

Aus der Medizinischen Klinik des Forschungszentrums Borstel
Leibnizzentrum für Medizin und Biowissenschaften
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. P. Zabel

**Der Einfluss von Montelukast und Ramatroban auf die allergische
Frühreaktion bei leicht- bis mittelgradigem allergischen
Asthma bronchiale mit Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilben**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Medizinischen Fakultät-

Vorgelegt von
Stefanie Heinemann
aus Kassel

Lübeck 2007

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Peter Zabel

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Dr. med. Jürgen Kreusch

Tag der mündlichen Prüfung: 10.06.2008

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 10.06.2008

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

1	Einleitung und Fragestellung	5
1.1	Asthmaformen	6
1.2	Pathogenese des allergischen Asthmas	7
1.3	Diagnostik	9
1.3.1	Spezifische inhalative Provokation	10
1.4	Schweregradeinteilung	11
1.5	Therapie des Asthma bronchiale	13
1.5.1	Entwicklung der Asthmatherapie und Ausblick	14
1.6	Asthmamodelle	15
1.6.1	Ovalbuminmodell	15
1.6.2	Lungenschnitte Ratte	15
1.6.3	Humane Lungenschnitte	16
1.7	Lipidmediatoren	17
1.7.1	Leukotriene	17
1.7.1.1	Synthese	17
1.7.1.2	Effekte	18
1.7.1.3	Rezeptoren	19
1.7.2	Thromboxan A ₂	19
1.7.2.1	Synthese	20
1.7.2.2	Effekte	20
1.7.2.3	Rezeptoren	20
1.7.3	Prostaglandin D ₂	21
1.7.3.1	Synthese	22
1.7.3.2	Effekte	22
1.7.3.3	Rezeptoren	22
1.8	Prüfsubstanzen	23
1.8.1	CysLT1-Rezeptor Antagonist Montelukast/ Singulair®	23
1.8.1.1	Pharmakodynamische Eigenschaften	23
1.8.1.2	Klinische Effekte	23
1.8.1.3	Pharmakokinetische Eigenschaften	25
1.8.1.4	Nebenwirkungsprofil	25
1.8.2	TXA ₂ /CRTH2-Rezeptor Antagonist Ramatroban/ Baynas®	26
1.8.2.1	Anwendungsgebiete und Art der Anwendung	26
1.8.2.2	Tierexperimentelle und klinische Effekte	26
1.8.2.3	Pharmakokinetische Eigenschaften	27
1.8.2.4	Nebenwirkungsprofil	27
1.9	Fragestellung	28
2	Material, Methoden und Probanden	29
2.1	Studiendesign	29
2.2	Studienplanung und Durchführung	29
2.3	Einschlusskriterien	30
2.4	Ausschlusskriterien	30
2.5	Abbruchkriterien	31
2.6	Probanden	31
2.6.1	Monotherapiegruppe	31
2.6.2	Kombinationstherapiegruppe	32
2.7	Zielparameter	33
2.7.1	PD ₂₀ FEV ₁	33
2.7.2	FEV ₁ (forced expiratory volume in one second)	33
2.7.3	RAW (Resistance)	33

2.8	Randomisierung	34
2.9	Allergologische Diagnostik	34
2.10	Prüfsubstanzen	34
2.10.1	Montelukast	34
2.10.2	Ramatroban	35
2.10.3	Placebo	35
2.11	Zeitlicher Ablauf	36
2.12	Lungenfunktionelle Messungen	38
2.12.1	Bodyplethysmographie	38
2.12.2	Peak-Flow-Messungen	38
2.12.3	Spezifische bronchiale Provokation	39
2.13	Serologische Untersuchungen	39
2.13.1	Blutentnahme	39
2.13.2	Thromboxan B ₂ - Spiegel Bestimmung im Serum	40
2.13.3	Leukotrien C ₄ und Leukotrien E ₄ - Spiegel Bestimmung im Serum	40
2.14	Statistische Auswertung	40
3	Ergebnisse	42
3.1	Vergleichbarkeit der Kollektive	42
3.1.1	PD ₂₀ FEV ₁ native Provokation	42
3.1.2	FEV ₁ native Provokation	42
3.1.3	RAW native Provokation	43
3.1.4	Peak-Flow-Protokoll	44
3.1.5	Sensibilisierung	45
3.2	Vergleichbarkeit der Provokationen	46
3.2.1	FEV ₁	46
3.2.2	RAW	47
3.2.3	Peakflow	48
3.3	Einfluss der Therapie auf die PD₂₀FEV₁	49
3.3.1	Monotherapiegruppe	49
3.3.2	Kombinationstherapiegruppe	49
3.3.3	Vergleich der beiden Therapiegruppen	50
3.4	Thromboxan B₂-Serum-Spiegel	53
3.5	Leukotrien C₄-Serum-Spiegel	54
3.6	Leukotrien E₄-Serum-Spiegel	55
4	Ergebnisdiskussion	56
4.1	Methodenkritik	56
4.1.1	Vergleichbarkeit der Kollektive	57
4.1.2	Vergleichbarkeit der beiden Provokationen	58
4.2	Medikamente	58
4.3	Der Effekt von Montelukast auf die allergische Frühreaktion	59
4.4	Der Einfluss von Montelukast auf die basale FEV₁	60
4.5	Der Effekt von Montelukast und Ramatroban auf die allergische Frühreaktion	61
4.6	Hat Ramatroban einen additiven Effekt zu Montelukast?	63
4.7	Lipidmediatoren- Spiegel im Serum	64
4.8	Ausblick	66
5	Zusammenfassung	68

6	Literaturverzeichnis	69
7	Anhang	86
7.1.1	Monotherapiegruppe	86
7.1.2	Kombinationstherapiegruppe	88
7.1.3	Ethikkommission	88
8	Danksagung	89
9	Lebenslauf	90

Abkürzungsverzeichnis

BIB	belastungsinduzierte Bronchokonstriktion
BAL	bronchoalveoläre Lavage
CRTH2	chemoattractant receptor expressed on T-helpercells
CVA	cough variant asthma
CysLT1/2	Cysteinylleukotrien 1/2
ECP	eosinophile kationische Proteine
eNO	exhalierendes NO
FEV ₁	forcierte expiratorische Einsekundenkapazität
FLAP	5-Lipoxygenase aktivierendes Protein
GINA	Global Initiative for Asthma
HWZ	Halbwertszeit
IAR	immediate allergic reaction
ICS	inhalative corticosteroid
IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin
LABA	long-acting β 2-agonist
LAR	late allergic reaction
LTC ₄ ,D ₄ ,E ₄	Leukotrien C ₄ , D ₄ , E ₄
LTRA	Leukotrienrezeptorantagonist
MBP	major basic protein
PCLS	precision cut lung slices
PEF	peak expiratory flow
PD ₂₀ FEV ₁	Provokationsdosis die einen 20% Fall der FEV ₁ bewirkt
PGH	Prostaglandin H ₂
PGD ₂	Prostaglandin D ₂
RAMONA	R amatroban, M ontelukast, A sthma
RAW	Atemwegswiderstand (airway resistance)
TH ₁ /TH ₂	T-Helferzellen 1/2
TP	Thromboxanrezeptor
TXRA	Thromboxanrezeptorantagonist
TXA ₂	Thromboxan A ₂
VK	Vitalkapazität
WHO	World Health Organisation

1 Einleitung und Fragestellung

Asthma bronchiale ist eine seit Alters her bekannte Krankheit. Asthma-artige Symptome sind in der Geschichte zum ersten Mal beschrieben in dem Ebers Papyrus, datiert auf 1568 v.Chr.. Homer erwähnt in seinem Epos "Ilias" bereits das Wort „Asthma“, das dort allerdings keine Krankheit, sondern das „Keuchen“, das jeder Mensch unter starker körperlicher Belastung kennt, bezeichnet. Der Begriff „Asthma“, als Bezeichnung einer Krankheit, findet sich zum ersten Mal bei Hippokrates von Kos (460-377 v.Chr.). Es stammt wahrscheinlich von dem griechischen „asthmaíno“ und bedeutet sinngemäß „schweres Atmen“. Bereits im Altertum waren verschiedene inhalative Behandlungsmethoden des Asthmas bekannt, unter anderem wurde Weihrauch zur Behandlung eingesetzt. Im 17ten und 18ten Jahrhundert führten Ärzte das Asthma auf eine Konstriktion der Bronchien zurück und gaben ihm den Namen „Asthma bronchiale“. Seit den 1960er Jahren weiß man, dass Asthma eine entzündliche Erkrankung der Atemwege ist.

Heute wird Asthma als Erkrankung, die durch das Zusammenspiel von genetischen Faktoren, Umwelteinflüssen und allergischer Diathese in eine Entzündung der Atemwege mündet, definiert (151). Die Atopie in der Kindheit gilt als stärkster Prädispositionsfaktor, doch nicht alle Asthmatiker sind auch Atopiker (126). Klinisch geht Asthma mit anfallsartiger Atemnot und/oder Husten, Brustenge und Giemen einher. Besonders nachts und am frühen Morgen, bei Infekten, Exposition mit Allergenen oder Irritantien, nach Anstrengung, bei psychischer Belastung und nach viralen Infekten treten die Symptome auf.

Die weltweite Prävalenz von Asthma wird auf circa 300 Millionen Menschen geschätzt (110). Dabei ist die Prävalenz in Industriestaaten wesentlich höher als in Entwicklungsländern. Bei Kindern in Industriestaaten ist Asthma die häufigste chronische Erkrankung (28). Nachdem die Prävalenz in den letzten Jahren häufig als steigend angegeben wurde, scheint sie laut neuesten Studien ein Plateau erreicht zu haben (9;179). Charakteristisch für alle Asthmaformen ist eine chronische Entzündung der Bronchialschleimhaut, bronchiale Hyperreagibilität, rezidivierende, reversible Atemwegsobstruktionen und ein struktureller Umbau der Atemwege („Remodelling“) (28). Unter bronchialer Hyperreagibilität versteht man eine Überempfindlichkeit der Atemwege gegenüber einer Vielzahl von Irritantien. Diese Überempfindlichkeit der Atemwege äußert sich durch eine Limitierung des Atemflusses durch

- (1) Spasmus der glatten Bronchialmuskulatur,
- (2) Hyperämie und Ödem der Bronchialschleimhaut und
- (3) vermehrte Produktion eines hochviskösen Schleimes.

Diese Symptome werden klassischerweise als „Asthmatische Trias“ beschrieben. Die so verursachte Atemwegsobstruktion ist entweder spontan oder durch medikamentöse Therapie (Bronchospasmodolyse) reversibel.

Besonders in den letzten Jahren wurden tiefe Einblicke in die Pathophysiologie des Asthmas gewonnen. Die genauen Pathomechanismen sind allerdings immer noch unklar und Gegenstand der aktuellen Forschung (69).

1.1 Asthmaformen

Man unterteilt das Asthma bronchiale in extrinsisches (atopisches oder exogen-allergisches) und intrinsisches (nicht allergen-assoziiertes, endogenes) Asthma. Auch Mischformen kommen vor (1).

Das extrinsische Asthma gehört zur Gruppe der Allergie-assoziierten Erkrankungen und beruht auf einer Überempfindlichkeitsreaktion der Atemwege auf diverse Umweltallergene. Es manifestiert sich meistens im Kindes- oder frühen Jugendalter und tritt bei familiärer Vorbelastung gehäuft auf. Zu Grunde liegt dem extrinsischen Asthma eine allergische Typ- I Reaktion nach Coombs und Gell (61), die zu rezidivierenden Episoden von Atemwegsobstruktion bei Kontakt mit den entsprechenden Umweltallergenen führt. Dabei kann nochmals unterschieden werden, ob die Beschwerden ganzjährig, perennial, oder nur zu bestimmten Jahreszeiten, saisonal, auftreten.

Das intrinsische Asthma tritt bevorzugt im höheren Lebensalter auf, gehäuft nach respiratorischen Infekten. Direkte Auslösefaktoren können jedoch nicht benannt werden. Eine Untergruppe des intrinsischen Asthmas ist das Analgetika-induzierte Asthma, welches 1968 von Samter erstmals beschrieben wurde (149). Dabei kommt es durch Hemmung des Cyclooxygenasewegs im Arachidonsäurestoffwechsel zu einem Ungleichgewicht zugunsten des Lipoxygenaseswegs. Dies hat zur Folge, dass vermehrt Leukotriene synthetisiert werden, die asthmatische Beschwerden verursachen können (52). 10-11% aller Asthmatiker entwickeln durch Aspirin/NSAIDs getriggert asthmatische Beschwerden, sowie 2,5% der Nicht-Asthmatiker (171).

Eine weitere Form des Asthmas ist die Belastungsinduzierte Bronchokonstriktion (BIB), die besonders durch Inhalation kalter Umgebungsluft hervorgerufen wird.

Die Prävalenz der BIB wird von verschiedenen Autoren auf 7-20% in der Gesamtbevölkerung geschätzt (96;125;156). Unter Asthmatikern liegt die Prävalenz bei

80% (112). Es konnte gezeigt werden, dass die Spiegel von verschiedenen bronchokonstriktiven und proinflammatorischen Mediatoren, wie LTC₄ und LTD₄ (144) und Histamin (72) bei Belastungsinduziertem Asthma erhöht sind.

Eine weitere Asthmaform ist das cough-variant asthma (CVA), bei der Husten das einzige klinische Symptom ist (111).

1.2 Pathogenese des allergischen Asthmas

Warum nur bestimmte Personen Allergien gegenüber ubiquitären Umweltallergenen entwickeln, ist nicht eindeutig geklärt. Eine Schlüsselrolle scheinen dabei die T-Helfer-Lymphozyten einzunehmen. Aus einer naiven CD4⁺-Zelle können sich CD4⁺-TH1- und CD4⁺-TH2-Lymphozyten entwickeln, die man aufgrund ihres unterschiedlichen Zytokinspektrums unterscheiden kann. CD4⁺-TH1-Lymphozyten produzieren überwiegend IL-12 und IFN- γ , CD4⁺-TH2-Lymphozyten dagegen IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 und IL13. Bei allergischen Erkrankungen überwiegen die CD4⁺-TH2- Lymphozyten, deren Zytokine für die asthmatische Entzündung mitverantwortlich sind. Warum bei Allergikern die CD4⁺-TH2-Lymphozyten dominieren ist bisher nicht eindeutig geklärt. Auch bei einer eosinophilen Bronchitis dominiert die TH2-Antwort, ohne dass bei diesen Personen gleichzeitig ein Asthma auftritt. Wardlaw et al. führten das Entzündungsgeschehen bei Asthmatikern auf eine Mastzellmyositis der glatten Bronchialmuskulatur zurück (176). Eine eindeutige pathophysiologische Erklärung für die Entwicklung von Allergien kann bisher nicht formuliert werden. Sicher scheint, dass sowohl genetische Faktoren als auch Umweltfaktoren eine Rolle in der Ausprägung von Allergien spielen. So wurden Gene identifiziert, denen Einflüsse auf die Entstehung von Allergien zugesprochen werden. Das gehäufte Auftreten von Allergien in entwickelten Ländern versucht man dadurch zu erklären, dass dort weniger Infektionen durchlebt werden, die Umweltverschmutzung höher ist, die Allergenexposition geringer und die Ernährung anders ist als in Entwicklungsländern. Das Durchleben von Infektionen und darüber eine Produktion von Zytokinen, die sowohl TH1- als auch TH2-Antwort durch Bildung von IL-10 und TGF- β unterdrücken, scheint protektiv hinsichtlich der Ausbildung von Allergien zu wirken (83).

Bei Erstkontakt mit dem potentiellen Allergen wird dieses von antigenpräsentierenden Zellen (Alveolarmakrophagen, dendritische Zellen) erkannt und prozessiert und anschließend über MHC-II Moleküle auf deren Oberfläche präsentiert. Native T-Lymphozyten können über ihren T-Zellrezeptor nun daran binden. Durch die Bindung des CD28 bzw. CTLA-4-Rezeptor des T-Lymphozyten an den B7-Ligand der

antigenpräsentierenden Zelle erhält der T-Lymphozyt ein weiteres kostimulatorisches Signal. Dadurch wird der T-Lymphozyt aktiviert und es kommt zur Expression von Zytokinen, Zytokinrezeptoren und Genen, die die weitere Differenzierung von B- und T-Lymphozyten steuern. Aus CD4⁺-Zellen proliferieren beim extrinsischen Asthma überwiegend Th2-Lymphozytenklone, die nun ihrerseits wieder ihre spezifischen Zytokine sezernieren. IL-4 und IL-13, sowie die kostimulatorische Bindung des CD40-Rezeptors der TH2-Lymphozyten an den CD40-Rezeptor von B-Lymphozyten, stimulieren den B-Lymphozyten zum Immunglobulin-Isotopenwechsel zu IgE-produzierenden Plasmazellen. Mastzellen, Basophile Granulozyten und aktivierte Eosinophile Granulozyten binden IgE über den hochaffinen FcεRI Rezeptor. Der weniger potente FcεRII Rezeptor bindet IgE auf Eosinophilen, Makrophagen, Lymphozyten, Monozyten und Thrombozyten. Basophile Granulozyten und Mastzellen, die durch Vernetzung („cross-linking“) ihrer FcεRI durch multivalente Allergene aktiviert werden, können IL-4 und den CD40-Ligand bilden. Somit sind auch sie in der Lage B-Lymphozyten zum Isotopenwechsel zu stimulieren.

Bei erneutem Kontakt mit dem Allergen kommt es über die Vernetzung der hochaffinen FcεRI Rezeptoren auf Mastzellen zur typischen asthmatischen Reaktion mit biphasischem Verlauf (83).

Bei der Frühreaktion handelt es sich immunologisch um eine allergische Typ-I Reaktion, auch Hyperreagibilitätsreaktion genannt. Durch Kreuzvernetzung der FcεRI auf Mastzellen werden diese aktiviert und es kommt zur Ausschüttung verschiedener Mediatoren. Neben Histamin, das aus präformiertem Granula freigesetzt wird, werden zusätzlich verschiedene Lipidmediatoren wie Prostaglandin D₂, Leukotriene, Thromboxane und PAF aus Phospholipiden der Zellmembran neu synthetisiert und sezerniert. Die Ausschüttung dieser Mediatoren führt zur sofortigen Bronchokonstriktion, vermehrten Mukusproduktion, Dilatation und Permeabilitätssteigerung von Blutgefäßen, wodurch es zum Schleimhautödem kommt. Klinisch führt dies unmittelbar nach Allergenkontakt zu anfallsartiger Atemnot, Engegefühl der Brust, Hustenreiz und vermehrter Schleimbildung.

Die Spätreaktion erreicht etwa 8-12 Stunden nach Allergenkontakt ihren Höhepunkt. Die Symptomatik ist der allergischen Frühreaktion ähnlich, hält allerdings länger an und ist in ihrem Ausprägungsgrad nicht mit der Stärke der Symptome der Frühreaktion korreliert. Pathophysiologisch unterscheiden sich Früh- und Spätreaktion grundsätzlich. Bei der Spätreaktion handelt es sich immunologisch um eine allergische Typ-IV Reaktion.

Durch die von den TH₂- Lymphozyten ausgeschütteten Zytokine kommt es zur Akkumulation von Eosinophilen, TH₂-Lymphozyten, Makrophagen und Neutrophilen im Gewebe. Durch die Eosinophilen kommt es zur erneuten Freisetzung von Lipidmediatoren und zur erneuten Atemwegsobstruktion. Zusätzlich wird der bronchoobstruktive Effekt durch die chemotaktische Wirkkomponente der Leukotriene, PAF, Thromboxan A₂ und Prostaglandine auf Eosinophile nochmals potenziert.

Es konnte nachgewiesen werden, dass PGD₂ sowohl in vitro (74;117) als auch in vivo (51;186) Eosinophile anlockt. PGD₂ stimuliert die Eosinophilenmigration durch Bindung an deren CRTH2-Rezeptor. Durch Blockade dieses Rezeptors konnte die Eosinophilenmigration nahezu komplett inhibiert werden (155). Durch die Eosinophilen-Infiltration in die bronchiale Mukosa kommt es langfristig gesehen zum Remodelling. Hierfür verantwortlich sind zytotoxischen Enzyme und nicht-enzymatischen Proteine, unter anderem das eosinophile kationische Protein (ECP) (91) und das „Major Basic Protein“ (MBP) (55;100). Die Zerstörung des Bronchialepithels führt zum Verlust der Schutzbarrierefunktion dieser Zellschicht. Rekurrierende Infekte der oberen Atemwege sind die Folge. Klinisch manifestiert sich dies in einer weiteren irreversiblen Verschlechterung der Lungenfunktion (147;183).

1.3 Diagnostik

Die initiale Diagnostik eines Asthmas beruht in erster Linie auf einer asthmatypischen Anamnese, dem Auskultationsbefund mit Giemen, Brummen und verlängertem Expirium, sowie einer pathologischen Lungenfunktion. Die Lungenfunktion dient zur objektiven Einschätzung der funktionellen Beeinträchtigung.

Bei der Spirometrie wird die Ein-Sekunden-Kapazität (FEV₁) gemessen. Diese zeigt eine Limitierung des Atemflusses an, die direkt vom Atemwegskaliber und den elastischen Eigenschaften des umgebenden Lungengewebes abhängig ist. Die FEV₁ ist der mit der höchsten Evidenz gesicherte Parameter zur Charakterisierung des Asthmas. Da auch andere Erkrankungen zu einer Reduktion der FEV₁ führen können, denen nicht eine Atemwegsobstruktion sondern eine reduzierte inspiratorische Vitalkapazität (VK) zu Grunde liegt, ist der Quotient aus FEV₁ und VK (FEV₁/VK) eine weitere wichtige Kenngröße. Werte $\leq 70\%$ legen den Verdacht auf eine Obstruktion nahe. Die FEV₁-Messung ist von der Mitarbeit des Patienten abhängig, so dass bei mangelnder Kooperation die mitarbeitsunabhängige Messung des Atemwegwiderstandes eingesetzt werden kann. Ein weiterer Test zur Asthmadiagnostik ist der Bronchospasmolyse-Test, der die Reversibilität der Atemwegsobstruktion misst. Dabei sollte sich die FEV₁ entweder

spontan, nach Inhalation eines kurzwirksamen β_2 -Sympathomimetikums oder nach mehrwöchiger Kortikoidtherapie bessern.

Durch den Gebrauch eines Peak-Flow-Meters kann der expiratorische Spitzenfluss vom Patienten selbst gemessen werden. Diurnale Schwankungen können so vom Patienten dokumentiert werden. Schwankungen von mehr als 20% können als diagnostisches Kriterium für Asthma angesehen werden.

Die Überempfindlichkeit der Atemwege gegenüber einer Vielzahl von Irritantien ist ein Charakteristikum des Asthmas. Diese Überempfindlichkeit kann durch eine unspezifische inhalative Provokationstestung mit Metacholin oder Histamin, durch Anstrengung oder Kaltluftinhalation nachgewiesen werden. Der Nachweis einer bronchialen Hyperreagibilität weist eine hohe Sensitivität bezüglich der Asthmad Diagnose bei geringer Spezifität auf (28). Bei allergischem Asthma ist zusätzlich ein intrakutaner Pricktest, sowie die Bestimmung von Gesamt- und spezifischem IgE zum Nachweis relevanter Allergene indiziert. Führt dies nicht zum relevanten Allergen, kann durch eine spezifische inhalative bronchiale Provokation mit Allergenen das relevante Allergen identifiziert werden.

1.3.1 Spezifische inhalative Provokation

Durch die spezifische inhalative Provokation mit dem relevanten bzw. verdächtigen Allergen kann die allergische Reaktion der Atemwege bei Allergenexposition unter Laborbedingungen reproduziert werden. Der Schweregrad der allergeninduzierten Bronchialobstruktion kann dabei lungenfunktionell quantifiziert werden. In 50-73% der Fälle kann man den typischen biphasischen Verlauf der Bronchialobstruktion mit Früh- und Spätreaktion beobachten. Dabei zeigt das Auftreten und die Intensität der Spätreaktion keine Korrelation zur Ausprägung der Sofortreaktion (89). Die spezifische bronchiale Provokation ist im Rahmen der allergologischen Diagnostik eine etablierte Methode zum Nachweis der kausalen Rolle eines Allergens. Dies erlaubt einen Rückschluss auf das Ausmaß der bronchialen Überempfindlichkeit auf einen bestimmten Stimulus. Sie ist immer dann indiziert, wenn sich die Diagnose nicht mit ausreichender Sicherheit aus Anamnese, Symptomenkonstellation, Pricktest und IgE im Serum ableiten lässt und dies Konsequenzen für Therapie und Prävention der Erkrankung hat (65).

Die spezifische inhalative Provokation ist nur bei Patienten ohne dauerhafte antiinflammatorische Therapie aussagekräftig, so dass sie nur bei Patienten mit den Asthmaschweregraden I und II laut GINA durchgeführt wird. Unter wissenschaftlicher Fragestellung angewandt ermöglicht die bronchiale Provokation eine Charakterisierung der allergischen Entzündungsreaktion (113). Zur Messung des Ausmaßes der allergischen

Frühreaktion nach Provokation wird die $PD_{20}FEV_1$ errechnet. Die $PD_{20}FEV_1$ beschreibt die Allergendosis, die zu einem 20%igen Abfall der FEV_1 führt. Dabei beschreibt die $PD_{20}FEV_1$ nicht nur den FEV_1 -Abfall an sich, sondern bezieht auch den zeitlichen Verlauf und die Intensität der Reaktion mit ein. Kopferschmitt-Kubler et al. konnten zeigen, dass die $PD_{20}FEV_1$ eine gut reproduzierbare Methode ist um die bronchiale Hyperreagibilität zu messen (94). Nach Inman et al. kann die maximale Reaktion nach Allergen-Inhalation sowohl in der Sofort- als auch in der Spätreaktion mit etwa $\pm 23\%$ reproduziert werden. Auch mit wenigen Probanden können so reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden (78).

1.4 Schweregradeinteilung

Bisher wurde der Asthmaschweregrad von der Global Initiative for Asthma (GINA) anhand der klinischen Symptome unterteilt in intermittierendes Asthma bronchiale (I) und persistierendes Asthma bronchiale (II-IV), wobei letzteres wiederum in mild, moderat und schwergradig persistierend unterteilt wird (genaue Einteilung siehe Tabelle 1).

Diese Einteilung hat in den neuesten Leitlinien eine Modifikation erfahren. Die bisherige Einteilung sollte nur noch bei der Diagnose eines Asthma bronchiale zur therapeutischen Ersteinstellung angewandt werden. Neu eingeführt wurde eine Einteilung, die zusätzlich zu dem klinischen Krankheitsbild das Ansprechen auf die Therapie berücksichtigt. Dabei wird in kontrolliertes Asthma, teilweise kontrolliertes Asthma und unkontrolliertes Asthma unterteilt. Zudem wurde das Konzept des „difficult-to-treat-asthma“ eingeführt, das der Tatsache Rechnung trägt, dass eine Untergruppe der Asthmatiker therapeutisch sehr schwer einstellbar ist (62).

Schweregradeinteilung des Asthma bronchiale laut GINA-Klassifikation
I. Intermittierendes Asthma bronchiale
Symptome seltener als 1mal/Woche Kurze Exazerbationen Nächtliche Symptome nicht häufiger als 2mal/Monat FEV1 oder PEF \geq 80% des Sollwerts PEF oder FEV1 Variabilität $<$ 20%
II. Mildes, persistierendes Asthma bronchiale
Symptome häufiger als 1mal/Woche und seltener als 1mal/Tag Exazerbationen die evtl. die Aktivität und den Schlaf beeinflussen Nächtliche Symptome häufiger als 2mal/Monat FEV1 oder PEF \geq 80% des Sollwerts PEF oder FEV1 Variabilität $<$ 20-30%
III. Moderates, persistierendes Asthma bronchiale
Tägliche Symptome Exazerbationen die evtl. die Aktivität und den Schlaf beeinflussen Nächtliche Symptome häufiger als 1mal/Woche Täglicher Gebrauch von kurzwirksamen β 2-Sympathomimetika FEV1 oder PEF 60- 80% des Sollwerts PEF oder FEV1 Variabilität $>$ 30%
IV. Schweres, persistierendes Asthma bronchiale
Tägliche Symptome Häufige Exazerbationen Nächtliche Symptome häufig Einschränkung der körperlichen Aktivität FEV1 oder PEF \leq 60% des Sollwerts PEF oder FEV1 Variabilität $>$ 30%

Tabelle 1 GINA-Klassifikation des Asthma-Schweregrads, modifiziert nach (62)

1.5 Therapie des Asthma bronchiale

Ziel der Asthmatherapie ist das Erreichen von Symptombfreiheit, normaler Leistungsfähigkeit ohne Störung der täglichen Aktivitäten, die Vermeidung nächtlichen Erwachens aufgrund von Asthmasymptomen, keine Benötigung von Relievern, Verhinderung von Exazerbationen und eine normale/bestmögliche Lungenfunktion. Zur Kontrolle des Asthma bronchiale ist das Verständnis des Patienten und Wissen, wie mit asthmatischen Beschwerden umzugehen ist, essentiell für den Therapieerfolg (2;62). Die Therapie des Asthma bronchiale ist abhängig vom diagnostizierten Schweregrad. Grundsätzlich wird zwischen der symptomorientierten Bedarfsmedikation, Reliever, und einer Dauertherapie, Controller, unterschieden (siehe Tabelle 2). Patienten, die zur Symptomkontrolle eine Kombination aus ICS und LABA benötigen, können z.B. Formoterol und Budesonide als Controller und Reliever benutzen. Antihistaminika, Anticholinergika und Mastzellstabilisatoren spielen in den internationalen Therapieleitlinien für Asthma eine untergeordnete Rolle und können u.a. bei dem „difficult-to-treat-asthma“ als Therapieversuch eingesetzt werden.

Therapie-Level 1	Therapie-Level 2	Therapie-Level 3	Therapie-Level 4	Therapie-Level 5
Asthma-Kontrolle				
β_2 -Agonisten bei Bedarf	β_2 -Agonisten bei Bedarf			
Kontroll-Optionen	wähle 1	wähle 1	addiere 1 oder mehr	addiere 1 oder mehr
	ICS niedrige Dosis	ICS niedrige Dosis+ β_2 -Agonist (langwirksam)	ICS mittlere o. hohe Dosis+ β_2 -Agonist (langwirksam)	Kortison oral
	Leukotrien-antagonisten	ICS höhere Dosis	Leukotrien-antagonist	Anti-IgE-Therapie
		ICS niedrige Dosis+ Leukotrien-antagonist	Theophyllin	
		ICS niedrige Dosis+ Theophyllin		

Tabelle 2 Asthmatherapie, modifiziert nach (62)

1.5.1 Entwicklung der Asthmatherapie und Ausblick

Die Therapieoptionen des Asthma bronchiale haben sich in den letzten 30 Jahren nur unwesentlich verändert. 1998 wurde eine neue Medikamentenklasse, die Leukotrienrezeptorantagonisten als ADD-ON Therapie bei leicht- bis mittelgradigem Asthma zugelassen. Diese sind allerdings weniger effektiv als bisherige Therapien (13). Im Oktober 2005 wurde Omalizumab, ein neu entwickelter humanisierter, monoklonaler anti-IgE Antikörper zur Therapie des schweren, persistierenden Asthma zugelassen. Omalizumab ist bei moderatem bis starkem Asthma wirksam und als sicher eingestuft, doch aufgrund seiner hohen Herstellungskosten wird Omalizumab zumindest in nächster Zeit nur in wenigen, therapieresistenten Fällen Anwendung finden (17;30).

Der „Goldstandard“ der Asthmatherapie sind weiterhin inhalative Kortikoide in Kombination mit langwirksamen β_2 -Sympathomimetika (14). Aufgrund zweier Studien, die eine erhöhte krankheitsbezogene Mortalität bei dem alleinigen Gebrauch von Salmeterol zeigten, wurden Bedenken gegenüber deren Gebrauch als Monotherapie geäußert (32;124). Zu der Kombination von langwirksamen β_2 -Sympathomimetika mit inhalativen Kortikoiden liegen bisher keine Hinweise für eine erhöhte Mortalität vor (62;127). Diese Studien hatten jedoch zur Folge, das langwirksame β_2 -Sympathomimetika als Monotherapie nicht mehr empfohlen werden und der Stellenwert der Leukotrienrezeptorantagonisten zugenommen hat.

Laut Einschätzung von Pharmazeuten ist innerhalb der nächsten 10 Jahre keine Alternativtherapie zu Kortikoiden zu erwarten (7). Die spezifische Hemmung der Atemwegsentszündung scheint der Schlüssel zur Kontrolle von Asthma zu sein. Da Kortikoide eher unspezifisch entzündungshemmend wirken, versucht man „spezifischere Kortikoide“ zu entwickeln. Zudem werden neue Strategien wie z.B. monoklonale Antikörper gegen IL-4 und IL-5, Vakzine für eine Immuntherapie oder den therapeutischen Nutzen von antiinflammatorischen Zytokinen wie IFN- γ und IL-10 (174) entwickelt. Erste Studien zur Therapieoptimierung anhand der Sputumeosinophilie haben Vorteile gegenüber der leitliniengerechten Therapie gezeigt. So wurde eine längere Dauer bis zur ersten Exazerbation, geringeres relatives Risiko für eine Exazerbation sowie weniger kortikoidpflichtige Exazerbationen beobachtet (84).

1.6 Asthmamodelle

1.6.1 Ovalbuminmodell

Ovalbumin (OVA) ist ein hochpotentes Allergen, das man bei Tieren (v.a. Mäusen, Meerschweinchen, Ratten) dazu einsetzen kann, diese künstlich gegen OVA zu sensibilisieren und somit eine Allergie zu induzieren. Dies macht man sich in der Forschung zunutze, um die Pathogenese und Behandlungsmöglichkeiten allergischer Erkrankungen zu untersuchen.

Die Sensibilisierung der Tiere gegenüber OVA erfolgt durch intraperitoneale Injektion von Ovalbumin. Um die Pathogenese des Asthma zu erforschen provoziert man die sensibilisierten Tiere inhalativ mit OVA und misst das Ausmaß der bronchialen Obstruktion. Zusätzlich kann untersucht werden, ob die Vor- oder Nachbehandlung mit einem Medikament einen Einfluss auf die Atemwegsobstruktion hat. Viele Erkenntnisse über die Pathogenese und Behandlungsmöglichkeiten des allergischen Asthma bronchiale wurden so gewonnen. Die Übertragbarkeit dieses Modells auf den Menschen ist aber eingeschränkt.

1.6.2 Lungenschnitte Ratte

1996 wurde von C. Martin eine Methode etabliert, die es erlaubt Lungendünnschnitte von Wistar Ratten zu inkubieren und die Kontraktionen der kleinen Atemwege unter dem Videomikroskop zu betrachten. Dabei wurde 8 Wochen alten Wistar Ratten Weibchen die Lunge entnommen und 250 ± 20 μm dicke Lungenschnitte daraus angefertigt. In einer dynamischen Inkubationskammer unter dem Videomikroskop konnten diese dann betrachtet werden. Durch Messung der LDH, Thymidininkorporation und der Schlagfrequenz der Zilien konnten Rückschlüsse darauf gezogen werden, wie lange die Lungendünnschnitte vital sind. Dies war für mindestens 70 Stunden der Fall. Die besonders dünnen Schnitte ermöglichen eine artefaktarme Beobachtung der kleinsten Atemwege.

Durch Provokation der Lungendünnschnitte mit Metacholin war es erstmals möglich, die Reaktion der kleinen und mittleren Atemwege auf Provokation unter dem Mikroskop zu beobachten. Dabei wurde die Reduktion der Atemwegsfläche als Index für die Obstruktion angesehen (109).

1.6.3 Humane Lungenschnitte

Die Methode der humanen precision-cut lung slices (PCLS-Methode) wurde entwickelt, um an einem humanen Modell die Kontraktion der kleinen Atemwege untersuchen zu können. Methodisch ist dieses Modell an das der precision-cut lung slices der Wistar Ratte angelehnt. Dabei wurde makroskopisch gesundes Lungengewebe verwendet, das bei der Operation von Patienten mit Bronchial-Karzinom gewonnen wurde. Die meisten dieser Patienten waren Raucher.

Makroskopisch gesunde Areale wurden in 250µm dicke PCLS geschnitten. Die so erhaltenen PCLS wurden durch die Zugabe von Pollen-Allergiker-Serum passiv sensibilisiert und anschließend durch Zugabe des entsprechenden Allergens provoziert. Die Lungenschnitte wurden mit einer digitalen Videokamera beobachtet um die Bronchokonstriktion nach Provokation zu dokumentieren. Die Atemwegsfläche vor Zugabe eines Allergens wurde als 100% definiert. Die Bronchokonstriktion wurde als die prozentuale Abnahme der Atemwegsfläche angegeben.

Der Vorteil des humanen PCLS- Modells gegenüber den vorherigen Modellen ist die bessere Übertragbarkeit auf den Menschen, da es sich hierbei um humanes, vitales Lungengewebe handelt.

In der Arbeit von (185) „The early allergic response in small airways of human precision-cut lung slices” wurde unter anderem die Kombination eines LTRA mit einem TXRA auf die allergische Frühreaktion an passiv sensibilisierten PCLS untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass die so vorbehandelten PCLS auf eine Provokation mit dem Allergen fast gar nicht mehr reagierten. Wenn man dieses Modell auf die in-vivo Situation des Menschen überträgt, so sollte bei Asthmatikern nach Vorbehandlung mit einem LTRA und einem TXRA die Reaktion der Atemwege auf eine Provokation mit einem Allergen abgeschwächt sein, bzw. es sollte keine Reaktion stattfinden.

1.7 Lipidmediatoren

Eikosanoide sind Mediatoren, die sich von der vierfach ungesättigten C₂₀-Fettsäure Arachidonsäure ableiten (Eikosatetraensäure). Zu diesen zählen drei verschiedene Substanzklassen:

- Leukotriene
- Thromboxane
- Prostaglandine

Die Arachidonsäure ist ein Bestandteil der Membranphospholipide. Durch die Phospholipase A₂ wird die Spaltung von Arachidonsäure aus Membran-Phospholipiden katalysiert. Die freie zytosolische Arachidonsäure kann wiederum zwei Wege einschlagen, den Lipoxygenaseweg und den Cyclooxygenaseweg.

1.7.1 *Leukotriene*

In den späten 1930er und frühen 1940er Jahren entdeckten Kellaway und Trethewie sowie eine Arbeitsgruppe um Brocklehorst einen bis dahin unbekanntem Faktor, der in der Lage war, eine langsame und lang anhaltende Konstriktion der Atemwege bei antigensensibilisierten Meerschweinchen auszulösen. Dieser Faktor erwies sich als 1000mal potenter als das damals schon bekannte Histamin. Zunächst wurde dieser Faktor nach seiner Wirkweise „slow-reacting substance of anaphylaxis“ (SRS-A) genannt. Erst in den späten 1970er Jahren gelang es diese Substanz auch chemisch zu charakterisieren. Dies war der initiale Schritt zur weiteren Erforschung der Leukotriene. Mit der Entdeckung der Leukotriene und der Möglichkeit diese zu synthetisieren ergab sich auch das nähere Studium der physiologischen bzw. pathophysiologischen Eigenschaften dieser Mediatoren.

1.7.1.1 Synthese

Ausgangssubstanz zur Biosynthese der Leukotriene ist die Arachidonsäure. Das Isoenzym der Lipoxygenasen, 5-Lipoxygenase, liegt im Zytoplasma vor und synthetisiert vor allem in Leukozyten, Makrophagen und Mastzellen Leukotriene, (siehe Abbildung 1).

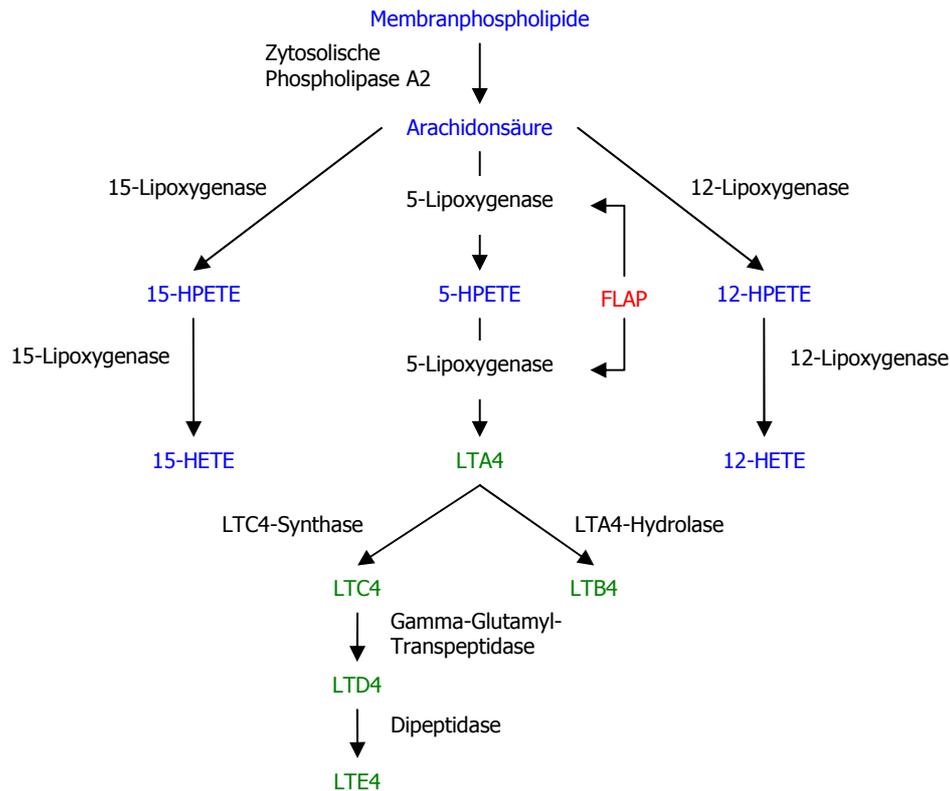


Abbildung 1 Leukotriensynthese, modifiziert nach (135), 12/15-HPETE: 12/15-Hydroperoxy-Eikosatetraensäure, HETE: Eikosatetraensäure, FLAP: 5-Lipoxygenasaktivierungsprotein

1.7.1.2 Effekte

Cysteinylleukotriene (LTC_4 , LTD_4 und LTE_4) spielen eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie des Asthma bronchiale. Als Bronchokonstriktoren sind sie 100–1000mal potenter als Histamin (11). Zusätzlich führen sie durch Zunahme der Durchblutung der Atemwege und durch eine verstärkte vaskuläre Permeabilität zu dem asthmatischen Ödem des umliegenden Gewebes (19;21). Die Cysteinylleukotriene induzieren die Mukusekretion (38) und sie setzen die Aktivität der Zilien im Respirationstrakt herab, was zu einer Hemmung der mukoziliären Clearance führt. Daraus resultiert die bei Asthma bronchiale bekannte mukoziliäre Dysfunktion (20). Zusätzlich haben Leukotriene einen fördernden Einfluss auf den zellulären Entzündungsprozess. LTD_4 und LTE_4 sind potent und spezifisch chemotaktisch auf Eosinophile wirksam, die als charakteristische Entzündungszellen beim Asthma gelten. Laitinen et al. konnten nach Inhalation mit LTE_4 einen Anstieg der eosinophilen Granulozyten in der Atemwegsschleimhaut zeigen (98). In einer anderen Studie wurde nach Inhalation von LTD_4 eine Zunahme der Eosinophilenzahl im induzierten Sputum nachgewiesen (46). Eine weitere Auswirkung von Leukotrienen auf das Bronchialsystem scheint die Proliferation glatter Muskelzellen zu sein. Diese

Hypothese wird durch die Untersuchungen von Wang et al. gestützt, die bei Ratten eine LTD₄-vermittelte Zunahme der Muskelzellen in den großen Atemwegen nachweisen konnten (175).

1.7.1.3 Rezeptoren

Die Leukotriene wirken über die Bindung an entsprechende membranständige G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Lange Zeit erwies sich der molekularbiologische Nachweis von Leukotrienrezeptoren aufgrund ihrer geringen Dichte auf den Zellen als schwierig. Bis vor kurzem konnte daher nur eine funktionelle Charakterisierung der Rezeptoren für die Cysteinylleukotriene mit Hilfe von Bindungsstudien vorgenommen werden. Die radioaktiv markierten Leukotrien-Liganden gaben unterschiedliche pharmakodynamische Antworten an der glatten Muskulatur in vitro.

Bisher sind folgende Leukotrienrezeptoren bekannt:

Der CysLT1-Rezeptor bindet die Cysteinylleukotriene D₄ und E₄. Exprimiert wird dieser Rezeptor u.a. auf der glatten Muskulatur der Lunge, Lungenmakrophagen und peripheren Eosinophilen sowie CD34+ Granulozyten.

Der CysLT2-Rezeptor bindet dagegen das Cysteinylleukotrien LTC₄. Exprimiert wird dieser analog zu dem CysLT1-Rezeptor u.a. auf der glatten Muskulatur der Lunge, Lungenmakrophagen und peripheren Eosinophilen (73).

Beide CysLT-Rezeptoren sind geklont worden und es hat sich herausgestellt, dass beide Rezeptoren G-Protein-gekoppelte Rezeptoren mit 7-Transmembranuntereinheiten sind, die eine hohe Affinität zu LTD₄/E₄ oder LTC₄ zeigen.

Die bisher erhältlichen CysLT1-Rezeptorantagonisten blockieren diesen effektiv, konsistent mit positiven Effekten für die Asthmabehandlung (54;105).

1.7.2 *Thromboxan A₂*

Thromboxan A₂ (TXA₂) ist ein Metabolit des Arachidonsäurestoffwechsels, der 1969 von Piper und Vane (138) als Substanz, die die Aorta von Kaninchen konstringiert, entdeckt wurde. 1975 wurde TXA₂ im Extrakt menschlicher Thrombozyten als Mediator der Plättchenaggregation identifiziert und aufgrund des Vorkommens in Thrombozyten nach diesen benannt (68).

1.7.2.1 Synthese

Durch Oxidation katalysieren die konstitutive Cyclooxygenase-1 (Prostaglandin G/H Synthase-1) oder die induktive Cyclooxygenase-2 (Prostaglandin G/H-Synthase-2) aus der Arachidonsäure Prostaglandin Endoperoxid H_2 , $PG H_2$. Anschließend wird durch die Thromboxansynthase die Bildung von TXA_2 aus $PG H_2$ katalysiert (siehe Abbildung 2). Dies geschieht hauptsächlich in aktivierten Thrombozyten, Monozyten, Makrophagen, Neutrophilen und Lungenparenchym. In der Lunge wird TXA_2 unter anderem von Epithelzellen, glatter Muskulatur und Alveolarmakrophagen gebildet. TXA_2 hat bei $37^\circ C$ eine Halbwertszeit (HWZ) von etwa 30 Sekunden, danach zerfällt es spontan in den stabilen aber inaktiven Metaboliten TXB_2 (68). Die kurze HWZ lässt darauf schließen, dass die Wirkweise von TXA_2 autokrin oder parakrin ist und TXA_2 folglich nur dort wirken kann, wo TXA_2 auch synthetisiert wird. Die meisten experimentellen Studien wurden aufgrund der Instabilität von TXA_2 mit dem TXA_2 -Mimetikum U-46619 durchgeführt (5;36;37;102).

1.7.2.2 Effekte

Es konnte gezeigt werden, dass TXA_2 eine konstringierende Wirkung auf die glatte Muskulatur der Atemwege und Gefäße hat, die mikrovaskuläre Gefäßpermeabilität erhöht und die bronchiale Hyperreagibilität steigert (35;87;88). Eine jüngere Studie zeigte außerdem, dass die Proliferation glatter Muskulatur, ein wichtiger pathogenetischer Faktor von chronischem Asthma, über den TP-Rezeptor induziert wird (163). Nach Allergenprovokation bei Asthmatikern wurden erhöhte TXA_2 -Spiegel in der BAL nachgewiesen (180). Verschiedene Studien demonstrierten, dass der TXA_2 -Spiegel bzw. der seiner Metaboliten in BAL, Urin und Plasma von Asthmapatienten erhöht ist (97;132;181). Dies lässt darauf schließen, dass TXA_2 in der Pathogenese des Asthma eine Rolle spielt (42;140;148;150).

1.7.2.3 Rezeptoren

Es wird postuliert, dass TXA_2 durch direkte Aktivierung des Thromboxan-Prostanoid- (TP) Rezeptor auf der glatten Muskulatur der Atemwege zur Bronchokonstriktion führt. Durch das Klonieren des TP-Rezeptors und der Züchtung einer Mauslinie, der das Gen für den TP-Rezeptor fehlt, konnten die Effekte von TXA_2 in vivo studiert werden. Aus diesen Studien geht hervor, dass TXA_2 seine Wirkung einzig über den heterotrimeren G-proteingekoppelten TP-Rezeptor ausübt. An diesen bindet außerdem PGD_2 . Die Bindung an die

Gq-Untereinheit des TP-Rezeptors aktiviert die Phospholipase C und führt dadurch zu einem intrazellulären Anstieg von (Ca^{2+}) .

Der TP-Rezeptor findet sich auf Thrombozyten, Epithelzellen, glatter Muskulatur, den Zellen des Immunsystems und auf Nervenzellen (40;41;75;118;123;164;168;170).

Einige Studien weisen darauf hin, dass es mindestens zwei Subtypen des TP-Rezeptors gibt, TP- α und TP- β (107). Allerdings gibt es dafür derzeit keine allgemein anerkannte Erklärung (48). Auch die Frage, wie die Umsetzung der Muskelkontraktion über die Bindung des TP-Rezeptors erfolgt, ist nicht abschließend geklärt (4;90;131;152).

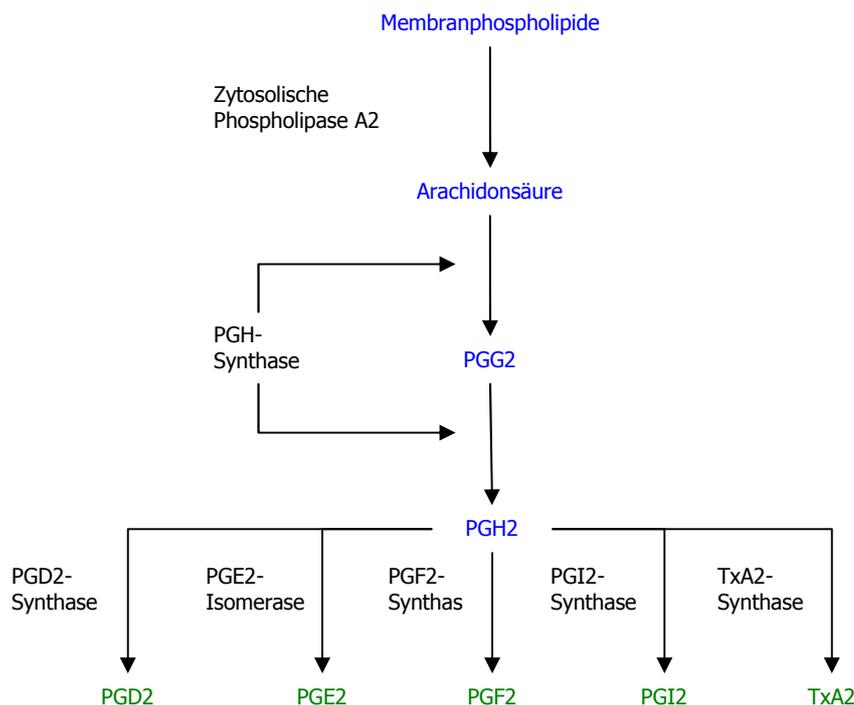


Abbildung 2 Thromboxan- und Prostaglandinsynthese, modifiziert nach (135)

1.7.3 Prostaglandin D_2

Die Bezeichnung Prostaglandine stammt von der Prostata, aus deren Flüssigkeit die Prostaglandine 1934 von dem schwedischen Physiologen Ulf von Euler (173) erstmals isoliert wurden. Gleichzeitig entdeckte unabhängig davon M.W. Goldblatt (63) die Prostaglandine. Es wurde angenommen, dass die Prostaglandine Teil des Prostatasekrets sind. Später wurde gezeigt, dass auch viele andere Gewebe Prostaglandine sezernieren. 1971 wurde die These aufgestellt, dass Aspirin-ähnliche Medikamente die Synthese von Prostaglandinen inhibieren können (172). Die Biochemiker Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelsson und John R. Vane haben gemeinsam für ihre Forschung über Prostaglandine 1982 den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin erhalten.

1.7.3.1 Synthese

Prostaglandin D₂ wird durch die PGD-Synthase aus PGH₂, der Vorstufe aller Prostaglandine gebildet (siehe Abbildung 2). PGD₂ wird von aktivierten Mastzellen und T-Lymphozyten gebildet, ist in der BAL von Asthmatikern nach Allergenprovokation der wichtigste Lipidmediator und wird sowohl bei der Früh- als auch bei der Spätreaktion freigesetzt (24;58;128).

1.7.3.2 Effekte

PGD₂ hat potente bronchokonstriktorische Eigenschaften und induziert die bronchiale Hyperreagibilität sowie die lymphozytäre und eosinophile Atemwegsentzündung (59;77;154). Der bronchokonstriktorische Effekt von PGD₂ wird hauptsächlich über den TP-Rezeptor vermittelt (53). Verschiedene Studien konnten zeigen, dass PGD₂ sowie TXA₂ an der Antigen-induzierten Bronchokonstriktion beteiligt sind (120;153;182).

Fuller et al beschrieben, dass PGD₂ die Wirkung von Histamin potenziert (60), Black et al dagegen konnten dies nicht feststellen (22).

1.7.3.3 Rezeptoren

PGD₂ bindet mit gleich hoher Affinität an zwei G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, den DP-Rezeptor und den CRTH2 (chemoattractant receptor homologous molecule expressed on T-helper type 2 cells), auch DP2-Rezeptor genannt. Zusätzlich ist PGD₂ der Ligand für den TP-Rezeptor (s.o.) (44;49).

Der DP-Rezeptor vermittelt über G-Proteine den intrazellulären Anstieg von cAMP und induziert die Bildung von Zytokinen und Chemokinen, die wiederum Lymphozyten und Eosinophile rekrutieren.

Der CRTH2 wird auf Th2- Lymphozyten, Basophilen und Eosinophilen exprimiert, alle drei sind wichtig in der Pathogenese allergischer Erkrankungen. Seine Aktivierung ändert die Eosinophilenmorphologie und erhöht deren Motilität sowie auch die von Th2-Lymphozyten. Außerdem scheint über CRTH2 die Eosinophilenmigration aus dem Blut in die entzündeten Atemwege getriggert zu werden (155).

1.8 Prüfsubstanzen

1.8.1 CysLT1-Rezeptor Antagonist Montelukast/ Singulair®

Synonyme: L-706, 631, MK-0476,

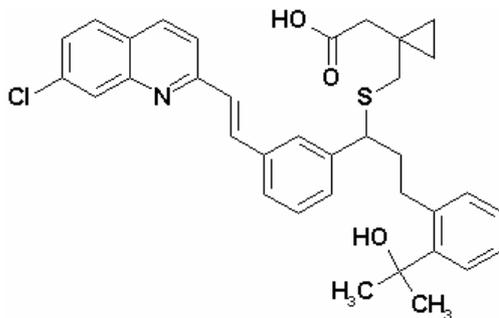


Abbildung 3 Strukturformel Montelukast: (R)-1-[[1-(3-(2-(7-chloro-2-quinolinyl-)ethenyl)phenyl)-3-(2-(2-hydroxy-2propyl)phenyl)propyl)]hiomethyl] Cyclopropan-Natriumacetat

Montelukast ist ein spezifischer CysLT1-Rezeptorantagonist, der durch kompetitive Inhibition des CysLT1 Rezeptors vor der Leukotrien-induzierten Atemwegsobstruktion und Entzündung schützen soll. Bei Leukotrienrezeptorantagonisten handelt es sich um eine relativ junge Wirkstoffgruppe. So ist Montelukast erst seit 1998 in Deutschland zugelassen.

1.8.1.1 Pharmakodynamische Eigenschaften

Leukotriene binden an die in den Atemwegen des Menschen vorhandenen Cysteinylleukotrien-Rezeptoren (CysLT) und bewirken dort u.a. Bronchokonstriktion, gesteigerte Schleimsekretion, Gefäßpermeabilität und Akkumulation von eosinophilen Granulozyten (119).

Der spezifische CysLT1-Rezeptorantagonist Montelukast bewirkt bei Asthmatikern über eine Schwächung der Leukotrienwirkung durch kompetitive Inhibition des CysLT1-Rezeptors eine Besserung von Lungenfunktion und Asthmasymptomen, eine Reduktion der Bedarfsmedikation und Exazerbationen und steigert so die Lebensqualität (10). Auch bei Kindern hat sich Montelukast als sicheres Medikament erwiesen (93).

1.8.1.2 Klinische Effekte

Montelukast bessert die *Lungenfunktion*. Bei Patienten mit mildem bis moderatem Asthma bronchiale führt Montelukast nach oraler Applikation zu einer nach 60 Minuten eintretenden Verbesserung der Atemwegsobstruktion. Die Einsekundenkapazität (FEV₁) bessert sich dabei im Mittel um 10 bis 15 % (76).

Leff et al. konnten zeigen, dass Montelukast *belastungsinduziertes Asthma* mildert. Im Vergleich zu Placebo ist der Abfall der FEV₁ bei belastungsinduziertem Asthma durch Montelukast gehemmt und der Ausgangs-FEV₁-Wert wird schneller wieder erreicht (18;99).

Montelukast bietet einen Schutz vor *bronchialer Hyperreagibilität* im Rahmen der allergischen Frühreaktion. Während der Einfluss auf die unspezifische bronchiale Hyperreagibilität auf Metacholin nicht sicher geklärt ist (18;31;34), zeigte sich in verschiedenen klinischen Studien ein hemmender Effekt von Montelukast auf die allergen-induzierte bronchiale Hyperreagibilität (45;146).

Besonders wirksam hat sich Montelukast in der Inhibition der *allergischen Spätreaktion* durch Inhibition der eosinophilen Entzündungsreaktion gezeigt (64).

So reduziert Montelukast die *Eosinophilenzahl* im Sputum, im peripheren Blut (116) und in den Atemwegen (139).

Bei der *Langzeitanwendung* zeigte Zhang et al., dass Montelukast die immunologische UP-Regulation von CysLT1-Rezeptoren und die eosinophile Atemwegsentzündung bei asthmatischen Mäusen inhibiert (189). Bei chronischer Anwendung verursacht Montelukast keine Toleranz oder Tachyphylaxie (12).

Zum *Vergleich mit Kortikoiden* untersuchten Malmstrom et al. in einer großen Multicenterstudie den klinischen Benefit von Montelukast gegenüber Beclomethasone. Im Mittel erbringt Beclomethasone einen größeren klinischen Benefit als Montelukast, der Wirkeintritt und initiale Effekt von letzterem ist jedoch größer. Somit spielen beide Medikamente eine Rolle als Controller in der Therapie von chronischem Asthma (108).

In *Kombination mit Kortikoiden* ermöglicht Montelukast eine Reduktion der Kortikoiddosis (145;166). Warner konnte zudem einen komplementären Effekt zu inhalativen Kortikoiden zeigen (177).

Bei Erwachsenen, deren Asthma mit inhalativen Kortikoiden unzureichend kontrolliert ist, ist der Gebrauch von *langwirksamen β_2 -Sympathomimetika* dem von LTRA überlegen. Diese Überlegenheit bezieht sich auf den Schutz vor Exazerbationen, die den systemischen Gebrauch von Kortikoiden notwendig machen, Besserung der Lungenfunktion und klinischer Symptome, sowie Anwendung von Bedarfs- β_2 -Sympathomimetika (142).

In der Therapie von Patienten mit *Cough variant Asthma* wurde Montelukast als effektiv bewertet (158).

Vielfach wurde ein unterschiedliches Ansprechen auf Leukotrienrezeptorantagonisten, sogenannte *Responder und Non-Responder* beschrieben. Dieses Phänomen beruht u.a. auf

genetischen Variationen der Gene für den Leukotrien-Stoffwechsel (92;103). Cai et al. konnten zeigen, dass Patienten mit hohen LTE₄-Spiegeln im Urin besser auf die Therapie mit Leukotrienrezeptorantagonisten ansprechen als Patienten mit niedrigem LTE₄-Spiegeln (29).

Eine *Kombination von Leukotrien- und Thromboxanrezeptorantagonist* blockierte im Model an PCLS die allergische Frühreaktion nahezu vollständig und soll daher im Rahmen einer klinischen Studie geprüft werden (185).

1.8.1.3 Pharmakokinetische Eigenschaften

Nach oraler Verabreichung wird Montelukast rasch resorbiert. Der mittlere Plasmaspitzen Spiegel (C_{max}) wird innerhalb von 2 Stunden nach der Einnahme erreicht. Die orale Bioverfügbarkeit beträgt im Mittel 73% und sinkt durch die gleichzeitige Einnahme einer Standardmahlzeit auf 63%. Montelukast liegt zu mehr als 99% an Plasmaeiweiß gebunden vor. Das Verteilungsvolumen beträgt im Steady-State durchschnittlich 8-11 Liter. Untersuchungen an Ratten mit radioaktiv markiertem Montelukast wiesen auf einen minimalen Durchtritt durch die Blut-Hirnschranke hin. Das Medikament wird in der Leber durch die Beteiligung von Cytochrom P450-Enzymen abgebaut, wobei der Anteil der Metaboliten an der therapeutischen Wirkung zu vernachlässigen ist. Nach einer oral verabreichten Dosis von radioaktiv markiertem Montelukast wurden 86% der Radioaktivität in dem fünf Tage lang gesammelten Fäzes und weniger als 0,2% im Urin wiedergefunden. Die spricht dafür, dass es nahezu ausschließlich biliär ausgeschieden wird (119).

1.8.1.4 Nebenwirkungsprofil

LTRA wurden in allen Studien gut toleriert. Ein gehäuft auftretendes Churg-Strauss-Syndrom unter Montelukasttherapie wird weiterhin kontrovers diskutiert. Es häufen sich Fallberichte, die zur Annahme führen, dass Montelukast einen direkten Einfluss auf die Ausbildung eines Churg-Strauss-Syndroms haben könnte (23;39;67;71;114;167). Von anderen Autoren wurde die Entwicklung eines Churg-Strauss-Syndrom auf die Reduktion der Kortikoiddosis unter Montelukasttherapie im Sinne eines Demaskierungseffekts zurückgeführt (82;178).

1.8.2 TXA_2 /CRTH2-Rezeptor Antagonist Ramatroban/ Baynas[®]

Synonyme: BAY u 3405, EN-137774

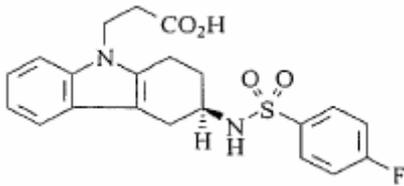


Abbildung 4 Strukturformel Ramatroban: (3R)-enantiomer von 3-(4-fluorphenylsulfonamido)-1,2,3,4-tetrahydro-9-carbazole propanoic acid

Thromboxan A_2 hat in den letzten 20 Jahren immer mehr an Aufmerksamkeit gewonnen, da diesem Mediator in der Pathophysiologie des Asthmas eine potente bronchokonstriktive Wirkung, Einfluss auf die bronchiale Hyperreagibilität und die Spätphasereaktion zugesprochen wird. Besonderes Interesse gilt daher auch der Wirkstoffgruppe der Thromboxanrezeptorantagonisten (TXRA), die erst seit wenigen Jahren bekannt sind und deren klinisches Potential noch nicht abschließend geklärt ist (47).

Neuere Untersuchungen haben gezeigt das Ramatroban nicht nur ein kompetitiver TP-Rezeptorantagonist ist, der die Aktivität von TXA_2 und Prostaglandin (PG) D_2 auf glatte Muskulatur und die TX induzierte Plättchenaggregation inhibiert, sondern auch das „chemoattractant receptor-like molecule expressed on Th2 cells (CRTH2) receptor“ kompetitiv blockiert (81;160). Für die allergische Frühreaktion spielt CRTH2 wahrscheinlich keine entscheidende Rolle (159). Diverse Studien werden momentan unternommen um die Rolle von CRTH2 zu evaluieren.

1.8.2.1 Anwendungsgebiete und Art der Anwendung

Ramatroban ist in Japan seit 2000 zur Behandlung von allergischer Rhinitis zugelassen.

1.8.2.2 Tierexperimentelle und klinische Effekte

Entwickelt wurde Ramatroban zur Behandlung von Asthma und allergischer Rhinitis sowie Thrombembolien. In den Zulassungsstudien zeigte Ramatroban keine effektive Wirkung bei akuten Asthmasymptomen.

Ramatroban hat keinen Einfluss auf den *Ruhe-tonus* der Bronchialmuskulatur (106). Bei Meerschweinchen und bei Menschen wurde die allergen-induzierte *bronchiale Hyperreagibilität* durch Ramatroban gehemmt (16;122).

Zudem vermindert Ramatroban die Metacholin-induzierte bronchiale Hyperreagibilität (3;57) sowie die PGD₂ induzierte Bronchokonstriktion (85;86;106;141). Ramatroban inhibiert jedoch nicht die Histamin induzierte Bronchokonstriktion (85), die Bradykinin-induzierte Bronchokonstriktion (141), sowie die belastungsinduzierte Bronchokonstriktion (106).

Im Versuch mit Meerschweinchen inhibierte Ramatroban die *allergische Spätreaktion* nach Allergen-Provokation im Vergleich mit Placebo. 6 Stunden nach Provokation enthielt die BAL der Placebogruppe signifikant mehr Zellen, Eosinophile und Lymphozyten als die der Verumgruppe (79). Die PGD₂ oder CRTH2 Agonisten induzierte *Eosinophilie* in der BAL wird durch Vorbehandlung mit Ramatroban annähernd vollständig gehemmt (155). Zusätzlich zu dem TP-Rezeptor inhibiert Ramatroban kompetitiv den CRTH2 Rezeptor (161).

In einem humanen PCLS-Modell hatte ein Thromboxanrezeptorantagonist allein keinen signifikanten Einfluss auf die allergen-induzierte bronchiale Hyperreagibilität. In Kombination mit einem Leukotrienrezeptorantagonisten konnte dagegen die allergische Frühreaktion nahezu vollständig geblockt werden (185).

1.8.2.3 Pharmakokinetische Eigenschaften

Nach oraler Gabe wird Ramatroban rasch aus dem Gastro-Intestinaltrakt resorbiert. Die maximale Plasmakonzentration t_{max} sowie die Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$ liegen beide bei 2 Stunden. Die Bioverfügbarkeit beträgt 50 bis 90%. Der hauptsächliche Eliminationsweg ist die Glukuronidierung, wobei Ramatroban-glukuronid der Hauptmetabolit ist. Ramatroban ist zu etwa 95% an Plasmaproteine gebunden und wird zum größten Teil über die Galle ausgeschieden. Die renale Elimination liegt bei 8%. Es wurde bisher keine Tendenz zur Akkumulation beobachtet. Die Plasmakonzentration von BAY u 3405 korreliert mit der Wirksamkeit (85).

Klinisch relevante Medikamenteninteraktionen oder nahrungsassoziierte Interaktionen wurden nicht beobachtet (15).

1.8.2.4 Nebenwirkungsprofil

Zu den am häufigsten beobachtenden Nebenwirkungen zählt eine Erhöhung der Leberwerte (GOT, GPT, γ GT, LDH und AP). Eine Verlängerung der Blutungszeit ist aufgrund des Wirkmechanismus theoretisch denkbar, dabei konnte jedoch bisher keine klare Dosis-Wirkungsbeziehung hergestellt werden (15).

1.9 Fragestellung

In der in vitro Studie von Wohlsen et al. „The early allergic response in small airways of human precision-cut lung slices“ konnte gezeigt werden, dass durch die Kombinationstherapie von Leukotrien- mit Thromboxanrezeptorantagonisten die allergische Frühreaktion nahezu vollständig blockiert wird (185).

Bisher gibt es keine klinischen Studien die den Effekt dieser Kombination auf die allergische Frühreaktion bei Asthma bronchiale untersucht haben. Daher war das Ziel der RAMONA-Studie, zu prüfen, ob der Thromboxanrezeptorantagonist Ramatroban einen additiven Effekt zu dem Leukotrienrezeptorantagonisten Montelukast auf die allergische Frühreaktion bei Patienten mit leicht- bis mittelgradigem Asthma bronchiale mit Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilben hat.

2 Material, Methoden und Probanden

2.1 Studiendesign

Die vorliegende Studie ist eine doppel-blinde, placebo-kontrollierte, randomisierte klinische Studie der Phase II zum Vergleich der Wirksamkeit der Medikamenten-kombination Montelukast und Ramatroban versus Montelukast und Placebo auf die allergische Frühreaktion bei leicht- bis mittelgradigem, perennialen, allergischen Asthma bronchiale mit Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilben. Die Studiendauer betrug drei Wochen mit einer Therapiephase von 3 Tagen.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität zu Lübeck und dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) geprüft und genehmigt. Alle Probanden gaben nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung eine schriftliche Einverständniserklärung ab (informed consent).

Die Studie wurde gemäß den Grundsätzen der „Good Clinical Practice“ (80) sowie der Helsinki Deklaration in ihrer 5. Revision (184) durchgeführt.

2.2 Studienplanung und Durchführung

Die RAMONA-Studie wurde von der Allergologischen Arbeitsgruppe des Forschungszentrums Borstel (FZB) eigeninitiativ durchgeführt und durch das FZB finanziert. Zu dieser Gruppe gehörten Prof. Dr. med. P. Zabel, Dr. med. J. Welling, S. Heinemann, Dr. rer. nat. C. Martin, Dr. med. U. Lepp, Dr. med. F. Eberhardt und Prof. S. Uhlig. Die Studienleitung der RAMONA-Studie lag bei Prof. Dr. med. P. Zabel und Dr. med. J. Welling. Die Rekrutierung der Patienten, Durchführung der Lungenfunktionsmessungen sowie der spezifischen bronchialen Provokation, Blutentnahmen und deren weitere Verarbeitung wurden durch Frau Stefanie Heinemann (Autorin) durchgeführt. Einzelne intrakutane Pricktestungen, sowie gelegentliche Lungenfunktionsmessungen wurden von den Mitarbeiterinnen der Ambulanz durchgeführt. Die klinische Durchführung der Studie erfolgte in den Räumlichkeiten der Ambulanz der Medizinischen Klinik des FZB. Die Autorin war dabei während der gesamte Durchführung dieser klinischen Phase II Studie von den Anträgen an die Ethikkommission, der Herstellung und Verblindung der Studienmedikation, der Randomisierung, der Rekrutierung von Patienten inklusive Studienaufklärung und Sicherheitsuntersuchungen der Patienten eingebunden. Die deskriptive statistische Auswertung, die Darstellung der Ergebnisse sowie der Vergleich der beiden Therapiegruppen hinsichtlich FEV₁, RAW,

IgE-Spiegel und der Peak-Flow-Protokolle erfolgte durch die Autorin. Die weiterführende statistische Auswertung erfolgte unter Anleitung von Dr. rer. nat. C. Martin und Prof. S. Uhlig.

2.3 Einschlusskriterien

Alle Teilnehmer wiesen ein leicht- bis mittelgradiges, perenniales, allergisches Asthma bronchiale gegenüber Hausstaubmilben (*Dermatophagoides pteronyssinus*) auf. Bei polyvalent sensibilisierten Probanden musste die aktuelle klinische Relevanz anderer Allergene ausgeschlossen sein (anamnestisch und saisonal).

Um den Schweregrad des Asthma bronchiale beurteilen zu können, waren die Probanden instruiert, eine Woche lang vor der nativen Provokation ein Peak-Flow-Protokoll zu führen (RUN-IN-Phase). Die PEF-Variabilität durfte 30 % nicht überschreiten und asthmatische Symptome nicht mehr als einmal in dieser Woche auftreten. Der FEV₁-Wert vor Provokation durfte 80% des Sollwertes nicht unterschreiten. Eingeschlossen wurden nur Probanden die bei der nativen Provokation eine allergische Frühreaktion zeigten.

Im Untersuchungszeitraum beschränkte sich die medikamentöse Therapie auf die bedarfsweise Applikation eines kurzwirksamen β -2- Sympathomimetikum. Andere Antiasthmatica, wie inhalative Kortikoide, Cromoglicinsäure, Theophyllinpräparate, Leukotrienrezeptorantagonisten und Antihistaminika, mussten gemäß den Leitlinien der Gesellschaft für Allergologie und Immunologie und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie zur bronchialen Provokationstestung mit Allergenen vor der Provokation abgesetzt werden (65). In den letzten 8 Stunden vor bronchialer Provokation durften keinerlei Medikamente außer der Prüfmedikation eingenommen werden.

Die Probanden mussten volljährig (18 Jahre) und nicht älter als 65 Jahre alt sein.

Bei Frauen im gebärfähigen Alter durfte keine Schwangerschaft bestehen, zudem musste ein effektiver Konzeptionsschutz gewährleistet sein.

Das schriftliche Einverständnis für die Teilnahme an der Studie musste vorliegen.

2.4 Ausschlusskriterien

In die Studie wurden keine Probanden eingeschlossen, deren Asthma den Schweregraden III oder IV gemäß GINA- Guidelines entsprach oder Probanden bei denen zusätzliche klinisch relevante Allergien bestanden. Außerdem wurden Probanden ausgeschlossen, die in der spezifischen bronchialen Provokation mit *Dermatophagoides pteronyssinus* keine Reaktion zeigten.

Weitere Ausschlusskriterien waren floride Infekte jeglicher Lokalisation, eingeschränkte Leber- oder Nierenfunktion, ein bekanntes Churg-Strauss Syndrom, schwerwiegende Vor- und Begleiterkrankungen, erforderliche Therapie mit oralen Kortikoiden, Antikoagulantien, Theophyllin und/oder Leukotrienrezeptorantagonisten, eine bekannte Unverträglichkeit gegenüber einer der Prüfsubstanzen, eine bekannte hämorrhagische Diathese und ein bekanntes Ulcus ventriculi/duodeni.

2.5 Abbruchkriterien

Abbruchkriterien waren das Auftreten einer Schwangerschaft, eine Obstruktion der Atemwege vor der zweiten Provokation ($FEV_1 < 80\%$ des Sollwerts, $RAW >$ das doppelte des Sollwertes), das Auftreten schwerwiegender Nebenwirkungen auf eines der Medikamente sowie der Abbruch auf Wunsch des Probanden.

2.6 Probanden

Die Rekrutierung von 34 Probanden erfolgte von März 2005 bis Mai 2006 aus dem Patientenpool der Allergologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik Borstel, sowie durch Aufrufe in den Medien.

Bei allen Probanden war ein allergisches Asthma gegenüber Hausstaubmilben (*Dermatophagoides pteronyssinus*) bekannt. Der durchgeführte intrakutane Pricktest für *Dermatophagoides pteronyssinus* war bei allen Probanden positiv.

Bei allen Probandinnen wurde eine Schwangerschaft ausgeschlossen. Die in der Voruntersuchung bestimmten Blutparameter lagen bei allen Probanden innerhalb der Norm.

Die Medikation beschränkte sich über den Studienzeitraum auf die bedarfsweise Applikation eines kurzwirksamen β_2 -Sympathomimetikums. Die Probanden wurden gebeten, 8 Stunden vor der Provokation ganz darauf zu verzichten.

Individuelle Daten zur Charakterisierung des Probandenkollektivs sind im Anhang dargestellt (siehe Tabelle 9, Tabelle 10, Tabelle 11, Tabelle 12).

2.6.1 Monotherapiegruppe

In die Monotherapiegruppe wurden 19 Probanden eingeschlossen. Davon konnte bei einem Probanden die zweite Provokation nicht durchgeführt werden, da sich die Lungenfunktionsparameter (insbesondere FEV_1 unter 80% des Sollwerts) am Stichtag im Vergleich zur Basismessung (Einschlussuntersuchung) sowie am Tag der nativen Provokation verschlechtert hatten, so dass der entsprechende Proband im Sinne eines nicht-

ernsten Adverse Event von der Studie ausgeschlossen wurde. Ein weiterer Proband wurde aufgrund einer zu schwach ausgeprägten Reaktion bei der nativen bronchialen Provokation ($PD_{20}FEV_1 > 4\text{mg/dl}$) von der Auswertung ausgeschlossen. Somit waren in der Monotherapiegruppe letztendlich 17 Probanden (12 weibliche und 5 männliche).

Das durchschnittliche Alter der Probanden lag in der Monotherapiegruppe bei 30.7 Jahren (SD 10.2, Min 19 Jahre; Median 26; Max 48 Jahre).

Die durchschnittliche FEV_1 betrug 104% des Sollwerts (SD 11.76, Min 84.7%; Median 101.7%; Max 126.6%). Die VC betrug im Mittel 4.53 l (SD 1.21; Min 3.19 l; Median 4.04 l; Max 7.33 l).

Die Sensibilisierung war bei zwei Probanden monovalent und bei 15 Probanden polyvalent (siehe Tabelle 9Tabelle 10).

2.6.2 Kombinationstherapiegruppe

In die Kombinationstherapiegruppe wurden 15 Probanden eingeschlossen. Davon brachen zwei Probanden die Studie ab. Auch in dieser Therapiegruppe konnte die zweite Provokation bei einem Probanden nicht durchgeführt werden, da sich die Lungenfunktionsparameter (insbesondere FEV_1 unter 80% des Sollwerts) am Stichtag im Vergleich zur Basismessung (Einschlussuntersuchung) sowie am Tag der nativen Provokation verschlechtert hatten, so dass der entsprechende Proband im Sinne eines nicht-ernsten Adverse Event von der Studie ausgeschlossen wurde. Ein weiterer Proband zeigte eine zu schwach ausgeprägte Reaktion bei der nativen bronchialen Provokation ($PD_{20}FEV_1 > 4\text{mg/dl}$) und wurde daher von der Auswertung ausgeschlossen. Somit waren in der Kombinationstherapiegruppe letztendlich 10 Probanden (7 weibliche und 3 männliche). Das durchschnittliche Alter betrug 29.9 Jahre (SD 10.83; Min 21 Jahre; Median 25 Jahre; Max 56 Jahre).

Die durchschnittliche FEV_1 betrug 97.78% des Sollwerts (SD 14.99; Min 73.8%; Median 100.5%; Max 123.4%). Die VC betrug im Mittel 4.45 l (SD 1.14; Min 2.96 l; Median 4.27 l; Max 6.18 l).

Die Sensibilisierung war bei einem Probanden monovalent und bei 9 Probanden polyvalent (siehe Tabelle 11Tabelle 12).

2.7 Zielparameter

2.7.1 $PD_{20}FEV_1$

Der primäre Zielparameter war die $PD_{20}FEV_1$. Deren Berechnung erfolgte anhand folgender Formel:

$$PD_{20}FEV_1 = \left(\frac{D1}{D2} \right) \times \left[\frac{(0,8 \times FEV1(0) - FEV1(1))}{(FEV1(2) - FEV1(1))} \right] \times D1$$

D1= Kumulative Dosis vor Reaktion

D2= Kumulative Dosis nach Reaktion

FEV1(0)= FEV₁ Basis

FEV1(1)= FEV₁ vor Reaktion

FEV1(2)= FEV₁ nach Reaktion

2.7.2 FEV_1 (*forced expiratory volume in one second*)

Die FEV₁ ist dasjenige Volumen, welches innerhalb einer Sekunde aus maximaler Inspirationslage forciert ausgeatmet werden kann (TIFFENEAU-Test). Sie wird als wichtigster Parameter zur Verifizierung einer Atemwegsobstruktion angesehen.

Die FEV₁ steht in direkter und linearer Proportion mit der klinischen Verschlechterung von Symptomen und steigt bei erfolgreicher Therapie an. Daher kann sie zur Bestimmung des Grades der Obstruktion herangezogen und zur Verlaufskontrolle bei Patienten mit Asthma und COPD herangezogen werden. Die FEV₁ wird in Prozent bezüglich des Vorhersagewerts angegeben.

2.7.3 RAW (*Resistance*)

Der RAW steht für den Atemwegswiderstand (Resistance). Er beschreibt den Strömungswiderstand in den Atemwegen bei definierter Atmung.

Die Messung des RAW erfolgt im Bodyplethysmographen. Durch die Messung der Druck-Flussstärke-Beziehung kann der Atemwegswiderstand abgeschätzt werden.

Bei obstruktiven Lungenerkrankungen ist der Atemwegswiderstand charakteristischer Weise erhöht.

Die Einheit in der der RAW angegeben wird ist kPa/l x s.

2.8 Randomisierung

Die Randomisierung erfolgte durch die Waldapotheke, Waldstr. 13-15, 23812 Wahlstedt, Deutschland. Randomisiert wurde nach dem 1:1 Prinzip.

2.9 Allergologische Diagnostik

Bei allen Teilnehmern wurde eine allergologische Anamnese anhand eines standardisierten allergologischen Fragebogens (Fragebogen zur Anamnese allergischer Atemwegserkrankungen nach Schultze- Werninghaus, Frankfurt) erhoben.

Durch einen Prick Standard Hauttest (Intrakutantest), mit Positivkontrolle (Histamin) und Negativkontrolle (NaCl), wurde das Allergietyp-I Spektrum erfasst.

Getestet wurden: Gräsermischung, Roggen, Birke, Hasel, Schwarzerle, Beifuss, Brennnessel, Löwenzahn, Spitzwegerich, Dermatophagoides Pteronyssinus, Dermatophagoides farinae, Hundehaare, Katzenhaare, Pferdehaare, Federmischung, Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus, Cladosporium herbarum, Penicillium notatum und Platane.

Zusätzlich wurde serologisch das Gesamt-IgE und das spezifische IgE für Dermatophagoides pteronyssinus und Dermatophagoides farinae mittels Radio Allergo Sorbent Test (RAST) bestimmt.

2.10 Prüfsubstanzen

Hergestellt wurden die Prüfsubstanzen von Dr. Intert, Waldapotheke, Waldstr. 13-15, 23812 Wahlstedt, Deutschland.

2.10.1 Montelukast

(Synonyme: L-706, 631, MK-0476, Singulair®)

Firma:	MSD, USA
Chemischer Name:	(R)-1-[[1-(3-(2-(7-chloro-2-quinolinyl)-ethenyl)phenyl)-3-(2-(2-hydroxy-2-propyl)phenyl)propyl)]hiomethyl]Cyclopropan-Natriumacetat
Chemische Formel:	C ₃₅ H ₃₆ 3
Molekulargewicht:	586,199

Alle Probanden erhielten zwei Dosen à 10 mg Montelukast/ Singulair® der Firma MSD, in Form einer Filmtablette, zu schlucken mit Wasser:

Eine am Abend des 19. Studientags (zwei Tage vor der zweiten Provokation), die zweite Dosis am Abend des 20. Studientags (am Abend vor der zweiten Provokation).

2.10.2 Ramatroban

(Synonyme: BAY u 3405, Baynas[®])

Firma:	Bayer AG, Germany
Chemischer Name:	(+)-(3R)-3-(4-fluorobenzenesulfonamido)- 1,2,3,4-tetrahydrocarbazole-9-propionic acid
Chemische Formel:	C ₂₁ H ₂₁ FN ₂ O ₄ S
Molekulargewicht:	416,47

Die Kombinationstherapiegruppe erhielt vier Dosen à 75 mg Ramatroban/ Baynas[®] der Firma Bayer AG, in Form einer Filmpille, zu schlucken mit Wasser:

Eine am Abend des 19. Studientags (zwei Tage vor zweiter Provokation), jeweils eine morgens und eine abends am 20. Studientag (ein Tag vor der zweiten Provokation), sowie eine am morgen der Provokation.

2.10.3 Placebo

Die Monotherapiegruppe erhielt analog der Kombinationstherapiegruppe vier Dosen Placebo in Form von Lactulose, P-Tabletten Lichtenstein[®], Hersteller Bayer AG, Filmpillen, zu schlucken mit Wasser.

2.11 Zeitlicher Ablauf

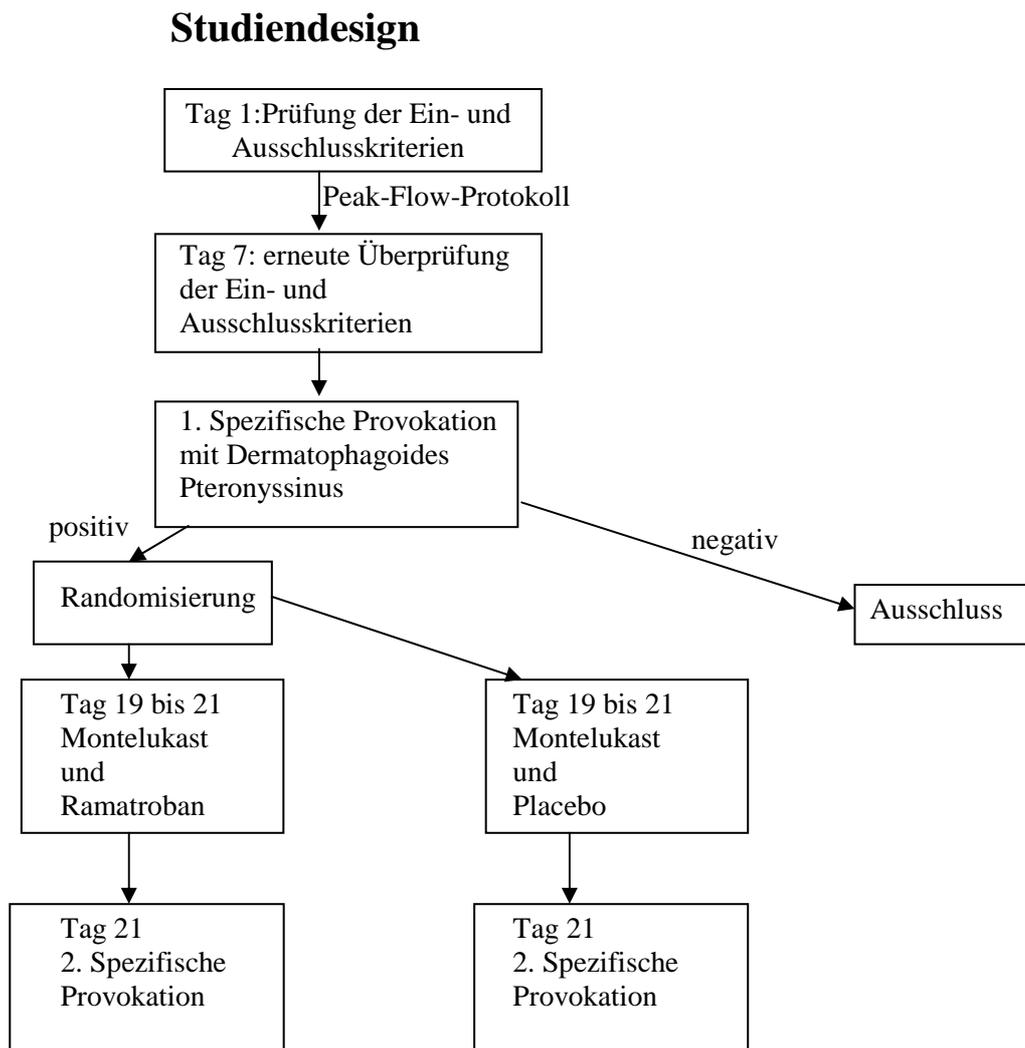


Abbildung 5 Studiendesign

Die Rekrutierung der Patienten, sowie die Durchführung der Untersuchungen erfolgte von März 2005 bis Mai 2006. Jeder Patient hatte insgesamt drei Termine in der Allergologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik Borstel. Diese gestalteten sich wie folgt:

Der erste Termin diente zur Aufklärung und Information der Probanden über die Studie, zum Screening der Probanden und zur Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien. Alle Probanden erhielten einen Probandeninformationsbogen und wurden ausführlich über Ablauf, Gegenstand und Risiken der Studie mündlich aufgeklärt. Alle Probanden gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab.

Bei allen Probanden wurde eine Bodyplethysmographie zur Messung der Lungenfunktion zwischen 8 Uhr und 10 Uhr durchgeführt. Zur allergologischen Diagnostik wurde ein intrakutaner Standardpricktest durchgeführt, sofern kein aktueller, maximal 6 Monate alter,

Pricktest vorlag. Desweiteren wurde eine Blutprobe zur Bestimmung von Differenzialblutbild, Elektrolyten, Harnstoff, Kreatinin, Kreatinkinase, Gerinnungswerten INR und PTT, GOT, GPT, γ -GT, C-reaktivem Protein sowie Gesamt-IgE und spezifischem IgE für Hausstaubmilben mittels RAST, entnommen. Bei allen Probanden wurde eine allergologische Anamnese anhand eines standardisierten Fragebogens, sowie eine Untersuchung des kardio-respiratorischen Systems durchgeführt.

Die Probanden erhielten, falls nicht vorhanden, ein Peak-Flow-Meter, dessen richtige Benutzung ihnen erklärt und überprüft wurde. Von den Probanden war über den Zeitraum der Studie ein Peak-Flow-Protokoll mit drei täglichen Messungen, sowie ein Asthmasymptomentagebuch zu führen. Anamnestisch, anhand des Pricktests sowie durch Auswertung der Peak-Flow-Protokolle konnte jeweils eine aktuelle Belastung durch andere, insbesondere saisonale Allergene ausgeschlossen werden.

Bei Frauen wurde ein β -HCG Schwangerschaftstest durchgeführt.

Sieben Tage im Anschluss an den ersten Termin fand die native (ohne Vorbehandlung) spezifische Provokation mit *Dermatophagoides pteronyssinus* statt. Zunächst erfolgte die Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien anhand des geführten Symptomen- und Peak-Flow-Protokolls. Zudem wurde nochmals die Einnahme von insbesondere oralen kortikoidhaltigen Präparaten, Antihistaminika sowie anderen, die spezifische Provokation beeinflussenden Medikamenten laut „Leitlinie zur Durchführung bronchialer Provokationstests mit Allergenen“ (65), ausgeschlossen.

Eine Bodyplethysmographie wurde zur Erfassung der Basis-Lungenfunktionsparameter durchgeführt. Lagen diese innerhalb des Normbereichs, wurde mit der spezifischen Provokation mit Hausstaubmilben (*Dermatophagoides pteronyssinus*) begonnen. Die spezifische bronchiale Provokation mit Hausstaubmilben wurde laut gültiger „Leitlinie zur Durchführung bronchialer Provokationstests mit Allergenen von der Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie“(65) durchgeführt.

Die Durchführung der spezifischen bronchialen Provokation erfolgte bei allen Probanden zur gleichen Uhrzeit (8.30Uhr \pm 1 Stunde). Als Basiswerte wurden die Lungenfunktionswerte der Bodyplethysmographie angenommen. Die Probanden bekamen als Sicherheitsmaßnahme und zur Blutentnahme eine Venenverweilkanüle. Darüber wurde die erste Blutprobe vor der Provokation entnommen.

20 Minuten nach Inhalation erfolgte die Messung der Lungenfunktionsparameter. Zeigten diese eine positive Reaktion entsprechend der Kriterien an, wurde den Probanden über

einen Spacer ein β -2 Sympathomimetikum zur Bronchospasmolyse verabreicht. Es erfolgten drei Blutentnahmen 5, 15 und 30 Minuten nach Erreichen der Positivkriterien der spezifischen bronchialen Provokation.

Die Probanden verblieben bis 5 Stunden nach der Provokation in der Klinik. In diesem Zeitraum erfolgten 1, 2, 4 und 5 Stunden nach Provokation lungenfunktionelle Kontrollen. Fiel die spezifische bronchiale Provokation mit Hausstaubmilben negativ aus, so wurden die Probanden nicht in die Studie eingeschlossen. Bei positiver Provokation erfolgte die Probandenrandomisierung.

Zwei Tage vor der spezifischen Provokation unter Therapie am 19. Tag der Studie, erfolgte bei den Probanden ein Erinnerungsanruf zur Medikamenteneinnahme.

Die spezifische Provokation unter Therapie fand somit 13 Tage nach der spezifischen Provokation ohne Therapie statt und war in der Durchführung mit dieser identisch.

Zusätzlich wurde Blut zur Überprüfung von Differenzialblutbild, Elektrolyten, Harnstoff, Kreatinin, Kreatinkinase, Gerinnungswerten INR und PTT, GOT, GPT, γ -GT und C-reaktivem Protein nach Medikamenteneinnahme abgenommen.

2.12 Lungenfunktionelle Messungen

2.12.1 Bodyplethysmographie

Zur Messung der lungenfunktionellen Daten wurde ein Master Screen Body[®] von Viasys, Seriennummer 690469 (ehemals Jäger, Nürnberg) eingesetzt. Vor Messbeginn wurde das Gerät bezüglich Volumen und Umgebungsbedingungen geeicht.

Alle Teilnehmer waren mit Lungenfunktionsmessungen vertraut.

2.12.2 Peak-Flow-Messungen

Den Probanden wurde bei der Voruntersuchung ein Peak-Flow-Meter ausgehändigt. Die Probanden wurden in dessen Gebrauch eingewiesen und instruiert, über den Zeitraum der Studie ein Peak-Flow-Protokoll mit drei täglichen Messungen zu führen. Die Probanden wurden angewiesen jeweils drei Versuche durchzuführen und den besten Wert zu protokollieren

Die RUN-IN-Phase mit siebentägiger Protokollierung der Peak-Flow-Werte diente zur Beurteilung des Schweregrads des Asthma bronchiale laut GINA-Guidelines 2002.

2.12.3 Spezifische bronchiale Provokation

Zur spezifischen bronchialen Provokation wurde Dermatophagoides pteronyssinus Allergenkonzentrat der Firma Allergopharma® Joachim Ganzer KG, Reinbek, mit 5000 SBE/ml verwendet.

Das lyophilisierte Allergen wurde nach Vorschrift des Herstellers mit dem zugehörigem Lösungsmittel versetzt. Dann erfolgte die Herstellung einer Verdünnungsreihe mit 0,9 % NaCl in den Stufen 1:100 und 1:10. Als dritte Stufe diente die unverdünnte Allergenlösung.

Als Vernebler wurde der Nebulizer De Vilbiss 646 der Firma Viasys (Nürnberg) verwendet. Dieser war auf eine maximale Verneblungsdauer von 120 sec und max. 30 Atemzüge eingestellt.

Nach einer Einwirkzeit von 20 Minuten wurde eine Bodyplethysmographie durchgeführt. Zur positiven Bewertung der Reaktion, musste mindestens eines der Kriterien Abfall der FEV1 um $\geq 20\%$ und Verdopplung des Atemwegswiderstandes und mindestens Erreichen eines Wertes von 0,6 kPa *s/l erfüllt sein. Wurden diese Kriterien nicht erreicht, wurde die Verneblung mit der nächst höheren Konzentrationsstufe fortgesetzt. Wurde keines der beiden Kriterien nach der letzten Konzentrationsstufe erreicht, galt die spezifische Provokation als negativ.

2.13 Serologische Untersuchungen

2.13.1 Blutentnahme

Am ersten und letzten Termin wurden Monovetten für Blutbild, Gerinnung und klinische Chemie entnommen. Die Bestimmung der Parameter erfolgte im klinischen Labor des Forschungszentrum Borstel.

Zusätzlich wurde am ersten Termin eine Monovette zur IgE-Bestimmung entnommen. Bestimmt wurden Gesamt-IgE, spezifisches IgE von Dermatophagoides pteronyssinus sowie von Dermatophagoides farinae. Die IgE-Bestimmung erfolgte im Labor Prof. Arndt & Partner, Laboratoriumsmedizin und Mikrobiologie, Lademannbogen 61-63 in 22339 Hamburg. An beiden Provokationstagen wurde den Probanden ein intravenöser Zugang gelegt (1,3 x 45mm Braunüle) worüber jeweils vier heparinisierte Monovetten Blut zur Bestimmung und Verlaufskontrolle von LTC₄-, LTE₄- und TXB₂-Spiegeln entnommen wurden. Die erste Blutprobe wurde vor Beginn der Provokation (Zeitpunkt 0 Minuten), die

nächsten jeweils 5, 15 und 30 Minuten nach Erreichen der Positivkriterien entnommen. Diese wurden sofort nach Entnahme auf Eis gekühlt und mit Argon überschichtet. Die Blutproben wurden bei 4°C mit 2000 Umdrehungen/min 10 Minuten lang zentrifugiert. Das Serum wurde auf fünf Eppendorfröhrchen (Aliquote) mit je 500µl aufgeteilt, erneut mit Argon überschichtet und bis zur Messung bei -80°C tiefgefroren. Die Bestimmung der LTC₄, LTE₄ und TXA₂-Spiegel erfolgte im lungenpharmakologischen Labor des Forschungszentrums Borstel.

2.13.2 Thromboxan B₂ - Spiegel Bestimmung im Serum

11-di-hydro-Thromboxan B₂ (11-dh-TXB₂) wurde mittels Thromboxane B₂ Express Elisa Kit–Monoclonal von Cayman Chemical co im lungenpharmakologischen Labor des Forschungszentrums Borstel bestimmt.

2.13.3 Leukotrien C₄ und Leukotrien E₄ - Spiegel Bestimmung im Serum

LTC₄ und LTE₄ wurden mit dem Leukotriene C₄ bzw. LTE₄ Elisa Kit von Cayman Chemical co im lungenpharmakologischen Labor des Forschungszentrums Borstel bestimmt.

2.14 Statistische Auswertung

Die zu prüfende Hypothese lautete:

„Ramatroban hat einen additiven Effekt zu Montelukast.“

Die Poweranalyse ergab für die Berechnung der Größe des Patientenkollektivs folgendes: Aufgrund der Voruntersuchungen wurde bezüglich der Wirksamkeit der Kombination von einer 60%-igen Effektivität ausgegangen. Dabei ergab sich aufgrund des gewählten Signifikanzniveaus von 0,05 und einer statistischen Power von 70% eine Größe von $n = 32$ für jeden Studienarm.

Die Studie wurde nach der geplanten Zwischenauswertung, bei der sich bereits signifikante Ergebnisse zeigten, durch den Studienleiter beendet.

Für beide Therapiegruppen wurde eine deskriptive Auswertung der lungenfunktionellen Messungen mit Berechnung des arithmetischen Mittelwerts und seiner Standardabweichung durchgeführt.

Die Ergebnisse der Lungenfunktion (FEV₁, RAW, PEF) wurden innerhalb einer Therapiegruppe zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten mittels des nicht-parametrischen Wilcoxontests für verbundene Stichproben analysiert. Für den Vergleich

der beiden Therapiegruppen miteinander wurde der ebenfalls nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test für nicht-verbundene Stichproben durchgeführt.

Die statistische Signifikanz dieser Daten wurde anhand des Computerprogramms GraphPad Prism 4.00 für Windows (GraphPad, San Diego, California, USA) überprüft. Zur Auswertung der Unterschiede der PD₂₀FEV₁-Werte bezogen auf die Therapie wurde eine ANOVA (Analysis of Variance) angewendet. Dieses Verfahren setzt normalverteilte Daten mit gleicher Varianz voraus. Um diese Voraussetzungen zu gewährleisten ist es oft notwendig die abhängige Variable zu transformieren. Hier wurde die Box-Cox-Transformation (26) verwendet, um die PD₂₀FEV₁-Daten in Bezug auf ihre Varianz zu homogenisieren.

Die Analyse der PD₂₀FEV₁ und IgE-Spiegel erfolgte mittels JMP 6.02 (SAS Institute Inc., Cary, USA). Die Analyse basierte auf der Differenz der PD₂₀FEV₁-Werte (Δ PD₂₀) zwischen erster und zweiter Provokation.

Hier wurden neben den zentralen Variablen Δ PD₂₀FEV₁ und Therapie auch drei Kovariaten mit in die Analyse eingeschlossen: die native PD₂₀FEV₁, die Thromboxan-Produktion (Mittelwert nativer und zweiter Provokation) und spezifisches IgE. Mittels einer stufenweise und kontrollierten „backward“ Regression ergab sich folgendes Modell:
 Δ PD₂₀FEV₁ = **Therapie** + **Tx** + **Tx · Therapie** + **PD₂₀FEV₁ native**.

Der Verlauf der LTC₄, LTE₄ und TXB₂ –Spiegel wurde mit einer „mixed model“ Analyse durchgeführt. Auch hierzu wurden alle Daten Box-Cox- transformiert. Die Signifikanzen zwischen den verschiedenen Untergruppen wurden mit Hilfe des Tukey Tests bestimmt. Zur Veranschaulichung des Einflusses der Thromboxanspiegel auf die PD₂₀FEV₁ wurde die lineare Thromboxanausschüttung über die Zeit (lin Tx) als Orthogonalen Polynoms 1. Grades berechnet. Um ein Orthogonales Polynom zu berechnen werden Faktoren eingesetzt, die zusammengenommen wieder 0 ergeben (-0,67 -0,22 + 0,22 + 0,67) = 0.

Die hier angewandte Formel lautet:

$$\text{"time 0" * -0.67 + "time 5" * -0.22 + "time 15" * 0.22 + "time 30" * 0.67.}$$

Damit läßt sich der lineare Trend der Thromboxanausschüttung als ein Wert darstellen.

Das Signifikanzniveau wurde bei allen Berechnungen bei $p < 0,05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleichbarkeit der Kollektive

3.1.1 $PD_{20}FEV_1$ native Provokation

Die $PD_{20}FEV_1$ dient als Messgröße zur Bestimmung der Stärke der allergischen Frühreaktion. Der Vergleich der beiden Kollektive bezüglich der $PD_{20}FEV_1$ der nativen Provokation ergab keinen signifikanten Unterschied.

Die Mittelwerte der $PD_{20}FEV_1$ der beiden Kollektive mit 0.2845 mg/ml (SD 0.3661) in der Monotherapiegruppe und 0.3153 mg/ml (SD 0.257) in der Kombinationstherapiegruppe unterschieden sich nicht voneinander, $p=0.3958$ (Abbildung 6).

Die Kollektive zeigten somit bei der nativen Provokation eine vergleichbar starke allergische Frühreaktion.

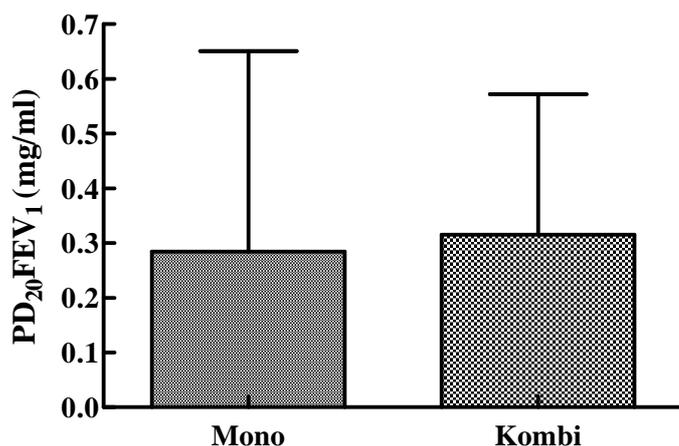


Abbildung 6 $PD_{20}FEV_1$ von Mono- und Kombinationstherapiegruppe ($n=17$; $n=10$) bei der nativen Provokation. Es besteht kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung, $p=0.4075$.

3.1.2 FEV_1 native Provokation

Auch die Basiswerte der FEV_1 , die zur Definition des Schweregrads der bronchialen Obstruktion dienen, zeigten in der nativen Provokation keinen Unterschied zwischen den beiden Kollektiven.

Der Mittelwert in der Monotherapiegruppe betrug 3.71 (SD 0.966) und der der Kombinationstherapiegruppe 3.572 (SD 0.882) (Abbildung 7).

Der Grad der Obstruktion der beiden Kollektive unterschied sich nicht.

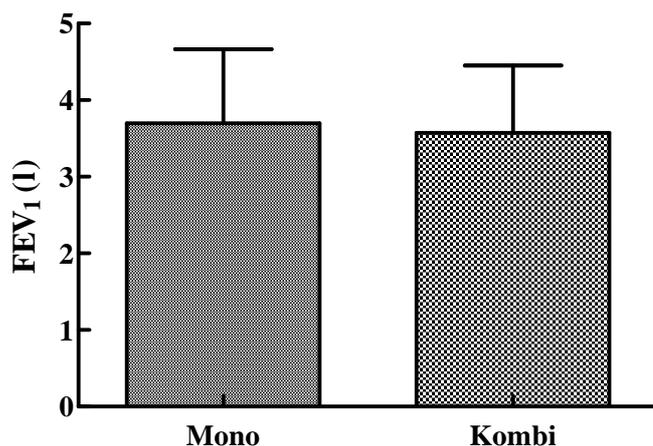


Abbildung 7 Bei der nativen Provokation gemessene Werte für die Basis-FEV₁ der beiden Therapiegruppen (Mono: n=17; Kombi: n=10). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung, $p=0.98$

3.1.3 RAW native Provokation

Die Basiswerte des RAW, die den Grad der bronchialen Obstruktion messen, zeigten ebenfalls bei der nativen Provokation keinen Unterschied zwischen den beiden Kollektiven, $p=0.4363$.

Sie betragen in der Monotherapiegruppe im Mittel 0.19 kPa*s/l (SD 0.10) und in der Kombinationstherapiegruppe 0.21 kPa*s/l (SD 0.09) (Abbildung 8).

Auch der RAW zeigte keinen Unterschied zwischen den beiden Kollektiven bezüglich des Grades der Obstruktion an.

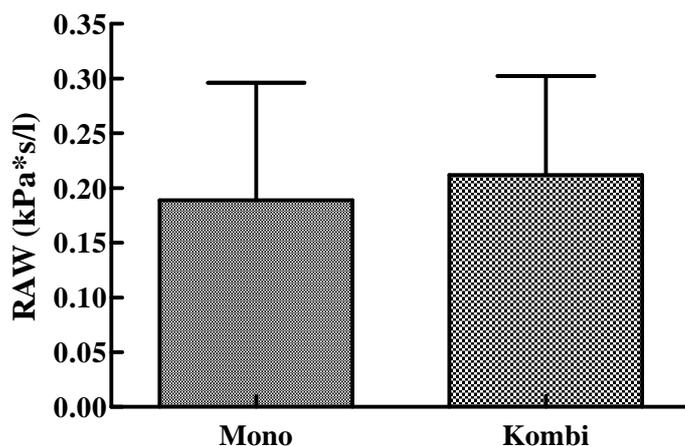


Abbildung 8 Bei der nativen Provokation gemessene Werte des Basis-RAW von beiden Therapiegruppen (Mono: n=17; Kombi: n=10). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung, $p=0.4363$.

3.1.4 Peak-Flow-Protokoll

Die im Peak-Flow-Protokoll dokumentierten morgendlichen PEF-Werte während der 7-tägigen RUN-IN-Phase lagen bei allen Individuen der beiden Kollektive innerhalb des zulässigen Schwankungsbereichs von 20%. Zwischen den beiden Kollektiven zeigte sich kein signifikanter Unterschied, $p= 0.0973$.

Die Mittelwerte des PEF in der Monotherapiegruppe zeigten Schwankungen zwischen Min 430 l/min und Max 444 l/min (Median 441 l/min; Mittelwert 437.7 l/min(SD 5.53)).

Dies entspricht einer Schwankungsbreite der Mittelwerte in dieser Gruppe von 3,15%.

In der Kombinationstherapiegruppe schwankten die Mittelwerte des morgendlichen PEF zwischen Min 417 l/min und Max 440 l/min (Median 433 l/min; Mittelwert 431.6 l/min (SD 2.83)). Dies entspricht einer Schwankungsbreite der Mittelwerte von 5.23%

(Abbildung 9).

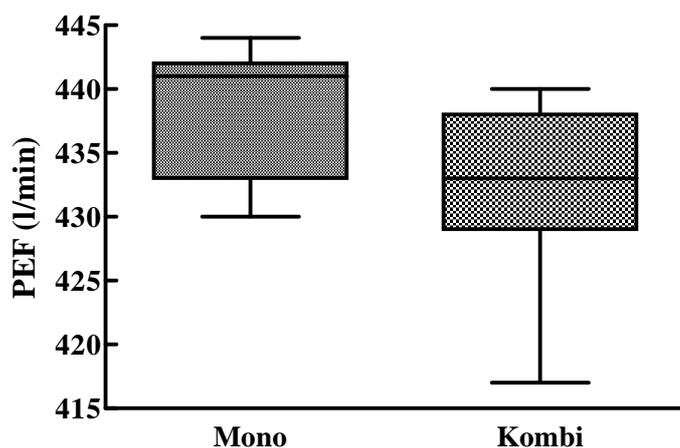


Abbildung 9 Morgendliche Peak-Flow-Werte während der RUN-IN-Phase, dargestellt als Box-plot. Verglichen wurden die Mittelwerte der einzelnen Tage. Es zeigte sich keine Differenz zwischen den beiden Therapiegruppen (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$), $p= 0.0973$.

3.1.5 Sensibilisierung

Die Gesamt-IgE-Spiegel zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Kollektiven. In der Monotherapiegruppe lag der Mittelwert des Gesamt-IgE-Spiegel bei 338.6 kU (SD 306.6), in der Kombinationstherapiegruppe lagen diese Spiegel entsprechend bei 211.1 kU (SD 249.3), $p=0.2804$ (Abbildung 10).

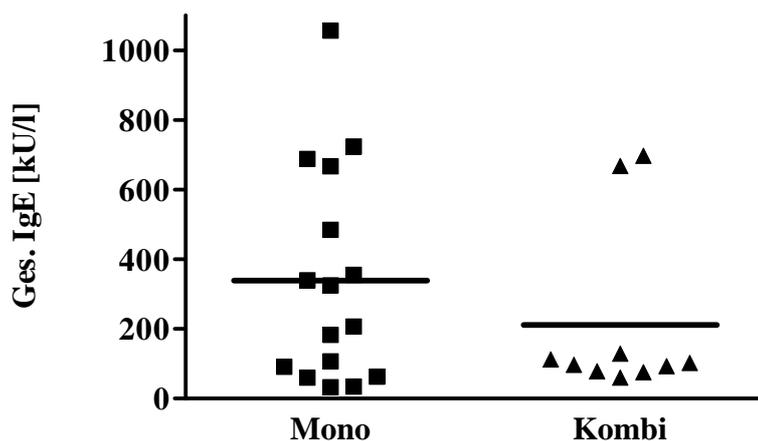


Abbildung 10 Gesamt-IgE-Spiegel der einzelnen Probanden beider Therapiegruppen (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$)

Der Spiegel für spezifisches IgE von *Dermatophagoides pteronyssinus* lag in der Monotherapiegruppe mit 39.77/40.7 kU (SD 33.95/4.87) höher als in der Kombinationstherapiegruppe 14.49/26.38 kU (SD 12.76/6.16), erreichte aber mit $p=0.0807$ kein Signifikanzniveau (Abbildung 11).

Somit zeigte sich weder im Grad der Gesamtsensibilisierung noch in der spezifischen Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilben ein signifikanter Unterschied.

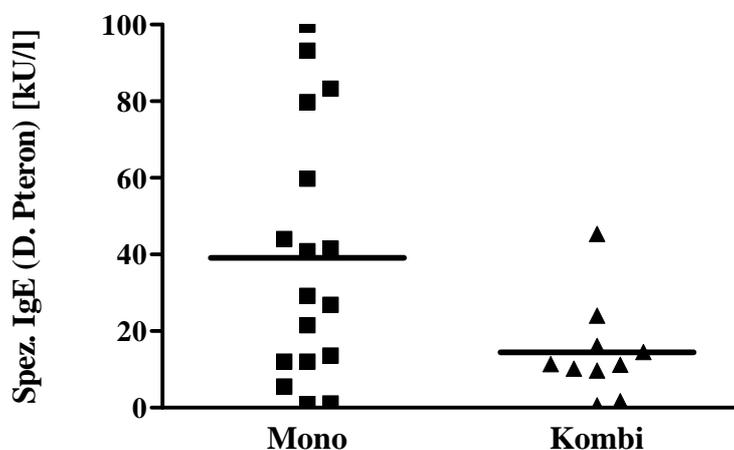


Abbildung 11 Spezifisches IgE von *Dermatophagoides pteronyssinus* beider Therapiegruppen (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$)

Im intrakutanen Pricktest für Hausstaubmilben (*Dermatophagoides pteronyssinus*) wurden für die Monotherapiegruppe 5,24 mm (SD 0.83) gemessen und in der Kombinationstherapiegruppe 4,5 mm (SD 0.97), $p=0.0611$ (Abbildung 12).

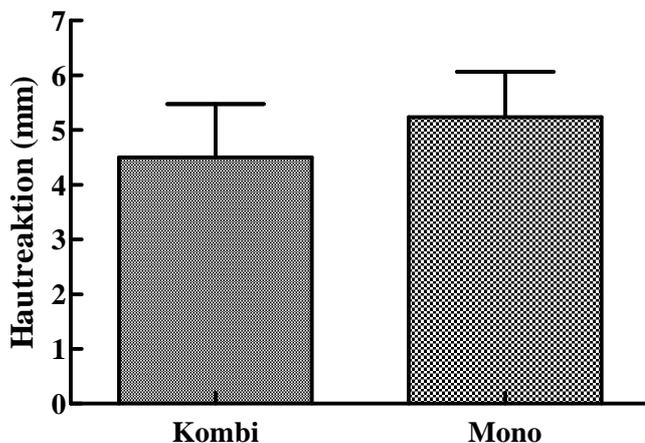


Abbildung 12 Intrakutaner Pricktest für Hausstaubmilben (*Dermatophagoides pteronyssinus*) der beiden Therapiegruppen (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$), $p=0.0611$.

3.2 Vergleichbarkeit der Provokationen

3.2.1 FEV_1

Die intraindividuelle Konsistenz der Basis- FEV_1 -Werte (Abb. 9), sowohl in der Monotherapiegruppe als auch in der Kombinationstherapiegruppe, schließt eine Beeinflussung der Provokationen durch unterschiedliche Krankheitsaktivität der einzelnen Probanden zu den beiden Provokationszeitpunkten aus.

In der Monotherapiegruppe lag die Basis- FEV_1 in der nativen Provokation im Mittel bei 3.70 l (SD 0.97) und bei der zweiten Provokation bei 3.72 l (SD 0.90), $p=0.7315$. In der Kombinationstherapiegruppe lagen die Basis- FEV_1 entsprechend bei 3.57 l (SD 0.88) und 3.60 l (SD 0.87), $p=0.4316$ (Abbildung 13).

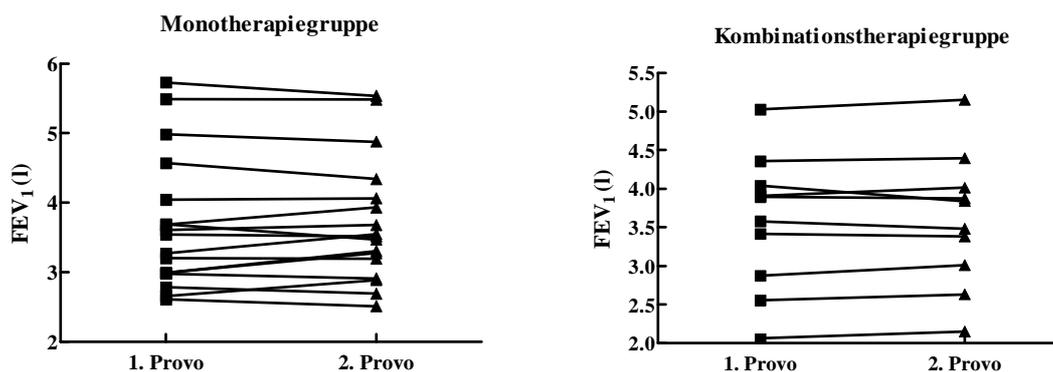


Abbildung 13 Dargestellt sind die Basis-FEV₁-Werte innerhalb der beiden Therapiegruppen von erster und zweiter Provokation. Weder in Mono (n= 17)- noch in Kombinationstherapiegruppe (n= 10) ist eine Inkonsistenz sichtbar, $p= 0.7315$ bzw. $p= 0.4316$.

3.2.2 RAW

Die Basis-Werte des RAW zeigten ebenfalls keine signifikanten Schwankungen zwischen den beiden Provokationzeitpunkten, so dass auch hier davon ausgegangen werden kann, dass zu den beiden Provokationszeitpunkten keine unterschiedliche Krankheitsaktivität vorlag, die das Ergebnis der Provokation beeinflusst hat.

In der Monotherapiegruppe lag der Basis-RAW in der nativen Provokation im Mittel bei 0.19 kPa*s/l (SD 0.11 und bei 0.17 kPa*s/l (SD 0.08) in der zweiten Provokation, $p= 0.5261$.

In der Kombinationstherapiegruppe lagen die entsprechenden Werte bei 0.21 kPa*s/l (SD 0.09) bzw. 0.22 kPa*s/l (SD 0.09), $p= 0.6523$ (Abbildung 14).

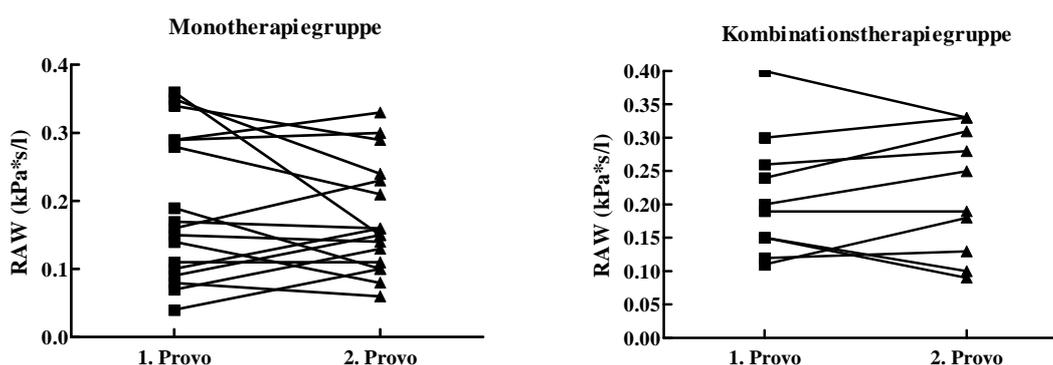


Abbildung 14 Dargestellt sind die Basis-RAW-Werte der einzelnen Probanden innerhalb der Therapiegruppen (Mono: n=17; Kombi: n=10) von erster und zweiter Provokation, $p= 0.5261$ bzw. $p= 0.6523$.

3.2.3 Peakflow

Die PEF-Werte vom Morgen der nativen und zweiten Provokation unterschieden sich weder in Mono- noch in Kombinationstherapiegruppe signifikant voneinander. Die erste Provokation hatte somit keinen anhaltenden Effekt auf den PEF.

In der Monotherapiegruppe betrug der Mittelwert der nativen Provokation 420 l/min (SD 130.3) und der der zweiten Provokation 422.9 l/min (SD127.8), $p= 0.8077$. In der Kombinationstherapiegruppe waren die entsprechenden Werte 411 l/min (SD 108.1) und 410 l/min(SD 101.4), $p= 0.8438$ (Abbildung 15).

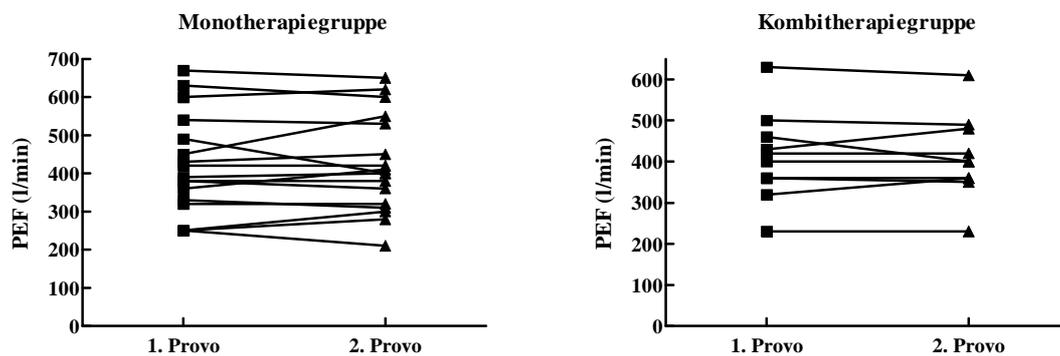


Abbildung 15 Dargestellt sind die individuellen Messwerte des morgendlichen Peak-Flow vom Morgen der nativen und vom Morgen der zweiten Provokation (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$), $p= 0.8077$ bzw. $p= 0.8438$.

Abbildung 16 zeigt, dass die Peak-Flow-Werte nach der nativen Provokation abfielen, sie jedoch das Ausgangsniveau vor der zweiten Provokation wieder erreichten.

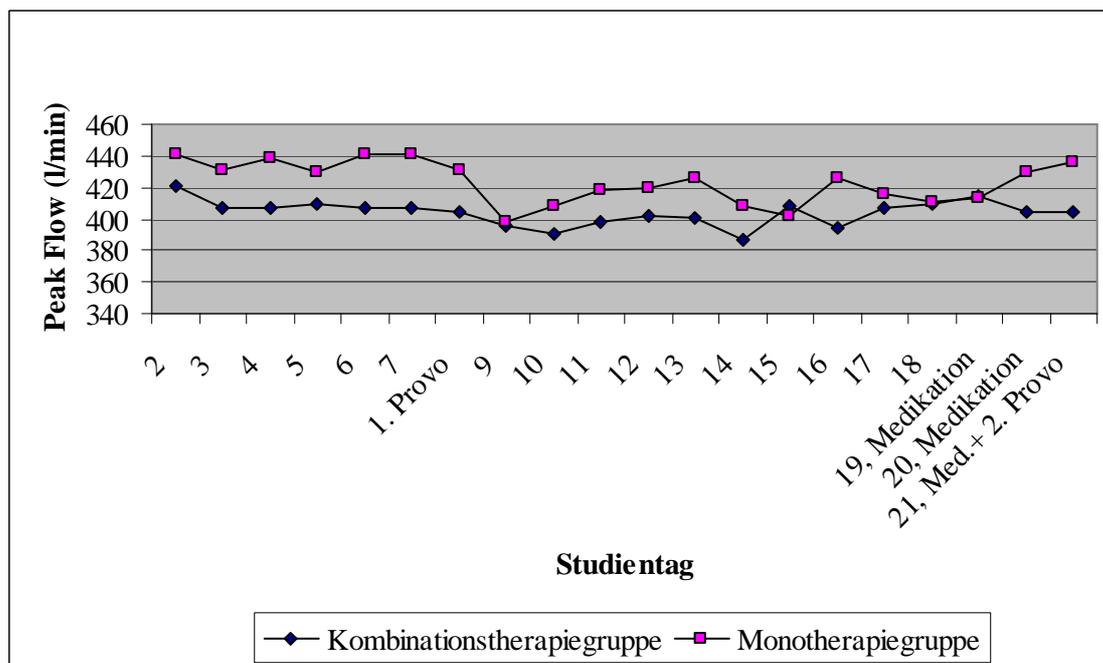


Abbildung 16 Verlauf der Peak-Flow-Werte der beiden Therapiegruppen über den Studienzeitraum (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$).

3.3 Einfluss der Therapie auf die PD₂₀FEV₁

3.3.1 Monotherapiegruppe

Unter Therapie mit Montelukast war eine signifikante Steigerung der PD₂₀FEV₁ im Vergleich zur nativen Provokation zu beobachten, $p=0.003$.

Die PD₂₀FEV₁ lag bei der nativen Provokation im Mittel bei 0.2845 mg/ml (SD 0.3661). Bei der zweiten Provokation unter Therapie stieg diese auf 1.467 mg/ml (SD 2.042) (Abbildung 17). Drei Probanden erreichten bei der zweiten spezifischen inhalativen Provokation nicht die Positivkriterien.

Die Steigerung der PD₂₀FEV₁ um das 5.2fache zeigt den hemmenden Effekt von Montelukast auf die allergische Frühreaktion bei spezifischer bronchialer Provokation mit Hausstaubmilben.

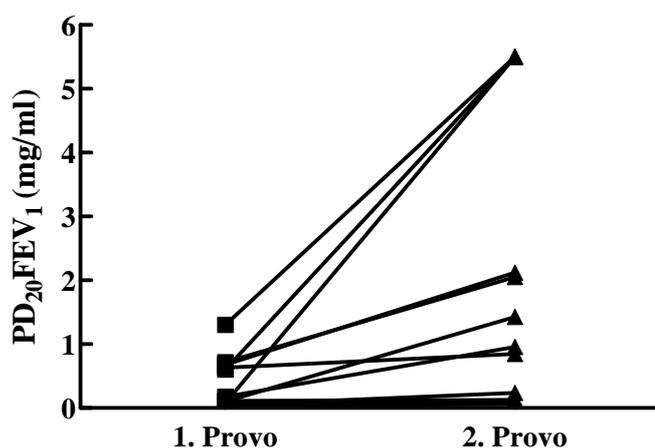


Abbildung 17 Dargestellt ist die PD₂₀FEV₁ der nativen und zweiten Provokation der Monotherapiegruppe ($n=17$). Die PD₂₀FEV₁ ist in der zweiten Provokation im Vergleich zur nativen Provokation signifikant erhöht, $p=0.003$.

3.3.2 Kombinationstherapiegruppe

Unter Therapie mit Montelukast und Ramatroban war eine signifikante Steigerung der PD₂₀FEV₁ im Vergleich zur nativen Provokation beobachtbar, $p=0.001$.

Die originalen Werte der PD₂₀FEV₁ lagen in der nativen Provokation im Mittel bei 0.2949 mg/ml (SD 0.2637). Bei der zweiten Provokation unter Therapie stieg diese auf 1.857 mg/ml (SD 2.047) an (Abbildung 18). Zwei Probanden erreichten bei der zweiten spezifischen inhalativen Provokation nicht die Positivkriterien.

Die Steigerung der PD₂₀FEV₁ um das 7fache zeigt den hemmenden Einfluss der Kombinationstherapie von Montelukast und Ramatroban auf die allergische Frühreaktion bei spezifischer bronchialer Provokation mit Hausstaubmilben.

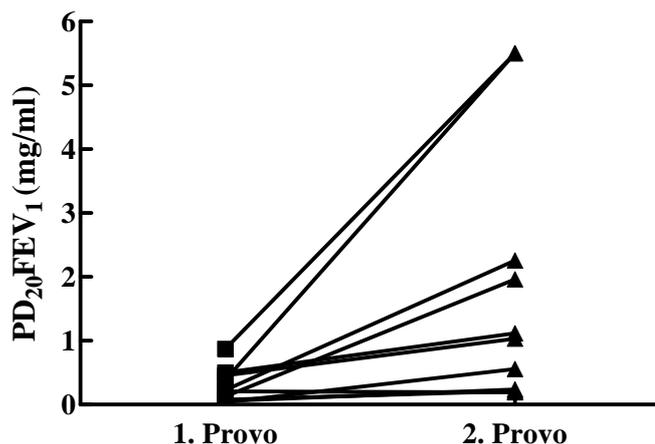


Abbildung 18 Dargestellt sind die $PD_{20}FEV_1$ der nativen und zweiten Provokation der Kombinationstherapiegruppe ($n=10$). Die $PD_{20}FEV_1$ ist in der zweiten Provokation im Vergleich zur nativen erhöht.

3.3.3 Vergleich der beiden Therapiegruppen

Der Einfluss der Kombinationstherapie mit Montelukast und Ramatroban ist der Monotherapie mit Montelukast signifikant überlegen, $p=0.0312$ (Abbildung 19).

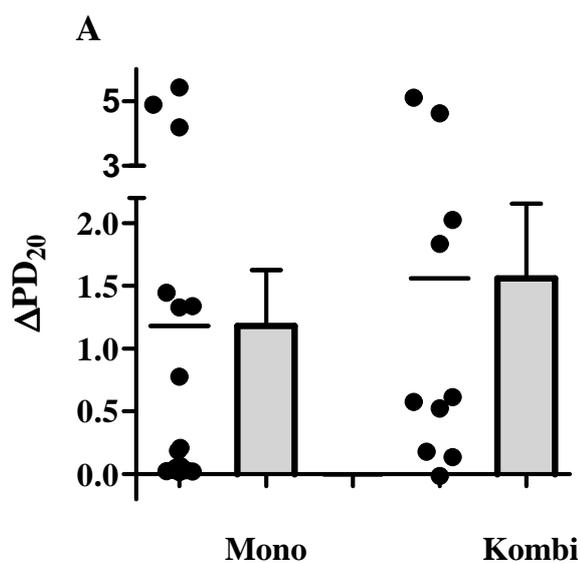
Die Kovariate der mittleren linearen Thromboxanausschüttung über die Zeit zeigt einen signifikanten Einfluss auf den Therapieerfolg mit $p=0.0112$ (Abbildung 20). Je höher der Thromboxanspiegel ist, desto größer ist der Effekt der Therapie. Dabei zeigt sich in der Kombinationstherapiegruppe ein tendenziell größerer Einfluss der mittleren linearen Thromboxanausschüttung auf die $PD_{20}FEV_1$ und somit auf den Therapieerfolg, als in der Monotherapiegruppe.

Zudem besteht ein Einfluss der initialen $PD_{20}FEV_1$ auf den Therapieerfolg mit $p=0.0004$.

Der Einfluss der initialen $PD_{20}FEV_1$ auf die $PD_{20}FEV_1$ der zweiten Provokation zeigt jedoch keinen wesentlichen Unterschied zwischen den beiden Therapiegruppen, so dass die Auswirkung der initialen $PD_{20}FEV_1$ auf die Signifikanz gering ist.

Je höher die initiale $PD_{20}FEV_1$ ist, desto besser ist der Therapieerfolg (Abbildung 21).

Das Produkt aus beiden Kovariaten zeigt, dass die beiden Kovariaten unabhängig voneinander sind, $p=0.1124$.



B korrigiert für native PD_{20} und Thromboxan

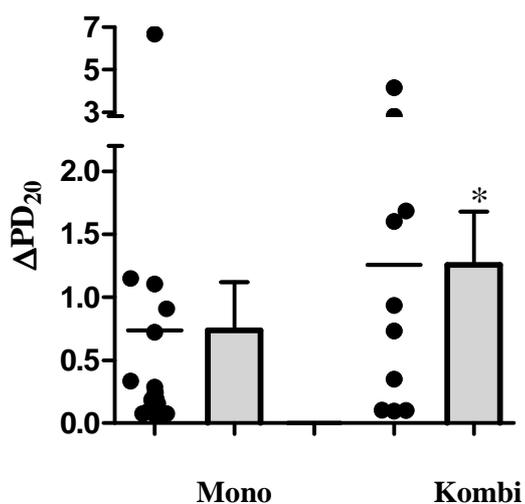


Abbildung 19 A Dargestellt ist die ΔPD_{20} von Mono- und Kombinationstherapiegruppe ($n=17$; $n=10$).

B Dargestellt sind die korrigierten Werte der ΔPD_{20} für die Kovariaten der nativen PD_{20} und der linearen Thromboxanausschüttung. Durch die Hinzunahme der Kovariaten zeigt sich, dass der Therapieerfolg in der Kombinationstherapiegruppe signifikant größer ist als in der Monotherapiegruppe, $p=0.0312$.

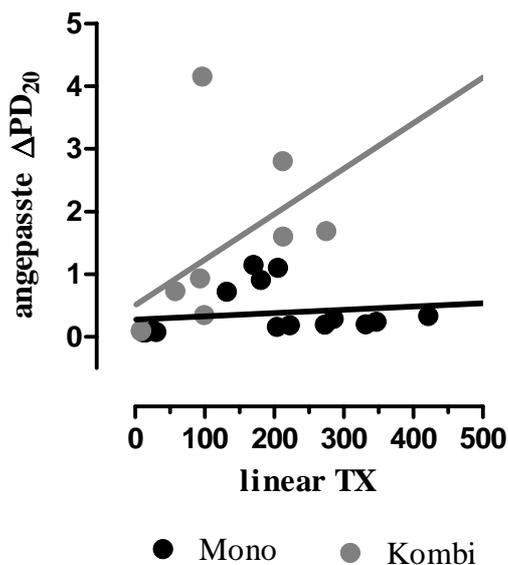


Abbildung 20 Einfluss der Thromboxanausschüttung über die Zeit auf den Therapieerfolg ($\Delta PD_{20}FEV_1$). Je höher der Thromboxanspiegel, desto besser ist die Wirksamkeit der Therapie (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$). Linear TX ist das orthogonale Polynom, welches den linearen Trend der Thromboxanausschüttung über die Zeit angibt. Dabei ist die Fläche unter der Kurve des orthogonalen Polynoms als Trend für die TX-Ausschüttung angesehen worden.

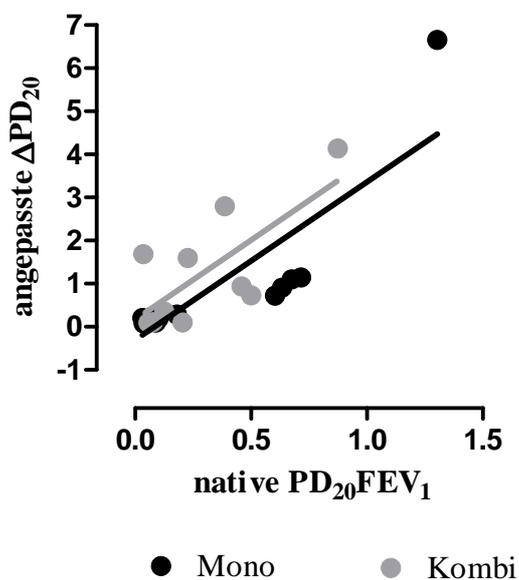


Abbildung 21 Einfluss der nativen $PD_{20}FEV_1$ auf den Therapieerfolg ($\Delta PD_{20}FEV_1$). Der parallele Verlauf der beiden Graphen zeigt, dass die Beeinflussung der $\Delta PD_{20}FEV_1$ durch die native $PD_{20}FEV_1$ in beiden Therapiegruppen gleichermassen ausgeprägt ist (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$).

3.4 Thromboxan B₂-Serum-Spiegel

Die Thromboxanspiegel stiegen nach Erreichen der Positivkriterien der bronchialen Provokation (5, 15 und 30 Minuten) im Vergleich zur Messung vor Provokation (0 min) signifikant an, $p < 0.0001$.

Die TXB₂-Spiegel von nativer und zweiter Provokation unterschieden sich nicht signifikant, $p = 0.1660$. Jedoch waren die TXB₂-Spiegel der zweiten Provokation tendenziell niedriger als die der nativen Provokation (Tabelle 3, Tabelle 4).

Es zeigte sich außerdem kein Unterschied zwischen Mono- und Kombinationstherapiegruppe, $p = 0.1009$. Für den zeitlichen Verlauf der TXB₂-Spiegel zeigte sich keine Abhängigkeit von der Therapie, $p = 0.3403$ (Abbildung 22).

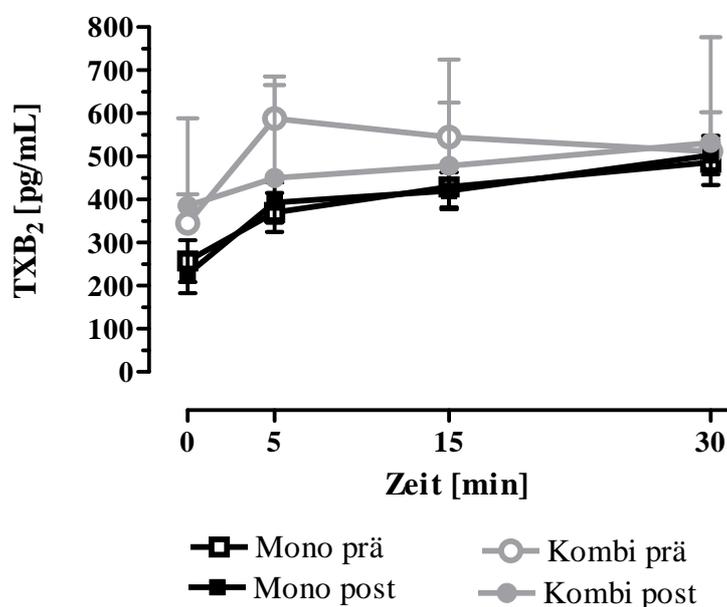


Abbildung 22 TXB₂-Spiegel-Messung im Serum vor inhalativer Provokation (0 min) und nach Erreichen der Positivkriterien (5 min, 15 min und 30 min), dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$).

TXB ₂ -Serum-Spiegel (pg/ml)	0 min	5 min	15 min	30min
1. Provokation	257.2 (201.0)	370.2 (185.8)	429.1 (193.2)	486.4 (216.5)
2. Provokation	207.5 (185.7)	374.6 (212.2)	387.1 (195.5)	462.2 (209.4)

Tabelle 3 Monotherapiegruppe ($n = 17$), Mittelwert und Standardabweichung

TXB ₂ -Serum-Spiegel (pg/ml)	0 min	5 min	15 min	30min
1. Provokation	344.7 (212.4)	587.8 (245.3)	545 (251.8)	511.2 (289)
2. Provokation	385.6 (203.2)	449.9 (236)	478.1 (247.1)	531.7 (245.3)

Tabelle 4 Kombinationstherapiegruppe ($n = 10$), Mittelwert und Standardabweichung

3.5 Leukotrien C₄-Serum-Spiegel

Die LTC₄-Spiegel im Serum stiegen nach Erreichen der Positivkriterien der bronchialen Provokation im Vergleich zu vor der Provokation signifikant an, $p= 0.0011$.

Bei der zweiten Provokation zeigten sich signifikant niedrigere LTC₄-Spiegel als bei der nativen Provokation, $p< 0.0001$.

Zwischen Mono- und Kombinationstherapiegruppe zeigte sich kein Unterschied, $p= 0.1051$.

Die Therapie hatte mit $p= 0.0369$ einen signifikanten Einfluss auf die Provokation.

Der zeitliche Verlauf der LTC₄-Spiegel zeigte keine Abhängigkeit von der Therapie, $p= 0.7161$ (Abbildung 23, Tabelle 5, Tabelle 6).

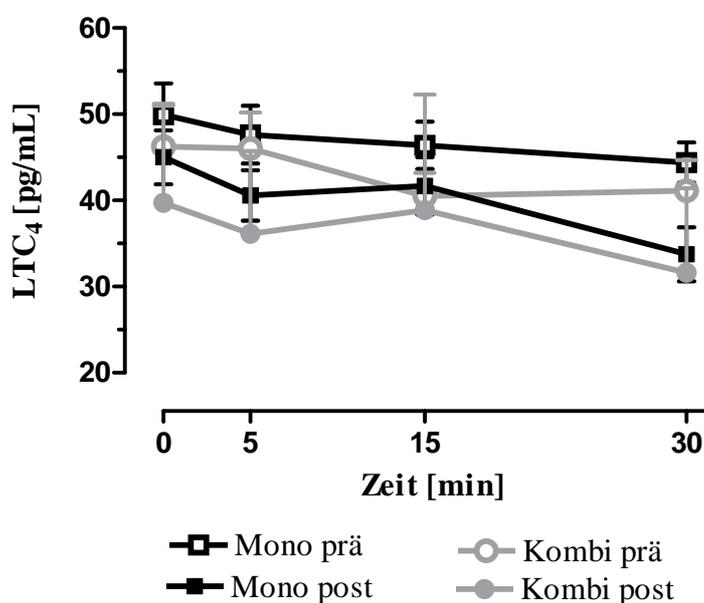


Abbildung 23 LTC₄-Spiegel-Messung im Serum vor inhalativer Provokation (0 min) und nach Erreichen der Positivkriterien (5 min, 15 min und 30 min), dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$)

LTC ₄ -Serum-Spiegel (pg/ml)	0 min	5 min	15 min	30min
1. Provokation	50.94 (14.72)	49 (14.21)	47.41 (11.31)	44.76 (9.2)
2.Provokation	44.59 (12.17)	40.41 (11.62)	42.29 (13.66)	34.59 (12.11)

Tabelle 5 Monotherapiegruppe ($n= 17$), Mittelwert und Standardabweichung

LTC ₄ -Serum-Spiegel (pg/ml)	0 min	5 min	15 min	30min
1. Provokation	39.70 (9.97)	39.4 (12.29)	42.50 (9.97)	37 (8.51)
2.Provokation	40.5 (11.12)	36.40 (8.75)	38.1 (8.06)	33.80(10.89)

Tabelle 6 Kombinationstherapiegruppe ($n= 10$), Mittelwert und Standardabweichung

3.6 Leukotrien E₄-Serum-Spiegel

Die LTE₄-Spiegel im Serum stiegen nach Erreichen der Positivkriterien der bronchialen Provokation signifikant an, $p < 0.0001$.

Die LTE₄-Spiegel der zweiten Provokation waren signifikant höher als die der nativen Provokation, $p < 0.0001$. Zwischen Mono- und Kombinationstherapiegruppe zeigte sich dabei kein Unterschied, $p = 0.5749$.

Die unterschiedlich hohen LTE₄-Spiegel zu dem Provokationszeitpunkt zeigten eine Abhängigkeit von der Therapie mit $p = 0.0059$.

Die Therapie hatte jedoch keinen Einfluss auf den zeitlichen Verlauf der LTE₄-Spiegel, $p = 0.8418$ (Abbildung 24, Tabelle 7, Tabelle 8).

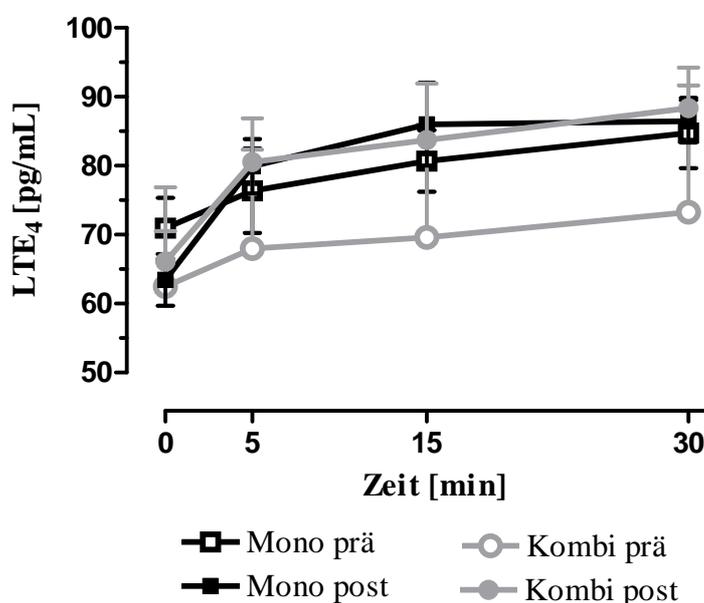


Abbildung 24 LTE₄-Spiegel-Messung im Serum vor inhalativer Provokation (0 min) und nach Erreichen der Positivkriterien (5 min, 15 min und 30 min), dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung (Mono: $n=17$; Kombi: $n=10$)

LTE ₄ -Serum-Spiegel (pg/ml)	0 min	5 min	15 min	30 min
1. Provokation	69.41 (17.59)	75.41 (23.55)	79.18 (17.79)	83.47 (19.9)
2. Provokation	69.24 (15.31)	80.24 (16.10)	87.71 (24.80)	86.12 (12.75)

Tabelle 7 Monotherapiegruppe ($n = 17$), Mittelwert und Standardabweichung

LTE ₄ -Serum-Spiegel (pg/ml)	0 min	5 min	15 min	30 min
1. Provokation	60.60 (13.73)	68.3 (15.10)	70.00 (16.38)	74.3 (19.04)
2. Provokation	75.4 (22.58)	81.80 (21.69)	84.70 (28.41)	90.5 (19.13)

Tabelle 8 Kombinationstherapiegruppe ($n = 10$), Mittelwert und Standardabweichung

4 Ergebnisdiskussion

Die allergische Frühreaktion beim Asthma bronchiale ist durch die Ausschüttung von Histamin und verschiedenen Lipidmediatoren charakterisiert, die für die typischen Asthmasymptome mitverantwortlich sind. Dazu gehören unter anderem Leukotriene, Thromboxane und PGD₂.

Die Annahme, dass durch die Blockade der entsprechenden Rezeptoren dieser Mediatoren die allergische Frühreaktion moduliert werden kann, ist daher naheliegend. Die Hemmung der allergischen Frühreaktion durch Montelukast wurde bereits vielfach untersucht.

Montelukast führt zu einer signifikanten Hemmung, die jedoch im Vergleich mit Steroiden und β_2 -Sympathomimetika geringer ausgeprägt ist. Auch die Wirkung von Ramatroban auf die allergische Frühreaktion ist bereits untersucht worden. Es gibt jedoch nur sehr wenige Studien, insbesondere an Tiermodellen, die den Einfluss der Kombination von Leukotrien- und Thromboxanrezeptor-Antagonisten auf die allergische Frühreaktion untersucht haben. Diese Studien unterstützen die Hypothese, dass die gleichzeitige Inhibition des CysLT1-Rezeptors und des TP-Rezeptors einen stärkeren Effekt auf die allergische Frühreaktion zeigt, als ein CysLT1-Rezeptorantagonist allein.

Bis auf einen Case-report sind bisher aber keine klinischen Studien zu dieser Kombination veröffentlicht worden. Ziel der RAMONA-Studie war es daher, mittels einer spezifischen Provokation mit Hausstaubmilben zu untersuchen, ob die hemmende Wirkung von Montelukast auf die allergische Frühreaktion zusätzlich durch den Thromboxanrezeptorantagonisten Ramatroban moduliert wird.

4.1 Methodenkritik

Als Testmethode wurde eine spezifische bronchiale Provokation mit einem perennialem Allergen, *Dermatophagoides pteronyssinus*, gewählt. Anamnestisch und durch die Testung außerhalb von saisonalen Allergenbelastungen, konnte bei den meist polyvalent sensibilisierten Probanden ein Einfluss von anderen Allergenen auf die bronchiale Provokation und Krankheitsaktivität weitgehend ausgeschlossen werden.

Die Wahl der PD₂₀FEV₁ als primärer Zielparameter zur Messung der bronchialen Hyperreagibilität ist in der Literatur gut hinterlegt, da die PD₂₀FEV₁ nicht nur Aufschluss über den FEV₁-Abfall bei einer bronchialen Provokation, sondern auch den zeitlichen Verlauf und die Intensität der Reaktion mit einbezieht. So konnten Kopferschmitt-Kubler et al. zeigen, dass die PD₂₀FEV₁ eine gut reproduzierbare Methode ist, um die bronchiale Hyperreagibilität zu messen (94). Nach Inman et al. kann die maximale Reaktion nach

Allergen-Inhalation sowohl in der Sofort- als auch in der Spätreaktion mit etwa $\pm 23\%$ reproduziert werden. Auch mit wenigen Probanden können so reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden (78).

4.1.1 Vergleichbarkeit der Kollektive

Lungenfunktionell zeigten sich in den beiden Therapiegruppen vergleichbare Ausgangswerte. Die basalen Werte der FEV₁ mit $p=0.98$ (siehe Abbildung 7) und des RAWs mit $p=0.4363$ (siehe Abbildung 8) zeigten keine Unterschiede zwischen den beiden Therapiegruppen.

Auch die in der nativen spezifischen bronchialen Provokation gemessene PD₂₀FEV₁ zeigte mit 0.2845 mg/ml (SD 0.3661) in der Monotherapiegruppe und 0.3153 mg/ml (SD 0.257) in der Kombinationstherapiegruppe keinen Unterschied zwischen den beiden Therapiegruppen, $p=0.3958$.

Die Gesamt-IgE-Spiegel zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Kollektiven, $p=0.414$, lagen jedoch in der Monotherapiegruppe mit 338.6 kU (SD 306.6) höher als in der Kombinationstherapiegruppe mit 211.1 kU (SD 249.3).

Ebenso lag der Spiegel für spezifisches IgE von *Dermatophagoides pteronyssinus* in der Monotherapiegruppe mit 39.77 kU (SD 33.95) höher als in der Kombinationstherapiegruppe 14.49 kU (SD 12.76), erreichte aber mit $p=0.0614$ kein Signifikanzniveau (siehe Abbildung 11). Als Kovariaten in die statistische Analyse einbezogen, zeigten sie keinen Einfluss auf das Ergebnis.

Im intrakutanen Pricktest zeigte sich ebenso eine tendentiell größere Hautinduration in der Monotherapiegruppe mit 5.24mm (SD 0.83) als in der Kombinationstherapiegruppe mit 4.5mm (SD 0.97), die allerdings ebenfalls kein Signifikanzniveau erreichte, $p=0.0611$ (siehe Abbildung 12).

Von der TENOR-study-group ist beschrieben worden, dass die Höhe des IgE-Spiegels mit dem Asthma-Schweregrad korreliert (25). Liu et al. zeigten jedoch, dass weder Gesamt-IgE-Level, noch die Höhe des spezifischen IgEs für *Dermatophagoides pteronyssinus* (D1) signifikant mit der PC₂₀ bei Metacholinprovokation korreliert sind (104). So ist die Beeinflussung der Studienergebnisse durch die unterschiedlich hohen Level für Gesamt-IgE und spezifisches IgE für *Dermatophagoides pteronyssinus* in den beiden Therapiegruppen als unwahrscheinlich anzusehen.

4.1.2 Vergleichbarkeit der beiden Provokationen

Der Abstand von 14 Tagen zwischen den beiden Provokationen wurde gewählt, da dies der Zeitraum ist, nachdem eine Beeinflussung der Provokation durch eine vorangegangene Provokation unwahrscheinlich ist (65). Kopferschmitt-Kubler et al. konnten zudem zeigen, dass die Ergebnisse der spezifischen bronchialen Provokation nach einem Intervall von zwei Wochen gut reproduzierbar sind (94).

Die basalen Werte der FEV₁ zu den unterschiedlichen Provokationszeitpunkten unterschieden sich weder in der Monotherapiegruppe mit $p= 0.7315$, noch in der Kombinationstherapiegruppe, $p= 0.4316$ (Abbildung 13).

Ebenso zeigten die basalen Werte des RAW keinen Unterschied mit $p= 0.5261$ in der Monotherapiegruppe und $p= 0.6523$ in der Kombinationstherapiegruppe (Abbildung 14). Aus Abbildung 16 ist abzulesen, dass sich der PEF bei den Probanden zwei Wochen nach der ersten Provokation wieder stabilisiert hatte. Somit kann man davon ausgehen, dass zu dem Zeitpunkt der beiden Provokationen keine unterschiedliche Krankheitsaktivität bestand, die einen Einfluss auf den Verlauf der Provokation hätte nehmen können. Zu beiden Provokationszeitpunkten wurde die spezifische inhalative Provokation anhand des gleichen Protokolls durchgeführt.

4.2 Medikamente

Für Montelukast hat sich eine Dosis von 10 mg täglich als wirksam und sicher erwiesen. Eine höhere Dosierung bringt keinen additiven Effekt (119). Pearlman et al. konnten zeigen, dass der Wirkeintritt von Montelukast nach einer einzelnen Dosis von 10 mg bereits zwei Stunden nach Applikation eintritt und bis zu 24 Stunden anhält (134).

In der RAMONA-Studie erhielten alle Probanden zwei Tage vor der zweiten Provokation jeweils abends eine Dosis von 10mg Montelukast. Es ist davon auszugehen, dass der beobachtete Effekt auf die Einnahme von Montelukast zurückzuführen ist.

Für Ramatroban hat sich eine Dosis von zweimal 75 mg täglich als sicher und wirksam erwiesen. Ramatroban wird rasch aus dem Gastro-Intestinal-Trakt resorbiert. Nach circa zwei Stunden ist die Plasmaspitzenkonzentration erreicht, so dass davon ausgegangen werden kann, dass Ramatroban dann auch seinen vollen therapeutischen Effekt zeigt (15). In der RAMONA-Studie erhielten die Probanden der Kombinationstherapiegruppe zwei Tage vor Provokation jeweils abends, am Tag vor und am Tag der Provokation jeweils morgens 75 mg Ramatroban. Es ist davon auszugehen, dass der beobachtete Effekt auf die Einnahme von Ramatroban zurückzuführen ist.

Bei den Probanden beider Gruppen wurden keinerlei Nebenwirkungen beobachtet. Durch die kurze Dauer der Einnahme war das Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen als gering einzuschätzen.

4.3 Der Effekt von Montelukast auf die allergische Frühreaktion

In der RAMONA-Studie konnte ein signifikanter Einfluss von Montelukast auf die allergische Frühreaktion nach bronchialer Provokation mit Hausstaubmilben bei leicht bis mittelgradigem Asthma bronchiale gezeigt werden, $p=0.037$.

Die $PD_{20}FEV_1$ lag bei der nativen Provokation im Mittel bei 0.5058 mg/ml (SD 1.004). Bei der zweiten Provokation unter Therapie stieg diese auf 1.504 mg/ml (SD 1.859) an (Abbildung 17).

Einige Autoren, haben den Einfluss von Leukotrienrezeptorantagonisten auf die allergische Frühreaktion nach Allergenprovokation untersucht. Diamant et al. konnten in einer Studie mit 12 Männern zeigen, dass Montelukast signifikant vor einer allergischen Früh- und Spätreaktion nach inhalativer Provokation mit Hausstaubmilben schützt (45). Die gleiche Beobachtung machten Hamilton et al. nach bronchialer Provokation mit weiteren Allergenen (Hausstaubmilben, Gräserpollen, Baum-Mix)(70). Auch Riffelmann et al. zeigten, dass die Therapie mit Montelukast zu einer signifikanten Reduktion der allergischen Frühreaktion nach bronchialer Provokation mit Allergenen (Hausstaubmilben und Gräserpollen) führt. Dabei konnte kein Einfluss der nativen $PD_{20}FEV_1$ auf die $PD_{20}FEV_1$ unter Therapie mit Montelukast festgestellt werden (146).

Phipatanakul et al. konnten in zwei Studien zeigen, dass sowohl die Therapie mit Montelukast, als auch die Therapie mit Zafirlukast vor einer allergischen Frühreaktion bei Probanden mit allergischem Asthma gegenüber Katzenhaaren bei Exposition mit Katzen schützt (136;137).

Nadeem et al. konnten bei der Provokation von Kaninchen mit Hausstaubmilben keinen Einfluss von Montelukast auf die IAR messen, jedoch auf die LAR (121).

Andere Studien untersuchten den Einfluss von Montelukast im Vergleich zu einem inhalativen Kortikoid auf die allergische Frühreaktion nach Allergen-Provokation. Der Effekt von Montelukast auf die IAR war signifikant, jedoch im Vergleich zu einem ICS (Budesonid, Fluticason) unterlegen (101;133).

Davis und Cockcroft zeigten, dass eine einzelne Dosis von 10 mg Montelukast 24 Stunden vor Provokation keinen Einfluss auf die allergische Frühreaktion auf Metacholin hat (43).

Nach 6-wöchiger Therapie konnte Berkman et al. ebenfalls keinen Einfluss auf die allergische Frühreaktion nach Metacholinprovokation messen (18).

Carratu et al. wiederum untersuchten bei Patienten mit mildem nicht-atopischen Asthma die Bronchokonstriktion induziert durch Metacholinprovokation und konnten eine signifikante Reduktion darstellen (31). Zum gleichen Ergebnis gelangten Chen et al. (34). In der RAMONA-Studie ließ sich ein signifikanter Einfluss von Montelukast auf die allergische Frühreaktion nach spezifischer bronchialer Provokation mit Hausstaubmilben messen. Dabei zeigte sich eine Abhängigkeit von der nativen $PD_{20}FEV_1$.

Die Ergebnisse der RAMONA-Studie stehen mit den bisherigen Erkenntnissen über die Beeinflussung der allergischen Frühreaktion nach spezifischer bronchialer Provokation mit Allergenen durch Montelukast im Einklang (45;70;136;137;146). Während in der RAMONA-Studie eine Abhängigkeit von der nativen $PD_{20}FEV_1$ bestand, konnten Riffelmann et al. keine Beeinflussung durch die native $PD_{20}FEV_1$ zeigen.

Während sicher zu sein scheint, dass Montelukast einen hemmenden Einfluss auf die allergische Frühreaktion nach Allergenprovokation hat, ist die Beeinflussung der bronchialen Hyperreagibilität nach Metacholinprovokation durch Montelukast nicht eindeutig geklärt.

In der Literatur schon mehrfach beschrieben unterscheidet man in der Therapie mit Leukotrienrezeptorantagonisten zwischen Respondern und Non-Respondern (92;103). Dies mag einer der Gründe sein, warum der Effekt von Montelukast auf die allergische Frühreaktion in verschiedenen Studien ein unterschiedlich hohes Signifikanzniveau erreicht. In der Monotherapiegruppe zeigten drei Patienten in der zweiten Provokation unter Therapie keine Reaktion, so dass diese möglicherweise zu der Gruppe der Responder zu zählen sind.

4.4 Der Einfluss von Montelukast auf die basale FEV_1

In der RAMONA-Studie zeigte sich kein Einfluss der Therapie mit Montelukast auf die basale FEV_1 . Es gibt verschiedene Studien, die Montelukast einen Einfluss auf die FEV_1 zusprechen (95;143;157). Andere Autoren konnten keinen Einfluss von Montelukast auf die Basis FEV_1 messen (18;101). Die Diskrepanz dieser Ergebnisse ist wahrscheinlich auf die Untersuchung unterschiedlicher Patientenkollektive mit unterschiedlichem Asthma-Schweregraden zurückzuführen und erlaubt keine generalisierten Schlüsse.

In der RAMONA-Studie lag die mittlere basale FEV_1 in der Monotherapiegruppe bereits bei 104% des Sollwerts (SD 11.76) und in der Kombinationstherapiegruppe bei 97.78% des Sollwerts (SD 14.99). Somit war eine signifikante Steigerung der basalen FEV_1 naturgemäß nicht möglich.

4.5 Der Effekt von Montelukast und Ramatroban auf die allergische Frühreaktion

Als Hauptbefund der RAMONA-Studie ergab die Kombinationstherapie mit Montelukast und Ramatroban eine signifikant größere Hemmung der allergischen Frühreaktion beim Asthma bronchiale als die Monotherapie mit Montelukast. Nach Box-Cox-Y-Transformation und unter Berücksichtigung der Kovariaten der Thromboxanfreisetzung über die Zeit ist die Kombinationstherapie der Monotherapie überlegen, $p=0.0312$. Dies zeigt zudem, dass die Wirksamkeit der Kombinationstherapie positiv mit der Höhe des Thromboxanspiegels korreliert ist.

Es gibt nur wenige Studien, die die Kombination von LTRA und TXRA untersucht haben: Hervorzuheben ist zunächst, dass diese Ergebnisse im Einklang mit den Ergebnissen am humanen Lungenschnitt Modell von Wohlsen et al. stehen. In diesem Modell konnte eine nahezu komplette Inhibition der allergischen Frühreaktion durch die Kombination eines LTRA und TXRA gemessen werden (185).

Es existieren in der Literatur keine Studien, die mit der exakt gleichen Wirkstoffkombination durchgeführt wurden. Jedoch gibt es von Yamada et al. eine Studie an Meerschweinchen, die die Wirkung von RS-601, einem dualen Leukotrien D4/Thromboxane A2 Rezeptor Antagonisten, auf die bronchiale Hyperreagibilität untersucht hat. RS-601 wurde dabei mit dem Leukotrienrezeptorantagonisten Pranlukast und dem Thromboxanrezeptorantagonisten S-1452 verglichen. Es zeigte sich, dass RS-601 die Antigen-induzierte bronchiale Hyperreagibilität signifikant abschwächt, wohingegen Pranlukast und S-1452 allein keinen Effekt auf die Antigen-induzierte bronchiale Hyperreagibilität zeigten. Somit kamen Yamada et al. zu dem Schluss, dass der duale Leukotrien D4/ Thromboxan A2 Rezeptor Antagonist eine potente antiasthmatische Wirkung auf die bronchiale Hyperreagibilität ausübt (187). Zu einer ähnlichen Schlussfolgerung gelangten Arakida et al., die den Antigen-induzierten Anstieg des Atemwegswiderstandes an aktiv-sensibilisierten Meerschweinchen untersuchten. Dabei verglichen sie den dualen Leukotrien D4/Thromboxane A2 Rezeptor Antagonisten YM158 mit dem Leukotrienrezeptorantagonisten Pranlukast und dem Thromboxanrezeptorantagonisten Seratrodast. Die maximale Inhibition durch YM158 war stärker, als die der einzelnen Rezeptorantagonisten allein. Somit schlussfolgerten Arakida et al., dass YM158 eine potentiell größere Effektivität in asthmatischen Modellen aufweist, als einer der Rezeptorantagonisten allein (8).

Sundstrom et al. führten eine Studie an einem Modell von isolierten, perfundierten und ventilierten Meerschweinchen-Lungen von aktiv-sensibilisierten Meerschweinchen durch,

die intravaskulär mit ansteigenden, kumulativen Dosen von OVA provoziert wurden. Dabei wurden der Thromboxanrezeptorantagonist Bay u3405 (Ramatroban), der Leukotrienrezeptorantagonist Zafirlukast, der Lipoxygenaseinhibitor Bay x1005 und der COX-Inhibitor Diclofenac untersucht. Die Kombination von zwei Medikamenten zeigte jeweils einen größeren Effekt als die Monotherapie. Drei Medikamente inhibierten die Reaktion auf OVA komplett. Diclofenac machte die IPL weniger sensibel gegenüber LTD4 und Histamin (162).

Wohlsen et al. untersuchten am Modell von humanen, passiv sensibilisierten "precision-cut-lung-slices" die Wirkung von H1, CysLT1- und TP-Rezeptorantagonisten allein und in allen möglichen Zweifach-Kombinationen auf die Allergen-induzierte Frühreaktion. Die H1-Blockade war ineffektiv, die Inhibition von CysLT1- und TP-Rezeptor allein war in einzelnen Fällen effektiv. Die simultane Inhibition von CysLT1- und TP-Rezeptor zeigte eine nahezu vollständige Inhibition der allergeninduzierten Atemwegskontraktion in PCLS aller Individuen (185).

Der Hintergrund dieses Synergismus ist nicht bekannt, aber im Unterschied zu Meerschweinchen (188) und Ratten (169) ist der Effekt von LTs beim Menschen (66) nicht auf eine sekundäre Freisetzung von Thromboxanen zurückzuführen. Somit schlussfolgerten Wohlsen et al., dass die simultane Inhibition von CysLT- und TP-Rezeptor zumindest in den kleinen Atemwegen effektiv ist und somit eine potentielle neue Therapieoption bei Asthma bronchiale darstellt (185).

Ellis et al. hatten zuvor eine ähnliche Studie an passiv sensibilisierten peripheren und zentralen Atemwegen durchgeführt, wobei die gleichen Rezeptorantagonisten wie bei Wohlsen et al. getestet wurden, jedoch nur die einzelnen Antagonisten und deren Dreifachkombination. Die Inhibition von H1-, CysLT1- und TP-Rezeptor zeigte eine komplette Inhibition der allergischen Frühreaktion. Zusätzlich konnte Ellis et al. zeigen, dass sich die peripheren Atemwege bei Provokation mit Beifuss-Antigen etwa 20mal stärker kontrahierten als die zentralen Atemwege. Zudem wurden in den peripheren Atemwegen größere Mengen an Mediatoren sezerniert als in den zentralen Atemwegen. Dies unterstreicht die wichtige Rolle der peripheren Atemwege bei Asthma bronchiale und die Bedeutung der Erkenntnisse aus den PCLS (50).

Bisher gibt es nur einen Case-Report von Takahashi et al., der den additiven Effekt von einem Thromboxane A2-synthese Inhibitor (Ozagrel) und einem Leukotrienrezeptorantagonisten (Pranlukast) bei einem Patienten mit belastungsinduziertem Asthma bronchiale untersucht hat. Bei diesem Patienten fanden sich belastungsinduziert erhöhte

Plasmakonzentrationen für TXB₂ und LTC₄, sowie eine Einschränkung der Lungenfunktion und Veränderungen der Lungenventilationsszintigraphie. Nach zweiwöchiger Therapie mit Ozagrel und Pranlukast zeigte sich eine Verbesserung der Lungenfunktion sowie der Lungenventilationsszintigraphie. Somit schlussfolgerten Takahashi et al., dass die Therapie mit einer Kombination von Leukotrien- und Thromboxanrezeptorantagonisten bei Belastungsinduziertem Asthma eine mögliche Therapieoption darstellt (165).

Die RAMONA-Studie ist die erste klinische Studie, die die Kombinationstherapie von einem LTRA und einem TXRA untersucht hat.

4.6 Hat Ramatroban einen additiven Effekt zu Montelukast?

Hypothese: Ramatroban hat einen additiven Effekt zu Montelukast.

Dieser ist von der Höhe des Thromboxanspiegels abhängig.

Alle bisher durchgeführten Studien zur Kombinationstherapie mit einem Leukotrienrezeptorantagonisten und einem Thromboxanrezeptorantagonisten zeigten einen ähnlich hemmenden Effekt auf die allergische Frühreaktion und bronchiale Hyperreagibilität wie die RAMONA-Studie. Somit scheint die Kombination einen additiven bzw. additiven Effekt zu haben. Der Hintergrund dieses Synergismus ist nicht bekannt.

Thromboxan A₂ sowie auch Prostaglandin D₂ binden an den TP-Rezeptor, dessen Aktivierung zur Bronchokonstriktion führt. Thromboxanrezeptorantagonisten inhibieren den TP-Rezeptor.

Der vorwiegende Anteil der Wirkung von Cysteinylleukotrienen in menschlichen Atemwegen wird durch den CysLT₁-Rezeptor vermittelt (27). CysLT₁-Rezeptorantagonisten inhibieren effektiv die Wirkung von LTD₄, welches potenter ist als LTC₄ und LTE₄. So könnte man relativ einfach schlussfolgern, dass die Inhibition des CysLT₁-Rezeptors durch Montelukast, sowie die des TP-Rezeptors durch Ramatroban, einen additiven Effekt auf die bronchiale Hyperreagibilität hat und der Inhibition eines einzelnen Rezeptors überlegen ist. Es gibt jedoch Studien, die die Vermutung nahe legen, dass die Wirkung von LTD₄ eine weitere Komponente hat. Neben der direkten Wirkung von LTD₄ auf die glatte Muskulatur der Atemwege, vermutet man einen additiven Effekt durch die sekundäre Freisetzung von TXA₂ und anderen Prostaglandinen vermittelt durch LTD₄ (56). So konnte in einer Studie von Sundstrom et al. gezeigt werden, dass durch die Vorbehandlung mit Diclofenac die Reaktion auf geringe Dosen LTD₄ inhibiert wird. Durch höhere Dosen ließ sich dieser Effekt überspielen, so dass Sundstrom et al. schlussfolgerten, dass in Anwesenheit von Diclofenac der bronchokonstriktorische Effekt von LTD₄ auf die

direkte Wirkung am CysLT1-Rezeptor zurückzuführen ist (162). Autoren die Studien an Meerschweinchen (188) und Ratten (169) durchführten, erklärten den Effekt von LTs zum Teil durch die sekundäre Freisetzung von Thromboxanen. Beim Menschen konnten Gorenne et al. dagegen diesen Zusammenhang nicht feststellen (66).

Somit ist nicht sicher geklärt, inwiefern LTs an der Thromboxanfreisetzung beteiligt sind und somit ein Teil ihrer Wirkung darauf zurückzuführen ist.

In der Arbeit „Thromboxane A₂ induces airway constriction through an M₃ muscarinic acetylcholin receptor-dependent mechanism“(6) wurde an TP-defizienten Mäusen untersucht, ob die Bronchokonstriktion durch parasympathische Impulse beeinflusst wird. Es konnte gezeigt werden, dass die bronchokonstringierende Wirkung von TXA₂ zwar über den TP-Rezeptor vermittelt wird, jedoch von einer intakten parasympathischen Innervierung und der Ausbildung von M₃ muskarinergen Acetylcholinrezeptoren (mAChRs) abhängig ist und zudem durch Antagonismus an mAChRs und dem Subtyp M₃ mAChR abgeschwächt wird. Der genaue Zusammenhang zwischen TP-Rezeptor und mAChRs kann bisher nur vermutet werden. Am wahrscheinlichsten ist die Hypothese, dass die Aktivität des M₃ mAChR durch die Bindung von TXA₂ an den TP-Rezeptor potenziert wird. Zusätzlich moduliert der TP-Rezeptor auf Nervenzellen deren neuronale Aktivität und führt so zu einer vermehrten Freisetzung von ACh. Die Inhibition dieses potenziierenden Effekts könnte ebenfalls zur Effektivität von Thromboxanrezeptor-antagonisten beitragen.

In der RAMONA-Studie konnte gezeigt werden, dass die Wirksamkeit der Kombinationstherapie bei Patienten mit hohen Thromboxanspiegeln besser ist. Geht man davon aus, dass die Höhe des Thromboxanspiegels direkt mit der bronchialen Hyperreagibilität korreliert ist, so überrascht diese Beobachtung nicht. So kann die Hypothese formuliert werden, dass die Höhe des Thromboxanspiegels ein Predictor für das Ansprechen auf die Therapie mit einem TXRA ist. In der Kombinationstherapiegruppe zeigten zwei Patienten in der zweiten Provokation keine Reaktion, so dass diese möglicherweise zu der Gruppe der Responder zu zählen sind. Weitere Studien sind nötig um den Nutzen der Thromboxanspiegel zur Klassifizierung von Respondern und Non-Respondern zu evaluieren.

4.7 Lipidmediatoren- Spiegel im Serum

Durch die inhalative Provokation stiegen die Thromboxan B₂-Spiegel in beiden Therapiegruppen erwartungsgemäss signifikant an. Weder zwischen den beiden Therapiegruppen, noch zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten war dabei ein signifikanter Unterschied messbar, $p= 0.10$ bzw. $p= 0.16$. In der Kombinationstherapie-

gruppe wurden jedoch tendenziell niedrigere TXB₂-Spiegel bei der Provokation unter Therapie gemessen (siehe Abbildung 20). Dieser Unterschied ist nicht ohne weiteres durch die Therapie mit dem Thromboxanrezeptorantagonist Ramatroban zu erklären, da dieser im Gegensatz zu Thromboxansynthaseinhibitoren nicht die Synthese von Thromboxanen hemmt. Dies stimmt mit den Studien von Michel et al. und Cheng et al. überein, die ebenfalls nach Vorbehandlung mit einem TXRA tendenziell, jedoch nicht signifikant niedrigere TXB₂-Spiegel im Blut maßen (115). Cayatte et al. dagegen konnten eine signifikante Reduktion des TXB₂-Spiegels nach Vorbehandlung mit einem TXRA messen. Dies führten sie auf eine Störung der positiven Rückkopplung der TXA₂-Freisetzung über den TP-Rezeptor zurück (33). Thromboxanrezeptorantagonisten scheinen also einen geringen, jedoch messbaren Einfluss auf die TXB₂-Spiegel im Blut zu haben, der möglicherweise auf die Hemmung der positiven Rückkopplung der TXA₂-Freisetzung über den TP-Rezeptor zurückzuführen ist.

Auch die LTC₄- und LTE₄-Spiegel im Serum stiegen bei der allergischen Frühreaktion erwartungsgemäß signifikant an, $p=0.0011$ bzw. $p<0.0001$. Zwischen Mono- und Kombinationstherapiegruppe zeigte sich dabei kein Unterschied, $p=0.1051$ bzw. $p=0.5749$. Unter Therapie zeigten sich signifikant niedrigere LTC₄-Spiegel, $p<0.0001$, im Gegensatz dazu waren die LTE₄-Spiegel signifikant erhöht, $p<0.0001$. Während die Therapie einen signifikanten Einfluss auf die gemessenen LTC₄- und LTE₄-Spiegel im Verlauf der beiden Provokationen hatte, $p=0.0369$ bzw. $p=0.0059$, zeigte sich der zeitliche Verlauf der Mediatorenausschüttung unabhängig von der Therapie, $p=0.7161$ bzw. $p=0.8418$ (siehe Abbildung 23 und Abbildung 24).

Der Anstieg der LTC₄- und LTE₄-Spiegel bei der allergischen Frühreaktion lässt sich durch die Freisetzung dieser Mediatoren bei der allergischen Frühreaktion erklären. Unter Therapie zeigte sich eine gegensinnige Veränderung der Leukotrienspiegel, die LTC₄-Spiegel im Serum waren signifikant erniedrigt, die LTE₄-Spiegel signifikant erhöht. Es lässt sich vermuten, dass die Metabolisierung der Leukotriene unter Therapie mit Montelukast verändert ist. Durch den LTRA wird der CysLT₁-Rezeptor blockiert, sodass LTC₄ nicht daran binden kann. Hypothetisch könnte das daher freie LTC₄ schneller zu LTE₄ metabolisiert werden und damit sowohl zu den niedrigeren LTC₄-Spiegeln als auch zu den erhöhten LTE₄-Spiegeln beitragen.

Wie bei den TXB₂-Spiegeln kann die signifikante Reduktion des LTC₄-Spiegels nicht ohne weiteres durch den Leukotrienrezeptorantagonisten erklärt werden. Auch Studien von

Obase et al. konnten keine Beeinflussung eines LTRA auf die LTC₄-Spiegel nachweisen (129;130).

Abschließend lässt sich somit sagen, dass die Frage nach der Beeinflussung der Leukotrienspiegel durch Leukotrienrezeptorantagonisten nicht eindeutig geklärt werden konnte. Da LTC₄ ein extrem instabiler Mediator ist, der sehr schnell zu LTE₄ metabolisiert wird. Die inadäquate Verarbeitung der Serum-Proben kann daher eine mögliche Fehlerquelle darstellen und als Erklärung für die Diskrepanzen zwischen den verschiedenen Studien dienen.

4.8 Ausblick

Die RAMONA-Studie konnte erstmals zeigen, dass die Wirksamkeit von Leukotrienrezeptorantagonisten (LTRA) bei der allergischen Frühreaktion des Asthma bronchiale durch die Kombination mit einem Thromboxanrezeptorantagonisten (TXRA) gesteigert wird. Damit liefert sie eine belastbare Rationale, um das Potential dieser Therapie in weiteren klinischen Studien zu evaluieren.

Bisher kann keines der verfügbaren Asthmamedikamente diese Krankheit heilen oder hat einen über die Dauer der Einnahme hinaus anhaltenden Effekt. Bei der überwiegenden Mehrheit der Asthmatiker lässt sich aber mit Medikamenten Symptombefreiheit erreichen. Das von der „Global Initiative for Asthma“ (GINA) im November 2006 neu eingeführte Konzept des „difficult-to-treat-Asthma“ zeigt jedoch auch, dass es Asthmatiker gibt, bei denen sich mit den aktuell in der Asthmatherapie eingesetzten Medikamenten keine Symptombefreiheit erreichen lässt. Zudem besitzen hochdosierte inhalative Kortikoide, insbesondere die systemischen Kortikoide, die bei schwergradigem Asthma eingesetzt werden, ein breites Nebenwirkungsspektrum. Der Stellenwert der LTRAs in der Asthmatherapie wurde bisher eher gering eingestuft. Seitdem aber verschiedene Studien mit LABAs Sicherheitsprobleme aufgezeigt haben, ist der Stellenwert der LTRA wieder gestiegen. In den aktuellen Leitlinien sind sie jedoch lediglich in Kombination mit ICS indiziert. Die Kombination eines LTRA mit einem TXRA könnte vor diesem Hintergrund eine potente zusätzliche Therapieoption bieten.

Montelukast ist mittlerweile seit 1998 in Deutschland zugelassen und hat sich als gut verträgliches Medikament gezeigt. Die Erfahrung mit Ramatroban dagegen ist limitiert. Seit dem Jahr 2000 ist Ramatroban in Japan zur Therapie der allergischen Rhinitis zugelassen und erlangte dort vor kurzem die zusätzliche Zulassung für die Therapie des allergischen Asthma bronchiale. In Japan besteht daher die Möglichkeit LTRA mit TXRA in der Therapie des Asthma bronchiales zu kombinieren und so größere klinische Therapie-

studien durchzuführen. Zusätzlich sollte der Einfluss dieser Medikamentenkombination auf die allergische Spätreaktion untersucht werden, da Ramatroban zusätzlich zu dem TP-Rezeptor den CRTH₂-Rezeptor inhibiert, der an der Vermittlung der eosinophilen Inflammation im Sinne der Spätreaktion beteiligt ist. Außerdem gilt es zu evaluieren, wie Responder von Non-Responder unterschieden werden können und ob es Untergruppen der Asthmatiker, wie z.B. das ASS-induzierte Asthma, belastungsinduziertes Asthma und cough-variant Asthma gibt, die von einer Kombinationstherapie mit LTRA und TXRA besonders profitieren.

5 Zusammenfassung

Bisher haben Leukotrienrezeptorantagonisten in der Therapie des Asthma bronchiale einen eher geringen Stellenwert. Der Goldstandard der Asthmatherapie sind inhalative Kortikosteroide. Experimentelle Studien an humanem Lungengewebe und Tier-Modellen erbrachten erstmals Hinweise darauf, dass die Kombination eines Leukotrienrezeptorantagonisten (LTRA) mit einem Thromboxanrezeptorantagonisten (TXRA) besseren Schutz vor der allergen-induzierten asthmatischen Frühreaktion bietet als ein LTRA allein. Bisher liegen keine klinischen Studien zur Untersuchung dieses Effekts vor. Daher war es das Ziel der RAMONA-Studie in einer klinisch prospektiven, doppel-blinden, placebo-kontrollierten, randomisierten Studie der Phase II zu prüfen, ob der TXRA Ramatroban einen additiven Effekt zu dem LTRA Montelukast auf die allergische Frühreaktion bei leicht- bis mittelgradigem Asthma bronchiale mit Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilben ausübt.

Es wurden 34 Probanden randomisiert, von denen 17 Probanden der Monotherapiegruppe (Montelukast/ Placebo) und 10 Probanden der Kombinationstherapiegruppe (Montelukast/ Ramatroban) in die finale Analyse eingeschlossen wurden.

Alle Probanden wurden im Abstand von 14 Tagen zweimal inhalativ mit Hausstaubmilben provoziert. Primärer Zielparameter war die $PD_{20}FEV_1$, die bei der ersten Provokation nativ und bei der zweiten Provokation unter Therapie mit der Studienmedikation gemessen wurde. Die Verdopplung der $PD_{20}FEV_1$ wurde als Therapieerfolg angesehen. Zusätzlich wurden TXB_2 -, LTC_4 - und LTE_4 -Spiegel im Serum im Verlauf der allergischen Frühreaktion gemessen.

In der Monotherapiegruppe konnte eine signifikante Inhibition der allergischen Frühreaktion gemessen werden, $p= 0.003$. Die Kombination des TXRA Ramatroban mit dem LTRA Montelukast zeigte abhängig vom TXB_2 -Serumspiegel und der basalen $PD_{20}FEV_1$ eine signifikante zusätzliche Inhibition, $p= 0.037$.

Die RAMONA-Studie konnte erstmals zeigen, dass durch die Kombination eines LTRA mit einem TXRA ein additiver Effekt auf die allergen-induzierte asthmatische Frühreaktion erzielt wird. Damit stellt die Kombination eines LTRA mit einem TXRA eine potentiell neue Therapieoption bei Asthma bronchiale dar.

Weitere klinische Studien, zur Überprüfung der Effektivität dieser Kombinationstherapie erscheinen vor diesem Hintergrund sinnvoll.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, November 1986. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136(1):225-244.
- (2) Agrawal SK, Singh M, Mathew JL, Malhi P. Efficacy of an individualized written home-management plan in the control of moderate persistent asthma: a randomized, controlled trial. *Acta Paediatr* 2005; 94(12):1742-1746.
- (3) Aizawa H, Shigyo M, Nogami H, Hirose T, Hara N. BAY u3405, a thromboxane A2 antagonist, reduces bronchial hyperresponsiveness in asthmatics. *Chest* 1996; 109(2):338-342.
- (4) Allen IC, Hartney JM, Coffman TM, Penn RB, Wess J, Koller BH. Thromboxane A2 induces airway constriction through an M3 muscarinic acetylcholine receptor-dependent mechanism. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290(3):L526-L533.
- (5) Allen IC, Hartney JM, Coffman TM, Penn RB, Wess J, Koller BH. Thromboxane A2 induces airway constriction through an M3 muscarinic acetylcholine receptor-dependent mechanism. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290(3):L526-L533.
- (6) Allen IC, Hartney JM, Coffman TM, Penn RB, Wess J, Koller BH. Thromboxane A2 induces airway constriction through an M3 muscarinic acetylcholine receptor-dependent mechanism. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290(3):L526-L533.
- (7) Amon A, Pahl A, Szelenyi I. Can corticosteroids be beaten in future asthma therapy? *Pharmazie* 2006; 61(2):122-124.
- (8) Arakida Y, Ohga K, Okada Y, Morio H, Suwa K, Yokota M et al. Effect of combined leukotriene D(4) and thromboxane A(2) receptor antagonist on mediator-controlled resistance in guinea pigs. *Eur J Pharmacol* 2000; 403(1-2):169-179.
- (9) Asher MI, Montefort S, Bjorksten B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006; 368(9537):733-743.

- (10) Balzano G, Fuschillo S, Gaudiosi C. Leukotriene receptor antagonists in the treatment of asthma: an update. *Allergy* 2002; 57 Suppl 72:16-19.
- (11) Barnes NC, Piper PJ, Costello JF. Comparative effects of inhaled leukotriene C4, leukotriene D4, and histamine in normal human subjects. *Thorax* 1984; 39(7):500-504.
- (12) Barnes PJ. Anti-leukotrienes: a new treatment for asthma. *Practitioner* 1998; 242(1586):395-399.
- (13) Barnes PJ. Drugs for asthma. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1:S297-S303.
- (14) Barnes PJ. Drugs for asthma. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1:S297-S303.
- (15) Bayer. Investigatore's Brochure. Yukiko Yabu, editor. 28-4-1999. Bayer Yakuhin Ltd.
- (16) Beasley RC, Featherstone RL, Church MK, Rafferty P, Varley JG, Harris A et al. Effect of a thromboxane receptor antagonist on. *J Appl Physiol* 1989; 66(4):1685-1693.
- (17) Belliveau PP, Lahoz MR. Evaluation of omalizumab from a health plan perspective. *J Manag Care Pharm* 2005; 11(9):735-745.
- (18) Berkman N, Avital A, Bardach E, Springer C, Breuer R, Godfrey S. The effect of montelukast on bronchial provocation tests and exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Isr Med Assoc J* 2003; 5(11):778-781.
- (19) Bisgaard H. Vascular effects of leukotriene D4 in human skin. *J Invest Dermatol* 1987; 88(2):109-114.
- (20) Bisgaard H. Role of leukotrienes in asthma pathophysiology. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30(2):166-176.
- (21) Bisgaard H. Pathophysiology of the cysteinyl leukotrienes and effects of leukotriene receptor antagonists in asthma. *Allergy* 2001; 56 Suppl 66:7-11.
- (22) Black PN, Fuller RW, Taylor GW, Barnes PJ, Dollery CT. Effect of inhaled leukotriene B4 alone and in combination with prostaglandin D2 on bronchial responsiveness to histamine in normal subjects. *Thorax* 1989; 44(6):491-495.
- (23) Boccagni C, Tesser F, Mittino D, Terazzi E, Naldi P, Colombi S et al. Churg-Strauss syndrome associated with the leukotriene antagonist montelukast. *Neurol Sci* 2004; 25(1):21-22.
- (24) Bochenek G, Nizankowska E, Gielicz A, Swierczynska M, Szczeklik A. Plasma 9alpha,11beta-PGF2, a PGD2 metabolite, as a sensitive marker of mast cell activation by allergen in bronchial asthma. *Thorax* 2004; 59(6):459-464.

-
- (25) Borish L, Chipps B, Deniz Y, Gujrathi S, Zheng B, Dolan CM. Total serum IgE levels in a large cohort of patients with severe or difficult-to-treat asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95(3):247-253.
- (26) Box GEP, Cox DR. An analysis of transformations. *J Royal Statist Soc Series B* 1964; 26:211-246.
- (27) Brink C, Dahlen SE, Drazen J, Evans JF, Hay DW, Nicosia S et al. International Union of Pharmacology XXXVII. Nomenclature for leukotriene and lipoxin receptors. *Pharmacol Rev* 2003; 55(1):195-227.
- (28) Buhl R, Berdel D, Crièe C-P, Gillisen A, Kardos P, Kroegel C et al. Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Asthma. *Pneumologie* 2006; 60:139-183.
- (29) Cai C, Yang J, Hu S, Zhou M, Guo W. Relationship between urinary cysteinyl leukotriene e(4) levels and clinical response to antileukotriene treatment in patients with asthma. *Lung* 2007; 185(2):105-112.
- (30) Canham EM, Martin RJ. Current treatment options for asthma in adults. *Panminerva Med* 2005; 47(2):109-122.
- (31) Carratu P, Morelli N, Freire AX, Pugazhenti M, Guerra S, Umberger R et al. Effect of zafirlukast on methacholine and ultrasonically nebulized distilled water challenge in patients with mild asthma. *Respiration* 2003; 70(3):249-253.
- (32) Castle W, Fuller R, Hall J, Palmer J. Serevent nationwide surveillance study: comparison of salmeterol with salbutamol in asthmatic patients who require regular bronchodilator treatment. *BMJ* 1993; 306(6884):1034-1037.
- (33) Cayatte AJ, Du Y, Oliver-Krasinski J, Lavielle G, Verbeuren TJ, Cohen RA. The thromboxane receptor antagonist S18886 but not aspirin inhibits atherogenesis in apo E-deficient mice: evidence that eicosanoids other than thromboxane contribute to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(7):1724-1728.
- (34) Chen X, Feng Y, Luo Y, Yuan Y, He T, Zeng J. [The effect of leukotriene antagonist on the parameters of dose-response curve obtained after methacholine challenge test]. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2001; 32(4):543-546.
- (35) Chung KF, Evans TW, Graf PD, Nadel JA. Modulation of cholinergic neurotransmission in canine airways by thromboxane mimetic U46619. *Eur J Pharmacol* 1985; 117(3):373-375.
- (36) Coleman RA, Kennedy I. Characterisation of the prostanoid receptors mediating contraction of guinea-pig isolated trachea. *Prostaglandins* 1985; 29(3):363-375.

-
- (37) Coleman RA, Sheldrick RL. Prostanoid-induced contraction of human bronchial smooth muscle is mediated by TP-receptors. *Br J Pharmacol* 1989; 96(3):688-692.
- (38) Coles SJ, Neill KH, Reid LM, Austen KF, Nii Y, Corey EJ et al. Effects of leukotrienes C4 and D4 on glycoprotein and lysozyme secretion by human bronchial mucosa. *Prostaglandins* 1983; 25(2):155-170.
- (39) Conen D, Leuppi J, Bubendorf L, Ronsdorf A, Tamm M, Hauser T. Montelukast and Churg-Strauss syndrome. *Swiss Med Wkly* 2004; 134(25-26):377-380.
- (40) Craven PA, Studer RK, DeRubertis FR. Thromboxane/prostaglandin endoperoxide-induced hypertrophy of rat vascular smooth muscle cells is signaled by protein kinase C-dependent increases in transforming growth factor-beta. *Hypertension* 1996; 28(2):169-176.
- (41) D'Angelo DD, Terasawa T, Carlisle SJ, Dorn GW, Lynch KR. Characterization of a rat kidney thromboxane A2 receptor: high affinity for the agonist ligand I-BOP. *Prostaglandins* 1996; 52(4):303-316.
- (42) Davi G, Chiarelli F, Santilli F, Pomilio M, Vigneri S, Falco A et al. Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus: role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation* 2003; 107(25):3199-3203.
- (43) Davis BE, Cockcroft DW. Effect of a single dose of montelukast sodium on methacholine chloride PC20. *Can Respir J* 2005; 12(1):26-28.
- (44) Devillier P, Bessard G. Thromboxane A2 and related prostaglandins in airways. *Fundam Clin Pharmacol* 1997; 11(1):2-18.
- (45) Diamant Z, Grootendorst DC, Veselic-Charvat M, Timmers MC, De Smet M, Leff JA et al. The effect of montelukast (MK-0476), a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, on allergen-induced airway responses and sputum cell counts in asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(1):42-51.
- (46) Diamant Z, Hiltermann JT, van Rensen EL, Callenbach PM, Veselic-Charvat M, van d, V et al. The effect of inhaled leukotriene D4 and methacholine on sputum cell differentials in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(4):1247-1253.
- (47) Dogne JM, de L, X, Benoit P, Delarge J, Masereel B. Thromboxane A2 inhibition: therapeutic potential in bronchial asthma. *Am J Respir Med* 2002; 1(1):11-17.

-
- (48) Dogne JM, Hanson J, de L, X, Pratico D, Pace-Asciak CR, Drion P et al. From the design to the clinical application of thromboxane modulators. *Curr Pharm Des* 2006; 12(8):903-923.
- (49) Ellis EF, Oelz O, Roberts LJ, Payne NA, Sweetman BJ, Nies AS et al. Coronary arterial smooth muscle contraction by a substance released from platelets: evidence that it is thromboxane A₂. *Science* 1976; 193(4258):1135-1137.
- (50) Ellis JL, Hubbard WC, Meeker S, Udem BJ. Ragweed antigen E and anti-IgE in human central versus peripheral isolated bronchi. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150(3):717-723.
- (51) Emery DL, Djokic TD, Graf PD, Nadel JA. Prostaglandin D₂ causes accumulation of eosinophils in the lumen of the dog trachea. *J Appl Physiol* 1989; 67(3):959-962.
- (52) Fahrenholz JM. Natural history and clinical features of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2003; 24(2):113-124.
- (53) Featherstone RL, Robinson C, Holgate ST, Church MK. Evidence for thromboxane receptor mediated contraction of guinea-pig and human airways in vitro by prostaglandin (PG) D₂, 9 alpha,11 beta-PGF₂ and PGF₂ alpha. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1990; 341(5):439-443.
- (54) Figueroa DJ, Breyer RM, Defoe SK, Kargman S, Daugherty BL, Waldburger K et al. Expression of the cysteinyl leukotriene 1 receptor in normal human lung and peripheral blood leukocytes. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(1):226-233.
- (55) Filley WV, Holley KE, Kephart GM, Gleich GJ. Identification by immunofluorescence of eosinophil granule major basic protein in lung tissues of patients with bronchial asthma. *Lancet* 1982; 2(8288):11-16.
- (56) Fitzpatrick FA, Lawson CF. Myotropic activity of leukotriene B₄ on lung parenchyma strips is not necessarily attributable to thromboxane A₂ release. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 245(3):839-844.
- (57) Fujimura M, Nakatsumi Y, Nishi K, Kasahara K, Matsuda T. Involvement of thromboxane A₂ in bronchial hyperresponsiveness of asthma. Kanazawa Asthma Research Group. *Pulm Pharmacol* 1995; 8(6):251-257.
- (58) Fujitani Y, Kanaoka Y, Aritake K, Uodome N, Okazaki-Hatake K, Urade Y. Pronounced eosinophilic lung inflammation and Th2 cytokine release in human

- lipocalin-type prostaglandin D synthase transgenic mice. *J Immunol* 2002; 168(1):443-449.
- (59) Fujitani Y, Kanaoka Y, Aritake K, Uodome N, Okazaki-Hatake K, Urade Y. Pronounced eosinophilic lung inflammation and Th2 cytokine release in human lipocalin-type prostaglandin D synthase transgenic mice. *J Immunol* 2002; 168(1):443-449.
- (60) Fuller RW, Dixon CM, Dollery CT, Barnes PJ. Prostaglandin D₂ potentiates airway responsiveness to histamine and methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133(2):252-254.
- (61) Gell PGH, Coombs RRA, Lachmann PJ. *Clinical aspects of Immunology* 1975.
- (62) Global Initiative for Asthma (GINA). *From the Global Strategy for Asthma Management and Prevention*. 2006.
- (63) Goldblatt MW. Properties of human seminal plasma. *J Physiol* 1935; 84(2):208-218.
- (64) Gong H, Jr., Linn WS, Terrell SL, Anderson KR, Clark KW. Anti-inflammatory and lung function effects of montelukast in asthmatic volunteers exposed to sulfur dioxide. *Chest* 2001; 119(2):402-408.
- (65) Gonsior E, Henzgen M, Jörres RA, Kroidl RF, Merget R, Riffelman F-W et al. Leitlinie für die Durchführung bronchialer Provokationstests mit Allergenen. *Pneumologie* 2002; 56:187-198.
- (66) Gorenne I, Norel X, Brink C. Cysteinyl leukotriene receptors in the human lung: what's new? *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17(10):342-345.
- (67) Guilpain P, Viallard JF, Lagarde P, Cohen P, Kambouchner M, Pellegrin JL et al. Churg-Strauss syndrome in two patients receiving montelukast. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41(5):535-539.
- (68) Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B. Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72:2994-2998.
- (69) Hamelmann E, Gelfand EW. IL-5-induced airway eosinophilia--the key to asthma? *Immunol Rev* 2001; 179:182-191.
- (70) Hamilton A, Faiferman I, Stober P, Watson RM, O'Byrne PM. Pranlukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, attenuates allergen-induced early- and late-phase bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102(2):177-183.

-
- (71) Hammer HB, Aukrust P, Froland SS. [Churg-Strauss syndrome after treatment with Singulair (montelukast)]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2002; 122(5):484-486.
- (72) Hartley JP, Nogrady SG. Effect of an inhaled antihistamine on exercise-induced asthma. *Thorax* 1980; 35(9):675-679.
- (73) Heise CE, O'Dowd BF, Figueroa DJ, Sawyer N, Nguyen T, Im DS et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J Biol Chem* 2000; 275(39):30531-30536.
- (74) Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, Ogawa K, Kenmotsu K, Takamori Y et al. Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med* 2001; 193(2):255-261.
- (75) Hirata M, Hayashi Y, Ushikubi F, Yokota Y, Kageyama R, Nakanishi S et al. Cloning and expression of cDNA for a human thromboxane A2 receptor. *Nature* 1991; 349(6310):617-620.
- (76) Holgate ST, Bradding P, Sampson AP. Leukotriene antagonists and synthesis inhibitors: new directions in asthma therapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98(1):1-13.
- (77) Honda K, Arima M, Cheng G, Taki S, Hirata H, Eda F et al. Prostaglandin D2 reinforces Th2 type inflammatory responses of airways to low-dose antigen through bronchial expression of macrophage-derived chemokine. *J Exp Med* 2003; 198(4):533-543.
- (78) Inman M, Watson R, Cockcroft D, Wong B, Hargrave F, O'Byrne P. Reproducibility of allergen-induced early and late asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95(6):1191-1195.
- (79) Inoue H, Tani N, Iijima H, Igarashi A, Okada S, Takishima T. [Effect of thromboxane receptor antagonist, BAY u 3405 on the late phase pulmonary response in guinea pigs]. *Arerugi* 1993; 42(3 Pt 1):205-213.
- (80) International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. *Guideline For Good Clinical Practice*. 1996.
- (81) Ishizuka T, Matsui T, Okamoto Y, Ohta A, Shichijo M. Ramatroban (BAY u 3405): a novel dual antagonist of TXA2 receptor and CRTh2, a newly identified prostaglandin D2 receptor. *Cardiovasc Drug Rev* 2004; 22(2):71-90.

-
- (82) Jamaledidine G, Diab K, Tabbarah Z, Tawil A, Arayssi T. Leukotriene antagonists and the Churg-Strauss syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 2002; 31(4):218-227.
- (83) Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology- the immune system in health and disease. 6 ed. 2005.
- (84) Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, Boulet LP, Lemiere C, Pizzichini E et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J* 2006; 27(3):483-494.
- (85) Johnston SL, Bardin PG, Harrison J, Ritter W, Joubert JR, Holgate ST. The effects of an oral thromboxane TP receptor antagonist BAY u 3405, on prostaglandin D2- and histamine-induced bronchoconstriction in asthma, and relationship to plasma drug concentrations. *Br J Clin Pharmacol* 1992; 34(5):402-408.
- (86) Johnston SL, Freezer NJ, Ritter W, O'Toole S, Howarth PH. Prostaglandin D2-induced bronchoconstriction is mediated only in part by the thromboxane prostanoid receptor. *Eur Respir J* 1995; 8(3):411-415.
- (87) Jones GL, Saroea HG, Watson RM, O'Byrne PM. Effect of an inhaled thromboxane mimetic (U46619) on airway function in human subjects. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145(6):1270-1274.
- (88) Jongejan RC, de Jongste JC, Raatgeep RC, Stijnen T, Bonta IL, Kerrebijn KF. Effects of inflammatory mediators on the responsiveness of isolated human airways to methacholine. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142(5):1129-1132.
- (89) Killian D, Cockcroft D, Hargrave F, Dolovich J. Factors in allergen-induced asthma: relevance of the intensity of the airways allergic reaction and non-specific bronchial reactivity. *Clin Allergy* 1976; 6(3):219-225.
- (90) Kinsella BT, O'Mahony DJ, Fitzgerald GA. The human thromboxane A2 receptor alpha isoform (TP alpha) functionally couples to the G proteins Gq and G11 in vivo and is activated by the isoprostane 8-epi prostaglandin F2 alpha. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281(2):957-964.
- (91) Kita H, Weiler DA, Abu-Ghazaleh R, Sanderson CJ, Gleich GJ. Release of granule proteins from eosinophilic cultured with IL-5. *Journal of Immunology* 1992; 149:629-635.
- (92) Klotsman M, York TP, Pillai SG, Vargas-Irwin C, Sharma SS, van den Oord EJ et al. Pharmacogenetics of the 5-lipoxygenase biosynthetic pathway and variable clinical response to montelukast. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17(3):189-196.

- (93) Knorr B, Matz J, Bernstein JA, Nguyen H, Seidenberg BC, Reiss TF et al. Montelukast for chronic asthma in 6- to 14-year-old children: a randomized, double-blind trial. Pediatric Montelukast Study Group. *JAMA* 1998; 279(15):1181-1186.
- (94) Kopferschmitt-Kubler MC, Bigot H, Pauli G. Allergen bronchial challenge tests: variability and reproducibility of the early response. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80(5):730-740.
- (95) Kraft M, Cairns CB, Ellison MC, Pak J, Irvin C, Wenzel S. Improvements in distal lung function correlate with asthma symptoms after treatment with oral montelukast. *Chest* 2006; 130(6):1726-1732.
- (96) Kukafka DS, Lang DM, Porter S, Rogers J, Ciccolella D, Polansky M et al. Exercise-induced bronchospasm in high school athletes via a free running test: incidence and epidemiology. *Chest* 1998; 114(6):1613-1622.
- (97) Kumlin M, Dahlen B, Bjorck T, Zetterstrom O, Granstrom E, Dahlen SE. Urinary excretion of Leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 in response to bronchial provocation with allergen, aspirin, leukotriene D4 and histamine in asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1992;(146):96-103.
- (98) Laitinen LA, Laitinen A, Haahtela T, Vilkka V, Spur BW, Lee TH. Leukotriene E4 and granulocytic infiltration into asthmatic airways. *Lancet* 1993; 341(8851):989-990.
- (99) Leff JA, Busse WW, Pearlman D, Bronsky EA, Kemp J, Hendeles L et al. Montelukast, a leukotriene-receptor antagonist, for the treatment of mild asthma and exercise-induced bronchoconstriction. *N Engl J Med* 1998; 339(3):147-152.
- (100) Leiferman KM, Ackerman SJ, Sampson HA, Haugen HS, Venencie PY, Gleich GJ. Dermal deposition of eosinophil-granule major basic protein in atopic dermatitis. Comparison with onchocerciasis. *N Engl J Med* 1985; 313(5):282-285.
- (101) Leigh R, Vethanayagam D, Yoshida M, Watson RM, Rerecich T, Inman MD et al. Effects of montelukast and budesonide on airway responses and airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166(9):1212-1217.
- (102) Liel N, Mais DE, Halushka PV. Binding of a thromboxane A2/prostaglandin H2 agonist [3H]U46619 to washed human platelets. *Prostaglandins* 1987; 33(6):789-797.

- (103) Lima JJ, Zhang S, Grant A, Shao L, Tantisira KG, Allayee H et al. Influence of leukotriene pathway polymorphisms on response to montelukast in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173(4):379-385.
- (104) Liu SF, Lin MC, Chang HW. Relationship of Allergic Degree and PC 20 Level in Adults with Positive Methacholine Challenge Test. *Respiration* 2005; 72(6):612-616.
- (105) Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, Im DS, Sawyer N, Metters KM et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature* 1999; 399(6738):789-793.
- (106) Magnussen H, Boerger S, Templin K, Baunack AR. Effects of a thromboxane-receptor antagonist, BAY u 3405, on prostaglandin D2- and exercise-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89(6):1119-1126.
- (107) Mais DE, Saussy DL, Jr., Chaikhouni A, Kochel PJ, Knapp DR, Hamanaka N et al. Pharmacologic characterization of human and canine thromboxane A2/prostaglandin H2 receptors in platelets and blood vessels: evidence for different receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 233(2):418-424.
- (108) Malmstrom K, Rodriguez-Gomez G, Guerra J, Villaran C, Pineiro A, Wei LX et al. Oral montelukast, inhaled beclomethasone, and placebo for chronic asthma. A randomized, controlled trial. Montelukast/Beclomethasone Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6):487-495.
- (109) Martin C, Uhlig S, Ullrich V. Videomicroscopy of metacholine-induced contraction of individual airways in precision-cut lung slices. *European Respiratory Journal* 1996; 9:2479-2487.
- (110) Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004; 59(5):469-478.
- (111) McFadden ER, Jr. Exertional dyspnea and cough as preludes to acute attacks of bronchial asthma. *N Engl J Med* 1975; 292(11):555-559.
- (112) McFadden ER, Jr., Gilbert IA. Exercise-induced asthma. *N Engl J Med* 1994; 330(19):1362-1367.
- (113) Meliello G, Bonini S, Cocco G, Davies R, De Monchy J, Frolund L. Provocation Test with allergens. *Allergy* 1997; 52:5-36.
- (114) Michael AB, Murphy D. Montelukast-associated Churg-Strauss syndrome. *Age Ageing* 2003; 32(5):551-552.

- (115) Michel F, Silvestre JS, Waeckel L, Corda S, Verbeuren T, Vilaine JP et al. Thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor activation mediates angiotensin II-induced postischemic neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(3):488-493.
- (116) Minoguchi K, Kohno Y, Minoguchi H, Kihara N, Sano Y, Yasuhara H et al. Reduction of eosinophilic inflammation in the airways of patients with asthma using montelukast. *Chest* 2002; 121(3):732-738.
- (117) Monneret G, Gravel S, Diamond M, Rokach J, Powell WS. Prostaglandin D₂ is a potent chemoattractant for human eosinophils that acts via a novel DP receptor. *Blood* 2001; 98(6):1942-1948.
- (118) Morinelli TA, Zhang LM, Newman WH, Meier KE. Thromboxane A₂/prostaglandin H₂-stimulated mitogenesis of coronary artery smooth muscle cells involves activation of mitogen-activated protein kinase and S6 kinase. *J Biol Chem* 1994; 269(8):5693-5698.
- (119) MSD. Singulair Fachinformation , MSD Dieckmann Arzneimittel GmbH.. Haar, Deutschland, 1998.
- (120) Murray JJ, Tonnel AB, Brash AR, Roberts LJ, Gosset P, Workman R et al. Prostaglandin D₂ is released during acute allergic bronchospasm in man. *Trans Assoc Am Physicians* 1985; 98:275-280.
- (121) Nadeem A, Obiefuna PC, Wilson CN, Mustafa SJ. Adenosine A₁ receptor antagonist versus montelukast on airway reactivity and inflammation. *Eur J Pharmacol* 2006; 551(1-3):116-124.
- (122) Nagai H, Takeda H, Yamaguchi S, Tanaka H, Matsuo A, Inagaki N. The effect of a thromboxane A₂ receptor antagonist BAY-u-3405 on experimental allergic reactions. *Prostaglandins* 1995; 50(2):75-87.
- (123) Namba T, Sugimoto Y, Hirata M, Hayashi Y, Honda A, Watabe A et al. Mouse thromboxane A₂ receptor: cDNA cloning, expression and northern blot analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184(3):1197-1203.
- (124) Nelson HS, Weiss ST, Bleecker ER, Yancey SW, Dorinsky PM. The Salmeterol Multicenter Asthma Research Trial: a comparison of usual pharmacotherapy for asthma or usual pharmacotherapy plus salmeterol. *Chest* 2006; 129(1):15-26.
- (125) Ng'ang'a LW, Odhiambo JA, Mungai MW, Gicheha CM, Nderitu P, Maingi B et al. Prevalence of exercise induced bronchospasm in Kenyan school children: an urban-rural comparison. *Thorax* 1998; 53(11):919-926.

-
- (126) Noguchi E, Arinami T. Candidate genes for atopic asthma: current results from genome screens. *Am J Pharmacogenomics* 2001; 1(4):251-261.
- (127) O'Byrne PM, Parameswaran K. Pharmacological management of mild or moderate persistent asthma. *Lancet* 2006; 368(9537):794-803.
- (128) O'Sullivan S, Roquet A, Dahlen B, Dahlen S, Kumlin M. Urinary excretion of inflammatory mediators during allergen-induced early and late phase asthmatic reactions. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(11):1332-1339.
- (129) Obase Y, Shimoda T, Matsuo N, Matsuse H, Asai S, Kohno S. Effects of cysteinyl-leukotriene receptor antagonist, thromboxane A2 receptor antagonist, and thromboxane A2 synthetase inhibitor on antigen-induced bronchoconstriction in patients with asthma. *Chest* 1998; 114(4):1028-1032.
- (130) Obase Y, Shimoda T, Tomari SY, Mitsuta K, Kawano T, Matsuse H et al. Effects of pranlukast on chemical mediators in induced sputum on provocation tests in atopic and aspirin-intolerant asthmatic patients. *Chest* 2002; 121(1):143-150.
- (131) Offermanns S, Simon MI. G alpha 15 and G alpha 16 couple a wide variety of receptors to phospholipase C. *J Biol Chem* 1995; 270(25):15175-15180.
- (132) Oosterhoff Y, Kauffmann HF, Rutgers B, Zijlstra FJ, Koeter GH, Postma DS. Inflammatory cell number and mediators in bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood in subjects with asthma in increased nocturnal airways narrowing. *J Allergy Clin Immunol* 1995;(96):219-229.
- (133) Palmqvist M, Bruce C, Sjostrand M, Arvidsson P, Lotvall J. Differential effects of fluticasone and montelukast on allergen-induced asthma. *Allergy* 2005; 60(1):65-70.
- (134) Pearlman DS, van Adelsberg J, Philip G, Tilles SA, Busse W, Hendeles L et al. Onset and duration of protection against exercise-induced bronchoconstriction by a single oral dose of montelukast. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97(1):98-104.
- (135) Penrose J. Physiology of lipid mediators (prostaglandins, leukotrienes, lipoxin) and their role in inflammation. In: Rose B, editor. *UpToDate*. Waltham, MA: 2007.
- (136) Phipatanakul W, Eggleston PA, Conover-Walker MK, Kesavanathan J, Sweitzer D, Wood RA. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the effect of zafirlukast on upper and lower respiratory responses to cat challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105(4):704-710.

-
- (137) Phipatanakul W, Nowak-Wegrzyn A, Eggleston PA, Van Natta M, Kesavan J, Schuberth K et al. The efficacy of montelukast in the treatment of cat allergen-induced asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(5):794-799.
- (138) Piper P, Vane J. Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. *Nature* 1969;(223):29-35.
- (139) Pizzichini E, Leff JA, Reiss TF, Hendeles L, Boulet LP, Wei LX et al. Montelukast reduces airway eosinophilic inflammation in asthma: a randomized, controlled trial. *Eur Respir J* 1999; 14(1):12-18.
- (140) Pratico D, Basili S, Vieri M, Cordova C, Violi F, Fitzgerald GA. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostane F2alpha-III, an index of oxidant stress. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(6):1709-1714.
- (141) Rajakulasingam K, Johnston SL, Ducey J, Ritter W, Howarth PH, Holgate ST. Effect of thromboxane A2-receptor antagonist on bradykinin-induced bronchoconstriction in asthma. *J Appl Physiol* 1996; 80(6):1973-1977.
- (142) Ram FS, Cates CJ, Ducharme FM. Long-acting beta2-agonists versus anti-leukotrienes as add-on therapy to inhaled corticosteroids for chronic asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(1):CD003137.
- (143) Reiss TF, Chervinsky P, Dockhorn RJ, Shingo S, Seidenberg B, Edwards TB. Montelukast, a once-daily leukotriene receptor antagonist, in the treatment of chronic asthma: a multicenter, randomized, double-blind trial. Montelukast Clinical Research Study Group. *Arch Intern Med* 1998; 158(11):1213-1220.
- (144) Reiss TF, Hill JB, Harman E, Zhang J, Tanaka WK, Bronsky E et al. Increased urinary excretion of LTE4 after exercise and attenuation of exercise-induced bronchospasm by montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist. *Thorax* 1997; 52(12):1030-1035.
- (145) Richardson CR. Leukotriene receptor antagonists versus inhaled steroids in asthma. *J Fam Pract* 1999; 48(7):495-496.
- (146) Riffelmann FW, Droste G, Lauter H, Kohler D. [Influence of montelukast on inhalational bronchial allergen provocation]. *Pneumologie* 2002; 56(8):493-497.
- (147) Roberts CR. Is asthma a fibrotic disease? *Chest* 1995; 107(3 Suppl):111S-117S.
- (148) Robinson C, Hardy CC, Holgate ST. Pulmonary synthesis, release, and metabolism of prostaglandins. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76(2 Pt 2):265-271.

- (149) Samter MBR Jr. Intolerance to aspirin. Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann Intern Med* 1968; 68:975.
- (150) Sato T, Iwama T, Shikada K, Tanaka S. Airway hyperresponsiveness to acetylcholine induced by aerosolized arachidonic acid metabolites in guinea-pigs. *Clin Exp Allergy* 1996; 26(8):957-963.
- (151) Schieken LS. Asthma pathophysiology and the scientific rationale for combination therapy. *Allergy Asthma Proc* 2002; 23(4):247-251.
- (152) Shenker A, Goldsmith P, Unson CG, Spiegel AM. The G protein coupled to the thromboxane A2 receptor in human platelets is a member of the novel Gq family. *J Biol Chem* 1991; 266(14):9309-9313.
- (153) Shephard EG, Malan L, Macfarlane CM, Mouton W, Joubert JR. Lung function and plasma levels of thromboxane B2, 6-ketoprostaglandin F1 alpha and beta-thromboglobulin in antigen-induced asthma before and after indomethacin pretreatment. *Br J Clin Pharmacol* 1985; 19(4):459-470.
- (154) Shiraishi Y, Asano K, Nakajima T, Oguma T, Suzuki Y, Shiomi T et al. Prostaglandin D2-induced eosinophilic airway inflammation is mediated by CRTH2 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(3):954-960.
- (155) Shiraishi Y, Asano K, Nakajima T, Oguma T, Suzuki Y, Shiomi T et al. Prostaglandin D2-induced eosinophilic airway inflammation is mediated by CRTH2 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(3):954-960.
- (156) Sonna LA, Angel KC, Sharp MA, Knapik JJ, Patton JF, Lilly CM. The prevalence of exercise-induced bronchospasm among US Army recruits and its effects on physical performance. *Chest* 2001; 119(6):1676-1684.
- (157) Spector SL, Smith LJ, Glass M. Effects of 6 weeks of therapy with oral doses of ICI 204,219, a leukotriene D4 receptor antagonist, in subjects with bronchial asthma. ACCOLATE Asthma Trialists Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150(3):618-623.
- (158) Spector SL, Tan RA. Effectiveness of montelukast in the treatment of cough variant asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93(3):232-236.
- (159) Sugimoto H, Shichijo M, Okano M, Bacon KB. CRTH2-specific binding characteristics of [3H]ramatroban and its effects on PGD2-, 15-deoxy-Delta12, 14-. *Eur J Pharmacol* 2005; 524(1-3):30-37.

- (160) Sugimoto H, Shichijo M, Okano M, Bacon KB. CRTH2-specific binding characteristics of [3H]ramatroban and its effects on PGD₂-, 15-deoxy-Delta¹², 14-. *Eur J Pharmacol* 2005; 524(1-3):30-37.
- (161) Sugimoto H, Shichijo M, Okano M, Bacon KB. CRTH2-specific binding characteristics of [3H]ramatroban and its effects on PGD₂-, 15-deoxy-Delta¹², 14-. *Eur J Pharmacol* 2005; 524(1-3):30-37.
- (162) Sundstrom E, Lastbom L, Ryrfeldt A, Dahlen SE. Interactions among three classes of mediators explain antigen-induced bronchoconstriction in the isolated perfused and ventilated guinea pig lung. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307(1):408-418.
- (163) Suzuki Y, Asano K, Shiraishi Y, Oguma T, Shiomi T, Fukunaga K et al. Human bronchial smooth muscle cell proliferation via thromboxane A₂ receptor. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 71(6):375-382.
- (164) Swanson ML, Lei ZM, Swanson PH, Rao CV, Narumiya S, Hirata M. The expression of thromboxane A₂ synthase and thromboxane A₂ receptor gene in human uterus. *Biol Reprod* 1992; 47(1):105-117.
- (165) Takahashi N, Ishibashi Y, Murakami Y, Shimizu H, Ohta Y, Asanuma T et al. Beneficial effect of combination therapy with ozagrel and pranlukast in exercise-induced asthma demonstrated by krypton-81 m ventilation scintigraphy--a case report. *Ann Acad Med Singapore* 2000; 29(6):766-769.
- (166) Tamaoki J, Kondo M, Sakai N, Nakata J, Takemura H, Nagai A et al. Leukotriene antagonist prevents exacerbation of asthma during reduction of high-dose inhaled corticosteroid. The Tokyo Joshi-Idai Asthma Research Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(4):1235-1240.
- (167) Tang MB, Yosipovitch G. Acute Churg-Strauss syndrome in an asthmatic patient receiving montelukast therapy. *Arch Dermatol* 2003; 139(6):715-718.
- (168) Tosun M, Paul RJ, Rapoport RM. Role of extracellular Ca⁺⁺ influx via L-type and non-L-type Ca⁺⁺ channels in thromboxane A₂ receptor-mediated contraction in rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284(3):921-928.
- (169) Uhlig S WA. Lipid mediators in perfused rat lung. In: Von Wichert P SSe, editor. *Interdisziplinäre Aspekte der Pneumologie [Interdisciplinary Aspects in Pneumology]*. Stuttgart: Thieme Verlag, 1995: 66-74.
- (170) Ushikubi F, Aiba Y, Nakamura K, Namba T, Hirata M, Mazda O et al. Thromboxane A₂ receptor is highly expressed in mouse immature thymocytes

- and mediates DNA fragmentation and apoptosis. *J Exp Med* 1993; 178(5):1825-1830.
- (171) Vally H, Taylor ML, Thompson PJ. The prevalence of aspirin intolerant asthma (AIA) in Australian asthmatic patients. *Thorax* 2002; 57(7):569-574.
- (172) Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971; 231(25):232-235.
- (173) von Euler US. *Arch.exptl.Pathol.Pharmakol., Naunyn-Schmiedeberg's. J Physiology* 1934; 175:78.
- (174) Walsh GM. Novel therapies for asthma--advances and problems. *Curr Pharm Des* 2005; 11(23):3027-3038.
- (175) Wang CG, Du T, Xu LJ, Martin JG. Role of leukotriene D4 in allergen-induced increases in airway smooth muscle in the rat. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148(2):413-417.
- (176) Wardlaw AJ, Brightling CE, Green R, Woltmann G, Bradding P, Pavord ID. New insights into the relationship between airway inflammation and asthma. *Clin Sci (Lond)* 2002; 103(2):201-211.
- (177) Warner JO. The role of leukotriene receptor antagonists in the treatment of chronic asthma in childhood. *Allergy* 2001; 56 Suppl 66:22-29.
- (178) Wechsler ME, Pauwels R, Drazen JM. Leukotriene modifiers and Churg-Strauss syndrome: adverse effect or response to corticosteroid withdrawal? *Drug Saf* 1999; 21(4):241-251.
- (179) Weiland SK, Pearce N. Asthma prevalence in adults: good news? *Thorax* 2004; 59:637-638.
- (180) Wenzel SE, Westcott JY, Larsen GL. Bronchoalveolar lavage fluid mediator levels 5 minutes after antigen challenge in atopic subjects with asthma. *Allergy Clin Immunol* 1991;(87):540-548.
- (181) Wenzel SE, Westcott JY, Smith HR, Larsen GL. Spectrum of prostanoid release after bronchoalveolar allergen challenge in atopic asthmatics and in control groups. An alteration in the ratio of bronchoconstrictive to bronchoprotective mediators. *Am, Rev Respir Dis* 1989;(137):450-457.
- (182) Wenzel SE, Westcott JY, Smith HR, Larsen GL. Spectrum of prostanoid release after bronchoalveolar allergen challenge in atopic asthmatics and in control groups. An alteration in the ratio of bronchoconstrictive to bronchoprotective mediators. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139(2):450-457.

- (183) Wiggs BR, Bosken C, Pare PD, James A, Hogg JC. A model of airway narrowing in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145(6):1251-1258.
- (184) WMA. World Medical Association Declaration of Helsinki, 5th Revision. 2000.
- (185) Wohlsen A, Martin C, Vollmer E, Branscheid D, Magnussen H, Becker WM et al. The early allergic response in small airways of human precision-cut lung slices. *Eur Respir J* 2003; 21(6):1024-1032.
- (186) Woodward DF, Hawley SB, Williams LS, Ralston TR, Protzman CE, Spada CS et al. Studies on the ocular pharmacology of prostaglandin D₂. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31(1):138-146.
- (187) Yamada T, Takahashi Y, Ishizaki M, Musoh K, Ohashi T, Tanaka H et al. Effects of RS-601, a novel leukotriene D₄/thromboxane A₂ dual receptor antagonist, on asthmatic responses in guinea pigs. *Pharmacology* 2003; 69(1):51-58.
- (188) Yamaguchi T, Mukaiyama O, Itoh K, Satoh Y, Terada A, Iizuka Y. Effects of CS-518, a thromboxane synthase inhibitor, on the asthmatic response. *Eur J Pharmacol* 1993; 236(1):43-50.
- (189) Zhang YJ, Zhang L, Wang SB, Shen HH, Wei EQ. Montelukast modulates lung CysLT₁ receptor expression and eosinophilic inflammation in asthmatic mice. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25(10):1341-1346.

7 Anhang

7.1.1 Monotherapiegruppe

Pat. ID	Geschlecht (w/m)	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Größe (cm)	FEV (% vom Sollwert)	VC (L_{BTPS})
5	m	45	90	199	103.8	7.330
7	w	24	67	167	105.3	4.010
11	w	34	80	168	93.4	3.770
14	w	47	78	170	93.9	3.690
15	m	28	58	163	123.3	5.030
16	m	25	68	180	126.6	5.850
17	w	23	77	170	101.6	5.110
18	w	48	56	164	98.3	3.870
19	m	21	80	175	93.9	4.830
20	w	21	60	172	103.2	4.040
24	w	37	48	166	121.7	4.170
25	w	26	56	163	100.6	3.460
26	w	19	68	167	117.6	4.520
27	w	21	58	171	84.7	3.640
28	w	45	60	160	101.7	3.190
30	w	27	61	163	94.9	3.480
33	m	24	115	202	102.8	6.970
M	w=12;m=5	30.29	69.41	171.8	104	4.527
SD		10.2	16.19	11.89	11.76	1.210
Min		19	48	160	84.7	3.19
Median		26	67	168	101.7	4.04
Max		48	115	202	126.6	7.33

Tabelle 9 Demographische Daten der Monotherapiegruppe; Pat. 3 und 4 ausgeschieden, N=17

Pat. ID	Sensibilisierung (mono-/polyvalent)	Gesamt-IgE (kU/l)	Spez. IgE D.pteron. (kU/l)	RAST-Klasse (1-6)	Medikation
5	polyvalent	667	83.3	5	
7	polyvalent	325	79.8	5	Sultanol b.Bd
11	monovalent	32.9	5.58	3	Salbutamol b.Bd.
14	polyvalent	1056	26.9	4	Symbicort
15	monovalent	340	59.8	5	Salbutamol b.Bd.
16	polyvalent	107	12	3	Salbutamol b.Bd.
17	polyvalent	183	21.5	4	Sultanol b.Bd.
18	polyvalent	724	44	4	
19	polyvalent	355	40.9	4	Salbutamol b.Bd.
20	polyvalent	688	100	6	Sultanol b.Bd.
24	polyvalent	34.5	1.16	2	
25	polyvalent				
26	polyvalent	484	93.2	5	Sultanol b.Bd.
27	polyvalent	207	41.5	4	Apsomol b.Bd.
28	polyvalent	63	13.6	3	Salbutamol b.Bd
30	polyvalent	91.3	1.06	2	
33	polyvalent	60.2	12	3	
M	mono=2;poly=15	338.6	39.77	3.88	
SD		306.6	33.95	1.15	
Min		32.9	1.06	2	
Median		266.5	33.9	4	
Max		105.6	100	6	

Tabelle 10 Demographische Daten der Monotherapiegruppe, N=17; Pat. 25: Daten der IgE-Bestimmung liegen nicht vor

7.1.2 Kombinationstherapiegruppe

Pat. ID	Geschlecht (w/m)	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Größe (cm)	FEV (% vom Sollwert)	VC (L _{Btps})
2	m	34	86	192	80.0	5.260
6	w	56	65	172	73.8	2.960
8	w	23	68	176	91.7	4.060
10	w	24	45	154	100.7	3.730
12	w	39	82	165	86.0	3.130
13	m	24	85	193	100.2	6.180
21	w	22	65	177	107.3	5.160
23	w	26	59	163	109.6	3.610
29	w	30	56	165	123.4	4.470
34	m	21	71	179	105.1	5.930
M	w=7;m=3	29.9	68.2	173.6	97.78	4.449
SD		10.83	13.29	12.51	14.99	1.139
Min		21	45	154	73.8	2.96
Median		25	66.5	174	100.5	4.265
Max		56	86	193	123.4	6.18

Tabelle 11 Demographische Daten der Kombinationstherapiegruppe, Pat. 1,9,22,32 und 34 ausgeschieden, N=10

Pat. ID	Sensibilisierung (mono-/polyvalent)	Gesamt-IgE (kU/l)	Spez. IgE D.pteron. (kU/l)	RAST-Klasse (1-6)	Medikation
2	polyvalent	96.4	9.73	3	
6	polyvalent	112	1.74	2	Pulmicort
8	polyvalent	697	10.2	3	Budecort b.Bd.
10	polyvalent	668	45.4	4	
12	polyvalent	129	14.5	3	
13	polyvalent	59.8	0.61	1	Aarane b.Bd.
21	monovalent	102	24	4	Symbicort Salbutamol b.Bd.
23	polyvalent	78	11.4	3	
29	polyvalent	75.5	16.1	3	
34	polyvalent	93.1	11.2	3	Salbutamol b.Bd.
M	mono=1; poly=9	211.1	13.49	2.9	
SD		249.3	12.76	0.88	
Min		59.8	0.61	1	
Median		99.2	11.3	3	
Max		697	45.5	4	

Tabelle 12 Demographische Daten der Kombinationstherapiegruppe, N=10

7.1.3 Ethikkommission

Die Untersuchungen wurden von der Ethikkommission am 27.08.2004, Aktenzeichen 03-127 genehmigt.

8 Danksagung

Prof. Dr. Zabel möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit, sowie deren Korrektur herzlich danken. Ich danke Dr. med. Jürgen Welling für die Betreuung bei der klinischen Durchführung der Studie. Besonders bei der Rekrutierung der Patienten und Studienplanung war er eine große Hilfe.

Mein Dank gilt auch dem Team der Allergologischen Ambulanz in Borstel, besonders Frau Jutta Kreutzkamp, für die Hilfestellung bei der Durchführung der Provokationen. Ohne ihre Einarbeitung wäre die Umsetzung der Studie nicht möglich gewesen.

Dr. Christian Martin, sowie Prof. Stefan Uhlig möchte ich für die Messung der Lipidmediatorenspiegel danken, sowie für die große Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Meinem allerliebsten Freund Niels, der geduldig meine Launen ertragen und mir während der vielen Stunden, die ich am Schreibtisch saß den Rücken freigehalten hat, danke ich für die seelische und moralische Unterstützung während der gesamten Dissertationszeit.

Meine Eltern und Großeltern möchte ich dafür danken, dass sie mir mein Medizin-Studium und damit die Dissertation ermöglicht haben.

Ein herzlicher Dank geht auch an meine Freunde für Ihre in vielerlei Hinsicht hilfreiche Unterstützung, Gespräche und Geduld.

Nicht zuletzt bedanke ich mich herzlich bei all den Probanden, die bereit waren an der Studie teilzunehmen.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Stefanie Heinemann
Geburtsdatum:	07.04.1981
Geburtsort:	Kassel
Familienstand:	ledig
Eltern:	Edith Heinemann, geb. Pokorny Hausfrau
	Gerhard Heinemann Rentner bis 2006 Betriebsrat bei VW, Baunatal
Geschwister:	Tobias Heinemann, 19 Jahre alt Ausbildung zum Werkzeugmechaniker

Schulausbildung

Grundschule:	Louise-Schröder-Grundschule in Niederstein 1987-1991
Gymnasium:	König-Heinrich-Schule in Fritzlar 1991-2000
Schulabschluss:	Abitur (1,8)

Studium

Oktober 2000 - September 2001	Studium der Musikpädagogik, Psychologie und Anglistik auf Magister Universität zu Passau
Oktober 2001 - September 2004	Studium der Humanmedizin EMAU Greifswald
September 2003	Physikum, EMAU Greifswald Note: 2,3
Seit Oktober 2004	Studium der Humanmedizin Universität zu Lübeck
Seit Januar 2005	Dissertation
Herbst 2007	2. Staatsexamen (nach neuer AO)

Famulaturen

April 2004	Kinderarztpraxis Dr. Bernhard in Schauenburg
Mai 2004	DRK Therapiezentrum Marli in Lübeck Geriatric
August und September 2004	Bulongwa Lutheran Hospital in Tansania Innere Medizin und Gynäkologie

Praktisches Jahr

21. August - 8. Dezember 2006	Chirurgie Kilimanjaro Christian Medical College Moshi, Tansania
11. Dezember 2006 - 30. März 2007	Innere Medizin Medizinische Klinik Forschungszentrum Borstel
2. April - 20. Juli 2007	Gynäkologie und Geburtshilfe UKSH, Campus Lübeck

Weitere Tätigkeiten

Oktober 2003 - März 2004	Tutor in der Physiologie EMAU Greifswald
Juli - Dezember 2005	Studentischer Blutentnahmedienservice Med. I, Universitätsklinikum Schleswig- Holstein Campus Lübeck
Dezember 2005- Juli 2006	HiWi bei „trials & more“ Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Lübeck