49,5

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Dauer des Asthmas Median (Q1 / Q3)	12 (6 / 27)	13 (9 / 32)	22 (10 / 38)
Min./Max. (Jahre)	3 / 49	0 / 70	2 / 55

Vergleich jeweils zu „kontrolliert“ als Referenzgruppe. \*)  $p \leq 0,050$ ; \*\*)  $p \leq 0,010$ ; \*\*\*)  $p \leq 0,001$

Innerhalb der Atopiker unterschieden sich die Patienten in den drei Gruppen der Asthma-Kontrolle nur in Bezug auf ihre Therapie. Patienten mit kontrolliertem Asthma unterschieden sich signifikant nur im Gebrauch von ICS ( $p=0,015$ ) von teilweise kontrollierten Patienten. Patienten mit unkontrolliertem Asthma unterschieden sich signifikant im Gebrauch von allen aufgeführten Medikationen von den Patienten mit kontrolliertem Asthma (Tabelle 28).

### 3.10 Klinische Untersuchungen der atopischen Patienten bei Studienbeginn (V0)

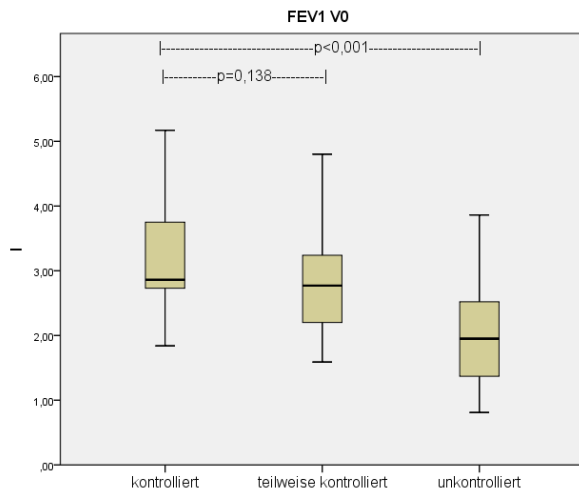


Abbildung 60: Lungenfunktion (FEV1 absolut) atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle

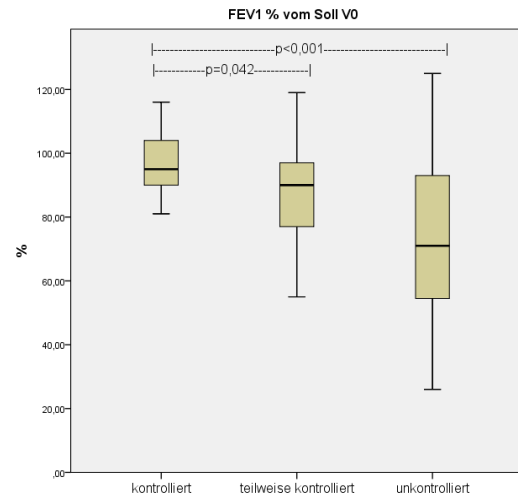


Abbildung 61: Lungenfunktion (FEV1 % vom Soll) atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle

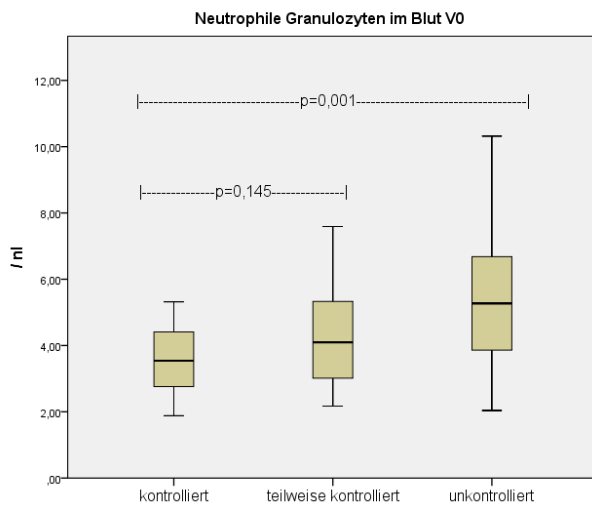


Abbildung 62: Neutrophile Granulozyten im Blut der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn

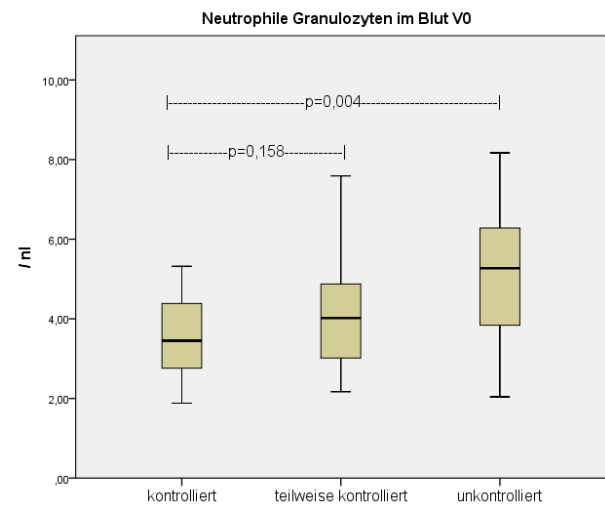


Abbildung 63: Neutrophile Granulozyten im Blut der atopischen Patienten, die keine oralen Kortikosteroide (OCS) einnahmen, in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn

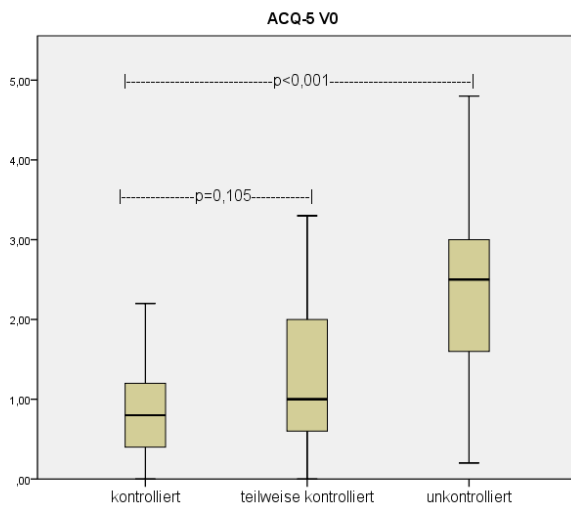


Abbildung 64: ACQ-5 Werte der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn

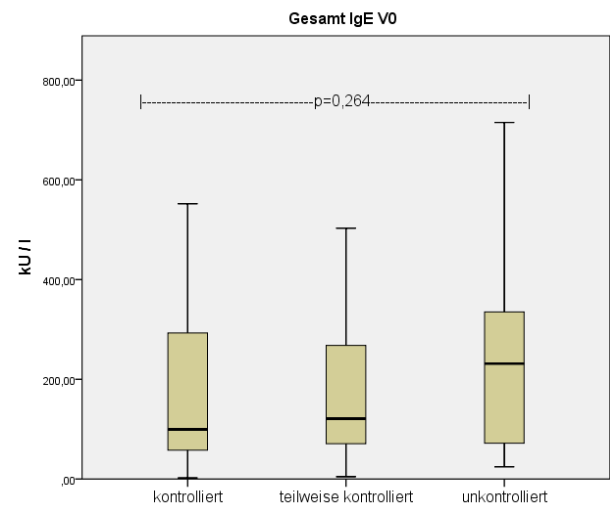


Abbildung 65: Gesamt IgE-Werte der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn

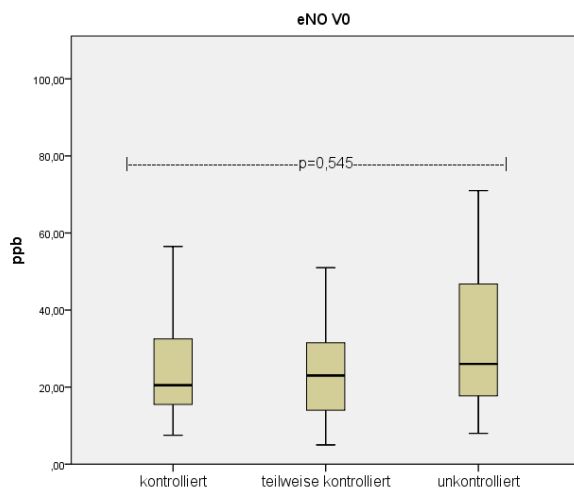


Abbildung 66: NO-Anteil in der exhalierten Atemluft atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn

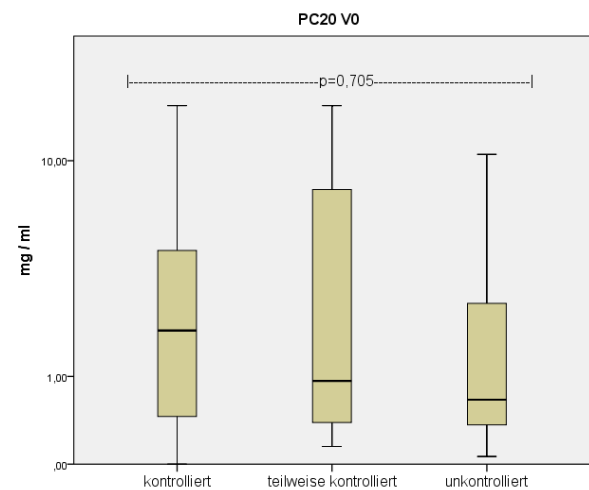
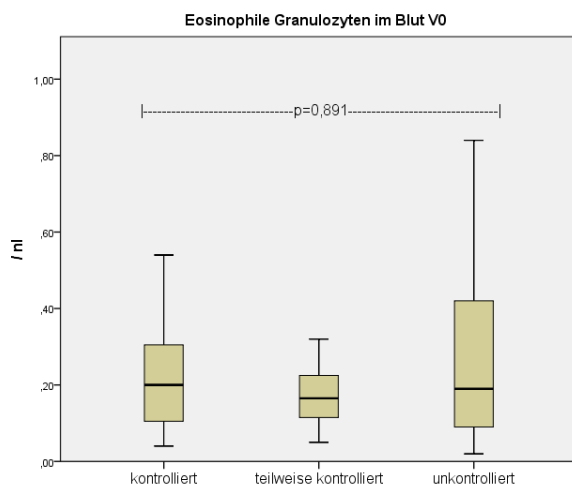
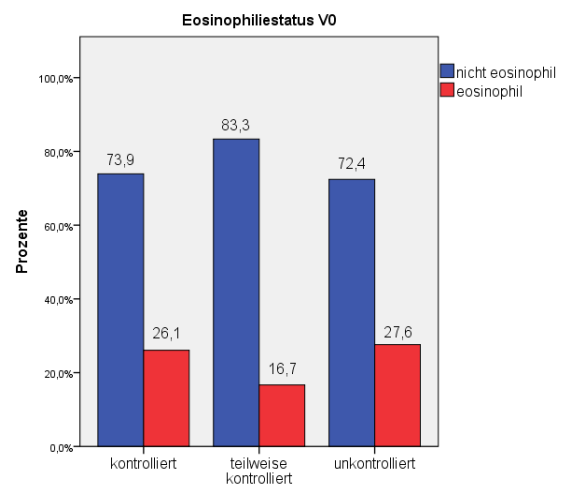


Abbildung 67: Metacholin-Konzentrationen, die bei atopischen Patienten zu einem Rückgang der FEV1 um 20% führten (PC20), in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn





**Abbildung 68: Eosinophile Granulozyten im Blut der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn**



**Abbildung 69: Anteile eosinophiler (>300 / µl) und nicht-eosinophiler (<300 / µl) atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn**

Die Betrachtung der atopischen Patienten zeigte wie im Gesamtkollektiv, dass Patienten mit unkontrolliertem Asthma die niedrigsten FEV1-Werte (sowohl absolut als auch % vom Soll) hatten. Sie unterschieden sich in der FEV1 signifikant von Patienten mit kontrolliertem Asthma (absolut  $p=0<0,001$ ; relativ  $p=<0,001$ ) (Abbildung 60 und Abbildung 61). Ebenfalls wie im Gesamtkollektiv unterschieden sie sich signifikant in der Anzahl neutrophiler Granulozyten /nl Blut ( $p=0,001$ ) (Median: 5,3 /nl) (Abbildung 62). In gleicher Weise hatten Patienten mit unkontrolliertem Asthma, die keine oralen Kortikosteroide einnahmen (Abbildung 63), signifikant mehr Neutrophile im Blut als kontrollierte Patienten. Auch in den ACQ-5 Werten unterschieden sich unkontrollierte von kontrollierten Patienten signifikant ( $p<0,001$ ). Dagegen wiesen kontrollierte und teilweise kontrollierte Patienten auch innerhalb der Atopiker keine signifikanten Unterschiede auf (Abbildung 64). Weder im Gesamtkollektiv noch innerhalb der atopischen Patienten gab es signifikante Unterschiede im Gesamt-IgE (Abbildung 65), in den NO-Konzentrationen (Abbildung 66), in der bronchialen Hyperreagibilität (PC20) (Abbildung 67) oder in den Eosinophilen der Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle (Blut  $p=0,891$ ) (Abbildung 68) (Vergleich mit Gesamtkollektiv Abbildung 8 - Abbildung 16).

### 3.10.1 Zellbiologische Untersuchungen der atopischen Patienten bei Studienbeginn (V0)

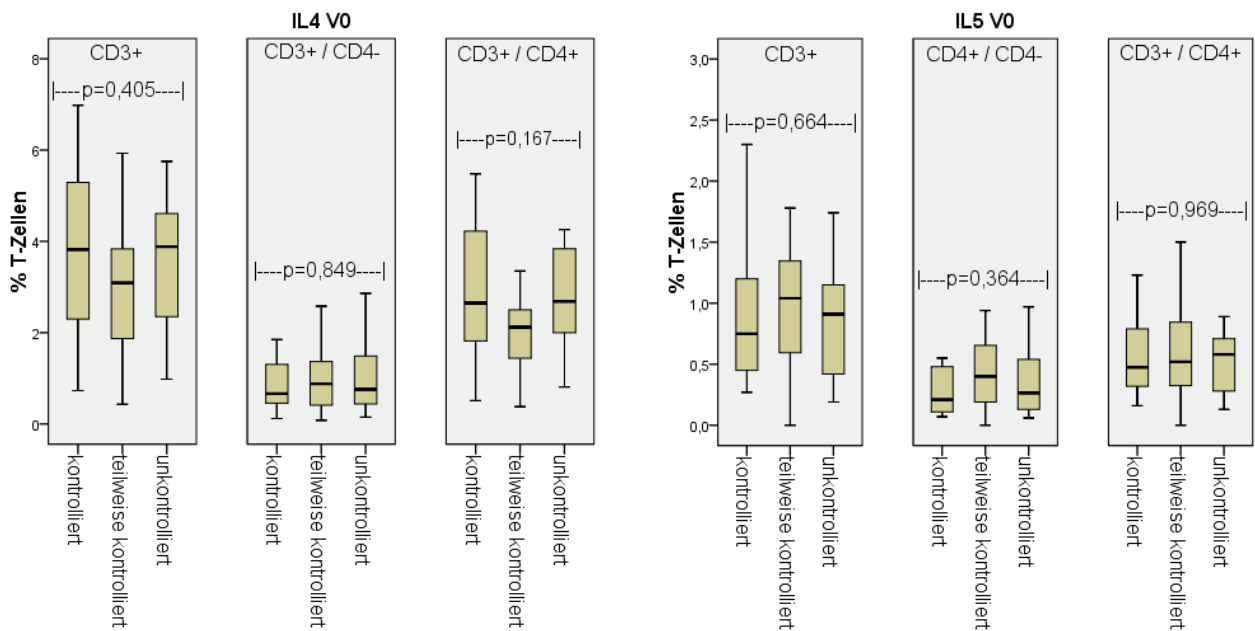


Abbildung 70: Interleukin-4 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn

Abbildung 71: Interleukin-5 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn

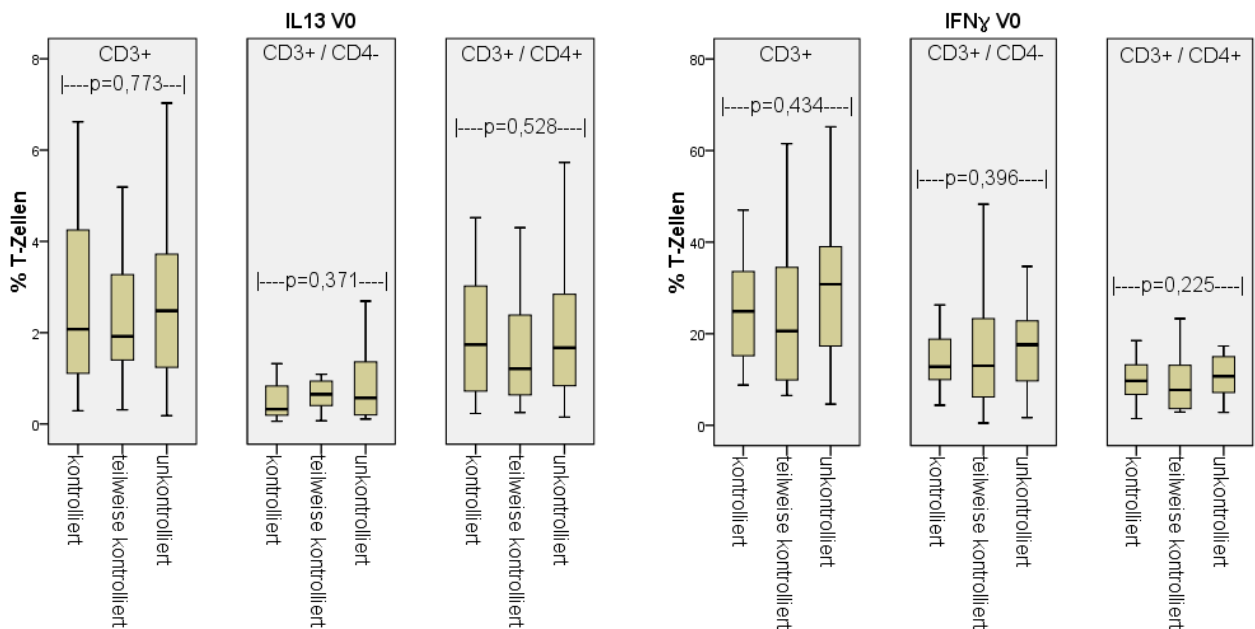


Abbildung 72: Interleukin-13 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn

Abbildung 73: Interferon- $\gamma$  produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn

In Analogie zum Gesamtkollektiv bestanden keine signifikanten Unterschiede in den Anteilen Zytokin-produzierender Lymphozyten zwischen den atopischen Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle (Vergleich mit Gesamtkollektiv (Abbildung 17 - Abbildung 20)).

### 3.11 Asthma-Kontrolle der atopischen Patienten im Verlauf der Studie

**Tabelle 29: Asthma-Kontrolle atopischer Patienten in Bezug zu den Untersuchungszeitpunkten (V0-V1 und V0-V2)**

	Asthma-Kontrolle V0-V1	Asthma-Kontrolle V0-V2
Stabil (n / %)	76 / 92,7	56 / 70,9
Schlechter (n / %)	3 / 3,9	9 / 11,4
Besser (n / %)	3 / 3,9	14 / 17,7

Wie im Gesamtkollektiv blieb die Asthma-Kontrolle der meisten atopischen Patienten im Verlauf der Studie stabil. Nach einer Woche waren 92,7% der Patienten unverändert stabil, nach einem halben Jahr noch 70,9 % der Patienten. Jeweils 3 (3,9%) der atopischen Patienten verschlechterten bzw. verbesserten sich im Status der Asthma-Kontrolle. An Visite 2, nach einem halben Jahr, wiesen 9 atopische Patienten (11,4%) eine schlechtere und 14 (17,7%) eine bessere Asthma-Kontrolle auf. Wie im Gesamtkollektiv werden die Ergebnisse der Kurzzeitanalyse auf Grund der geringen Fallzahlen nicht dargestellt. Im Weiteren werden nur Daten bzw. Veränderungen zwischen Visite 0 und 2 analysiert und dargestellt.

### 3.11.1 Änderungen der Asthma-Kontrolle in Bezug zu klinischen Parametern atopischer Patienten zwischen Visite 0 und 2

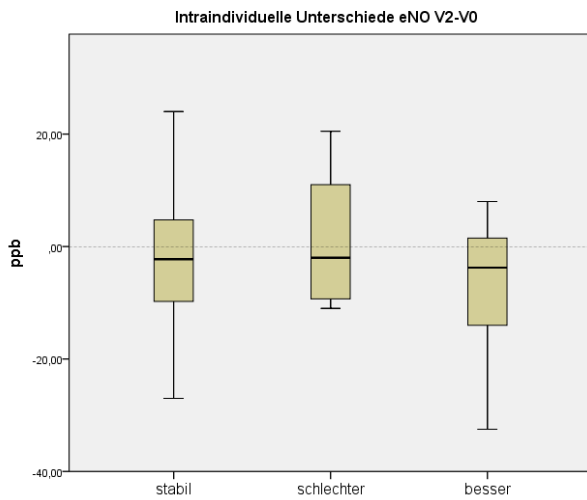


Abbildung 74: Intraindividuelle Unterschiede des NOs von atopischen Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2

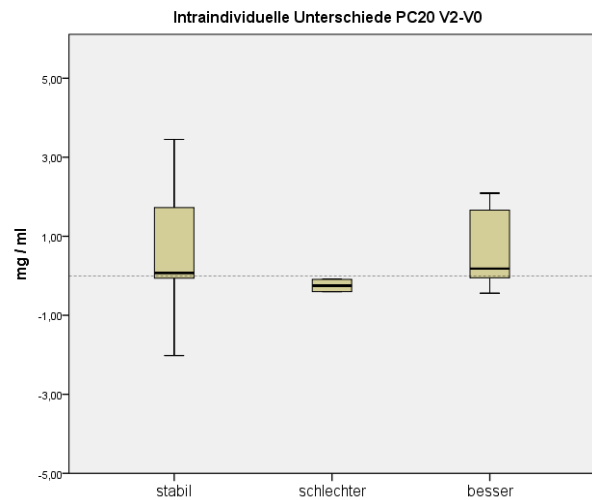


Abbildung 75: Intraindividuelle Unterschiede der PC20 von atopischen Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2

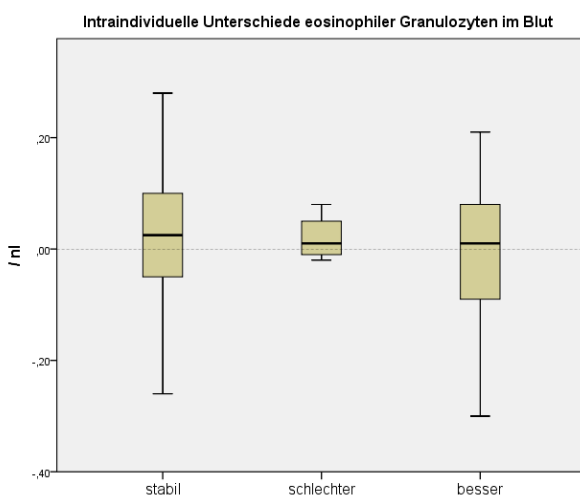


Abbildung 76: Intraindividuelle Unterschiede eosinophiler Granulozyten im Blut atopischer Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2

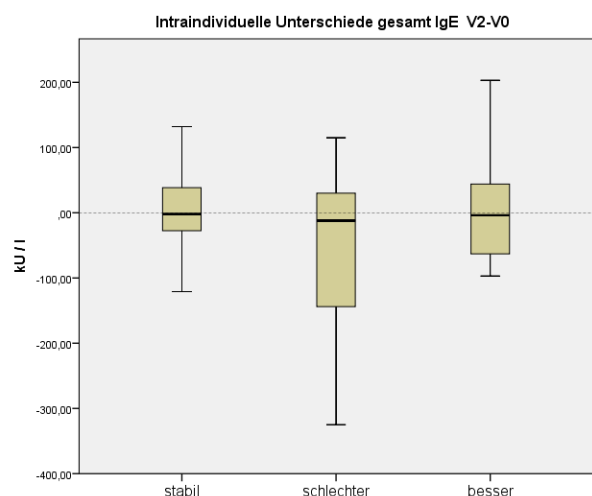
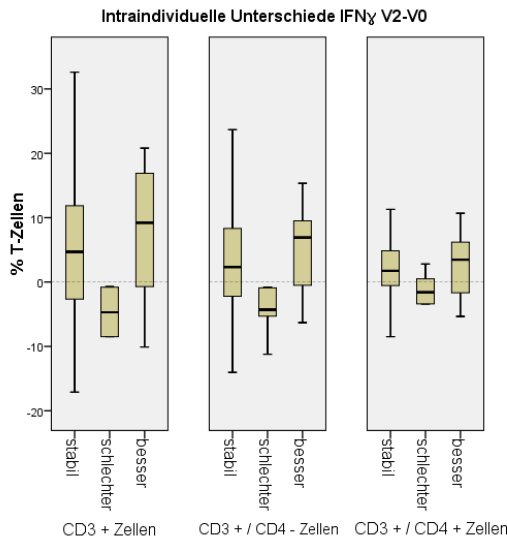


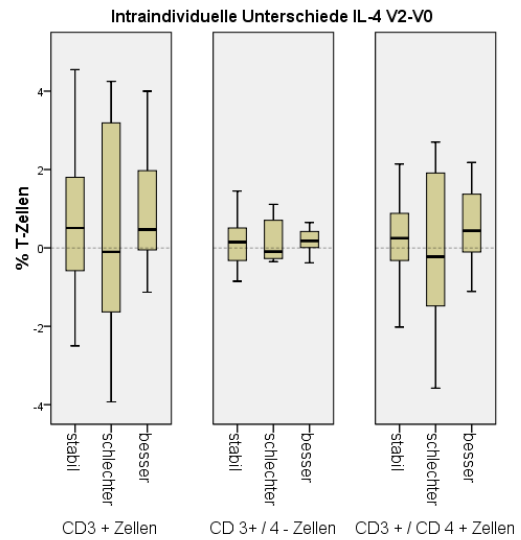
Abbildung 77: Intraindividuelle Unterschiede des Gesamt-IgEs atopischer Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2

In der Subpopulation der atopischen Patienten konnten insgesamt keine signifikanten Änderungen der untersuchten klinischen Parameter zwischen V0 und V2 nachgewiesen werden (siehe Anhang Tabelle 66 / Abbildung 74 - Abbildung 77).

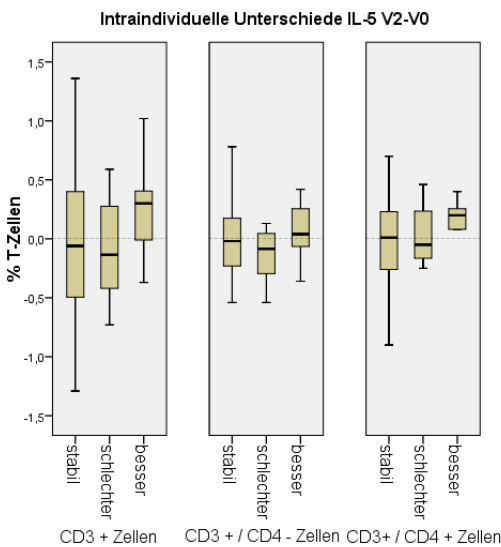
### 3.11.2 Änderungen der Asthma-Kontrolle in Bezug zu zellbiologischen Parametern atopischer Patienten zwischen Visite 0 und 2



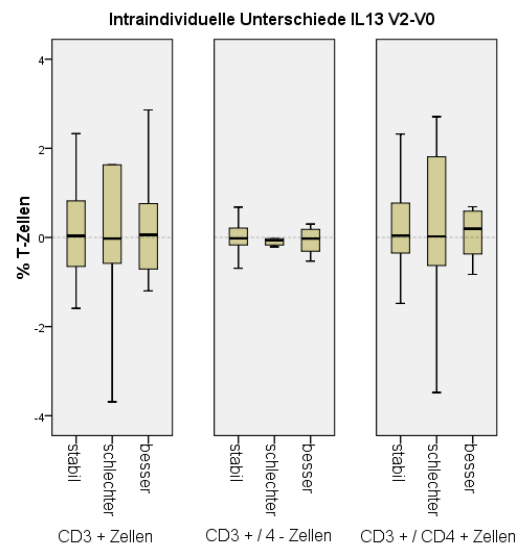
**Abbildung 78:** Intraindividuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Zellen (CD3+), zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2



**Abbildung 79:** Intraindividuelle Unterschiede der IL-4-produzierenden T-Zellen (CD3+), zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2



**Abbildung 80:** Intraindividuelle Unterschiede der IL-5-produzierenden Anteile der T-Zellen (CD3+), der zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und der T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2



**Abbildung 81:** Intraindividuelle Unterschiede der IL-13-produzierenden Anteile der T-Zellen (CD3+), der zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und der T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2

Zellbiologisch konnten signifikante Änderungen wie im Gesamtkollektiv nur im Anteil der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Zellen festgestellt werden. Insbesondere bestehen hier signifikante

Änderungen bei atopischen Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle im Anteil der gesamten T-Zellpopulation (CD3+) ( $p=0,017$ ) (siehe Anhang Tabelle 67/ Abbildung 78). Grenzwertig signifikant zeigten sich auch Änderungen in der Subpopulation der T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) bei stabiler Asthma-Kontrolle ( $p=0,050$ ) (siehe Anhang Tabelle 72 / Abbildung 78). Bei Verschlechterung der Asthma-Kontrolle zeigten sich signifikante Änderungen in der Gesamt-T-Zellpopulation ( $p=0,031$ ) und den zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) ( $p=0,031$ ) (siehe Anhang Tabelle 68, Tabelle 70/ Abbildung 78). Die Anteile der Zellen, in denen die Expression der übrigen Zytokine nachgewiesen werden konnte, unterschieden sich nicht (siehe Anhang Tabelle 67-Tabelle 74/ Abbildung 79-

Abbildung 81).

### 3.12 Einzel-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA bei atopischen Patienten

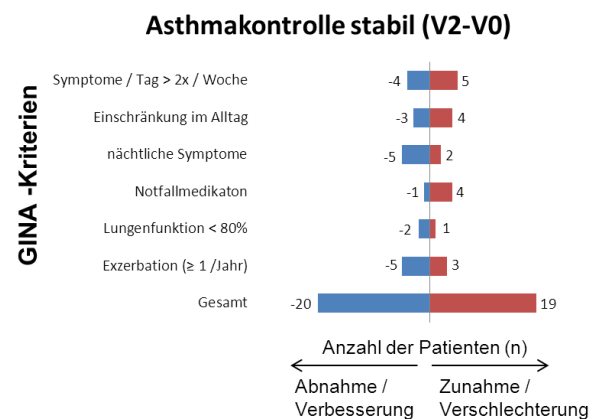
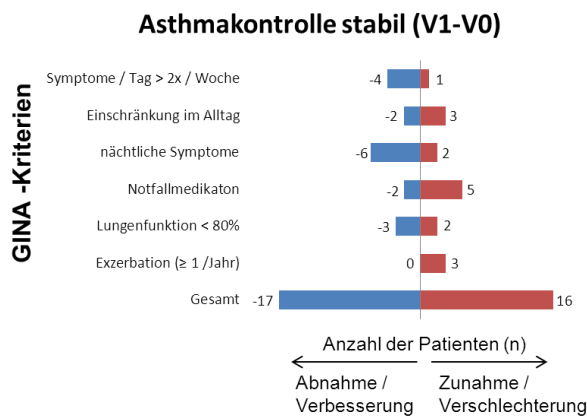
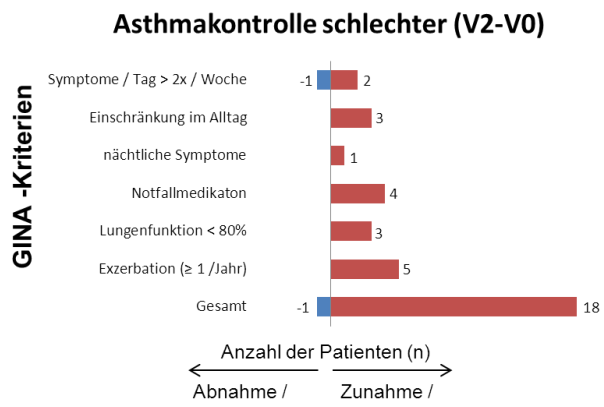
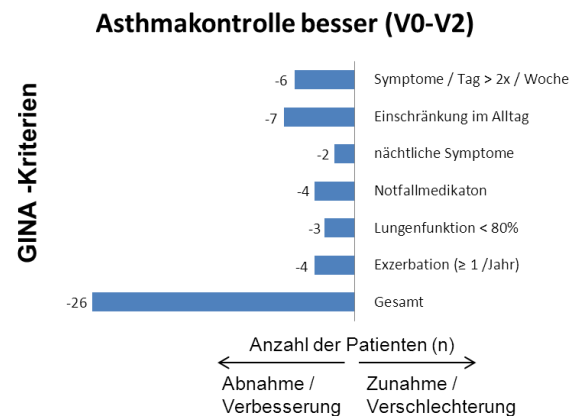


Abbildung 82: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei atopischen Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle innerhalb einer Woche

Abbildung 83: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei atopischen Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten



**Abbildung 84: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei atopischen Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**



**Abbildung 85: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Auch bei atopischen Patienten zeigte sich, dass sich die einzelnen Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle bei einem Großteil der Patienten trotz insgesamt stabiler Asthma-Kontrolle, sowohl nach einer Woche, als auch nach einem halben Jahr änderten und die Asthma-Kontrolle nur in der Summe der erfüllten bzw. nicht erfüllten Kriterien stabil blieb (Abbildung 82 und Abbildung 83). Ebenfalls ähnlich dem Gesamtkollektiv waren bei Verschlechterung und Verbesserung der Asthma-Kontrolle die Zu- bzw. Abnahme der Kriterien relativ gleichmäßig verteilt (Abbildung 84 und Abbildung 85). Am wenigsten Veränderung gab es bei den nächtlichen Symptomen.

### 3.12.1 Korrelationen zwischen Veränderungen der einzelnen Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA und den Untersuchungsergebnissen der atopischen Patienten zwischen Visite 0 und Visite 2

Wie bereits im Gesamtkollektiv wurden auch in der atopischen Subpopulation Zusammenhänge zwischen Veränderungen der einzelnen Kriterien, wie sie die GINA zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle definiert hat, und den Untersuchungsparametern der Studie untersucht.

#### 3.12.1.1 Parameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „Einschränkungen im Alltag“ zwischen V0 und V2 korrelierten

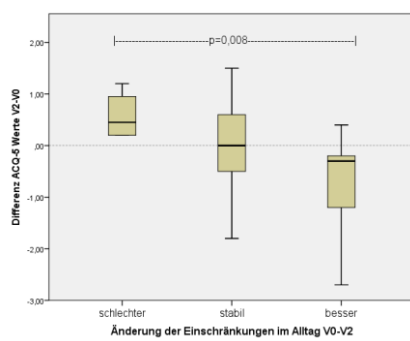


Abbildung 86: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und Visite 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden durch ihr Asthma in ihrem Alltag eingeschränkt waren

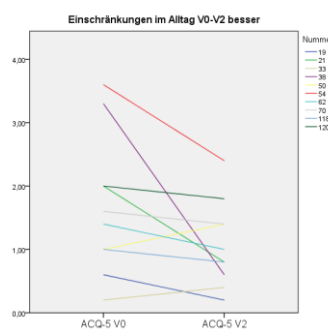


Abbildung 87: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der atopischen Patienten, die sich nach 6 Monaten nicht mehr durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten

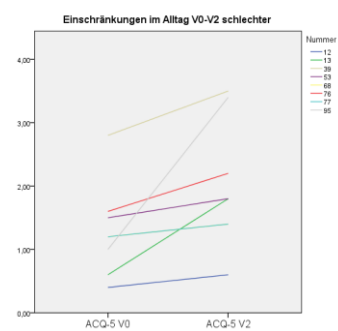


Abbildung 88: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die sich nach 6 Monaten durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten

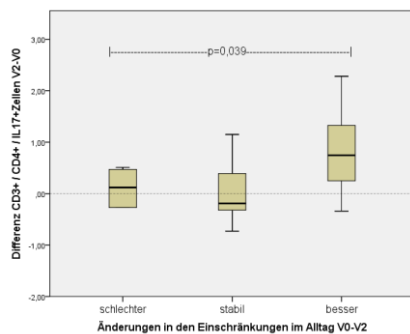


Abbildung 89: IL-17-produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die sich an Visite 0, 2 oder beiden durch ihr Asthma in ihrem Alltag eingeschränkt fühlten

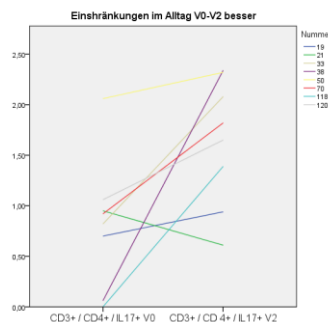


Abbildung 90: Individuelle Unterschiede der IL17-produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die sich nach 6 Monaten nicht mehr durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten

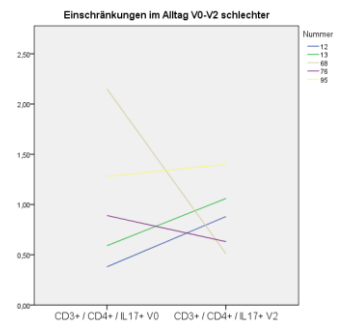


Abbildung 91: Individuelle Unterschiede der IL17-produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die sich nach 6 Monaten durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten



### 3.12.1.2 Untersuchungparameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „nächtlige Symptome“ zwischen V0 und V2 korrelierten

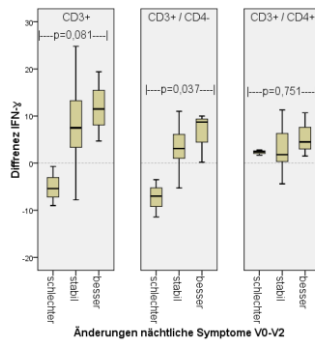


Abbildung 92: IFN $\gamma$ -produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden nächtliche Symptome hatten

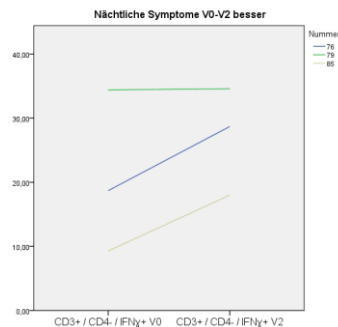


Abbildung 93: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die nach 6 Monaten keine nächtlichen Symptome mehr hatten

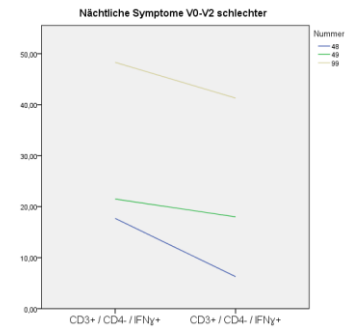


Abbildung 94: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die nach 6 Monaten nächtliche Symptome entwickelten

### 3.12.2 Untersuchungparameter, die mit den Änderungen des GINA-Kriteriums „Gebrauch von Notfallmedikation“ zwischen V0 und V2 korrelierten

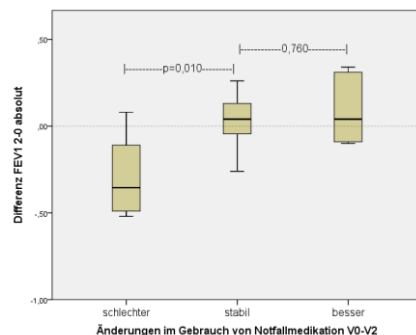


Abbildung 95: FEV1 (absolute Werte) zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0 oder 2 ihre Notfallmedikation öfter als 2x / Woche einnahmen

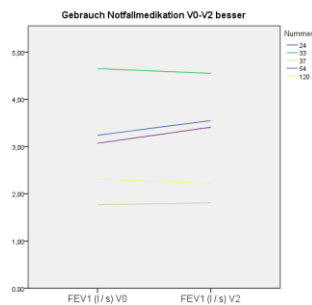


Abbildung 96: Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten seltener als 2x / Woche einnahmen

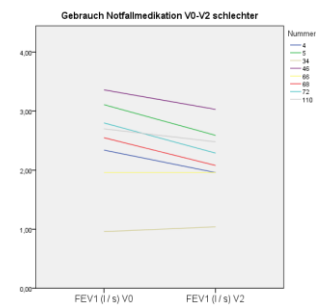
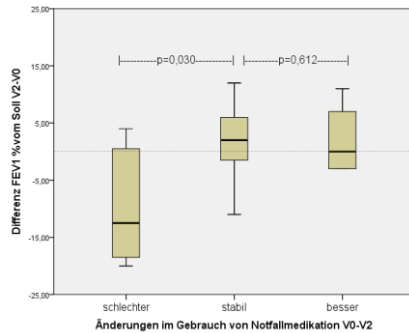
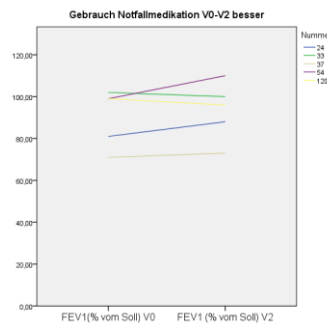


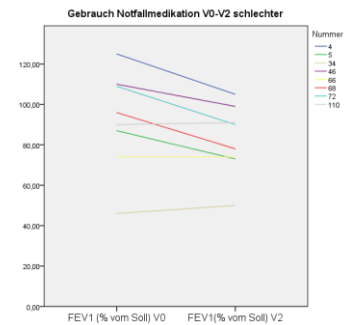
Abbildung 97: Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten öfter als 2x / Woche einnahmen



**Abbildung 98: FEV1 (% vom Soll) zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0 oder 2 ihre Notfallmedikation öfter als 2x / Woche einnahmen**



**Abbildung 99: Individuelle Unterschiede der FEV1 (% vom Soll) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten seltener als 2x / Woche einnahmen**



**Abbildung 100: Individuelle Unterschiede der FEV1 (% vom Soll) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten öfter als 2x / Woche einnahmen**

Innerhalb der atopischen Patienten ließen sich ebenfalls signifikante Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle und den klinischen und zellbiologischen Untersuchungsergebnissen zeigen. Im Gegensatz zum Gesamtkollektiv ergab sich keine signifikante Korrelation zwischen dem exhalieren Stickstoffmonoxid (NO) und dem Auftreten von „Symptomen am Tag öfter als zweimal pro Woche“ ( $r=-0,274$ ;  $p=0,076$ ). Gleich dem Gesamtkollektiv ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen den Änderungen in den „Einschränkungen im Alltag“ und der Differenz der ACQ-5 Werte zwischen V0 und V2 ( $r=-0,503$ ;  $p=0,001$ ). Die Unterschiede zwischen den Patienten, die sich nach einem halben Jahr durch ihr Asthma im Alltag eingeschränkt (schlechter), an V0 und V2 gleich eingeschränkt oder weniger eingeschränkt fühlten, waren ebenso signifikant ( $p=0,008$ ) (Abbildung 86). Fast alle Patienten, die sich verbesserten ( $n=10$ ), wiesen nach 6 Monaten kleinere ACQ-5 Werte auf (Abbildung 87). Atopische Patienten, die sich verschlechterten, wiesen nach einem halben Jahr höhere ACQ-5 Werte auf (Abbildung 88). Im Gegensatz zum Gesamtkollektiv ließ sich eine signifikante Korrelation zwischen den Einschränkungen im Alltag und den IL-17-produzierenden T-Helferzellen zeigen ( $r=0,378$ ;  $p=0,039$ ). Es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Differenzen der IL17-produzierenden T-Helferzellen der stabilen, gebesserten und verschlechterten Patienten ( $p=0,039$ ) (Abbildung 89). 7 von 8 atopischen Patienten, die für dieses Merkmal besser wurden, wiesen an Visite 2 mehr T-Helferzellen auf, die IL-17 produzierten, als an Visite 0 (Abbildung 90). Bei atopischen Patienten, die sich verschlechterten, konnte kein eindeutiger Trend in den Anteilen der IL-17-produzierenden T-Helferzellen gezeigt werden (Abbildung 91).

Ebenso konnten bei atopischen Patienten signifikante Korrelationen zwischen in diesem Merkmal stabilen, bei V2 erneut oder nicht mehr vorhandenen „nächtlichen Symptomen“ und Differenzen der IFN $\gamma$ - und IL-17-produzierenden T-Zellen errechnet werden. Im Fall von IFN $\gamma$  zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den stabilen, schlechteren und besseren atopischen Patienten besonders in der Subpopulation der zytotoxischen T-Zellen ( $p=0,037$ ) (Abbildung 92). Bei genauer Betrachtung der individuellen Unterschiede zwischen V0 und V2 zeigte sich, dass sich lediglich 3 Patienten in Bezug auf nächtliche Symptome verschlechterten bzw. verbesserten. Dennoch zeigten alle 3 atopischen Patienten mit Rückgang der nächtlichen Symptome (besser) an V2 mehr IFN- $\gamma$ -positive zytotoxische T-Zellen als an V0 (Abbildung 93). Bei Patienten, die erst nach V0 nächtliche Symptome angaben, gingen die Anteile der IFN $\gamma$ -positiven zytotoxischen T-Zellen zurück (Abbildung 94). Im Fall der Korrelation mit IL-17 waren es lediglich 2 Atopiker, die sich verschlechterten und 5, die sich besserten. Es konnten auch keine eindeutig gerichteten Trends gezeigt werden.

Ein Unterschied im Gebrauch von Notfallmedikation zwischen Visite 0 und 2 korrelierte bei atopischen Patienten ebenso wie im Gesamtkollektiv mit der Differenz der FEV1 (absolut) ( $r=0,495$ ;  $p=0,007$ ). Mit einer Zunahme des Gebrauchs der Notfallmedikation ( $n=8$ , schlechter) wiesen die Patienten nach einem halben Jahr einen signifikanten Unterschied zu den für dieses Merkmal stabilen Patienten auf (absolut  $p=0,010$ ; relativ  $p=0,030$ ). Patienten mit einem Rückgang im Gebrauch von Notfallmedikation ( $n=5$ ) zeigten keine signifikanten Unterschiede zu stabilen Patienten (absolut  $p=0,760$ ; relativ  $p=0,612$ ) (Abbildung 95 und Abbildung 98). Jedoch konnte für beide Fälle kein eindeutiger Trend im Verhalten der FEV1 in Bezug auf den Bedarf an Notfallmedikation gezeigt werden (Abbildung 97 und Abbildung 100) (Abbildung 96 und Abbildung 99).

Ähnlich wie im Gesamtkollektiv ließen sich weitere Korrelationen zwischen den verschiedenen GINA-Merkmalen und den Anteilen Zytokin-produzierender T-Zellen, insbesondere für IFN- $\gamma$  und IL-17 errechnen, diese beruhten jedoch auf Veränderungen nur sehr weniger Patienten. Somit konnte kein kausaler Zusammenhang zwischen den Veränderungen oder der Stabilität der einzelnen Merkmale und den zellbiologischen Parametern nachgewiesen werden. Diese Fälle wurden nicht dargestellt.

## 4 Diskussion

Asthma ist eine komplexe und heterogene Erkrankung mit seit Jahrzehnten zunehmender Inzidenz. Zu ihrer Entstehung tragen sowohl genetische als auch Umwelteinflüsse bei [99, 100]. Der Heterogenität dieser Erkrankung liegen verschiedene Pathomechanismen zu Grunde, die jeweils unterschiedliche Phänotypen definieren [101, 102]. Allen Phänotypen gemein sind Atemwegsentszündung und variable Einschränkungen der Lungenfunktion. Häufige Symptome, die je nach Intensität die Lebensqualität der Patienten beeinträchtigen, sind Kurzatmigkeit, Atemnot (häufig anfallsartig), Giemen und Husten [1, 4].

Zurzeit werden zur Behandlung dieser Symptome hauptsächlich antiinflammatorische und bronchialerweiternde Substanzen wie Kortikosteroide und Bronchodilatoren empfohlen. Seit wenigen Jahren stehen zusätzlich spezifischere Therapien zur Verfügung, die gezielt in immunologische Prozesse der Erkrankung eingreifen, z.B. die Behandlung mit anti-IgE-Antikörpern. IgE spielt eine zentrale Rolle beim allergischen Asthma, der monoklonale Anti-IgE-Antikörper Omalizumab wird bereits erfolgreich bei Patienten mit schwerem allergischem Asthma angewendet [32, 103-107]. In Zukunft wird es immer mehr zusätzliche Therapiemöglichkeiten geben, da immer mehr Mechanismen verstanden werden, die zum klinischen Bild des Asthmas führen. Besondere Aufmerksamkeit gilt hierbei bestimmten Zytokinen, die in der Lage sind, Immunantworten zu steuern. Zurzeit befinden sich mehrere Antikörper gegen IL5, IL13 und IL17 in fortgeschrittenen Phasen der klinischen Prüfung. Deshalb ist ein gutes Asthma-Management mit genauer Diagnose, Wahl einer angemessenen Therapie und einer intensiven Verlaufskontrolle besonders wichtig.

Um die Güte der Therapie zu klassifizieren, hat man den Begriff der Asthma-Kontrolle eingeführt. Die Global Initiative for Asthma (GINA) empfiehlt, Asthmatherapien am Status dieser Asthma-Kontrolle zu orientieren. Man unterscheidet zwischen kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma. Dieser Status wird nach sechs Kriterien beurteilt:

dem Auftreten von Symptomen am Tag öfter als 2x pro Woche,

dem Auftreten von Beeinträchtigung in Alltag durch das Asthma,

dem Auftreten von nächtlichen Symptomen,

dem Gebrauch von Notfallmedikation öfter als 2x pro Woche,

eine FEV1 über oder unter 80% vom Soll

der Häufigkeit sog. Asthmaexazerbationen (siehe auch 1.3.3).[80, 91, 108]

Ziel der Arbeit war es, den Grad der Asthma-Kontrolle im zeitlichen Verlauf klinischen und zellbiologischen Parametern gegenüber zu stellen. Es sollten Parameter identifiziert werden, die sich bei konstantem Krankheitsbild in ihrem Verlauf ebenfalls konstant und damit reproduzierbar darstellen und Parameter, die besonders sensitiv im Hinblick auf Veränderungen der Asthma-Kontrolle sind. Ein möglicher Nutzen wäre eine verbesserte Prognose für Veränderungen der Asthma-Kontrolle und somit eine bessere Vorhersehbarkeit des Verlaufs der Erkrankung.

Betrachtet wurden klinische Parameter zur Beurteilung der Lungenfunktion (FEV1) und Atemwegsüberempfindlichkeit (PC20), Entzündungsparameter aus dem Blut (Eosinophile, Neutrophile), der exhalieren Atemluft (NO) und dem Kompartiment Lunge (Sputum), der Allergiestatus (Gesamt-IgE) sowie ein Fragebogen zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle (ACQ-5). All diese Parameter werden routinemäßig zur Diagnose und Verlaufskontrolle des Asthmas eingesetzt [1, 4].

Zur zellbiologischen Betrachtung dieser Fragestellung wurden mittels Durchflusszytometrie die Anteile von T-Zellen ermittelt, die bestimmte Zytokine produzierten. Die Durchflusszytometrie gilt als hoch standardisierbare und zuverlässige Methode, um zelluläre Parameter quantitativ zu beurteilen [109]. Intrazelluläres Färben von Zytokinen erlaubt gleichzeitiges Anfärben von Zytokinen und Oberflächenmarkern. Dies wiederum erlaubt die Identifikation von Subpopulationen und deren Zytokinproduktion, ohne vorheriges Zell-Sorting [13, 95-97]. Zytokine können eine bedeutende Rolle in der Ausprägung bestimmter Asthma-Phänotypen spielen [110, 111]. T-Lymphozyten gelten als eine besonders wichtige Quelle für Zytokine [11, 12, 112]. Sie werden klassischerweise in die beiden Effektorgruppen T-Helferzellen und zytotoxische T-Zellen sowie regulatorische T-Zellen unterschieden [13]. Um die Zusammensetzung der gesamten Zytokin-produzierenden T-Lymphozyten zu ermitteln, wurden die Anteile der beiden Effektorsubpopulationen separat betrachtet. Außerdem wurde die Menge der regulatorischen T-Zellen bestimmt. Für die zellbiologische Untersuchung wurden Zytokine ausgewählt, mittels derer sich verschiedene T-Helfersubtypen unterscheiden lassen [12, 15, 20, 113, 114]. Deren Beitrag zu den entzündlichen Prozessen und den Begleiterscheinungen eines Asthmas wurde in vielen Experimenten in Tiermodellen oder in Untersuchungen während des symptomatischen Verlaufs der Erkrankung bereits untersucht [86, 113, 115, 116]. Aufgrund dieser Erkenntnisse gelten Modulationen dieser Lymphozyten und besonders der Zytokine, die sie sezernieren, als hoffnungsvoller Ansatzpunkt zukünftiger Maßnahmen in der Asthma-Behandlung. Folgende Zytokine wurden untersucht:

IFN $\gamma$  wird in erster Linie von zytotoxischen T-Zellen und T-Helfer-Typ-1 (Th1-) Zellen produziert. IFN $\gamma$  aktiviert unter anderem Makrophagen, die wiederum Substanzen freisetzen, die zu einem gewebsschädigenden Verlauf des Asthmas beitragen [16].

IL-4, IL-5 und IL-13 sind typische Th2-Zytokine. Mit diesen Mediatoren bewirken sie den Anstieg der Eosinophilenzahl in der Submucosa der Atemwege und den IgE-Klassenwechsel in B-Zellen. Sie vermitteln so Allergie und entzündliche Prozesse, die ihrerseits zu Bronchokonstriktion führen können [5, 11, 16, 29, 60, 86, 117-121].

IL-17 wird von der vor wenigen Jahren neu definierten Untergruppe der Th-Zellen sezerniert. Diese Effektorzellen werden über die Sekretion von IL-17 charakterisiert und deshalb als Th17-Zellen bezeichnet. IL-17 hat großen Einfluss auf die Migration von neutrophilen Granulozyten und trägt so potentiell besonders zu schwergradigem, kortikosteroidresistentem Asthma bei [19-21, 121].

IL-10 gilt als Effektor einer suppressorischen Immunantwort. Es wird in erster Linie von regulatorischen T-Zellen (Tregs), aber auch von Th2-Zellen produziert und dient der Immunsuppression von Th1-Antworten [22-28, 121].

FoxP3 zusammen mit CD4 und CD25 dient der Identifikation von regulatorischen T-Zellen, die Autoimmunantworten verhindern oder bestehende Immunprozesse herunterregulieren sollen [23, 25, 121].

Ein weiterer Ansatz dieser Arbeit war es, Korrelationen der einzelnen Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA mit den untersuchten klinischen und zellbiologischen Parametern zu identifizieren.

Da das Gesamtkollektiv aus Asthmatikern mit unterschiedlichen Phänotypen bestand, deren Asthma unterschiedlichen Pathomechanismen folgte, wurde versucht, einen gut definierten Phänotyp zu identifizieren und dessen Untersuchungsergebnisse zu analysieren. Die häufigste Form eines Asthmas ist das allergische Asthma [2]. Dieser Phänotyp ist immunologisch stark mit einer Th2-Antwort verbunden und folgt gut bekannten zellbiologischen Mechanismen [9, 101]. Deshalb wurden in einem letzten Ansatz die Untersuchungsergebnisse von Patienten mit einem positiven Atopiestatus genauer betrachtet. Auch bei diesen Patienten wurde zunächst die Asthma-Kontrolle den klinischen und zellbiologischen Untersuchungen und später den einzelnen GINA-Kriterien gegenüber gestellt.

## 4.1 Allgemeine Beobachtungen zu Studienbeginn (V0)

### 4.1.1 Demographie und klinische Parameter

Leitlinien gemäß orientiert sich die Asthma-Therapie an der Asthma-Kontrolle. Die Therapie wird stufenweise so lange intensiviert, bis ein kontrolliertes Asthma erreicht wird oder die therapeutischen Möglichkeiten erschöpft sind [1, 4]. Daher war zu erwarten, dass sich Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle in ihrer Therapieintensität unterscheiden. Diese Annahme wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit bestätigt.

Des Weiteren unterschieden sich Patienten des Gesamtkollektives mit unkontrolliertem von den Patienten mit kontrolliertem Asthma im Body Mass Index (BMI), in der Subpopulation der atopischen Patienten war dies nicht der Fall. Der BMI ist eine Maßzahl für die Bewertung des Körpergewichts eines Menschen im Bezug zu seiner Körpergröße. Von Mutius und andere haben in einer Studie an Kindern im Alter zwischen 4 und 17 Jahren einen klaren Zusammenhang zwischen erhöhtem BMI und der Neigung, ein Asthma zu entwickeln gezeigt [122]. Kim und Kollegen haben 2005 den Zusammenhang zwischen einem erhöhten BMI und der Asthma-Kontrolle untersucht und gezeigt, dass die Patienten mit den höchsten ACQ-Werten auch die höchsten BMI-Werte zeigten. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen dies, die Patienten mit den höchsten ACQ-Scores wiesen ebenfalls die höchsten BMI-Werte auf (siehe Tabelle 20). In der vorliegenden Arbeit wurde darüber hinaus gezeigt, dass Patienten mit einem unkontrollierten Asthma nach GINA-Kriterien ebenfalls die höchsten BMI-Werte hatten. Eine Erklärung für einen Zusammenhang zwischen BMI und einem unkontrolliertem Asthma wäre, dass gerade übergewichtige Patienten oft ihre Symptome falsch einschätzen, also Atemnot, die durch ihr Gewicht beispielsweise im Liegen oder durch Anstrengung entsteht, auf ihr Asthma zurückführen, sich dadurch im Alltag eingeschränkter fühlen und mehr Bedarfsmedikation nehmen. Dagegen spricht allerdings, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bezüglich des Gewichts gab. Neben den direkten physikalischen Effekten eines erhöhten Körpergewichtes sind in gleicher Weise hormonale Konsequenzen des vermehrten Körperfettes zu diskutieren [123]. Eine mögliche kausale Beziehung zwischen Asthma und Adipositas wird gestützt durch aktuelle Befunde einer Besserung der Asthma-Kontrolle durch Gewichtsreduktion [124].

Kim und Kollegen teilten die Patienten mit Hilfe des Asthma Control Questionnaire, ein Fragebogen bestehend aus 7 Fragen (ACQ-7), den drei Gruppen der Asthma-Kontrolle zu. Der ACQ, ein oft eingesetztes Messinstrument zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle, wurde in der vorliegenden Arbeit ebenfalls untersucht. Allerdings wurden nur die Ergebnisse der ersten 5 Fragen, die die Symptome der Patienten betreffen, der sogenannte ACQ-5,

betrachtet. In den ACQ-7 gehen zusätzlich die FEV1 (% vom Soll) und der tägliche Gebrauch von Notfallmedikation ein. Eine gute Übereinstimmung zwischen ACQ und Asthma-Kontrolle auf Basis der GINA-Definition, wie sie bereits in anderen Studien bestätigt wurde [125, 126], ließe eine signifikante Abgrenzung der drei Kontrollstufen erwarten. Signifikante Unterschiede der ACQ-5-Werte konnten aber nur zwischen Patienten mit kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma festgestellt werden. Zwischen kontrollierten und teilweise kontrollierten Patienten bestand kein signifikanter Unterschied (siehe Abbildung 12). Korn und andere haben in ihrer Studie gezeigt, dass auf Grund zu niedriger Cutoff-Werte zu viele Patienten im Vergleich zur Kategorisierung nach GINA als unkontrolliert eingestuft werden [125]. Dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen kontrollierten und teilweise kontrollierten Patienten (GINA) in den ACQ-5 Werten gab, könnte denselben Grund haben. Dies müsste im Einzelnen aber noch genauer untersucht werden und war so nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Klinisch unterschieden sich die Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle sowohl im Gesamtkollektiv, als auch innerhalb der atopischen Patienten in erster Linie in ihrer Lungenfunktion. Patienten mit teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma hatten signifikant niedrigere FEV1-Werte als Patienten mit kontrolliertem Asthma. Dies war zu erwarten, da die FEV1 ja ein direktes Kriterium zur Einstufung der Asthma-Kontrolle nach GINA darstellt (siehe Abbildung 8) .

Ein weiterer signifikanter Unterschied, der zwischen den drei Gruppen in der Gesamtpopulation und innerhalb der atopischen Patienten bestand, betraf die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Blut zwischen kontrollierten und unkontrollierten Patienten. Neutrophile sind polymorphkernige Leukozyten, die eine essentielle Rolle im Immunsystem spielen. Dort bilden sie die Erstabwehr gegen Bakterien- und Pilzinfektionen. Sie spielen aber auch eine entscheidende Rolle bei Entzündungsreaktionen. Neben der Phagozytose, der Produktion von Enzymen und anderen zytotoxischen Agentien, produzieren sie verschiedene Mediatoren, die profunde Effekte auf die Atemwege von Asthmatikern haben können. Wie aus einigen früheren Studien bekannt ist, wurden erhöhte Neutrophilenzahlen im Sputum, der BAL-Flüssigkeit und Biopsien von schweren Asthmatikern, insbesondere von Patienten mit geringen Eosinophilenzahlen, die schlecht auf inhalative Kortikosteroide ansprechen, und während Exazerbationen oder Asthmaanfällen gefunden [56-59, 127]. Diese Erkenntnisse passen zur Beobachtung der vorliegenden Arbeit, dass Patienten mit einem unkontrollierten Asthma signifikant mehr Neutrophile im Blut haben als Patienten mit kontrolliertem Asthma (siehe Abbildung 10/ Abbildung 62). Cox und Kollegen haben in in vitro-Experimenten gezeigt, dass eine Behandlung mit Kortikosteroiden einem längeren Überleben und längerer Funktionsfähigkeit neutrophiler Granulozyten bewirkt [128]. Passend



hierzu konnten Tien Nguyen und Kollegen zeigen, dass eine Behandlung mit oralen Kortikosteroiden zu einer Zunahme von Neutrophilen in der Lunge von Asthmapatienten führen kann [129]. Trotz ausklammern der Patienten, die orale Kortikosteroide erhielten, bestand ein signifikanter Unterschied zwischen kontrollierten und unkontrollierten Patienten in der Anzahl der neutrophilen Granulozyten pro ml Blut.

Zellbiologisch sollte untersucht werden, ob sich T-Zellen von Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle hinsichtlich ihres Potentials unterscheiden, verschiedene Zytokine zu exprimieren. Um die Ergebnisse vergleichen zu können, wurde die Inkubationszeit und der Stimulus mit anti-CD3/28, PMA und Ionomycin standardisiert. Insgesamt konnten keine signifikanten Unterschiede in den Anteilen Zytokin-produzierender oder regulatorischer T-Zellen zwischen den Patienten mit unterschiedlicher Asthma-Kontrolle festgestellt werden. Allerdings bleibt festzuhalten, dass selbst ohne quantitative Unterschiede offen bleibt, in wie weit sich die Patienten qualitativ in der Expression der Zytokine in vivo unterscheiden. Zur Beantwortung dieser Frage bedarf es anderer Untersuchungsmethoden.

Grundsätzlich konnte jedoch gezeigt werden, dass IFN $\gamma$  im Vergleich zu den anderen Zytokinen anteilig von den meisten T-Zellen exprimiert wurde. Im Median waren 25,9% der T-Zellen positiv für IFN $\gamma$ . Die anderen untersuchten Zytokine wurden von deutlich weniger Zellen exprimiert. IL-4 war das am zweitstärksten exprimierte Zytokin und wurde im Median in 3,4% der T-Zellen detektiert (siehe Tabelle 15). Dies kann möglicherweise durch die Art der Stimulation erklärt werden. Olsen und andere haben in ihrer Untersuchung mit verschiedenen T-Zellklonen gezeigt, dass die Stimulation mit PMA / Ionomycin, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, die Expression von IFN $\gamma$  am stärksten im Vergleich zu den anderen untersuchten Zytokinen anregt [93]. Die Beobachtung der selben Arbeitsgruppe, dass IL-17 in ähnlicher Weise angeregt wird, konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden. Dies könnte zum einen daran gelegen haben, dass keine Zellklone verwendet wurden, zum anderen an den unterschiedlichen Inkubationszeiten der beiden Studien.

In der vorliegenden Arbeit wurde auch untersucht, wie sich die Anteile der Zytokin-produzierenden zytotoxischen bzw. T-Helferzellen zur Population der Zytokin-positiven T-Zellen zusammensetzten. Es zeigte sich in der Gesamt- und der atopischen Subpopulation, dass IFN $\gamma$  in erster Linie von zytotoxischen T-Zellen, aber auch, in geringerem Maße, von T-Helferzellen exprimiert wird. Diese Beobachtungen bestätigen die Ergebnisse von Mascher und anderen, die 1998 in ihrer Studie zur Expression und Kinetik von Zytokinen mittels Durchflusszytometrie PBMCs von gesunden Spendern untersuchten. Sie zeigten, dass IFN $\gamma$  im Vergleich zu anderen Zytokinen sehr schnell und etwas stärker von zytotoxischen,

als von T-Helferzellen, exprimiert wird [13] (siehe Tabelle 16, Tabelle 17, Tabelle 26, Tabelle 27).

Eine weitere Erklärung für die hohe Expression von IFN $\gamma$  liegt sicherlich in seiner Funktion. Es ist im Gegensatz zu den anderen untersuchten Zytokinen an nahezu allen Phasen von Immunantworten und Entzündungsprozessen beteiligt und trägt zur Differenzierung und Aktivierung von vielen immunologisch aktiven Zellen bei. Gattoni und andere haben die bekannten biologischen Funktionen von IFN $\gamma$  in einem review paper zusammengefasst [130].

Klar konnte auch gezeigt werden, dass IL-17 fast ausschließlich, IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 weitaus überwiegend von T-Helferzellen (CD3+/CD4+) produziert wurden (siehe Anhang Tabelle 32, Tabelle 33/ Tabelle 57. Tabelle 58). Diese Befunde waren zu erwarten, da diese Zytokine als Th2- bzw. Th17-Zytokine bezeichnet werden [121]. Diese Beobachtungen zeigen, dass die Methode per se funktioniert hat und realistische Daten lieferte.

## 4.2 Kurzzeit-Reproduzierbarkeit

Im Kurzzeitvergleich zwischen Visite 0 und 1 ergaben sich nur für sehr wenige Patienten Änderungen im Status der Asthma-Kontrolle. 112 Patienten (93,3%) blieben stabil, 3 Patienten (2,5%) wurden schlechter und 4 (3,3%) verbesserten sich (siehe Tabelle 22). Ein Patient hat die Studie nach der ersten Visite frühzeitig beendet. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen von Bateman und anderen. 2004 veröffentlichten diese die Ergebnisse der Gaining Optimal Asthma Control (GOAL) Studie. Diese Studie hatte das Ziel herauszufinden, ob sich mit einem an der Asthma-Kontrolle orientiertem Asthmamanagement der Kontrollstatus verbessern und / oder beibehalten lässt. Hierzu wurden in einer multizentrischen Studie Patienten mit unkontrolliertem Asthma eingeschlossen. Die Studiendauer betrug 1 Jahr und war in 2 Phasen unterteilt. In Phase I der Studie wurde die Therapie bis zum Erreichen eines kontrollierten Asthmas stetig erhöht. Patienten, die ein kontrolliertes Asthma hatten, erreichten direkt Phase II und Patienten, die mit der definierten maximalen Therapie-Dosis kein kontrolliertes Asthma erlangten, erreichten Phase II nach 12 Wochen unter maximaler Behandlung [108]. In Phase II wurde dann wöchentlich der Kontrollstatus dokumentiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Wahrscheinlichkeit, dass sich der einmal erreichte Kontrollstatus unter stabiler Leitlinien-konformer Therapie innerhalb einer Woche ändert, sehr gering ist [91].

Um nun valide Aussagen in der vorliegenden Arbeit über den Zusammenhang zwischen Änderungen der Asthma-Kontrolle und den untersuchten klinischen und zellbiologischen Parametern machen zu können, musste gezeigt werden, dass die untersuchten Parameter

keinen permanenten, eventuell natürlichen Schwankungen unterliegen, die Asthma-unabhängig sind. Dies traf für die klinischen Parameter zu, die intraindividuellen Unterschiede waren im Median über Untersuchungszeitraum nicht signifikant (siehe Tabelle 34).

In der Betrachtung der zellbiologischen Parameter zeigte sich lediglich ein statistisch signifikanter Rückgang der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen zwischen Visite 0 und 1. Die Produktion von IFN $\gamma$  scheint generell Schwankungen zu unterliegen. Dies könnte wie bereits beschrieben (siehe 1.2.2/ 4.1.1) an seiner biologischen Funktion, also seiner Beteiligung an so vielen immunologischen Prozessen, die nicht zwangsläufig zum Asthma der Patienten beitragen, liegen [130].

### 4.3 Langzeit-Reproduzierbarkeit

In einem weiteren Schritt wurde die Asthma-Kontrolle zwischen V0 und V2 verglichen. Die Patienten wurden in drei Gruppen mit stabiler, schlechterer und besserer Asthma-Kontrolle unterteilt und deren intraindividuelle Unterschiede der Untersuchungsergebnisse aus V0 und V2 miteinander verglichen.

6 Monate nach V0 hatten immer noch 78 Patienten (65%) eine stabile Asthma-Kontrolle. Knapp ein Drittel der Patienten veränderten ihren Kontrollstatus. 6 Patienten (5%) beendeten die Studie aus persönlichen Gründen vorzeitig (siehe Tabelle 22). Bei den atopischen Patienten waren 70,9% stabil, 11,4% schlechter und 17,7% besser in ihrer Asthma-Kontrolle nach GINA (siehe Tabelle 29). Auch diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen der bereits genannten Studien, die sich mit der Stabilität der Asthma-Kontrolle über einen längeren Zeitraum beschäftigt hatten [91, 108, 131].

Die daraus resultierenden Ergebnisse der untersuchten Parameter können wie folgt diskutiert werden:

#### 4.3.1 Stabile Asthma-Kontrolle

Auch in der Langzeitbetrachtung wiesen die untersuchten klinischen und zellbiologischen Parameter im Median keine signifikanten Änderungen auf. Nur IFN $\gamma$  zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied innerhalb der T-Helferzellen (CD3+ /CD4+) ( $p=0,004$ ; Median: 1,7%) (siehe Anhang Tabelle 43).

### 4.3.2 Veränderungen der Asthma-Kontrolle

Ein Hauptziel der Studie war es, klinische Parameter zu identifizieren, die besonders sensitiv im Hinblick auf Veränderungen der Asthma-Kontrolle nach GINA sind.

14 Patienten (11,7%), davon 9 atopische Patienten hatten nach 6 Monaten eine schlechtere, 22 Patienten (18,3%), davon 14 atopische Patienten, eine bessere Asthma-Kontrolle.

Zunächst ist festzustellen, dass eine Änderung der Asthma-Kontrolle nicht direkt aus Änderungen der klinischen oder zellbiologischen Veränderungen rührt, sondern aus der Zu- oder Abnahme der von GINA definierten Beurteilungskriterien. Betrachtete man diese im Einzelnen, so war zunächst auffällig, dass eine stabile Asthma-Kontrolle nicht bedeutet, dass sich keines der Kriterien ändert. Bei Patienten, die stabil teilweise kontrolliert oder stabil unkontrolliert waren, änderten sich die einzelnen Kriterien sehr wohl, lediglich die Summe der erfüllten Kriterien blieb stabil. Sicher unverändert blieben nur Patienten, die konstant kontrolliert waren, da diese definitionsgemäß keines der Kriterien erfüllen durften. Dies ließ sich sowohl nach einer Woche, als auch nach einem Monat beobachten (siehe 3.6.1/ 3.12). Eines der wichtigsten Kriterien, die zu einer Verschlechterung der Asthma-Kontrolle beitragen, war im Gesamtkollektiv die Verschlechterung der Einsekundenkapazität (FEV1) auf unter 80% vom Soll (siehe Abbildung 24).

Generell lies sich zeigen, dass die FEV1 zwischen Visite 0 und 2 bei Verschlechterung der Asthma-Kontrolle zurückging ( $\Delta$ FEV1 Median: -0,3 l; -10,0 %)(siehe Anhang Tabelle 39). In der Subpopulation der atopischen Patienten spielte die FEV1 bei einer Verschlechterung der Asthma-Kontrolle keine so große Rolle, was sich sowohl in der Evaluation nach GINA, als auch in den Untersuchungsergebnissen zeigte (siehe Anhang Tabelle 65). Bei Verbesserung schienen andere Kriterien, wie ein Rückgang der Tag-/Nacht-Symptome, der Beeinträchtigung im Alltag, der Gebrauch von Notfallmedikation oder von Exazerbationen, beizutragen. Eine signifikante Verbesserung der FEV1 konnte nicht festgestellt werden (siehe Abbildung 23/ Abbildung 85).

Allen Asthmatikern gemein ist eine Entzündung der Atemwege [1, 4], daher könnte man vermuten, dass sich bei Veränderung der Asthma-Kontrolle auch Entzündungsparameter wie das exhalierete Stickstoffmonoxid (NO), die Anzahl der eosinophilen Granulozyten im Blut und / oder Sputum, die neutrophilen Granulozyten im Blut oder die Atemwegsüberempfindlichkeit als Folge der Atemwegsentzündung ändern. Im Einzelnen betrachtet ergab sich für die eben genannten Parameter Folgendes:

NO ist nachgewiesenermaßen ein Marker für die Manipulation von Atemwegsepithelzellen durch entzündliche Prozesse in den Atemwegen, d.h. je höher der NO-Wert in der

exhalierter Luft, desto stärker der Grad der bronchialen Entzündung [132-134]. Im Gesamtkollektiv zeigte sich bei Patienten mit verbesserter Asthma-Kontrolle ein signifikanter Rückgang des NO-Anteils im Median um 5,8 ppb ( $p=0,016$ ) (siehe Anhang Tabelle 40). Bei Verschlechterung der Asthma-Kontrolle bestand jedoch keine signifikante Änderung für diesen Parameter (siehe Anhang Tabelle 39). Eine signifikante Änderung im NO speziell in der Gruppe der atopischen Patienten wäre zu erwarten gewesen. Einige Studien zeigten deutliche Zusammenhänge zwischen Atopie und erhöhten NO-Werten [135-138], dies konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht gezeigt werden. Atopische Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede in den NO-Werten bei veränderter Asthma-Kontrolle zwischen den Visiten (siehe Anhang Tabelle 65/ Tabelle 66). Diese Beobachtungen sprechen auch gegen eine an NO-Werte gebundene Therapiestrategie oder eine in Bezug zur Asthma-Kontrolle prognostische Eigenschaft wie sie in Studien von Smith und Jones in den Jahren 2001 und 2005 postuliert wurde [78, 139]. Eine solche Strategie könnte den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zur Folge zu einer Über- bzw. Untertherapie führen.

Eosinophile und neutrophile Granulozyten sind Zellen der angeborenen Immunität. Beide sind an verschiedenen Entzündungsprozessen beteiligt. Ihre Anzahl im Blut der Patienten blieb im Median unverändert. Ihre Anzahl im Blut sagt jedoch nicht unbedingt etwas über ihre Aktivierung und somit über ihren Beitrag zu Veränderungen der Entzündung in der Lunge aus. Lacoste und Kollegen haben beispielsweise gezeigt, dass sich Patienten mit Asthma, chronischer Bronchitis und COPD in der Anzahl der aus bronchialen Biopsie-Proben gewonnenen Eosinophilen nicht unterscheiden. Die Zellen von Asthmatikern waren jedoch deutlich aktivierter. Um eine Aussage über den Zusammenhang zwischen Verbesserung oder Verschlechterung der Asthma-Kontrolle und Entzündungszellen im Blut machen zu können, sollte in zukünftigen Untersuchungen nicht nur quantitativ die Anzahl, sondern auch qualitativ der Aktivierungsstatus untersucht werden.

Eosinophile wurden aber nicht nur im Blut der Patienten, sondern auch in Proben des induzierten Sputums untersucht. Viele Studien zeigten bereits deutliche Zusammenhänge zwischen einer Entzündung der Atemwege und der relativen Häufigkeit von eosinophilen Granulozyten in Sputumproben [54, 57, 134, 140, 141]. Trotz Verwendung eines etablierten Standardprotokolls zur Sputum-Induktion [87-89, 142] war es nur 33 (27,5%) der Patienten überhaupt möglich, an allen drei Visiten eine brauchbare Sputumprobe abzugeben. In dieser Subpopulation änderte sich bei 11 Patienten die Asthma-Kontrolle. 5 wurden schlechter und 6 besser. In der atopischen Subpopulation waren es noch weniger Patienten. Eine Prognose anhand von Sputumanalysen für Asthmaexazerbationen bzw. eine Verschlechterung der Asthma-Kontrolle, wie sie in mehreren Studien an ausgewählten Patientenkollektiven

abgeleitet wurde [54, 140], könnte somit in der Praxis an der eingeschränkten Fähigkeit vieler Patienten scheitern, überhaupt Sputum zu expektorieren.

Ein weiteres Asthmamerkmal, das oft gemeinsam mit der Atemwegsentzündung und daher im Zusammenhang mit erhöhtem NO und Eosinophilenzahl im Sputum untersucht wurde [140, 141, 143], ist die Atemwegsüberempfindlichkeit (Airway hyperresponsiveness, AHR). Sont und Kollegen haben in einer 1999 veröffentlichten Studie gezeigt, dass eine Behandlungsstrategie mit dem Ziel der AHR-Reduktion zusätzlich zu den Empfehlungen der bestehenden Therapieleitlinie zu einer stabileren Asthma-Kontrolle und einer Reduzierung der Atemwegsentzündung führt [144]. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch keine signifikante Änderung in der Atemwegsüberempfindlichkeit im Zusammenhang mit einer Änderung der Asthma-Kontrolle festgestellt werden (siehe Anhang Tabelle 39, Tabelle 40/ graphisch nicht dargestellt).

Gerade bei atopischen Patienten wären Veränderungen des NO im Atemexhalat, der Zahl eosinophiler Granulozyten in Blut und/oder Sputum oder der AHR als Ursache für Veränderungen der Asthma-Kontrolle zu erwarten gewesen, da diese Parameter oft in Zusammenhang mit allergischem und atopischem Asthma stehen [101, 137, 138]. Allerdings konnten solche Korrelationen nicht gezeigt werden (siehe Anhang Tabelle 65, Tabelle 66)

Auch das Gesamt-IgE änderte sich über den gesamten Studienzeitraum nicht signifikant. Atopisches Asthma ist praktisch über die Produktion von IgE-Antikörpern gegen identifizierbare Allergene als Surrogat einer allergischen Pathogenese definiert [101]. Dennoch ändert sich der IgE-Spiegel der atopischen Patienten selbst bei Änderungen der Asthma-Kontrolle nicht (siehe Anhang Tabelle 65, Tabelle 66).

In der Langzeitbetrachtung erwies sich der ACQ-5 nicht als geeigneter Indikator für eine Änderung der Asthma-Kontrolle. Entspräche die numerische Klassifizierung des ACQ-5 der kategorialen Beurteilung der Asthma-Kontrolle nach GINA, wären bei Änderungen des Kontrollstatus nach GINA auch signifikante Unterschiede in den ACQ-5 Werten zu erwarten gewesen. Dies war jedoch nicht der Fall. Der ACQ-5 zeigte keine signifikanten Änderungen bei Patienten, deren Asthma-Kontrolle sich nach den GINA-Kriterien änderte (siehe Anhang Tabelle 65, Tabelle 66).

Die zellbiologischen Untersuchungen ergaben ebenfalls keine signifikanten Änderungen der Zahl oder Frequenz Zytokin-produzierender T-Zellen oder regulatorischer T-Zellen von Patienten mit veränderter Asthma-Kontrolle. Die einzigen signifikanten Unterschiede ergaben sich für die Anteile IFN $\gamma$ -produzierender T-Zellen (siehe Anhang Tabelle 41-Tabelle 49/ Tabelle 67-Tabelle 74. Da sich diese Änderungen jedoch bereits bei Patienten mit stabiler

Asthma-Kontrolle zeigten, ist es mehr als fraglich, ob sich die Änderungen für IFN $\gamma$  in irgendeiner Form in Zusammenhang mit dem Asthma bringen lassen, oder ob sie Folge der verwendeten Untersuchungsmethoden oder anderer parallel auftretender immunologischer Zusammenhängen sind.

#### **4.4 Korrelation zwischen GINA-Kriterien und den einzelnen Untersuchungsparametern**

In einem letzten Schritt wurden die GINA-Kriterien im Einzelnen untersucht. Unabhängig von der Asthma-Kontrolle wurde nach Korrelationen zwischen den Untersuchungsergebnissen und den einzelnen GINA-Kriterien zur Beurteilung der Asthma-Kontrolle gesucht. Hierfür wurden nur die Untersuchungsergebnisse von Patienten herangezogen, bei denen die Merkmale neu auftraten, konstant vorhanden waren oder verschwanden. Ergebnisse von Patienten, die ein entsprechendes Merkmal nicht aufwiesen, wurden nicht berücksichtigt. Auch diese Untersuchung wurde im Gesamtkollektiv und auf Grund des immunologisch einheitlicheren Hintergrunds in der Teilpopulation der atopischen Patienten untersucht.

Interessant war hier die Beobachtung, dass eine Korrelation der NO-Werte und dem Auftreten von Symptomen am Tag gezeigt werden konnte. Patienten, die dieses Kriterium erst nach einem halben Jahr erfüllten, zeigten höhere, Patienten bei denen es wegfiel, niedrigere NO-Werte. Patienten, die über den Untersuchungszeitraum konstant Symptome am Tag öfter als zweimal die Woche hatten, zeigten keine Differenz der NO-Werte. Eine Entzündung der Atemwege ist eine grundlegende Eigenschaft des Asthmas. Diese Entzündung liegt dem Auftreten asthmatischer Symptome zu Grunde. Zu der Betrachtung der NO-Spiegel im Atemexhalat als Indikator einer Atemwegsentzündung passt die Beobachtung, dass mit dem vermehrten Auftreten von Symptomen der NO-Spiegel steigt und umgekehrt. Wie bereits im Vergleich mit den Änderungen der Asthma-Kontrolle im Ganzen, konnte dieser Effekt innerhalb der atopischen Patienten jedoch nicht gezeigt werden.

Die FEV1 ist ein sehr häufig verwendetes Messinstrumente zur Beurteilung und Kontrolle des Schweregrades der obstruktiven Ventilationsstörung des Asthmas. Passend hierzu konnte eine Korrelation zwischen dem Gebrauch von Notfallmedikation und der FEV1 sowohl im Gesamtkollektiv als auch innerhalb der atopischen Patienten gezeigt werden. Ein Anstieg im Gebrauch von Notfallmedikation ging mit einem Rückgang der FEV1 einher und umgekehrt.

Signifikante Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und den Zytokin-produzierenden T-Zellanteilen konnten nicht gezeigt werden. Zum einen waren die

Ergebnisse für die einzelnen Zytokine nicht eindeutig gerichtet, zum anderen gab es zu wenig Patienten-Proben in den einzelnen Kategorien.

Bei der Bewertung der Ergebnisse dieser Arbeit bleibt zu bedenken, dass überwiegend Patienten mit unkontrolliertem Asthma (n=52; 43,3%) eingeschlossen wurden, die typisch für ein großes Asthma-Schwerpunktzentrum sind und möglicherweise nicht das übliche Patientengut einer pneumologischen Praxis repräsentieren.. Dennoch und gerade deswegen repräsentieren sie genau die Patienten, bei denen die oben genannten Messinstrumente häufig eingesetzt werden und klinisch relevant sind. Im Gegensatz zu vielen Studien, die die Bedeutung einzelner Parameter in der Diagnose, Therapiefindung und Verlaufskontrolle untersuchten, wurden hier weder therapienaive Patienten eingeschlossen, noch ihre Therapie zielgerichtet verändert, um beispielsweise eine leichte Asthma-Exazerbation zu simulieren [50, 51].

Bei den Untersuchungen der Zytokin-Expression mittels Durchflusszytometrie kam es auf Grund technischer Schwierigkeiten zu Problemen mit der Laseroptik des Gerätes, so dass einige wenige Proben verworfen werden mussten und somit nicht in die Auswertung eingehen konnten.

## **4.5 Fazit**

Diese Studie verdeutlicht, dass Asthma eine sehr heterogene Erkrankung ist. Insgesamt erwiesen sich die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen als gut reproduzierbar und im Falle einer stabilen Asthma-Kontrolle als ebenso stabil. Für eine Veränderung der Asthma-Kontrolle ließen sich jedoch keine eindeutigen, gleichgerichteten Marker identifizieren. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Behandlungsstrategie auf Basis nur einzelner Parameter zu einer Über- oder Untertherapie der Patienten führen könnte.

Von Seiten der zellbiologischen Ergebnisse ist festzuhalten, dass im Querschnitt der Patienten signifikante Unterschiede der Zytokin-produzierenden T-Zellanteile und der potentiell regulatorischen T-Zellen zu keinem Untersuchungszeitpunkt gezeigt werden konnten. Auch bei Veränderungen der Asthma-Kontrolle im zeitlichen Verlauf konnten keine gleichgerichteten Ergebnisse gezeigt werden. Die Asthma-Kontrolle ist ein Konstrukt aus verschiedenen Kriterien, die sich im Einzelnen selbst bei stabiler Asthma-Kontrolle ändern können und nur in der Summe konstant bleiben. Bei Veränderung dieser Einzelkriterien konnten ebenfalls keine Korrelationen mit Veränderungen der Zytokin-produzierenden Zellanteile gezeigt werden. Ein Grund hierfür könnten, wie bereits beschrieben, die verschiedenen pathophysiologischen Grundlagen der verschiedenen Asthmaphänotypen sein. Daher wäre es vorstellbar, dass bei Untersuchungen an Patienten mit einheitlicheren



pathophysiologischen Grundlagen gerichtete Ergebnisse erhalten werden. Dies wurde in dieser Arbeit bereits im Ansatz mit der Untersuchung atopischer Patienten versucht. Es zeigte sich jedoch, dass die Fallzahl erheblich erhöht werden müsste, um einen Fehler 2. Art zu vermeiden.

## **4.6 Ausblick**

Mit der umfangreichen Menge an Daten, die im Rahmen dieser Dissertation gesammelt wurden, lassen sich noch viele weitere Fragen zu klinischen und zellulären Zusammenhängen des Asthmas untersuchen.

Zukünftig sollten beispielsweise die klinischen Phänotypen genauer mit den gemessenen Zytokin-Profilen korreliert und untersucht werden, ob bestimmte Phänotypen auch bestimmte Zytokinmuster aufweisen (Fingerprinting).

Es ist bekannt, dass Zytokine ihre Produktion oder Wirkung gegenseitig beeinflussen [60]. Auf dieser Basis könnte man zum Beispiel untersuchen, wie sich die Zytokine allgemein (hoher Anteil Zytokin x, niedriger Anteil Zytokin y) und bei Veränderungen im Laufe der Zeit zu einander verhalten. Eine logische Frage ist, ob der Anteil an Zytokin x steigt, wenn der Anteil an Zytokin y sinkt oder umgekehrt.

Ein weiterer Ansatz für neue Studien wäre es, Zytokine beispielsweise in der BAL-Flüssigkeit oder in Sputumüberständen zu messen und zu untersuchen, wie sich die Ergebnisse der in dieser Arbeit verwendeten Maximalstimulierung und einer RealLife Situation zu einander verhalten.

## 5 Zusammenfassung

Asthma, eine der häufigsten Atemwegserkrankungen, ist ein komplexes Syndrom heterogener Phänotypen. Ihnen allen gemeinsam ist eine Entzündung der Atemwege mit bronchialer Hyperreagibilität und variabler Atemwegsobstruktion. Die Globale Initiative für Asthma (GINA) empfiehlt, eine Therapie am Grad der Asthmakontrolle zu orientieren. Es wird dabei zwischen kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma unterschieden.

Der vorliegenden Dissertation lag die Frage zu Grunde, inwieweit etablierte klinische, funktionelle, zelluläre und Labor-Parameter den Verlauf der Asthmakontrolle widerspiegeln. Diese Parameter sollten bei klinisch stabiler Kontrolle ebenfalls stabil bleiben, oder eine Änderung gleichgerichtet wiedergeben. Hierzu wurden 120 Patienten im Hinblick auf ihre Asthmakontrolle kategorisiert und im zeitlichen Verlauf an 3 Visiten zum Zeitpunkt 0 (V0), eine Woche (V1) und 6 Monate später (V2) untersucht. Bestimmt wurden klinische Parameter wie Fragebögen zur Asthmakontrolle (ACQ-5 Scores), funktionelle Parameter wie die Lungenfunktion oder die bronchiale Hyperreagibilität zelluläre Parameter wie das Stickoxid im Exhalat (NO) als Korrelat der bronchialen Entzündung, der Anteil eosinophiler Granulozyten im Sputum, die Anzahl eosinophiler und neutrophiler Granulozyten pro nl Blut, die Gesamt-IgE-Spiegel im Serum und zellbiologische Parameter wie die Anteile regulatorischer T-Zellen und die Anteile der T-Zellen, die die Zytokine IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 und IL-17 produzieren.

Die Verbesserung der Asthmakontrolle spiegelte sich in einem Rückgang des NOs um im Median 5,8 ppb ( $p=0,016$ ) nach 6 Monaten wieder. Sonst ließen sich keine Parameter identifizieren, die die Entwicklung der Asthmakontrolle in positiver oder negativer Richtung abbildeten. Bemerkenswerter Weise bildete selbst der ACQ, der als etabliertes Messinstrument für die Asthmakontrolle gilt, diese Veränderungen nicht ab.

Zellbiologisch unterschieden sich die Patienten mit unterschiedlicher Asthmakontrolle weder in den Anteilen Zytokin-produzierender T-Zellen, noch im Anteil regulatorischer T-Zellen.

Die Anteile der Zytokin-produzierenden T-Zellen unterlagen im zeitlichen Verlauf zwar deutlicheren Schwankungen als die Anteile regulatorischer T-Zellen, im Median blieben beide jedoch konstant. Die Anteile der Zytokin-produzierenden T-Zellen und regulatorischer Zellen lassen also keine Rückschlüsse auf den Verlauf der Asthmakontrolle zu.

Zusammenfassend ist lediglich das NO geeignet, die Verbesserung der Asthmakontrolle zu beschreiben. Deshalb erscheint es im Angesicht der Ergebnisse dieser Studie nicht sinnvoll, therapeutische Entscheidung lediglich auf Basis eines einzelnen Parameters zu treffen. Hierfür bleibt nach wie vor nur die Zusammenschau verschiedener Untersuchungsergebnisse.

## Literatur

1. Buhl, R., et al., *Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e. V. Pneumologie*, 2006. **60**: p. 139-183.
2. Kim, H.Y., R.H. DeKruyff, and D.T. Umetsu, *The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity*. *Nat Immunol*, 2010. **11**(7): p. 577-84.
3. Busse, W.W. and R.F. Lemanske, Jr., *Asthma*. *N Engl J Med*, 2001. **344**(5): p. 350-62.
4. Asthma, G.I.f., *Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2014*. 2014.
5. Barnes, P.J., *Pathophysiology of asthma*. *Br J Clin Pharmacol*, 1996. **42**(1): p. 3-10.
6. Humbert, M., et al., *The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences*. *Immunology today*, 1999. **20**(11): p. 528-533.
7. Rackemann, F.M., *A working classification of asthma*. *The American journal of medicine*, 1947. **3**(5): p. 601-606.
8. Kroegel, C., L. Jager, and C. Walker, *Is there a place for intrinsic asthma as a distinct immunopathological entity?* *European Respiratory Journal*, 1997. **10**(3): p. 513-515.
9. Woodruff, P.G., et al., *T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2009. **180**(5): p. 388.
10. Kay, A.B., *Leukocytes in Asthma*. *Immunological Investigations*, 1988. **17**(8-9): p. 679-705.
11. Kay, A.B. and S.R. Durham, *T-lymphocytes, allergy and asthma*. *Clin Exp Allergy*, 1991. **21 Suppl 1**: p. 17-21.
12. Mosmann, T.R. and R.L. Coffman, *TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties*. *Annu Rev Immunol*, 1989. **7**: p. 145-73.
13. Mascher, B., P. Schlenke, and M. Seyfarth, *Expression and kinetics of cytokines determined by intracellular staining using flow cytometry*. *Journal of immunological methods*, 1999. **223**(1): p. 115-121.

14. Paul, W.E., Interleukin 4: signalling mechanisms and control of T cell differentiation. Ciba Found Symp, 1997. **204**: p. 208-16; discussion 216-9.
15. Mazzeella, G., et al., *Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma*. Allergy, 2000. **55**(s61): p. 6-9.
16. Holgate, S.T., *Pathogenesis of asthma*. Clinical & Experimental Allergy, 2008. **38**(6): p. 872-897.
17. Agea, E., et al., Expression of B7 co-stimulatory molecules and CD1a antigen by alveolar macrophages in allergic bronchial asthma. Clin Exp Allergy, 1998. **28**(11): p. 1359-67.
18. Wills-Karp, M. and M. Chiaramonte, *Interleukin-13 in asthma*. Curr Opin Pulm Med, 2003. **9**(1): p. 21-7.
19. Cosmi, L., et al., *Th17 cells: new players in asthma pathogenesis*. Allergy, 2011. **66**(8): p. 989-998.
20. Korn, T., et al., *IL-17 and Th17 Cells*. Annual review of immunology, 2009. **27**: p. 485-517.
21. Alcorn, J.F., C.R. Crowe, and J.K. Kolls, *TH17 cells in asthma and COPD*. Annual review of physiology, 2010. **72**: p. 495-516.
22. Jonuleit, H., et al., Identification and functional characterization of human CD4+ CD25+ T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. The Journal of experimental medicine, 2001. **193**(11): p. 1285-1294.
23. Jonuleit, H., et al., Infectious Tolerance Human CD25+ Regulatory T Cells Convey Suppressor Activity to Conventional CD4+ T Helper Cells. The Journal of experimental medicine, 2002. **196**(2): p. 255-260.
24. Stassen, M., et al., Human CD25+ regulatory T cells: two subsets defined by the integrins  $\alpha 4\beta 7$  or  $\alpha 4\beta 1$  confer distinct suppressive properties upon CD4+ T helper cells. European journal of immunology, 2004. **34**(5): p. 1303-1311.
25. Becker, C., et al., *CD4-mediated functional activation of human CD4+ CD25+ regulatory T cells*. European journal of immunology, 2007. **37**(5): p. 1217-1223.
26. Steinbrink, K., et al., *Induction of tolerance by IL-10-treated dendritic cells*. The Journal of Immunology, 1997. **159**(10): p. 4772-4780.

27. Fiorentino, D.F., et al., *IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells*. The Journal of Immunology, 1991. **146**(10): p. 3444-3451.
28. Fiorentino, D.F., et al., *IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages*. The Journal of Immunology, 1991. **147**(11): p. 3815-3822.
29. Bradding, P., A.F. Walls, and S.T. Holgate, *The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2006. **117**(6): p. 1277-1284.
30. Luo, H., et al., Cross-linking of CD23 antigen by its natural ligand (IgE) or by anti-CD23 antibody prevents B lymphocyte proliferation and differentiation. The Journal of immunology, 1991. **146**(7): p. 2122-2129.
31. Heusser, C. and P. Jardieu, *Therapeutic potential of anti-IgE antibodies*. Current opinion in immunology, 1997. **9**(6): p. 805-813.
32. Soler, M., et al., The anti-IgE antibody omalizumab reduces exacerbations and steroid requirement in allergic asthmatics. European Respiratory Journal, 2001. **18**(2): p. 254-261.
33. Bousquet, J., et al., The effect of treatment with omalizumab, an anti-IgE antibody, on asthma exacerbations and emergency medical visits in patients with severe persistent asthma. Allergy, 2005. **60**(3): p. 302-308.
34. Buhl, R., et al., The anti-IgE antibody omalizumab improves asthma-related quality of life in patients with allergic asthma. European Respiratory Journal, 2002. **20**(5): p. 1088-1094.
35. Brightling, C.E., et al., *Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma*. New England Journal of Medicine, 2002. **346**(22): p. 1699-1705.
36. Mortaz, E., G. Folkerts, and F. Redegeld, *Mast cells and COPD*. Pulmonary pharmacology & therapeutics, 2011. **24**(4): p. 367-372.
37. Ying, S., et al., CC chemokines in allergen-induced late-phase cutaneous responses in atopic subjects: association of eotaxin with early 6-hour eosinophils, and of eotaxin-2 and monocyte chemoattractant protein-4 with the later 24-hour tissue eosinophilia, and relationship to basophils and other CC chemokines (monocyte chemoattractant protein-3 and RANTES). The Journal of Immunology, 1999. **163**(7): p. 3976-3984.

38. KleinJan, A., et al., Basophil and eosinophil accumulation and mast cell degranulation in the nasal mucosa of patients with hay fever after local allergen provocation. *Journal of allergy and clinical immunology*, 2000. **106**(4): p. 677-686.
39. de Paulis, A., et al., Basophils infiltrate human gastric mucosa at sites of *Helicobacter pylori* infection, and exhibit chemotaxis in response to *H. pylori*-derived peptide Hp (2–20). *The Journal of Immunology*, 2004. **172**(12): p. 7734-7743.
40. Ehrlich, P., Beiträge zur Kenntnis der granulierten Bindegewebszellen und der eosinophilen Granulozyten. *Arch. Anat.*, 1879. **3**: p. 166-169.
41. Pawankar, R., et al., Nasal mast cells in perennial allergic rhinitics exhibit increased expression of the Fc epsilonRI, CD40L, IL-4, and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. *Journal of Clinical Investigation*, 1997. **99**(7): p. 1492.
42. Genovese, A., et al., Immunoglobulin superantigen protein L induces IL-4 and IL-13 secretion from human FcεRI+ cells through interaction with the κ light chains of IgE. *The Journal of Immunology*, 2003. **170**(4): p. 1854-1861.
43. Kay, A.B., *The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma*. *Trends Mol Med*, 2005. **11**(4): p. 148-52.
44. Kroegel, C., *The role of eosinophils in asthma*. *Lung*, 1990. **168**(1): p. 5-17.
45. Griffin, E., et al., Blood eosinophil number and activity in relation to lung function in patients with asthma and with eosinophilia. *Journal of allergy and clinical immunology*, 1991. **87**(2): p. 548-557.
46. Robinson, D.S., et al., *Eosinophil development and bone marrow and tissue eosinophils in atopic asthma*. *International archives of allergy and immunology*, 1999. **118**(2-4): p. 98-100.
47. Sehmi, R., et al., Allergen-induced fluctuation in CC chemokine receptor 3 expression on bone marrow CD34+ cells from asthmatic subjects: significance for mobilization of haemopoietic progenitor cells in allergic inflammation. *Immunology*, 2003. **109**(4): p. 536-546.
48. Sanderson, C.J., *Interleukin-5, eosinophils, and disease*. *Blood*, 1992. **79**(12): p. 3101-3109.
49. Wegner, C.D., et al., Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science*, 1990. **247**(4941): p. 456-459.

50. Pilewski, J.M. and S.M. Albelda, *Cell adhesion molecules in asthma: homing, activation, and airway remodeling*. American journal of respiratory cell and molecular biology, 1995. **12**(1): p. 1-3.
51. Kariyawasam, H.H. and D.S. Robinson. *The eosinophil: the cell and its weapons, the cytokines, its locations*. in *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2006. Copyright© 2006 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.
52. Djukanović, R., et al., *Effect of an inhaled corticosteroid on airway inflammation and symptoms in asthma*. American Review of Respiratory Disease, 1992. **145**(3): p. 669-674.
53. Djukanović, R., et al., *The effect of treatment with oral corticosteroids on asthma symptoms and airway inflammation*. American journal of respiratory and critical care medicine, 1997. **155**(3): p. 826-832.
54. Green, R.H., et al., *Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial*. The Lancet, 2002. **360**(9347): p. 1715-1721.
55. Monteseirin, J., *Neutrophils and asthma*. J Investig Allergol Clin Immunol, 2009. **19**(5): p. 340-354.
56. Jatakanon, A., et al., *Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 1999. **160**(5): p. 1532-1539.
57. Green, R., et al., *Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids*. Thorax, 2002. **57**(10): p. 875-879.
58. Wenzel, S.E., et al., *Bronchoscopic evaluation of severe asthma: persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids*. American journal of respiratory and critical care medicine, 1997. **156**(3): p. 737-743.
59. Sur, S., et al., *Sudden-onset fatal asthma: a distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa?* American Review of Respiratory Disease, 1993. **148**(3): p. 713-719.
60. Chung, K. and P. Barnes, *Cytokines in asthma*. Thorax, 1999. **54**(9): p. 825-857.
61. Djukanovic, R., et al., *Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry*. Am Rev Respir Dis, 1990. **142**(4): p. 863-71.



62. Azzawi, M., et al., Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis*, 1990. **142**(6 Pt 1): p. 1407-13.
63. Beeh, K.-M. and R. Buhl, Pathogenese des Asthma bronchiale–Eröffnung neuer therapeutischer Perspektiven. *Medizinische Klinik*, 2001. **96**(1): p. 15-25.
64. Kendrick, A., et al., Accuracy of perception of severity of asthma: patients treated in general practice. *BMJ: British Medical Journal*, 1993. **307**(6901): p. 422.
65. Killian, K.J., et al., *Symptom perception during acute bronchoconstriction*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2000. **162**(2): p. 490-496.
66. Quanjer, P.H., et al., [Lung volumes and forced ventilatory flows. Work Group on Standardization of Respiratory Function Tests. European Community for Coal and Steel. Official position of the European Respiratory Society]. *Rev Mal Respir*, 1994. **11 Suppl 3**: p. 5-40.
67. Miller, M.R., et al., *Standardisation of spirometry*. *Eur Respir J*, 2005. **26**(2): p. 319-38.
68. Provokationstests, A.B., Leitlinien für die Durchführung bronchialer Provokationstests mit pharmakologischen Substanzen. *Pneumologie*, 1998. **52**: p. 214-220.
69. Crapo, R.O., et al., Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000. **161**(1): p. 309-29.
70. Grönke, L., et al., Entwicklung und Validierung eines Kurzprotokolls zur inhalativen Methacholinprovokation bei epidemiologischen Studien. *ATEMWEGS UND LUNGENKRANKHEITEN*, 1995. **21**: p. 321-321.
71. Pizzichini, E., et al., Measuring airway inflammation in asthma: eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood. *Journal of allergy and clinical immunology*, 1997. **99**(4): p. 539-544.
72. Pin, I., et al., Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax*, 1992. **47**(1): p. 25-29.
73. Hunter, C., et al., The safety and success rate of sputum induction using a low output ultrasonic nebuliser. *Respiratory medicine*, 1999. **93**(5): p. 345-348.

74. Pizzichini, M., et al., *Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma*. American journal of respiratory and critical care medicine, 1996. **154**(4): p. 866-869.
75. Prado, C.M., et al., Effects of nitric oxide synthases in chronic allergic airway inflammation and remodeling. Am J Respir Cell Mol Biol, 2006. **35**(4): p. 457-65.
76. Silkoff, P.E., et al., *Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma*. Journal of allergy and clinical immunology, 2005. **116**(6): p. 1249-1255.
77. Little, S.A., et al., Non-invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma. Thorax, 2000. **55**(3): p. 232-234.
78. Smith, A.D., et al., *Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma*. New England Journal of Medicine, 2005. **352**(21): p. 2163-2173.
79. Korn, S., R. Buhl, W. Kamin, C. Taube., *Asthma bronchiale*. Allergologie-Handbuch, 2011: p. 334-358.
80. Bateman, E., et al., *Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary*. European Respiratory Journal, 2008. **31**(1): p. 143-178.
81. Nathan, R.A., et al., *Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2004. **113**(1): p. 59-65.
82. Juniper, E., et al., *Development and validation of a questionnaire to measure asthma control*. European Respiratory Journal, 1999. **14**(4): p. 902-907.
83. Bateman, E.D., et al., *Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary*. European Respiratory Journal, 2008. **31**(1): p. 143-178.
84. Bateman, E.D., et al., *Overall asthma control: the relationship between current control and future risk*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2010. **125**(3): p. 600-608. e6.
85. Buhl, R., *Anti-IgE antibodies for the treatment of asthma*. Current opinion in pulmonary medicine, 2005. **11**(1): p. 27-34.
86. Broide, D.H., et al., *Cytokines in symptomatic asthma airways*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1992. **89**(5): p. 958-967.

87. Pin, I., et al., Use of Induced Sputum Cell Counts to Investigate Airway Inflammation in Asthma. *Thorax*, 1992. **47**(1): p. 25-29.
88. Beeh, K.M., et al., Induced sputum cell profiles in lung transplant recipients with or without chronic rejection: correlation with lung function. *Thorax*, 2001. **56**(7): p. 557-560.
89. Holz, O., et al., Changes in sputum composition during sputum induction in healthy and asthmatic subjects. *Clinical and Experimental Allergy*, 1998. **28**(3): p. 284-292.
90. Hirsch, S., J. Zastrow, and R. Kory, *Sputum liquefying agents: a comparative in vitro evaluation*. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 1969. **74**(2): p. 346.
91. Bateman, E., et al., Stability of asthma control with regular treatment: an analysis of the Gaining Optimal Asthma control (GOAL) study. *Allergy*, 2008. **63**(7): p. 932-938.
92. Bøyum, A., *Isolation of lymphocytes, granulocytes and macrophages*. *Scandinavian Journal of Immunology*, 1976. **5**(s5): p. 9-15.
93. Olsen, I. and L.M. Sollid, *Pitfalls in determining the cytokine profile of human T cells*. *J Immunol Methods*, 2013. **390**(1-2): p. 106-12.
94. Assenmacher, M., J. Schmitz, and A. Radbruch, Flow cytometric determination of cytokines in activated murine T helper lymphocytes: Expression of interleukin-10 in interferon- $\gamma$  and in interleukin-4-expressing cells. *European journal of immunology*, 1994. **24**(5): p. 1097-1101.
95. Elson, L.H., et al., Flow cytometric analysis for cytokine production identifies T helper 1, T helper 2, and T helper 0 cells within the human CD4<sup>+</sup> CD27<sup>-</sup> lymphocyte subpopulation. *The Journal of Immunology*, 1995. **154**(9): p. 4294-4301.
96. Jung, T., et al., *Detection of intracellular cytokines by flow cytometry*. *Journal of immunological methods*, 1993. **159**(1): p. 197-207.
97. Prussin, C. and D.D. Metcalfe, Detection of intracytoplasmic cytokine using flow cytometry and directly conjugated anti-cytokine antibodies. *Journal of immunological methods*, 1995. **188**(1): p. 117-128.
98. Sack, U. and G. Rothe, *Zellul% re Diagnostik: Grundlagen, Methoden und Klinische Anwendungen Der Durchflusszytometrie*. 2006: Karger Publishers.
99. Renz, H., et al., *Gene-environment interactions in chronic inflammatory disease*. *Nature immunology*, 2011. **12**(4): p. 273-277.

100. Ege, M.J., et al., *Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma*. New England Journal of Medicine, 2011. **364**(8): p. 701-709.
101. Wenzel, S.E., *Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches*. Nature medicine, 2012. **18**(5): p. 716-725.
102. Lötvall, J., et al., *Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2011. **127**(2): p. 355-360.
103. Buhl, R., et al., *Omalizumab provides long-term control in patients with moderate-to-severe allergic asthma*. European Respiratory Journal, 2002. **20**(1): p. 73-78.
104. Spector, S.L., *Allergic inflammation in upper and lower airways*. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 1999. **83**(5): p. 435-444.
105. Hamelmann, E., et al., *Role of IgE in the development of allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness—a murine model*. Allergy, 1999. **54**(4): p. 297-305.
106. Wills-Karp, M., *Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness*. Annual review of immunology, 1999. **17**(1): p. 255-281.
107. Williams, C.M. and S.J. Galli, *The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2000. **105**(5): p. 847-859.
108. Bateman, E.D., et al., *Can guideline-defined asthma control be achieved? The Gaining Optimal Asthma Control study*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2004. **170**(8): p. 836-844.
109. Sack, U., J. Boci, and A. Tárnok, *Importance of cytometry for clinical diagnostics and therapy*. Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2007. **34**(3): p. 153-154.
110. Barnes, P.J., *Cytokine modulators as novel therapies for asthma*. Annual review of pharmacology and toxicology, 2002. **42**(1): p. 81-98.
111. Pavord, I.D., et al., *Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial*. The Lancet, 2012. **380**(9842): p. 651-659.
112. Walker, C., et al., *Allergic and nonallergic asthmatics have distinct patterns of T-cell activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage*. American Review of Respiratory Disease, 1992. **146**(1): p. 109-115.

113. Robinson, D.S., et al., *Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma*. New England Journal of Medicine, 1992. **326**(5): p. 298-304.
114. Zhao, Y., et al., *Th17 immunity in patients with allergic asthma*. International archives of allergy and immunology, 2009. **151**(4): p. 297-307.
115. Holgate, S.T., et al., *Release of RANTES, MIP-1  $\alpha$ , and MCP-1 into asthmatic airways following endobronchial allergen challenge*. American journal of respiratory and critical care medicine, 1997. **156**(5): p. 1377-1383.
116. Zhu, Z., et al., *Rhinovirus stimulation of interleukin-6 in vivo and in vitro. Evidence for nuclear factor kappa B-dependent transcriptional activation*. Journal of Clinical Investigation, 1996. **97**(2): p. 421.
117. Busse, W.W., *Does leukotriene modulation of eosinophil function explain the therapeutic effectiveness of receptor antagonists in some patients with asthma?* Clin Exp Allergy, 2001. **31**(6): p. 806-7.
118. Grunig, G., et al., *Interleukin 13 and the evolution of asthma therapy*. Am J Clin Exp Immunol, 2012. **1**(1): p. 20-27.
119. Kay, A.B., *T lymphocytes and their products in atopic allergy and asthma*. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1991. **94**(1-4): p. 189-93.
120. Salgame, P., et al., *Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones*. Science, 1991. **254**(5029): p. 279-282.
121. Zhu, J. and W.E. Paul, *CD4 T cells: fates, functions, and faults*. Blood, 2008. **112**(5): p. 1557-1569.
122. Von Mutius, E., et al., *Relation of body mass index to asthma and atopy in children: the National Health and Nutrition Examination Study III*. Thorax, 2001. **56**(11): p. 835-838.
123. Arteaga-Solis, E. and M. Kattan, *Obesity in asthma: Location or hormonal consequences?* Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2014. **133**(5): p. 1315-1316.
124. Dixon, A.E., et al., *Effects of obesity and bariatric surgery on airway hyperresponsiveness, asthma control, and inflammation*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2011. **128**(3): p. 508-515. e2.

125. Korn, S., et al., Prospective evaluation of current asthma control using ACQ and ACT compared with GINA criteria. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 2011. **107**(6): p. 474-479. e2.
126. O'Byrne, P.M., et al., *Measuring asthma control: a comparison of three classification systems*. *European Respiratory Journal*, 2010. **36**(2): p. 269-276.
127. Wood, L.G., et al., The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *CHEST Journal*, 2012. **142**(1): p. 86-93.
128. Cox, G., Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes. *The Journal of Immunology*, 1995. **154**(9): p. 4719-4725.
129. Tien Nguyen, L., et al., Increase in airway neutrophils after oral but not inhaled corticosteroid therapy in mild asthma. *Respiratory medicine*, 2005. **99**(2): p. 200-207.
130. Gattoni, A., et al., Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II)(1 of 2 parts). *La Clinica terapeutica*, 2006. **157**(4): p. 377.
131. Pauwels, R.A., et al., *Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma*. *New England Journal of Medicine*, 1997. **337**(20): p. 1405-1411.
132. Barnes, P.J. and F. Liew, *Nitric oxide and asthmatic inflammation*. *Immunology today*, 1995. **16**(3): p. 128-130.
133. Gaston, B., et al., *The biology of nitrogen oxides in the airways*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 1994. **149**(2): p. 538-551.
134. Piacentini, G., et al., Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *European Respiratory Journal*, 1999. **13**(6): p. 1386-1390.
135. Gratziau, C., et al., Influence of atopy on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma and rhinitis. *European respiratory journal*, 1999. **14**(4): p. 897-901.
136. Ludviksdottir, D., et al., Exhaled nitric oxide and its relationship to airway responsiveness and atopy in asthma. *Respiratory medicine*, 1999. **93**(8): p. 552-556.
137. VAN DEN TOORN, L.M., et al., *Airway inflammation is present during clinical remission of atopic asthma*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2001. **164**(11): p. 2107-2113.

138. van den TOORN, L.M., et al., Adolescents in clinical remission of atopic asthma have elevated exhaled nitric oxide levels and bronchial hyperresponsiveness. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2000. **162**(3): p. 953-957.
139. Jones, S.L., et al., *The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2001. **164**(5): p. 738-743.
140. Jatakanon, A., S. Lim, and P.J. Barnes, *Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2000. **161**(1): p. 64-72.
141. Lim, S., et al., Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax*, 2000. **55**(3): p. 184-188.
142. Gibson, P., et al., Cellular characteristics of sputum from patients with asthma and chronic bronchitis. *Thorax*, 1989. **44**(9): p. 693-699.
143. Jatakanon, A., et al., Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax*, 1998. **53**(2): p. 91-95.
144. Sont, J.K., et al., Clinical control and histopathologic outcome of asthma when using airway hyperresponsiveness as an additional guide to long-term treatment. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 1999. **159**(4): p. 1043-1051.

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zytokine in der Pathogenese von Asthma .....	10
Tabelle 2: Schweregrad-Einteilung des stabilen Asthmas bei Erwachsenen [4].....	15
Tabelle 3: Stufen der Asthma-Kontrolle .....	17
Tabelle 4: Patientenkollektiv .....	21
Tabelle 5: Labor-/ und medizintechnische Geräte.....	23
Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien .....	25
Tabelle 7: Chemikalien und Reagenzien .....	27
Tabelle 8: Material und Reagenzien für Serumallergologie.....	29
Tabelle 9: Allergene für Hautallergie-(Prick-)Test .....	30
Tabelle 10: Antikörper für Durchflusszytometrie .....	32
Tabelle 11: Antikörper für Zellsuspension.....	33
Tabelle 12: Analyseprogramme .....	35
Tabelle 13: Patientencharakteristika und Therapie des gesamten Patientenkollektivs bei Studieneinschluss (V0) .....	51
Tabelle 14: Klinische Parameter bei Studienbeginn (V0) .....	53
Tabelle 15: Anteile der das jeweilige Zytokin produzierenden CD3-positiven Zellen (T-Zellen) des gesamten Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0) .....	54
Tabelle 16: Anteile der das jeweilige Zytokin produzierenden CD3-positiven, CD4-negativen Zellen (zytotoxischen T-Zellen) des Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0)...	55
Tabelle 17: Anteile der das jeweilige Zytokin produzierenden CD3-positiven, CD4-positiven Zellen (T-Helferzellen) des gesamten Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0) .....	56
Tabelle 18: Asthma-Kontrolle nach GINA bei Studienbeginn (V0) .....	56



Tabelle 19: Verteilung der Gina-Kriterien bei Studienbeginn (V0) .....	57
Tabelle 20: Patientencharakteristika und Therapiestatus der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bei Studienbeginn (V0) 58	
Tabelle 21: Asthma-Kontrolle im Verlauf .....	64
Tabelle 22: Änderungen der Asthma-Kontrolle zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (V0-V1 und V0-V2) .....	65
Tabelle 23: Demographie und Therapie atopischer Patienten bei Studienbeginn (V0) .....	78
Tabelle 24: Klinische Parameter atopischer Patienten bei Studienbeginn (V0) .....	79
Tabelle 25: Zytokinprofil der CD3positiven Zellen (T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studienbeginn (V0) .....	81
Tabelle 26: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen (zytotoxischen T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) .....	81
Tabelle 27 : Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen (Th-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) .....	82
Tabelle 28: Demographie und Therapiestatus der atopischen Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bei Studienbeginn (V0) .. .....	82
Tabelle 29: Asthma-Kontrolle atopischer Patienten in Bezug zu den Untersuchungszeitpunkten (V0-V1 und V0-V2) .....	89
Tabelle 30: Untersuchungsergebnisse der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma .....	147
Tabelle 31: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen des gesamten Patientenkollektivs getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0) .....	148
Tabelle 32: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen des gesamten Patientenkollektivs getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0) .....	149
Tabelle 33: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen des gesamten Patientenkollektivs getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0) .....	150

Tabelle 34: Stabile Asthma-Kontrolle nach einer Woche .....	151
Tabelle 35: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach einer Woche.....	152
Tabelle 36: Zytokinprofile der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach einer Woche.....	153
Tabelle 37: Zytokinprofile der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach einer Woche.....	154
Tabelle 38: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	156
Tabelle 39: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	157
Tabelle 40: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten.....	159
Tabelle 41: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten .....	160
Tabelle 42: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	161
Tabelle 43: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	163
Tabelle 44: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten .....	164
Tabelle 45: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	165
Tabelle 46: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	166
Tabelle 47: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten .....	167
Tabelle 48: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	168

Tabelle 49: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....169

Tabelle 50: Nichtparametrische Korrelation zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und den Differenzen der klinischen Untersuchungsergebnisse zwischen V0 und V2 .....170

Tabelle 51: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven Lymphozyten.....172

Tabelle 52: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-negativen Lymphozyten.....174

Tabelle 53: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-positiven Lymphozyten .....176

Tabelle 54: Patientencharakteristika und Therapie atopischer Patienten bei Studieneinschluss (V0).....177

Tabelle 55: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter bei Studienbeginn (V0)...178

Tabelle 56: Zytokinprofil der gesamten, CD3-positiven Zellen (T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) .....179

Tabelle 57: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen (zytotoxischen T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) .....180

Tabelle 58: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen (Th-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0) .....180

Tabelle 59: Patientencharakteristika und Therapiestatus der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bei Studienbeginn (V0) ..  
181

Tabelle 60: Untersuchungsergebnisse der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma .....182

Tabelle 61: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen der atopischen Patienten getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0) .....183

Tabelle 62: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen der atopischen Patienten getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0).....	184
Tabelle 63: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen der atopischen Patienten, getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0).....	185
Tabelle 64: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter atopischer Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	186
Tabelle 65: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter atopischer Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	188
Tabelle 66: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der atopischen Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	189
Tabelle 67: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen atopischer Patienten bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	191
Tabelle 68: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen atopischer Patienten bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	192
Tabelle 69: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen atopischer Patienten bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	193
Tabelle 70: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen atopischer Patienten bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	195
Tabelle 71: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen atopischer Patienten bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten .....	196
Tabelle 72: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen atopischer Patienten bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten .....	197
Tabelle 73: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen atopischer Patienten bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten.....	198
Tabelle 74: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen atopischer Patienten bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten .....	199
Tabelle 75: Nichtparametrische Korrelation zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und den Differenzen der klinischen Untersuchungsergebnisse atopischer Patienten zwischen V0 und V2.....	200

Tabelle 76: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven Lymphozyten.....202

Tabelle 77: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-negativen Lymphozyten.....204

Tabelle 78: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-positiven Lymphozyten .....206

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entzündungskaskade des allergischen Asthmas .....	4
Abbildung 2: Stufenschema der Asthma-Therapie nach Leitlinie [1] .....	19
Abbildung 3: Niox Mino.....	37
Abbildung 4: Bodyplethysmograph MasterScreen .....	38
Abbildung 5: Zan Prov Air II.....	39
Abbildung 6: Metacholin, Strukturformel .....	40
Abbildung 7: PBMC Isolierung mit Ficoll.....	46
Abbildung 8: Lungenfunktion und Asthma-Kontrolle .....	60
Abbildung 9: FEV1 (% vom Soll) und Asthma-Kontrolle.....	60
Abbildung 10: Neutrophile Granulozyten im Blut und Asthma-Kontrolle.....	60
Abbildung 11: Neutrophile Granulozyten im Blut der Patienten, die keine oralen Kortikosteroide (OCS) einnahmen, und Asthma-Kontrolle .....	60
Abbildung 12: Asthma-Kontrolle: ACQ-5-Score versus GINA-Kriterien.....	61
Abbildung 13: Stickoxid (NO) in der exhalieren Atemluft und Asthma-Kontrolle.....	61
Abbildung 14: Bronchiale Hyperreagibilität (Metacholin-Konzentration, die zu einem Rückgang der FEV1 um 20% führten) und Asthma-Kontrolle .....	61
Abbildung 15: Eosinophile Granulozyten im Blut und Asthma-Kontrolle .....	62
Abbildung 16: Eosinophile (>300 / µl Blut) und nicht-eosinophile (<300 / µl Blut) Patienten und Asthma-Kontrolle .....	62
Abbildung 17: Interleukin-5 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn.....	63
Abbildung 18: Interleukin-17 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn.....	63

Abbildung 19: Interferon- $\gamma$ produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn.....	63
Abbildung 20: Regulatorische T-Zellen in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) bei Studienbeginn .....	63
Abbildung 21: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle innerhalb einer Woche.....	66
Abbildung 22: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	66
Abbildung 23: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	66
Abbildung 24: Änderungen der GINA-Kriterien bei Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	66
Abbildung 25: Intraindividuelle Unterschiede der absoluten FEV1-Werte zwischen Visite 2 und Visite 0 .....	67
Abbildung 26: Intraindividuelle Unterschiede der FEV1-Werte % vom Soll zwischen Visite 2 und Visite 0 .....	67
Abbildung 27: Intraindividuelle Unterschiede der NO-Werte zwischen Visite 2 und Visite 0..	67
Abbildung 28: Intraindividuelle Unterschiede der ACQ 5-Werte zwischen Visite 2 und Visite 0 .....	67
Abbildung 29: IFN $\gamma$ -produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	69
Abbildung 30: IL-10-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	69
Abbildung 31: IL-5-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	69
Abbildung 32: IL-4-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	69
Abbildung 33: IL-13-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	70

Abbildung 34: IL-17-produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	70
Abbildung 35: CD4-, CD25-positive FoxP3-exprimierende Zellen, aufgeteilt nach Veränderungen der Asthma-Kontrolle (GINA) zwischen V0 und V2.....	70
Abbildung 36: Exhalierendes Stickstoffmonoxid zwischen Visite 2 und Visite 0 der Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden öfter als 2x / Woche Symptome am Tag zeigten.....	72
Abbildung 37: Individuelle Unterschiede der NO-Werte der Patienten, die nach 6 Monaten weniger Symptome am Tag aufwiesen.....	72
Abbildung 38: Individuelle Unterschiede der NO-Werte der Patienten, die nach 6 Monaten mehr Symptome am Tag aufwiesen .....	72
Abbildung 39: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und 0 der Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden öfter als 2x / Woche Symptome am Tag zeigten .....	72
Abbildung 40: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die nach 6 Monaten weniger Symptome am Tag aufwiesen.....	72
Abbildung 41: Individuellen Unterschiede der NO-Werte der Patienten, die nach 6 Monaten mehr Symptome am Tag aufwiesen .....	72
Abbildung 42: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und 0 der Patienten, die sich an Visite 0, 2 oder beiden durch ihr Asthma in ihrem Alltag eingeschränkt fühlten.....	73
Abbildung 43: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die sich nach 6 Monaten weniger durch ihr Asthma im Alltag eingeschränkt fühlten .....	73
Abbildung 44: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die sich nach 6 Monaten mehr durch ihr Asthma im Alltag eingeschränkt fühlten .....	73
Abbildung 45: IFN $\gamma$ -produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 der Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden über nächtliche Symptome klagten.....	73
Abbildung 46: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der Patienten, die nach 6 Monaten keine nächtlichen Symptome mehr hatten .....	73
Abbildung 47: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der Patienten, die nach 6 Monaten nächtliche Symptome entwickelten.....	73



Abbildung 48: IL-17-produzierende T- und zytotoxische T-Zellen zwischen Visite 2 und 0 von Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden über nächtliche Symptome klagten .....74

Abbildung 49: Individuelle Unterschiede der IL-17-produzierenden T-Zellen der Patienten, die nach 6 Monaten keine nächtlichen Symptome mehr hatten.....74

Abbildung 50: Individuelle Unterschiede der IL-17-produzierenden T-Zellen der Patienten, die nach 6 Monaten nächtliche Symptome entwickelten .....74

Abbildung 51: FEV1 (absolute Werte) zwischen Visite 2 und 0 von Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden ihre Notfallmedikation öfter als 2x / Woche einnahmen.....74

Abbildung 52: Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten seltener als 2x / Woche einnahmen .....74

Abbildung 53: Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten häufiger als 2x / Woche einnahmen .....74

Abbildung 54: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und 0 bei Patienten, deren FEV1 an Visite 0, 2 oder beiden unter 80% vom Soll lag .....75

Abbildung 55: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten über 80% vom Soll gestiegen ist.....75

Abbildung 56: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten unter 80% vom Soll gefallen ist.....75

Abbildung 57: IL-4-produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 bei Patienten, deren FEV1 an Visite 0, 2 oder beiden unter 80% vom Soll lag.....75

Abbildung 58: Individuelle Unterschiede der IL-4-produzierenden T-Helferzellen der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten über 80% vom Soll gestiegen ist.....75

Abbildung 59: Individuelle Unterschiede der IL-4-produzierenden T-Helferzellen der Patienten, deren FEV1 nach 6 Monaten unter 80% vom Soll gefallen ist.....75

Abbildung 60: Lungenfunktion (FEV1 absolut) atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle .....85

Abbildung 61: Lungenfunktion (FEV1 % vom Soll) atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle .....85

Abbildung 62: Neutrophile Granulozyten im Blut der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn.....	85
Abbildung 63: Neutrophile Granulozyten im Blut der atopischen Patienten, die keine oralen Kortikosteroide (OCS) einnahmen, in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn .....	85
Abbildung 64: ACQ-5 Werte der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn .....	86
Abbildung 65: Gesamt IgE-Werte der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn.....	86
Abbildung 66: NO-Anteil in der exhaliierten Atemluft atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn.....	86
Abbildung 67: Metacholin-Konzentrationen, die bei atopischen Patienten zu einem Ruckgang der FEV1 um 20% fiihrten (PC20), in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn .....	86
Abbildung 68: Eosinophile Granulozyten im Blut der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn.....	87
Abbildung 69: Anteile eosinophiler (>300 / µl) und nicht-eosinophiler (<300 / µl) atopischer Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle bei Studienbeginn .....	87
Abbildung 70: Interleukin-4 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn .....	88
Abbildung 71: Interleukin-5 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn .....	88
Abbildung 72: Interleukin-13 produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn .....	88
Abbildung 73: Interferon-γ produzierende Zellen in den T-Zellsubpopulationen der atopischen Patienten in Bezug zur Asthma-Kontrolle (GINA) zu Studienbeginn .....	88
Abbildung 74: Intraindividuelle Unterschiede des NOs von atopischen Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	90
Abbildung 75: Intraindividuelle Unterschiede der PC20 von atopischen Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	90

Abbildung 76: Intraindividuelle Unterschiede eosinophiler Granulozyten im Blut atopischer Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	90
Abbildung 77: Intraindividuelle Unterschiede des Gesamt-IgEs atopischer Patienten bei stabiler, verschlechterter oder verbesserter Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	90
Abbildung 78: Intraindividuelle Unterschiede der IFN- $\gamma$ produzierenden T-Zellen (CD3+), zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	91
Abbildung 79: Intraindividuelle Unterschiede der IL-4 produzierenden T-Zellen (CD3+), zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	91
Abbildung 80: Intraindividuelle Unterschiede der IL-5 produzierenden Anteile der T-Zellen (CD3+), der zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und der T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	91
Abbildung 81: Intraindividuelle Unterschiede der IL-13 produzierenden Anteile der T-Zellen (CD3+), der zytotoxischen T-Zellen (CD3+ / CD4-) und der T-Helferzellen (CD3+ / CD4+) der atopischen Patienten bei verschlechterter, verbesserter oder stabiler Asthma-Kontrolle zwischen Visite 0 und 2 .....	91
Abbildung 82: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei atopischen Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle innerhalb einer Woche .....	92
Abbildung 83: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei atopischen Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	92
Abbildung 84: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei atopischen Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	93
Abbildung 85: Änderungen der einzelnen GINA-Kriterien bei Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten .....	93
Abbildung 86: ACQ-5 Werte zwischen Visite 2 und Visite 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden durch ihr Asthma in ihrem Alltag eingeschränkt waren .....	94

Abbildung 87: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der atopischen Patienten, die sich nach 6 Monaten nicht mehr durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten .....	94
Abbildung 88: Individuelle Unterschiede der ACQ-5 Werte der Patienten, die sich nach 6 Monaten durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten .....	94
Abbildung 89: IL-17-produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die sich an Visite 0, 2 oder beiden durch ihr Asthma in ihrem Alltag eingeschränkt fühlten .....	94
Abbildung 90: Individuelle Unterschiede der IL17-produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die sich nach 6 Monaten nicht mehr durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten .....	94
Abbildung 91: Individuelle Unterschiede der IL17-produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die sich nach 6 Monaten durch ihr Asthma eingeschränkt fühlten.....	94
Abbildung 92: IFN $\gamma$ -produzierende T-Helferzellen zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0, 2 oder beiden nächtliche Symptome hatten.....	95
Abbildung 93: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die nach 6 Monaten keine nächtlichen Symptome mehr hatten .....	95
Abbildung 94: Individuelle Unterschiede der IFN $\gamma$ -produzierenden T-Helferzellen der atopischen Patienten, die nach 6 Monaten nächtliche Symptome entwickelten .....	95
Abbildung 95: FEV1 (absolute Werte) zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0 oder 2 ihre Notfallmedikation öfter als 2x / Woche einnahmen .....	95
Abbildung 96: Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten seltener als 2x / Woche einnahmen ..	95
Abbildung 97: Individuelle Unterschiede der FEV1 (absolute Werte) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten öfter als 2x / Woche einnahmen.....	95
Abbildung 98: FEV1 (% vom Soll) zwischen Visite 2 und 0 von atopischen Patienten, die an Visite 0 oder 2 ihre Notfallmedikation öfter als 2x / Woche einnahmen.....	96
Abbildung 99: Individuelle Unterschiede der FEV1 (% vom Soll) der atopischen Patienten, die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten seltener als 2x / Woche einnahmen.....	96

Abbildung 100: Individuelle Unterschiede der FEV1 (% vom Soll) der atopischen Patienten,  
die ihre Notfallmedikation nach 6 Monaten öfter als 2x / Woche einnahmen .....96

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
ACQ	“Asthma Control Questionnaire”
AHR	„Airway hyperresponsiveness“, Atemwegsüberempfindlichkeit
APC	„Antigen presenting Cell“, Antigen präsentierende Zelle
AQLA	“Asthma Quality of Life Questionnaire“
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BM	Basalmembran
BMI	“Body Mass Index”
BSA	Bovines Serum Albumin, Rinderalbumin
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat, Adenosin-3', 5'-Monophosphat
CD	„Cluster of Differentiation“
cm	Zentimeter

CSF	Colony stimulating Factor
CTLA-4	„Cytotoxic T lymphocyte-induced tumor antigen-4“, wird auch als CD152 bezeichnet
d.h.	Das heißt
DC	„Dendritic cell“, dendritische Zelle
dest.	Destilliert
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	„Enzyme-linked Immunosorbant Assay“
EtOH	Ethanol
FACS	„Fluorescence activated cell sorting“
FC	Fragment crystallisable
FCS	„Fetal calf serum“
FcεRI	„High-affinity IgE receptor“
FEV <sub>1</sub>	1-Sekunden-Kapazität
FIA	„Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay“

FITC	„Fluorescein isothiocyanate“
Foxp3	„Forkhead box protein 3“
FSC	„Forward Scatter“, Vorwärtsstreulicht
GATA-1	„GATA-binding protein 1“
GATA-3	„Trans-acting T-cell-specific transcription factor-3“
GINA	“Global Initiative for Asthma“
GM-CSF	„Granulocyte macrophage colony-stimulating factor“
H <sub>2</sub> O	Wasser
HBSS	„Hank´s balanced salt solution“
HLA	„Human Leukocyte Antigen“
ICAM	„Intracellular adhesion Molecule“
ICS	Inhalatives Kortikosteroid
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IMDM	„Iscoe´s Modified Dulbecco´s Medium“
iTreg	Induzierte regulatorische T-Zellen



kg	Kilogramm
kg/m <sup>2</sup>	Kilogramm/Quadratmeter
kPa	Kilopascal
kU/l	Kiloeinheiten/Liter
l	Liter
LABA	Langwirksames $\beta_2$ -Mimetikum
LAMA	Langwirksames Anticholinergikum
m	männlich
MBP	„Major basic protein“
mg	Milligramm
MHC	„Major Histocompatibility Complex“, Haupthistokompatibilitätskomplex
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mm <sup>2</sup>	Quadratmillimeter
MMP	Matrixmetalloproteasen

n	Anzahl pro Gruppe
N.D.	Nicht detektierbar
NaCl	Natrium Chlorid, Kochsalz
NK	„Natural killer cells“, Natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
nTreg	Natürlich vorkommende regulatorische T-Zelle
OCS	Orales Kortikosteroid
p	p-Wert, Signifikanzniveau
PAF	„Platelet Activated Moleküle“
PAMPs	„Pathogen-associated molecular patterns“
PBMCs	„Peripheral blood mononuclear cells“, mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PBS	„Phosphate buffered saline“, Phosphat-gepufferte Salzlösung
PC <sub>20</sub>	“Provocative Concentration causing a 20% Drop of FEV <sub>1</sub> ”
PD <sub>20</sub>	„Provokative Dose causing a 20 % Drop of FEV <sub>1</sub> “
PE	„Phycoerythrin“

PEF	„Peak Expiratory Flow“
PerCP	„Peridinin chlorophyll protein“
PFA	Paraformaldehyd
PKA	Proteinkinase A
Pma	„Phorbol 12-Myristat 13 Acetat“
Ppb	“Parts per Billion“
r	Korrelationskoeffizient
RAG-2	„Recombination Activating Gene-2“
RANTES	„Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted“
R <sub>L</sub>	Pulmonaler Widerstand
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	„Rounds per minute“
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
SABA	Kurzwirksames $\beta_2$ -Mimetikum
SD	Standardabweichung
SSC	„Sideward Scatter“, Seitwärtsstreulicht

STAT	„Signal Transducers and Activators of Transcription“
TGF- $\beta$	„Transforming growth factor beta“
Th0	Typ 0 T-Helferzellen
Th1	Typ 1 T-Helferzellen
Th2	Typ 2 T-Helferzellen
TLR	Toll-like-Rezeptor
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumornekrosefaktor
Treg	Regulatorische T-Zelle
TZR	T-Zellrezeptor
U	„Unit“, Einheit der Enzymaktivität
U/ Min	Umdrehungen pro Minute
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VLA	???
w	weiblich
$\alpha$	Signifikanzniveau
$\Delta$	Differenz

# Anhang

## Gesamtkollektiv

**Tabelle 30: Untersuchungsergebnisse der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
NO Median (Q1 / Q3)	20,5 (13,5 / 32,5)	21,0 (13,5 / 31,5)	25,5 (13,5 / 49,6)
Min. / Max. (ppb)	7,5 / 68,0	5,0 / 160,0	8,0 / 155,5
PC20 Median (Q1 / Q3)	1,7 (0,5 / 5,1)	3,8 (0,54 / 14,3)	0,8 (0,4 / 3,5)
Min. / Max. (mg/ml)	0,0 / 16,0	0,2 / 16,0	0,1 / 16,0
FEV1 Median (Q1 / Q3)	2,9 (2,7 / 3,8)	2,7 (2,1 / 3,1)	2,0 (1,4 / 2,8)
Min. / Max. (l)	1,8 / 5,17	1,5 / 4,8	8,0 / 155,5
FEV1 Median (Q1 / Q3)	95,0 (88,0 / 101,5)	86,0 (76,0 / 97,0)	70,5 (58,0 / 93,0)
Min. / Max. (%)	67,0 / 116,0	43,0 / 125,0	26,0 / 130,0
Sputum Eosinophile Median (Q1 / Q3)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 1,6)	0,0 (0,0 / 2,2)
Min. / Max. (%)	0,0 / 7,8	0,0 / 34,6	0,0 / 40,5
Eosinophile im Blut Median (Q1 / Q3)	0,2 (0,1 / 0,4)	0,2 (0,1 / 0,3)	0,2 (0,1 / 0,3)
Min. / Max. (/nl)	0,0 / 0,8	0,0 / 0,8	0,0 / 2,1
Neutrophile im Blut Median (Q1 / Q3)	3,5 (2,8 / 4,44)	3,8 (3,2 / 4,6)	5,2 (4,0 / 6,9)

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Min. / Max. (/nl)	1,9 / 7,7	2,1 / 9,3	2,0 / 11,8
IgE Median (Q1 / Q3)	99,6 (56,9 / 316,0)	82,9 (24,3 / 246,0)	99,0 (36,6 / 278,0)
Min. / Max. (kU/l)	2,1 / 5000,0	3,6 / 767,0	0,2 / 4080,0
ACQ 5 Median (Q1 / Q3)	0,8 (0,4 / 1,3)	1,0 (0,4 / 2,0)	2,6 (1,6 / 3,3)
Min. / Max.	0,0 / 3,0	0,0 / 7,0	0,2 / 4,8

**Tabelle 31: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen des gesamten Patientenkollektivs getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IFN $\gamma$ Median (Q1 / Q3)	24,9 (15,2 / 35,2)	21,1 (10,3 / 36,8)	27,7 (17,2 / 37,7)
Min. / Max. (%)	8,8 / 66,9	6,0 / 73,6	4,62 / 66,9
IL10 Median (Q1 / Q3)	1,7 (1,2 / 2,8)	1,7 (1,1 / 2,2)	1,6 (1,0 / 2,5)
Min. / Max. (%)	0,5 / 4,6	0,4 / 3,3	0,5 / 9,7
IL4 Median (Q1 / Q3)	4,3 (2,3 / 5,5)	2,9 (1,7 / 4,3)	4,0 (2,3 / 5,1)
Min. / Max. (%)	0,7 / 8,8	0,4 / 13,9	0,0 / 14,9
IL5 Median (Q1 / Q3)	0,8 (0,5 / 1,2)	1,0 (0,5 / 1,3)	0,8 (0,4 / 1,2)
Min. / Max. (%)	0,3 / 4,1	0,0 / 4,2	0,0 / 10,6
IL13 Median (Q1 / Q3)	2,5 (1,3 / 3,9)	1,8 (1,2 / 2,9)	2,4 (1,2 / 3,7)
Min. / Max. (%)	0,3 / 6,6	0,3 / 11,4	0,0 / 18,5

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IL17 Median (Q1 / Q3)	1,3 (1,0 / 2,1)	1,1 (0,9 / 1,6)	1,1 (0,9 / 2,2)
Min. / Max. (%)	0,4 / 3,8	0,0 / 7,1	0,3 / 8,7
FoxP3 Median (Q1 / Q3)	7,3 (4,5 / 10,3)	8,1 (5,5 / 10,8)	7,0 (5,3 / 11,7)
Min. / Max. (%)	1,7 / 15,3	1,2 / 16,3	0,0 / 25,6

**Tabelle 32: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen des gesamten Patientenkollektivs getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IFN $\gamma$ Median (Q1 / Q3)	12,8 (10,0 / 22,3)	14,4 (6,6 / 21,8)	15,5 (9,7 / 22,3)
Min. / Max.(%)	4,4 / 49,7	0,5 / 64,5	1,7 / 66,9
IL10 Median (Q1 / Q3)	0,3 (0,2 / 0,4)	0,3 (0,2 / 0,5)	0,3 (0,2 / 0,4)
Min. / Max.(%)	0,1 / 1,9	0,0 / 1,4	0,1 / 7,4
IL4 Median (Q1 / Q3)	0,7 (0,5 / 1,5)	0,8 (0,4 / 1,4)	0,7 (0,5 / 1,9)
Min. / Max.(%)	0,1 / 3,3	0,1 / 7,1	0,1 / 8,8
IL5 Median (Q1 / Q3)	0,2 (0,5 / 1,2)	0,4 (0,2 / 0,6)	0,2 (0,1 / 0,5)
Min. / Max.(%)	0,1 / 3,3	0,0 / 2,7	0,0 / 7,6
IL13 Median (Q1 / Q3)	0,4 (0,2 / 0,9)	0,6 (0,3 / 0,9)	0,5 (0,2 / 1,1)
Min. / Max.(%)	0,1 / 4,3	0,1 / 7,1	0,0 / 14,1
IL17 Median (Q1 / Q3)	0,1 (0,1 / 0,3)	0,2 (0,1 / 0,3)	0,1 (0,1 / 0,2)
Min. / Max.(%)	0,0 / 1,0	0,0 / 4,3	0,0 / 6,7

**Tabelle 33: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen des gesamten Patientenkollektivs getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IFN Median (Q1 / Q3)	9,9 (6,8 / 13,9)	9,1 (4,8 / 14,8)	11,6 (6,8 / 16,2)
Min. / Max. (%)	1,5 / 18,5	1,9 / 27,7	2,8 / 38,3
IL10 Median (Q1 / Q3)	1,4 (0,9 / 2,1)	1,1 (0,8 / 1,8)	1,3 (0,7 / 1,8)
Min. / Max. (%)	0,3 / 3,7	0,3 / 2,6	0,2 / 5,1
IL4 Median (Q1 / Q3)	3,0 (1,8 / 4,5)	1,9 (1,3 / 2,7)	2,6 (1,5 / 4,1)
Min. / Max. (%)	0,5 / 5,7	0,4 / 12,5	0,0 / 12,1
IL5 Median (Q1 / Q3)	0,5 (0,3 / 0,8)	0,6 (0,3 / 0,8)	0,5 (0,3 / 0,7)
Min. / Max. (%)	0,2 / 1,2	0,0 / 1,5	0,0 / 3,0
IL13 Median (Q1 / Q3)	2,0 (0,8 / 3,3)	1,2 (0,6 / 2,4)	1,6 (0,7 / 2,7)
Min. / Max. (%)	0,2 / 4,6	0,1 / 5,2	0,0 / 7,3
IL17 (median (Q1 / Q2))	1,1 (0,3 / 3,6)	1,0 (0,7 / 1,4)	1,1 (0,8 / 1,9)
Min. / Max. (%)	0,8 / 2,0	0,0 / 3,0	0,2 / 3,4



Tabelle 34: Stabile Asthma-Kontrolle nach einer Woche

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (ppb)	-1,0 (-5,9 / 3,0) -63,0 / 26,0	0,014	0,9	0,9	0,9
PC20 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (mg/ml)	0,0 (-0,1 / 1,0) -11, / 15,65	0,321	0,8	0,4	0,6
FEV1 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (l)	0,0 (-0,2 / 0,1) -1,0 / 19,7	0,015	0,9	0,3	0,5
FEV1 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-1,9 (-4,9 / 2,4) -40,6 / 710,8	0,015	0,9	0,9	0,9
Sputum Eosinophile Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (0,0/1,0) -16,8 / 37,7	0,305	0,5	0,5	0,7
Eosinophile im Blut Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (/nl)	0,0 (0,0 / 0,1) -0,9 / 0,6	0,042	0,8	0,8	0,9
Neutrophile im Blut Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (/nl)	-0,2 (-1,1 / 0,3) -7,2 / 9,1	0,026	0,7	0,6	0,8

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IgE Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (kU/l)	-0,5 (-17,0 / 8,0) -806 / 1291	0,196	0,9	0,9	0,9
ACQ 5 Median (Q1 / Q3) Min. / Max.	-0,2 (-0,4 / 0,2) -3,2 / 1,7	0,014	0,9	0,8	0,9

Tabelle 35: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach einer Woche

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-2,8 (-7,9 / 3,4) -30,4 / 36,4	0,091	0,7	0,7	0,8
IL10 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,1 (-0,6 / 0,3) -5,1 / 4,0	0,181	0,6	0,5	0,7
IL4 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,2 (-1,1 / 0,6) -8,8 / 3,1	0,136	0,7	0,6	0,8
IL5 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,0 (-0,2 / 0,3) -4,3 / 4,3	0,891	0,7	0,6	0,8

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IL13 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,1 (-0,6 / 0,7) -12,3 / 9,1	0,965	0,5	0,5	0,6
IL17 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,5 / 0,3) -6,2 / 5,7	0,241	0,6	0,3	0,5
FoxP3 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,1 (-2,0 / 1,8) -12,7 / 8,2	0,724	0,7	0,8	0,9

**Tabelle 36: Zytokinprofile der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach einer Woche**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-1,3 (-5,0 / 3,5) -27,0 / 28,6	0,171	0,6	0,6	0,8
IL10 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,1 / 0,1) -6,7 / 3,5	0,292	0,5	0,2	0,3
IL4 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,1 (-0,4 / 0,2) -7,4 / 3,1	0,195	0,6	0,3	0,5

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IL5 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,1 / 0,1) -5,3 / 3,6	0,914	0,7	0,4	0,6
IL13 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,2 / 0,2) -12,7 / 2,8	0,662	0,6	0,3	0,4
IL17 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,1 / 0,1) -6,2 / 4,0	0,293	0,5	0,1	0,1

**Tabelle 37: Zytokinprofile der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach einer Woche**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,7 (-2,3 / 1,2) -15,0 / 10,9	0,034	0,8	0,7	0,8
IL10 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,1 (-0,5 / 0,2) -4,1 / 2,2	0,201	0,7	0,5	0,7
IL4 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,1 (-0,7 / 0,4) -5,7 / 2,7	0,137	0,7	0,8	0,9

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IL5 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,1 / 0,2) -1,5 / 1,9	0,535	0,6	0,6	0,8
IL13 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (-0,4 / 0,5) -7,0 / 8,9	0,596	0,6	0,4	0,6
IL17 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	-0,0 (-0,5 / 0,3) -2,4 / 1,7	0,303	0,6	0,6	0,8

**Tabelle 38: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Merkmals	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (ppb)	0,5 (-8,4 / 4,6) -39,0 / 54,5	0,329	0,7	0,9	0,9
PC20 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (mg/ml)	0,1(0,0 / 1,9) -7,42 / 15,9	0,033	0,6	0,6	0,8
FEV1 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (l)	0,0 (-0,2 / 0,2) -0,9 / 0,8	0,909	0,9	0,9	0,9
FEV1 Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (% vom Soll)	0,5 (-4,0 / 5) -32,0 / 23,0	0,403	0,9	0,9	0,9
Sputum Eosinophile Median (Q1 / Q3) Min. / Max. (%)	0,0 (0,0 / 2,1) -40,5 / 17,9	0,169	0,4	0,0	0,0
Eosinophile im Blut Median (Q1 / Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (0,1/ -0,1) -0,4/0,6	0,294	0,7	0,9	0,9

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,1(-0,9/0,7) -7,3/10,3	0,973	0,6	0,5	0,7
IgE Median (Q1/Q3) Min./Max. (kU/l)	-1,0 (-15,6/21,7) -5000,0/668,0	0,938	0,9	0,9	0,9
ACQ5 Median (Q1/Q3) Min./Max.	0,0 (-0,4/0,4) -2,2/2,4	0,150	0,8	0,8	0,9

**Tabelle 39: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1/Q3) Min./Max. (ppb)	-3,5 (-9,4/8,8) -101,0/20,5	0,727	0,5	0,5	0,7
PC20 Median (Q1/Q3) Min./Max. (mg/ml)	0,1 (-0,9/0,8) -1,5/15,0	1,000	0,6	0,8	0,9
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (l)	-0,3 (-0,5/-0,2) -1,3 /0,1	0,090	0,7	0,8	0,9

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelationskoeffizient	Interklassenkoeffizient	Cronbachs $\alpha$
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (% vom Soll)	-10,0 (-18,0/-7,0) -48,0/3,0	0,013	0,6	0,6	0,7
Sputum Eosinophile Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-3,9/1,1) -7,8/2,2	0,655	0,4	0,0	-0,1
Eosinophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (-0,0/0,1) -0,3/0,8	0,308	0,6	0,4	0,6
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	-0,1 (-0,8/2,1) -1,6 /4,3	0,969	0,6	0,4	0,6
IgE Median (Q1/Q3) Min./Max. (kU/l)	-0,4 (-48,7/124,5) -325,0/1219,0	0,807	0,8	0,4	0,5
ACQ5 Median (Q1/Q3) Min./Max.	0,1 (-0,5/0,6) -1,4/3,2	0,624	0,3	0,3	0,4



**Tabelle 40: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1/Q3) Min./Max. (ppb)	-5,8 (-15,3/-0,4) -57,0/13,0	0,016	0,5	0,6	0,7
PC20 Median (Q1/Q3) Min./Max. (mg/ml)	0,18 (0,0/1,4) -13,8/5,4	0,146	0,7	0,8	0,9
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (l)	0,1 (-0,1/0,3) -0,3/0,6	0,106	0,9	0,9	0,9
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (% vom Soll)	3,5 (-3,0/11,0) -11,0/19,0	0,503	0,9	0,9	0,9
Sputum Eosinophile Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-3,9 (-13,1/0,0) -32,1/0,0	0,068	0,7	0,2	0,3
Eosinophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (-0,1/0,1) -0,3/0,2	0,506	0,7	0,8	0,9
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	-0,3 (-0,9/0,3) -5,9/3,6	0,067	0,4	0,4	0,6

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IgE Median (Q1/Q3) Min./Max. (kU/l)	-3,9 (-26,6/37,7) -71,5/374,9	0,808	0,9	0,5	0,6
ACQ 5 Median (Q1/Q3) Min./Max.	-0,2 (-1,3/0,2) -5,6/1,5	0,106	0,6	0,3	0,5

Tabelle 41: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	4,6 (-3,5/11,2) -25,1/42,2	0,011	0,6	0,6	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,5/0,5) -6,8/6,5	0,664	0,6	0,4	0,6
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,6 (-0,7/1,8) -10,2/5,1	0,054	0,5	0,6	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,4/0,5) -8,5/3,8	0,917	0,5	0,3	0,4

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,7/1,1) -11,2/9,3	0,329	0,3	0,3	0,5
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,4/0,6) -7,3/5,0	0,449	0,4	0,2	0,3
FoxP3 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-2,2/3,1) -12,0/9,6	0,316	0,6	0,6	0,8

**Tabelle 42: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	2,0 (-2,1/6,7) -24,3/27,7	0,41	0,5	0,7	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -7,7/2,3	0,300	0,3	0,0	0,0
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,3/0,5) -6,9/2,4	0,120	0,6	0,6	0,7

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,2) -2,7/0,8	0,866	0,8	0,2	0,3
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,3/0,3) -7,0/4,5	0,446	0,7	0,3	0,4
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,2) -7,1/1,9	0,439	0,3	0,1	0,2

**Tabelle 43: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmals	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	1,7 (-1,1/4,6) -20,2/14,4	0,004	0,6	0,6	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,3/0,4) -2,0/3,8	0,973	0,7	0,6	0,7
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,3/0,9) -6,7/4,0	0,023	0,6	0,6	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,3) -1,4/2,0	0,836	0,4	0,4	0,6
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,6/0,9) -4,2/4,8	0,202	0,3	0,5	0,6
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,0 (-0,3/0,6) -2,0/4,0	0,584	0,5	0,3	0,5

Tabelle 44: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	1,6 (-8,5/4,0) -20,6/21,2	0,424	0,5	0,6	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,5 (0,2/0,7) -1,1/2,5	0,101	0,6	0,6	0,8
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-1,1/2,2) -7,9/4,3	0,807	0,3	0,6	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,2/0,1) -0,7/5,5	0,345	0,8	0,3	0,4
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,4 (0,0/1,6) -3,7/8,6	0,087	0,3	0,1	0,2
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,3/0,8) -1,6 /4,0	0,345	0,2		
FoxP3 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,8 (-2,4/1,7) -8,9/6,0	0,807	0,5	0,6	0,7

**Tabelle 45: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	2,7 (-5,3/6,5) -11,2/10,3	0,534	0,5	0,7	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,1/0,4) -0,5/0,9	0,807	0,3	0,5	0,7
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,3/0,4) -1,7/3,1	0,345	0,5	0,2	0,4
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,1/0,0) -0,5/4,4	0,345	0,8	0,3	0,5
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,1/0,3) -0,2/5,1	0,124	0,6	0,2	0,4
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,1/0,2) -0,5/2,1	0,969	0,3	0,2	0,3

**Tabelle 46: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-2,5 (-3,7/2,8) -9,4/12,7	0,477	0,5	0,6	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,4 (-0,1/1,1) -1,0/2,4	0,071	0,7	0,6	0,7
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,2 (-1,2/1,7) -6,3/2,7	0,972	0,3	0,6	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -0,3/1,1	0,701	0,7	0,7	0,8
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,1/1,5) -3,5/5,2	0,311	0,4	0,3	0,5
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,4/0,7) -1,7/1,8	0,311	0,1	0,2	0,3



Tabelle 47: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	9,2 (0,1/19,4) -10,1/31,7	0,016	0,8	0,8	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,9/0,5) -3,2/1,8	0,826	0,4	0,5	0,7
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,5 (-0,2/1,9) -1,1/4,0	0,069	0,7	0,9	0,9
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,2/0,5) -5,5/1,0	0,293	0,4	0,1	0,3
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,7/0,8) -3,6/2,9	0,730	0,7	0,8	0,9
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,7/0,6) -8,9/2,9	0,826	0,4	0,3	0,4
FoxP3 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-1,0 (-2,8/1,4) -5,0/4,6	0,649	0,6	0,8	0,9

**Tabelle 48: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	6,9 (1,2/10,0) -6,3/27,1	0,011	0,8	0,5	0,6
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,4) -2,5/0,7	0,755	0,2	0,1	0,2
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,5 (-0,2/1,9) -1,1/4,0	0,074	0,8	0,7	0,8
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,1/0,3) -2,5/0,4	0,443	0,4	0,3	0,4
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,3/0,2) -1,7/0,4	0,875	0,7	0,5	0,7
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -4,1/0,6	0,861	0,4	0,1	0,2

**Tabelle 49: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	2,3 (-3,3/5,4) -5,6/10,7	0,245	0,5	0,8	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,5/0,2) -1,9/1,7	0,649	0,6	0,7	0,8
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (0,0/1,2) -1,1/3,6	0,057	0,6	0,9	0,9
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,2/0,3) -2,0/0,4	0,443	0,4	0,1	0,2
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,4/0,4) -1,9/2,7	0,470	0,7	0,9	0,9
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,3/0,6) -1,8/2,3	0,422	0,6	0,6	0,8

**Tabelle 50: Nichtparametrische Korrelation zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und den Differenzen der klinischen Untersuchungsergebnisse zwischen V0 und V2**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ NO (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,332	-0,150	-0,293	-0,160	-0,162	-0,090
Signifikanz	0,006	0,237	0,078	0,271	0,232	0,553
$\Delta$ PC20 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	0,031	0,066	-0,024	0,037	0,096	-0,084
Signifikanz	0,856	0,712	0,926	0,861	0,602	0,696
$\Delta$ FEV1 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	0,142	0,141	-0,058	0,500	0,419	0,194
Signifikanz	0,264	0,273	0,738	<0,001	0,002	0,208
$\Delta$ FEV1 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient						
Signifikanz						

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ Sputum-eosinophile (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,086	-0,230	-0,567	-0,129	-0,309	-0,500
Signifikanz	0,726	0,358	0,111	0,675	0,212	0,098
$\Delta$ Eosinophile						
Korrelationskoeffizient	-0,034	0,209	-0,032	-0,019	-0,103	0,035
Signifikanz	0,799	0,115	0,859	0,901	0,472	0,828
$\Delta$ Neutrophile						
Korrelationskoeffizient	0,065	0,011	-0,004	-0,134	-0,076	0,083
Signifikanz	0,628	0,934	0,984	0,405	0,602	0,599
$\Delta$ IgE						
Korrelationskoeffizient	-0,038	0,061	0,104	0,059	-0,129	-0,107
Signifikanz	0,768	0,642	0,553	0,695	0,364	0,500

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ ACQ 5						
Korrelationskoeffizient	-0,353	-0,417	-0,213	-0,129	0,327	-0,005
Signifikanz	0,005	0,001	0,226	0,399	0,017	0,975

**Tabelle 51: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven Lymphozyten**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IFN (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,087	-0,116	0,260	0,241	0,276	0,221
Signifikanz	0,544	0,439	0,181	0,152	0,081	0,203
$\Delta$ IL10 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,280	0,051	0,178	0,028	0,157	-0,113
Signifikanz	0,041	0,722	0,338	0,865	0,315	0,499

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IL4 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,200	-0,118	0,021	0,129	0,281	0,088
Signifikanz	0,150	0,414	0,914	0,448	0,068	0,600
$\Delta$ IL5 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,076	0,199	0,201	-0,065	-0,021	0,011
Signifikanz	0,586	0,165	0,286	0,703	0,896	0,947
$\Delta$ IL13 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,144	-0,039	0,181	-0,198	-0,031	-0,049
Signifikanz	0,317	0,792	0,357	0,255	0,850	0,775
$\Delta$ IL17						
Korrelationskoeffizient	-0,026	0,224	0,372	0,221	0,117	0,058
Signifikanz	0,856	0,122	0,047	0,196	0,460	0,734

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ FOXp3						
Korrelationskoeffizient	-0,014	-0,076	0,104	0,114	0,131	-0,031
Signifikanz	0,925	0,612	0,592	0,503	0,413	0,857

**Tabelle 52: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-negativen Lymphozyten**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IFN (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,066	-0,093	0,428	0,205	0,226	0,198
Signifikanz	0,647	0,540	0,026	0,230	0,156	0,255
$\Delta$ IL10 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,139	0,134	0,212	-0,091	0,206	0,049
Signifikanz	0,322	0,354	0,260	0,594	0,186	0,772



Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IL4 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,201	-0,106	0,071	0,019	0,239	0,189
Signifikanz	0,149	0,464	0,711	0,911	0,122	0,255
$\Delta$ IL5 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,086	0,244	0,247	0,097	0,028	0,214
Signifikanz	0,538	0,087	0,188	0,566	0,860	0,197
$\Delta$ IL13 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,101	0,049	0,230	0,194	-0,084	0,195
Signifikanz	0,499	0,750	0,279	0,288	0,609	0,285
$\Delta$ IL17						
Korrelationskoeffizient	0,134	0,144	0,412	-0,005	0,113	0,031
Signifikanz	0,352	0,334	0,037	0,976	0,483	0,864

**Tabelle 53: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-positiven Lymphozyten**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IFN (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,016	-0,076	-0,057	0,180	0,291	0,179
Signifikanz	0,910	0,614	0,777	0,295	0,065	0,303
$\Delta$ IL10 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,207	0,047	0,074	0,074	0,176	-0,080
Signifikanz	0,136	0,745	0,663	0,663	0,258	0,631
$\Delta$ IL4 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,151	-0,059	0,226	0,226	0,326	0,096
Signifikanz	0,282	0,684	0,176	0,176	0,033	0,566
$\Delta$ IL5 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,120	0,176	-0,093	-0,093	-0,055	-0,122
Signifikanz	0,392	0,222	0,586	0,586	0,727	0,467

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IL13 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,106	-0,044	-0,112	-0,112	0,028	0,023
Signifikanz	0,464	0,765	0,521	0,521	0,864	0,894
$\Delta$ IL17						
Korrelationskoeffizient	-0,037	0,234	0,278	0,278	0,209	0,098
Signifikanz	0,796	0,106	0,100	0,100	0,183	0,562

## Atopische Patientinnen und Patienten

Tabelle 54: Patientencharakteristika und Therapie atopischer Patienten bei Studieneinschluss (V0)

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
Anzahl der Probanden (n)	82			
Männlich	31 (37,8)			
weiblich	51 (62,2)			
Alter (Jahre)	82 (100)	47 $\pm$ 14	48 (42/56)	19/74
Größe (cm)	82 (100)	169 $\pm$ 9	168 (162/176)	152/197

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
Gewicht (kg)	82 (100)	77 $\pm$ 17	75 (75/66/86)	48/138
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	82 (100)	26,9 $\pm$ 5,7	25,8 (22,9/29,4)	18,4/49,5
ICS	66 (80,5)			
LABA	49 (59,8)			
SABA	70 (85,4)			
LAMA	7 (8,5)			
OCS	14 (17,0)			
sonstige	29 (35,4)			

Tabelle 55: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter bei Studienbeginn (V0)

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
NO (ppb)	82 (100)	30,1 $\pm$ 23,4	23,3 (15,5/34,0)	5,0/155,5
FEV <sub>1</sub> (l)	82 (100)	2,6 $\pm$ 0,9	2,6 (1,9/3,1)	0,8/5,17
FEV <sub>1</sub> (% v. Soll)	82 (100)	83,5 $\pm$ 21,3	90,0 (71,0/97,0)	26,0/125,0
Bluteosinophile (/nl)	82 (100)	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 ( 0,1/0,3)	0,0/2,1
Sputumeosinophile (%)	32 (39,0)	3,4 $\pm$ 9,2	0,0 (0,0/1,7)	0,0/40,5

Merkmal	Anzahl n (%)	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
Ges. IgE (kU/l)	81 (98,8)	403,0 $\pm$ 908,8	182,0 (66,0/298,0)	2,07/5000,0
PC20	60 (73,2)	3,9 $\pm$ 5,4	1,1 (0,4/6,3)	0,0/16,0
ACQ-5	81 (98,8)	1,6 $\pm$ 1,1	1,4 (0,6/2,2)	0,0/4,8

**Tabelle 56: Zytokinprofil der gesamten, CD3-positiven Zellen (T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
IFN (%)	27,2 $\pm$ 15,6	25,6 (14,5/35,2)	4,6/73,6
IL-10 (%)	2,1 $\pm$ 1,4	1,8 (1,1/2,7)	0,4/9,7
IL-4 (%)	4,1 $\pm$ 3,1	3,3 (2,3/4,8)	0,4/11,8
IL-5 (%)	1,2 $\pm$ 1,4	0,9 (0,4/1,3)	0,0/10,6
IL-13 (%)	3,1 $\pm$ 3,1	2,3 (1,3/3,7)	0,2/18,5
IL-17 (%)	1,7 $\pm$ 1,5	1,8 (0,9/2,1)	0,0/8,7
FoxP3 (%)	8,3 $\pm$ 4,5	7,8 (4,8/11,8)	0,0/25,8

**Tabelle 57: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen (zytotoxischen T-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
IFN (%)	16,7 $\pm$ 11,2	14,7 (8,7/22,8)	0,5/64,5
IL-10 (%)	0,5 $\pm$ 0,9	0,3 (0,2/0,5)	0,0/7,4
IL-4 (%)	1,2 $\pm$ 1,4	0,8 (0,4/1,4)	0,1/8,0
IL-5 (%)	0,6 $\pm$ 1,0	0,3 (0,1/0,6)	0,0/7,6
IL-13 (%)	1,1 $\pm$ 2,0	0,6 (0,3/1,0)	0,1/14,1
IL-17 (%)	0,4 $\pm$ 1,0	0,1 (0,1/0,3)	0,0/6,7

**Tabelle 58: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen (Th-Zellen) der atopischen Patienten bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Mittelwert $\pm$ SD	Median (Q1/Q3)	Min./Max.
IFN (%)	10,7 $\pm$ 6,8	9,5 (6,5/14,1)	1,5/38,3
IL-10 (%)	0,5 $\pm$ 0,9	1,4 (0,8/2,2)	0,2/5,1
IL-4 (%)	3,0 $\pm$ 2,2	2,5 (1,7/3,5)	0,4/12,5
IL-5 (%)	0,6 $\pm$ 0,5	0,5 (0,3/0,8)	0,0/3,0
IL-13 (%)	2,0 $\pm$ 1,6	1,6 (0,8/2,8)	0,2/7,3
IL-17 (%)	1,3 $\pm$ 0,8	1,1 (0,8/1,8)	0,0/3,6

**Tabelle 59: Patientencharakteristika und Therapiestatus der Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma bei Studienbeginn (V0)**

Merkmale	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Anzahl n (%)	25	25	31
Geschlecht (m/w)			
ICS n (%)	13	21	31
LABA n (%)	10	13	25
SABA n (%)	18	21	30
LAMA n (%)	0	2	5
OCS n (%)	1	1	12
Sonstige	6	3	19
Alter Median (Q1/Q3)	47(41/51)	46 (29/62)	49 (43/56)
Min./Max. (Jahre)	19/61	20/74	19/74
Größe Median (Q 1/ Q3)	168 (163 /180)	170 (165/177)	164 (160/170)
Min./Max. (cm)	160/188	152/197	155/186
Gewicht Median (Q1/Q3)	73 (65/84)	75 (70/87)	77 (68/86)
Min./Max. (kg)	48/138	52/107	55/130
BMI Median (Q1/Q3)	23,9 (22,2/28,2)	26,6 (22,7/28,1)	26,1 (23,5/31,2)
Min./Max. (kg/m <sup>2</sup> )	18,8/39,3	18,4/38,0	20,5/49,5

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Dauer des Asthmas Median (Q1/Q3)	12 (6/27)	13 (9/32)	22 (10/38)
Min./Max. (Jahre)	3/49	0/70	2/55

**Tabelle 60: Untersuchungsergebnisse der atopischen Patienten mit kontrolliertem, teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
NO Median (Q1/Q3)	20,5 (15,5/32,5)	23,0 (14,0/31,5)	26,0 (16,5/48,5)
Min./Max. (ppb)	7,5/68,0	5,0/78,0	8,0/155,5
PC20 Median (Q1/Q3)	1,9 (0,5/4,5)	0,9 (0,4/8,1)	0,7 (0,4/2,8)
Min./Max. (mg/ml)	0,0/16,0	0,2/16,0	0,1/16,0
FEV1 Median (Q1/Q3)	2,9 (2,7/3,8)	2,8 (2,2/3,2)	1,9 (1,3/2,6)
Min./Max. (l)	1,8/5,2	1,6/4,8	0,8/4,7
FEV1 Median (Q1/Q3)	95,0 (90,0 /104,0)	90,0 (77,0/97,0)	71,0 ( 53,0/93,0)
Min./Max. (%)	67,0/116,0	55,0/119,0	26,0/125,0
Sputum Eosinophile Median (Q1/Q3)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,6)	0,0 (0,0/6,2)
Min./Max. (%)	0,0/2,8	0,0/34,6	0,0/40,5
Eosinophile im Blut Median (Q1/Q3)	0,2 (0,1/0,3)	0,2 (0,1/0,2)	0,2 (0,1/0,4)
Min./Max. (/nl)	0,0/0,8	0,1/0,8	0,2/4,8



Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3)	3,5 (2,8/4,4)	4,1 (3,0/5,3)	5,3 ( 3,8/6,8)
Min./Max. (/nl)	1,9/7,7	2,2/9,3	2,0/11,8
IgE Median (Q1/Q3)	99,6 (57,9/293)	121,0 (70,7/268,0)	231,5 (71,8/335,0)
Min./Max. (kU/l)	2,1/5000,0	4,7/767,0	24,4/4080,0
ACQ 5 Median (Q1/Q3)	0,8 (0,4/1,2)	1,0 (0,6/2,0)	2,5 (1,6/3,0)
Min./Max.	0,3/4,1	0,0/3,3	0,2/4,8

**Tabelle 61: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen der atopischen Patienten getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3)	24,9 (15,2/33,6)	20,6 (9,9/34,5)	30,3 (17,2/39,0)
Min. /Max. (%)	8,8/47,0	6,5/73,6	4,6/65,2
IL10 Median (Q1/Q3)	1,6 (1,2/2,3)	1,8 (1,1/2,6)	1,9 (1,0/2,8)
Min./Max. (%)	0,5/4,6	0,4/3,3	0,5/9,7
IL4 Median (Q1/Q3)	3,8 (2,3/5,3)	3,1 (1,8/4,2)	3,9 (2,4/4,6)
Min./Max. (%)	0,7/7,0	0,4/13,9	1,0/14,9
IL5 Median (Q1/Q3)	0,8 (0,5/1,2)	1,0 (0,5/1,3)	0,9 (0,4/1,2)
Min./Max. (%)	0,3/4,1	0,0/4,2	0,2/10,6

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IL13 Median (Q1/Q3)	2,1 (1,1/4,3)	2,0 (1,4/3,4)	2,5 (1,2/3,7)
Min./Max. (%)	0,3/6,6	0,3/11,4	0,2/18,5
IL17 Median (Q1/Q3)	1,3 (1,0/1,9)	1,2 (0,9/1,8)	1,1 (0,9/2,3)
Min./Max. (%)	0,4/3,8	0,0/7,1	0,5/8,7
FoxP3 Median (Q1/Q3)	7,3 (4,4/10,2)	8,7 (6,1/12,2)	6,5 (4,8/12,6)
Min./Max. (%)	1,7/15,3	1,2/16,3	0,0/25,6

**Tabelle 62: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen der atopischen Patienten getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3)	12,8 (10,0/18,8)	13,0 (6,2/23,3)	17,6 (9,7/22,8)
Min./Max.(%)	4,4/35,3	0,5/64,5	1,7/34,7
IL10 Median (Q1/Q3)	0,3 (0,2/0,3)	0,4 (0,2/0,6)	0,3 (0,2/0,4)
Min./Max.(%)	0,1/1,9	0,0/1,4	0,11/14,1
IL4 Median (Q1/Q3)	0,7 (0,5/1,3)	0,9 (0,4/1,4)	0,8 (0,4/1,5)
Min./Max.(%)	0,1/3,3	0,1/7,1	0,2/8,0
IL5 Median (Q1/Q3)	0,2 (0,1/0,5)	0,4 (0,2/0,7)	0,9 (0,4/1,2)
Min./Max.(%)	0,1/3,3	0,0/2,7	0,2/10,6
IL13 Median (Q1/Q3)	0,3 (0,2/0,8)	0,7 (0,4/1,0)	0,6 (0,2/1,4)
Min./Max.(%)	0,1/4,3	0,1/7,1	0,1/14,1

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IL17 Median (Q1/Q3)	0,1 (0,1/0,2)	0,2 (0,1/0,5)	0,1 (0,1/0,3)
Min./Max. (%)	0,0/1,0	0,0/2,7	0,0/6,7

**Tabelle 63: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen der atopischen Patienten, getrennt nach Asthma-Kontrolle bei Studieneinschluss (V0)**

Merkmal	Kontrolliert	Teilweise kontrolliert	Unkontrolliert
IFN Median (Q1/Q3)	9,7 (6,8/13,2)	7,7 (3,7/13,1)	10,7 (7,2 /15,0)
Min./Max. (%)	1,5/18,5	2,9/23,3	2,8/38,3
IL10 Median (Q1/Q3)	1,1 (0,9/1,9)	1,2 (0,8/1,9)	1,5 (0,8/2,3)
Min./Max. (%)	0,3/3,7	0,3/2,6	0,2/5,1
IL4 Median (Q1/Q3)	2,7 (1,8/4,2)	2,0 (1,3/2,5)	2,7 (2,0/3,8)
Min./Max. (%)	0,5/5,5	0,4/12,5	0,8/12,1
IL5 Median (Q1/Q3)	0,5 (0,3/0,8)	0,5 (0,3/0,8)	0,6 (0,3/0,7)
Min./Max. (%)	0,2/1,2	0,0/1,5	0,1/3,0
IL13 Median (Q1/Q3)	1,7 (0,7/3,0)	1,3 (0,5/2,4)	1,7 (0,8/2,8)
Min./Max. (%)	0,2/4,5	0,3/4,3	0,2/7,3
IL17 (median (Q1/Q2))	1,1 (0,8/1,7)	1,0 (0,7/1,5)	1,1 (0,9/1,9)
Min./Max. (%)	0,3/3,6	0,0/3,0	0,4/3,4

**Tabelle 64: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter atopischer Patienten mit stabiler Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1/Q3) Min./Max. (ppb)	-2,3 (-9,8/4,8) -38,0/54,5	0,272	0,7	0,9	0,9
PC20 Median (Q1/Q3) Min./Max. (mg/ml)	0,1 (-0,1/1,9) -6,1/15,5	0,164	0,7	0,6	0,8
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (l)	0,0 (-0,1/0,2) -0,9/0,8	0,341	0,9	0,9	0,9
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (% vom Soll)	1,5 (-3,5/7,0) -32,0/23,0	0,153	0,9	0,9	0,9
Sputum Eosinophile Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 ( 0,0/1,3) -40,5/17,9	0,289	0,4	-0,4	0,0
Eosinophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (-0,1/0,1) -0,4/0,6	0,066	0,7	0,9	0,9
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (-0,9/0,5) -6,1/10,3	0,560	0,6	0,6	0,8

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IgE Median (Q1/Q3) Min./Max. (kU/l)	-2,1 (27,5/38,4) -5000,0/668,0	0,401	0,9	0,9	0,9
ACQ5 Median (Q1/Q3) Min./Max.	0,0 (-0,4/0,6) -2,2/2,4	1,000	0,8	0,8	0,9

**Tabelle 65: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter atopischer Patienten mit schlechterer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1/Q3) Min./Max. (ppb)	-2,0 (-9,3/11,0) -11,0/20,5	1,000	0,2	0,1	0,2
PC20 Median (Q1/Q3) Min./Max. (mg/ml)	-0,25 (-0,4/-0,1) -1,5/15,0	0,688	0,3	0,6	0,7
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (l)	-0,3 (-0,5/-0,2) -0,5/0,1	0,180	0,9	0,9	0,9
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (% vom Soll)	-11,0 (-14,0/-7,0) -19,0/3,0	0,180	0,7	0,7	0,9
Sputum Eosinophile Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-3,9/1,1) -7,8/2,2	1,000	0,3	-0,1	-0,2
Eosinophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (0,0/0,1) -0,3/0,2	1,000	0,4	0,4	0,6
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	-0,2 (-1,3/ 1,0) -1,6/2,4	0,453	0,5	0,6	0,7

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IgE Median (Q1/Q3) Min./Max. (kU/l)	-12,0 (-144,0/30,0) -325,0/450,0	0,727	0,5	0,5	0,7
ACQ 5 Median (Q1/Q3) Min./Max.	0,0 (0,0/0,2) -1,2/1,4	0,688	0,7	0,7	0,8

**Tabelle 66: Untersuchungsergebnisse der klinischen Parameter der atopischen Patienten mit besserer Asthma-Kontrolle nach sechs Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
NO Median (Q1/Q3) Min./Max. (ppb)	-3,8 (14,0/1,5) -32,5/8,0	0,180	0,5	0,4	0,6
PC20 Median (Q1/Q3) Min./Max. (mg/ml)	-0,2 (-0,1/1,7) -13,8/5,4	0,508	0,7	0,7	0,8
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (l)	0,0 (-0,1/0,2) -0,3/0,5	1,000	0,9	0,9	0,9
FEV1 Median (Q1/Q3) Min./Max. (% vom Soll)	1,0 (-3,0/7,0) -9,0/12,0	1,000	0,9	0,9	0,9

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
Sputum Eosinophile Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-6,8 (-32,1/0,0) -32,1/0,0	0,500	0,9	0,2	0,3
Eosinophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	0,0 (-0,1/0,1) -0,3/0,2	0,774	0,7	0,8	0,9
Neutrophile im Blut Median (Q1/Q3) Min./Max. (/nl)	-0,3 (-1,9/0,1) -5,9/3,6	0,065	0,3	0,4	0,5
IgE Median (Q1/Q3) Min./Max. (kU/l)	-3,9 (-63,0/44,0) .97,0/1091,0	1,000	0,8	0,3	0,5
ACQ 5 Median (Q1/Q3) Min./Max.	-0,20 (-0,8/0,2) -2,7/0,4	0,791	0,6	0,4	0,5



**Tabelle 67: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen atopischer Patienten bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	4,68 (-2,2/11,5) -25,1/32,6	0,017	0,6	0,6	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,8/0,6) -6,8/6,5	1,000	0,5	0,3	0,5
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,5 (-0,6/1,8) -10,2/4,6	0,371	0,6	0,6	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,5/0,4) -8,5/3,8	1,000	0,4	0,2	0,4
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-1,0/0,8) -11,2/4,3	0,880	0,3	0,4	0,5
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,4/0,6) -7,3/5,0	1,000	0,3	0,1	0,2
FoxP3 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-1,6/4,2) -12,0/9,6	0,451	0,6	0,6	0,7

**Tabelle 68: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen atopischer Patienten bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-4,7 (-8,5/0,8) -20,6/-0,7	0,031	0,8	0,9	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,5 (-0,6/1,5) -1,1/2,5	0,727	0,3	0,5	0,6
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-1,6/3,2) -3,9/4,3	1,000	0,3	0,6	0,8
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,4/0,3) -0,7/5,5	0,289	0,6	0,4	0,5
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,9 (-0,4/4,9) -3,7/8,6	0,727	-0,2	0,0	-0,1
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,3/0,8) -1,6/4,0	0,727	0,0	-0,2	-0,5
FoxP3 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-3,0/3,7) -8,9/6,0	1,000	0,2	0,0	0,1

**Tabelle 69: Zytokinprofil der CD3-positiven Zellen atopischer Patienten bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	9,2 (-0,7/16,9) -10,1/20,8	0,344	0,9	0,8	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,9/0,7) -1,5/1,8	0,754	0,6	0,7	0,8
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,5 (-0,2/2,1) -1,1/4,0	0,227	0,6	0,9	0,9
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,1/0,5) -0,7/1,0	0,227	0,3	0,2	0,4
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,7/0,8) -1,2/2,9	1,000	0,6	0,9	0,9
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,4 (-0,7/0,9) -5,9/2,9	0,549	0,2	0,1	0,1
FoxP3 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-1,0 (-2,4/-0,5) -5,0/4,6	0,180	0,5	0,6	0,7

**Tabelle :** Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen atopischer Patienten bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	2,3 (-2,2/8,3) -2,4/23,7	0,097	0,4	0,6	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -7,1/2,3	0,461	0,2	0,0	0,0
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,3/0,5) 6,9/2,4	0,233	0,5	0,5	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,0 (-0,2/0,2) -7,1/1,9	0,770	0,4	0,1	0,2
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,2) -4,2/1,4	0,880	0,4	0,3	0,4
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,1/0,1) -6,6/3,5	0,542	0,3	0,1	0,2

**Tabelle 70: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen atopischer Patienten bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-4,3 (-5,3/-0,9) -11,2/-0,8	0,031	0,8	0,9	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,1/0,4) -0,5/0,9	1,000	0,5	0,6	0,8
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,3/0,7) -0,4/3,1	0,727	0,7	0,3	0,4
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,3/0,1) -0,5/4,4	0,289	0,6	0,2	0,4
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,2/0,0) -0,2/5,1	0,727	0,4	0,2	0,3
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -4,1/0,6	1,000	0,3	0,1	0,2

**Tabelle 71: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-negativen Zellen atopischer Patienten bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	6,9 (-0,5/9,5) -6,3/15,4	0,344	0,7	0,7	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,4) -0,5/0,7	1,000	-0,2	-0,2	-0,5
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (0,0/0,4) -0,4/0,7	0,227	0,6	0,9	0,9
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -4,1/0,6	0,549	0,0	0,1	0,2
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,3/0,2) -0,5/0,3	1,000	0,8	0,8	0,9
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,2/0,1) -4,1/0,6	1,000	0,3	0,0	0,1

**Tabelle 72: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen atopischer Patienten bei stabiler Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	1,8 (-0,6/4,9) -11,1/14,1	0,050	0,6	0,7	0,8
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,4/0,6) -2,0/3,8	0,381	0,6	0,6	0,7
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,3/0,9) -6,7/3,9	0,233	0,6	0,6	0,7
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,3/0,2) -1,4/2,0	1,000	0,4	0,4	0,5
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,0 (-0,4/0,8) -4,2/3,1	0,766	0,4	0,5	0,7
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,2 (-0,4/0,6) -2,0/4,0	0,766	0,4	0,3	0,4

**Tabelle 73: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen atopischer Patienten bei schlechterer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-1,6 (-3,4/0,5) -9,4/2,8	0,688	0,8	0,8	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,3/1,1) -1,0/2,4	1,000	0,4	0,3	0,5
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,2 (-1,5/1,9) -3,6/2,7	0,727	0,5	0,8	0,9
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	-0,1 (-0,2/0,2) -0,3/1,1	0,727	0,9	0,7	0,8
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,8 (-0,3/2,3) -3,5/5,2	0,727	0,1	0,1	0,2
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,1/0,6) -1,7/1,8	0,289	-0,2	-0,2	-0,6



**Tabelle 74: Zytokinprofil der CD3-positiven / CD4-positiven Zellen atopischer Patienten bei besserer Asthma-Kontrolle nach 6 Monaten**

Merkmal	Intra-individuelle Differenz	Vorzeichen-test P-Werte	Korrelations-koeffizient	Interklassen-koeffizient	Cronbachs $\alpha$
IFN $\gamma$ Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	3,5 (-1,7/6,2) -5,4/10,7	0,344	0,6	0,9	0,9
IL10 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,1 (-0,5/0,5) -1,9/1,7	0,227	0,7	0,7	0,8
IL4 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,4 (-0,2/1,6) -1,1/3,6	0,549	0,4	0,9	0,9
IL5 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (0,1/0,3) -0,4/0,4	0,065	0,6	0,6	0,8
IL13 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,2 (-0,4/0,6 ) -0,8/2,7	0,754	0,8	0,9	0,9
IL17 Median (Q1/Q3) Min./Max. (%)	0,3 (-0,3/0,9) -1,8/2,3	0,549	0,4	0,4	0,5

**Tabelle 75: Nichtparametrische Korrelation zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und den Differenzen der klinischen Untersuchungsergebnisse atopischer Patienten zwischen V0 und V2**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ NO (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,274	-0,170	-0,216	-0,101	-0,398	0,006
Signifikanz	0,076	0,300	0,301	0,601	0,016	0,972
$\Delta$ PC20 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	0,134	0,018	0,323	0,148	0,053	-0,171
Signifikanz	0,531	0,940	0,363	0,628	0,818	0,542
$\Delta$ FEV1 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,016	0,149	0,133	0,495	0,487	0,241
Signifikanz	0,264	0,366	0,527	0,007	0,004	0,191
$\Delta$ FEV1 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,070	0,126	0,137	0,278	0,239	0,228
Signifikanz	0,658	0,444	0,514	0,144	0,161	0,216

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ Sputum-eosinophile (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	0,372	-0,162	-0,539	0,009	-0,351	-0,654
Signifikanz	0,234	0,616	0,270	0,982	0,240	0,040
$\Delta$ Eosinophile						
Korrelationskoeffizient	-0,079	-0,211	0,027	-0,084	-0,037	0,047
Signifikanz	0,635	0,209	0,902	0,670	0,839	0,807
$\Delta$ Neutrophile						
Korrelationskoeffizient	-0,005	-0,002	-0,112	-0,031	-0,121	-0,007
Signifikanz	0,974	0,992	0,621	0,879	0,518	0,972
$\Delta$ IgE						
Korrelationskoeffizient	0,074	0,136	0,147	0,188	-0,051	0,173
Signifikanz	0,644	0,423	0,494	0,339	0,771	0,371

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ ACQ 5						
Korrelationskoeffizient	-0,259	-0,503	-0,256	-0,156	0,346	0,096
Signifikanz	0,102	0,001	0,228	0,436	0,045	0,615

**Tabelle 76: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnisse der CD3-positiven Lymphozyten atopischer Patienten**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IFN (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,075	-0,107	0,519	-0,030	0,324	0,436
Signifikanz	0,677	0,590	0,027	0,896	0,099	0,033
$\Delta$ IL10 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,173	0,109	0,105	-0,010	0,327	-0,061
Signifikanz	0,313	0,552	0,650	0,965	0,083	0,762

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IL4 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,189	-0,061	-0,048	-0,039	0,501	0,188
Signifikanz	0,278	0,745	0,840	0,863	0,006	0,348
$\Delta$ IL5 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,002	0,134	0,354	-0,028	0,050	0,084
Signifikanz	0,989	0,473	0,125	0,902	0,796	0,677
$\Delta$ IL13 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,118	0,037	0,182	-0,224	0,148	-0,131
Signifikanz	0,520	0,847	0,469	0,343	0,472	0,532
$\Delta$ IL17						
Korrelationskoeffizient	0,123	0,350	0,249	0,391	0,045	0,230
Signifikanz	0,487	0,058	0,303	0,080	0,822	0,259

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ FOXP3						
Korrelationskoeffizient	-0,007	-0,199	-0,098	0,127	0,067	-0,029
Signifikanz	0,968	0,302	0,689	0,565	0,744	0,886

**Tabelle 77: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-negativen Lymphozyten atopischer Patienten**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IFN (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,086	-0,091	0,566	-0,033	0,288	0,337
Signifikanz	0,641	0,653	0,018	0,884	0,145	0,108
$\Delta$ IL10 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,156	0,055	0,164	-0,010	0,332	0,047
Signifikanz	0,369	0,767	0,490	0,965	0,079	0,815

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IL4 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,216	-0,073	-0,033	-0,104	0,390	0,239
Signifikanz	0,212	0,696	0,891	0,646	0,036	0,230
$\Delta$ IL5 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,046	0,229	0,279	-0,076	0,206	0,274
Signifikanz	0,792	0,215	0,234	0,738	0,283	0,167
$\Delta$ IL13 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,082	0,192	-0,003	-0,272	0,094	0,309
Signifikanz	0,672	0,347	0,963	0,292	0,655	0,172
$\Delta$ IL17						
Korrelationskoeffizient	0,161	0,184	0,684	-0,122	-0,009	0,093
Signifikanz	0,379	0,349	0,003	0,619	0,965	0,672

**Tabelle 78: Korrelationen zwischen den einzelnen GINA-Kriterien und der Differenz der zellbiologischen Untersuchungsergebnissen der CD3-positiven / CD4-positiven Lymphozyten atopischer Patienten**

Merkmal	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IFN (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	0,105	-0,104	0,141	0,009	0,295	0,436
Signifikanz	0,566	0,605	0,588	0,970	0,135	0,033
$\Delta$ IL10 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,050	0,047	-0,097	0,176	0,260	-0,016
Signifikanz	0,774	0,745	0,684	0,432	0,172	0,936
$\Delta$ IL4 absolut (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,108	0,008	-0,107	0,073	0,590	0,186
Signifikanz	0,536	0,967	0,652	0,748	0,001	0,352
$\Delta$ IL5 relativ (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,051	0,088	0,339	-0,033	-0,051	-0,098
Signifikanz	0,771	0,636	0,144	0,885	0,794	0,627



Merkmalsname	Symptome am Tag	Einschränkung im Alltag	Nächtliche Symptome	Gebrauch von Notfallmedikation	FEV1 <80%	Exazerbationen
$\Delta$ IL13 (V2-V0)						
Korrelationskoeffizient	-0,100	-0,042	0,151	-0,111	0,102	-0,095
Signifikanz	0,585	0,827	0,549	0,643	0,619	0,653
$\Delta$ IL17						
Korrelationskoeffizient	0,117	0,378	0,249	0,485	0,170	0,289
Signifikanz	0,510	0,039	0,303	0,026	0,388	0,153

