

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik  
im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Dr. Christoph Klein



**Eine massenspektrometrische Analyse der Proteinfragmente im  
Blut von reifen Neugeborenen und deren potenzieller  
Zusammenhang mit allergischen Erkrankungen**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Janne Klara Scharpenack  
aus Berlin

2024

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Orsolya Genzel-Borovicény

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michael Vogeser

Prof. Dr. Katja Radon

Mitbetreuung durch die

promovierte Mitarbeiterin: Prof. Dr. med. vet. Susanne Pangratz-Führer

Dekan: Prof. Dr. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.03.2024

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	1
1.1	Bedeutung allergischer Erkrankungen in der Bevölkerung.....	1
1.2	Überempfindlichkeitsreaktionen .....	2
1.2.1	Definition: Allergie – allergische Reaktion.....	2
1.2.2	Anaphylaxie und anaphylaktischer Schock.....	3
1.2.3	Pseudoallergie .....	4
1.2.4	Allergieformen .....	4
1.3	Entstehung der allergischen Erkrankungen.....	6
1.3.1	Das Immunsystem im Überblick .....	6
1.3.2	Pathophysiologie der allergischen Reaktionen .....	7
1.3.3	Prädisposition und Prävention.....	8
1.4	Diagnostik allergischer Erkrankungen.....	11
1.5	Behandlung allergischer Erkrankungen .....	12
<b>2</b>	<b>Zielsetzung</b> .....	14
<b>3</b>	<b>Methode</b> .....	15
3.1	Studiendesign.....	15
3.2	Probengewinnung.....	17
3.3	LC-MS Analyse.....	18
3.4	Probenverarbeitung .....	20
3.5	Proteom-Analysen – „Proteomics“ .....	21
3.6	Datensammlung.....	22
3.7	Auswahl der Patienten.....	22
3.8	Statistik.....	23
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	25
4.1	Beschreibung des Patientenkollektivs.....	25
4.1.1	Allergische Anamnese.....	25
4.1.2	Klinische Daten der gesamten Kohorte .....	26

4.1.3	Klinische Daten der Untergruppen nach Allergie-Prädisposition .....	30
4.2	Protein-Analyse .....	32
4.2.1	Validität der Blutproben in Abhängigkeit zur Blutentnahmetechnik .....	33
4.2.2	Frage I – Vergleich der Gruppen .....	34
4.2.2.1	Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese beider Eltern (K vs. AE) .....	34
4.2.2.2	Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur der Mutter (K vs. AM) .....	35
4.2.2.3	Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur des Vaters (K vs. AV) .....	36
4.2.2.4	Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit negativer allergischer Anamnese der Eltern, aber einer bekannten Allergie bei mindestens einer entfernten verwandten Person (K vs. AA) .....	37
4.2.2.5	Kinder mit allergischer Anamnese beider Eltern im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur der Mutter (AE vs. AM) .....	38
4.2.2.6	Kinder mit allergischer Anamnese beider Eltern im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur des Vaters (AE vs. AV) .....	39
4.2.2.7	Kinder mit positiver allergischer Anamnese nur der Mutter im Vergleich zu Kindern mit positiver Allergischer Anamnese des Vaters (AM vs. AV) .....	40
4.2.3	Frage II – Vergleich der verschiedenen Untergruppen der Kohorte nach Art der allergischen Erkrankung .....	42
4.2.3.1	Atopie .....	42
4.2.3.2	Asthma bronchiale .....	45
4.2.3.3	Atopisches Ekzem .....	48
4.2.3.4	Allergische Rhinokonjunktivitis .....	52
4.2.3.5	Allergie Typ I .....	55
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>58</b>
5.1	Frage I .....	58
5.2	Frage II .....	79
5.3	Proteinfamilien .....	84
<b>6</b>	<b>Limitation der Studie</b> .....	<b>88</b>
<b>7</b>	<b>Ethische Überlegungen</b> .....	<b>92</b>



<b>8</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	94
<b>9</b>	<b>Anhang</b> .....	96
9.1	Laborprotokoll.....	96
9.2	Einwilligungserklärung.....	98
9.3	Fragebogen.....	103
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	110
<b>11</b>	<b>Danksagung</b> .....	117
<b>12</b>	<b>Publikationsliste</b> .....	120
<b>13</b>	<b>Affidavit</b> .....	121

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Einteilung der Anaphylaxie .....	3
Abbildung 2 Klassifikation der Allergien .....	5
Abbildung 3 Die Zellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems.....	6
Abbildung 4 Flow Chart zum Studienaufbau.....	15
Abbildung 5 Filterkarte.....	17
Abbildung 6 Histogramm zum Vergleich der Geburtsgewichtverteilung .....	32
Abbildung 7 Vulcan Plot der Keratinmessung.....	33
Abbildung 8 Histogramm der Keratinmessung.....	33
Abbildung 9 Student's t-Test (K vs. AE).....	34
Abbildung 10 Student's t-Test (K vs. AM).....	36
Abbildung 11 Student's t-Test (K vs. AV).....	37
Abbildung 12 Student's t-Test (K vs. AA).....	38
Abbildung 13 Student's t-Test (AE vs. AM).....	39
Abbildung 14 Student's t-Test (AE vs. AV).....	40
Abbildung 15 Student's t-Test (AM vs. AV).....	41
Abbildung 16 Student's t-Test (K vs. Atopie).....	42
Abbildung 17 Student's t-Test (K vs. Atopie Mutter).....	43
Abbildung 18 Student's t-Test (K vs. Atopie Vater).....	44
Abbildung 19 Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale).....	46
Abbildung 20 Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Mutter).....	47
Abbildung 21 Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Vater).....	48
Abbildung 22 Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem).....	49
Abbildung 23 Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem Mutter).....	50
Abbildung 24 Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem Vater).....	51
Abbildung 25 Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis beidseits).....	52
Abbildung 26 Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis Mutter).....	53
Abbildung 27 Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis Vater).....	54
Abbildung 28 Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I beidseits).....	55
Abbildung 29 Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Mutter).....	56
Abbildung 30 Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Vater).....	57
Abbildung 31 Student's t-Test MSN in verschiedenen Vergleichen.....	59
Abbildung 32 Student's t-Test RAP1B in verschiedenen Vergleichen.....	61
Abbildung 33 Student's t-Test LCP1 in verschiedenen Vergleichen.....	62
Abbildung 34 Student's t-Test NAPRT in verschiedenen Vergleichen.....	64
Abbildung 35 Student's t-Test PFN1 in verschiedenen Vergleichen.....	65
Abbildung 36 Student's t-Test YWAHZ in verschiedenen Vergleichen.....	67

Abbildung 37 Student's t-Test ANXA7 in verschiedenen Vergleichen.....	68
Abbildung 38 Student's t-Test TAGLN2 in verschiedenen Vergleichen.....	69
Abbildung 39 Student's t-Test GP1BA in verschiedenen Vergleichen.....	71
Abbildung 40 Student's t-Test SERPINB1 in verschiedenen Vergleichen.....	72
Abbildung 41 Student's t-Test PPA1 in verschiedenen Vergleichen.....	73
Abbildung 42 Student's t-Test PTGER3 in verschiedenen Vergleichen.....	75
Abbildung 43 Student's t-Test APOB in verschiedenen Vergleichen.....	77
Abbildung 44 Histogramm mit Annotation <i>Cytoskeletal parts</i> in GOCC.....	84
Abbildung 45 Histogramm mit Annotation <i>Cytoskeleton</i> in keywords.....	85
Abbildung 46 Histogramm mit Annotation <i>Immunity</i> .....	86
Abbildung 47 Histogramm mit Annotation <i>complement activation</i> .....	86
Abbildung 48 Histogramm mit Annotation <i>regulation of hummoral immune response</i> .....	86
Abbildung 49 Histogramm mit Annotation <i>regulation of acute inflammatory response</i> .....	87
Abbildung 50 Histogramm mit Annotation <i>Proteaseinhibitor</i> .....	87
Abbildung 51 Schaubild Plazentaschranke.....	90

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Probenentnahmezeitpunkte.....	16
Tabelle 2 Herkunft der klinischen Information.....	22
Tabelle 3 Auflistung exkludierter Proben.....	23
Tabelle 4 Aufteilung der Untergruppen in Fallzahlen.....	25
Tabelle 5 Inzidenz allergische Erkrankung nach Allergenen aufgeteilt.....	26
Tabelle 6 Charakteristika bei Geburt in Mittelwerten und Standardabweichung.....	27
Tabelle 7 Klinische Charakteristika bezüglich Schwangerschaft und Geburt.....	28
Tabelle 8 Gesundheitszustand der Eltern nach Allergieuntergruppen.....	29
Tabelle 9 Klinische Daten zu Kind und Eltern innerhalb der Gruppierung.....	30
Tabelle 10 Klinische Daten zu der Geburt der Gruppierung.....	31
Tabelle 11 Student's t-Test (K vs. AE).....	35
Tabelle 12 Student's t-Test (K vs. AM).....	36
Tabelle 13 Student's t-Test (K vs. AV).....	37
Tabelle 14 Student's t-Test (K vs. AA).....	38
Tabelle 15 Student's t-Test (AE vs. AM).....	39
Tabelle 16 Student's t-Test (AE vs. AV).....	40
Tabelle 17 Student's t-Test (AM vs. AV).....	41
Tabelle 18 Student's t-Test (K vs. Atopie).....	43
Tabelle 19 Student's t-Test (K vs. Atopie Mutter).....	44
Tabelle 20 Student's t-Test (K vs. Atopie Vater).....	45
Tabelle 21 Fallzahlen Asthma bronchiale.....	45
Tabelle 22 Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale).....	46
Tabelle 23 Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Mutter).....	47
Tabelle 24 Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Vater).....	48
Tabelle 25 Fallzahlen atopisches Ekzem.....	48
Tabelle 26 Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem).....	49
Tabelle 27 Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem Mutter).....	50
Tabelle 28 Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem Vater).....	51
Tabelle 29 Fallzahlen allergische Rhinokonjunktivitis.....	52
Tabelle 30 Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis beidseits).....	53
Tabelle 31 Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis Mutter).....	54
Tabelle 32 Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis Vater).....	55
Tabelle 33 Fallzahlen Allergie Typ I.....	55
Tabelle 34 Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I beidseits).....	56
Tabelle 35 Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Mutter).....	56
Tabelle 36 Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Vater).....	57

# Abkürzungsverzeichnis

AIH	Allergen-Immuntherapie
BMI	Bodymassindex
CMV	Cytomegalievirus
ERM	Ezrin-Radixin-Moesin
ESI	Elektro Spray Ionisierung
FDR	False Discovery Rate
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
kDa	Kilodalton
KiGGS	Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
MS	Massenspektrometer
m/z	Masse zu Ladung
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NGS	Neugeborenen-Screening
NK-Zellen	natürliche Killer-Zellen
PGE2	Prostaglandin E2
prim.	primär
sek.	sekundär
SIT	spezifische Immuntherapie
SNP	single-nukleotide Polymorphismus
speLC	solid phase extraction Liquid Chromatographie
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswochen
TNF $\alpha$	Tumor-Nekrosefaktor $\alpha$
VE	Vakuumextraktion



# 1 Einleitung

## 1.1 Bedeutung allergischer Erkrankungen in der Bevölkerung

Eine besorgniserregende Entwicklung des Gesundheitszustandes der Bevölkerung zeigt sich in der steigenden Inzidenz allergischer Erkrankungen und Erkrankungen des atopischen Formenkreises besonders im Kindesalter [1, 2]. Die weit verbreitetsten Vertreter dieses Formenkreises sind die allergische Rhinokonjunktivitis (Heuschnupfen), allergisches Asthma bronchiale, atopisches Ekzem (Neurodermitis, atopische Dermatitis), Lebensmittelallergien und Medikamentenallergien. Die Ausbildung einer Allergie ist jedoch auf nahezu jedes Antigen möglich, womit der Krankheitskomplex eine Vielzahl von Ausprägungen annehmen kann.

Die aktuelle Inzidenz in der Bevölkerung wird sehr variabel angegeben. Es kann von einer Inzidenz um 25% bei mindestens einer Allergie ausgegangen werden. Weitere 25% der Bevölkerung weisen eine Sensibilisierung gegen mindestens ein Antigen auf, ohne an allergischen Symptomen zu leiden [3]. In diesen Personen ist somit auch der Grundstein für die Entwicklung einer symptomatischen Allergie gelegt [4].

Obwohl die Daten der KiGGS-Studie des Gesundheitsmonitorings im Kindesalter durch das Robert-Koch-Institut in Deutschland nach einem plötzlichen Anstieg in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts in den Jahren 2000 bis 2018 eine stagnierende Prävalenz nahelegen, darf der sozioökonomische und persönliche Einfluss von allergischen Erkrankungen nicht unterschätzt werden. Es zeigt sich weiterhin eine Lebenszeitprävalenz der Kinder von 23,7% an einer Erkrankung des atopischen Formenkreises zu leiden. Damit ist mehr als jedes fünfte Kind von allergischem Asthma bronchiale, allergischer Rhinokonjunktivitis oder atopischem Ekzem betroffen [4]. Hinzu kommt die steigende Prävalenz der Lebensmittelallergien auf bis zu 10%, deren Beginn meist ins Kindesalter fällt [5].

Durch das erhöhte Auftreten in der Bevölkerung konnte ein massiver Anstieg an Hospitalisierungen aufgrund einer Anaphylaxie verzeichnet werden. Daten aus Großbritannien zeigen in den Jahren 1998 bis 2012 diesen rapiden Anstieg von 137% unter Kindern bis 14 Jahren. In den westlichen Ländern ist dieser Trend als anhaltend eingestuft [6, 7]. Nach wie vor ist die Maximalvariante als anaphylaktischer Schock ein potenziell letales Ereignis. Im Kindesalter zeigen sich Lebensmittelallergien und dabei besonders Erd- oder Walnuss-Allergien als häufigster Auslöser für fatale allergische Reaktionen [7].

Die Ursachen dieser Entwicklung scheinen vielfältig zu sein. Neben veränderten Lebensumständen wie der auch Klimawandel sowie genetische Prädisposition werden die

unterschiedlichsten Einflüsse vor und während der Schwangerschaft sowie beim Heranwachsen als ätiologisch diskutiert.

Wir sind immer noch dabei zu verstehen, wie es immunologisch zu allergischen Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock kommt und wo wir eingreifen können, um dies zu verhindern. Bisher ist eine suffiziente Prävention oder Vorhersage der persönlichen Krankheitsgeschichte nicht möglich. Trotz vieler Behandlungsansätze kann eine allergische Erkrankung bisher nicht als heilbar eingestuft werden.

Diese Arbeit widmet sich den Proteinausprägungen im Blut von Neugeborenen und deren potenziellen Zusammenhang mit allergischen Erkrankungen.

## 1.2 Überempfindlichkeitsreaktionen

### 1.2.1 Definition: Allergie – allergische Reaktion

Im Gegensatz zur weit verbreiteten Meinung, einhergehend mit dem fälschlichen Gebrauch des Wortes „Allergie“, entspricht nicht jede Überempfindlichkeitsreaktion dem Pathomechanismus einer allergischen Reaktion, wenn auch jede Allergie eine Überempfindlichkeitsreaktion darstellt. Grundsätzlich lässt sich zwischen immunologischen und nicht immunologischen Überempfindlichkeitsreaktionen unterscheiden. Allergien gehören genau wie Autoimmunerkrankungen zu den immunologischen Überempfindlichkeitsreaktionen. Zu unterscheiden ist hierbei die Art des Antigens. Anders als bei Autoimmunität wird bei einer allergischen Reaktion nicht ein körpereigenes Merkmal vom Immunsystem als schädlich registriert, sondern die immunologische Reaktion des Organismus auf extrinsische Antigene ohne eigenen Krankheitswert gelenkt. Der Krankheitswert der Allergie entsteht also nicht durch die Schädlichkeit des Allergens selbst, sondern durch die Fehlregulation des Immunsystems.

So versteht man unter einer Allergie eine *„verstärkte, spezifische Abwehrreaktion gegenüber an sich harmlosen Substanzen im Sinne einer krank machenden Überempfindlichkeit“* [8].

Dieses kann sich durch verschiedenste Symptome in potenziell jedem Organ manifestieren. Die bekanntesten Formen sind hierbei die allergische Rhinokonjunktivitis, allergisches Asthma bronchiale, Urtikaria, Kontaktdermatitis oder atopisches Ekzem (Neurodermitis, atopische Dermatitis) sowie die verschiedensten Ausprägungen von Arzneimittel- und Lebensmittelallergien.

Durch die fehlgerichtete Aktivierung des Immunsystems wird bei ständiger Allergenexposition eine chronische Entzündungsreaktion am jeweiligen Ort des Geschehens ausgelöst. So kann beispielsweise eine Lebensmittelallergie den Darm schädigen, wohingegen eine Allergie auf



inhalative Allergene die Bronchen und das Lungengewebe belastet. Bei anhaltender Exposition findet durch dauerhafte Entzündung ein Umbauprozess, genannt „Remodeling“, statt [8]. Hierbei wird gesundes und funktionsfähiges Gewebe durch Narbengewebe in Form von extrazellulärer Matrix ersetzt. Dieses führt zu einer Beeinträchtigung der natürlichen Funktion der betroffenen Organe mit gravierenden Folgen. Dieser Umbauprozess ist aktuell auch bei konsequenter Therapie irreversibel [9].

## 1.2.2 Anaphylaxie und anaphylaktischer Schock

Die Anaphylaxie bildet die maximale Reaktion des Körpers bei einer Allergie des Soforttypen ab. Hierbei handelt es sich um ein „plötzlich auftretendes und schwer verlaufendes Krankheitsbild nach Kontakt mit einer auslösenden Substanz (z.B. Allergen). Als akute systemische Reaktion kann sie ein oder mehrere Organsysteme erfassen und dementsprechend je nach Schweregrad mit unterschiedlichen Symptomen einhergehen“ [10]. Klassischerweise beinhalten diese Symptome die des respiratorischen, gastrointestinalen, kardialen und dermatologischen Formenkreises wie Atemnot, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe, Tachykardie, Urtikaria und weiteres. Die Anaphylaxie kann in einen anaphylaktischen Schock münden, der, wenn auch selten, letal enden kann [11]. Die Diagnosefindung erfolgt hauptsächlich klinisch anhand der Symptomatik und der Krankheitsgeschichte [12]. Sie lässt sich anhand der Klinik in verschiedene Stadien einteilen.

Schweregradskala zur Klassifizierung anaphylaktischer Reaktionen				
Grad	Haut- und subjektive Allgemeinsymptome	Abdomen	Respirations-trakt	Herz-Kreislauf
I	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	–	–	–
II	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	Nausea Krämpfe Erbrechen	Rhinorrhö Heiserkeit Dyspnoe	Tachykardie (Anstieg >20/min) Hypotension (Abfall >20 mmHg systolisch) Arrhythmie
III	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	Erbrechen Defäkation	Larynxödem Bronchospasmus Zyanose	Schock
IV	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	Erbrechen Defäkation	Atemstillstand	Kreislaufstillstand

\* Die Klassifizierung erfolgt nach den schwersten aufgetretenen Symptomen (kein Symptom ist obligatorisch).

**Abbildung 1** Einteilung der Anaphylaxie nach Ring anhand der klinischen Symptomatik (Quelle: Leitlinie\_Anaphylaxie\_2014.pdf (gpau.de))

Als Behandlung steht bis heute nur eine Symptomkontrolle zur Verfügung, die meist durch die Gabe von verschiedenen Medikamenten erreicht werden kann. In seltenen Fällen werden intensivmedizinische Maßnahmen wie eine künstliche Beatmung oder eine Koniotomie (Luftröhrenschnitt) nötig. Je nach Ausprägung der Symptomatik unterscheidet sich die Darreichungsform und Menge der Medikation. Bei respiratorischen Symptomen sollte immer eine invasive Gabe von einem Antihistaminikum, Adrenalin und Kortikosteroid verabreicht werden. Im Falle einer bekannten Anaphylaxie werden Patient und Eltern dazu angehalten, Notfallmedikamente bei sich zu tragen [13]. Dies umfasst neben oral applizierbaren Medikamenten auch einen Autoinjektor zur muskulären Selbst- oder Fremdapplikation. Falls möglich bietet sich eine spezifische Immuntherapie an.

Der häufigste Auslöser der Anaphylaxie im Kindesalter ist die Lebensmittelallergie. Beispielhaft analysierte eine australische Studie mit knapp 500 Teilnehmenden innerhalb einer Periode von fünf Jahren die Einlieferungen in die pädiatrische Notaufnahme. Mit bis zu 53% standen Lebensmittelallergien ungeschlagen an erster Stelle. Davon war ein signifikant hoher Anteil von Nüssen (z.B. Erdnuss 18% und Cashew 19%) als Allergen induziert [14]. In bis zu 20% der Fälle ist eine eindeutige Identifikation des Triggers nicht möglich [6]. Diese Fälle werden als idiopathische Anaphylaxie bezeichnet. Die fehlende Auslöseridentifikation erschwert eine adäquate Sekundärprävention durch Allergenkarenz erheblich, was die Lebensqualität durch ständige Angst vor einer erneuten Anaphylaxie außerordentlich beeinflusst [15].

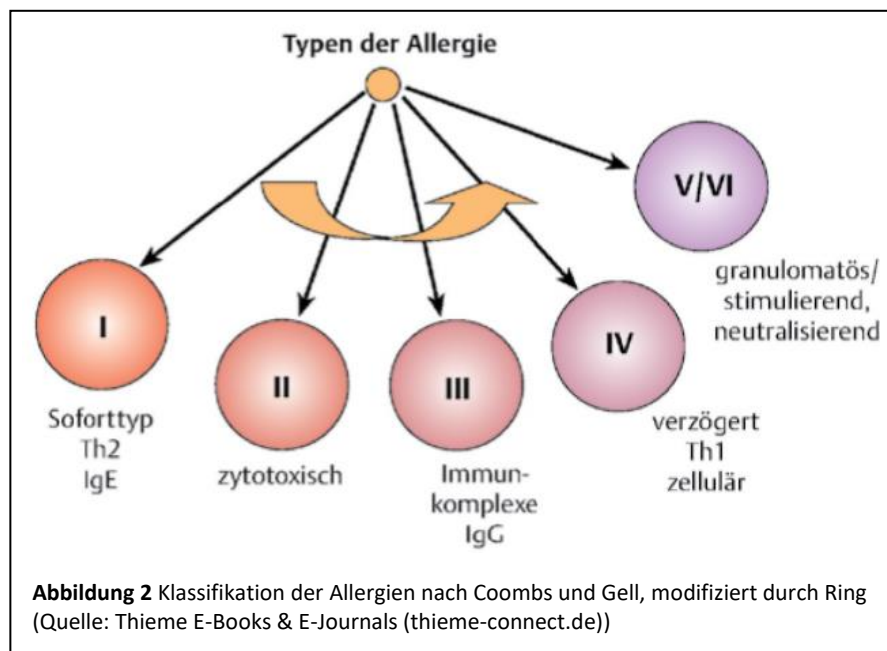
### **1.2.3 Pseudoallergie**

Besonders bei Überempfindlichkeitsreaktionen auf Medikamente findet die Freisetzung der Entzündungsmediatoren auch ohne immunologische Mechanismen statt. Der Symptomkomplex gleicht dem der immunologisch induzierten Überempfindlichkeitsreaktion durch die gemeinsame Endstrecke, ist aber durch den veränderten Pathomechanismus klar von einer Allergie abzugrenzen. In den letzten Jahren hat sich in diesem Fall der Begriff der Pseudoallergie und bei lebensbedrohlicher Maximalausprägung auch Pseudoanaphylaxie etabliert [16]. Auch die akute Behandlung gleicht der der allergischen Erkrankungen weitestgehend. Dennoch ist der primäre Auslöser der Überempfindlichkeitsreaktion nicht ein immunologisches Geschehen, sondern das Medikament selbst.

### **1.2.4 Allergieformen**

Allergische Erkrankungen lassen sich auf verschiedene Weise einteilen. Neben der Einteilung nach Symptomen, betroffenen Organsystemen, zeitlichem Verlauf oder Allergenen hat sich vor allem die Klassifikation anhand der Pathophysiologie durchgesetzt. Keine dieser Einteilungen bildet das Geschehen vollständig ab. Entgegen früherer Meinung ist ein Antigen

in der Lage, mehrere Mechanismen der Hypersensitivität und damit auch unterschiedliche Symptomkomplexe auszulösen. Andersherum können demselben Symptomkomplex unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen, die auch parallel stattfinden können. Trotzdem wird die Einteilung der Überempfindlichkeitsreaktionen nach Coombs und Gell weiterhin als Orientierung genutzt [16]. Durch neuere wissenschaftliche Erkenntnisse ist die Erweiterung nach Ring entstanden [17]. Auch diese Einteilung lässt sich durch genauere Beschreibung des immunologischen Geschehens weiter unterteilen, sodass weitere Untergruppen entstehen. Die Einteilung nach Coombs und Gell ist auf alle immunologischen Überempfindlichkeitsreaktionen anwendbar, so auch auf Autoimmunerkrankungen, auf die nicht weiter eingegangen werden soll. Zu einer Einteilung der Allergien wird dabei als Antigen ein Allergen angenommen.



Die Allergiefornen I, II und III haben einen antikörperabhängigen Pathomechanismus, wohingegen IV, V und VI eine antikörperunabhängige Kaskade abbilden. Es benötigt eine vorangegangene Sensibilisierung, die außer bei der Allergie vom Soforttyp auch bei der akuten Exposition innerhalb von Stunden bis Tagen auftreten kann. Die Allergietypen unterscheiden sich sowohl in der Art der Symptome als auch in ihrer Latenzzeit. Wie der Name schon vermuten lässt, ist die Allergie vom Soforttyp (Typ I) mit einer Latenz von Sekunden bis Minuten die schnellste und gefährlichste Form und kann potenziell in einer Anaphylaxie bis hin zum anaphylaktischen Schock münden.

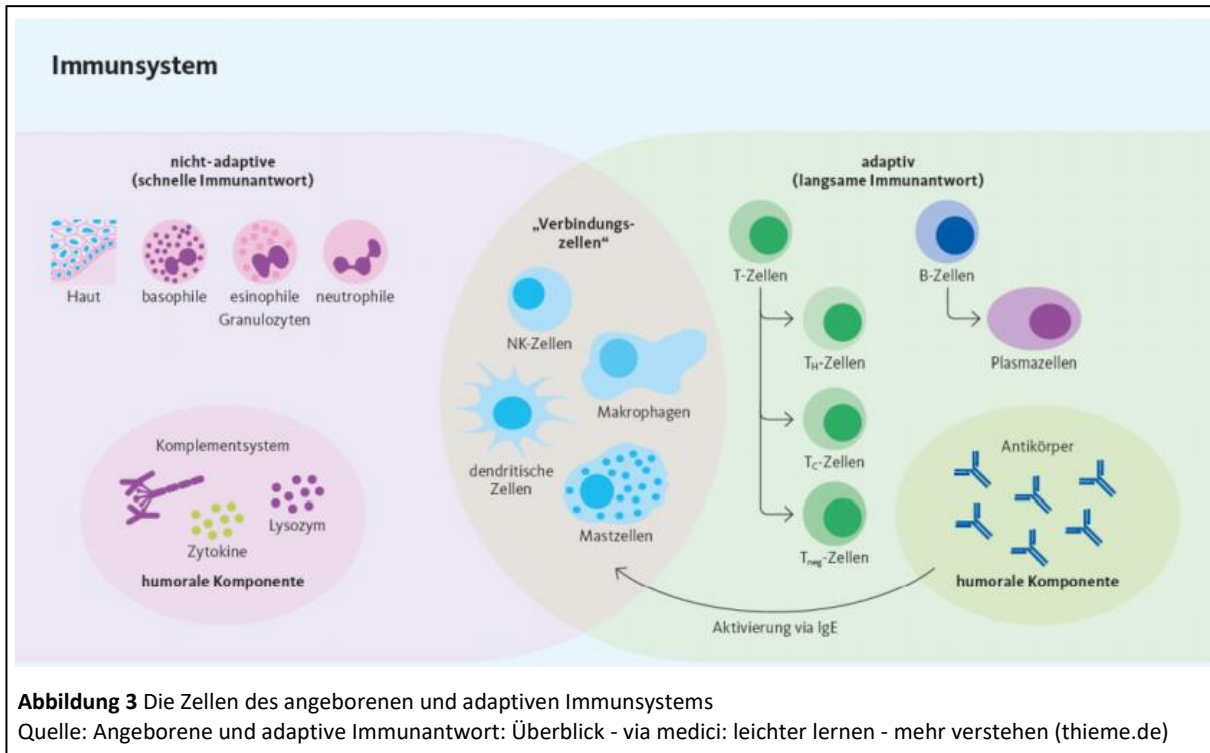
## 1.3 Entstehung der allergischen Erkrankungen

### 1.3.1 Das Immunsystem im Überblick

Im menschlichen Immunsystem wird das angeborene vom adaptiven Immunsystem unterschieden. Beide Teile spielen bei der Entstehung von allergischen Erkrankungen je nach Allergietyp eine wichtige Rolle.

Das angeborene Immunsystem wird auch als unspezifisches Immunsystem bezeichnet. Hierzu gehören alle nicht an ein Antigen angepassten Abwehrfunktionen, die eine Reaktion im kurzen zeitlichen Intervall ermöglichen. Es beginnt bei physikalischen, chemischen und biologischen Mechanismen wie der Barrierefunktion von Haut, Schleimhaut oder Magensäure, geht über zelluläre Mechanismen bis hin zum humoralen Abwehrsystem. Zu dem zellulären Abwehrsystem gehören Zellen, die auch ohne Sensibilisierung auf ein Antigen reagieren können wie natürliche Killerzellen (NK-Zellen), Monozyten/Makrophagen, Granulozyten, Mastzellen, zytotoxische T-Zellen und dendritische Zellen. Die humorale Antwort beinhaltet das Komplementsystem, akut-Phase-Proteine, verschiedene Entzündungsmediatoren wie Interferone und Tumor-Nekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) sowie weitere.

Das angeborene Immunsystem ist in der Lage, Zellen des adaptiven Immunsystems zu rekrutieren.



**Abbildung 3** Die Zellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems

Quelle: Angeborene und adaptive Immunantwort: Überblick - via medici: leichter lernen - mehr verstehen (thieme.de)

Das adaptive Immunsystem wird ebenso als spezifisches oder erworbenes Immunsystem bezeichnet. Es unterliegt einer ständigen Reifung und Modulierung durch Anpassung an neue Antigene. Zentrale Rolle spielen hierbei die antigenspezifischen Immunzellen, die bei

Antigenkontakt (meist durch das angeborene Immunsystem) mit Hilfe von antigenpräsentierenden Zellen (dendritische Zellen, B-Zellen) eine hochspezifische Immunreaktion durch Antikörper (IgM, IgG, IgE, IgA, IgD) und zellständige Rezeptoren ausbilden. Hierzu gehören B-Zellen (aktiviert als Plasmazelle) sowie T-Zellen als Gedächtniszellen/T-Helfer-Zellen (TH1- und TH2-Zellen). Auch das adaptive Immunsystem kann Zellen des angeborenen Immunsystems rekrutieren.

### 1.3.2 Pathophysiologie der allergischen Reaktionen

Durch die verschiedenen Mechanismen hinter der Allergieentstehung werden die entscheidenden Rollen jeweils den unterschiedlichen Bereichen des Immunsystems zugeschrieben. Gemein haben sie alle, dass eine Fehlregulation des Immunsystems das zentrale Problem darstellt und die Symptomatik durch die eingeleitete Entzündungsreaktion entsteht [18, 19].

Unter der Allergie des Typ I versteht man die Allergie vom Soforttyp. Hierbei kommt es bei Antigenkontakt zu einer Aufnahme des Antigens durch eine antigenpräsentierende Zelle z.B. einer B-Zelle, welche über MHC-Moleküle Fragmente des Antigens den T-Zellen präsentiert. Daraufhin kommt es zu einer Aktivierung der TH2-Zellen (CD4+), welche über Interleukine (IL-4, IL-5, IL-13) eine Antikörperproduktion in den B-Zellen auslösen sowie eine Reifung von eosinophilen Granulozyten induzieren. Außerdem entsteht Immunglobulin E (IgE) aus den Plasmazellen (aktivierte B-Zellen). Dieses IgE bindet an spezifische Oberflächenantigene von Mastzellen und eosinophilen Granulozyten. Bei erneutem Antigenkontakt bindet dieses Antigen gemeinsam mit zwei weiteren IgE-Antikörpern beim sogenannten „*bridging*“ an die membranständigen IgE-Antikörper auf den sensibilisierten Zellen und sorgen für eine Freisetzung von Entzündungsmediatoren (Histamine, Leukotriene, Prostaglandine etc.) über Degranulation und Zellaktivierung. Auch das allergische Asthma bronchiale hat diesen Pathomechanismus als Grundlage.

Bei der Allergie des Typ II, auch Allergie des zytotoxischen Typs genannt, kommt es ebenfalls zu einer Antikörperproduktion, diesmal in Form von Immunglobulin G (IgG). Durch die Möglichkeit ihrer direkten Aktivierung des Komplementsystems oder der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) gehören sie zu den zytotoxischen Antikörpern. Nach vorangegangener Sensibilisierung binden hauptsächlich die freien IgG-Antikörper an das Antigen, womit sie die Kaskade in Gang setzen. Es kommt durch das Sezernieren von Perforin und Granzymen durch die NK-Zellen oder die Opsonierung sowie Porenbildung durch das Komplementsystem zur Zelllyse und Apoptose der antigentragenden Zellen. All dies führt zu einer Entzündungsreaktion.

Auch die Allergie Typ III, die des Immunkomplex-Typs, gehört zu den antikörperabhängigen Allergien. Hierbei werden durch eine antigenvermittelte Sensibilisierung von Plasmazellen Immunglobuline der Klasse G und M (IgG, IgM) sezerniert. Diese bilden dann bei

Antigenkontakt einen Antikörper-Antigen-Komplex, welcher sich im Gewebe ablagert. Eine Aktivierung des Immunsystems in Form einer Komplementsystem-Aktivierung und einer Infiltration und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten sorgt dabei zusammen mit Entzündungsmediatoren für eine Entzündungsreaktion im Gewebe.

Bei der Allergie Typ IV handelt es sich um eine Allergie des T-Zell vermittelten Spättyps. Hierbei wird das Antigen in Langerhans-Zellen (dendritische Zellen) aufgenommen, welche in lymphatisches Gewebe migrieren. Dort findet die Ausreifung und Bildung von Antigen-spezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten (CD8+), auch T-Zellen genannt, statt. Als T-Gedächtniszellen verbleiben diese im Körper und werden durch eine erneute Antigenexposition zur Vermehrung angeregt. Die gebildeten spezifischen T-Zellen binden mit ihrem T-Zell-Rezeptor an Antigenfragmente auf MHC-Molekülen, die durch Zellen auf deren Oberfläche präsentiert werden. Dabei wird eine zytotoxische Reaktion ausgelöst und sorgt mit der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine für eine Entzündungsreaktion.

Zu weiteren Allergie-Typen zählen die Allergie mit granulomatösen Reaktionen (Typ V) wie das Injektionsgranulom sowie die „stimulierende“ („neutralisierende“) Überempfindlichkeit (Typ VI) wie die chronische Autoimmun-Urtikaria. Diese Arten bilden sich nur in seltenen Fällen aus, sodass nicht weiter darauf eingegangen werden soll.

### **1.3.3 Prädisposition und Prävention**

Die Genese allergischer Erkrankungen muss als multifaktoriell bezeichnet werden. In den vergangenen Jahrzehnten konnten sowohl prädisponierende als auch präventive Faktoren ermittelt werden, wenn auch die Pathophysiologie dahinter bis heute nicht abschließend aufgedeckt werden konnte.

#### **Genetische Prädisposition**

Eine genetische Komponente der Entstehung von allergischen Erkrankungen zeigt sich deutlich in einer familiären Häufung. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Atopie sowie allergischem Asthma bronchiale. Unter Atopie versteht man die Bereitschaft eines Körpers, auf potenzielle Allergene mit Erkrankungen wie allergisches Asthma bronchiale, atopisches Ekzem (Neurodermitis) oder allergische Rhinokonjunktivitis anhand einer Allergie vom Soforttyp zu reagieren. Dies geschieht auf genetischer Grundlage, kann aber durch verschiedenste Einflüsse sowohl positiv als auch negativ beeinflusst werden. Es ließen sich vielfach Genloki nachweisen, die einen Zusammenhang mit diesen Erkrankungen aufweisen. Von besonderer Bedeutung sind hierbei eine Vielzahl von SNPs (Single-Nukleotide Polymorphism). Als erster seiner Art wurde in den 1990er Jahren der Genlokus 11q13 mit der Atopie in Zusammenhang gebracht, wobei als ursächlich die Beeinflussung der  $\beta$ -Kette des hochaffinen IgE-Rezeptors ( $Fc\epsilon R1\beta$ ) angenommen wurde [20]. Genetische Polymorphismen

dieser Art wurden in den vergangenen Jahren zuhauf für die Entstehung von Allergien, Atopie und Asthma bronchiale mitverantwortlich gemacht [21, 22].

Die aktuell bekannten genetischen Veränderungen finden sich weitestgehend in kodierenden Regionen oder Promotor-Regionen des Erbmaterials für das angeborene und adaptive Immunsystem [23]. Sie beeinflussen damit die körpereigene immunologische Reagibilität und Toleranz [24, 25].

## **Umweltfaktoren**

Umwelteinflüsse spielen gerade im Kindesalter, in dem es zur Reifung besonders des adaptiven Immunsystems kommt, eine entscheidende Rolle in Bezug auf die Entstehung und den Ausbruch einer allergischen Erkrankung.

Bereits während der Schwangerschaft findet durch die Verbindung des Kindes zum Blutkreislauf der Mutter eine Prägung durch Umwelteinflüsse statt. Durch „*Imprinting*“, was die Modulation des genetischen Materials durch Methylierung und damit eine Beeinflussung der Gentranskription bedeutet, ist das Phänomen in Bezug auf andere Erkrankungen wie z.B. Adipositas bereits gut bekannt. So sorgt eine fetale Unterversorgung mit Nährstoffen während der Schwangerschaft durch verminderte oder einseitige Aufnahme der Mutter für eine gesteigerte Lebenszeitprävalenz an Adipositas unter deren Kindern [24, 25]. Es liegt nahe, dass solche Effekte auch Konsequenzen auf die Allergogenese im Kindeskörper haben könnten.

Ab dem Zeitpunkt der Geburt sind ebenfalls zahlreiche prädisponierende Umweltfaktoren bekannt. So konnte gezeigt werden, dass Kinder abhängig von ihrem Geburtsmodus ein unterschiedlich hohes Risiko aufweisen, im Kindesalter an allergischen Erkrankungen zu leiden. Unter Kindern, die per Sectio Caesarea auf die Welt gekommen sind, ergibt sich eine erhöhte Inzidenz im Vergleich zu Kindern, die den natürlichen Geburtskanal passiert haben [26]. Dessen Keimbesiedlung inklusive der Fäkalkeime scheint hier eine entscheidende Rolle zu spielen. Spannenderweise erhöht eine vorherige antibiotische Therapie der Mutter während des letzten Trimenons trotz vaginaler Geburt das Risiko des Kindes, an einer allergischen Erkrankung zu leiden, ebenfalls. Dies könnte mit einer Verschiebung der Keimbesiedlung zu erklären sein, besonders da kein ähnlicher Effekt einer Antibiose auf per Kaiserschnitt geborene Kinder nachgewiesen werden konnte [27].

Das Sammelsurium von prädisponierenden Faktoren kann über die gesamte Kindheit Einfluss nehmen. So erhöht Adipositas, ebenso wie eine Exposition gegenüber inhalativen Antigenen wie Nikotin, Schimmelpilzen oder weiteren Luftschadstoffen (Autoabgase, Ozon etc.) das Risiko für eine allergische Erkrankung [28-31]. Zahlreiche weitere Faktoren werden diskutiert,

weshalb durch neue wissenschaftliche Erkenntnisse die Präventionsleitlinien regelmäßigen Aktualisierungen unterzogen werden.

Neben prädisponierenden Faktoren konnte ebenso eine Vielzahl an protektiven Faktoren identifiziert werden. So stellt die „*Hygiene-Hypothese*“ dar, dass eine frühe und häufige Exposition gegenüber potenziellen Allergenen wie Mikroben, Viren und Bakterien einen protektiven Faktor gegenüber der Entstehung einer allergischen Erkrankung aufweist [32]. Durch den gestiegenen Hygienestandard ist das Gleichgewicht zwischen TH1- und TH2-Zell-getriggerten Immunantworten zugunsten der TH2-Zell-getriggerten Immunantwort verschoben worden. Hierdurch findet eine Erhöhung des messbaren IgE-Spiegels im Körper statt, was das allergische Potential ansteigen lässt [33]. Es zeigt sich also, dass Kinder aus ländlichen Gegenden weniger Allergien aufweisen als eine vergleichbare Gruppe aus dem städtischen Umfeld. Auch die Anzahl der im Haushalt lebenden Personen und damit die Erregervielfalt durch Geschwisterkontakt spielt in diesen Effekt mit hinein. Aus abnehmender Familiengröße, dem daraus resultierendem geringeren Antigenkontakt bei höherem Hygienestandard und geringerem interindividuellen Kontakt resultiert ein Anstieg an Erkrankungen des allergischen Formenkreises [32].

An Bedeutung gewonnen hat zusätzlich das Konzept der „*Biodiversitäts-Hypothese*“. Diese besagt, dass der Verlust von Biodiversität einen Verlust von immunmodulatorischen Mechanismen mit sich bringt, der in einer fehlenden Induktion und Regulation der T-Helferzellen eine verringerte Induktion der immunologischen Toleranz mit sich bringt [34]. Es spielen alle Allergene von Lebensmitteln über Tiere, Bakterien, Viren bis hin zu Pflanzen gleichermaßen eine wichtige Rolle. Ebenso wird die Vielfalt des gastrointestinalen Mikrobioms durch die abnehmende Biodiversität verringert, was zu einem Verlust der immunologischen Toleranz führt [34].

Beide Hypothesen betonen die elementare Bedeutung eines frühen immunologischen Trainings, das über Jahrtausende durch die anhaltende Anwesenheit von Saprophyten, Mikroben und Helminthen die immunologische Reaktion herunterdrosselte, um so Gewebeschäden zu vermeiden. Diese regulierenden Kreisläufe entfallen oder verschieben sich durch erhöhte Hygienestandards des Lebensmittelanbaus, der Lebensmittelzubereitung sowie eine Verlagerung des Lebensmittelpunktes von ländlichen zu urbanen Gegenden mit all den Folgen eines industrialisierten und zivilisierten Lebens und der daraus verringerten Diversität [35].

In der Präventionsempfehlung zur Vermeidung von allergischen Erkrankungen werden verschiedene Empfehlungen zum Heranwachsen der Kinder angegeben. So wird zur Vermeidung einer Lebensmittelallergie eine rasche Einführung oraler Antigene inklusive Gluten in Form von Breinahrung im vierten bis sechsten Monat empfohlen. Auch eine Einführung starker potenzieller Antigene wie Nüsse (nicht in Ganzen aufgrund der



Aspirationsgefahr) im frühen Kindesalter ist zur Toleranzentwicklung erwünscht. Stillen der Neugeborenen für 6 Monate bildet ebenfalls einen protektiven Faktor ab. Durch regelmäßiges Sichten des wissenschaftlichen Fortschrittes findet eine ständige Anpassung der Präventionsempfehlungen, welche noch weitere Punkte beinhaltet, statt [28].

## 1.4 Diagnostik allergischer Erkrankungen

Die Diagnostik allergischer Erkrankungen beinhaltet unterschiedliche Ansatzpunkte, die nur in der Zusammenschau eine abschließende Diagnose ermöglichen. Dies bedarf einer ausführlichen Anamnese, einer körperlichen Untersuchung, Blutuntersuchungen, Hauttests (kuntane und epikutane Tests) sowie Provokationstests (auf die betroffenen Organe bezogen).

Voraussetzung für die Diagnose einer Allergie ist eine immunologische Sensibilisierung. Fehlt diese, kann nicht von einem allergischen Geschehen im klassischen Sinne gesprochen werden [8]. Dagegen kann die Diagnose einer Allergie trotz nachgewiesener Sensibilisierung nur beim Vorliegen von Symptomen gestellt werden. Genaue Werte, an denen die Diagnose (z.B. im Blut) unabhängig vom klinischen Befind der Betroffenen festgemacht werden kann, sind bisher nicht bekannt. Dennoch ist eine Blutuntersuchung meist unerlässlich, bei der das Gesamt-IgE sowie spezifische Antikörper bestimmt werden können, die dann einen Anhalt für weitere Diagnostik und Therapieoptionen liefern. Zusätzlich konnte den Antikörpern teilweise eine prädiktive Komponente zugeschrieben werden wie beispielsweise bei Ara h 2 und Ara h 6, die deutlich mit einer schweren allergischen Reaktion bei Erdnussallergie vergesellschaftet sind [36].

Goldstandard je nach vermuteter Allergie ist ein Epikutantest oder ein Pricktest. Durch das Aufbringen auf die Haut (epikutan) und das intrakutane Einbringen in die Haut (Pricktest) von potenziellen Antigenen lassen sich nach standardisierten Zeitpunkten die Reaktionen ablesen und Sensibilisierungen feststellen.

Elementare Bedeutung haben die (organspezifischen) Provokationstests. Hierbei kann durch die Reproduktion der Symptomatik in einem klinischen Umfeld eine möglichst genaue Diagnose mit individueller Behandlung ermöglicht werden. Dazu zählt beispielsweise der bronchiale Provokationstest (Lungenfunktion vor und nach Applikation des Allergens), eine Lebensmittelprovokation oder bei Verdacht auf Kontaktdermatitis auch ein Hauttest. [37]

Aktuell ist die Diagnosefindung der Allergie eine Zusammenschau verschiedenster Anhaltspunkte aus Anamnese und Diagnostik. Es wäre wünschenswert eine flächendeckende skalierbare Methode zu entwickeln, die anhand von Biomarkern eine zweifelsfreie und detaillierte Diagnose ermöglicht.

## 1.5 Behandlung allergischer Erkrankungen

In der Behandlung von Allergien ist zwischen der akuten Therapie der Symptome sowie einer kausalen Therapie zur Verhinderung der Symptomausprägung zu unterscheiden.

Zur Behandlung der akuten Symptomatik kommen verschiedene lindernde Maßnahmen zum Einsatz. Hierzu zählen Antihistaminika (lokal, systemisch), Kortikosteroide (lokal, systemisch), Bronchodilatoren, antiallergische Augentropfen, Biologika (lokal, systemisch) und bei Anaphylaxie auch Adrenalin (systemisch).

Die banalste und effektivste kausale Behandlung einer allergischen Erkrankung ist die Allergenkenz. Besonders bei nicht identifiziertem Antigen ist dies leider unmöglich. Abhängig vom auslösenden Antigen bedeutet diese Maßnahme auch eine massive Einschränkung des alltäglichen Lebens und der Lebensqualität.

Experimentelle Ansätze verfolgen eine Reduktion der Symptomatik durch gezielte Exposition ähnlich der spezifischen Immuntherapie. Dieses wird aktuell besonders an Lebensmittelallergien in Form von kontrolliertem Konsum getestet. Durch die ständige Exposition scheint der Körper eine Toleranz auszubilden, die gerade zur Prävention der Anaphylaxie entscheidend ist [38].

Die Biologika lassen sich ebenfalls als kausale Therapie einstufen, da durch ihre Wirkung nicht nur eine Symptomkontrolle bei eingetretener Symptomatik erzielt werden kann, sondern durch das Eingreifen in den Entstehungsprozess das Auftreten der Symptomatik verhindert werden soll. Zu den Biologika gehört ein breites Spektrum an monoklonalen Antikörpern gegen Signal- oder Effektor-Stoffe wie Omalizumab (IgE), Mepolizumab (IL-5) und viele weitere.

Gleiches gilt für Kortikosteroide, welche über verschiedenste immunmodulatorische Wirkungen den Kreislauf der Symptomentstehung unterbrechen können.

Dennoch ist eine kausale Therapie in Form einer „Entsensibilisierung“ und damit der Herstellung des Urzustandes bisher nicht möglich. Am ehesten erreicht dieses Ziel bisher die spezifische Immuntherapie.

### **Spezifische Immuntherapie**

Unter bestimmten Voraussetzungen kommt eine spezifische Immuntherapie (SIT, „Hyposensibilisierung“) in Frage. Diese sind abhängig vom Allergen und der Konstitution des Patienten. So sind Einzelallergien des Sofort-Typs bei mäßigen Symptomen gut geeignet. Dazu wird durch festgeschriebene Allergenexpositionen eine Immunmodulation bewirkt, sodass die Symptome abnehmen oder sogar ganz verschwinden können. Der genaue Mechanismus der Immunmodulation ist nicht abschließend erforscht. Es werden verschiedene Mechanismen diskutiert, die ebenso einen synergistischen Effekt aufweisen [39-43].

1. Durch die erneute hochdosierte Antigenexposition werden entgegenwirkende Antikörper (Typ IgG) induziert, die eine Blockade der antikörpervermittelten Immunantwort (IgE an B-Zellen und dendritischen Zellen) bewirken.
2. Durch erneute Antigenexposition werden regulatorische T-Zellen gebildet, die inhibitorisch auf die allergenaktivierte T-Zell-abhängige B-Zellaktivierung wirken.
3. Durch erneute Antigenexposition werden Botenstoffe wie antiinflammatorische Zytokine (z.B. IL-10) und andere Mediatoren durch dendritische Zellen freigesetzt, die lokal die Entzündung hemmen und die T-Zellproliferation inhibieren. Zusätzlich findet eine Verstärkung von Mechanismus 1. statt.

Selbst bei potenziell behandelbarer Allergie kommt die SIT nicht für jeden Allergiker in Frage. So gibt es eine Reihe von Kontraindikationen wie schweres Asthma bronchiale, Anaphylaxie sowie Patienten mit schweren Grunderkrankungen wie beispielsweise Tumoren. Damit fällt diese Art der Behandlung für einen deutlichen Teil der Bevölkerung weg, was es umso wichtiger erscheinen lässt, andere Ansätze der Behandlung oder besser noch der Prävention zu finden.

## 2 Zielsetzung

Es ist aktuell immer noch nicht möglich, anhand von Untersuchungsergebnissen vorherzusagen, ob ein Individuum im Laufe seines Lebens eine Allergie entwickeln wird.

Durch die Erfassung von Neugeborenen unabhängig von ihrer physischen Konstitution in Verbindung mit der ausführlichen Befragung der Eltern eröffnete sich die Möglichkeit einer allgemeinen und recht offenen Auswertung. Besonders interessant hierbei schien, dass die Kinder bis zum Zeitpunkt der Blutentnahme mit maximal 72 Stunden Lebenszeit kaum Kontakt zur Außenwelt mit all den beeinflussenden Faktoren wie Mikrobiom oder Noxen ausgesetzt waren.

Es ergaben sich folgende Fragen:

- I. Gibt es zum Zeitpunkt der Geburt einen messbaren Unterschied im Proteinprofil von reifen Neugeborenen ohne eine anamnestisch erfasste allergische Prädisposition gegenüber reifen Neugeborenen mit anamnestisch allergischer Prädisposition in Abhängigkeit von der in der Familie vorerkrankten Personen?
- II. Gibt es einen messbaren Unterschied im Proteinprofil abhängig von der Art der Allergie?

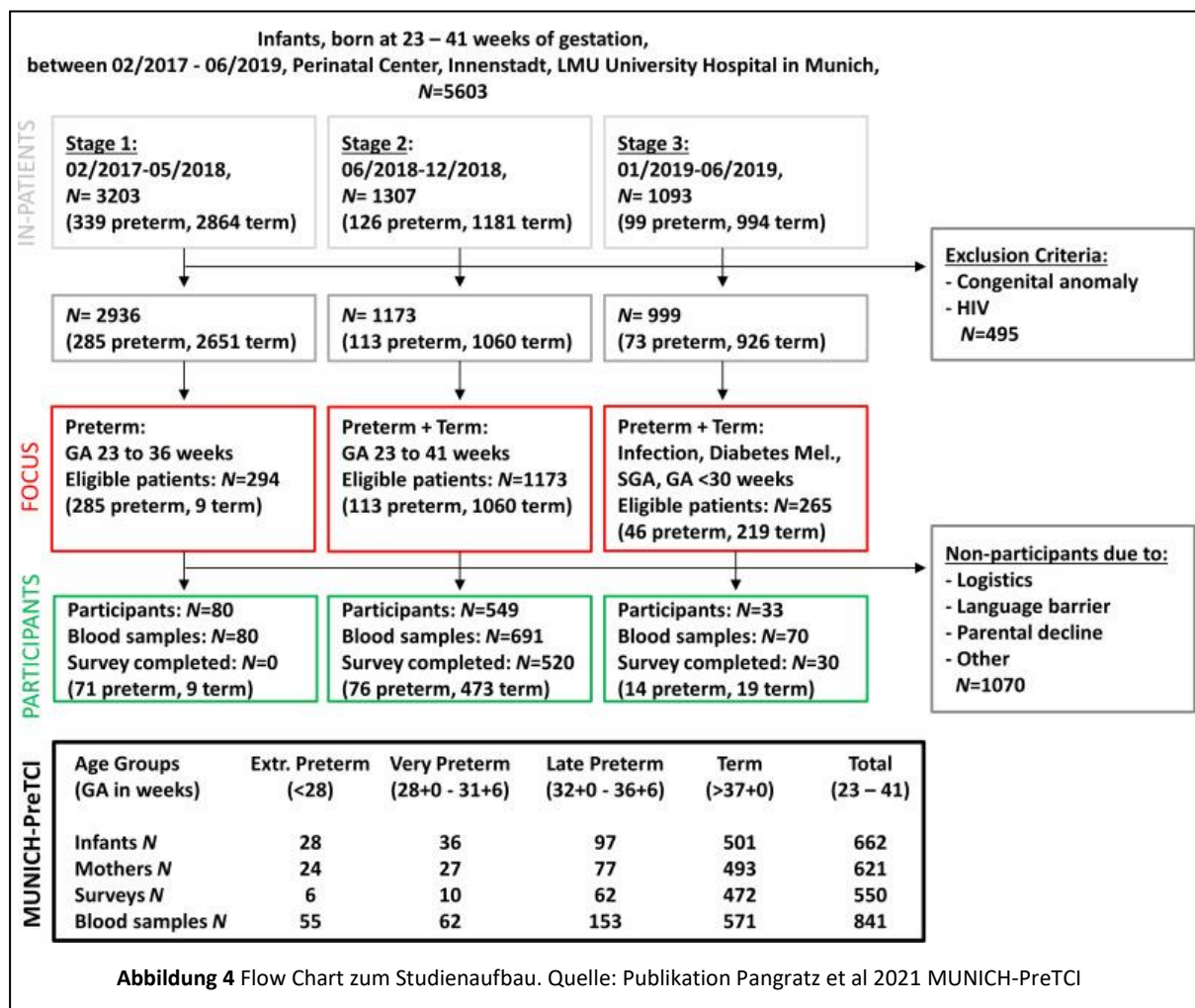
Unsere Hoffnung ist es, anhand dieser Daten Hinweise auf bisher nicht mit der Entstehung von allergischen Erkrankungen verknüpfte Proteine zu finden. Es bietet sich die Möglichkeit auf ein besseres Verständnis der intrinsischen Gegebenheiten des Individuums. Damit wären nicht nur Türen zu weiteren Ansatzpunkten der Behandlung, sondern auch der Prävention geöffnet. Zusätzlich könnten diese Proteine Gegenstand einer Prognose des individuellen Gesundheitszustandes bezüglich allergischer Erkrankungen werden.

## 3 Methode

### 3.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive Beobachtungsstudie, welche in Zusammenarbeit des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der LMU mit dem Max-Planck-Institut für Biochemie Martinsried durchgeführt wurde.

Die Rekrutierung der Probanden der gesamten Proteomstudie erfolgte auf der Allgemeinen Geburtenstation & Neugeborenen-Intensiv-Station der Kinderklinik in der Frauenklinik Maistraße, Klinikum der LMU München in dem Zeitraum Juni 2018 bis Juni 2020. Diese Auswertung befasst sich mit Proben aus Phase 2 und Phase 3 (siehe Abbildung 4).



Alle dort entbundenen oder behandelten Neugeborenen kamen zur Teilnahme an der Studie in Frage. Im Voraus wurden Ausschlusskriterien festgelegt:

- Angeborene Fehlbildung
- Immundefekte
- Zuvor diagnostizierte Infektion mit HIV oder Hepatitis B der Mutter
- Geplante Nabelschnurspende
- Fehlende Einwilligung der Eltern

Der häufigste Grund eines Studienausschlusses war jedoch eine unüberwindbare Sprachbarriere. Von 2400 im angegebenen Zeitraum vor Ort entbundenen Kindern konnten 582 (24,5%) in die Studie eingeschlossen werden.

Nach ausführlicher Information der Familien und deren schriftlicher Einwilligung (abgedruckt im Anhang, S. 98) erfolgten im Rahmen des gesamten Projektes Blutentnahmen zu verschiedenen festgelegten Zeitpunkten (Tabelle 1). Primär wurde die Probensammlung mit Trockenblutkarten vorgenommen. Soweit möglich wurde ebenfalls eine Plasmaprobe generiert und vor Ort verarbeitet, die aber in der aktuellen Auswertung keine Berücksichtigung findet. Die ausgewertete Kohorte ist Teil der Geburtenkohorte der oben genannten Proteomstudie. Es werden in folgender Auswertung ausschließlich Proben von Reifgeborenen Kindern zum Zeitpunkt des Neugeborenen Screenings berücksichtigt.

UNTERGRUPPE	ABNAHMEZEITPUNKTE
<b>ABNAHMEZEITPUNKTE</b> bei Reifgeborenen <b>UND/ODER</b> bei Kindern mit Infektion	1. Neugeborenen-Screening (36h) 1. Vor Beginn der Antibiose 2. Ca. 48h nach Beginn der Antibiose
<b>ABNAHMEZEITPUNKTE</b> bei Frühgeborenen	1. Lebenstag 1 / Kreißsaal 2. Neugeborenen-Screening (36h) 3. Evtl. Neugeborenen-Screening (32+0) 4. Vor Entlassung
<b>UND/ODER</b> bei Kindern mit Infektion	1. Vor Beginn der Antibiose 2. Ca. 48h nach Beginn der Antibiose
<b>ABNAHMEZEITPUNKTE</b> Kindern mit Asphyxie (Früh- und Reifgeborene)	1. Lebenstag 1 / Kreißsaal 2. Lebenstag 2 / NGS (36h)

**Tabelle 1** Probenentnahmezeitpunkte der gesamten Studie. Aktuell berücksichtigt: Reifgeborene NGS mit oder ohne weitere Erkrankungen

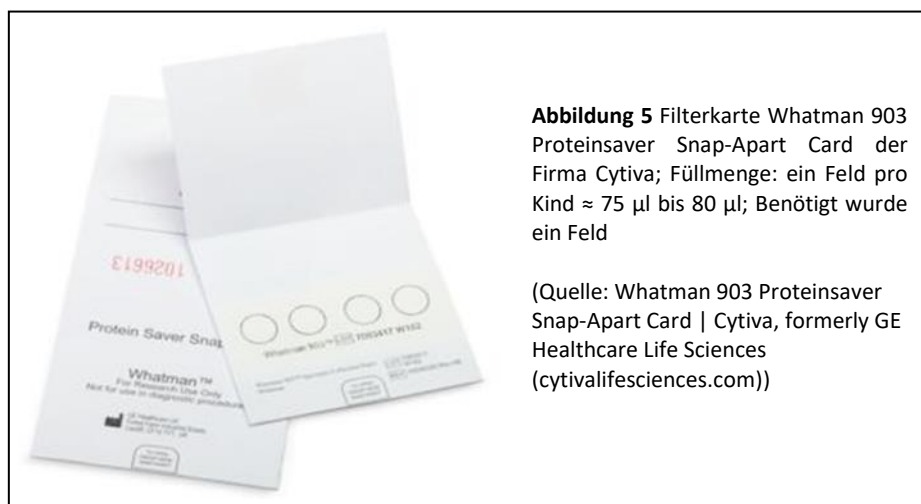
Während des Aufenthaltes in der Klinik wurden die Familien gebeten, einen Fragebogen bezüglich des familiären Gesundheitszustandes und ihrer Lebensbedingungen zu beantworten. Von 582 Teilnehmern füllten 550 Familien den Fragebogen aus. Dies entspricht

einer Rücklaufquote von 94,5%. Diese Daten sowie klinische Informationen aus der Krankenakte wurden in einer eigens dafür entwickelten Tabelle vor Ort täglich dokumentiert.

### 3.2 Probengewinnung

Grundidee der Studie war es, eine möglichst geringe Belastungssituation für Probanden und Familie herzustellen, um eine hohe Compliance der Teilnehmenden und ihrer Familien zu generieren. Aus diesem Grund fand die Abnahme der Blutproben nur in Kombination mit klinisch notwendigen Blutentnahmen statt. So kamen verschiedene Blutentnahmetechniken zur Anwendung (venöse Blutentnahme, kapilläre Blutentnahme mittels Fersen-Blut (Heelprick) oder arterielle Blutprobe), wobei die Festlegung der Abnahmemethode im klinischen Kontext stattfand. Tendenziell fand bei Kindern mit einer für klinische Diagnostik größeren Menge an abzunehmendem Blut eher eine venöse Blutentnahme statt, wogegen gesunde Kinder häufig einer Blutentnahme mittels „Heelprick“ unterzogen wurden. In seltenen Fällen bei intensivpflichtigen Kindern stammte die Blutprobe aus einem arteriellen Zugang. Unter der Annahme, dass die Blutentnahmetechnik keinen relevanten Einfluss auf die zu messenden Proteinfragmente (Translationsstatus) hat, kamen alle Techniken zum Einsatz und flossen in die Studie ein.

Die Abnahme erfolgte durch klinisch geschultes Personal. Hierbei wurde eines der vorgefertigten Felder auf einer geeigneten Filterkarte mit Blut befüllt. Diese Technik entspricht der des Neugeborenen-Screenings. Die hierfür benötigte Blutmenge entsprach ca. 0,1 ml Blut. Es fanden die Filterkarten „*Whatman 903 Proteinsaver Snap-Apart Card*“ der Firma Cytiva Anwendung. Nach einer Trockenzeit von 24 Stunden wurden die Proben bei -80°C in einem Gefrierschrank bis zur weiteren Verarbeitung konserviert.



**Abbildung 5** Filterkarte Whatman 903 Proteinsaver Snap-Apart Card der Firma Cytiva; Füllmenge: ein Feld pro Kind  $\approx$  75  $\mu$ l bis 80  $\mu$ l; Benötigt wurde ein Feld

(Quelle: Whatman 903 Proteinsaver Snap-Apart Card | Cytiva, formerly GE Healthcare Life Sciences (cytivalifesciences.com))

Vor der Konservierung fand eine Pseudonymisierung statt. Jeder Proband und jede Probandin erhielten eine fortlaufende Nummer, die alle von einer Person entnommen Proben bezeichnete. Zusätzlich wurde durch einen Buchstabencode der Abnahmemodus (kapillär,

venös, arteriell) sowie der Abnahmezeitpunkt auf den Proben festgehalten. Persönliche Daten wie Geburtsdatum oder Geschlecht der Studienteilnehmenden fanden somit keine Verwendung in der Benennung der Proben.

### **3.3 LC-MS Analyse**

Die analytische Chemie und Biochemie beschäftigten sich allgemein mit der Isolierung, Identifizierung und Quantifizierung von Molekülen. In den Anfängen der Analytik wurden beispielsweise die Papier- oder Dünnschichtchromatographie zur Auftrennung und Analyse von Stoffgemischen in ihre Grundstoffe benutzt, die aber mit großem Zeitaufwand und ungenauer Quantitätsbestimmung verbunden waren. Als Weiterentwicklung dieser herkömmlichen Techniken setzte sich in den 1980er Jahren die HPLC-Analyse („High Performance Liquid Chromatographie“) durch. Es handelte sich um eine Sonderform der klassischen Säulenchromatographie mit verschiedenen Unterformen. Bei der sehr häufig verwendeten „reverse phase“ (RP-) Chromatographie beispielsweise wird die polare (hydrophile) mobile Phase mit Hilfe von Pumpen unter hohem Druck durch die unpolare (hydrophobe) stationäre Phase der Chromatographiesäule gepresst. Grundlage dieses Verfahrens ist dabei die elutions-chromatographische Trennung der einzelnen Substanzen, bei der die Stoffe je Hydrophobizität die Trennstrecke mit unterschiedlicher Geschwindigkeit passieren. Durch reversible Wechselwirkungen an der stationären Phase erfolgt so die Auftrennung des Substanzgemisches in seine Einzelsubstanzen, die am Ende der Trennstrecke von speziellen Detektoren nachgewiesen werden können. Die Signale werden dann in Form einer Elutionskurve mit charakteristischen Peaks aufgezeichnet, die durch die Flächen unter den Kurven auch quantitative Berechnungen erlauben. Die Güte der Trennung hängt dabei entscheidend sowohl vom konstanten, pulsationsfreien Elutionsfluss, von Temperatur und Druckverhältnissen der HPLC-Anlage als auch von der Art und Güte der Vorarbeiten (Probenlagerung, Extraktionsverfahren etc.) ab [44, 45].

Mit einem steigenden Anspruch an die Sensitivität der HPLC und damit Reduktion der Volumina an Probenmenge und damit auch Fluidiksysteme ging auch eine drastische Steigerung des benötigten Drucks in den Anlagen einher, der Pumpen und Zylinder für mehr als 1000 bar erforderte und gleichzeitig eine längere Analysezeit und wesentlich höhere Störanfälligkeit bewirkte, was die Robustheit für den Einsatz in der Klinik oft einschränkte. Diese Entwicklung förderte zwar die Sensitivität der Analyse, jedoch unter zunehmend geringerer Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der verschiedenen Anlagen zwischen den Laboren. Diese Entwicklung der HPLC ist bis heute andauernd und neue Konzepte um ein Optimum zwischen Sensitivität (geringe Volumina und niedrige Flüsse bei hohem Druck) und Reproduzierbarkeit (analytischer Fluss der HPLC mit hohen Volumina) zu erreichen.



Eine exemplarische Entwicklung für höheren Probendurchsatz war die speLC („solid phase extraction Liquid Chromatographie“). Dabei wurde die aufbereitete Probe nicht mit hohem Druck durch eine HPLC-Anlage gepresst, sondern von einer Niederdruckpumpe kontinuierlich innerhalb von 5 – 10 Minuten durch sog. „StageTips“ gedrückt, die schon in der Schnelldiagnostik zur Extraktion von Peptiden aus Flüssigkeiten eingesetzt wurden und normalen Pipettenspitzen entsprechen, die mit verschiedenartigen Filtern bestückt sind. Von dort aus gelangte der erzeugte Gradient direkt in das angeschlossene Massenspektrometer (MS). Dadurch konnte die speLC-Analyse zwar sehr schnell und zuverlässig auch hohe Probenzahlen bewältigen (z.B. 500 Proteine aus einem Zelllysate in 10 Minuten) [46] und bei der Analyse von einfachen Proteingemischen sehr hilfreich sein, kam aber durch die kurze Trennstrecke in den verwendeten StageTips nur zu einer geringeren Trennfähigkeit des Chromatographiesystems.

Zur Analyse der Proben in der vorliegenden Untersuchung kam eine Evosep One LC-Anlage der Firma Evosep (Odense, Dänemark) im Max-Planck-Institut für Biochemie zum Einsatz, die zurzeit eine der modernsten und leistungsfähigsten Geräte für die Proteomdiagnostik darstellt und von der Arbeitsgruppe um Mathias Mann in Zusammenarbeit mit der dänischen Firma Evosep (Odense) entwickelt wurde [47]. Hierbei handelt es sich um eine Weiterentwicklung und Kombination der oben beschriebenen Anlagen. So konnten die Qualitätsvorteile der HPLC mit der Robustheit und Geschwindigkeit der speLC kombiniert und direkt mit einem Massenspektrometer verbunden werden. Außerdem wurde durch die Benutzung der standardisierten StageTips (EvoTips) zur Probenaufnahme/-elution und der nachfolgenden speziellen Zugabe von Volumen und hochorganischem Zusatz sowie der anschließenden Direkteinspeisung des erzeugten Gradienten in die gekoppelte massenspektrographische Analyseeinheit eine deutliche Qualitätsverbesserung bei gleichzeitig möglicher Massenanalyse und deutlicher Durchsatzerhöhung pro Untersuchung ermöglicht.

Während dieses Vorgangs wird beim Evosep One der Niederdruckteil der Anlage bereits automatisch gespült und auf die nächsten Proben vorbereitet, was zur erheblichen Erhöhung der Analysekapazität führt.

Bei der Massenspektrometrie findet zuerst eine Überführung des zu detektierenden Stoffes in die Gasphase mit gleichzeitiger Ionisierung statt. Dazu ist die chromatographische Säule der LC direkt an einen Emitter vor dem MS gekoppelt, wodurch eluierende Moleküle ionisiert werden und in das Vakuum des MS gelangen. Diesen Prozess nennt man „Elektro Spray Ionisierung“ (ESI). Im MS kann das Verhältnis von Masse zu Ladung ( $m/z$ ) jedes Moleküls gemessen werden. Da dies nicht ausreichend spezifisch zur Identifizierung eines Moleküls ist, können diese durch Fragmentierung in Bruchstücke zerlegt und wiederum die  $m/z$  dieser gemessen werden. Diese Fragmentspektren der einzelnen Moleküle können entweder direkt zur Identifizierung (Fingerprintspektren) oder im vorliegenden Fall (Proteom-Analyse) zur Datenbanksuche verwendet werden. Dies ermöglicht eine Identifizierung und relative

Quantifizierung der Inhaltsstoffe durch die unterschiedliche Kurvenverläufe der HPLC. Die gewonnenen Werte sind dabei miteinander vergleichbar, lassen aber nur relativ auf die tatsächliche Konzentration der Substanzen zurückschließen. Die in der Proteomik verwendeten Massenspektrometer setzen sich aus vielen verschiedenen Bauteilen zur Manipulierung, Filterung und Detektion von Ionenströmen zusammen, weshalb man sie auch Hybrid-Instrumente nennt. Dabei sind verschiedene Bauelemente, in spezifischer Reihenfolge aneinandergeschaltet, um die ionisierten Moleküle z.B. zu isolieren (Quadrupol), zu sammeln (Ionenfalle), zu fragmentieren (Kollisionszelle) nach Ionenmobilität zu trennen (FAIMS-device/TIMS device) und abschließend das Masse zu Ladungsverhältnis speziellen Ionenpaket zu ermitteln (Orbitrap/Ionenfalle/TOF-Analyzer). Das für diese Studie verwendete Massenspektrometer war eine Thermo Fischer Exploris 480 mit vorgeschaltetem FAIMS-device.

Zur Detektion von Ionen und ihren zugehörigen Fragmentspektren nach Fragmentierung im MS sind zwei verschiedene Scanmodi in Verwendung, die datenabhängige und die datenunabhängige Analyse (DDA und DIA). Im DDA-Modus werden einzelne Ionen nach Reihenfolge ihrer Abundanz mit engen Isolationsfenstern selektiert und spezifisch fragmentiert. Im DIA-Modus werden alle Ionen über einen weiten  $m/z$  Bereich in breiten Isolationsfenstern seriell fragmentiert und chimärische Fragmentspektren aller Ionen in diesen Fenstern produziert. Innerhalb der letzten 5 Jahre wurden bei der Rohdatenanalyse von DIA-Spektren große Fortschritte erzielt, wodurch diese Methode den DDA-Modus als state-of-the-art Methode abgelöst hat und tiefere Proteome bei höherer Komplettheit der Daten liefert. Diese Studie wurde mit dem DIA-Verfahren gemessen.

### **3.4 Probenverarbeitung**

Um Schwankungen in der Verarbeitung und Messung der Proben möglichst gering zu halten, fand die gesamte Prozessierung der Proben erst nach abgeschlossener Probensammlung statt. Damit wurden alle Proben mit denselben Reagenzien behandelt und durch dieselben Geräte gemessen, was das Auftreten von Batcheffekten minimiert. Die Verarbeitung und Messung der Blutproben fand im Max-Planck-Institut für Biochemie durch die Arbeitsgruppe um Matthias Mann statt.

Um eine standardisierte Blutmenge zu verwenden, wurden die Trockenblutkarten mit einer 14-gauge Stanze ausgestanzt und in 96-well Platten aliquotiert. Die auf dem Filterpapier enthaltenen Proteine wurden durch Hitze denaturiert (95 °C, 10 min), Disulfidbrücken reduziert und alkyliert (TCEP, CAA) und die Lösung von Proteinen aus dem Filterpapier durch Ultraschall unterstützt (Covaris 5 min). Anschließend fand eine enzymatische Verdauung der Proteine mittel Trypsin und Lys-C (1:100 zur Proteinmenge der Probe) in Peptide statt.

Die Peptide wurden anschließend auf Evsep Tips geladen und mit einer Evosep One HPLC gekoppelt an ein Exploris 480 Massenspektrometer (Thermo Fisher) gemessen.

### 3.5 Proteom-Analysen – „Proteomics“

Nach einer Ära der Genomanalysen durch DNA-Sequenzierung richtete sich die Aufmerksamkeit in den letzten Jahren immer mehr auf die großflächige Bestimmung der Gen- und Zellfunktion auf Proteinebene. Dieses quantitative Protein-Profiling wird als „*Proteomics*“ bezeichnet. Es beinhaltet eine Analyse der im Blut nachweisbaren Proteine mithilfe verschiedener Messmethoden, um Rückschlüsse auf die biologischen Funktionen innerhalb des Organismus zu schließen. Die Methode der direkten massenspektrometrischen Analyse hat sich dort aufgrund der schnellen Analysemöglichkeit von vielen Proteinen aus einer geringen Menge komplexer Proben besonders bewährt [48].

Während die Genomanalyse größtenteils statische Daten per Individuum liefert, lässt sich mit Proteomics das dynamische Verhalten der Proteinzusammensetzung messen, welches eine Abhängigkeit von unterschiedlichsten Einflüssen zeigt. So unterliegt das Proteom intraindividuellen Veränderungen abhängig von Lebensbedingung, Erkrankung und Entwicklung und zeigt Variationen innerhalb eines genetischen Profils. Diese Technik lässt sich zur Identifikation und zum Nutzen von Biomarkern verwenden. So zeigten vergangene Studien verschiedenste Ansatzmöglichkeiten des Monitorings von Erkrankungen und deren Behandlungen wie beispielsweise Diabetes mellitus oder anderen metabolische Erkrankungen [49, 50].

Zudem könnte die massenspektrometrische Analyse eine Vielzahl an Nachweisreaktionen ersetzen. So ist die MS-Analyse im Gegensatz zu Immunoassays und anderen reaktionsabhängigen Nachweisverfahren deutlich direkter. Falsch positive Ergebnisse durch inkorrekte Bindung können damit vermieden werden, während gleichzeitig eine Vielzahl an Stoffen in einer Messung untersucht werden können.

Da die Proteine mehr biologischen Prozessen ausgesetzt sind als das genetische Material, liegen einige Herausforderungen vor. So erschweren Prozesse wie posttranslationale Modifizierung, schnelle Probedegeneration und hohe Konzentrationsunterschiede der Stoffgemische, die einer Größenordnung vom  $10^6$ -fachen in der Proteinhäufigkeit („*abundance*“) entsprechen können, eine zuverlässige Analyse [51]. Auch Verfälschungen durch im Blut befindliche Arzneimittel und unterschiedliche Probenbeschaffenheiten sind möglich. Durch intensive Forschung befindet sich das Gebiet der Proteomanalyse aktuell in rasantem Fortschritt, sodass die Hoffnung besteht, derartige Techniken in Zukunft klinisch vermehrt nutzen zu können.

In unserem Fall war die Kombination aus Analysetiefe und äußerst geringer Probenmenge der ausschlaggebende Punkt als Messmethode die Massenspektrometrie zu wählen.

### 3.6 Datensammlung

Zusätzlich zur Blutprobe entstand ein großer Datensatz an klinischen Informationen zu Gesundheitszustand von Kind und Mutter, Schwangerschafts- und Geburtsverlauf, Familienanamnese und Lebensbedingungen. Als Informationsquellen dienten dabei die Krankenakten der Klinik von Kind und Mutter sowie ein selbst erstellter standardisierter Fragebogen (Anhang, S. 103), dessen Beantwortung von den Eltern vorgenommen wurde.

	Fragebogen	Patentenakte
Klinische Daten Kind (z.B. Geschlecht, Geburtsgewicht, Gestationsalter)		X
Geburtsverlauf (z.B. Komplikationen, Modus, Dauer, Analgesie)		X
Klinische Daten Mutter (z.B. Alter, Gewicht, Größe, aktuelle und vorherige Schwangerschaft)	X	X
Familienanamnese (z.B. klinische Daten zum Vater, Familiäre Erkrankungen, Allergien)	X	X
Lebensbedingungen (z.B. Bildungsstand, Haustierkontakt, Herkunft)	X	

**Tabelle 2** Herkunft der klinischen Information

Dieser Fragebogen enthielt Angaben bezüglich äußerer Umstände vor und während der Schwangerschaft. Neben dem Gesundheitszustand der Eltern und Geschwister der Probanden wurde ebenso der Gesundheitszustand der entfernten Verwandten wie Großeltern und Geschwister der Eltern erfragt. Eine Unterteilung in verschiedene Organsysteme ließ auf Vollständigkeit der Angaben hoffen. Gleichzeitig wurde auf die Medikamenteneinnahme, stattgehabte Impfungen, Auslandsaufenthalte und Lebensumstände der Mutter ein Jahr vor und während der Schwangerschaft sowie den Verlauf von vorherigen Schwangerschaften eingegangen. Auch Fragen bezüglich Reproduktionsmedizin und Verhütung fanden neben Haustierkontakt und Bildungsstand der Eltern Platz. Der Fragebogen war sowohl in Deutsch als auch Englisch verfügbar. Bei Verständnis- oder Schreibproblemen wurde Hilfestellung beim Ausfüllen für eine möglichst korrekte Beantwortung der Fragen gegeben.

### 3.7 Auswahl der Patienten

In der Auswertung dieser Studie wurden nur reif geborene Kinder mit einem Gestationsalter ab 37+0 Schwangerschaftswochen berücksichtigt.

Alle Kinder flossen mit jeweils einer Blutprobe in die Auswertung ein, welche innerhalb von 36-72 Lebensstunden abgenommen wurde. Da die Gruppierung dieser Kinder anhand ihrer erhobenen klinischen Daten inklusive möglichst vollständiger Familienanamnese stattfand, war eine weitere Voraussetzung für den Einschluss in die Auswertung ein vollständig beantworteter Fragebogen. Zusätzlich fand ein Ausschluss vereinzelter Proben statt. Die

unten genannten vier Proben wiesen Mängel auf, weshalb sie nicht in die Auswertung einfließen konnten. Damit ergab sich eine Teilnehmerzahl von 452 Probanden.

Proband	Merkmal	Grund für Auswertungsausschluss
142	Probenfehler	Probenfehler
147	Transfusion	Verfälschung durch fremde Proteine aus Transfusion im Rahmen einer Sepsis
187	Probenfehler	Probenfehler
555	Eizellspende	Keine Angaben leibliche Mutter

**Tabelle 3** Auflistung exkludierter Proben

### 3.8 Statistik

Für die deskriptive Statistik der Kohorte wurde neben dem Mittelwert auch die Standardabweichung berechnet. Die Verteilung der Stichprobe bezüglich ihrer klinischen Merkmale wurde in Prozent berechnet. Ein Vergleich der Untergruppen fand mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes sowie des multisample-Testes nach ANOVA statt. Die gezeigten Tabellen der klinischen Daten entspringen diesen Auswertungen.

Für die qualitative Statistik fand die Version 1.6.2.3 des Biostatistikprogrammes „Perseus“ Anwendung. Dieses Programm wurde speziell für auf massenspektrometrischen Daten basierende Proteom-Analysen entwickelt [52].

Für eine adäquate Auswertung wurden die Daten in ihren Logarithmus von 10 transformiert, um die Streuung der Daten zu minimieren. Nur Proteine, die in mehr als 70% der Proben nachweisbar waren, fanden in der Auswertung Berücksichtigung.

Für den Vergleich von zwei Gruppen wie z.B. von Kindern mit positiver allergischer Familienanamnese und Kindern mit negativer allergischer Familienanamnese wurde der hinterlegte „two-sample-test“ nach ANOVA mit einer „False Discovery Rate“ (FDR) von 0,05 verwendet. Die FDR korrigiert bei Vergleichen vieler Datenpunkte für zufällige signifikante Korrelationen, da bei großer Datenmenge rein statistisch von einzelnen zufälligen Korrelationen auszugehen ist. Ebenso fand ein „Student’s t-Test“ mit einer FDR von 0,05 Anwendung. Als Signifikanzniveau wurde hierbei ein p-Werte von 0,01 angenommen, welches das Konfidenzintervall auf 99% festlegt.

Zusätzlich wurde der in der Biostatistik verwendete Parameter „S0“ verwendet. Hierbei findet auch die gemessene Intensitätsdifferenz Berücksichtigung in der Auswertung der signifikanten Treffer. Somit werden auch Proteine, die einen P-Wert <0,01 haben, aber eine zu geringe gemessene Differenz aufweisen, nicht als signifikante Treffer gewertet und andersherum. Dies ermöglicht ebenfalls ein effizientes Senken von Interpretationsfehlern, in denen die

Nullhypothese fälschlicherweise verworfen wird. Der verwendete  $S_0$ -Parameter entspricht 0,1.

Die Erstellung von Grafiken wie die Scatter Plots, Volcano Plots oder Histogrammen fanden ebenfalls im Programm „Perseus“ statt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

#### 4.1.1 Allergische Anamnese

Anhand des Fragebogens konnte eine Einteilung bezüglich der allergischen Prädisposition des Kindes vorgenommen werden. Aus zahlreichen Studien ist bekannt, dass die Wahrscheinlichkeit einer allergischen Erkrankung, bei Kindern mit beiden erkrankten Elternteilen deutlich erhöht ist [53]. Mithilfe dieser Annahme fand eine Unterteilung der Studienteilnehmenden in unterschiedliche Gruppen anhand der Inzidenz der Erkrankungen allergischer Genese in der Familie statt. Die Gruppe ohne Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis (allergisches Asthma, Allergien jeglicher Form und atopisches Ekzem) in der Familienanamnese diente als Kontrollgruppe.

Hierbei wurden fünf verschiedene Gruppen berücksichtigt:

- Allergische Erkrankung bei Mutter und Vater bekannt (AE)
- Allergische Erkrankung nur bei der Mutter (mit und ohne allergische Erkrankungen von Verwandten der mütterlichen Seite) bekannt (AM)
- Allergische Erkrankungen nur bei dem Vater (mit und ohne allergische Erkrankungen von Verwandten der väterlichen Seite) bekannt (AV)
- Allergische Erkrankung bei weder der Mutter noch dem Vater, aber bei mindestens einem entfernteren Verwandten sowohl mütterlicher als auch/oder väterlicher Seite bekannt (AA)
- Keine Allergischen Erkrankungen in der Familie bis hin zu Großeltern und Geschwister der Eltern bekannt (K)

Da bei 10 Kindern (2%) der Kohorte keine Allergien der Eltern bekannt waren, aber ein Asthma bronchiale sowie ein Ekzem beides unklarer Genese verzeichnet wurden und der Pathomechanismus durch die atopischen Erkrankungen starke Ähnlichkeiten aufweist, wurden diese Kinder in jeweiligen Gruppen AE, AM oder AV eingeordnet.

	AE	AM	AV	AA	K
<b>Anzahl [n (%)]</b>	115 (25,4)	134 (29,6)	76 (16,8)	40 (8,8)	87 (19,2)

**Tabelle 4** Aufteilung der Untergruppen in Fallzahlen

Innerhalb dieser Gruppen wurden die Proben jeweils mit Hilfe einer Zusammenfassung ähnlicher Allergene in Allergengruppen wie Pflanzenpollen, Lebensmittel oder Medikamente unterteilt. Die Auswertung der gemessenen Proteine orientierte sich an diesem „Allergie-Score“.

<b>ALLERGIEN [n (%)]</b>	<b>Mutter (AE)</b>	<b>Vater (AE)</b>	<b>Mutter (AM)</b>	<b>Vater (AV)</b>
Pflanzenpollen	55 (47,8)	84 (73,0)	65 (48,5)	50 (65,7)
Hausstaubmilbe	20 (17,4)	21 (18,2)	26 (19,4)	16 (21,1)
Lebensmittel	14 (12,2)	21 (18,3)	22 (16,4)	10 (13,2)
Insektengift	2 (1,7)	6 (5,2)	3 (2,2)	1 (1,3)
Medikamenten	37 (32,2)	9 (7,8)	34 (25,4)	7 (9,2)
Tierepithelien	18 (15,7)	13 (11,3)	18 (8,2)	19 (25,0)
Metalle	8 (7,0)	1 (0,9)	11 (8,2)	1 (1,3)
sonstiges	9 (7,8)	5 (4,5)	7 (5,2)	5 (6,6)
<b>ATOPIE [n (%)]</b>				
Asthma	12 (10,4)	20 (17,4)	22 (16,4)	12 (15,8)
atopisches Ekzem	26 (22,6)	19 (16,5)	30 (22,4)	13 (17,1)
spezifische Immuntherapie	2 (1,7)	2 (1,7)	0 (0)	0 (0)

**Tabelle 5** Inzidenz allergische Erkrankung nach Allergen aufgeteilt

Auffällig hierbei ist die erhöhte Inzidenz von Heuschnupfen/Pflanzenpollenallergie bei den Vätern. Bei den Müttern fällt die erhöhte Inzidenz von Medikamentenallergien sowie Allergien gegen Metalle auf.

Eine spezifische Immuntherapie fand im Allgemeinen sehr selten statt und die Angaben der Eltern diesbezüglich scheinen eher ungenau, da nicht explizit danach gefragt wurde.

#### **4.1.2 Klinische Daten der gesamten Kohorte**

Unter den 452 Kindern wiesen 216 Kinder ein weibliches Geschlecht und 236 Kinder ein männliches Geschlecht auf. Dies entspricht einer Verteilung von 47,8% Mädchen und 52,2% Jungen in der generierten Kohorte. Diese Verteilung spiegelt die Geschlechterverteilung bei Lebendgeburten im Bundesland Bayern mit 48,85% Mädchen und 51,12% Jungen annähernd wieder und lässt sich auf die gesamte Bundesrepublik übertragen [54].

Das mediane Alter der gesamten Kohorte betrug 39+5 SSW (279 Tage) mit einer Standardabweichung von 8 Tagen.

In Tabelle 6 befindet sich eine Auflistung der Geburtscharakteristika inklusive Daten zu den Eltern der Teilnehmenden in Mittelwert und Standardabweichung.



<b>KIND</b>	<b>Durchschnitt</b>	<b>Standardabweichung</b>
Gestationsalter [Tage]	279	± 8,36
Gewicht bei Geburt [g]	3409	± 457,4
Körperlänge bei Geburt [cm]	52	± 2,51
Kopfumfang bei Geburt [cm]	35	± 1,36
Apgar 1 min	9	± 1,42
Apgar 5 min	10	± 1,02
Apgar 10 min	10	± 0,72

<b>MUTTER</b>	<b>Durchschnitt</b>	<b>Standardabweichung</b>
Alter der Mutter [Jahre]	34	± 4,44
BMI der Mutter vor SS	22,34	± 3,25
Gewichtszunahme während SS [kg]	15,19	± 5,69

<b>VATER</b>	<b>Durchschnitt</b>	<b>Standardabweichung</b>
Alter Vater [Jahre]	36	± 5,87
BMI des Vaters	25,18	± 3,17

**Tabelle 6** Charakteristika bei Geburt in Mittelwerten und Standardabweichung

Mit einem durchschnittlichen Geburtsgewicht von 3409g entspricht dies annähernd dem deutschen Durchschnitt von 3480g [55]. Das Durchschnittsalter der Mütter bei Entbindung liegt mit 34 Jahren etwas über dem Durchschnitt im Jahre 2018 in Deutschland von 31 Jahren [56]. Dies lässt sich unter anderem dadurch erklären, dass die vorliegende Kohorte einen höheren Bildungsstand der Mütter als im deutschen Durchschnitt aufweist. Einen Zusammenhang zwischen Bildung und Alter bei Entbindung konnte bereits nachgewiesen werden. Hierbei zeigte sich ein höheres Alter der Mütter bei höherem Bildungsstand [57].

Ebenso gilt dies für das Durchschnittsalter der Väter, welches in der Studie bei 36 Jahren lag und damit wenn auch nur geringfügig über dem deutschen Durchschnitt aus dem Jahre 2018 mit 35 Jahren [58] liegt.

Die Verteilung der Geburtsmodi der gesamten Kohorte entspricht nicht vollständig denen der Bundesrepublik. Im Jahre 2017 wurden 30,5% Sectio-Geburten [59] verzeichnet, was 5% höher ist, als in der hier ausgewerteten Kohorte. Dafür ist der Teil an Vakuumextraktionen und Zangengeburt (Forceps) in der vorliegenden Kohorte im Vergleich zur Bundesrepublik jeweils erhöht [59]. Somit gleicht sich der Anteil der fehlenden Kaiserschnitte durch die Erhöhung der vaginalen Operationen aus.

Mit 65% vaginalen Geburten ohne zusätzliche Manipulation entspricht dies annähernd dem Anteil in der Bundesrepublik [59].

<b>GEBURTSMODUS</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Anteil in %</b>
spontan	294	65,0
vaginale Operation (VE/Forceps)	72	15,9
Sectio caesarea (prim./sek./Notsektio)	121	26,8
<b>DIAGNOSE KIND</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Anteil in %</b>
Neugeborenen-Infektion (early-onset)	30	6,6
prophylaktische antibiotische Therapie	29	6,4
virale Infektion (CMV)	1	0,2
Asphyxie	5	1,1
respiratorische Erkrankung mit Beatmungsnotwendigkeit*	25	5,5
<b>GRAVIDA</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Anteil in %</b>
G1	219	48,5
G2-G3	200	44,2
>G3	33	7,3
<b>PARA</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Anteil in %</b>
P1	265	58,6
P2-P3	179	39,6
>P3	8	1,8

**Tabelle 7** Klinische Charakteristika bezüglich Schwangerschaft und Geburt (\*inklusive kurzzeitiger CPAP-Unterstützung direkt nach Geburt)

In Bezug auf die erhobenen Diagnosen der Eltern und Familiengeschichte gab es primär keine Selektion. Auch die Kinder wurden unabhängig ihres Gesundheitszustandes in die Auswertung mit aufgenommen, sodass eine möglichst repräsentative Gruppe an reifgeborenen Kindern generiert wurde. Typische Erkrankungen, die eine Schwangerschaft und damit das Gedeihen des Fetus beeinflussen wie Diabetes Mellitus, Präeklampsie und weiteres, sind in der Kohorte wenig vertreten (Tab. 8). Im Allgemeinen war der Gesundheitszustand von Mutter und Kind unter den eingeschlossenen Studienteilnehmenden sehr gut. Dies ist unter anderem durch die Rekrutierung auf einer Normalstation (nur selten auf der Intensivstation) sowie das Fehlen von Frühgeborenen zu erklären. Die erhöhte Prävalenz von Erkrankungen jeglicher Art unter Müttern im Vergleich zu Vätern könnte durch ein verstärktes Augenmerk auf die Gesundheit der Mutter während der Schwangerschaft bedingt sein.

<b>MUTTER [n (%)]</b>	<b>gesamte Kohorte</b>	<b>AE</b>	<b>AM</b>	<b>AV</b>	<b>AA</b>	<b>K</b>
Keine angegebene Erkrankung	265 (58,6)	70 (60,9)	78 (58,2)	46 (60,5)	24 (60)	47 (54)
Diabetes mellitus	39 (8,6)	10 (8,7)	9 (6,7)	7 (9,2)	4 (10)	10 (12)
Adipositas	15 (3,3)	3 (2,6)	1 (0,7)	1 (1,3)	2 (5)	5 (5,7)
Untergewicht	19 (4,2)	4 (3,5)	9 (6,7)	4 (5,3)	1 (2,5)	5 (5,7)
Schilddrüsenenerkrankung	120 (26,6)	30 (26,1)	36 (26,9)	19 (25)	14 (35)	21 (24,1)
Gerinnungsstörung	25 (5,5)	5 (4,4)	8 (6)	2 (2,6)	2 (5)	8 (7,8)
Neurologische Erkrankung	12 (2,7)	2 (1,7)	4 (3)	3 (3,9)	1 (2,5)	2 (2,3)
Rheumatische Erkrankung	4 (0,9)	2 (1,7)	2 (1,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Gastrointestinale Erkrankung	10 (2,2)	3 (2,6)	3 (2,2)	0 (0)	1 (2,5)	2 (2,3)
kardiale Erkrankung	14 (3,1)	4 (3,5)	4 (3)	3 (3,9)	4 (10)	5 (5,7)
andere	17 (3,8)	6 (5,2)	5 (3,7)	2 (2,6)	0 (0)	4 (4,6)

<b>VATER</b>	<b>gesamte Kohorte</b>	<b>AE</b>	<b>AM</b>	<b>AV</b>	<b>AA</b>	<b>K</b>
Keine angegebene Erkrankung	381 (84,3)	93 (80,9)	118 (80,1)	65 (85,5)	38 (95)	67 (77)
Diabetes mellitus	8 (1,8)	2 (1,7)	1 (0,7)	0 (0)	0 (0)	1 (1,2)
Adipositas	32 (7,1)	9 (7,8)	5 (3,7)	4 (5,2)	2 (5)	12 (13,8)
Untergewicht	1 (0,2)	1 (0,9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Schilddrüsenenerkrankung	14 (3,1)	5 (4,4)	4 (3)	1 (1,3)	1 (2,5)	3 (3,5)
Gerinnungsstörung	4 (0,9)	1 (0,9)	0 (0)	2 (2,6)	0 (0)	1 (1,2)
Neurologische Erkrankung	3 (0,7)	2 (1,7)	0 (0)	1 (1,3)	0 (0)	0 (0)
Rheumatische Erkrankung	4 (0,9)	3 (2,6)	0 (0)	1 (1,3)	0 (0)	0 (0)
Gastrointestinale Erkrankung	5 (1,1)	3 (2,6)	4 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
kardiale Erkrankung	12 (2,7)	7 (6,1)	3 (2,2)	3 (3,9)	0 (0)	0 (0)
andere	7 (1,6)	1 (0,9)	3 (2,2)	1 (1,3)	2 (5)	1 (1,2)

**Tabelle 8** Gesundheitszustand der Eltern nach Allergieverteilergruppen

### 4.1.3 Klinische Daten der Untergruppen nach Allergie-Prädisposition

Es lässt sich unter den einzelnen Untergruppen der allergischen Anamnese kein signifikanter Unterschied feststellen.

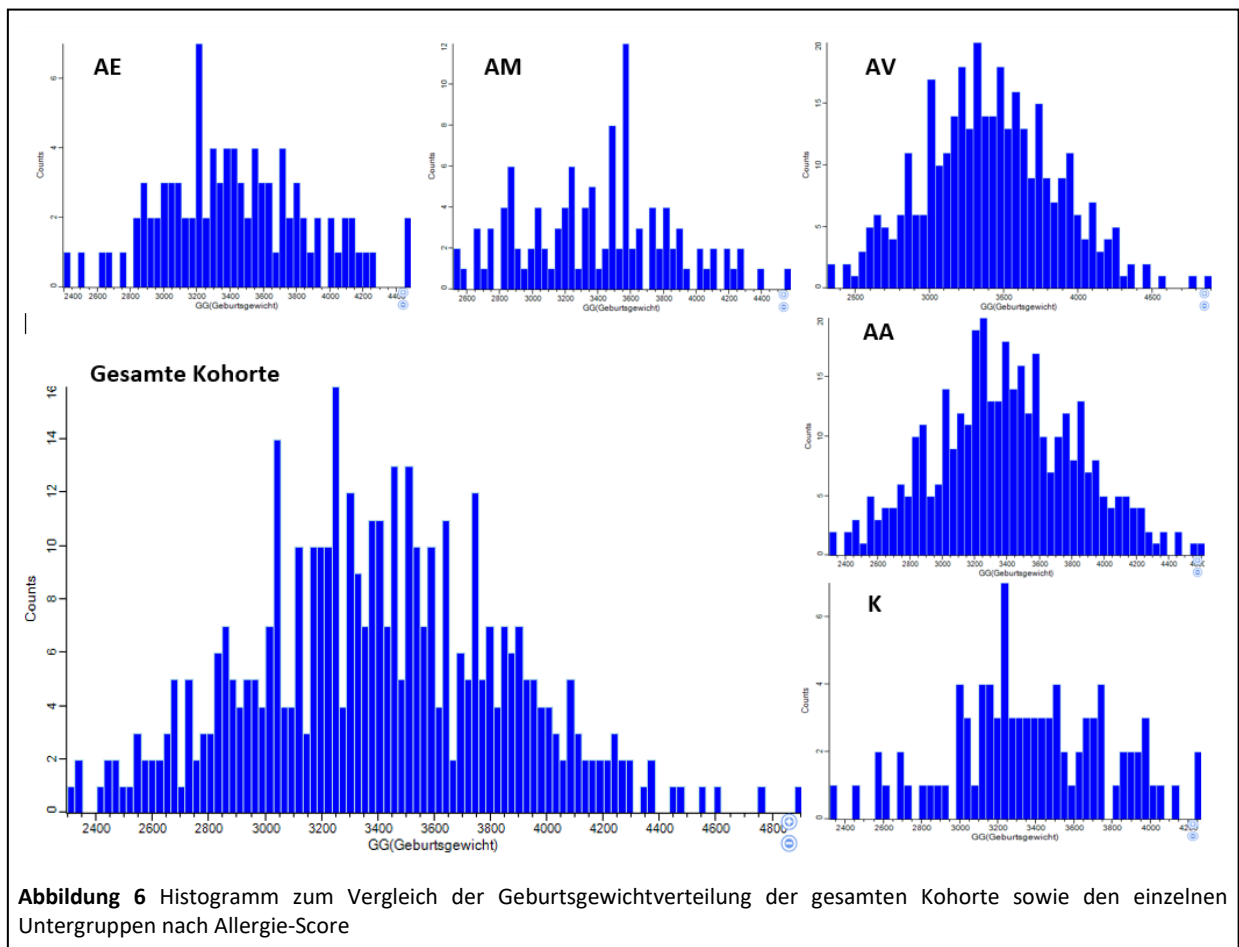
<b>KIND</b>	<b>AE</b>	<b>AM</b>	<b>AV</b>	<b>AA</b>	<b>K</b>
Geschlecht weiblich [%]	47,8	50	48,7	52,5	41,4
Gestationsalter [Tage]	278	279	278	279	279
Geburtsgewicht [g]	3412	3422	3333	3452	3434
Körperlänge bei Geburt [cm]	52	51	51	52	52
Kopfumfang bei Geburt [cm]	34,9	34,9	34,8	34,8	35
SGA [%]	6,1	11,2	14,5	15	6,9
LGA [%]	2,6	6	5,3	5	4,6
APGAR 1min	8,9	8,7	9,1	8,7	9,1
APGAR 5min	9,7	9,6	9,7	9,6	9,8
APGAR 10	9,9	9,8	9,9	9,6	9,9
Blutentnahmezeitpunkt [Lebensstunde]	45	46	46,7	46,6	46,1
<b>MUTTER</b>	<b>AE</b>	<b>AM</b>	<b>AV</b>	<b>AA</b>	<b>K</b>
Alter [Jahre]	35,1	33,8	34	33,9	33,7
BMI vor SS	22,4	21,9	22,1	23,2	22,8
Gewichtszunahme in SS [kg]	14,8	15,5	15,7	16,1	14,3
<b>VATER</b>	<b>AE</b>	<b>AM</b>	<b>AV</b>	<b>AA</b>	<b>K</b>
Alter [Jahre]	36,9	36,1	35,2	35,1	36,1
BMI	25,5	24,9	24,8	24,9	25,7

**Tabelle 9** Klinische Daten zu Kind und Eltern innerhalb der Gruppierung anhand allergischer Familienanamnese

<b>GEBURTSMODUS [n (%)]</b>						
	AE	AM	AV	AA	K	
spontan	70 (60,9)	73 (54,5)	57 (75)	26 (65)	56 (64,4)	
vaginale Operation (VE/Forceps)	16 (13,9)	29 (21,6)	6 (7,9)	3 (7,5)	11 (12,6)	
Sectio caesa (prim./sek./Notsektio)	29 (25,2)	32 (23,9)	12 (15,8)	11 (27,5)	20 (23)	
<b>DIAGNOSE KIND [n (%)]</b>						
	AE	AM	AV	AA	K	
Neugeborenen-Infektion (early-onset)	3 (2,6)	12 (9)	3 (3,4)	4 (10)	8 (9,2)	
prophylaktische antibiotische Therapie	4 (3,5)	10 (7,5)	8 (10,5)	1 (2,5)	6 (6,9)	
virale Infektion (CMV)	0 (0)	1 (0,8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Asphyxie	2 (1,7)	1 (0,8)	0 (0)	2 (5)	0 (0)	
respiratorische Erkrankung mit Beatmungsnotwendigkeit*	4 (3,5)	12 (9)	3 ( )	3 (7,5)	0 (0)	
<b>GRAVIDA [n (%)]</b>						
	AE	AM	AV	AA	K	
G1	51 (44,3)	76 (56,7)	40 (52,6)	14 (35)	38 (43,7)	
G2-G3	60 (52,2)	50 (37,3)	30 (39,5)	23 (57,5)	37 (42,5)	
>G3	4 (3,5)	8 (6)	6 (7,9)	3 (7,5)	12 (13,8)	
<b>PARA [n (%)]</b>						
	AE	AM	AV	AA	K	
P1	66 (57,4)	86 (64,2)	47 (61,8)	22 (55)	44 (50,6)	
P2-P3	48 (41,7)	45 (33,6)	28 (36,8)	17 (42,5)	41 (47,1)	
>P3	1 (0,9)	3 (2,2)	1 (1,3)	1 (2,5)	2 (2,3)	

**Tabelle 10** Klinische Daten zu der Geburt der Gruppierung anhand allergischer Familienanamnese (\*inklusive kurzzeitiger CPAP direkt nach Geburt)

Beispielhaft lässt sich anhand der Verteilung des Geburtsgewichtes zeigen, dass sowohl innerhalb der gesamten Kohorte als auch innerhalb der Untergruppen annähernd eine Normalverteilung herrscht.



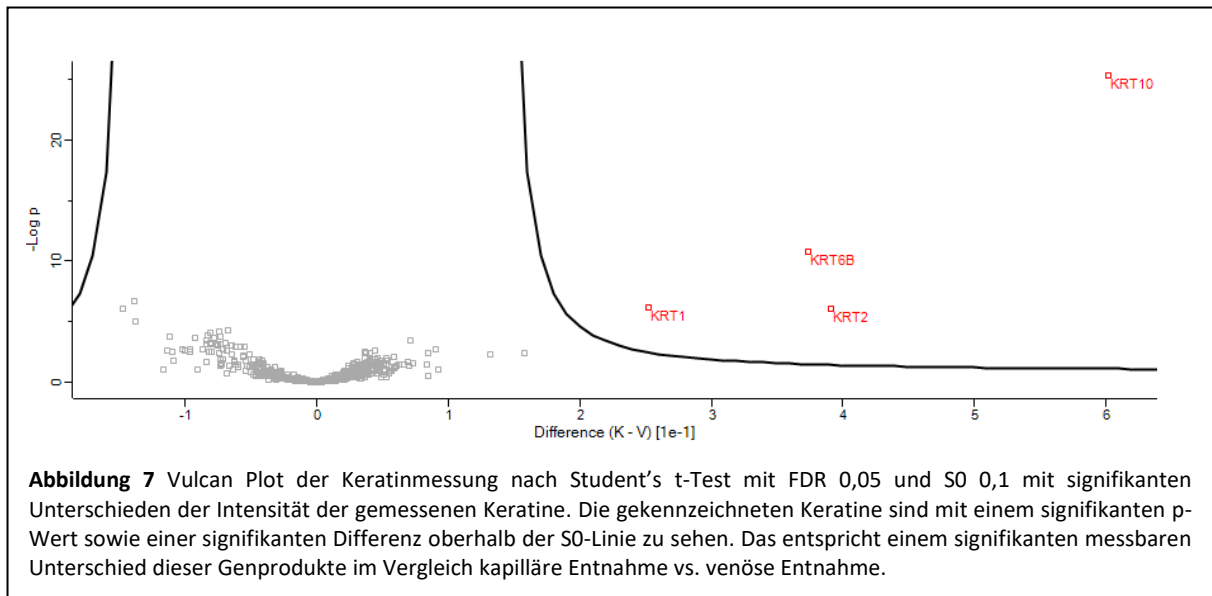
## 4.2 Protein-Analyse

Die Perseus-Analysen der massenspektrometrisch erhobenen Daten der Blutproben wurden in Hinblick auf verschiedene Schwerpunkte durchgeführt. In den 452 Blutproben konnten bis zu 1119 Peptide gemessen werden. Durch Filtrationsprozesse wurde die Anzahl an gemessenen Peptiden auf 323 bis 600 Fragmente reduziert, die jeweils in mindestens 70% der Proben nachweisbar waren.

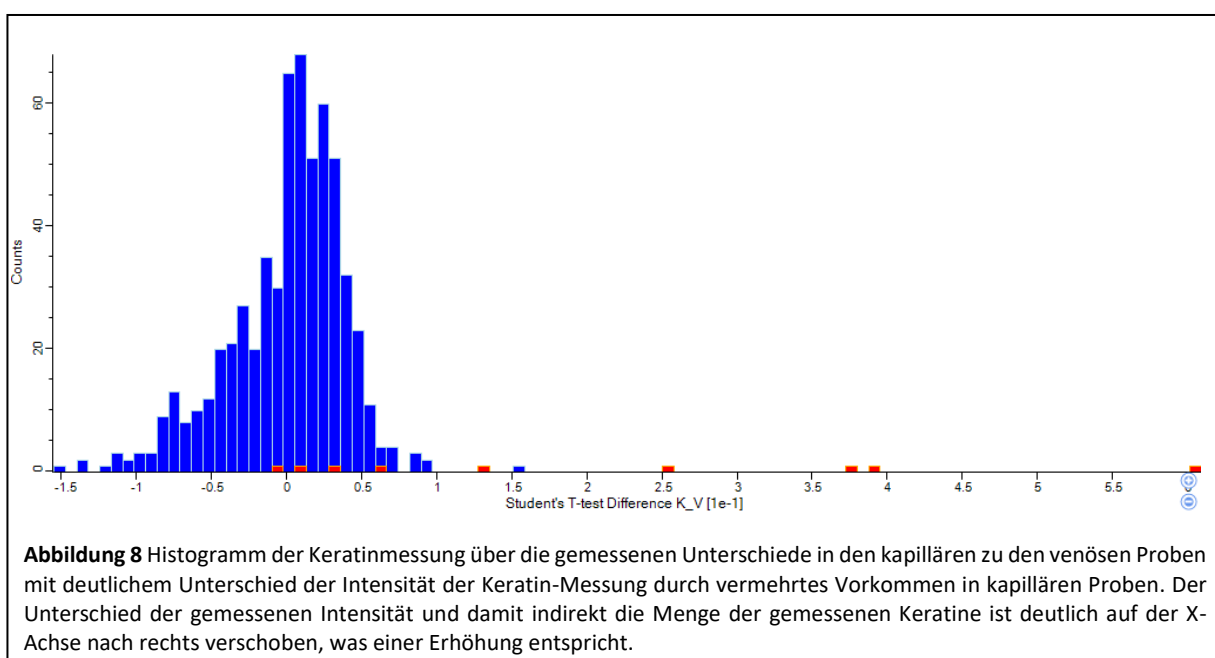
Anhand der gemessenen Spektren lassen sich Rückschlüsse auf die zugrunde liegenden Proteine und damit deren Gene schließen und diese durch gemessene Intensitäten quantifizieren. Als Benennung der nachgewiesenen Peptide werden im Folgenden die Namen der zugrunde liegenden Gene verwendet.

## 4.2.1 Validität der Blutproben in Abhängigkeit zur Blutentnahmetechnik

Im Vergleich von kapillären zu venösen Blutentnahmen zeigten sich hauptsächlich Unterschiede in der detektierten Menge an Keratinen wie KRT1, KRT2, KRT6B oder KRT10, die in kapillären Blutentnahmen signifikant höher ausfielen. Dies ist allein durch die Abnahmetechnik zu erklären, die durch ein vermehrtes Drücken an der Ferse zu einem vermehrten Auftreten von Keratinen in der kapillären Probe führen kann.



Auch im Histogramm (Abbildung 8) lässt sich eine eindeutige Verschiebung der detektierten Keratine zugunsten der kapillären Blutentnahme erkennen. Dabei sind die rot markierten Balken die Zählungen der Fragmente, die zur Familie der Keratine gehören. Hier liegt der höchste gemessene Unterschied innerhalb der Probenotypen vor.

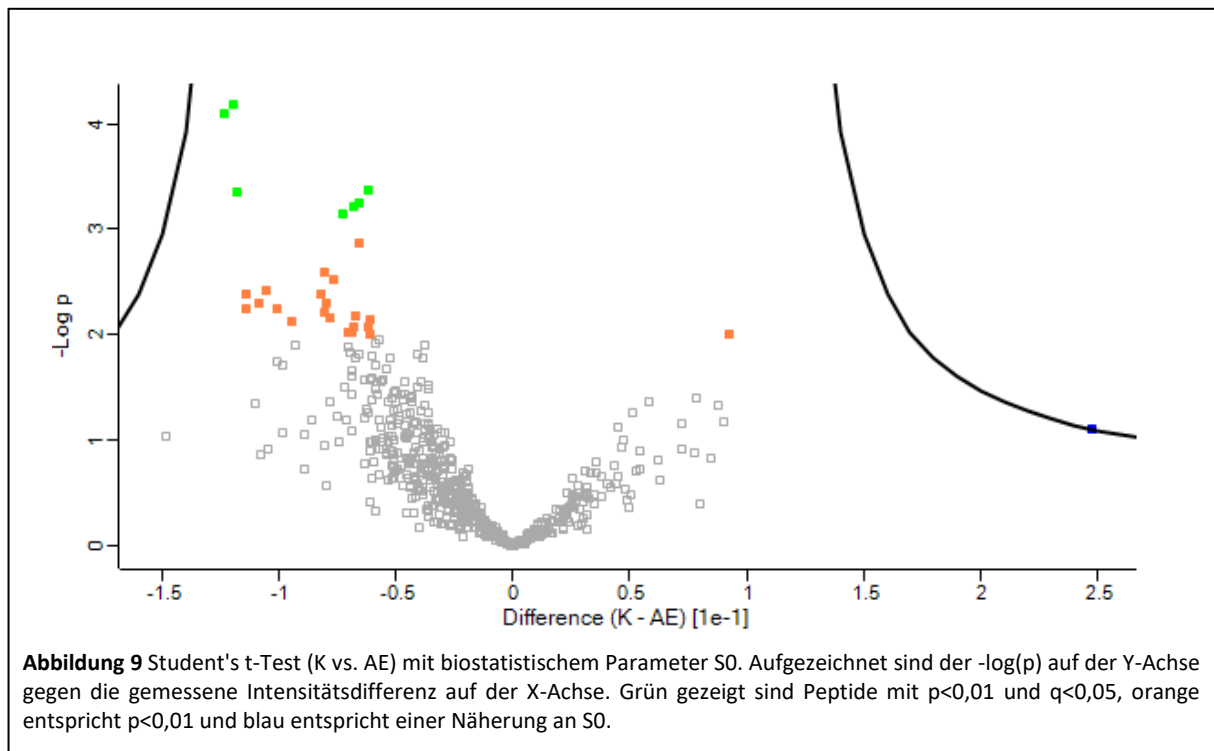


## 4.2.2 Frage I – Vergleich der Gruppen

### 4.2.2.1 Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese beider Eltern (K vs. AE)

In der t-Test-gestützten Analyse zeigen sich bei einer Berücksichtigung des q-Wertes mit einem Signifikanzniveau von 5%, welcher für zufällige Korrelationen korrigiert, sieben Genprodukte signifikant verändert. Dabei konnten MSN, RAP1B, LPC1, NAPRT, PFN1, YWHAZ und ANXA7 alle in der Gruppe AE erhöht gegenüber der Kontrollgruppe gemessen werden.

Weitere 21 gemessene Proteinfragmente zeigen sich bei einer T-Test gestützten Analyse mit einem p-Wert unter 0,01 (entspricht  $-\log(p)$  von 2) merklich verändert.



Farbe	Gene name	$-\log p$	q-value	Difference	Protein Description
grün	MSN	4.1808	0.02	-0.1193	Moesin
grün	RAP1B	4.0962	0.01	-0.123	Ras-related protein Rap-1b
grün	LCP1	3.3725	0.056	-0.0617	Plastin-2
grün	NAPRT	3.3463	0.045	-0.1181	Nicotinate phosphoribosyltransferase
grün	PFN1	3.2554	0.0496	-0.0655	Profilin-1
grün	YWHAZ	3.212	0.044	-0.0677	14-3-3 protein zeta/delta
grün	ANXA7	3.1527	0.044	-0.0728	Annexin A7
orange	TAGLN2	2.8716	0.0835	-0.0658	Transgelin-2
orange	CCT5	2.5924	0.1649	-0.0805	T-complex protein 1 subunit epsilon
orange	GP1BA	2.5317	0.168	-0.0764	Glycoprotein Ib (Platelet)
orange	PPP6R3	2.4151	0.2036	-0.1053	Serine/threonine-protein phosphatase 6 regulatory subunit 3



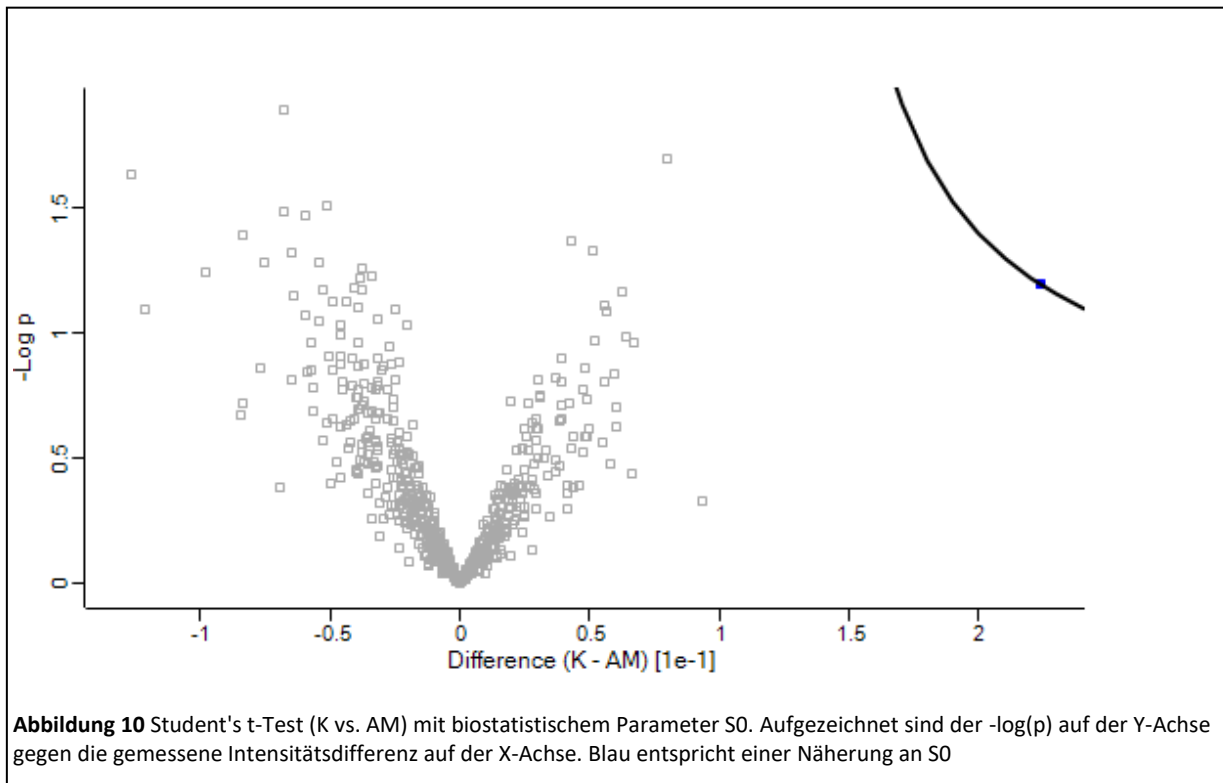
orange	CAPZA2	2.3874	0.198	-0.1143	F-actin-capping protein subunit alpha-2
orange	EIF5A	2.3783	0.1852	-0.0819	Eukaryotic translation initiation factor 5A
orange	ACTR3	2.3064	0.2043	-0.0795	Actin-related protein 3
orange	HIST1/*2/*3	2.3033	0.1923	-0.1085	Histone
orange	CUTA	2.2494	0.2045	-0.1138	Protein CutA
orange	RGS10	2.2448	0.1948	-0.1006	Regulator of G-protein signaling 10
orange	NPEPPS	2.2082	0.2022	-0.0803	Aminopeptidase; Puromycin-sensitive aminopeptidase
orange	SERPINB1	2.1843	0.2034	-0.0672	Leukocyte elastase inhibitor
orange	HSPB1	2.1583	0.2052	-0.0778	Heat shock protein beta-1
orange	FERMT3	2.1366	0.2063	-0.0612	Fermitin family homolog 3
orange	TUBB1	2.1187	0.2053	-0.0943	Tubulin beta-1 chain
orange	RUVBL2	2.0828	0.2146	-0.0684	RuvB-like 2
orange	ITGA2B	2.0735	0.2117	-0.0616	Integrin alpha-IIb
orange	PSMA4	2.0264	0.2254	-0.0688	Proteasome subunit, Proteasome endopeptidase complex
orange	CUL3	2.0243	0.2174	-0.0702	Cullin-3
orange	PLG	2.0136	0.2157	0.0924	Plasminogen
orange	ARHGDI3	2.0127	0.2087	-0.0613	Rho GDP-dissociation inhibitor 2
blau	PPA1	1.107	0.4395	0.2473	Inorganic pyrophosphatase

**Tabelle 11** Student's t-Test (K vs. AE) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 9, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Unter Berücksichtigung des biostatistischen Parameters  $S_0$  verlieren die obigen sieben Proteinfragmente ihre Signifikanz. Nur der Genlocus PPA1 zeigt sich an der Signifikanzgrenze zugunsten der Kontrollgruppe. Durch das Einbringen von  $S_0$  kann bei größerer Differenz ein kleiner p-Wert als signifikant angenommen werden, weshalb PPA1 an Relevanz gewinnt. Auffällig ist zusätzlich, dass alle anderen Proteinfragmente mit der weiteren Ausnahme von PLG neben PPA1 in der Gruppe mit positiver Familienanamnese vermehrt nachgewiesen werden konnten. Insgesamt befindet sich die Differenz der gemessenen Proteinfragmente auf einem geringen Level.

#### 4.2.2.2 Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur der Mutter (K vs. AM)

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern der AM-Gruppe finden sich in einer t-Test-gestützten Analyse keine signifikanten Treffen. Unter Berücksichtigung des biostatistischen Parameters  $S_0$  rückt lediglich PTGER3 mit einem p-Wert von 0,06 und einer Differenz von 0,2243 in den Vordergrund. So ist das Proteinfragment PTGER3 in der Kontrollgruppe vermehrt nachzuweisen.

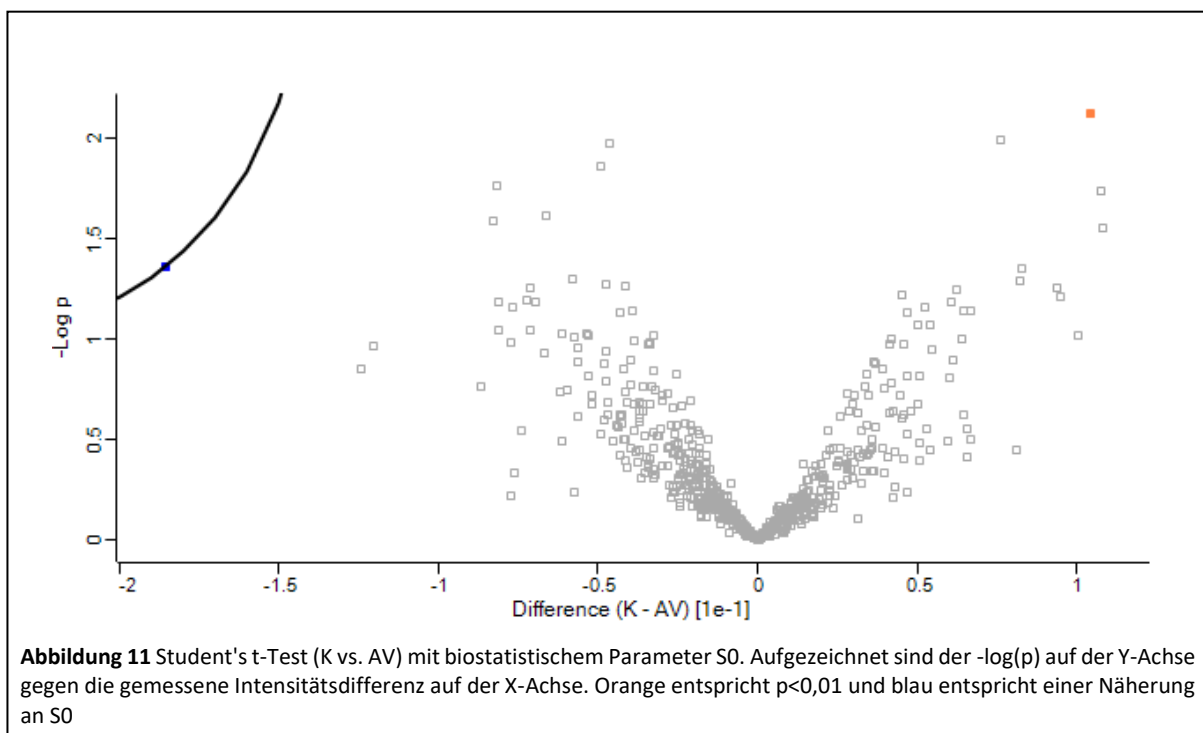


Farbe	Genlokus	$-\log p$	q-value	Difference	Protein Description
blau	PTGER3	1.1931	1	0.2237	Prostaglandin E2 Receptor EP3 Subtype

**Tabelle 12** Student's t-Test (K vs. AM) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 10, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

#### 4.2.2.3 Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur des Vaters (K vs. AV)

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern der AV-Gruppe findet sich in einer t-Test-gestützten Analyse ein Proteinfragment mit einem p-Wert unter 0,01. IGHG3 lässt sich in der Kontrollgruppe vermehrt nachweisen. Unter Verwendung des biostatistischen Parameters  $S_0$  fällt zusätzlich APOB ins Auge.



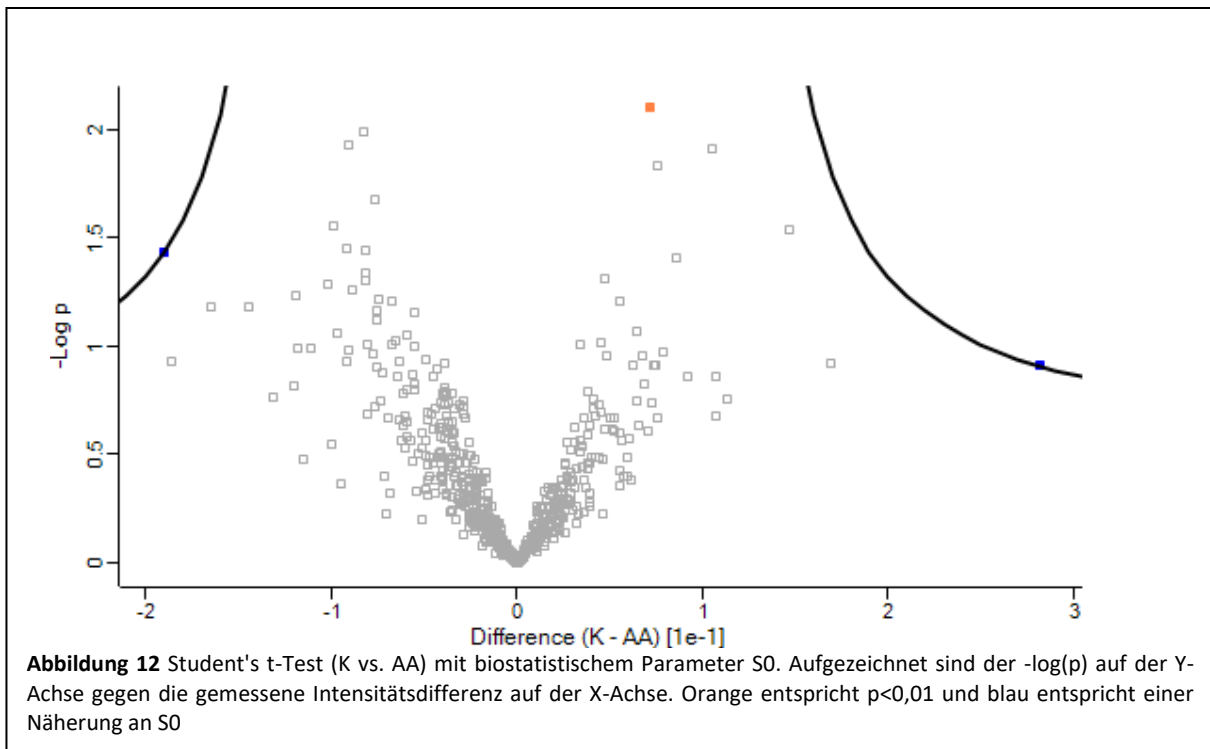
Farbe	Gene name	$-(\log)p$	q-value	Difference	Protein Description
orange	IGHG3	2.1232	1	0.1040	Immunoglobulin heavy constant gamma 3
blau	APOB	1.3609	1	-0.1856	Apolipoprotein B-100

**Tabelle 13** Student's t-Test (K vs. AV) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 11, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

#### 4.2.2.4 Kontrollgruppe im Vergleich zu Kindern mit negativer allergischer Anamnese der Eltern, aber einer bekannten Allergie bei mindestens einer entfernten verwandten Person (K vs. AA)

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern der AA-Gruppe findet sich in einer t-Test-gestützten Analyse ein Proteinfragment signifikant verändert.

Mit einem p-Wert von 0,0079 zeigt sich YWHAZ erhöht, verliert aber durch das Einbringen des biostatistischen Parameters S0 seine Relevanz, wohingegen zwei weitere Proteinfragmente nun als interessant erscheinen. PPA1 ist mit einem p-Wert von 0,123 und einer Differenz von 0,2818 in der Kontrollgruppe vermehrt messbar. Dem entgegen gesetzt ist IGHV mit verschiedenen Isotypen bei einem p-Wert von 0,037 und einer Differenz von 0,1898 in der Gruppe mit entfernter positiver allergischer Familienanamnese vermehrt nachweisbar.

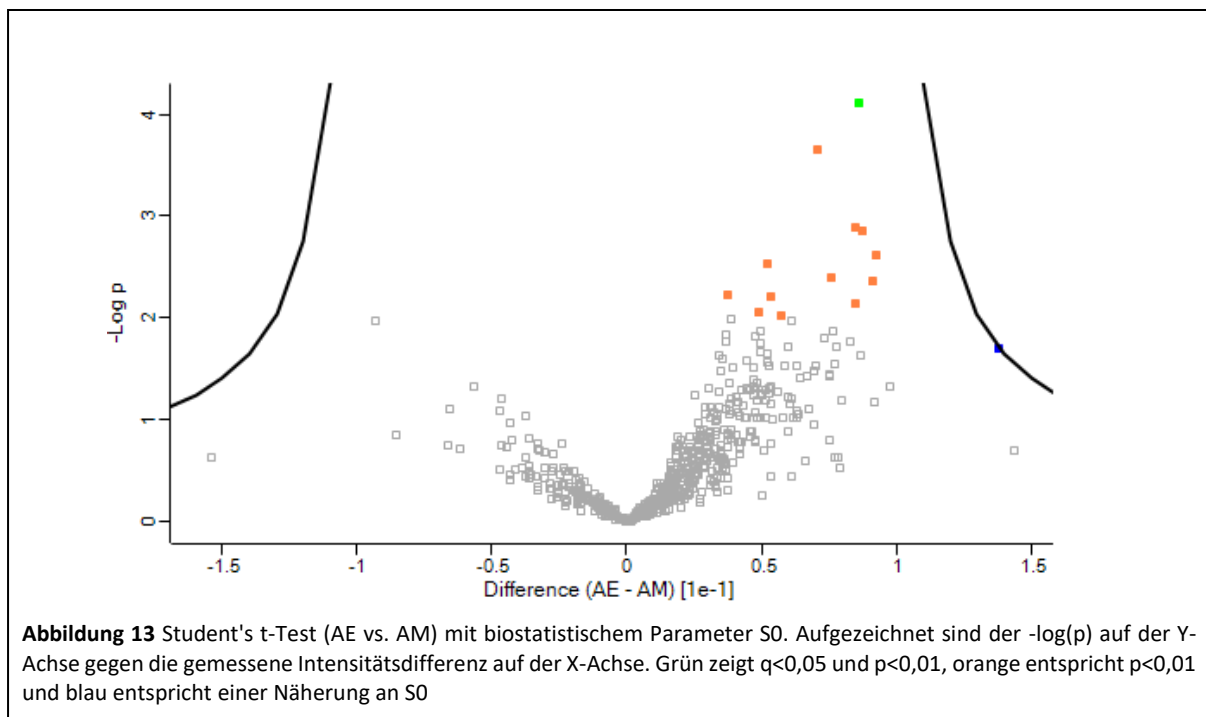


Farbe	Gene name	-Log(p)	q-value	Difference	Protein Description
orange	YWHAH	2.1004	1	0.0723	14-3-3 protein eta
Blau	IGHV3*	1.4353	1	-0.1898	Uncharacterized protein
blau	PPA1	0.9083	1	0.2818	Inorganic pyrophosphatase

**Tabelle 14** Student's t-Test (K vs. AA) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 12, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

#### 4.2.2.5 Kinder mit allergischer Anamnese beider Eltern im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur der Mutter (AE vs. AM)

Bei dem Vergleich von Kindern der AE-Gruppe mit denen der AM-Gruppe zeigt sich in einer t-Test-gestützten Analyse unter Berücksichtigung des q-Wertes ein Proteinfragment signifikant verändert. SERPINB1 ist mit einem p-Wert von 0,0007 in AE vermehrt nachweisbar. Weitere zwölf Proteinfragmente weisen einen p-Wert unter 0,01 auf. Darunter befinden sich YWHAZ mit einem p-Wert von 0,00002, MSN mit einem p-Wert von 0,0001 und NARPT mit einem p-Wert von 0,0007.



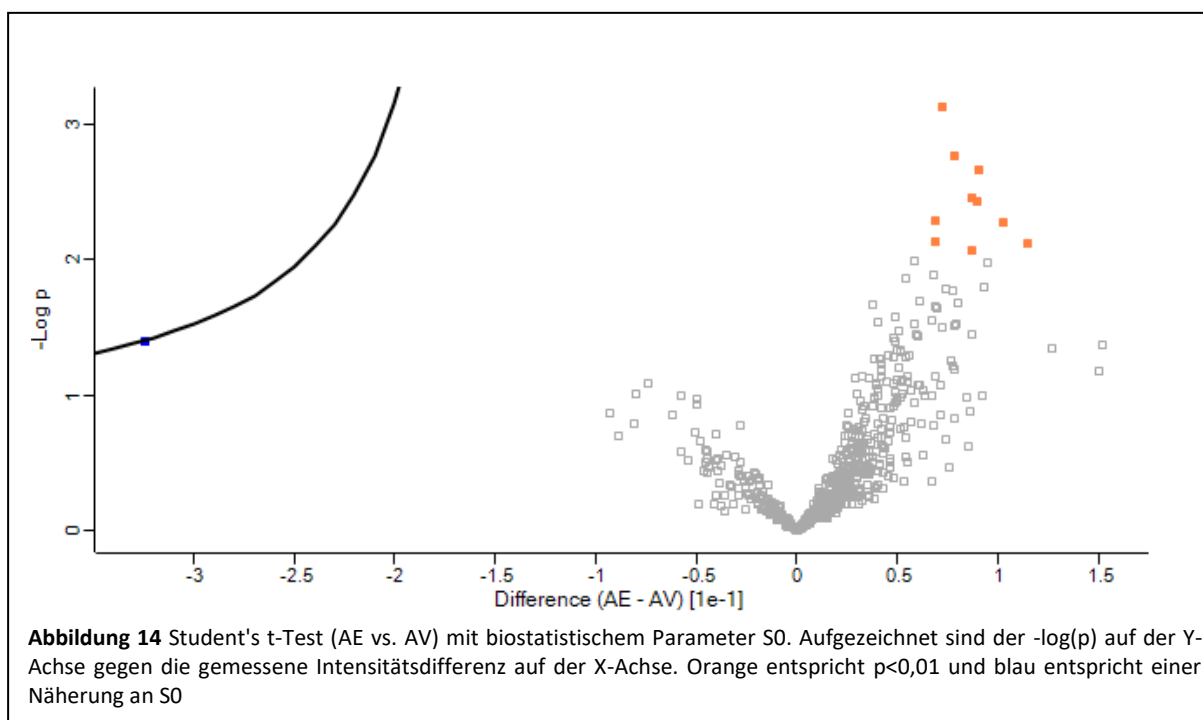
Farbe	Gene name	-Log(p)	q-value	Difference	Protein Descriptions
grün	SERPINB1	4.1096	0.02	0.0861	Leukocyte elastase inhibitor
orange	YWHAZ	3.6477	0.058	0.0711	14-3-3 protein zeta/delta
orange	XPO1	2.8949	0.2547	0.0847	Exportin-1
orange	MSN	2.8501	0.217	0.0872	Moesin
orange	PPP5C	2.6078	0.3128	0.0923	Serine/threonine-protein phosphatase 5
orange	CUL3	2.5246	0.3153	0.052	Cullin-3
orange	GP1BA	2.3981	0.3686	0.0759	Glycoprotein Ib (Platelet)
orange	ALDH1A1	2.3556	0.352	0.0912	Retinal dehydrogenase 1
orange	PIP4K2A	2.231	0.4222	0.0378	Phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase
orange	UBE2O	2.2102	0.4024	0.0538	(E3-independent) E2 ubiquitin-conjugating enzyme
orange	NAPRT	2.1346	0.4335	0.0851	Nicotinate phosphoribosyltransferase
orange	SH3BGRL	2.0477	0.4753	0.049	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein
orange	PPP2R1A	2.0223	0.46	0.0572	Serine/threonine-protein phosphatase
blau	CTSG	1.6919	0.4739	0.1384	Cathepsin G

**Tabelle 15** Student's t-Test (AE vs. AM) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 13, Bezeichnung des zugehörigen Gens, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

#### 4.2.2.6 Kinder mit allergischer Anamnese beider Eltern im Vergleich zu Kindern mit allergischer Anamnese nur des Vaters (AE vs. AV)

Bei dem Vergleich von Kindern der AE-Gruppe mit Kindern der AV-Gruppe wiesen zehn Proteinfragmente einen p-Wert unter 0,01 auf. Darunter befinden sich YWHAZ mit einem p-Wert von 0,0007 und MSN mit einem p-Wert von 0,0086. Unter Berücksichtigung des

biostatistischen Parameters S0 rückt zusätzlich PPA1 mit einem p-Wert von 0,0396 und einer Differenz von -0,3247 in den Vordergrund. Es zeigt sich vermehrt in Kindern mit einer positiven Anamnese des Vaters.



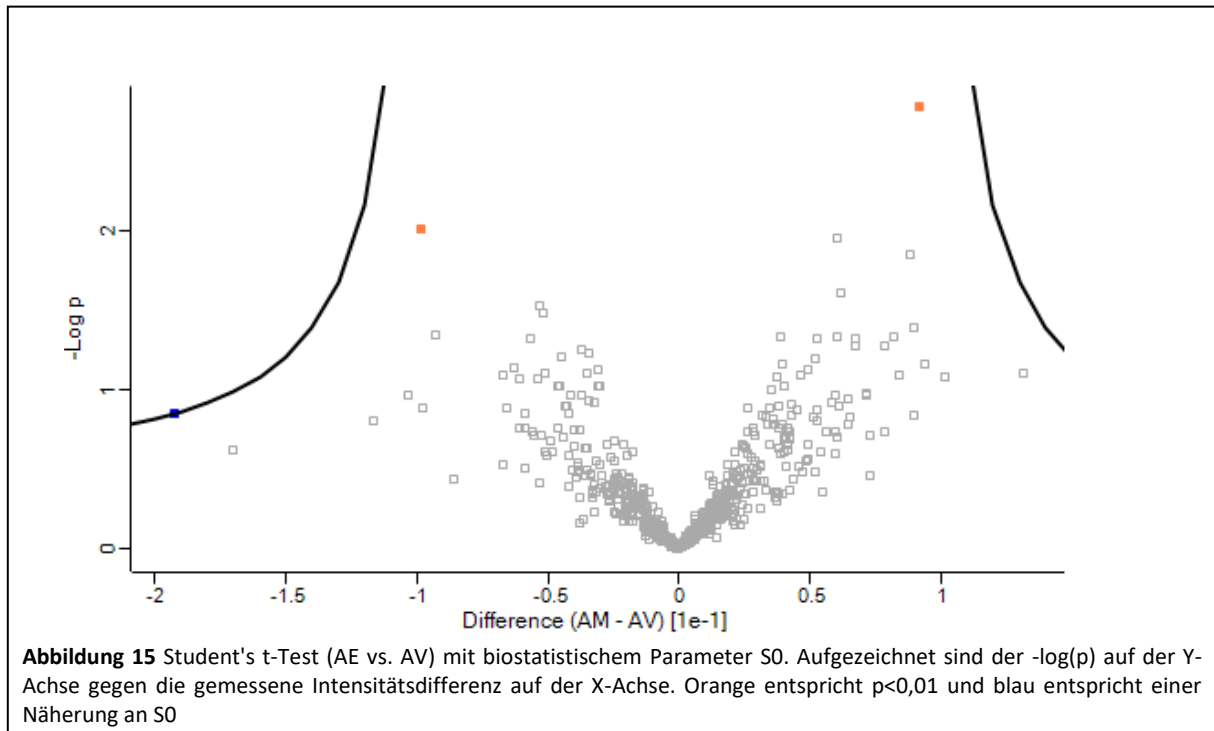
Farbe	Gene name	-Log(p)	q-value	Difference	Protein Description
orange	YWHAZ	3.1304	0.372	0.0727	14-3-3 protein zeta/delta
orange	ITGA2B	2.7717	0.464	0.0788	Integrin alpha-IIb
orange	ATP2B4	2.6660	0.3893	0.0904	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4
orange	GP1BA	2.4638	0.478	0.0875	Glycoprotein Ib (Platelet)
orange	ACTN1	2.4296	0.4152	0.09	Alpha-actinin-1
orange	FERMT3	2.2956	0.482	0.069	Fermitin family homolog 3
orange	TUBB	2.273	0.4417	0.1028	Tubulin beta chain
orange	RANGAP1	2.1296	0.535	0.069	Ran GTPase-activating protein 1
orange	APOH	2.1237	0.4862	0.1146	Beta-2-glycoprotein 1
orange	MSN	2.0656	0.4884	0.0868	Moesin
blau	PPA1	1,0422	0.6661	0.3247	Inorganic Phyrophosphatase

**Tabelle 16** Student's t-Test (AE vs. AV) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 14, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

#### 4.2.2.7 Kinder mit positiver allergischer Anamnese nur der Mutter im Vergleich zu Kindern mit positiver allergischer Anamnese des Vaters (AM vs. AV)

Bei dem Vergleich von Kindern mit einer positiven Anamnese auf jeweils einer Seite zueinander (AM vs. AV) weisen zwei Proteinfragmente einen p-Wert unter 0,01 auf. YWHAQ

mit einem p-Wert von 0,0007 und GLO1 mit einem p-Wert von 0,0086 bilden dabei zwei Proteinfragmente ab, die sich in den anderen Auswertungen nicht als statistisch relevant erwiesen. Unter Berücksichtigung des Biostatistischen Parameters S0 gewinnt PTGER3 mit einem p-Wert von 0,1433 und einer Differenz von -0.1925 an Bedeutung. Es ist vermehrt in Kindern mit einer positiven Anamnese des Vaters vorhanden.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Description
orange	YWHAQ	2.7732	0.8	0.0921	14-3-3 Protein Theta
orange	GLO1	2.0063	1	-0.0988	Lactoylglutathione Lyase
blau	PTGER3	0.8439	1	-0.1925	Prostaglandin E2 Receptor EP3 Subtype

**Tabelle 17** Student's t-Test (AM vs. AV) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 15, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

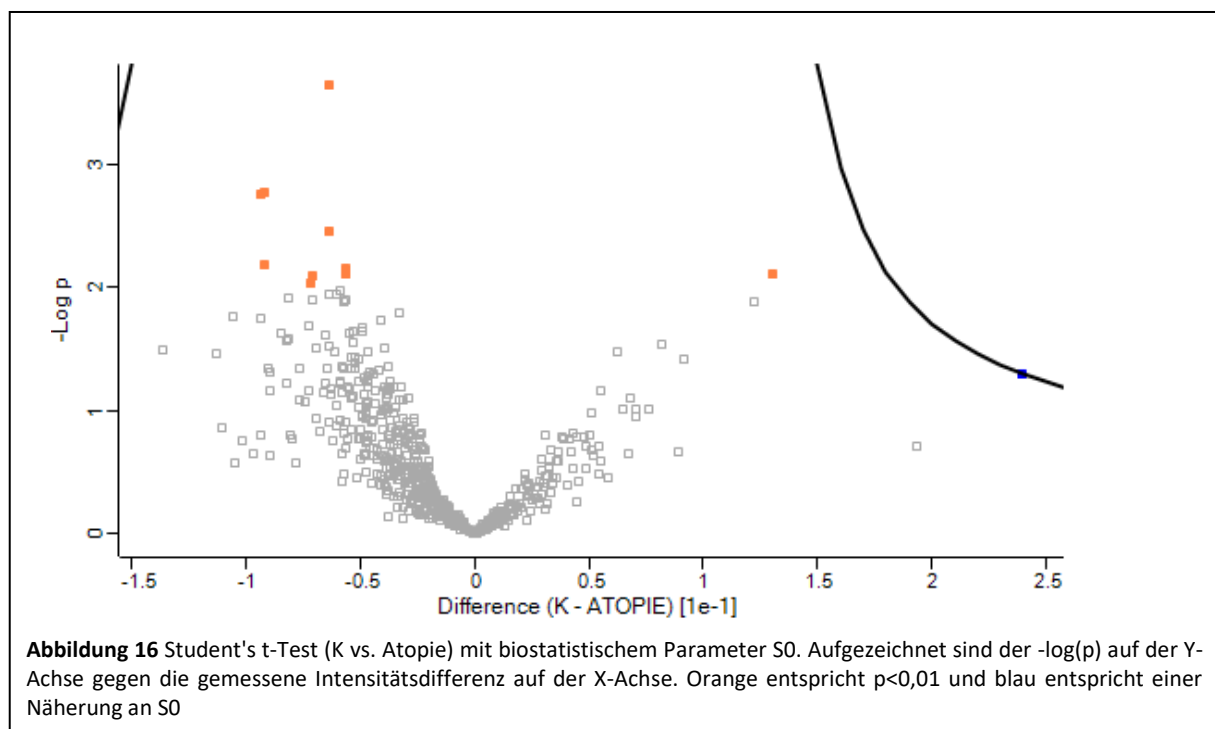
### 4.2.3 Frage II – Vergleich der verschiedenen Untergruppen der Kohorte nach Art der allergischen Erkrankung

Zusätzlich fand eine Aufspaltung der anhand der allergischen Anamnese der Familie erstellten Gruppen in weitere Untergruppen statt. So fanden neben der Art des Allergens auch der potenzielle Entstehungsmechanismus Berücksichtigung. Besonders der Allergietyp I, die Sofortallergie, spielt hier eine entscheidende Rolle. Allergisches Asthma bronchiale, Neurodermitis und Soforttyp-Allergien wie Heuschnupfen oder Insektengiftallergie werden somit in gesonderten Gruppen erfasst.

#### 4.2.3.1 Atopie

Wie bereits bekannt ist, gibt es eine genetische Prädisposition bei der Atopie. In dieser Untersuchung wurde als Atopie gewertet, wenn jemand mindestens zwei Erkrankungen des atopischen Formenkreises (allergische Rhinokonjunktivitis, atopisches Ekzem, Asthma bronchiale) angegeben hatte. 87 Kinder weisen ein Elternteil mit Atopie auf, davon ist bei 55 Kindern die Mutter betroffen.

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe und Kindern der Atopie-Gruppe (unabhängig vom Geschlecht des Elternteils) zeigen sich zehn Proteinfragmente mit einem p-Wert kleiner 0,01. Davon sind neun in der Gruppe mit positiver Anamnese vermehrt nachweisbar, lediglich RPSA zeigt sich in der Kontrollgruppe erhöht. Unter den relevanten Proteinen befindet sich LCP1 mit einem p-Wert von 0,0002 und MSN mit einem P-Wert von 0,0017.

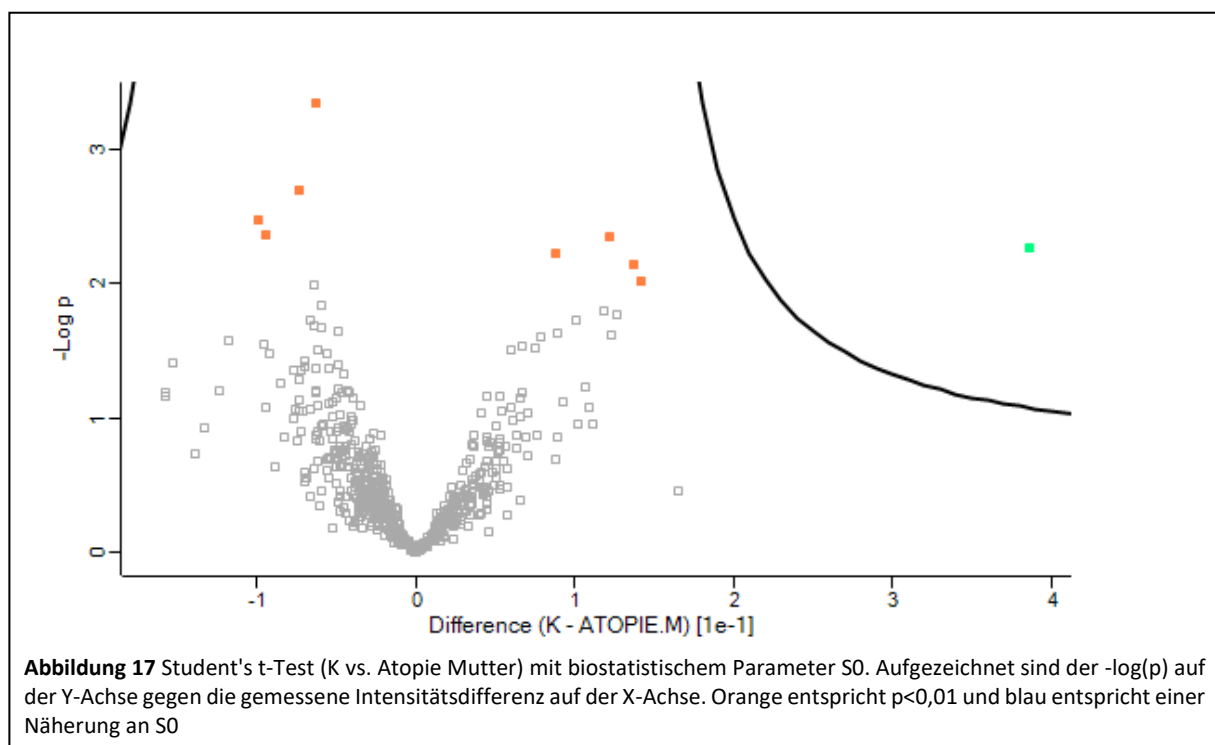




Farbe	Genes Name	-log(p)	q-value	Difference	Protein Description
orange	LCP1	3.6447	0.136	-0.0634	Plastin-2
orange	GSTO1	2.7694	0.552	-0.0918	Glutathione S-transferase omega-1
orange	MSN	2.7568	0.3747	-0.0932	Moesin
orange	EIF2S2	2.4552	0.568	-0.0638	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2
orange	RAP1A	2.1788	0.8176	-0.0917	Ras-related protein Rap-1A
orange	ETF1	2.1608	0.708	-0.0559	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1
orange	PFN1	2.1074	0.6834	-0.0566	Profilin-1
orange	RPSA	2.1037	0.603	0.1307	40S ribosomal protein SA
orange	PSMA4	2.0889	0.5538	-0.0708	Proteasome subunit beta/alpha
orange	CCT5	2.0318	0.5616	-0.0718	T-complex protein 1 subunit epsilon
blau	PTGER3	1.2978	0.5337	0.2393	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 8** Student's t-Test (K vs. Atopie) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 16, Bezeichnung des zugehörigen Gens, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

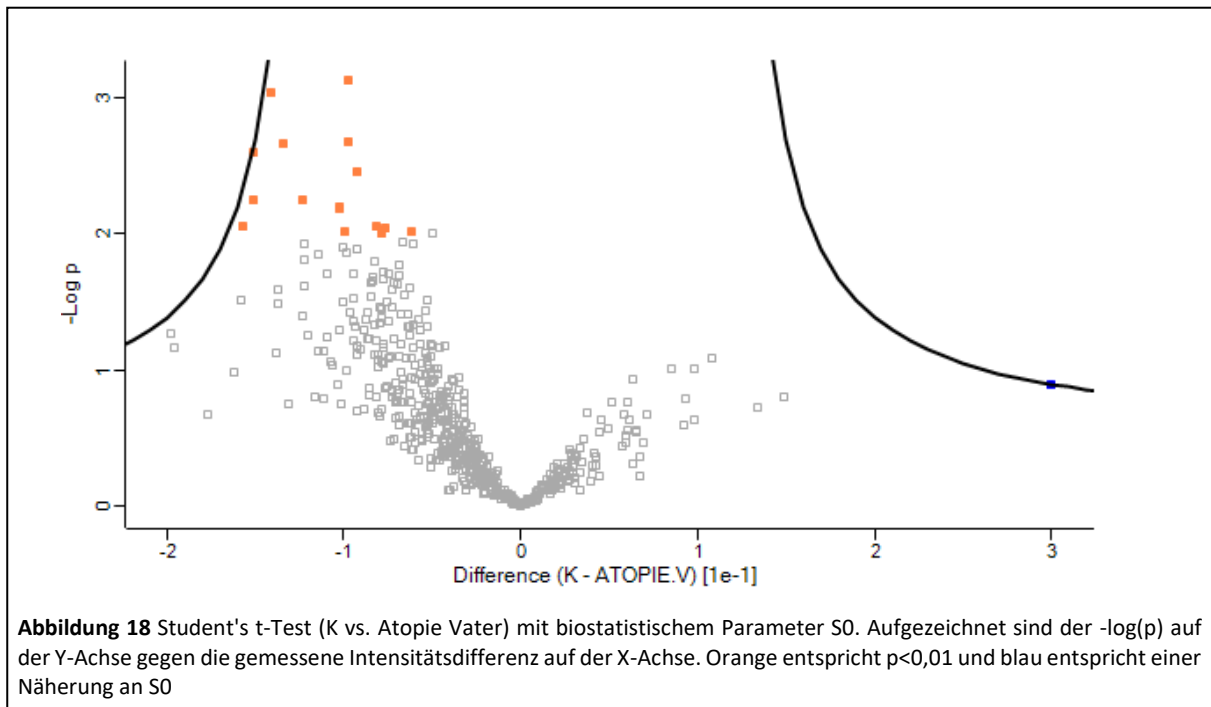
Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern, deren Mutter eine atopische Neigung aufweist (Atopie.M), zeigen sich neun Proteine mit einem p-Wert unter 0,1. Darunter ebenso das Proteinfragment PTGER3, welches unter Berücksichtigung von S0 mit einem p-Wert von 0,0055 und einer Differenz von 0,386 als signifikant einzustufen ist. Die übrigen acht Proteinfragmente sind jeweils zur Hälfte in beiden Gruppen erhöht gemessen worden.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Description
orange	LCP1	3.3427	0.224	-0.063	Plastin-2
orange	PFN1	2.6912	0.588	-0.0734	Profilin-1
orange	MSN	2.4677	0.712	-0.0997	Moesin
orange	GSTO1	2.3579	0.695	-0.0951	Glutathione S-transferase omega-1
orange	PLG	2.3451	0.564	0.122	Plasminogen
grün	PTGER3	2.2616	0.554	0.386	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype
orange	?	2.2281	0.5131	0.0876	highly similar to Complement factor B
orange	IGHV3-7	2.1379	0.5575	0.1375	Immunoglobulin heavy variable 3-7
orange	RPSA	2.0188	0.6507	0.1412	40S ribosomal protein SA

**Tabelle 9** Student's t-Test (K vs. Atopie Mutter) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 17, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben \*keine Bezeichnung vorhanden, da unidentifiziertes Proteinfragment

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern, deren Vater eine atopische Neigung aufweist (Atopie.V), zeigen sich sechzehn Proteinfragmente mit einem p-Wert unter 0,01, wobei alle vermehrt in der Gruppe mit positiver Anamnese nachweisbar sind. Im Gegensatz dazu grenzt PPA1 unter Berücksichtigung des biostatistischen Parameters S0 mit einem p-Wert von 0,1296 und einer Differenz von 0,2297 zugunsten der Kontrollgruppe an die Signifikanz.



Farbe	Genes Name	-log(p)	q-value	Difference	Protein Description
orange	NME2	3.1248	0.592	-0.0972	Nucleoside diphosphate kinase
orange	PABPC1	3.0363	0.366	-0.1412	Isoform 2 of Polyadenylate-binding protein 1
orange	MTHFD1	2.6784	0.5587	-0.0976	C-1-tetrahydrofolate synthase, cytoplasmic
orange	RAP1B	2.6657	0.428	-0.1343	Ras-related protein Rap-1b
orange	NAP1L4	2.5984	0.3992	-0.1514	Nucleosome assembly protein 1-like 4
orange	ENO1	2.4537	0.4533	-0.0927	Alpha-enolase
orange	SRI	2.2451	0.6029	-0.1232	Isoform 3 of Sorcin
orange	DSP	2.2439	0.5275	-0.1514	Desmoplakin
orange	HBM	2.191	0.5307	-0.1027	Hemoglobin subunit mu
orange	WDR1	2.1777	0.488	-0.1026	WD repeat-containing protein 1
orange	CAPNS1	2.0599	0.5767	-0.1572	Calpain small subunit 1
orange	KATNAL2	2.0599	0.5287	-0.0814	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2
orange	ARF3; ARF1	2.0461	0.5025	-0.0771	ADP-ribosylation factor 1
orange	CCT5	2.0164	0.4946	-0.0998	T-complex protein 1 subunit epsilon
orange	PAICS	2.0144	0.4643	-0.0618	Multifunctional protein ADE2
orange	ETF1	2.0021	0.4493	-0.0782	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1
blau	PPA1	0.8874	0.5772	0.2997	Inorganic pyrophosphatase

**Tabelle 20** Student's t-Test (K vs. Atopie Vater) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 18, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

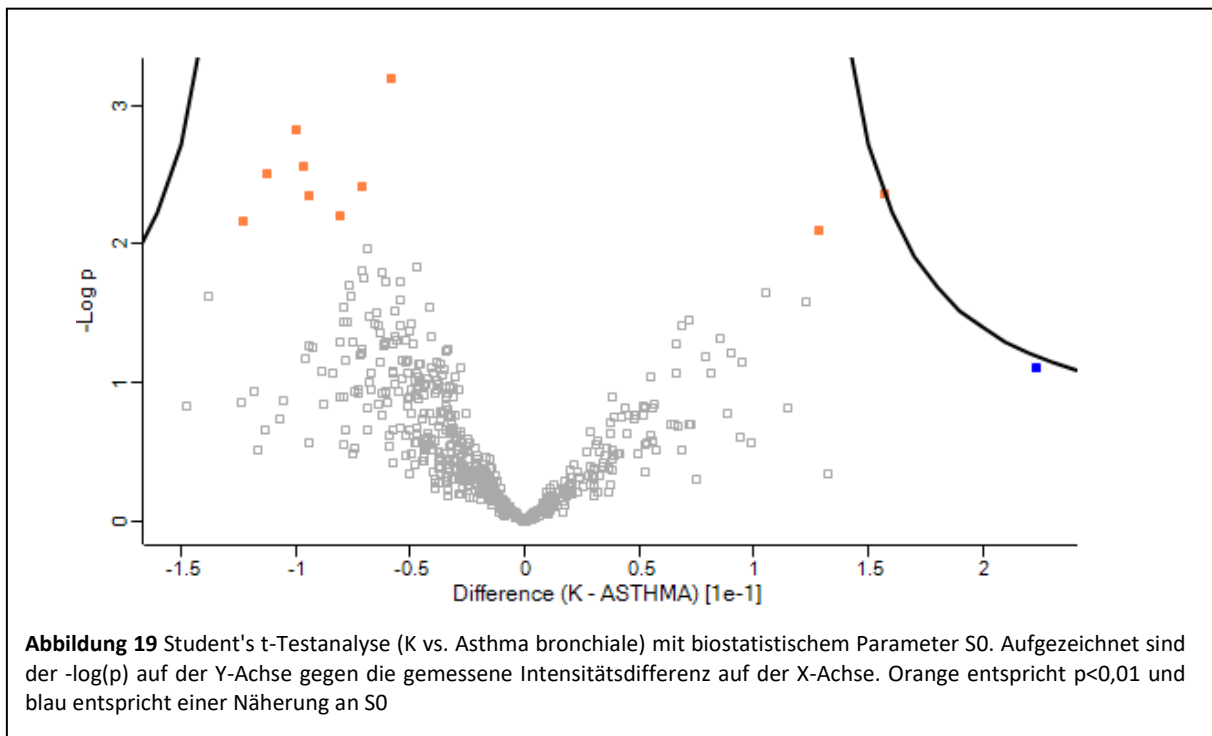
#### 4.2.3.2 Asthma bronchiale

Die Anzahl an Kindern von Eltern mit angegebenem Asthma bronchiale ist insgesamt recht gering, dennoch fand eine Auswertung der Kinder statt.

	ein Elternteil (geschlechterunabhängig)	Mutter	Vater
<b>Asthma bronchiale</b>	64	34	32

**Tabelle 21** Fallzahlen Asthma bronchiale

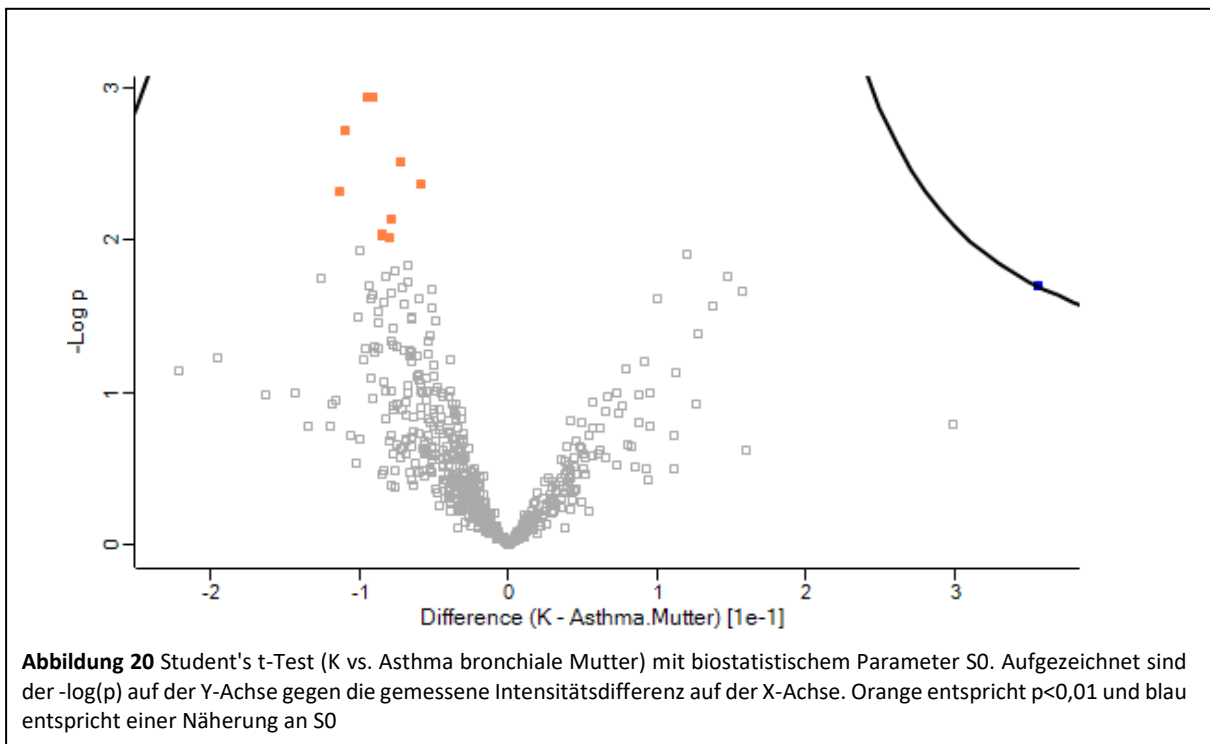
Bei einem Vergleich von der Kontrollgruppe zu Kindern von Eltern mit einer positiven Anamnese bezüglich Asthmas bronchiale (ASTHMA) unabhängig vom Geschlecht zeigen sich elf Proteinfragmente mit einem p-Wert unter 0,001. Hierzu gehören ebenso LCP1 mit einem p-Wert von 0,0006 sowie MSN mit einem p-Wert von 0,0044. Unter Berücksichtigung des biostatistischen Parameters S0 rutscht PTGER3 mit einem p-Wert von 0,077 und einer Differenz von 0,223 nahe an die Signifikanzgrenze zugunsten der Kontrollgruppe. Auch HPX mit einem p-Wert von 0,0043 und einer Differenz von 0,1566 gewinnt damit an Wichtigkeit auf der Seite der Kontrollgruppe.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	LCP1	3.1929	0.336	-0.0583	Plastin-2
orange	CCT5	2.8229	0.386	-0.0999	T-complex protein 1 subunit epsilon
orange	GSTO1	2.5637	0.4827	-0.0964	Glutathione S-transferase omega-1
orange	RAP1A	2.5021	0.409	-0.1120	Ras-related protein Rap-1A
orange	PNP	2.4188	0.3976	-0.0711	Purine nucleoside phosphorylase
orange	HPX	2.3673	0.368	0.1566	Hemopexin
orange	MSN	2.3553	0.3303	-0.0943	Moesin
orange	RUVBL2	2.1983	0.4025	-0.0803	RuvB-like 2
orange	UBAC1	2.1671	0.3871	-0.1225	Ubiquitin-associated domain-containing protein 1
orange	SERPINA7	2.1037	0.414	0.1284	Thyroxine-binding globulin
blau	PTGER3	1.1117	0.6145	0.223	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 22** Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 19, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

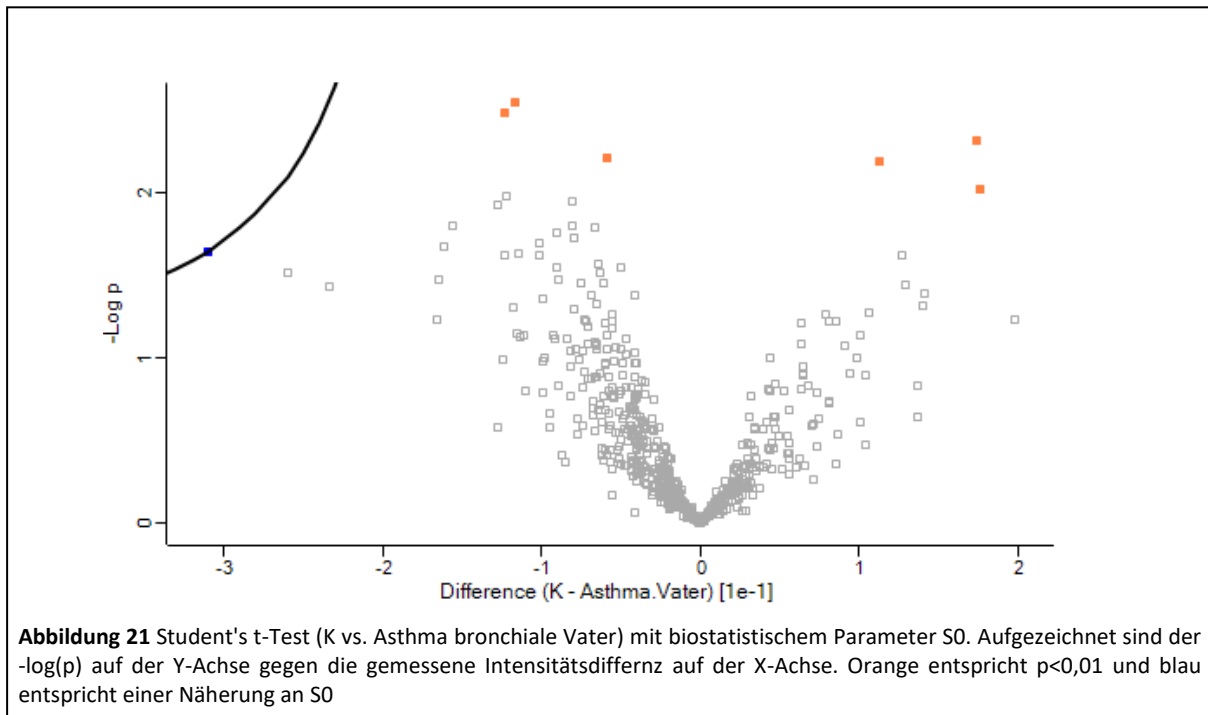
Bei einem Auflösen zu beiden Seiten zeigt sich ein ähnliches Ergebnis. Bei einem Vergleich von der Kontrollgruppe zu Kindern mit positiver Anamnese auf Asthma bronchiale nur der Mutter (Asthma.Mutter) zeigte sich bezüglich LCP1 mit einem p-Wert von 0,0043 ein ähnliches Bild. MSN verschwindet jedoch aus dem interessanten Bereich, wohingegen PFN1 mit einem p-Wert von 0,0012 an Bedeutung gewinnt. PTGER3 rutscht bei S0-Verwendung mit einem p-Wert von 0,02 und einer Differenz von 0,356 ebenfalls wieder an die Signifikanzgrenze.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	TAGLN2	2.9345	0.716	-0.0947	Transgelin-2
orange	PFN1	2.9322	0.358	-0.0913	Profilin-1
orange	PSMD4	2.7112	0.4133	-0.1102	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4
orange	UGP2	2.5123	0.501	-0.0722	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase
orange	LCP1	2.3649	0.5552	-0.0595	Plastin-2
orange	GSTO1	2.3207	0.51	-0.1137	Glutathione S-transferase omega-1
orange	PNP	2.1362	0.6577	-0.0786	Purine nucleoside phosphorylase
orange	AK1	2.0409	0.7085	-0.0847	Adenylate kinase isoenzyme 1
orange	ABHD14B	2.0311	0.6422	-0.0847	Protein ABHD14B
orange	MYL4	2.0119	0.604	-0.0794	Myosin light chain 4 (Fragment)
blau	PTGER3	1.6958	0.6308	0.356	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 23** Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Mutter) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 20, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe zu Kindern mit einer positiven Anamnese des Vaters (Asthma.Vater) zeigt sich ein anderes Ergebnis, wobei LPC1 mit einem p-Wert von 0,006 ebenfalls in der betroffenen Gruppe erhöht ist. Durch die Verwendung von S0 gewinnt HSPA9 mit einem p-Wert von 0,0224 und einer Differenz von -0,395 an Bedeutung, da es sich an der Signifikanzgrenze zeigt.



**Abbildung 21** Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Vater) mit biostatistischem Parameter S0. Aufgezeichnet sind der  $-\log(p)$  auf der Y-Achse gegen die gemessene Intensitätsdifferenz auf der X-Achse. Orange entspricht  $p < 0,01$  und blau entspricht einer Näherung an S0

Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	CCT5	2.5524	1	-0.1165	T-complex protein 1 subunit epsilon
orange	TBCA	2.4937	0.922	-0.1232	Tubulin-specific chaperone A
orange	SERPINA7	2.3202	0.9573	0.1733	Thyroxine-binding globulin
orange	LCP1	2.2188	0.897	-0.0586	Plastin-2
orange	VTN	2.1996	0.7472	0.1131	Vitronectin
orange	HPX	2.0249	0.9253	0.176	Hemopexin
blau	HSPA9	1.6497	0.7951	-0.3095	Stress-70 protein, mitochondrial

**Tabelle 24** Student's t-Test (K vs. Asthma bronchiale Vater) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 21, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

#### 4.2.3.3 Atopisches Ekzem

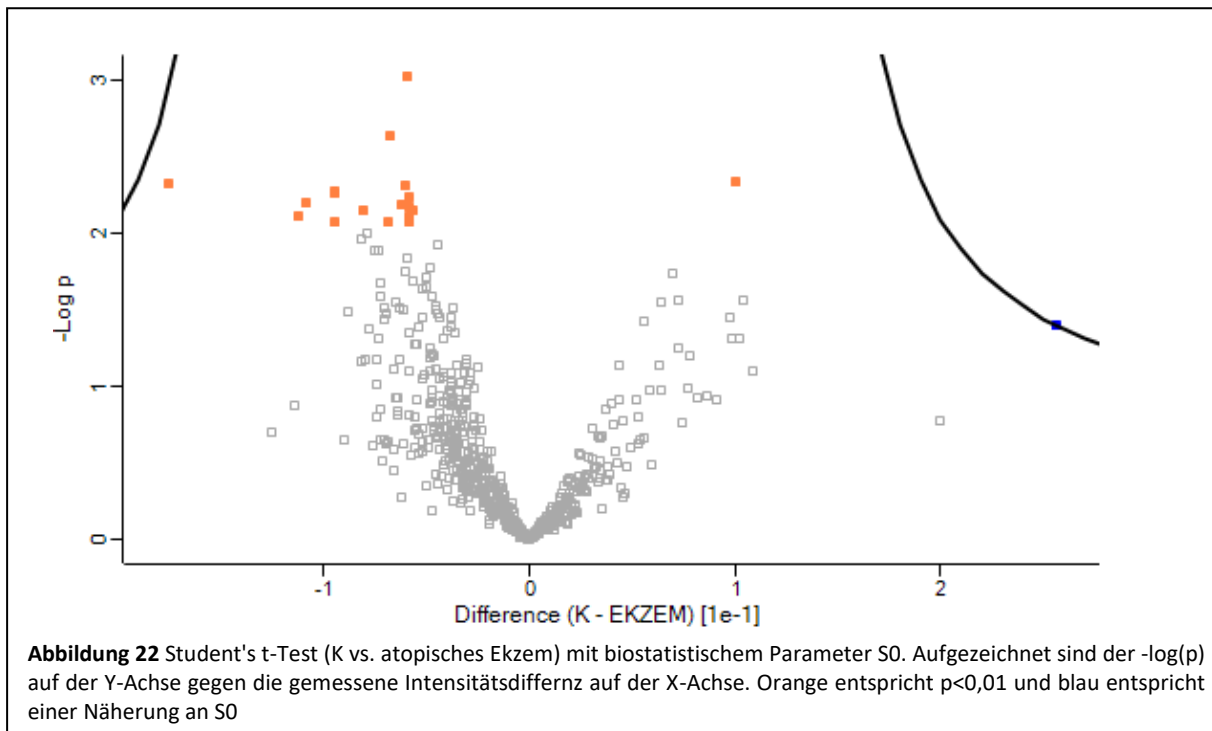
Auch die Anzahl an Kindern, die eine positive Anamnese bezüglich atopischen Ekzems in der Familie aufweisen, halten sich gering.

	ein Elternteil (geschlechterunabhängig)	Mutter	Vater
<b>Atopisches Ekzem</b>	84	57	32

**Tabelle 25** Fallzahlen atopisches Ekzem

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern, die eine beidseitige positive Anamnese auf atopisches Ekzem (Ekzem) zeigten, fallen 18 Proteinfragmente mit einem p-Wert unter 0,01 auf. Darunter sind die schon bekannten Proteine LPC1 mit einem p-Wert von 0,00096, PFN1 mit einem p-Wert von 0,00495 und RAP1B mit einem p-Wert von 0,0053. Unter

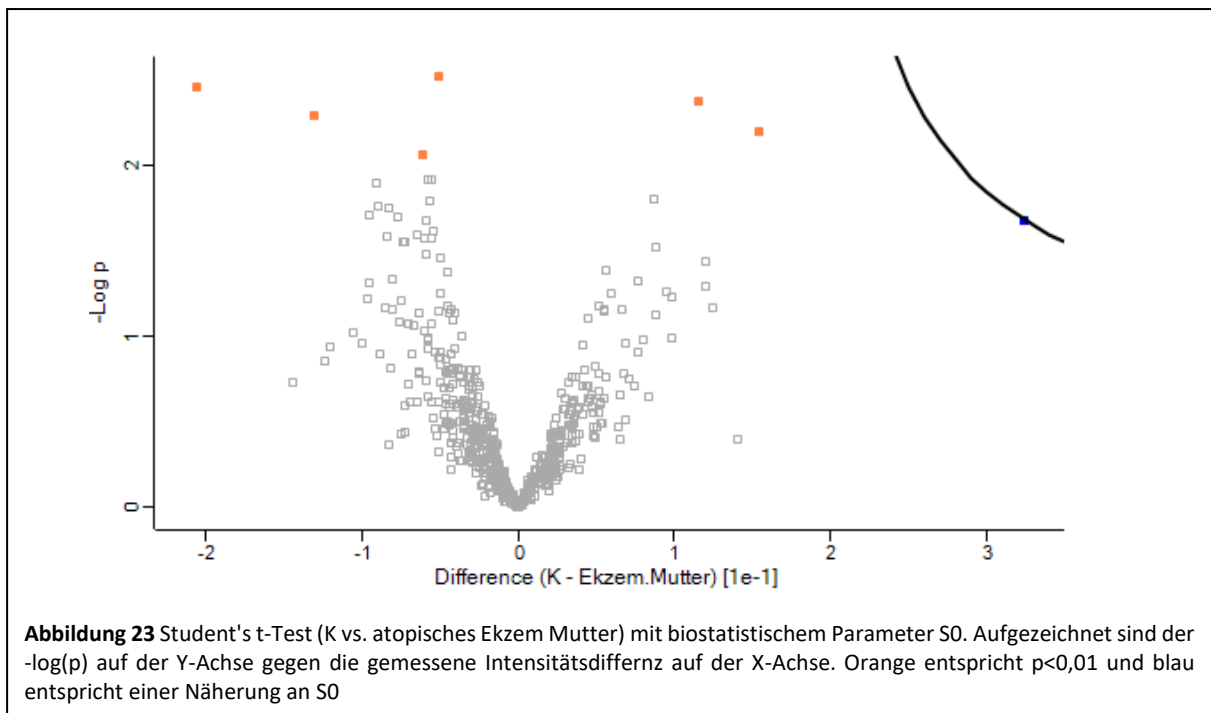
Verwendung des biostatistischen Parameters S0 zeigt sich PTGER3 mit einem p-Wert von 0,04 und einer Differenz von 0,2558 erneut an der Signifikanzgrenze.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Description
orange	LCP1	3.0194	0.6	-0.0588	Plastin-2
orange	PKLR	2.629	0.734	-0.0674	Pyruvate kinase PKLR
orange	PLG	2.3376	0.928	0.1	Plasminogen
orange	DNAJB2	2.3174	0.73	-0.1749	DnaJ homolog subfamily B member 2 (Fragment)
orange	PFN1	2.3051	0.6064	-0.0603	Profilin-1
orange	RAP1B	2.2717	0.5433	-0.0943	Ras-related protein Rap-1b
orange	HSPB1	2.2651	0.4732	-0.0941	Heat shock protein beta-1
orange	TAGLN2	2.2304	0.4445	-0.0582	Transgelin-2
orange	FTL	2.1977	0.4289	-0.1085	Ferritin light chain
orange	ENO1	2.1894	0.3936	-0.0619	Alpha-enolase
orange	PRDX6	2.1775	0.3716	-0.0581	Peroxiredoxin-6
orange	TKT	2.15	0.367	-0.0563	Transketolase
orange	GSTO1	2.1446	0.3428	-0.0808	Glutathione S-transferase omega-1
orange	ITGB3	2.1098	0.3414	-0.1124	Integrin beta-3
orange	EIF2S2	2.1087	0.3205	-0.0581	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2
orange	LTF	2.0745	0.3225	-0.0947	Lactotransferrin (Fragment)
orange	FERMT3	2.0722	0.3052	-0.058	Fermitin family homolog 3
orange	AK1	2.0689	0.2904	-0.0682	Adenylate kinase isoenzyme 1
blau	PTGER3	1.3974	0.4514	0.256	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 26** Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 22, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Auch bei einem Vergleich der Kontrollgruppe zu Kindern mit positiver Anamnese der Mutter zeigt sich LCP1 mit einem p-Wert von 0,003. Bei Verwendung von S0 ist wiederum PTGER3 mit einem P-Wert von 0,021 und einer Differenz von 0,3234 an der Signifikanzgrenze.

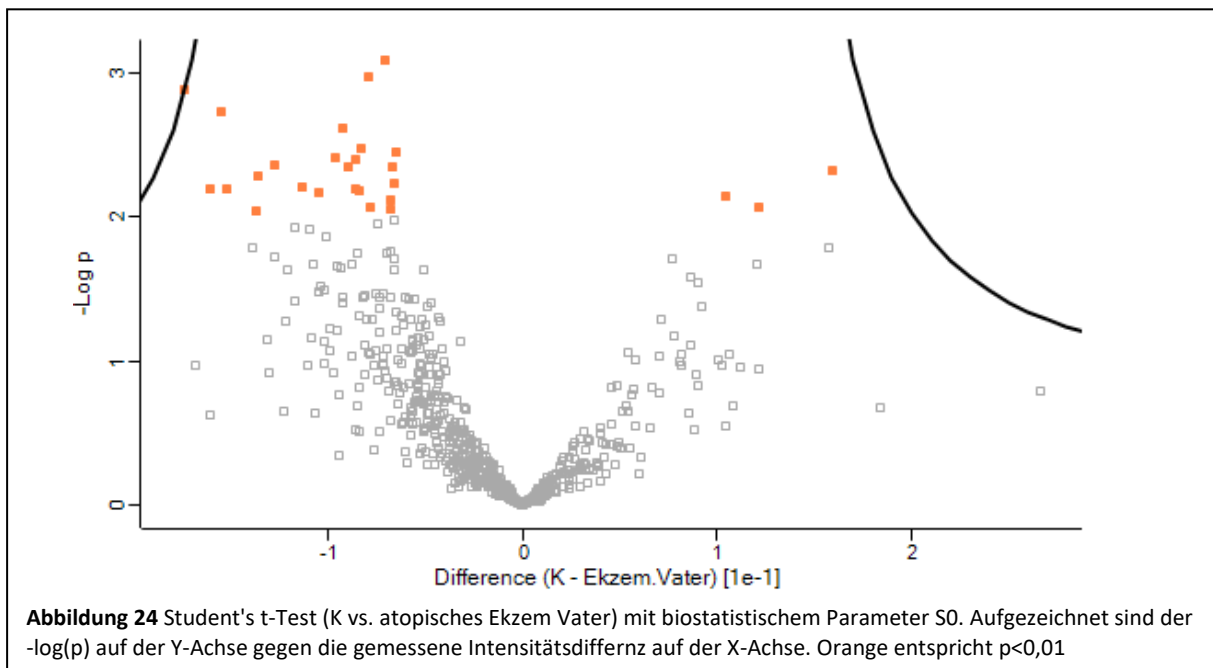


Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Description
orange	LCP1	2.5216	1	-0.0508	Plastin-2
orange	DNAJB2	2.455	0.88	-0.2052	DnaJ homolog subfamily B member 2 (Fragment)
orange	PLG	2.3767	0.696	0.1149	Plasminogen
orange	ITGB3	2.2927	0.652	-0.1309	Integrin beta-3
orange	C4BPA	2.1951	0.68	0.1541	C4b-binding protein alpha chain
orange	PRDX6	2.0654	0.7773	-0.0615	Peroxiredoxin-6
blau	PTGER3	1.6827	0.7058	0.3234	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 27** Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem Mutter) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 23, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Beim Vergleich der Kontrollgruppe zu Kindern mit positiver Anamnese des Vaters (Ekzem.Vater) zeigen sich zwar 27 Proteinfragmente verändert nachweisbar, aber nur RAP1B mit einem p-Wert von 0,0043 und LPC1 mit einem p-Wert von 0,0076 sind Proteine, die in anderen Analysen bereits Bedeutung gezeigt haben. Zusätzlich zeigt sich FTL, nicht nur mit einem p-Wert von 0,0013, sondern bei einer Differenz von -0,1737 bei der Verwendung von S0 auch an der Signifikanzgrenze zugunsten der Gruppe mit positiver Familienanamnese.





Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	ARHGDI1A	3.0917	0.66	-0.071	Rho GDP-dissociation inhibitor 1
orange	HSP90AA1	2.9784	0.412	-0.0789	Heat shock protein HSP 90-alpha
orange	FTL	2.8863	0.34	-0.1737	Ferritin light chain
orange	NAP1L4	2.735	0.352	-0.1553	Isoform 2 of Nucleosome assembly protein 1-like 4
orange	ETF1	2.6237	0.3632	-0.0929	Isoform 2 of Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1
orange	PFDN2	2.4778	0.424	-0.083	Prefoldin subunit 2
orange	PIP4K2A	2.4517	0.3817	-0.0655	Phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase type-2 alpha
orange	PSMD6	2.418	0.355	-0.096	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6
orange	PSMA3	2.4045	0.3267	-0.0858	Proteasome subunit alpha type-3
orange	RAP1B	2.3666	0.3196	-0.1274	Ras-related protein Rap-1b
orange	PKLR	2.3541	0.2975	-0.0898	Pyruvate kinase PKLR
orange	PAICS	2.3462	0.2777	-0.067	Multifunctional protein ADE2
orange	RAD23A	2.3218	0.2695	0.1594	Isoform 3 of UV excision repair protein RAD23 homolog A
orange	AHCY	2.2911	0.2709	-0.1363	Adenosylhomocysteinase
orange	DDI2	2.2369	0.2864	-0.0664	Protein DDI1 homolog 2
orange	ARG1	2.2057	0.2883	-0.1133	Arginase-1
orange	DSP	2.2006	0.2732	-0.1518	Desmoplakin
orange	MPST	2.198	0.2589	-0.1604	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase
orange	ENO1	2.1921	0.2474	-0.0859	Alpha-enolase
orange	EIF2S2	2.1904	0.2358	-0.0842	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2
orange	CORO1A	2.1778	0.2305	-0.1049	Coronin-1A
orange	PSMB2	2.1531	0.2331	0.1048	Proteasome subunit beta type-2
orange	LCP1	2.118	0.2402	-0.0675	Plastin-2
orange	GCLC	2.0754	0.2563	-0.0779	Glutamate--cysteine ligase catalytic subunit
orange	PLG	2.073	0.2466	0.1216	Plasminogen
orange	SPTA1	2.0556	0.2477	-0.0676	Spectrin alpha chain, erythrocytic 1
orange	AGO2	2.0387	0.2476	-0.1367	Protein argonaute-2

**Tabelle 28** Student's t-Test (K vs. atopisches Ekzem Vater) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 24, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

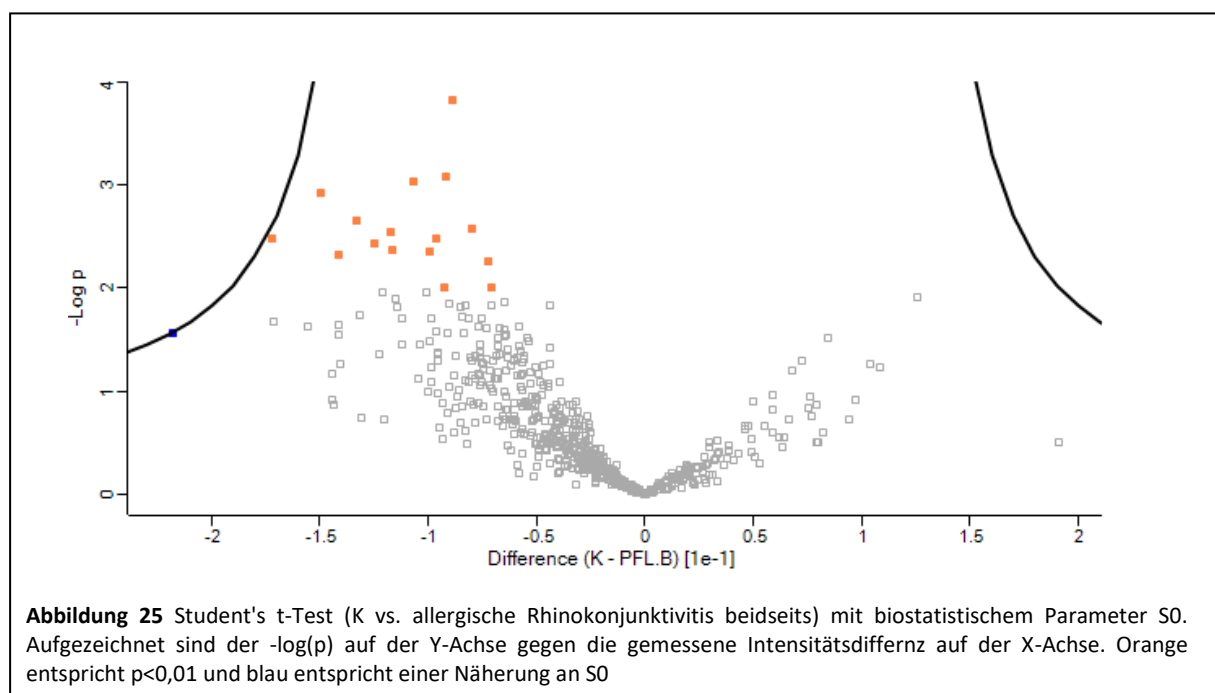
#### 4.2.3.4 Allergische Rhinokonjunktivitis

Etwas mehr als ein Drittel der Kinder weist mindestens ein Elternteil mit einer allergischen Rhinokonjunktivitis auf. Durch die hohe Prävalenz von allergischer Rhinokonjunktivitis haben immerhin 40 Individuen eine positive Anamnese beider Eltern. Dies entspricht etwa 9% der Gesamtkohorte.

	Beide Elternteile	Mutter	Vater
<b>Allergische Rhinokonjunktivitis</b>	40	119	134

**Tabelle 29** Fallzahlen allergische Rhinokonjunktivitis

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern einer beidseitigen positiven Anamnese auf allergische Rhinokonjunktivitis (PFL.B) zeigen sich 16 Proteinfragmente mit einem p-Wert kleiner 0,01. Dazu zählen LCP1, TAGLN2, NAPRT, YAWHAZ, RAP1B, MSN und PFN1, die sich auch in anderen Auswertungen finden lassen. Unter Verwendung des biostatistischen Parameters S0 gewinnt CTSG an Bedeutung, das mit einem p-Wert von 0,027 und einer gemessenen Differenz von -0,1277 an der Signifikanzgrenze zugunsten der Kinder mit positiver Familienanamnese liegt.

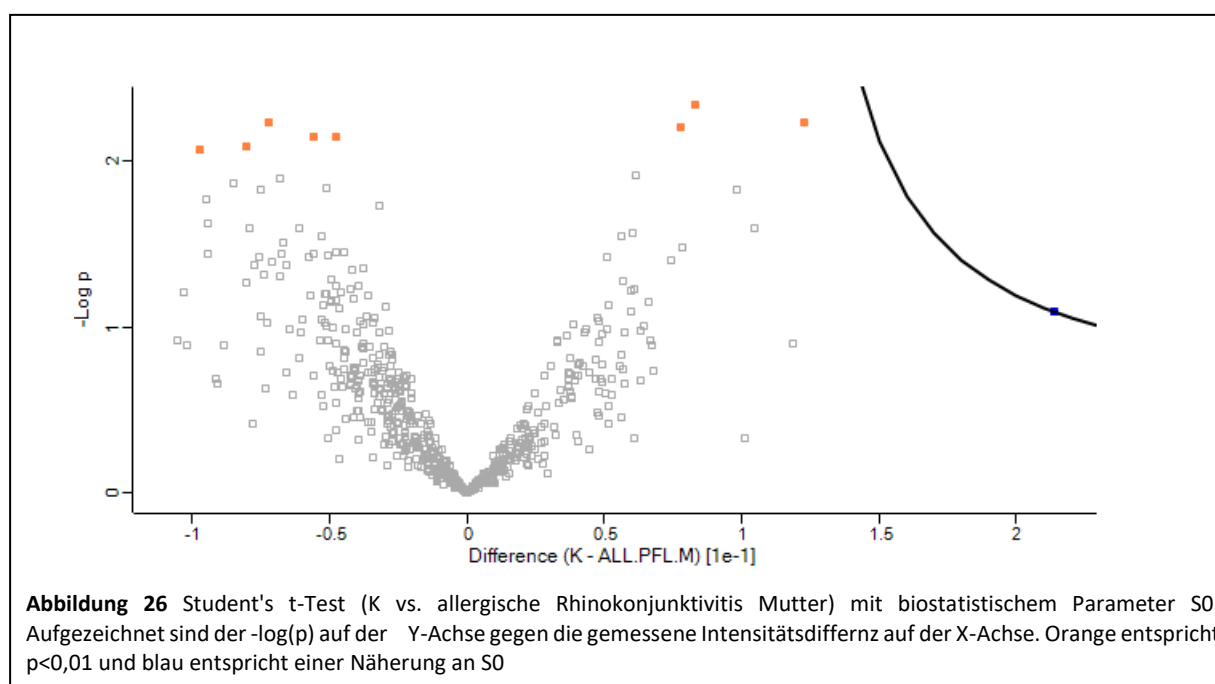


Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	LCP1	3.8236	0.1	-0.0885	Plastin-2
orange	TAGLN2	3.0747	0.326	-0.0917	Transgelin-2
orange	GOT1	3.0377	0.2413	-0.1069	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic
orange	TUBB1	2.9181	0.242	-0.1496	Tubulin beta-1 chain

orange	NAPRT	2.6602	0.3368	-0.133	Nicotinate phosphoribosyltransferase
orange	YWHAZ	2.5727	0.34	-0.08	14-3-3 protein zeta/delta
orange	RAP1B	2.5411	0.3114	-0.1176	Ras-related protein Rap-1b
orange	ITGB3	2.4864	0.3105	-0.1719	Integrin beta-3
orange	LTA4H	2.4739	0.2853	-0.0966	Leukotriene A-4 hydrolase
orange	PFKP	2.4332	0.2816	-0.1251	ATP-dependent 6-phosphofructokinase, platelet type
orange	MSN	2.3712	0.3033	-0.1168	Moesin
orange	SERPINB1	2.3549	0.2903	-0.0992	Leukocyte elastase inhibitor
orange	EPX	2.3284	0.2855	-0.1413	Eosinophil peroxidase
orange	PFN1	2.2656	0.3066	-0.0726	Profilin-1
orange	UBE2O	2.006	0.5016	-0.0711	(E3-independent) E2 ubiquitin-conjugating enzyme
orange	TNPO1	2.0026	0.4745	-0.0928	Transportin-1
blau	CTSG	1.5715	0.4584	-0.2177	Cathepsin G

**Tabelle 30** Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis beidseits) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 25, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Beim Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern, deren Mütter eine allergische Rhinokonjunktivitis aufweisen (PFL.M), zeigen sich acht Proteinfragmente mit einem p-Wert von unter 0,01. RAP1B ist hierbei mit einem p-Wert von 0,0082 auffällig. Bei Verwendung des biostatistischen Parameters S0 zeigt sich PTGER3 in diesem Vergleich mit einem p-Wert von 0,081 und einer Differenz von -0,2135 auch hier zu Gunsten der Kontrollgruppe erhöht.

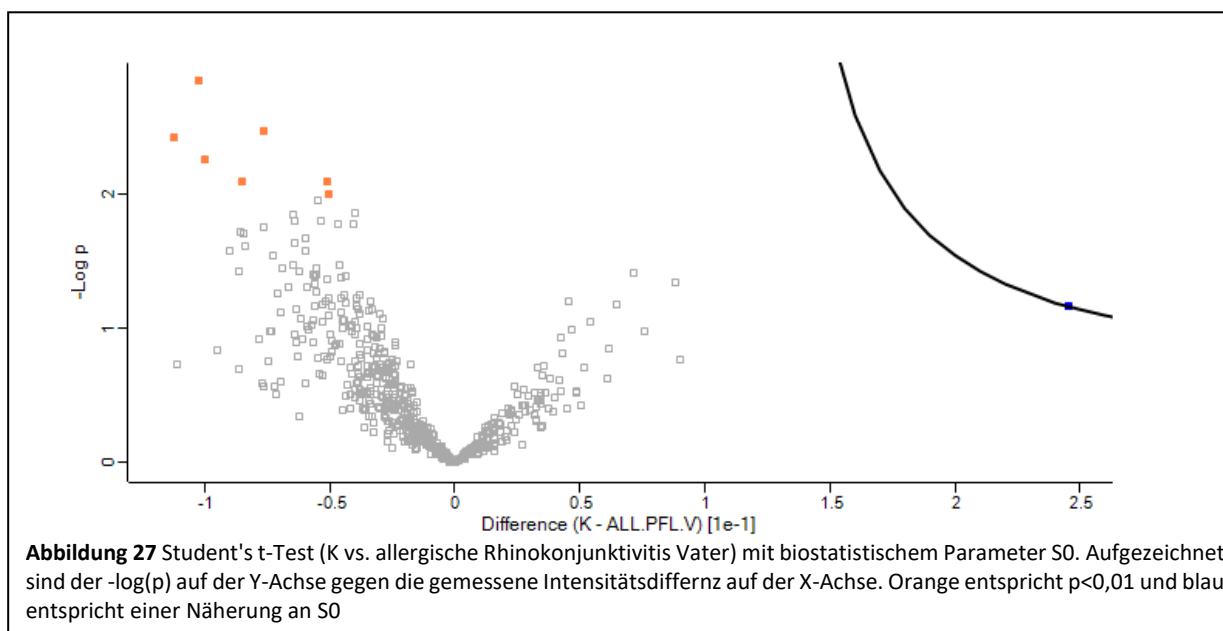


Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	VTN	2.3385	1	-0.0832	Vitronectin
orange	HPX	2.235	1	-0.1226	Hemopexin
orange	CCT5	2.2326	1	0.0724	T-complex protein 1 subunit epsilon
orange	TTR	2.2027	0.98	-0.0776	Transthyretin

orange	LCP1	2.1457	0.8992	0.0478	Plastin-2
orange	EIF2S2	2.143	0.7507	0.0556	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2
orange	RAP1B	2.0889	0.7337	0.0806	Ras-related protein Rap-1b
orange	TPT1	2.0702	0.67	0.0971	Translationally-controlled tumor protein
blau	PTGER3	1.0928	0.7524	0.2135	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 31** Student's t-Test (K vs. allergische Rhinokonjunktivitis Mutter) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 26, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe zu Kindern, deren Väter an allergischer Rhinokonjunktivitis leiden, zeigen sich ebenfalls zehn Proteinfragmente mit einem p-Wert unter 0,01. Dabei sind erneut NAPRT, RAP1B, PFN1, MSN und ANXA7 vertreten. Unter Berücksichtigung des biostatistischen Parameters S0 gewinnt in diesem Vergleich PPA1 an Bedeutung. Mit einem p-Wert von 0,118 und einer Differenz von 0,2007 ist dieses zu Gunsten erhöht.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	NAPRT	2.8519	0.676	-0.1024	Nicotinate phosphoribosyltransferase
orange	NPEPPS	2.4778	0.898	-0.0763	Puromycin-sensitive aminopeptidase
orange	CAPZA2	2.4257	0.7093	-0.1123	F-actin-capping protein subunit alpha-2
orange	EPX	2.2684	0.768	-0.0996	Eosinophil peroxidase
orange	PFN1	2.1004	0.908	-0.0508	Profilin-1
orange	RAP1B	2.0992	0.7573	-0.0848	Ras-related protein Rap-1b
orange	TAGLN2	2.0004	0.8291	-0.0504	Transgelin-2
blau	PPA1	1.1664	0.7378	0.2455	Inorganic pyrophosphatase

**Tabelle 32** Student's t-Test (K vs. Allergische Rhinokonjunktivitis Vater) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 27, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

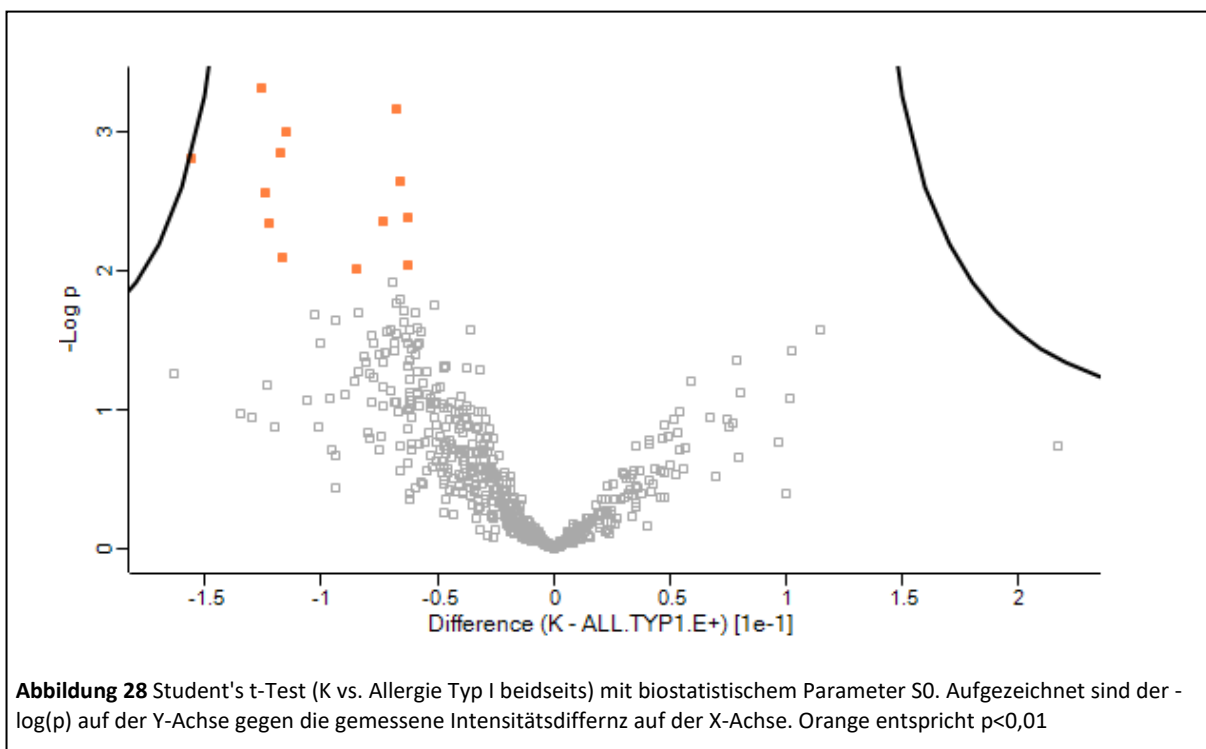
### 4.2.3.5 Allergie Typ I

Unter dem Begriff Allergie Typ I sind im Folgenden die Erkrankungen Asthma bronchiale, atopisches Ekzem und allergische Rhinokonjunktivitis zusammengefasst, da durch die Annahme, dass diesen drei Krankheitskomplexen der atopischen Erkrankungen ein stark ähnlicher Pathomechanismus zugrunde liegt, sich dies entsprechend auch in der Proteinausprägung im Blut zeigen könnte. So wurden die Kinder in diese Gruppe eingeteilt, sobald eine der drei Erkrankungen in der Anamnese der Eltern vorhanden war.

	Beide Elternteile	Mutter	Vater
<b>Allergie Typ I *</b>	66	177	169

**Tabelle 33** Fallzahlen Allergie Typ I \*Asthma bronchiale/atopische Dermatitis/allergische Rhinokonjunktivitis

Bei einem Vergleich von Kindern der Gruppe Allergie Typ I (All.Typ1.E+) zur Kontrollgruppe zeigen sich zwölf Proteinfragmente mit einem p-Wert kleiner 0,01. PFN1 grenzt mit einem p-Wert von 0,0042 und einer Differenz von -0,0631 unter Verwendung des biostatistischen Parameters S0 zugunsten der Kinder mit positiver Anamnese an der Signifikanzgrenze.

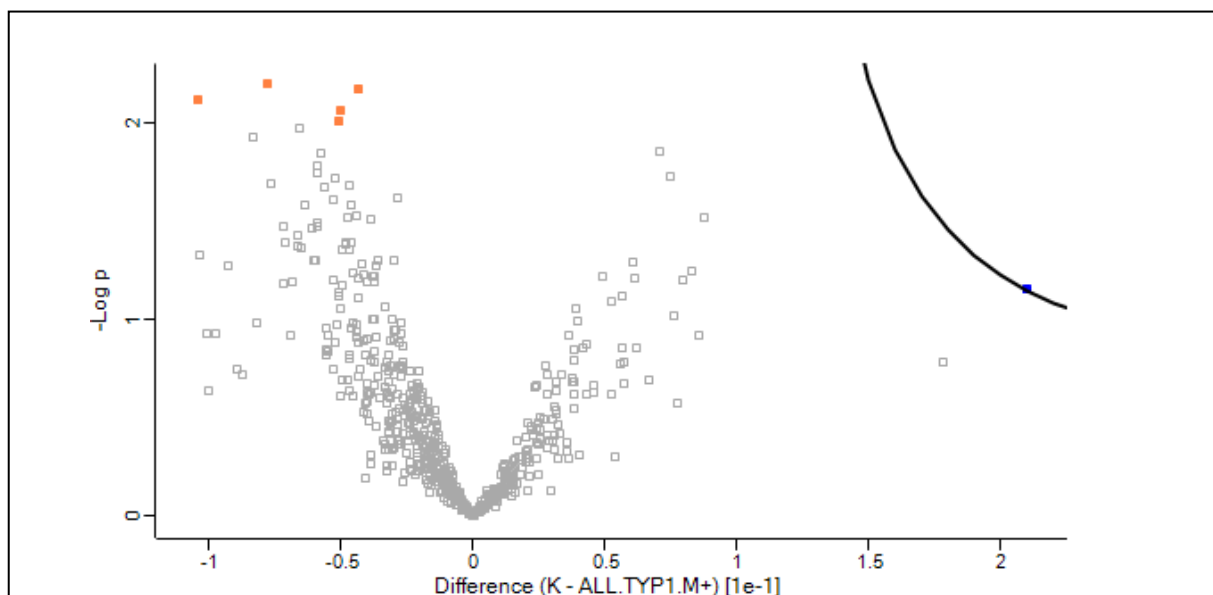


Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	RAP1B	3.3107	0.276	-0.1254	Ras-related protein Rap-1b
orange	LCP1	3.1584	0.184	-0.0677	Plastin-2
orange	MSN	2.9935	0.1747	-0.1151	Moesin
orange	NAPRT	2.8514	0.178	-0.1175	Nicotinate phosphoribosyltransferase

orange	ITGB3	2.8039	0.1528	-0.1562	Integrin beta-3
orange	YWHAZ	2.6396	0.2053	-0.066	14-3-3 protein zeta/delta
orange	TUBB1	2.563	0.2086	-0.124	Tubulin beta-1 chain
orange	PFN1	2.3778	0.2875	-0.0631	Profilin-1
orange	ANXA7	2.355	0.2707	-0.0732	Annexin A7
orange	EPX	2.3428	0.25	-0.1222	Eosinophil peroxidase
orange	HIST1H2B*	2.1	0.4015	-0.1166	Histone H2B type
orange	TAGLN2	2.0371	0.434	-0.0629	Transgelin-2
orange	HIST1H1B	2.007	0.432	-0.0846	Histone H1.5

**Tabelle 34** Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I beidseits) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 28, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Auch ein Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern, deren Mütter an einer der drei Erkrankungen des atopischen Formenkreises leiden (All.Typ1.M+), zeigt ähnliche Ergebnisse. Besonders RAP1B, LPC1, PFN1, NAPRT und PTGER3 stechen hier mit Blick auf die anderen Analysen ins Auge.

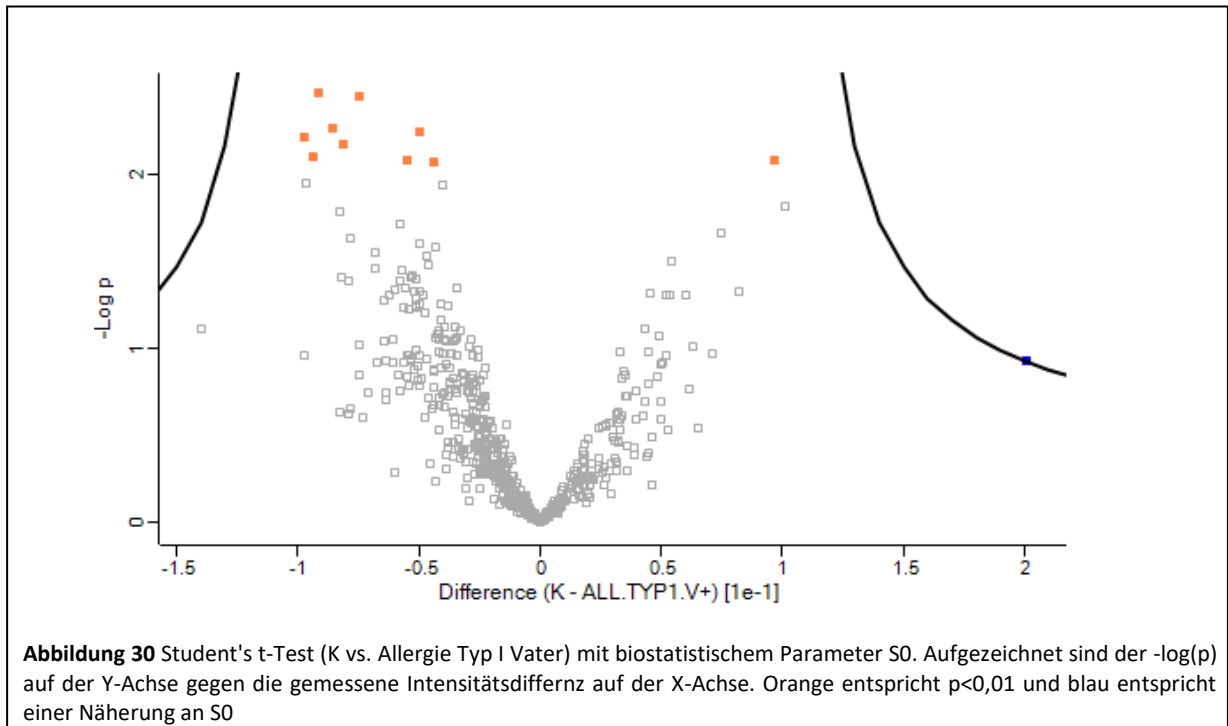


**Abbildung 29** Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Mutter) mit biostatistischem Parameter S0. Aufgezeichnet sind der  $-\log(p)$  auf der Y-Achse gegen die gemessene Intensitätsdifferenz auf der X-Achse. Orange entspricht  $p < 0,01$  und blau entspricht einer Näherung an S0

Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	RAP1B	2.2037	1	-0.0782	Ras-related protein Rap-1b
orange	LCP1	2.1811	1	-0.0431	Plastin-2
orange	ITGB3	2.1264	1	-0.1041	Integrin beta-3
orange	PFN1	2.0698	1	-0.0501	Profilin-1
orange	TAGLN2	2.0146	1	-0.0508	Transgelin-2
blau	PTGER3	1.1521	0.7385	0.2098	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype

**Tabelle 35** Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Mutter) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 29, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

Bei einem Vergleich der Kontrollgruppe mit Kindern, deren Väter eine der drei Erkrankungen aufweisen (All.Typ1.V+), kommt neben RAP1B, PFN1, NAPRT auch TAGLN2 auf einen p-Wert unter 0,01. Unter Verwendung des biostatistischen Parameters S0 liegt auch hier PPA1 zugunsten der Kontrollgruppe mit einem p-Wert von 0,0681 und einer Differenz von 0,2445 im interessanten Bereich.



Farbe	Genes Name	$-\log(p)$	q-value	Difference	Protein Descriptions
orange	NAPRT	2.8519	0.676	-0.1024	Nicotinate phosphoribosyltransferase
orange	NPEPPS	2.4778	0.898	-0.0763	Puromycin-sensitive aminopeptidase
orange	CAPZA2	2.4257	0.7093	-0.1123	F-actin-capping protein subunit alpha-2
orange	EPX	2.2684	0.768	-0.0996	Eosinophil peroxidase
orange	PFN1	2.1004	0.908	-0.0508	Profilin-1
orange	RAP1B	2.0992	0.7573	-0.0848	Ras-related protein Rap-1b
orange	TAGLN2	2.0004	0.8291	-0.0504	Transgelin-2
blau	PPA1	1.1664	0.7378	0.2455	Inorganic pyrophosphatase

**Tabelle 36** Student's t-Test (K vs. Allergie Typ I Vater) mit farblicher Zugehörigkeit zu Abbildung 30, Bezeichnung des zugehörigen Genes, zugehörigem p- sowie q-Wert und einer Kurzbeschreibung der Proteinaufgaben

## 5 Diskussion

### 5.1 Frage I

*Gibt es zum Zeitpunkt der Geburt einen messbaren Unterschied im Proteinprofil von reifen Neugeborenen ohne eine anamnestisch erfasste allergische Prädisposition gegenüber reifen Neugeborenen mit anamnestisch allergischer Prädisposition in Abhängigkeit von der in der Familie vorerkrankten Personen?*

Die gemessenen Proteinniveaus variieren je nach Verwandtschaftsgrad der Person, die in der Anamnese eine allergische Erkrankung aufweist. Obwohl AM die größte Teilnehmerzahl beinhaltet, ist der gemessene Unterschied in AE am deutlichsten. Dies erscheint schlüssig, da statistisch die Wahrscheinlichkeit, eine genetische Prädisposition geerbt zu haben, bei beidseitig positiver Anamnese am höchsten ist. So ist in dieser Gruppe auch am ehesten von einem Einfluss auf das Proteom auszugehen.

Besonders die in der Vergangenheit bereits mit allergischen Erkrankungen in Zusammenhang gebrachten Proteine erwecken dabei die Aufmerksamkeit.

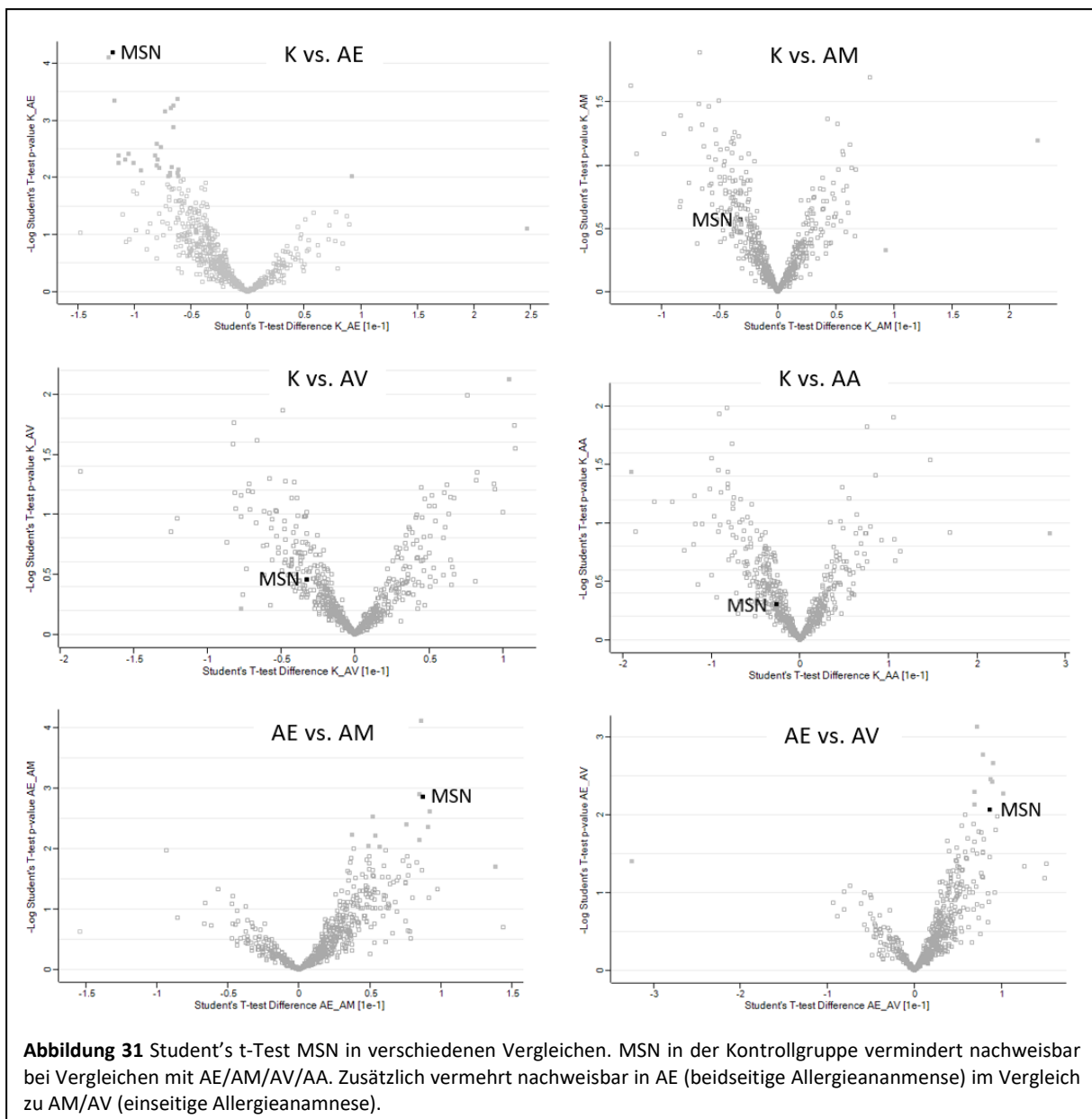
Der Genlokus **MSN** kodiert für das Protein **Moesin**. Es gehört zur Familie der Ezrin-Radixin-Moesin (ERM) gebundenen Proteine und verlinkt das Zytoskelett, indem es Aktin an die Plasmamembran bindet. In phosphorylierungsabhängigen Aktivierungsphasen interagiert Moesin mit seinem C-terminalen Ende mit F-Actin, sodass eine reversible Bindung stattfindet. Dieses wird für die Zellform und -migration, Signaltransduktion und den Membrantransport benötigt [60]. Die Proteine der ERM-Familie werden in einer Vielzahl von menschlichen Zellen ausgebildet, wobei Moesin in den Lymphozyten am häufigsten vertreten ist (Coexpression mit Radixin) [61].

Bisher konnte gezeigt werden, dass Moesin eine entscheidende Rolle der immunologischen Achse einnimmt. Es ist maßgeblich an der immunologischen Antwort von T- und B-Zellen beteiligt, trägt zum Erhalt der Toleranz bei und ist an der Freisetzung von Immunzellen aus lymphozytärem Gewebe beteiligt. Eine besondere Rolle spielt es auch in der Zellpolarität und Fortbewegung von T-Lymphozyten, indem es das Ende des Zellgerüsts (engl. „Uropod“) an der Zellmembran befestigt. Dieses wird unter anderem durch Zytokine induziert und sorgt bei Aktivierung der Lymphozyten für eine Ausbildung der Zellpolarisation [62, 63].

Moesin, besonders in seiner O-glykosylierten Form als O-Moesin, spielt eine direkte Rolle bei der Aktivierung von CD8+ und CD4+ T-Zellen, unabhängig von der Interaktion mit MHC-Molekülen [64]. Durch diesen Mechanismus ist Moesin offenbar grundlegend für die korrekte Funktionsweise der immunologischen Synapse [65].



In den vorliegenden Daten zeigt sich eine signifikante Zunahme von MSN in AE im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei AM und AV gegenüber der Kontrollgruppe ist dieser Anstieg eher nur als Tendenz zu erkennen. Zwischen AM und AV selbst gibt es keinen signifikanten Unterschied. Vergleicht man jedoch die Gruppen mit beidseitig positiver zu einseitig positiver Allergianamnese, so zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen AE und AM sowie AE zu AV ( $p < 0,01$ ). Bei einer beidseitig positiven Allergianamnese ist der Einfluss auf das Proteom also deutlicher.



Es lässt sich vermuten, dass eine positive allergische Anamnese mit einer Erhöhung von Moesin im Blut korreliert. Beispielsweise könnte eine Kommunikation der immunologisch beteiligten Zellen bei der Allergenexposition stabilisiert werden und dies eine Sensibilisierung durch Zellaktivierung ermöglichen, was das Auftreten einer allergischen Erkrankung begünstigen würde.

Zu bedenken ist hierbei, dass Moesin als einziger Vertreter der ERM-Familie in Thrombozyten nachgewiesen wurde [61]. Da in der vorliegenden Studie Vollblut auf Trockenkarten als Material verwendet wurde, lässt sich nicht ausschließen, dass durch dieses Verfahren eine Verzerrung der Ergebnisse stattgefunden hat. Gleichzeitig ist jedoch die Rolle von Thrombozyten in der Allergogenese Gegenstand aktueller Forschung. Bei allergischen Erkrankungen kann durch den erhöhten Verbrauch und die erhöhte Aktivierung von Thrombozyten sogar eine passagere Thrombozytopenie bestehen [66]. Eine vermehrte Messbarkeit von MSN könnte deshalb auch durch den gesteigerten Turnover bedingt sein und damit eine potenzielle Funktion als Biomarker der allergischen Aktivität haben.

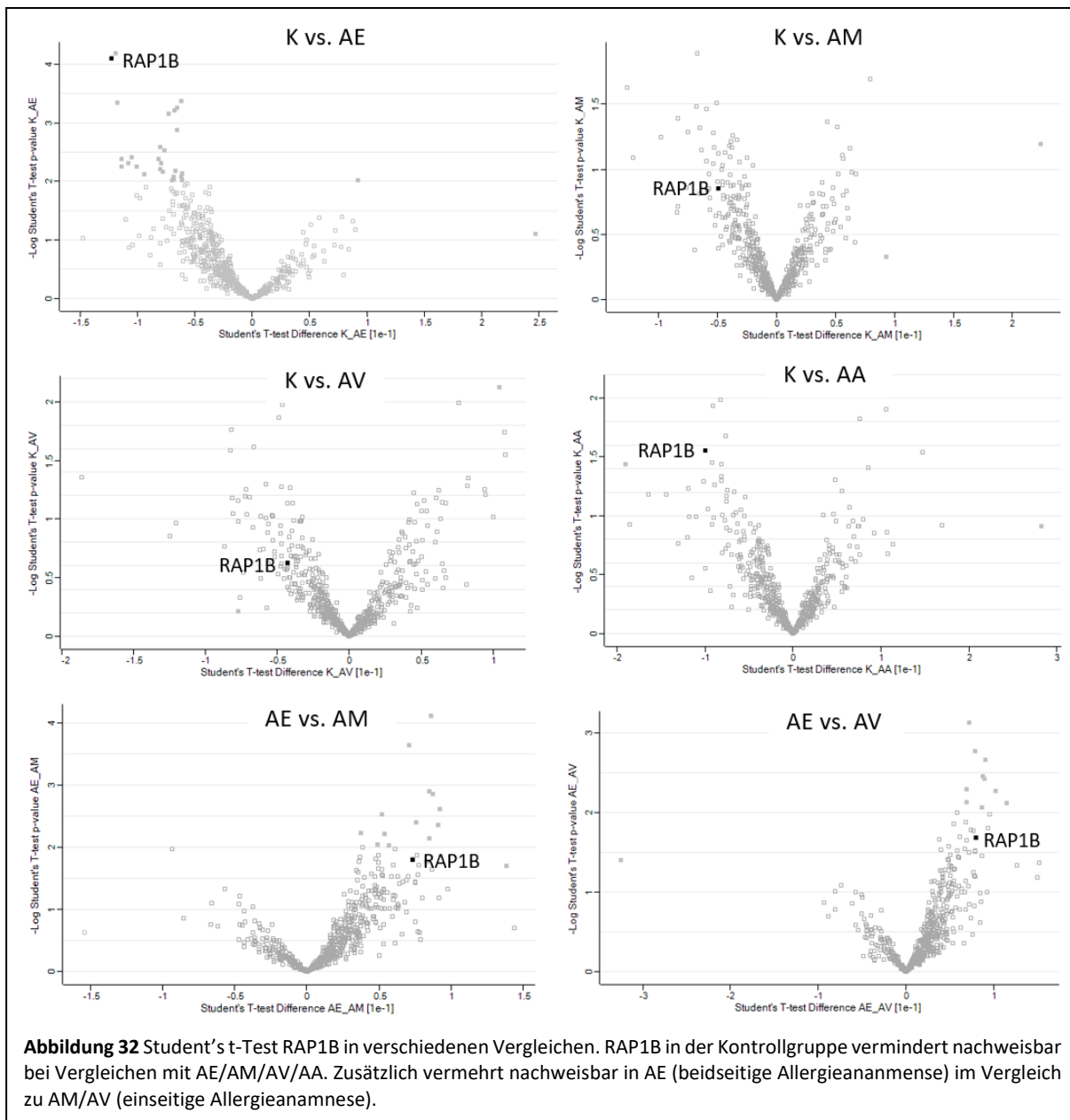
Der Genlokus **RAP1B** kodiert für das **Ras-gebundene Protein Rap1B**, was in verschiedenen Teilen der menschlichen Zelle benötigt wird. Es zählt zu den GTP bindenden Proteinen und enthält eine intrinsische GTPase. Dies spielt unter anderem eine Rolle in der Signaltransduktion, der Ausbildung und Erhaltung der Zellpolarität und der endothelialen Barrierefunktion [67].

So ist RAP1B ein wichtiger Regulator der Immunantwort, indem es maßgeblich die Adhäsion von Immunzellen reguliert. RAP1B ist verantwortlich für die Funktion von Integrinen auf der Zelloberfläche, welche die Interaktion der zu migrierenden Zellen und den Endothelzellen regelt [68, 69]. Obwohl dieser keinen direkten Einfluss auf die Reifung von Immunzellen hat – weder T-Lymphozyten noch B-Lymphozyten im Knochenmark – unterstreicht dieser Mechanismus die zentrale Rolle im Immunsystem. Interessanterweise zeigen RAP1-Knock-Out-Mäusen eine erhöhte Migration von Neutrophilen, was kontraintuitiv erscheint. Bei diesen Mäusen ist der Anteil peripherer T- und B-Zellen sowie die T-Zell abhängige Immunantwort reduziert [70]. RAP1B scheint über sein Effektorprotein RIAM die Integrine zu regulieren und damit nicht nur die Zellmigration insgesamt, sondern auch je nach Zelltyp spezifische, innerhalb der lymphozytären Organe (Lymphknoten, Thymus, Milz und Knochenmark) unterschiedlichen Effekten zu regulieren [71].

Die GTPase-Aktivität von RAP1B ist zudem essenziell für eine adäquate Funktionsweise der Thrombozyten. Bei einem Fehlen konnte deshalb in Knock-Out Mäusen ein erhöhtes Blutungsrisiko gezeigt werden [72, 73].

RAP1B wurde signifikant vermehrt in AE gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen. Dies lässt sich als Tendenz ebenso in Vergleichen mit einseitig positiver Allergianamnese zeigen. Es könnte dabei eine Funktionserhöhung von RAP1B vorliegen, was zu einer veränderten Zellmigration oder Zellpolarität führen könnte. Dies würde sich in einer veränderten Funktion der betroffenen Immunzellen widerspiegeln, was Effekte auf die Prädisposition bezüglich allergischer Erkrankungen haben könnte. Durch die Anwesenheit von Thrombozyten in den

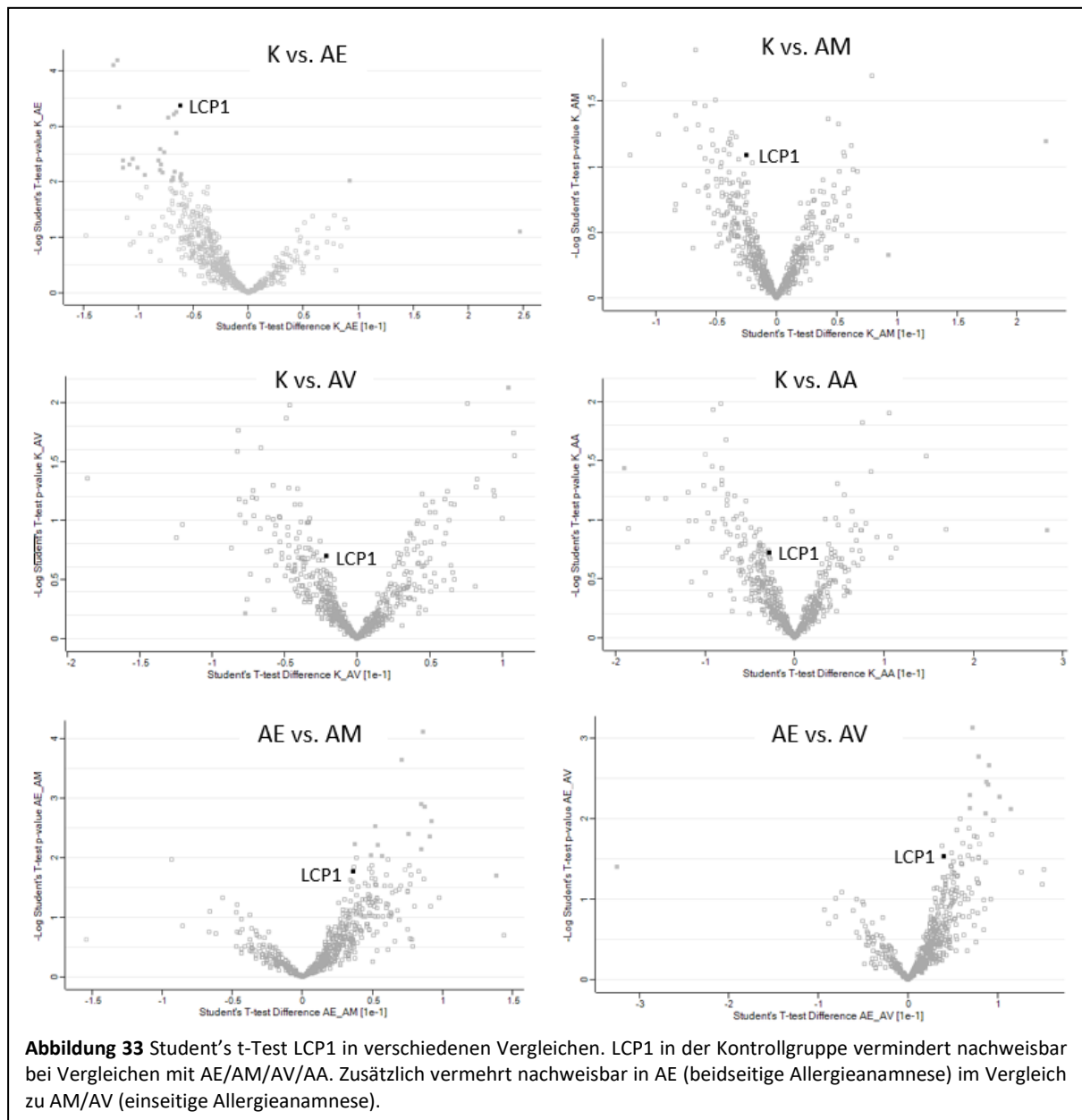
verwendeten Proben könnte dies aber auch hier zu einer Verzerrung der Ergebnisse geführt haben.



Der Genlokus **LCP1** kodiert für das Protein **Plastin-2**. Es gehört ebenfalls zu den Aktin-bindenden Proteinen und ist neben anderen Effektorproteinen durch seine Costimulation maßgeblich an der Aktivierung von T-Zellen beteiligt [74, 75]. So ist Plastin-2 für die Menge an membranständigem CD25 und CD69 verantwortlich, welche je nach Beschaffenheit des Plastins unterschiedlich hoch ist. Da CD25 und CD69 zu den ersten Effektorproteinen der Zellaktivierung gehören, findet bei verringerter Menge an der Oberfläche auch eine verringerte Signaltransduktion der T-Zellen statt und ihre Aktivierung kann nicht vollständig erfolgen [76]. Dies trägt zur Stabilisierung der immunologischen Synapse bei und findet sich im Mechanismus der Leukozyten-Adhäsion wieder. Auch die B-Zellreaktion zeigt eine starke

Plastin-Abhängigkeit [77]. Hier wurde ein Zusammenhang mit malignen Erkrankungen, deren Ausbildung, Metastasierung und Bekämpfung festgestellt [78].

In den vorliegenden Daten zeigt LCP1 in der AE-Gruppe eine erhöhte Präsenz im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei einem Vergleich mit einseitiger positiver Anamnese, unabhängig davon, ob Mutter oder Vater betroffen sind, ist der Unterschied nicht signifikant, sondern nur als Tendenz erkennbar.



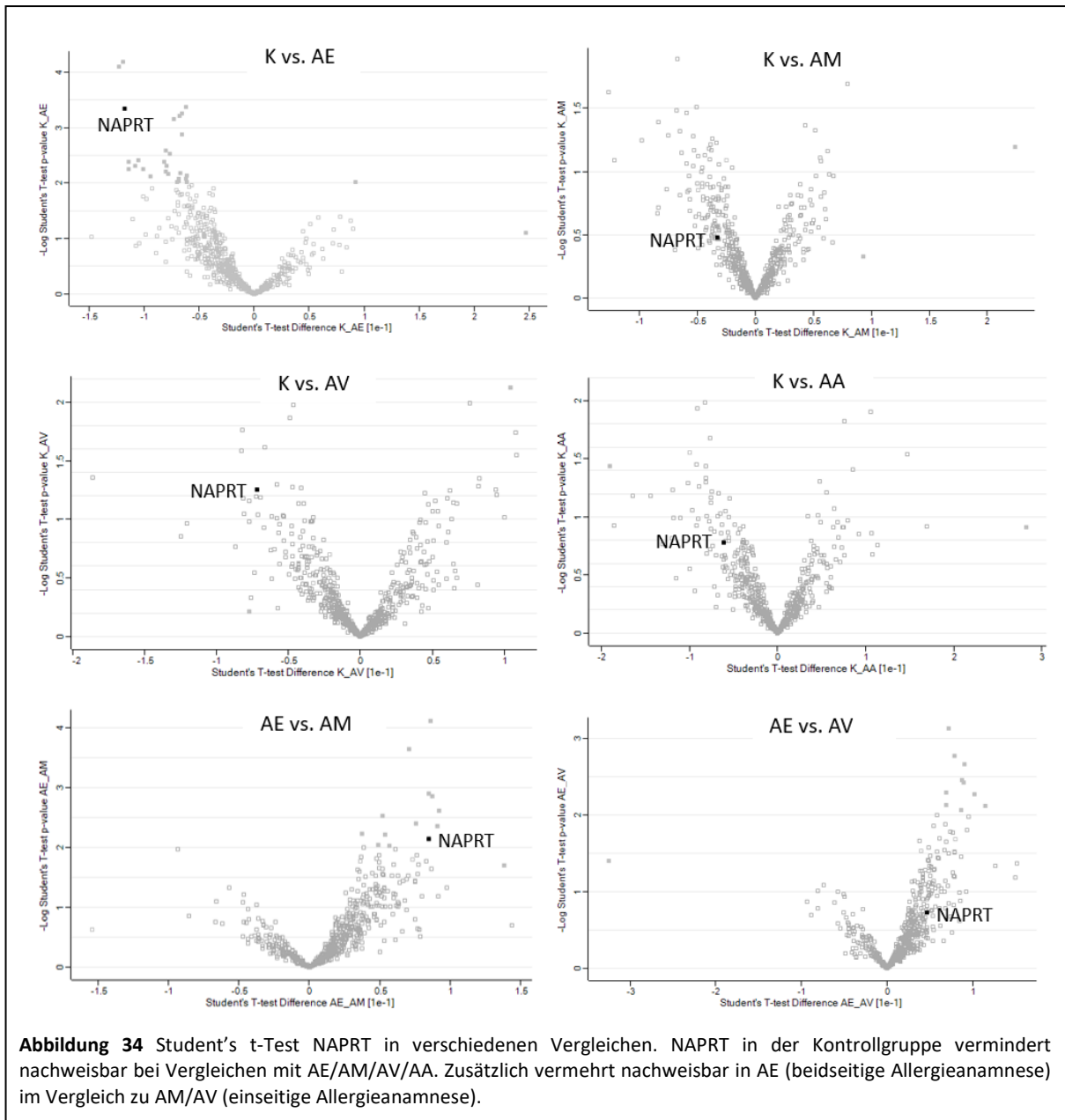
Dabei lässt sich nicht sagen, in welchem Phosphorylierungszustand sich das vorliegende Plastin-2 befindet, weshalb auch keine Rückschlüsse auf die Aktivität gezogen werden können. Bei einer erhöhten Ausprägung der Oberflächenproteine könnte ebenfalls eine Stabilisierung der immunologischen Synapse zu einer vereinfachten Sensibilisierung und

damit einer Erkrankung des allergischen Formenkreises führen. Nichtsdestotrotz kann diese Erhöhung als potenzieller Biomarker interpretiert werden.

Der Genlokus **NAPRT** kodiert für die **nikotinerge Phosphoribosyltransferase**, welche den ersten Schritt der NAD-Biosynthese aus Nikotinsäure katalysiert und im Zytosol lokalisiert ist [79]. Gemeinsam mit der Nikotinamid-Phosphoribosyltransferase (NAMRT) bilden die beiden Enzyme den Regulationsmechanismus aller NAD-abhängigen Reaktionen, da sie die zytosolische Konzentration von NAD<sup>+</sup> regulieren und damit die Aktivität der nachfolgenden Reaktionen bestimmen. Diese Schlüsselrolle scheint das Enzym besonders bei Inflammation und Apoptose einzunehmen [80]. Da Allergien ebenfalls zum immunologischen Geschehen zählen und Entzündungsreaktionen für ihre Symptomatik ursächlich sind, ist hier eine Korrelation durchaus denkbar.

Die im Blut gemessene Konzentration bezieht sich allerdings auf den extrazellulären Raum. Obwohl NAPRT seiner physiologischen Bestimmung normalerweise intrazellulär nachkommt, dient es extrazellulär als Signalprotein, das zu den sogenannten *damage-associated molecular patterns* (DAMPs; Verletzungsassoziierte molekulare Muster) zählt. So werden kleinere intrazelluläre Proteine bezeichnet, welche entweder gezielt ausgeschüttet oder bei Zellverletzung unkontrolliert aus dem Zellinneren freigesetzt werden, womit sie extrazellulär Signalwege anstoßen können. NAPRT und dessen großes Geschwisterkind NAMRT, welches in diesem Zusammenhang schon deutlich ausgiebiger erforscht worden ist, wurden beispielsweise bei chronischer Inflammation im kardiovaskulären System erhöht im Plasma nachgewiesen. So ließen sich auch unterschiedliche Konzentrationen in septischen Patienten nachweisen, wobei die Gruppe der Patienten, die an ihrer Sepsis verstorben waren, im Vergleich eine deutlich erhöhte Konzentration von NAPRT im Plasma aufwiesen als Patienten, welche die Sepsis überlebten [80].

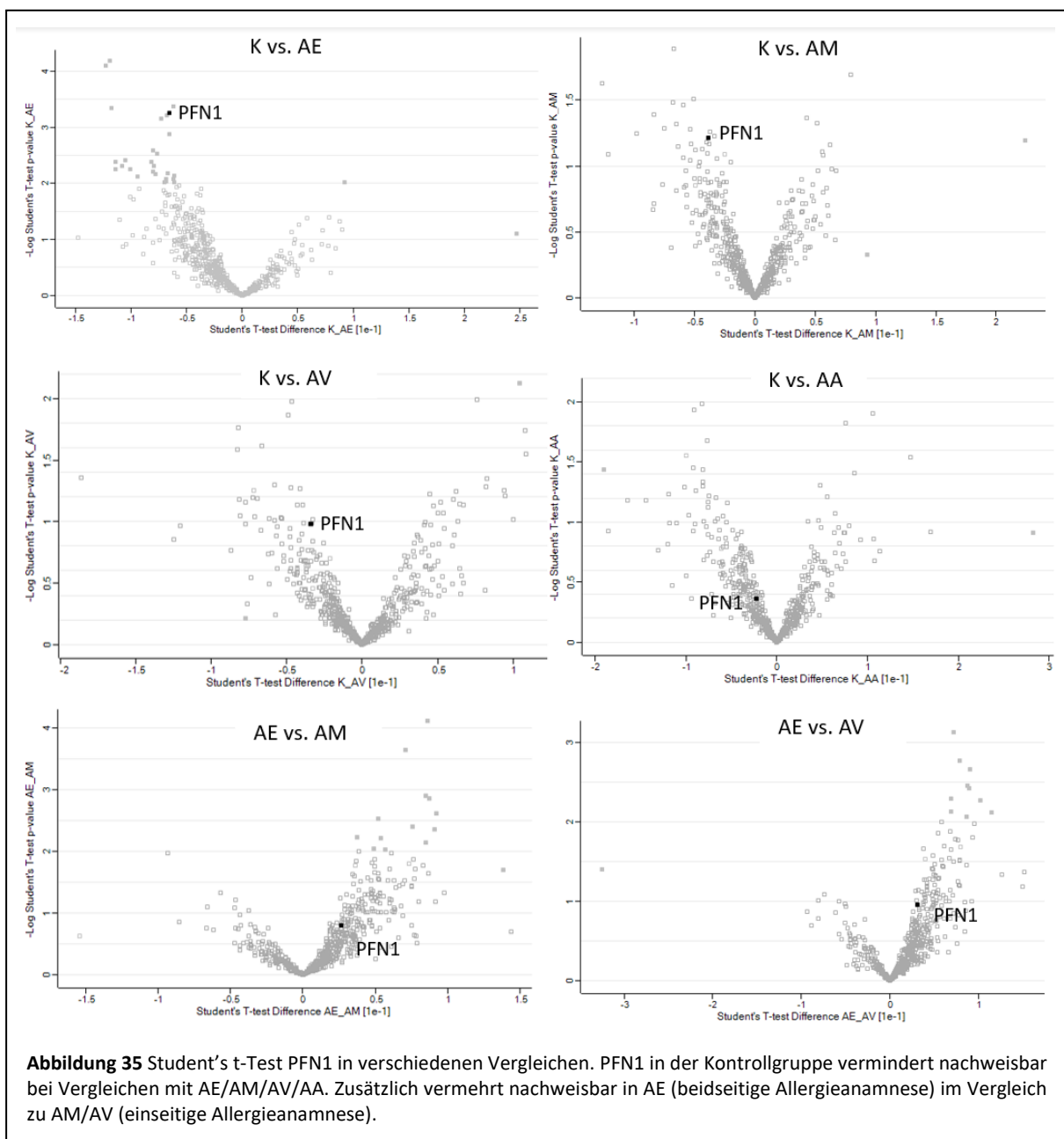
In den Daten zeigt AE im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikante Intensitätserhöhung mit einem p-Wert von  $p < 0,0005$ . Wenn Kinder mit relevanter Diagnose aus der Kohorte entfernt werden, verringert sich die Signifikanz zwar, bleibt aber mit einem p-Wert von 0,001 immer noch relevant. Beim Vergleich von Kindern mit positiver allergischer Anamnese von entweder Mutter (AM) oder Vater (AV) ist die Erhöhung nicht mehr signifikant, folgt aber einer logischen Tendenz. Ein direkter Vergleich von AE zu AM, zeigt in der AE-Gruppe signifikant höhere NAPRT-Werte ( $p < 0,01$ ). Insgesamt gibt es eine abnehmende Tendenz in den Intensitätsmessungen. Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass Kinder mit einer allergischen Vorgeschichte beider Eltern die stärksten Veränderungen im Proteom zeigen. Dies wird gefolgt von Kindern mit einer positiven Anamnese nur durch die Mutter. Bei einer positiven Anamnese durch den Vater allein sind keine signifikanten Effekte erkennbar.



Der Genlokus **PFN1** kodiert für das Protein **Profilin-1**. Dies ist ebenfalls ein Aktin-bindendes Protein. In Abhängigkeit von der Profilin-1-Konzentration hat es gegensätzliche Wirkung auf das Zytoskelett. So verhindert eine hohe Konzentration die Polymerisation von Aktin, während eine geringe Konzentration diese fördert [81]. Zusätzlich scheint es als Bindeglied zwischen Zytoskelett und Signaltransduktion zu agieren, wodurch es eine zentrale Funktion in der Zellkommunikation übernimmt und Effekte auf das adaptive Immunsystem haben kann. Profiline zählen zudem als starke Allergene. Aufgrund ihrer geringen Größe und ihrer Häufigkeit sind sie bei Nahrungsmittelallergien sowie allergischer Rhinokonjunktivitis durch Baumpollen als Panallergenen bekannt und werden dort zur Diagnostik eingesetzt [82, 83].

Auch in den vorliegenden Daten zeigt sich bei der Gruppe mit positiver allergischer Anamnese eine vermehrte Nachweisbarkeit, wobei in AE ein signifikant erhöhtes Vorkommen von PFN1 im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt wird ( $p < 0,001$ ).

Bei Vergleichen mit den Gruppen, die eine einseitige positive Anamnese (AM, AV) aufweisen, ist dieser Anstieg nicht eindeutig nachzuweisen. Es ist jedoch zu vermuten, dass bei größerer Stichprobe diese Unterschiede deutlicher würden. Dies wird durch den geringen Unterschied in der PFN1-Ausprägung bei Vergleichen von AM oder AV zu AE unterstützt.

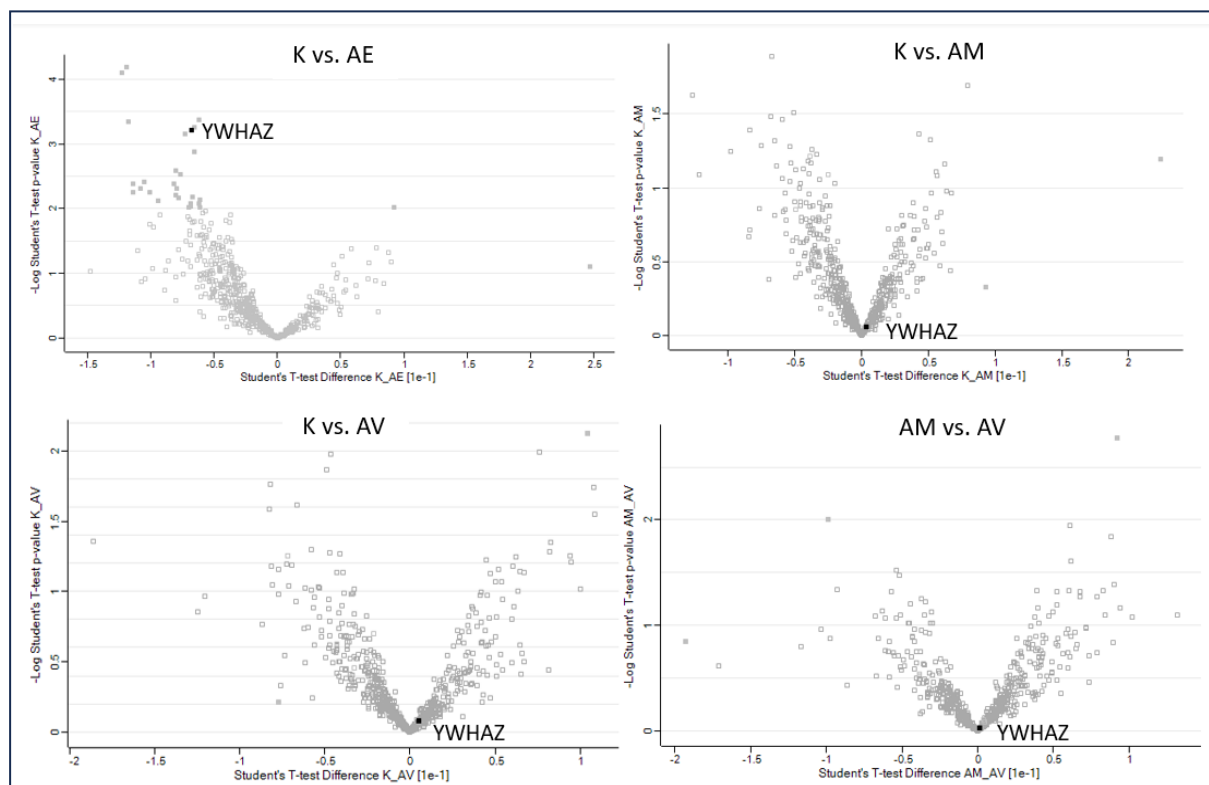


Profilin sind nicht nur als eindringende Allergene wirksam, sondern auch als körpereigene Proteine vorhanden. Dies macht es schwierig, die Bedeutung des aktuellen Fundes zu bewerten. Möglicherweise findet bei Individuen mit einem erhöhten PFN-Spiegel eine Sensibilisierung schon durch körpereigenes Profilin statt, sodass eine sekundäre Reaktion auf

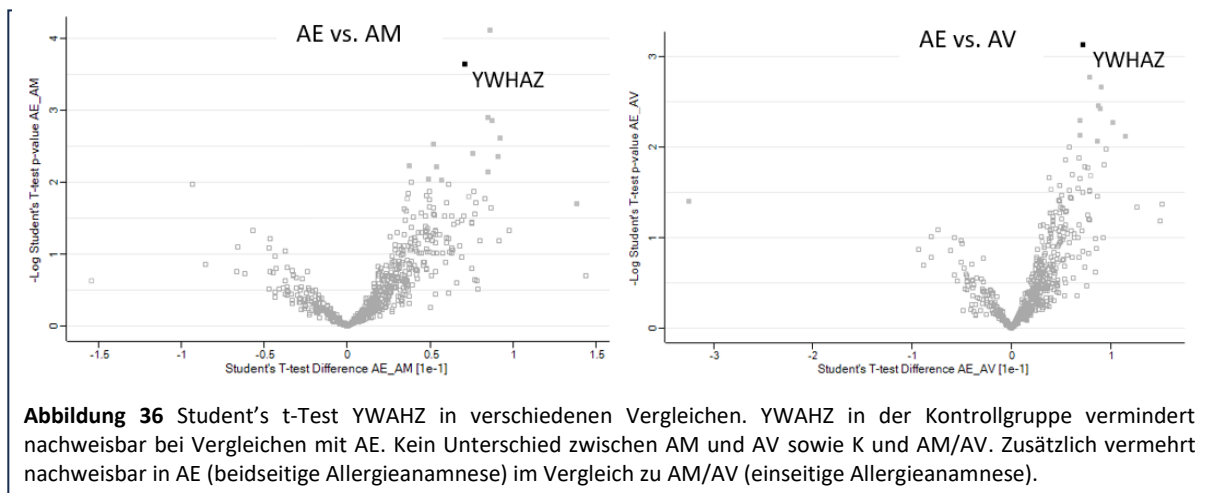
körperfremdes Profilin zu allergischen Symptomen führt. Eine solche Reaktion müsste jedoch zusätzlich mit Symptomen von Autoimmunität einhergehen.

Der Genlocus **YAWHZ** kodiert für das **Adapterprotein 14-3-3 delta/zeta**. Dieses Protein spielt eine zentrale Rolle in zahlreichen Signalwegen, wodurch es maßgeblich an Prozessen wie Proteinbiosynthese, Stoffaustausch, Zellzyklusregulation und an Signaltransduktions-Mechanismen beteiligt ist. Durch Bindung an Phosphoserin oder Phosphothreonin aktiviert das Protein seinen Bindungspartner und initiiert damit eine Signaltransduktion. Im neonatalen Stadium ist es in Neuronen für die Wirbelsäulenentwicklung relevant [84].

Bisher wurden multiple Zusammenhänge in der Tumorgenese, Metastasierung [85] und der Malignität [86] nachgewiesen, welche Behandlungsansätze betroffener Tumorentitäten freilegten [87]. Durch seine vielfältige Einbettung in verschiedene Signaltransduktionswege, konnten in den letzten Jahren auch andere Wirkorte identifiziert werden. So scheint YAWHZ beispielsweise ebenso einen Einfluss auf das Überleben der  $\beta$ -Zellen des Pankreas und damit auf den Glukosehaushalt zu haben [88]. Auch in der Signaltransduktion der T-Zell-Rezeptoren ist die Proteinfamilie der 14-3-3 Proteine vertreten [89]. Damit könnte ein direkter Zusammenhang zu den T-Zellabhängigen Mechanismen der Allergogenese bestehen. Bei der Ausbildung des Asthmas bronchiale ist der T-Zellrezeptor an der Erkennung der Antigene beteiligt und sorgt mit seiner Interaktion für die vermehrte Einwanderung von Eosinophilen und weiteren Immunzellen.







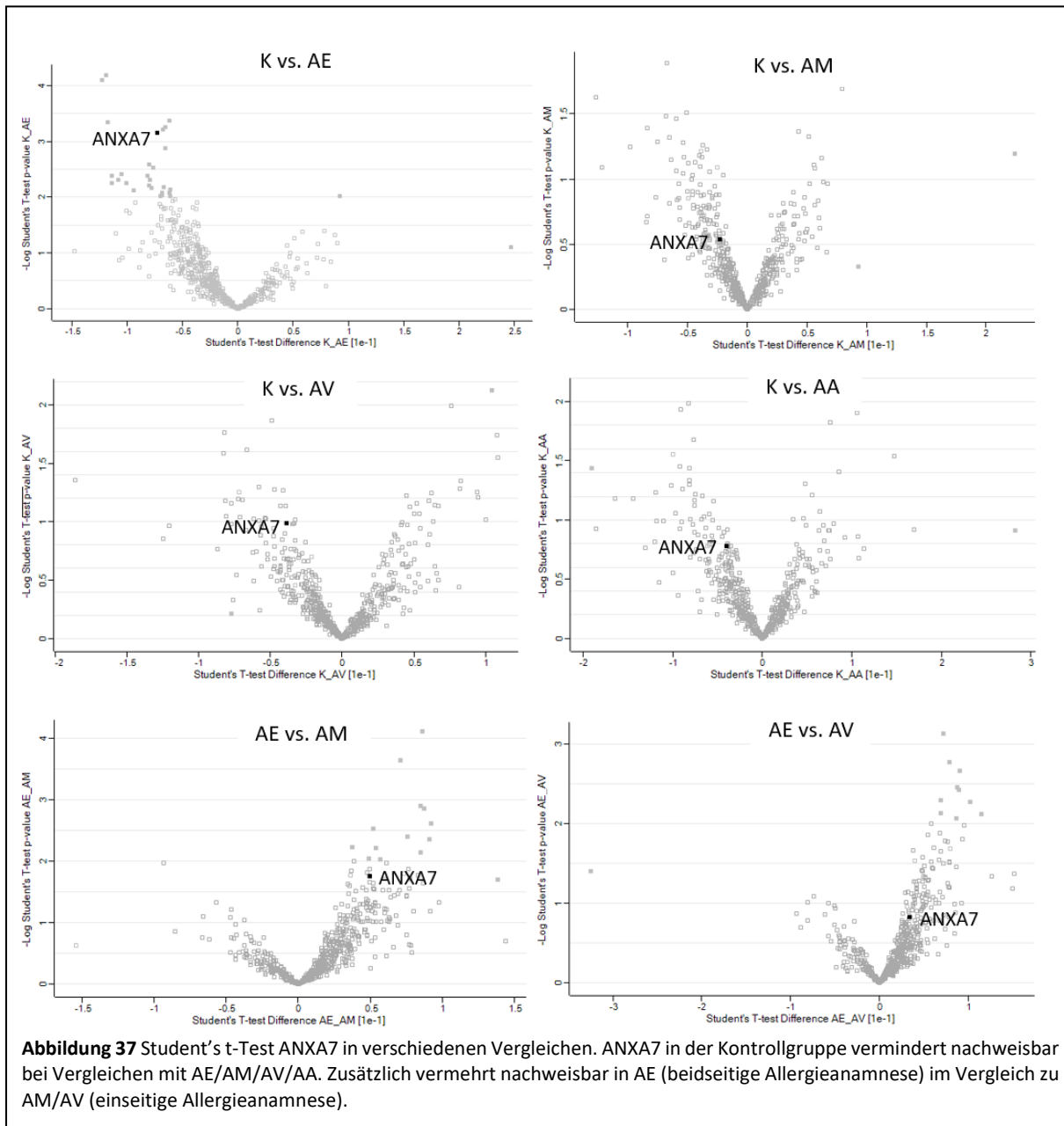
YAWHZ ist in den vorliegenden Daten in der AE-Gruppe signifikant erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei einem Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und AM oder AV werden keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Jedoch zeigt ein direkter Vergleich von AE zu AM oder AV, dass YWHAZ in der AE-Gruppe deutlich erhöht ist (jeweils  $p < 0,001$ ). Eine veränderte Ausprägung des Proteins ist offenbar nur bei beidseitiger positiver Anamnese zu beobachten. Ob ein vermehrtes freies Vorkommen von YWHAZ tatsächlich eine erhöhte Signaltransduktion des T-Zell-Rezeptors reflektiert, kann aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden, erscheint aber plausibel.

Der Genlokus **ANXA7** kodiert für das Protein **Annexin A7**. Dieses ist calcium- und phospholipidabhängig und sowohl bei der Exozytose als auch bei verschiedenen Formen der Membranfusion beteiligt [90].

Bisher wurde Annexin A7 hauptsächlich mit verschiedenen Tumorentitäten, akuter intrazerebraler Blutung und Arteriosklerose in Verbindung gebracht. Auch bei der Präeklampsie scheint es eine wichtige Rolle zu spielen, denn in der Plazenta präeklantischer Schwangerer wurde eine signifikant verringerte Expression von ANXA7 nachgewiesen [91]. In der vorliegenden Kohorte ist kein Kind einer präeklantischen Schwangerschaft vertreten.

Mit Bezug auf allergische Erkrankungen konnte bisher nur Annexin A1 verknüpft werden. Hierbei zeigte sich ein Einfluss unterschiedlicher Annexin-A1-Konzentrationen auf die Mastzelldegranulation, wobei es als protektiver Faktor nachgewiesen werden konnte. Annexin A1 wird deshalb schon als rekombinanter Wirkstoff in pharmakologischen Studien untersucht. Sein Wirkmechanismus ähnelt dem der Glukokortikoide, wobei diese eine Annexin-A1-Freisetzung sowie gleichzeitig seine vermehrte Synthese induzieren. Annexin A1 ist damit maßgeblich an der Immunantwort des adaptiven Immunsystems und der T-Zellkommunikation beteiligt [92, 93]. Diese Effekte konnten bisher nicht für Annexin 7 gezeigt werden.

In AE ist ANXA7 im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht nachweisbar ( $p < 0,001$ ). Mit seiner Verbindung zur Exozytose könnte es durchaus einen Zusammenhang zur Mediatorfreisetzung bei allergischen Reaktionen geben. Durch den erhöhten Nachweis im Blut sind leider keine Rückschlüsse auf seine Bedeutung und Funktion möglich.

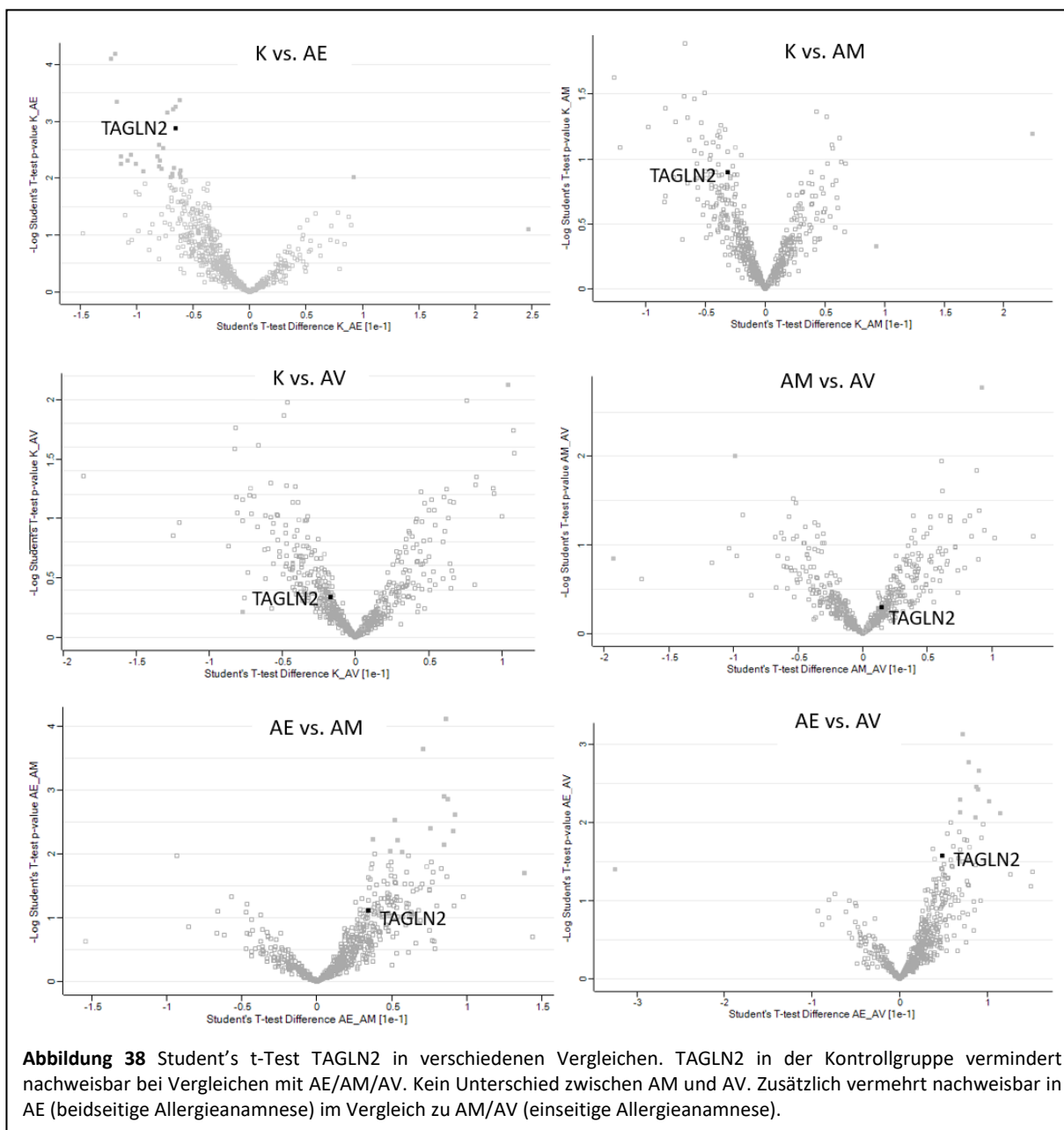


Der Genlokus **TAGLN2** kodiert für das Protein **Transgelin 2**. Auch dieses gehört zu den Aktin-stabilisierenden Proteinen und ist demnach ebenso für die Zellstruktur und Migration verantwortlich [94]. Auch dieses Protein wurde mit der Stabilisierung der immunologischen Synapse in Zusammenhang gebracht und ist damit genau wie MSN an der T-Zell-Aktivierung beteiligt [95].

Bisher konnte es besonders in Zusammenhang mit Tumorerkrankungen gebracht werden und auch als potenzielle Ansatzstelle von Therapiemöglichkeiten dieser Tumorentitäten

angesehen werden, da es maßgeblich bei der Migration, Invasion und Proliferation beteiligt ist [96]. Neben Transgelin 2 sind noch zwei weitere Isoformen 1 und 3 bekannt. Transgelin 2 ist in glatten Muskelzellen vermehrt vertreten, weshalb es z.B. eine wichtige Rolle in den Bronchien einnimmt [97]. So konnte ein Effekt von Transgelin auf die pulmonale Resistance durch Transgelin-Knockout-Mäuse nachgewiesen werden [98]. In den Studien zeigte sich eine hohe Interaktion und Coexpression mit Radizin, welches zum ERM-Komplex zu zählen ist. Dieses gehört genau wie Moesin zu den transmembranösen Aktin-stabilisierenden Proteinen [98] (siehe MSN S. 58).

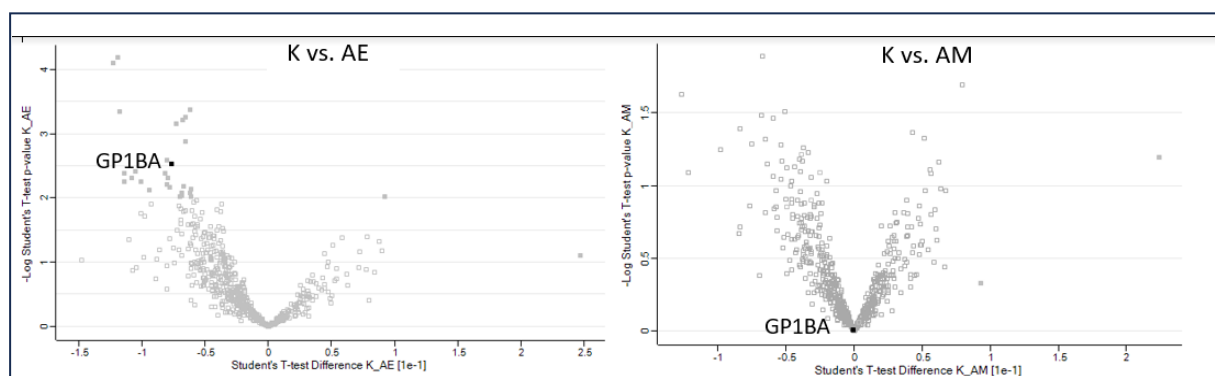
In den Auswertungen zeigt sich TAGLN2 in AE gegenüber der Kontrollgruppe erhöht ( $p < 0,005$ ) nachweisbar. Bezüglich AM und AV lassen sich erneut nur Tendenzen abschätzen.

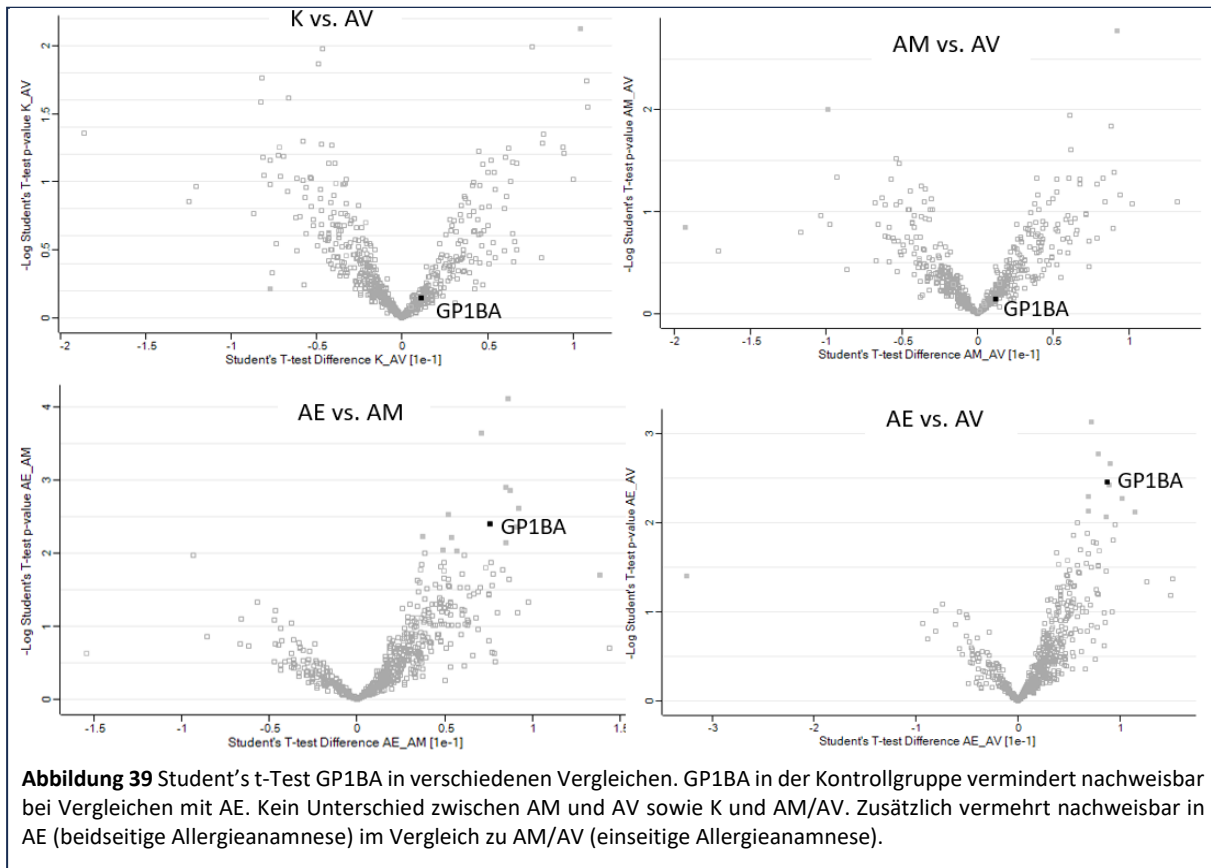


Es ist möglich, dass ähnlich wie bei MSN, ein Effekt zur Stabilisierung der Zellkommunikation vorliegt, der eine Sensibilisierung gegenüber Antigenen erleichtern könnte. Dies kann jedoch aus den vorliegenden Daten nicht bestätigt werden. Bemerkenswert ist die parallele Erhöhung von MSN und TAGLN2 unter denselben Bedingungen. Diese simultanen Befunde könnten als wechselseitige Verstärkung interpretiert werden.

Der Genlocus **GP1BA** kodiert für das **Thrombozyten-Glykoprotein Ib** (Platelet glycoprotein Ib alpha chain) auch **CD42b** genannt. Es ist ein Oberflächenprotein der Thrombozyten, welches vornehmlich mit dem von-Willebrand-Faktor (vWF) des Endothels interagiert [99]. Der transmembranöse Anteil interagiert hingegen mit dem schon weiter oben beschriebenen Adapterprotein YWHAZ (S. 66), durch das die Thrombozyten aktiviert werden [100]. Die Rolle der Thrombozyten als Effektorzelle bezüglich der Genese chronisch entzündlicher Erkrankung wie beispielsweise Krankheiten des atopischen Formenkreises ist gegenwärtiger Forschungsgegenstand. So zeigte sich in bioptischen Untersuchungen des Lungengewebes von Patienten mit unterschiedlich stark ausgeprägtem Asthma bronchiale eine deutliche Vermehrung von CD42b-positiven Thrombozyten im Gewebe abhängig nach Krankheitsintensität [101]. Bereits weiter oben ist beschrieben, dass in Individuen mit allergischen Erkrankungen, besonders aber bei Asthma bronchiale, eine chronische Aktivierung der Thrombozyten stattfindet [66].

GP1BA zeigt eine erhöhte Expression in der AE-Gruppe gegenüber K. Dies zeigt sich ebenfalls in den Vergleichen von AE zu AM und AE zu AV. Ein messbarer Unterschied zwischen AM und AV scheint jedoch nicht vorzuliegen. Angesichts dieses anerkannten Zusammenhangs zwischen Thrombozytenpräsenz und -aktivierung bei allergischen Erkrankungen, ist dieses Ergebnis konsistent mit den Erwartungen.



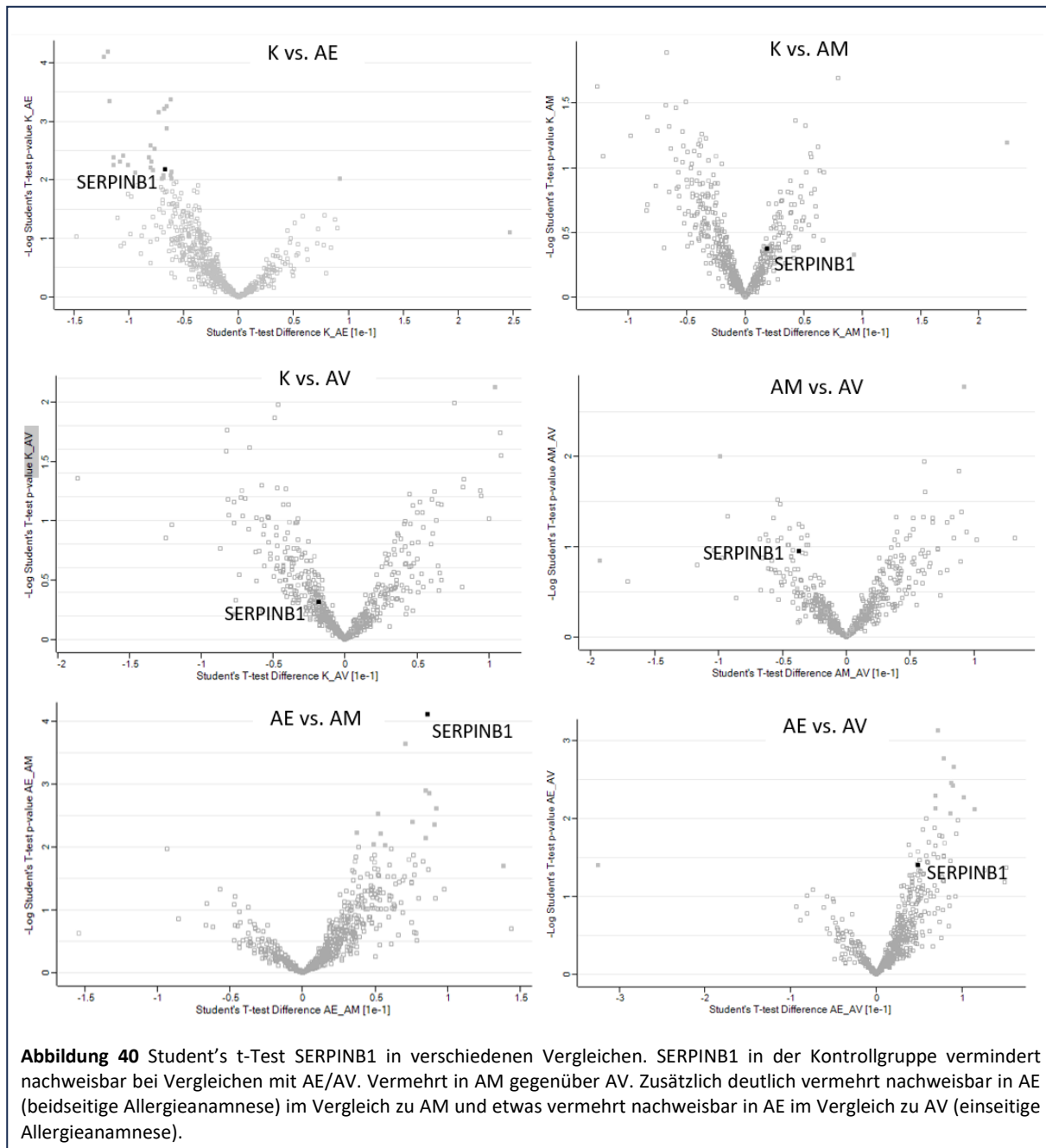


Der Genlokus **SERPINB1** kodiert für das Protein des **Leukozyten-Elastase-Inhibitors** (ursprünglich Serin-Protease-Inhibitor) [102]. Dieses spielt vor allem im Bereich des angeborenen Immunsystems, der Zellhomöostase sowie bei Entzündungsgeschehen eine wichtige inhibitorische Rolle. In SERPINB1-Knock-Out-Mäusen konnte ein vermehrtes Differenzieren von CD4+ Zellen zu TH17-Zellen gemessen werden, welches eine vermehrte Freisetzung von Interleukin 17 (IL-17) nach sich zieht [103]. TH17 Zellen wurden um die Jahrtausendwende neben TH1- und TH2-Zellen als die dritte Gruppe der T-Helferzellen identifiziert. Insbesondere bei nicht atopischem Asthma und im Allgemeinen bei allergischen Erkrankungen wurde ein signifikanter Zusammenhang festgestellt. So zeigte sich in der bronchoalveolären Lavage von Asthmatikern ein erhöhtes Level an IL-17 [104].

Außerdem ist SERPINB1 nicht nur an der Zellmigration beteiligt, sondern spielt eine wichtige Rolle in chronisch entzündlichen Erkrankungen. Auch in der Lunge konnte durch die Interaktion mit anderen Proteasen ein Fehlen der organeigenen Clearance und damit des Abwehrmechanismus gezeigt werden [105].

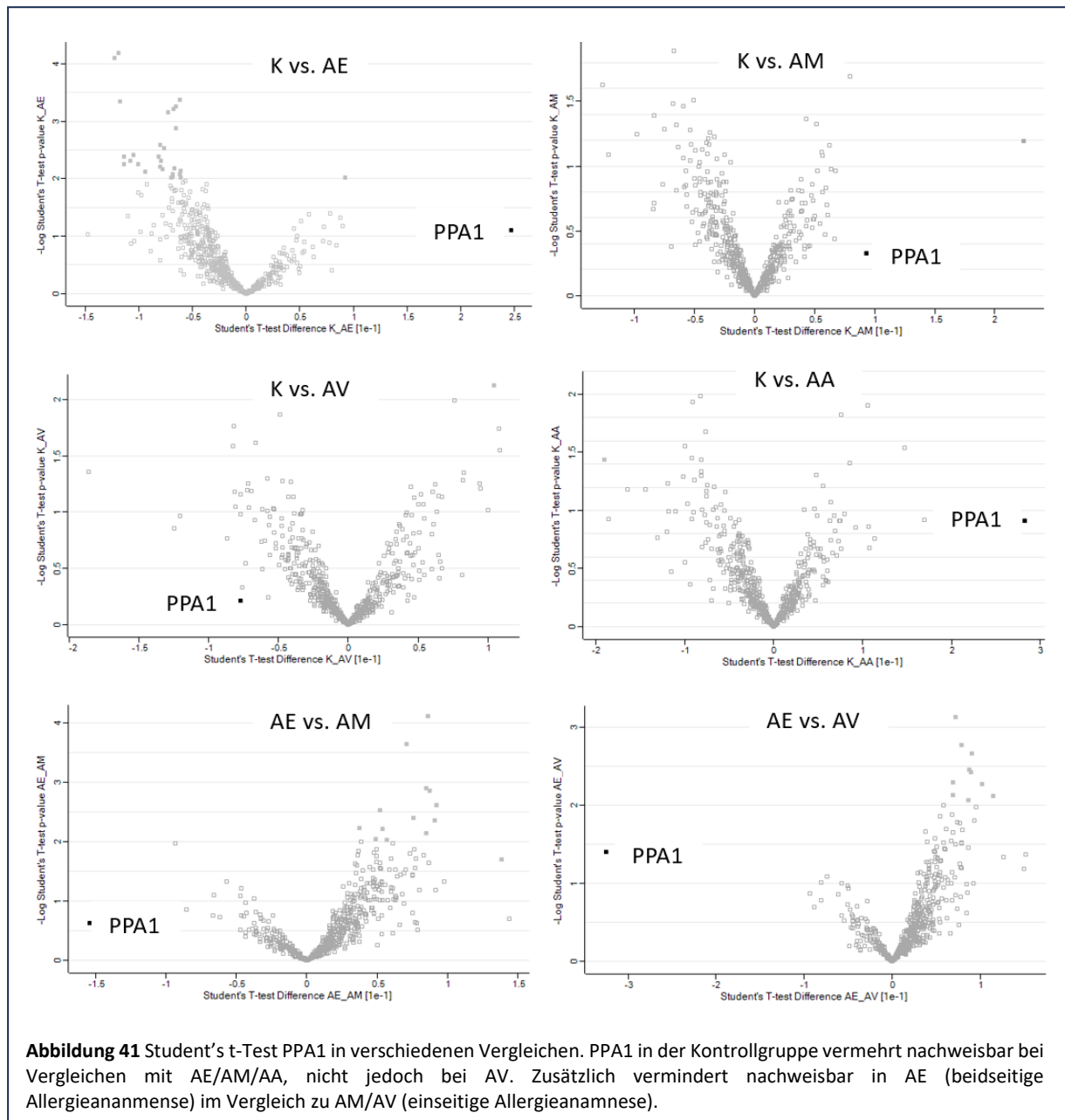
In den aktuellen Daten ist SERPINB1 in AE im Vergleich zur AM signifikant erhöht. Im Vergleich von AE zur Kontrollgruppe ist SERPINB1 in AE mit einem  $p < 0,01$  vermehrt nachweisbar. Der genaue Zusammenhang bleibt jedoch unbestimmt. Intuitiv könnte man annehmen, dass eine Erhöhung eines Inhibitors eine vermehrte Suppression zur Folge hat.

Doch aufgrund der Komplexität des Immunsystems kann eine solche direkte Schlussfolgerung nicht ohne Weiteres getroffen werden



Der Genlokus **PPA1** kodiert für die **anorganische Pyrophosphatase**, welche sich im Zytoplasma befindet [106]. Durch ihre essenzielle Aufgabe, den Pyrophosphat Spiegel im Zytosol gering zu halten, um einen reibungslosen Energiekreislauf (Wiederherstellung des ATPs, Recycling von Phosphat) zu ermöglichen, wird das Gen in der Literatur auch als „Housekeeping Gene“ bezeichnet. Ein direkter und exklusiver Zusammenhang zum Immunsystem ist aber bisher nicht nachgewiesen worden. Allerdings ist es selbstverständlich, dass alle immunologische Prozesse auf eine angemessene Energiebereitstellung angewiesen sind.

Bisher wurde PPA1 zwar mit immunologischen Prozessen in Verbindung gebracht, diese Ergebnisse stammen jedoch aus der Tumorforschung und stützen sich weitestgehend auf seine immunmodulatorische Wirkung bei der Tumorthherapie [107], die Verwendung als Prognoseparameter in tumorösen Erkrankungen [108] oder als potenzieller Biomarker einzelner Tumorentitäten [109].



Besonders beim Vergleich zwischen AE mit der Kontrollgruppe zeigt sich, dass die Konzentration von PPA1 in der AE-Gruppe signifikant vermindert ist. Beim Vergleich AE zu AM und AV ist ebenfalls eine merkliche Reduktion der PPA1 Konzentration in AE festzustellen. Dies könnte auf einen protektiven Faktor hinweisen. Da auch im Vergleich von Kindern mit positiver allergischer Anamnese nur entfernter Verwandter (AA) und der Kontrollgruppe eine

signifikante Konzentrationsverminderung von PPA1 in AA besteht, stellt dies die Eindeutigkeit dieser Messung in Frage.

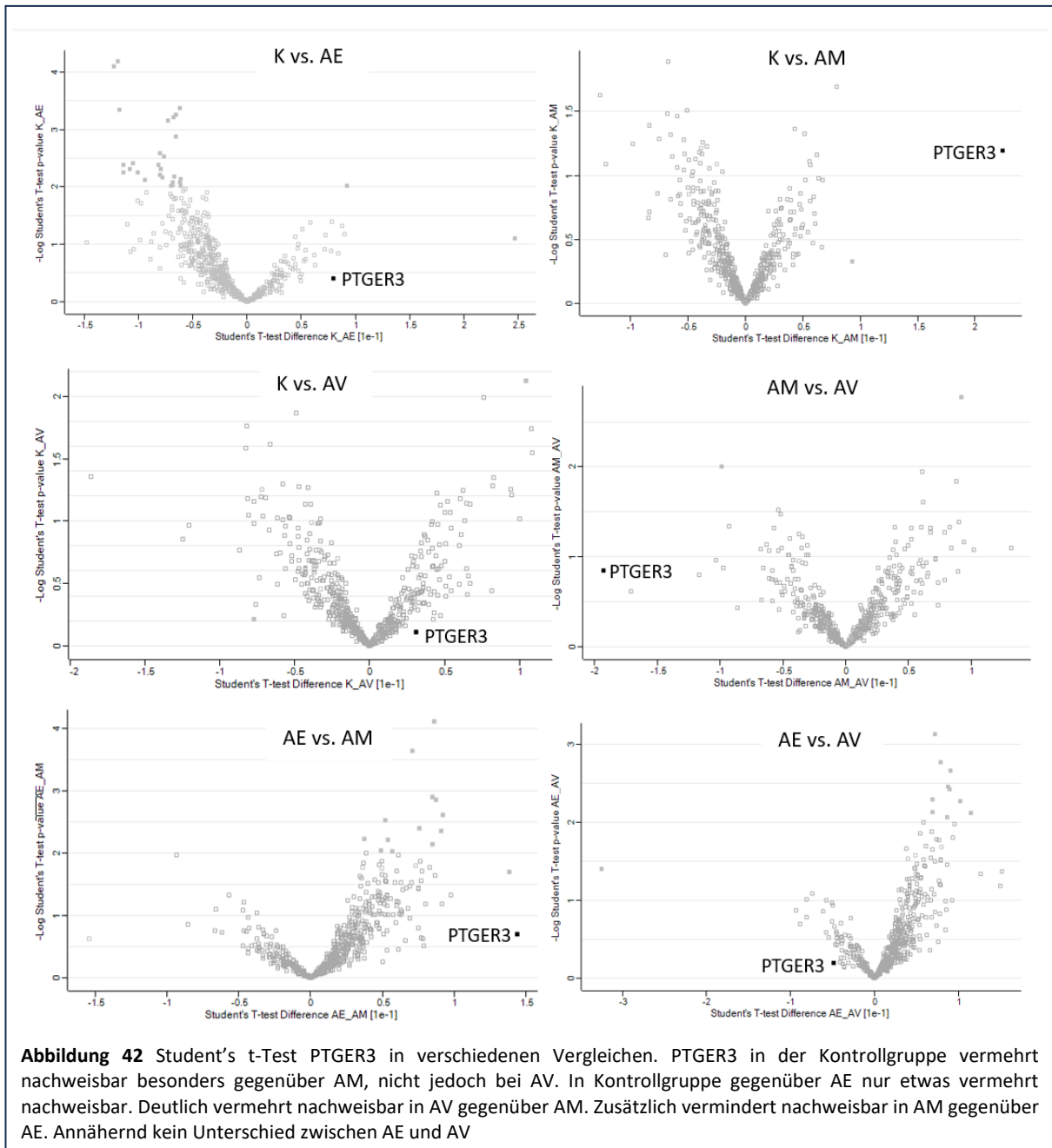
Der Genlokus **PTGER3** kodiert für den **membranständigen Prostaglandin-E2-Rezeptor des Subtypes 3**. Insgesamt sind vier Subklassen von PTGER1-4 bekannt, die allesamt auf Prostaglandin E2 reagieren [110]. Ausschließlich durch die Aktivierung des Rezeptors Subklasse 3 findet eine Suppression der Inflammation durch verminderte Mediatorfreisetzung und verminderte Transkription von einer Vielzahl von proinflammatorischen Genen statt, sodass die protektive Wirkung einer erhöhten PTGER3-Aktivität gegenüber allergischen Erkrankungen erfasst werden konnte. Zuerst wurde dieser positive Effekt im Mausmodell isoliert und anschließend der therapeutische Ansatz durch einen PTGER3-Agonisten am Menschen untersucht. Bei Allergenexposition zeigte sich in der mit PTGER3-Agonisten behandelten Patientenkohorte eine signifikant verringerte Infiltration des Gewebes mit Immunzellen wie Eosinophilen, Neutrophilen und Lymphozyten [111]. Ebenso zeigten PTGER3-Knockout-Mäusen ein vermehrtes Auftreten von Asthma bronchiale, was einen direkten Zusammenhang vermuten lässt.

Die unterschiedlichen genetischen Variationen des PTGER3 sorgen für ein unterschiedliches Outcome von Asthmatikern. So ist eine starke Korrelation von einzelnen genetischen Variationen des PTGER3 zu mildem Asthma vorhanden. Tendenziell zeigten die Träger der isolierten genetischen Variationen eine mildere Symptomatik des diagnostizierten Asthmas bronchiale als die Träger der anderen PTGER3-Varianten [112], womit seine Ausprägung direkten Einfluss auf die Krankheitsgenese haben muss. Über den genetischen Status lässt sich bei dieser Auswertung keine Aussage treffen. Trotzdem bleibt der antiinflammatorische Effekt des Prostaglandin-Rezeptor 3 nachweisbar.

Für die Auswertung der vorliegenden Daten ist der Vergleich der Kontrollgruppe mit AM von entscheidender Bedeutung. Hierbei zeigt sich PTGER3 in der AM-Gruppe deutlich vermindert. Im direkten Vergleich zwischen AE mit der Kontrollgruppe konnte keine signifikante Differenz nachgewiesen werden.

Beim Vergleich von K und AV ist die Differenz sogar noch geringer. Es lässt sich ergänzend zeigen, dass PTGER3 auch im Vergleich von AM mit AE vermindert nachzuweisen ist, während dies im Vergleich mit AV nicht der Fall ist. Dies passt in das gezeichnete Bild. Die niedrigste Konzentration von PTGER3 ist in AM vorhanden, gefolgt von AE, wo sich neben den Müttern mit positiver Anamnese auch die Väter mit positiver Anamnese befinden. Da in AV im Vergleich zur Kontrollgruppe keine Verminderung gezeigt werden konnte, gleichen die Werte der Väter den gemessenen Unterschied in AE zum Teil aus, sodass dort kein signifikantes Ergebnis mehr nachweisbar ist.





Dieses Phänomen tritt ausschließlich bei einer positiven Anamnese seitens der Mutter auf. Dies deutet darauf hin, dass der mütterliche Stoffwechsel deutlichen Einfluss auf die Proteinausprägung des Kindes ausübt. Während der Schwangerschaft findet der Stoffaustausch über die Plazenta statt. Mit einer Größe von ca. 40-47 kDa ist der Prostaglandin-E2-Rezeptor als potenziell plazentagängig einzustufen [113]. Der diaplazentare Stoffaustausch basiert allerdings nicht nur auf der reinen Proteingröße, sondern unterliegt proteinindividuellen Regeln, die auch von der Wasserlöslichkeit, Ladung und Struktur des Makromoleküls abhängen.

Zusätzlich haben alle Kinder im Blutentnahmezeitraum bereits Kollostrum erhalten, was bei der unreifen Blut-Darm-Schranke des neonatalen Darms bis zu 24 Stunden lang die Aufnahme auch größerer Proteine ermöglicht.

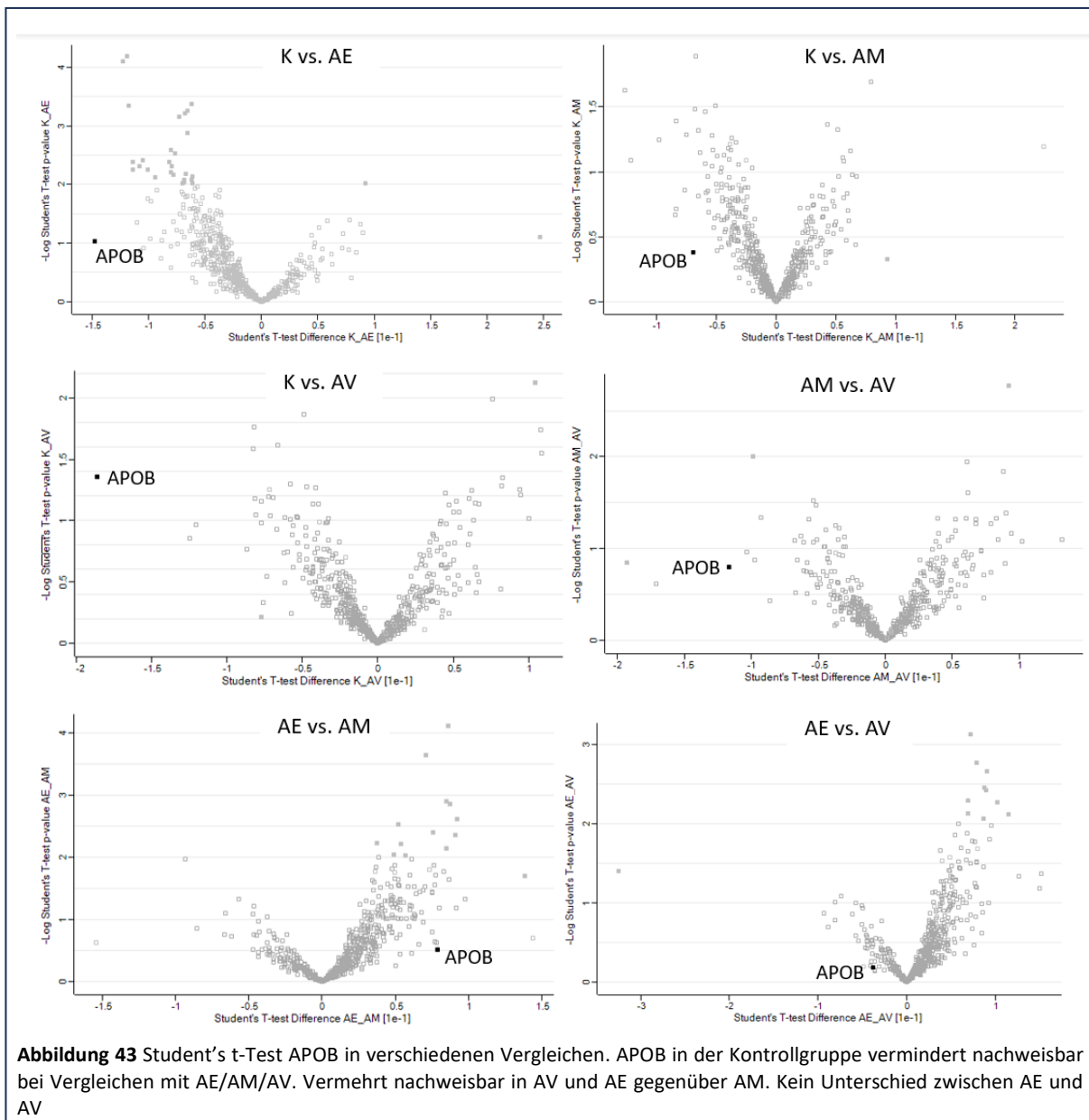
Es ist also nicht auszuschließen, dass der gemessene Konzentrationsunterschied durch den Gesundheitszustand der Mutter und den Messzeitpunkt von 36 bis 72 Lebensstunden zustande kommt. Es ist bisher nicht bekannt, wie die physiologische PTGER3-Expression bei Geburt aussieht. Es ist also möglich, dass die kindliche Proteinsynthese noch nicht ausreicht und damit die Mütter der Kontrollgruppe deutlich mehr PTGER3 auf das Kind übertragen als die Mütter aus der AM-Gruppe. Je nach Halbwertszeit (zwischen 25 – 45 Tagen) können mütterliche Proteine im Blut des Neugeborenen bis zu 6 Monate nach Geburt nachgewiesen werden [114], sodass man mit einem Nestschutz durch übertragene Immunglobuline für bis zu 25 Wochen rechnet [115].

Zur abschließenden Untersuchung, ob die verminderte Konzentration von PTGER3 in der Allergie-Gruppe ein kindeseigenes oder mütterliches Phänomen ist, fehlt dieser Studie eine Analyse des mütterlichen Blutes sowie eine zweite kindliche Blutentnahme in geeignetem zeitlichem Abstand.

Dennoch bekräftigt diese Messung den bestehenden Zusammenhang zwischen allergischen Erkrankungen und dem Prostaglandin-E2-Rezeptor des Subtyps 3. Dieser Zusammenhang hat bereits in früheren Studien zu ersten therapeutischen Ansätzen geführt. Auch bei einer spezifischen Immuntherapie scheint der PTGER3 eine entscheidende Rolle zu spielen, denn es konnte gezeigt werden, dass die Expression dieser Rezeptoren nach einer spezifischen Immuntherapie im Vergleich zur unbehandelten Patientengruppe vermindert ist [116]. Wie diese Beobachtung im Zusammenhang zu werten ist, ist noch unklar, da die Mechanismen auf den ersten Blick gegensätzlich wirken. So hat eine Aktivierung des PTGER3 eine verringerte Immunantwort und damit ein verringertes Entzündungsgeschehen zur Folge, gleichzeitig wird bei einer spezifischen Immuntherapie die Menge der verfügbaren Rezeptoren verringert. Dies könnte möglicherweise aber auch eine Verringerung des Liganden Prostaglandin E2 (PGE2) zur Ursache haben, denn in der Patientengruppe, welche eine spezifische Immuntherapie erhalten hatte, war die PGE2 Konzentration signifikant vermindert gemessen worden [116].

Der Genlokus **APOB** kodiert für das **Apolipoprotein B-100**. Dieses ist maßgeblich bei der Bildung von Lipoproteinen insbesondere der Chylomikronen, LDL (Low Density Lipoprotein) und VLDL (Very Low Density Lipoprotein) beteiligt. Es sorgt für die Bindung an und Internalisierung in Zellen [117]. Zusätzlich zu diesen strukturellen Aufgaben übernimmt APOB verschiedene Aufgaben in zellulären Prozessen insbesondere im Bereich des Lipidmetabolismus, der Immunreaktion und Zellwachstum. So konnten nicht nur

Konzentrationsänderungen von APOB bei viralen Infektionen, sondern auch ein direkter Zusammenhang mit Asthma bronchiale nachgewiesen werden. Über das Effektorprotein PAF (Platelet Activating Factor oder Thrombozytenaktivierendes Protein) konnte APOB als Kandidat für einen potenziellen Biomarker sowie als Zielstruktur in therapeutischen Ansätzen identifiziert werden [118]. Es zeigte sich eine positive Korrelation zwischen Asthma bronchiale und der plasmatischen APOB-Konzentration, sodass höhere Levels in Patienten mit Asthma nachgewiesen wurden [119]. Bei pädiatrischen Patienten konnte gezeigt werden, dass PAF-AH (Platelet Activator Factor Acetylhydrolase Activity) und APOB-Konzentrationen positiv miteinander korrelieren, wobei ein geringes Level bei Kindern mit hohem anaphylaktischem Risiko nachgewiesen werden konnten. Erhöhte APOB-Konzentrationen könnten damit einen protektiven Effekt bezüglich der Anaphylaxie aufweisen. Die APOB-Konzentration lässt sich durch diätische Maßnahmen verändern [118].



**Abbildung 43** Student's t-Test APOB in verschiedenen Vergleichen. APOB in der Kontrollgruppe vermindert nachweisbar bei Vergleichen mit AE/AM/AV. Vermehrt nachweisbar in AV und AE gegenüber AM. Kein Unterschied zwischen AE und AV

Die Auswertung der vorliegenden Daten korreliert mit diesen Erkenntnissen. Es wurde festgestellt, dass APOB in der AV-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht ist ( $p < 0,01$ ). Es zeigt sich eine Tendenz zur erhöhten Nachweisbarkeit von APOB in allen Gruppen mit positiver allergischer Anamnese. Diese Ergebnisse stimmen mit den Daten aus vorherigen Studien überein.

## 5.2 Frage II

*Gibt es einen messbaren Unterschied im Proteinprofil abhängig von der Art der Allergie der Eltern?*

Die Klassifikation von Patienten in spezifische Untergruppen basierend auf der allergischen Erkrankung ermöglicht eine detaillierte Darstellung der Prozesse. Trotz signifikanter Überschneidungen in den Mechanismen der atopischen Erkrankungen, ist eine differenzierte Betrachtung essenziell. Schließlich sind nicht alle Patienten von der Atopie in ihrer Vollaussprägung betroffen, vielmehr zeigt sich häufig auch nur eine der Erkrankungen, wobei die allergische Rhinokonjunktivitis vorherrschend ist.

In der Auswertung bezüglich der verschiedenen Untergruppen zeigten sich neben den bereits bekannten Proteinen aus Frage 1 auch andere verändert. Durch eine verringerte Power bei geringerer Teilnehmendenzahl blieben die signifikanten Treffer aus. Nichtsdestotrotz zeigen sich einige sowohl interessante Kandidaten, die bereits in Frage eins diskutiert wurden, als auch neue.

So zeigt beispielsweise **MSN** auch in einem Vergleich von Kindern mit Atopie im Allgemeinen ( $p < 0,0005$ ), mütterlicher- oder väterlicherseits (jeweils  $p < 0,005$ ) eine vermehrte Nachweisbarkeit gegenüber der Kontrollgruppe. Dies gilt ebenso für eine positive Familienanamnese bezüglich Asthmas bronchiale im Allgemeinen ( $p < 0,005$ ). Der Effekt zeigt sich jedoch nicht bei einer weiteren Unterteilung, bei der nur ein Elternteil ein Asthma bronchiale hatte, was durch die verringerte Power zu begründen sein wird. Bei einem Vergleich bezüglich positiver Anamnese mit allergischer Rhinokonjunktivitis ist MSN in der Gruppe mit beidseitig positiver Anamnese (AE) gegenüber der Kontrollgruppe vermehrt nachweisbar ( $p < 0,005$ ). Unterstützend dazu ist MSN auch beim Vergleich bezüglich Allergie Typ I in der betroffenen Gruppe erhöht ( $p < 0,005$ ).

Daraus ergibt sich, dass eine spezifische Zuordnung von MSN zu einer der getesteten Untergruppen nicht eindeutig möglich ist.

Auch **LCP1** lässt sich in verschiedenen Vergleichen der Untergruppen vermehrt nachweisen. Bei einem Vergleich bezüglich positiver Anamnese auf eine Atopie eines Elternteils ( $p < 0,0005$ ; unabhängig ob Mutter ( $p < 0,0005$ ) oder Vater ( $p < 0,001$ )) ist LCP1 am deutlichsten verändert und in der betroffenen Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe vermehrt nachweisbar. Annähernd dasselbe gilt für eine Betrachtung bezüglich Asthmas bronchiale, Atopisches Ekzem, allergische Rhinokonjunktivitis und Allergie Typ I ( $p < 0,01$  bis  $p < 0,001$ ). Dies untermauert den

bereits in Frage 1 erarbeiteten potenziellen Zusammenhang zwischen LCP1 und einer allergischen Prädisposition.

Bei einer weiteren Unterteilung lässt sich **NAPRT** nur in den Gruppen bezüglich allergischer Rhinokonjunktivitis und Allergie Typ I vermehrt in betroffener Gruppe nachweisen ( $p < 0,005$ ). Da der größte Anteil an angegeben Allergien dieses Ursprungs ist, spiegelt sich dies in der Bedeutsamkeit von NAPRT im Vergleich AE zur Kontrollgruppe (siehe S. 63) wider. Im Verhältnis besteht ein hoher Teil der hier detektierten Allergien aus einer allergischen Rhinokonjunktivitis.

**YWHAZ** lässt sich nicht flächendeckend in allen Vergleichen der Untergruppen vermehrt nachweisen, sondern hauptsächlich bei positiver Anamnese bezüglich allergischer Rhinokonjunktivitis sowie Allergie Typ I ( $p < 0,005$ ). Das Bild entspricht dem von NAPRT.

Auch **RAP1B** zeigt sich erneut in verschiedenen Gruppen vermehrt nachweisbar. Bei positiver Anamnese bezüglich allergischer Rhinokonjunktivitis beidseits ( $p < 0,005$ ) und auch einseitig positiver Anamnese (Mutter und Vater jeweils  $p < 0,01$ ) ist dieses in den betroffenen Gruppen vermehrt messbar. Dies gilt ebenso für die Gruppen mit einer positiven Anamnese bezüglich Allergie Typ I geschlechterunabhängig ( $p < 0,001$  bis  $p < 0,01$ ). Genau wie bei YWHAZ zeigt sich der große Einfluss der allergischen Rhinokonjunktivitis als Allergie des Soforttyps (Typ I) durch ihr zahlenmäßig größtes Vorhandensein. Ein postulierter Zusammenhang mit der Pathogenese einer Typ-I-Allergie erscheint plausibel, insbesondere da in Vergleichen bezüglich anderer Erkrankungen des atopischen Formenkreises keine messbaren Unterschiede beobachtet werden konnten. Gleichzeitig kann dies aber auch eine Folge der verringerten statistischen Power zu werten sein.

Neben RAP1B fällt nun auch **RAP1A** auf. Der Genlocus kodiert ebenfalls für ein **Ras-gebundenes Protein (1A)** [120]. Genau wie RAP1B spielt es eine entscheidende Rolle in der Zellkommunikation bei Leukozytenaktivierung [121] sowie der Zellpolarität und -adhäsion (siehe RAP1B, S. 60). Bei Vergleichen der Untergruppen konnte RAP1A vermehrt ausschließlich in den Gruppen mit positiver Anamnese bezüglich Atopie der Eltern und des Vaters ( $p < 0,01$ ) gezeigt werden.

Auch **PTGER3** liefert messbare Unterschiede im Vergleich bezüglich der Untergruppen. In der Gruppe mit positiver Atopie-Anamnese der Mutter ist PTGER3 signifikant vermindert in der betroffenen Gruppe nachweisbar ( $p < 0,01$ ). Wie zu erwarten wird der Effekt durch die miteingeschlossenen Väter in der allgemeinen Atopie-Betrachtung abgeflacht, sodass bei

einer geschlechterunabhängigen Betrachtung der Atopie-Anamnese der messbare Unterschied verringert wird.

Die Auswertungen bezüglich Asthmas bronchiale, atopisches Ekzem, allergische Rhinokonjunktivitis und Allergie Typ I zeigen diese Tendenz besonders bei positiver Anamnese der Mutter und in keinem Fall bei alleiniger positiver Anamnese des Vaters. Dies passt zu dem bisherigen Bild. Eine Zuordnung zu einer Erkrankung des atopischen Formenkreises ist nicht möglich.

Der Genlocus **HSPB1** kodiert für ein **kleines Hitzeschockprotein aus der Gruppe der Chaperone**. Es ist sowohl in zellulären Stressreaktionen als auch in der Aktinpolymerisation und im axonalen Transport von Transmittern beteiligt [122].

Es konnte bereits ein Zusammenhang zwischen einem veränderten HSPB1-Expressionslevel und Asthma bronchiale nachweisen werden. So zeigte sich in Probanden mit exazerbiertem Asthma bronchiale und einer verringerten Vitalkapazität der Lunge eine Erhöhung der Genexpression von HSPB1 und weiteren [123].

In den vorliegenden Daten lässt sich diese Erhöhung bei einer gesonderten Auswertung der Probanden mit elterlichem Asthma nicht nachweisen, wobei die Probanden selbst auch noch nicht von einem Asthma bronchiale betroffen sind und die Schwere der elterlichen Erkrankung nicht bekannt ist. Nichtsdestotrotz kann HSPB1 sowohl in AE als auch in der Gruppe mit einem elterlichen atopischen Ekzem vermehrt nachgewiesen werden. Das atopische Ekzem zählt unbestritten zu den Erkrankungen des atopischen Formenkreises genau wie das allergische Asthma bronchiale, sodass nicht nur ein Zusammenhang mit Asthma bronchiale, sondern ebenso mit den anderen Krankheiten des atopischen Formenkreises bestehen könnte.

Der Genlocus **HSP90AA1** codiert ebenfalls für ein **Hitzeschockprotein aus der Gruppe der Chaperone**. Neben der richtigen Faltung von Proteinen und dem Erhalt der Proteinstruktur hat es eine transkriptionsregulierende Wirkung. [124]

Neben der reinen Basenausprägung des genetischen Merkmals birgt das Phänomen der DNA Methylierung eine Möglichkeit der Phänotypenausprägung. Es konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Methylierungszustände von HSP90AA1 bei einem Vergleich von Kindern vor und nach SIT vorlagen [125]. Wenn auch keine veränderte Konzentration nachgewiesen wurde, so zeigt dieses deutlich, dass dieses Protein mit seinem veränderten Ausprägungslevel einen Einfluss auf den Pathomechanismus hinter einer allergischen Reaktion hat. Mit der vorliegenden Methode lässt sich der Methylierungszustand nicht bestimmen, weshalb auch keine Rückschlüsse über die Aktivität oder Ausprägung möglich sind.

HSP90AA1 findet sich in nur in einem Vergleich bezüglich Atopie des Vaters erhöht.

Der Genlokus **GSTO1** kodiert für die **Glutathion-S-Transferase omega-1**, welche zu den antioxidativen Enzymen gezählt wird. Bei oxidativem Stress wird die Glutathion-S-Transferase Omega 1 vermehrt gebildet, um das Gewebe über verschiedene Mechanismen vor den schädlichen Wirkungen der Sauerstoffradikale zu schützen [126]. Zuletzt kam die Hypothese auf, dass eine Ursache für die spezifische Symptomatik eines Asthmas bronchiale eine Erhöhung des oxidativen Stresses im Lungengewebe sei. Dabei zeigte sich im Lungengewebe von Individuen mit Asthma bronchiale eine Erhöhung der antioxidativen Enzyme wie der Glutathion-S-Transferase Omega 1 [127]. Je nach Ausmaß des oxidativen Stresses und damit der Menge an Enzyminduktion kann GSTO1 ein protektiver und später ein zellzerstörender Faktor durch Apoptose und Nekrose sein [127].

Während GSTO1 in einem Vergleich von AE zu K keinen signifikanten Unterschied zeigt, lässt es sich bei einer Aufteilung in Untergruppen in unterschiedlichem Maße nachweisen. So zeigen die Auswertungen bezüglich eines Asthmas bronchiale, atopischem Ekzem und Atopie jeweils bei der Gruppe mit positiver Familienanamnese eine vermehrte Nachweisbarkeit von GSTO1 im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies zeigt sich synergistisch zu den bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen. Bei einer Betrachtung bezüglich allergischer Rhinitis ist dieser Effekt nicht zu erkennen. Die fehlende Signifikanz in der Auswertung zwischen AE und K lässt sich damit erklären, dass der größte Anteil an detektierten allergischen Erkrankungen eine allergische Rhinokonjunktivitis ist. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen konsequent die Hypothese, dass bei Individuen mit allergischer Prädisposition ein erhöhtes Niveau an oxidativem Stress vorliegen könnte.

Zusätzlich fällt auf, dass dieser Effekt nicht bei einer positiven Anamnese des Vaters, sondern hauptsächlich bei positiver Anamnese der Mutter nachzuweisen ist. Mit einer Proteingröße von ca. 25 kDA ist die Glutathion-S-Transferase ebenfalls als potentiell plazentagängig einzustufen [128]. Es entsteht dieselbe Problematik wie schon bei der Auswertung bezüglich PTGER3 diskutiert (siehe S. 74).

Durch die unterschiedliche Wirkung je nach Konzentration konnte durch eine GSTO1-Defizienz bereits eine Zunahme der Inflammation nachgewiesen werden. Es ergibt sich also ein gegensätzlicher Effekt, welcher es umso unvorhersehbarer macht, inwieweit sich die Glutathion-S-Transferase als Target für eine antiinflammatorische Therapie eignen wird [129]. Die gemessene Erhöhung ist wohl die Folge eines erhöhten Entzündungslevels, das primär als protektive Reaktion des Körpers zu deuten ist und erst in besonders hoher Konzentration gewebescheidend wirkt, sodass ein therapeutisches oder präventives Ausschalten primär kontraproduktiv erscheint.



Der Genlocus **ITGB3** kodiert für das **Integrin Beta 3**, welches gemeinsam mit dem Integrin alpha 2 einen Rezeptorkomplex bildet sowie weitere Komplexe mit Integrin V [130]. Beide Komplexe sind an der Bindung von Gerinnungsfaktoren und damit der Aktivierung von Thrombozyten beteiligt. Neben der direkten Rolle in der Thrombozytenaktivierung konnten genetische Variationen von ITGB3 bereits mit Erkrankungen des atopischen Formenkreises verknüpft werden. So korrelierten verschiedene Genotypen mit unterschiedlichen Phänotypen eines Asthmas bronchiale und Erkrankungen des atopischen Formenkreises [131].

ITGB3 kann nicht in einem allgemeinen Vergleich von AE zu K signifikant verändert nachgewiesen werden. Es befindet sich aber jeweils in den Untergruppen Ekzem und Allergie Typ I bei einem Elternteil sowie bei allergischer Rhinokonjunktivitis beider Eltern vermehrt. Es fällt die starke Korrelation zu diesen beiden Gruppen auf, sodass eine spezifische Nachweisbarkeit bei diesen Formen der Allergie (Soforttyp) vermutet werden kann.

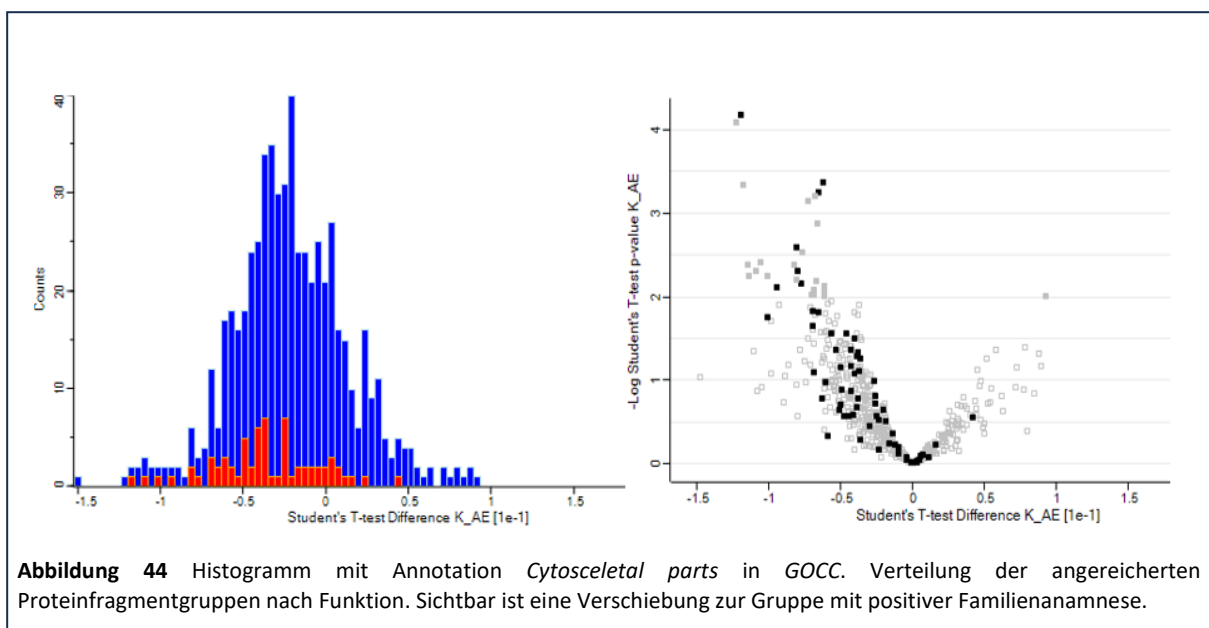
### 5.3 Proteinfamilien

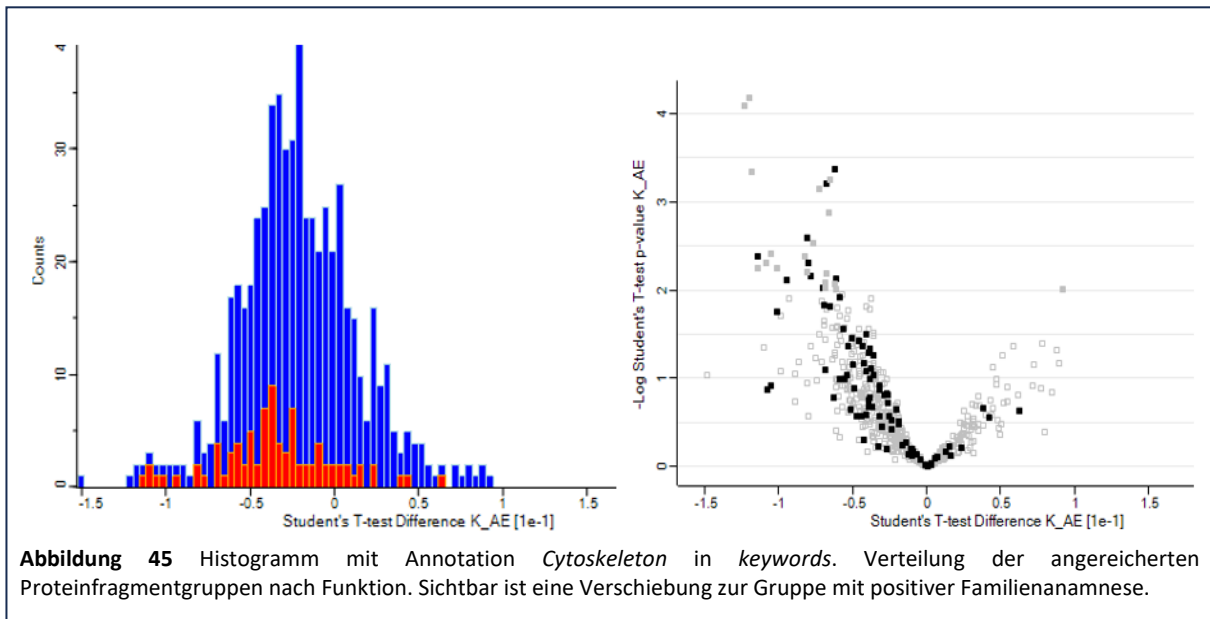
In Enrichment-Analysen werden Proteingruppen identifiziert, die kollektiv eine Verschiebung zugunsten einer Vergleichsgruppe aufweisen. Auch wenn einzelne Proteinfragmente nicht zwingend signifikante Veränderung aufweisen, ermöglichen diese Analysen eine Einschätzung allgemeiner Regulationstrends. Besonders aufschlussreich erscheint hierbei der Vergleich von Kindern mit positiver Familienanamnese zu der Kontrollgruppe.

Die Auswertung wurde mit Annotationen der Datenbanken GOBP (Gene Ontology biological process), GOCC (Gene Ontology Cellular Component), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) und Keywords vorgenommen. Hierbei ergaben sich 52 erhöhte Subgruppenkorrelationen.

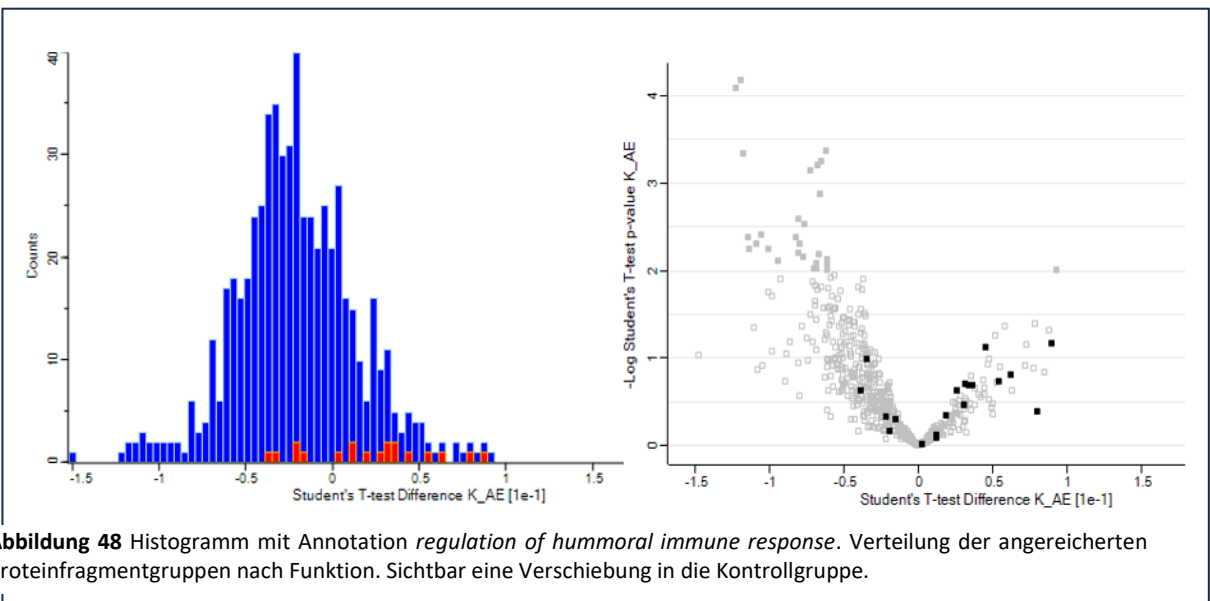
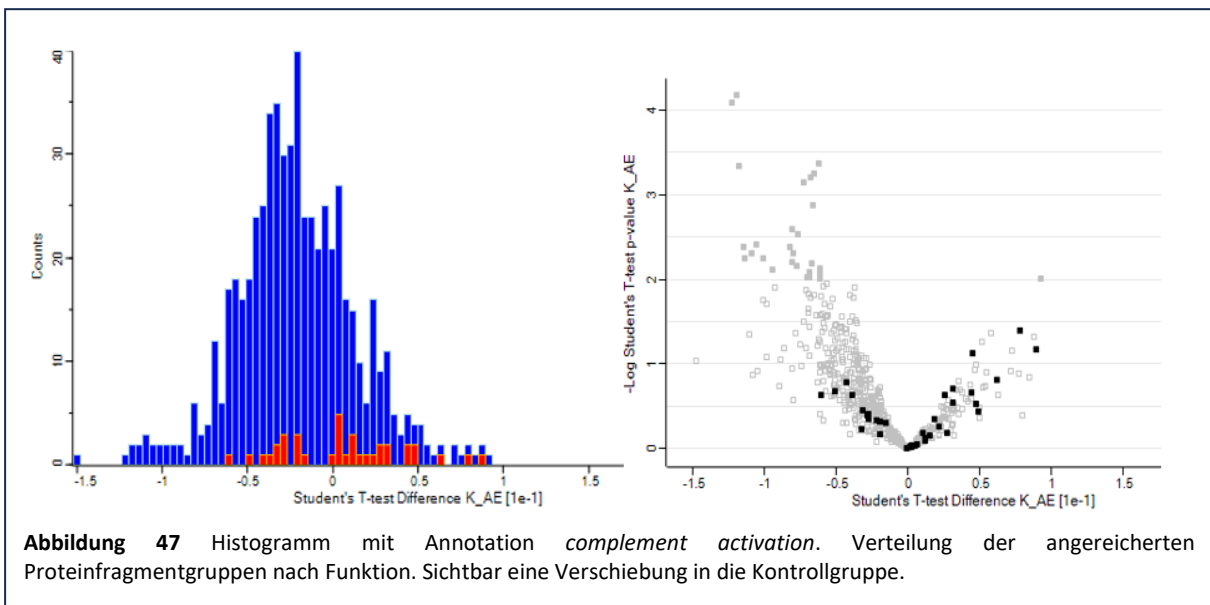
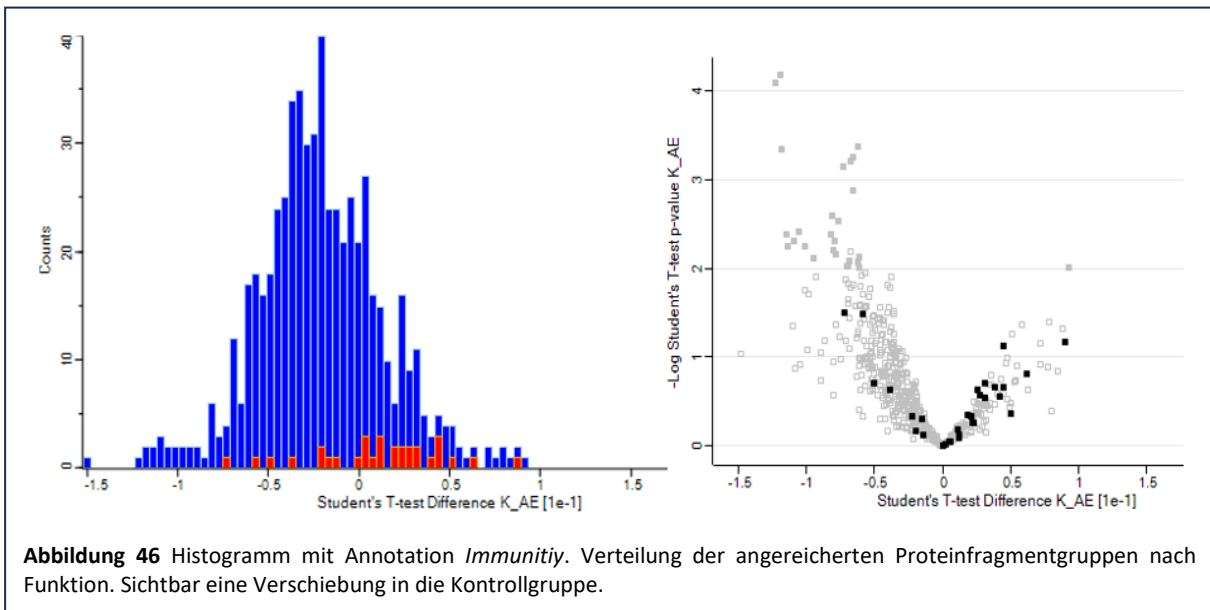
In der Analyse der einzelnen Proteine konnte knapp die Hälfte als an dem Aufbau des Zytoskeletts beteiligt eingestuft werden. Es konnte weitestgehend von einer vermehrten Nachweisbarkeit in der Gruppe mit positiver Anamnese (verallgemeinert unabhängig des Geschlechtes des Elternteils) ausgegangen werden. Dort finden sich in mehreren Annotationen die dem Zytoskelett zugehörigen Produkte vermehrt nachweisbar.

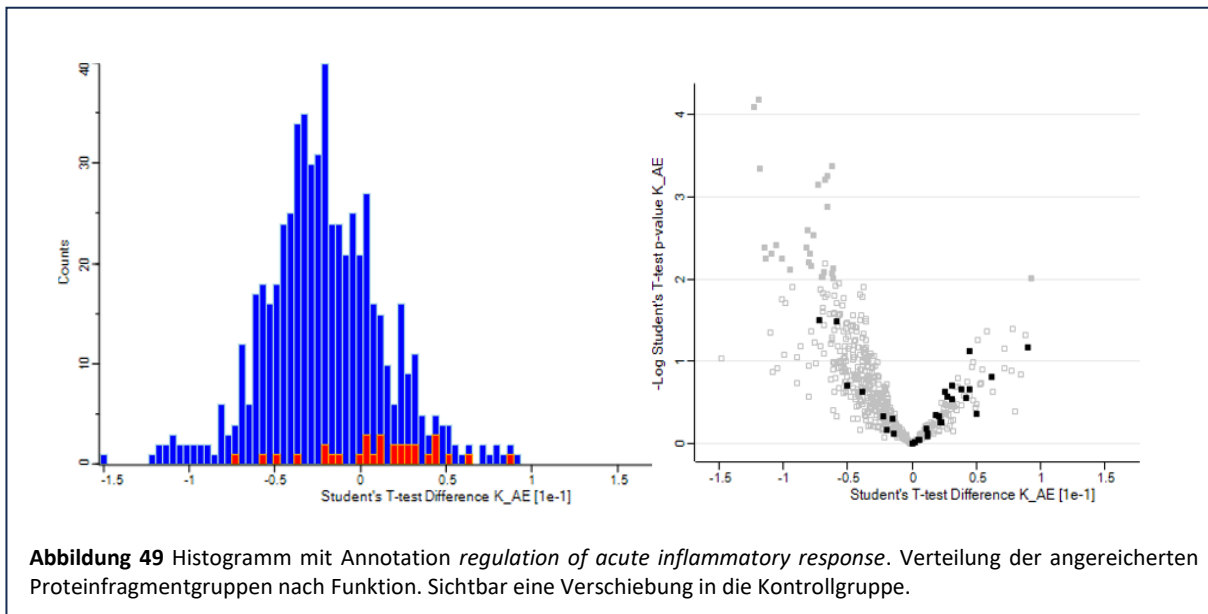
Dies legt nahe, dass eine beeinträchtigte Zellmigration starke Auswirkungen auf die Reagibilität und Regulation des Immunsystems haben. Ebenso scheint die Zellpolarität, welche durch Formerhalt der Zelle unweigerlich mit dem Aufbau des Zytoskelettes verbunden ist, eine elementare Rolle zu spielen. Sie ist mitverantwortlich für eine suffiziente Bindung und Aktivierung der miteinander kommunizierenden Zellen.



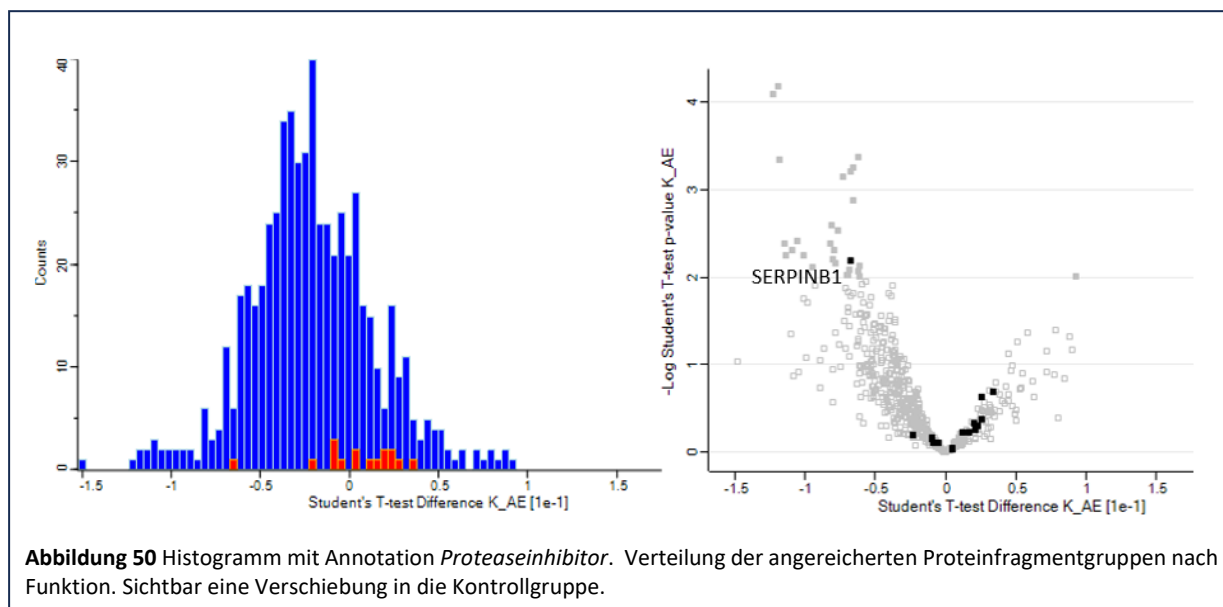


Im Gegensatz dazu zeigt sich eine Erhöhung verschiedener immunologischer Prozesse nur in der Kontrollgruppe. So scheint trotz der fehlenden Hemmung durch TH2-Zellen im Falle einer Allergie insgesamt das immunologische Geschehen nicht zu einem vermehrten Anfluten von beteiligten Stoffen zu führen, was auf den ersten Blick auch eine vermehrte Aktivität des Immunsystems nahelegen würde und damit ebenso eine vermehrte Messbarkeit bestimmter immunologisch gekoppelter Genprodukte und Prozesse bedeuten müsste. Umgekehrt zeigt sich aber in den Enrichment-Analysen eine vermehrte Messbarkeit von Proteinfragmenten in der Kontrollgruppe, die sich in immunologische Prozesse wie das Komplementsystem und das angeborene oder erworbene Immunsystem einordnen lassen. Da nicht bekannt ist wie hoch die „normale“ Nachweisbarkeit dessen ist, kann sowohl von einer Verminderung in der Allergie-Gruppe als auch einer Erhöhung der Kontrollgruppe gesprochen werden. Durch die Annahme, dass sowohl bei Autoimmunität als auch allergischen Erkrankungen eine veränderte immunologische Toleranz durch verminderte Apoptose fälschlich sensibilisierter T-Zellen zustande kommt, erscheint ein Einfluss der veränderten Komplementsystem-Aktivität, der humoralen Immunantwort sowie der Regulation der akuten Immunantwort durchaus schlüssig. So kann beispielsweise das Komplementsystem durch verschiedene Mechanismen durch Zellyse und Porenbildung für Zelluntergang körperschädlicher Zellen sorgen. Damit könnte ein Mechanismus, welcher die „übersensiblen“ T-Zellen eliminiert nur vermindert stattfinden, was fehl gerichtete Immunreaktionen zur Folge haben könnte.





Zusätzlich zeigen sich die Bestandteile der Proteaseinhibitoren in der Kontrollgruppe vermehrt nachweisbar. Dieses ist insofern erstaunlich, da SERPINB1 zu dieser Gruppe gezählt wird. Es kodiert für den Leukozyten Elastaseinhibitor. Dieser ist in den Analysen aber in der Gruppe mit positiver Familienanamnese vermehrt gemessen worden, womit er wie in der Abbildung 50 sichtbar sehr exklusiv steht. Dies könnte auf seine besondere Rolle hinweisen, da sich dieses Enzym anders verhält als die anderen Proteaseinhibitoren wie z.B. die Pasmproteasen, Heparin-Cofaktor oder Antithrombin III. Die genaue Bedeutung dessen ist noch unklar.



## 6 Limitation der Studie

Ein wesentlicher Limitationsfaktor der Studie ist die Generierung der klinischen Daten. Der zugrundeliegende Fragebogen basiert rein auf Selbstangaben und reflektiert somit das Laienverständnis sowie das individuelle Mitteilungsbedürfnis, ohne dass ärztlich bestätigte Diagnosen zugrunde liegen. Das Fehlen einer fachlichen Bewertung und diagnostischer Tests erschwert eine homogene Klassifizierung der Kinder. Dies kann zu einer größeren Varianz in den gemessenen Daten führen, was wiederum die Identifikation statistischer Trends erschwert. Insgesamt waren die gemessenen Intensitätsdifferenzen minimal, wodurch eine größere Stichprobengröße nötig wäre, um aussagekräftigere Ergebnisse zu erzielen.

Im Fragebogen selbst gab es innerhalb des Befragungszeitraums eine Änderung des Dokumentes. So wurden die ersten 250 Kandidaten nicht nach dem Haustierkontakt der Eltern gefragt. Genauso fand keine explizite Erwähnung des anaphylaktischen Schocks statt, sodass dieser nicht gesondert angegeben wurde. Es ist unklar wie viele anaphylaktische Reaktionen unter den Eltern stattgefunden haben, wenn auch gerade in der Krankenakte der Mutter diese vermehrt sein müssten. Auch ist nicht nach dem Symptombeginn der Allergien gefragt worden. Es bleibt unklar, wann welche Allergie aufgetreten ist.

Durch die Sprachbarriere ist unweigerlich ein ethnisches Bias entstanden. Kindern aus anderen Herkunftsländern als Deutschland sind aufgrund der fehlenden Kommunikationsmöglichkeiten mit den Eltern vermindert vertreten. So sind Kinder mit beispielsweise afroamerikanischem Hintergrund und dunkler Hautfarbe mindestens eines Elternteils nur zu 2% unter den teilnehmenden Kindern vertreten. Das Ergebnis lässt sich also nur bedingt auf alle ethnischen Gruppen übertragen. Dies gilt selbstverständlich für jegliche Ethnien und bildet einen fließenden Übergang innerhalb dieser. Für eine flächendeckende Aussagekraft wäre eine ausgewogene Ethnien-Verteilung von Vorteil.

Die Analyse der Proteine erfolgte durch eine Vollblutanalyse, die mithilfe einer Trockenblutkarte gewonnen wurde. Nicht nur durch die reine Anwesenheit von Blutzellen kann eine Verzerrung des Ergebnisses stattfinden. Auch im Prozess der Probengewinnung, Verarbeitung und Konservierung ist eine Zellyse und damit eine Verzerrung der Ergebnisse möglich. Intrazelluläre Proteine können damit fälschlicherweise im Plasma nachgewiesen werden. Dies legt eine verbesserte Analysentiefe und Genauigkeit bei der Analyse von Plasmaproben nahe. So ist auch fraglich, wie sich die Menge an Thrombozyten-

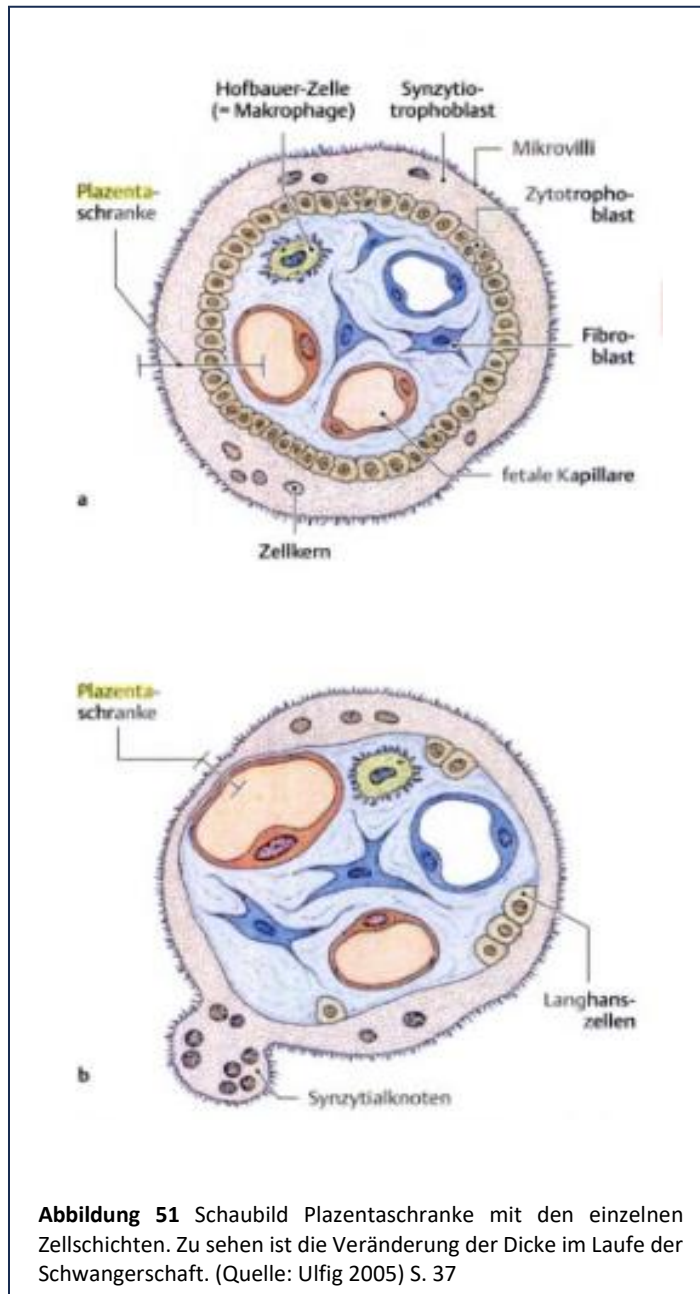
interagierenden Peptiden in einer Vollblutprobe im Verhältnis zu einer Plasmaprobe in Abwesenheit von Thrombozyten verhält. Dies gilt ebenso für die Leukozyten-interagierenden Proteine.

Das Studiendesign hatte zum Zeitpunkt der Studiausführung kein Follow Up vorgesehen. Für eine abschließende Beurteilung der Ergebnisse wären aber Folgeuntersuchungen der Kinder mit einer zweizeitigen Blutentnahme unerlässlich. Die retrospektive Betrachtung der Proteinausprägung von Kindern mit allergischer Erkrankung könnte die gegeneinander ausgewerteten Gruppen weiter kondensieren und eine Nachweisbarkeit der Signifikanz erleichtern. Ebenso ließe sich wie oben genannt klären, ob die Verminderung von PTGER3 in der Gruppe von Kindern mit einer positiven mütterlichen Allergianamnese ein kindeseigenes oder ein auf das Kind übertragenes mütterliches Phänomen ist.

Denn bei der Betrachtung der Proteinkonzentrationen im kindlichen Blut ist zu beachten, dass sowohl in der Schwangerschaft trotz vorhandener Plazentaschranke als auch mit Beginn der Laktation ein erheblicher Übertritt von maternalen Eiweißen jeglicher Art erfolgt, die nicht aus dem Stoffwechsel des Kindes stammen.

Die Plazentaschranke, die zwar maternales und fetales Blut trennt, ist beim Menschen im Gegensatz zu den meisten anderen Säugetieren als „*Plazenta hämochorialis*“ sehr dünn. Mit dem Alter der Plazenta nimmt dabei die Länge der Diffusionsstrecke von sechs auf drei Schichten ab und die Durchlässigkeit erheblich zu, was dem steigenden Bedarf des wachsenden Fetus angepasst ist. Sie besteht im reifen Zustand an Trophoblasten, diesen Stellen, wo die Zottenkapillaren des Fetalkreislaufs direkt an den Synzytiotrophoblasten ihrer Zottenaußenschicht liegen, nur aus einer flachen Lage der vereinigten Basalmembran und den Endothelzellen der Kapillaren, in denen das fetale Blut kreist. Die Zotten schwimmen im maternalen Blut, werden somit direkt von ihm umspült und ermöglichen so ein Höchstmaß an Übertritt von verschiedenen im Blut gelösten Substanzen.

Die dabei für den passiven Stoffaustausch verwendeten Mechanismen sind Diffusion und erleichterte Diffusion, wobei Gase und hydrophile Moleküle mit dem Konzentrationsgefälle durch die Trennschichten treten. Dagegen werden größere oder hydrophobe Moleküle wie Aminosäuren, Glucose, Proteine und Antikörper (IgG) aktiv durch transporter- oder rezeptorvermittelte Transzytose (Pinozytose) durch die Synzytiotrophoblasten geschleust [132]. Aufgrund der verschiedenen Übertrittsmechanismen ist ohne eine gezielte Untersuchung keine Aussage über den möglichen Übertritt von Stoffen durch die Plazenta möglich.



**Abbildung 51** Schaubild Plazentaschranke mit den einzelnen Zellschichten. Zu sehen ist die Veränderung der Dicke im Laufe der Schwangerschaft. (Quelle: Ulfing 2005) S. 37

Auch in der Phase direkt nach der Geburt werden, die im fetalen Blut vorkommenden Proteine noch stark von der Mutter beeinflusst, da das Neugeborene beim Stillen mit der Kollostralmilch über die noch unreife Darmschranke ein weitgefächertes Spektrum an Eiweißen bis hin zu Immunglobulinen aufnehmen kann. Dies erfolgt nur in den ersten 12 – 24 Stunden und ist in Menge und Qualität individuell sehr unterschiedlich. Bei Säugetieren ist dies vor allem vom Allgemeinzustand und vom Zeitpunkt der Milchaufnahme abhängig [133]. Durch die Aufnahme von Immunglobulinen und Laktose wird der Schluss der Darmschranke beschleunigt, während längeres Hungern eine Verlängerung des Intervalls bewirkt [134]. Dabei wird die Resorption der Proteine kurz nach der Geburt durch unreife spezialisierte Zellen im gesamten Dünndarm vorgenommen, die in der Lage sind, große Mengen unveränderter Proteine einzuschleusen



[135]. Diese Aufgabe einer nichtselektiven Pinozytose übernehmen spezielle Zellen, die intrazelluläre Vakuolen bilden, in denen sich die aufgenommenen Makromoleküle befinden und die sie dann über Exostose in das Lymphsystem übertreten lassen. Im Folgenden werden die immaturren, mit Vakuolen durchsetzten Darmzellen durch mature Epithelzellen ersetzt und somit die anfängliche Resorptionsfähigkeit stark herabgesetzt [136]. Beim Fohlen z.B. endet diese Fähigkeit nach 20-24 Stunden und der Dünndarm ist danach für Makromoleküle fast undurchlässig (1%) [137].

Durch das hier durchgeführte Probenentnahmeintervall von 36-72 Stunden könnte also auch das Stillen zu einer deutlichen Beeinflussung der kindlichen Proteinprofile beigetragen haben. Denkbar wäre ein Studiendesign mit Nabelschnurblut. Dementsprechend kommt auch die bereits oben erwähnte (weitere) Blutentnahme nach Ausscheidung und Verfall der mütterlichen Eiweiße im Blut der Kinder zur weiteren Differenzierung in Frage.

Zusätzlich könnte es einen geschlechterspezifischen Unterschied geben. So ist beispielsweise bekannt, dass bis zur Pubertät Jungen von Asthma bronchiale vermehrt betroffen sind, während sich dies nach der Pubertät umkehrt und die jungen Frauen vermehrt erkranken [138]. Dies lässt sich bei vorliegender Kohortengröße nicht nachweisen, könnte jedoch durch eine größere Kohorte ermöglicht werden.

## 7 Ethische Überlegungen

Neben der rein technischen Frage, ob wir es jemals schaffen werden, den individuellen Gesundheitszustand der Kinder vorherzusagen, stellt sich die Frage, ob und warum wir uns diese Information beschaffen sollten. Solange keine Heilung und auch keine Handlungskonsequenz aus der Erkenntnis entsteht, lässt sich über den Nutzen dieses Wissens streiten. Im seit 1969 in Deutschland flächendeckend durchgeführten Neugeborenen-Screening wird explizit nicht auf Erkrankungen getestet, die bisher unheilbar sind. In einem Zeitalter, in dem wir innerhalb von wenigen Stunden aus einer einzigen Zelle das gesamte Genom entschlüsseln können [139], wird weiterhin ein gezieltes Screening bezüglich wenigen Erkrankungen vorgezogen [140]. Dies wurde unter der Annahme entschieden, dass mit dem Wissen über die Erkrankung ohne beeinflussbaren Outcome kein individueller Nutzen entsteht, sondern lediglich eine Last, die zur Lebensqualitätseinschränkung führt. Zusätzlich lässt sich ein Missbrauch einer solchen Information nicht gänzlich ausschließen. Landen wir dann in einer noch leistungsorientierteren Gesellschaft, dessen Kern nochmals mehr der monetären Motivation entspringt? Müssen Menschen, die voraussichtlich kränker werden als andere schon vor Eintreten der Krankheit mehr Versicherungsbeitrag zahlen? Oder enden wir vielleicht sogar in einer Gesellschaft mit noch mehr Allergien durch ängstliche Vermeidung statt gezielter Exposition?

Im Falle von allergischen Erkrankungen ist bisher eine Heilung nicht möglich. Selbst eine suffiziente Prävention ist bisher Wunschdenken. Wir haben über Jahrzehnte Empfehlungen besonders bezüglich der Nahrung im ersten Lebensjahr entwickelt, um das Risiko an einer Erkrankung des allergischen Formenkreises zu senken. Es ist bekannt, dass das ausschließliche Stillen in den ersten Lebensmonaten protektiv wirkt, jedoch eine rechtzeitige Einführung potenter Antigene unerlässlich ist [31]. Die Erkenntnisse unterliegen stetigem Wandel und eine Einhaltung der Empfehlungen schützt nicht vor dem Auftreten einer entsprechenden Erkrankung.

Trotzdem könnte aus dem Wissen über eine allergische Prädisposition in Zukunft eine Handlungskonsequenz entstehen, sodass beispielsweise bei potenziell gefährlicher Exposition von unter anderem Medikamenten mit hohem allergenem Potenzial eine Prämedikation mit antiinflammatorischer Medikation erfolgen könnte, um eine gefährliche allergische Reaktion zu verhindern. Ob unter dieser Medikation auch eine Sensibilisierung verhindert werden kann, scheint fraglich. Jedoch wäre eine Reduktion von besonders erster und damit unerwarteter gefährlicher allergischer Reaktion mit anschließender Hospitalisierung oder geschweige denn akuter letaler Bedrohung wünschenswert.

Zudem herrschen gezielte Empfehlungen für Kinder mit erhöhtem allergischen Risiko wie beispielsweise die gezielte Exposition gegenüber Erdnuss bei Kindern mit atopischer Dermatitis oder das Verwenden hydrolysierter Flaschen-Nahrung bei einer Notwendigkeit des Zufütterns in den ersten Lebensmonaten [31]. So könnte ein Screening auf ein erhöhtes allergisches Potential prädisponierte Kinder gezielter schützen und die präventiven Maßnahmen den vulnerablen Gruppen zugänglich machen.

Ebenso ist ein Fortschreiten der Identifikation von gängigen Antigenen und deren Bedeutung als prädiktiver Faktor in Bezug auf spezifische Sensibilisierungen voranzutreiben, sodass zumindest nach Erstereignis eine zuverlässige Auslöseridentifikation möglich wäre. Dies kann die Sekundärprävention erheblich steigern und zu einer Verbesserung der Lebensqualität der Betroffenen beitragen.

Solange das Wissen um eine Prädisposition nicht oder nur bedingt für suffiziente Prävention oder Heilung verwendet werden kann, sollte es wohl auch bei einer Möglichkeit der Testung bezüglich des allergischen Potenzials eine individuelle Entscheidung sein, dessen Durchführung stets kritisch hinterfragt werden sollte.

## 8 Zusammenfassung

Allergische Erkrankungen stellen ein steigendes Problem im Gesundheitszustand der Bevölkerung dar. Sie haben nicht nur essenzielle Auswirkungen auf die Lebensqualität der Individuen, sondern bilden gleichzeitig einen großen Kostenfaktor innerhalb des Gesundheitssystems ab. Bisher ist es weder möglich, die Erkrankungen des allergischen Formenkreises zu heilen noch eine suffiziente Prävention zu betreiben. Für die Diagnosefindung existieren aktuell keine symptomunabhängigen laborchemischen Parameter und eine Einschätzung des individuellen Erkrankungsrisikos ist kaum möglich.

In der vorliegenden Studie wurde das Blut von Neugeborenen im Alter von 36-72 Lebensstunden im Rahmen der Blutentnahme für das Neugeborenen-Screening massenspektrometrisch untersucht. Eine Einteilung bezüglich des allergischen Risikos wurde anhand eines ausführlichen Fragebogens mithilfe der Eltern ermittelt und die Teilnehmenden so anhand des individuellen Risikos in fünf Gruppen eingeteilt (AE, AM, AV, AA, K). Es fand ein Vergleich der Gruppen gegen die Kontrollgruppe K ohne allergische Erkrankungen in der Familienanamnese statt sowie von den Gruppen untereinander. Zusätzlich wurden die unterschiedlichen Formen der allergischen Erkrankungen (Asthma bronchiale, allergische Rhinokonjunktivitis, atopisches Ekzem, Allergie Typ I, Atopie) mit der Kontrollgruppe verglichen. Es zeigten sich vereinzelte Proteine je nach Vergleich signifikant verändert, sowie Trends bezüglich Proteinausprägungen, die bereits mit der Entstehung und dem Nachweis von Krankheiten des allergischen Formenkreises in Verbindung gebracht wurden.

Hierbei zeigt sich eine Erhöhung einzelner Proteine mit potenziell protektivem Faktor (PPA1, PTGER3) oder potenziell prädisponierendem Faktor (MSN, RAP1B, LCP1, NAPRT, PFN, YWHAZ, ANXA7, TAGLN2, GP1BA, SERPINB1, APOB und weitere). Die Proteine mit messbarem Unterschied gehören hauptsächlich den biologisch wirksamen Gruppen beteiligt an Zellmigration (Aktinpolymerisation) und Zellkommunikation (Lymphozytenaktivierung, Rezeptorbestandteile) an. Eine Verschiebung der Messbarkeit von Proteinen beteiligt an immunologischer Reaktion zeigt sich ebenfalls.

Perspektivisch bilden die vorliegenden Ergebnisse eine Grundlage zur weiteren Vertiefung des pathophysiologischen Verständnisses der Allergogenese, besonders in Bezug auf das individuelle Ereignisrisiko. Auch wenn innerhalb dieser Studie aufgrund der zu geringen Power keine eindeutigen neuen Biomarker gefunden werden konnten, ließen sich verschiedene Tendenzen zeigen, die durch vertiefte Analysen und gezielte Auswertungen mit modifiziertem Studiendesign in der Zukunft erhärtet werden könnten. Dies ist insofern beachtlich, da die Kinder selbst noch keine Erkrankungen des allergischen Formenkreises aufweisen und die

Veränderungen allein durch die genetischen Faktoren sowie Einflüsse innerhalb der Schwangerschaft und ersten Lebensstage, die zu Veränderungen im kindlichen Körper zu geführt haben, zu begründen sind. Mit großflächigeren Analysen des Blutes von Neugeborenen und gezielten follow-up-Studien, bevorzugt ebenfalls mit Blutanalysen, könnten sich durch die neue Dimension der longitudinalen Dynamik die Einflüsse einzelner Fragmente hervorheben und die ständig wachsenden Erkenntnisse intensivieren lassen.

Die massenspektrometrische Analyse scheint hierfür geeignet zu sein, da die geringe Probenmenge in Kombination mit den vielen messbaren Proteinfragmenten eine vielversprechende Kombination darstellt.

Bisher ist die Datenlage zu dünn, um klinische Konsequenzen aus den herausgearbeiteten Erkenntnissen zu ziehen. Klar ist jedoch, dass es einen Bedarf an dem verbessersten Verstehen der Allergogenese gibt, der besonders auf das individuelle Krankheitsrisiko eingehen sollte. Wünschenswert wäre eine Möglichkeit der individuellen Risikoabschätzung, die bei Exposition mit starken Allergenen beispielsweise eine präventive Medikation ergeben könnte oder gar Expositionen gezielt vermeiden könnten. Es wäre denkbar, in Zukunft in das Entstehen der Allergie einzugreifen und eine Sensibilisierung des Individuums zu verhindern. Aktuell scheint dieses noch utopisch, da es erstens zu viele verschiedene Mechanismen mit unterschiedlichen biologischen Prozessen der Allergogenese gibt und zweitens ein individuelles Abschätzen des allergenen Risikos durch das Fehlen zuverlässiger Biomarker vor Erkrankungsbeginn bisher nicht möglich ist. Eine Sensibilisierung lässt sich bisher nicht vorhersagen, aktuell können wir nur den bereits stattgefundenen und irreversiblen Prozess durch die laborchemische Antikörpertestung nachweisen. Doch selbst dies ist wie eingangs erwähnt nicht beweisend für eine Allergie, da eine Sensibilisierung auch ohne Erkrankungsausbruch gemessen werden kann. Von einer präventiven Testung sind wir also noch weit entfernt. Bei einer Prävalenz von Allergien um etwa ein Viertel der Bevölkerung, sollte dies jedoch weiterhin ein Ziel bleiben.

## 9 Anhang

### 9.1 Laborprotokoll

Zur Vorbereitung der Proben wurde eine standardisierte Fläche der Trockenfilterkarte mit einer 14-Gauge Stanze ausgestanzt und anschließend in Eppendorf-Gefäße auf einer 96 Wells Platte überführt. Dort wurden die Proben mit 20 µg reinem Wasser in je einem Eppendorf-Gefäß angereichert, um die Probenbestandteile zu lösen.

Die Probenverarbeitung fand nach dem in-Stage Tip protocol [141] statt, wobei 20 µg des zweimaligen Lysepuffers (80 mM Chloracetmid, 20 mM TCEP, 200 mM Tris, 2 % Glykocholsäure (w/v), pH 8,0) zu den Proben in die Eppendorf-Gefäße gegeben wurde. Zur Reduktion von Disulfidbrücken, Cysteinalkylierung und Proteindenaturierung wurden die Proben bei 95°C für 10 min inkubiert. Die Proben wurden unter Verwendung eines Covaris LE200-plus bei anschließender Digestion mit Trypsin und LysC (Verhältnis 1:100 (µg Enzym zu µg Probenprotein)) bei 37°C für 4 h behandelt. Die Proteinmenge pro Ausstanzung wurde an Testproben auf ~200 µg vorbestimmt.

Der digestive Vorgang wurde mit 100 µl Puffer A (1 % FA in H<sub>2</sub>O) abgeschreckt und 500 ng des Detergenz auf Evotips (Evosep, Odensee, Dänemark) gemäß dem Protokoll des Herstellers aufgetragen.

Die Ausmessung der Proben fand unter Verwendung von LC-MS-Geräten, bestehend aus einem Evosep One-Chromatographiesystem (Evosep, Odensee, Dänemark), das mit einem Exploris 480-Instrument (Thermo Fisher Scientific) mit FAIMS-Schnittstelle (Thermo Fisher Scientific) unter Verwendung eines Nano-Elektrosprays gekoppelt mit einer Ionenquelle (Thermo Fisher Scientific), statt. Die Datenerfassung erfolgte mit einer neuartigen „Phased-Spectrum-Deconvolution-Methode“ (ΦSDM) [142].

Eine hausintern verpackte 15 cm HPLC-Säule (ID: 150 µm; verpackt in eine gezogene Spitze mit ReproSil-Pur C18-AQ 1,9 µm Harz (Dr. Maisch GmbH)) fanden in Kombination mit dem bereitgestellten 44 min 30 SPD Gradienten vom Hersteller Anwendung. Die Säulentemperatur wurde durch einen intern entwickelten Ofen mit einem Peltier-Element auf 60 °C gehalten, und die Parameter wurden in Echtzeit von der SprayQC-Software überwacht [143].

Zur Erfassung von MS-Daten wurde der Scanmodus Data-Independent Acquisition (DIA) für Single-Shot-Patientenproben verwendet, während die fraktionierten Proben des AD-Pools und Nicht-AD-Pools mit einem Top12 Data-Dependent Acquisition (DDA)-Scan erfasst wurden.

Alle Proben wurden mit dem an den MS-Eingang gekoppelten FAIMS-Gerät analysiert, eingestellt auf eine Kompensationsspannung von -45 V, beide Erfassungsschemata wurden

mit dem gleichen Flüssigchromatographieverfahren kombiniert. Das Massenspektrometer wurde mit der Xcalibur-Software (Thermo Fisher) betrieben. Die DDA-Scaneinstellungen auf vollständigem MS-Niveau umfassten eine automatische Zielvorgabe für die Verstärkungsregelung, die auf 300 % im Bereich von 300–1.400 m/z mit einer maximalen Injektionszeit von 25 ms und einer Auflösung von 60.000 bei m/z 200 eingestellt war. An der MS/MS Stufe betrug der Zielwert der automatischen Verstärkungsregelung 200 % bei einer maximalen Injektionszeit von 22 ms und einer Auflösung von 15.000 bei m/z 200. Die Fragmentierung wurde durch hochenergetische C-Trap-Dissoziation (HCD) durchgeführt, die auf 30 % eingestellt war. DIA wurde mit einem vollständigen MS-Ereignis durchgeführt, gefolgt von 60 MS/MS-Fenstern in einem Zyklus. Die vollständigen MS-Einstellungen umfassten einen Zielwert für die automatische Verstärkungsregelung, der auf 300 % im Bereich von 300–1.650 m/z mit einer maximalen Injektionszeit von 50 ms und einer Auflösung von 60.000 bei m/z 200 eingestellt war. DIA-Vorläuferfenster reichten von 349,5 m/z (untere Grenze des ersten Fensters) bis 1650,5 m/z (obere Grenze des 60. Fensters). Die MS/MS-Einstellungen umfassten ein automatisches Verstärkungsregelungsziel, das für das Vorläuferfenster auf 1000 % eingestellt war, mit einer Xcalibur-automatisierten maximalen Injektionszeit und einer Auflösung von 15.000 bei m/z 200.

Aus den massenspektrometrischen Daten der fraktionierten Pools wurde mit der MaxQuant-Software (Version 1.6.1.13) [144] eine DDA-Bibliothek erstellt. Die Spektrenbibliothek wurde verwendet, um die MS-Daten der Single-Shot-Patientenproben in der Spectronaut-Software, Version 14.9.201124.47784 (Biognosys AG), zur endgültigen Proteinidentifizierung und -quantifizierung zu durchsuchen. Alle Suchdurchläufe wurden gegen das humane UniProt-Referenzproteom kanonischer und isoformer Sequenzen mit 93.786 Einträgen durchgeführt, die im März 2018 heruntergeladen wurden. Die Suchen verwendeten Carbamidomethylierung als feste Modifikation und Acetylierung des Protein-N-Terminus, Oxidation von Methioninen und Desamidierung von Asparagin oder Glutamin als variable Modifikationen. Für andere Parameter wurden Standardeinstellungen verwendet. Kurz gesagt wurde eine Trypsin/P-proteolytische Spaltungsregel verwendet, die maximal zwei Fehlsplattungen und eine Peptidlänge von 7–52 Aminosäuren erlaubte.

## 9.2 Einwilligungserklärung



**KLINIKUM**  
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

CAMPUS INNENSTADT | PERINATALZENTRUM  
NEONATOLOGIE DER KINDERKLINIK  
AN DER FRAUENKLINIK MAISTRASSE



# PROTEOM-Studie bei Neu- und Frühgeborenen

## Informationsschrift und Einwilligungserklärung

### Eltern

#### STUDIENLEITER

Prof. Dr. med. Orsolya Genzel-Boroviczény  
Perinatalzentrum – Neonatologie der Kinderklinik  
Dr. von Haunersches Kinderspital  
Kinderklinik und Kinderpoliklinik der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Maistraße 11  
80337 München  
Tel.: 089-4400-54535  
E-Mail: genzel@med.uni-muenchen.de



Sehr geehrte Eltern,

wir bitten Sie um die Teilnahme Ihres Kindes an der Proteom-Studie. Die folgenden Seiten sollen Sie über unsere Studie informieren und darüber, was eine Teilnahme für Sie und Ihr Kind bedeuten würde. Nachdem Sie dieses Schreiben gelesen und mit Ihrem Partner besprochen haben, können Sie sich frei entscheiden, ob Sie teilnehmen möchten.

#### **Warum interessieren wir uns für Proteine?**

Proteine erfüllen im menschlichen Körper die vielfältigsten Funktionen. Es wird immer deutlicher, dass unser Körper auf bestimmte Zustände oder Krankheiten sogar mit „Schutz-Proteinen“ reagieren kann. Zum Proteom von Neugeborenen liegen aber noch kaum Daten vor.

#### **Warum fragen wir Sie?**

Ziel unserer Studie ist es, Zusammenhänge zwischen Erkrankungen – seien sie nun metabolischen, neurologischen, allergischen oder sonstigen Ursprungs – und der Zusammensetzung der Proteine im Blut von Neugeborenen zu finden. Jedes Ergebnis soll mit der Blutzusammensetzung gesunder Neugeborener bzw. Neugeborener ohne familiäre Vorbelastung verglichen werden. Es werden daher sowohl gesunde wie weniger gesunde Kinder als Teilnehmer benötigt.

#### **Die Teilnahme ist freiwillig!**

Ihre Teilnahme und die Ihres Kindes ist freiwillig. Sie können jederzeit, auch ohne Angabe von Gründen, die Teilnahme widerrufen, ohne dass Ihrem Kind oder Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile für die weitere ärztliche Versorgung entstehen würden. Einen Widerruf der Einwilligung bzw. den Rücktritt von der Studie müssten Sie nicht begründen. Im Falle eines Widerrufs werden die bis zu diesem Zeitpunkt erhobenen Daten irreversibel anonymisiert, sodass keine Rückschlüsse auf Ihr Kind mehr möglich sind.

#### **Wie läuft die Studie ab?**

Im Rahmen der Studie erfolgen keine zusätzlichen Blutentnahmen oder Interventionen. Es werden lediglich im Rahmen von routinemäßigen Blutabnahmen 1-2 zusätzliche Blutstropfen entnommen. Schon anhand dieser kleinen Menge Blut kann eine enorme Zahl an Proteinen im Blut Ihres Kindes bestimmt werden. Dabei untersuchen wir:

1. Bei gesunden Neugeborenen: 1-2 Blutstropfen beim Neugeborenen-Screening
2. Bei Frühgeborenen: 1-2 Blutstropfen im Rahmen klinisch notwendiger Blutabnahmen am 1. Lebenstag, beim Neugeborenen-Screening und vor Entlassung
3. Bei Kindern mit Asphyxie: 1-2 Blutstropfen im Rahmen klinisch notwendiger Blutabnahmen am 1. und 2. Lebenstag
4. Bei Kindern mit Infektionen: 1-2 Blutstropfen, abgenommen vor sowie 48h nach Behandlungsbeginn im Rahmen klinisch notwendiger Blutabnahmen

#### **Welche Daten werden erhoben?**

Im Rahmen der Studie sollen auch Daten zum Gesundheitszustand Ihres Kindes erhoben werden. Dies wären u.a. die Diagnose, Laborwerte, sowie eben die Zusammensetzung der Blut-Proteine. Zusätzlich bitten wir Sie als Eltern, einige Fragen zu Ihrem eigenen Gesundheitszustand und dem von engen Familienangehörigen zu beantworten. Diese Daten werden mit einer fortlaufenden Nummer pseudonymisiert und in einer Datenbank gesammelt.

**Gibt es irgendwelche Risiken?**

Da es sich bei der Studie um eine reine Datenerfassung anhand der gesammelten Blutstropfen handelt, bestehen keine studienspezifischen Risiken. Zusätzliche Blutentnahmen nur zum Zwecke dieser Studie wird es nicht geben, lediglich die Entnahme der je 1-2 zusätzlichen Blutstropfen bei ohnehin anstehenden Blutentnahmen.

**Gibt es irgendwelche Vorteile?**

Sie oder Ihr Kind werden keinen unmittelbaren persönlichen Nutzen aus dieser Studie ziehen. Die Studie möchte dazu beitragen, im Allgemeinen mehr über mögliche Schutzfunktionen von Proteinen und deren Zusammenhang mit Erkrankungen unterschiedlicher Art herauszufinden. Dies könnte aber in Zukunft möglicherweise die Behandlung von Patienten mit vergleichbaren Erkrankungen verbessern.

**Wer kann die persönlichen Daten Ihres Kindes einsehen?**

Die zusammengetragenen Studienergebnisse werden streng vertraulich behandelt. Unsere Datenbank wird nur auf den geschützten Rechnern des Klinikums der Universität München gespeichert. Ausschließlich Studienbefugte, also Ihre behandelnden Ärzte, die Studienleitung und die Doktoranden, haben Zugriff auf diese verschlüsselten Daten.

Ihre persönlichen Daten oder die Ihres Kindes werden nie in irgendeiner Form veröffentlicht oder weitergegeben werden. Diejenigen Daten, die keinen Rückschluss auf Ihr Kind zulassen, werden gemeinsam von der Studiengruppe ausgewertet. Im Falle eines Widerrufs Ihrer Einwilligungserklärung würde eine irreversible Anonymisierung aller Daten erfolgen, sodass definitiv keine Rückschlüsse mehr auf Ihr Kind möglich sind – nicht einmal mehr für die Mitglieder der Studiengruppe.

**Wie lange werden die Daten Ihres Kindes aufgehoben?**

Die Behandlungsakten Ihres Kindes werden entsprechend der gesetzlichen Bestimmungen verwahrt, unabhängig von einer Teilnahme an der Studie. Die Unterlagen speziell zu dieser Studie werden nach Abschluss der Kohortenstudie 10 Jahre verwahrt und dann irreversibel anonymisiert.

**Gibt es ein Follow-Up?**

Bei unserer Studie gibt es kein klassisches Follow-Up. D.h., dass es nach Ihrem Krankenhausaufenthalt keine weiteren Termine, Untersuchungen, Blutentnahmen o.Ä. als Verlaufsbeobachtung geben wird. Wir bitten Sie dennoch um Ihre Erlaubnis, Sie unter Umständen kontaktieren zu dürfen, um Sie in knapper Form zur Entwicklung Ihres Kindes zu befragen.

**Gibt es einen speziellen Versicherungsschutz?**

Für die Studie besteht keine Patientenversicherung, da im Rahmen der Studie keine Intervention erfolgt.

**Bei offen gebliebenen Fragen können Sie sich gerne jederzeit an uns wenden!**

**Datenschutz**

Bei dieser Studie werden die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten erhoben, gespeichert und verschlüsselt (pseudonymisiert) ausgewertet, d.h. weder der Name noch die Initialen oder das Geburtsdatum erscheinen im Verschlüsselungscode.

Im Falle des Widerrufs Ihrer Einwilligung bzw. 10 Jahre nach Abschluss der Kohortenstudie werden die gespeicherten Daten irreversibel anonymisiert und die Originalunterlagen vernichtet.

Eine Entschlüsselung erfolgt lediglich in Fällen, in denen es die Sicherheit Ihres Kindes erfordert („medizinische Gründe“) oder falls es zu Änderungen in der wissenschaftlichen Fragestellung kommt („wissenschaftliche Gründe“).

Sie haben jederzeit die Möglichkeit, Auskunft über die Ihr Kind betreffenden personenbezogenen Daten zu erhalten sowie ggf. deren Berichtigung oder Löschung zu verlangen.

Im Falle von Veröffentlichungen der Studienergebnisse bleibt die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährleistet.

Bei Beschwerden bzgl. des Datenschutzes haben Sie die Möglichkeit, sich an die Datenschutzaufsichtsbehörde zu wenden.

**Datenschutzverantwortliche:**

Datenschutzbeauftragter zentral:  
Gerhard Mayer, Behördlicher  
Datenschutzbeauftragter,  
Pettenkoflerstrasse 8, 80336 München  
Tel. 089/4400-58454, Fax -58452  
datenschutz@med.uni-muenchen.de

Datenschutzaufsichtsbehörde:  
Prof. Dr. T. Petri, Bayerische Landesbeauftragte  
für den Datenschutz  
Postfach 22 12 19, 80502 München  
Wagnmüllerstraße 18, 80538 München  
Tel. 089 212672-0, Fax 089 212672-50  
poststelle@datenschutz-bayern.de

Datenschutzbeauftragter lokal:  
Prof. Dr. Johannes Hübner  
Dr. von Haunersches Kinderspital  
Johannes.huebner@med.uni-muenchen.de



CAMPUS INNENSTADT | PERINATALZENTRUM  
NEONATOLOGIE DER KINDERKLINIK  
AN DER FRAUENKLINIK MAISTRASSE



## Einwilligungserklärung

### PROTEOM-Studie bei Neu- und Frühgeborenen

Wir wurden gebeten, dass unser Kind an der Proteom-Studie zur Untersuchung einer möglichen Korrelation zwischen der Protein-Zusammensetzung im Blut unseres Kindes mit verschiedenen Erkrankungen teilnimmt. Der Zweck der Teilnahme wurde uns erklärt. Wir wurden über mögliche Vorteile und Risiken einer Teilnahme informiert. Wir hatten Gelegenheit, Fragen zu dem Projekt zu stellen und haben auf diese ausreichend Antworten bekommen. Wir sind uns bewusst, dass unsere Teilnahme freiwillig ist und wir jederzeit ohne besondere Begründung unsere Zustimmung widerrufen können. Daraus entsteht uns und insbesondere unserem Kind kein Nachteil. Die Ethikkommission des Fachbereiches Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität hat der Durchführung zugestimmt.

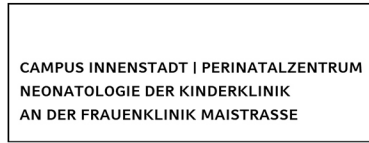
Bei dieser Studie werden die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten und Befunde erhoben, gespeichert und in pseudo-nymisierter Form nach Maßgabe der Patientenaufklärung ausgewertet.

Wir/Ich, \_\_\_\_\_ (Name/n)

- sind/bin mit der Erhebung und Verwendung persönlicher Daten und Befunddaten nach Maßgabe der Patienteninformation einverstanden und nehme/n an der Studie teil.
- lehne/n die Teilnahme ab.

Name des Kindes	
Geburtsdatum: (T)   _____   (M)   _____   (J)   _____	
Name der Mutter	Unterschrift der Mutter
	Datum (heute): (T)   _____   (M)   _____   (J)   _____
Name des Vaters	Unterschrift des Vaters
	Datum (heute): (T)   _____   (M)   _____   (J)   _____
Name der Person, die das Aufklärungsgespräch geführt hat	Unterschrift der aufklärenden Person
	Datum (heute): (T)   _____   (M)   _____   (J)   _____

## 9.3 Fragebogen



### Vorwort

Vielen Dank, dass Sie sich die Zeit nehmen, folgenden Fragebogen zu unserer Proteom-Studie bei Neu- und Frühgeborenen auszufüllen. Sie werden dafür lediglich etwa **5-15 Minuten** benötigen.

Zum Zwecke der Vollständigkeit unserer Datenerhebung möchten wir Sie darum bitten, auch bei nicht-zutreffenden Sachverhalten die freien Felder **durchzustreichen** bzw. „**Nein**“ anzukreuzen. Dadurch können wir diejenigen Dinge, die nicht zutreffen, besser von jenen unterscheiden, zu denen Sie tatsächlich keine Angaben machen konnten oder wollten.

In unsere finale Datenauswertung werden alle Ihre Angaben ausschließlich in streng **pseudonymisierter** Form eingehen. Alles, was Sie uns im Rahmen der Studie mitteilen, unterliegt der **ärztlichen Schweigepflicht**.

Bei Fragen stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

### Angaben zur Person (Mutter)

Name, Vorname ..... Geburtsdatum .....

### Gesundheit von Mutter und Vater

1. Ist bei Ihnen, der Mutter des Babys bzw. dem (leiblichen) Vater, jemals eine der folgenden Erkrankungen von einem Arzt diagnostiziert worden? Wenn ja welche?

	<b>Mutter</b>	<b>Vater</b>
- Herz-Kreislauf-Erkrankungen	.....	.....
- Diabetes mellitus	Typ 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
- Schilddrüsenerkrankungen	.....	.....
- Gerinnungsstörungen	.....	.....
- Herpes simplex (z.B. Lippenherpes)	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
- Autoimmunerkrankungen (z.B. Rheumatoide Arthritis)	.....	.....
- Magen-Darmerkrankungen (M. Crohn, ulzerative Colitis)	.....	.....
- Erbkrankheiten	.....	.....
Falls eine Erbkrankheit vorliegt: Sind Sie mit dem Vater des Kindes verwandt?		
Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Wie? (z.B. Cousin 3. Grades) .....		
- Sonstige Erkrankungen (z.B. Stoffwechsel-/neurolog. Erkr.)	.....	.....

2. Wurde jemals eine der folgenden Erkrankungen bei Ihnen oder dem Vater des Kindes von einem Arzt diagnostiziert?

	<b>Mutter</b>	<b>Vater</b>
Allergisches Asthma	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
Ekzem/Neurodermitis	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
Heuschnupfen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
Welches Allergen? .....	.....	.....
Sonstige bekannte Allergien / Unverträglichkeiten	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>
Welche? .....	.....	.....



3. Falls Sie, die Mutter, an einer allergischen Erkrankung leiden (Heuschnupfen, allergisches Asthma bronchiale, Neurodermitis/atopische Dermatitis/endogenes Ekzem), waren die Symptome **während der Schwangerschaft** verändert?

- Nein, gleich  Weniger/schwächere Symptome  Mehr/stärkere Symptome   
Keine Allergie (o.Ä.)

### Krankheiten in der Familie

mütterlicherseits

1. Wurde bei **einem Ihrer Verwandten** (Verwandte der Mutter) eine der folgenden Erkrankungen von einem Arzt diagnostiziert? (Eltern, Geschwister)

Allergie / Unverträglichkeit	Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
Allergisches Asthma	Ja	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>		
Neurodermitis	Ja	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>		
Diabetes	Ja	<input type="checkbox"/>	Typ 1	<input type="checkbox"/> Bei wem? .....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Typ 2 <small>(= „Altersdiabetes“)</small>	<input type="checkbox"/> Bei wem? .....
Erbkrankheiten	Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
Andere	Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....

väterlicherseits

2. Wurde bei einem **Verwandten des Vaters** des Kindes eine der folgenden Erkrankungen von einem Arzt diagnostiziert? (Eltern, Geschwister)

Allergie / Unverträglichkeit	Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
Allergisches Asthma	Ja	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>		
Neurodermitis	Ja	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>		
Diabetes	Ja	<input type="checkbox"/>	Typ 1	<input type="checkbox"/> Bei wem? .....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Typ 2 <small>(= „Altersdiabetes“)</small>	<input type="checkbox"/> Bei wem? .....
Erbkrankheiten	Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....
Andere	Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
	Nein	<input type="checkbox"/>	Bei wem?	.....

## Gynäkologische Fragen

1. Wie viel haben Sie **vor** Beginn der Schwangerschaft gewogen? ..... kg
2. In welchem Alter hatten Sie das erste Mal Ihre Menstruationsblutung? ..... Jahre
3. Wie lange dauert Ihr durchschnittlicher **Zyklus** (vom 1. Tag Ihrer Regelblutung bis zum 1. Tag der nächsten Regelblutung)? ..... Tage
4. Haben Sie die **Pille** eingenommen?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Für wie lange?	..... Jahre
		Einnahme wurde beendet vor:	..... Jahr(en)
Nein	<input type="checkbox"/>	Name des zuletzt verwendeten Präparats:	.....
5. Haben Sie **andere** hormonelle oder pharmakologische Verhütungsmaßnahmen angewendet?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Für wie lange?	..... Jahre
		Art der Verhütungsmethode	.....
Nein	<input type="checkbox"/>		
6. Hatten Sie bereits relevante **gynäkologische Voroperationen**?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
		Wie viele?	.....
Nein	<input type="checkbox"/>		

## Das Jahr **VOR** der Schwangerschaft

1. Wurden Sie im Jahr vor Ihrer Schwangerschaft **geimpft**?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Welche Impfung(en)?	.....
Nein	<input type="checkbox"/>		
2. Haben Sie im Jahr vor Ihrer Schwangerschaft **Medikamente** eingenommen, darunter evtl. Schmerz- oder Schlafmittel, Vitamine oder Mineralstoffe? Wenn ja, welche? (Name des Präparats, falls möglich)
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Medikamente	.....
		Schmerzmittel	.....
		Schlafmittel	.....
		Vitaminpräparate	.....
		Folsäure	.....
		Mineralstoffe	.....
Nein	<input type="checkbox"/>		
3. Hatten Sie im Jahr vor Ihrer Schwangerschaft **Operationen** jeglicher Art?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Welche?	.....
Nein	<input type="checkbox"/>		
4. Haben Sie im Jahr vor Ihrer Schwangerschaft eine größere **Reise** ins Ausland unternommen?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Wohin?	.....
Nein	<input type="checkbox"/>	Wann? Wie viele Monate etwa vor Beginn der Schw.? .....	

[3]

## Schwangerschaftsverlauf

1. Wurden Sie während Ihrer Schwangerschaft **geimpft**?  
Ja  Welche Impfung(en)? .....  
Nein
2. Haben Sie während Ihrer Schwangerschaft **Medikamente** eingenommen, darunter evtl. Schmerz- oder Schlafmittel, Vitamine oder Mineralstoffe? Wenn ja, welche? (Name des Präparats, falls möglich)  
Ja  Medikamente .....  
Schmerzmittel .....  
Schlafmittel .....  
Vitaminpräparate .....  
Folsäure .....  
Mineralstoffe .....  
Nein
3. Hatten Sie während Ihrer Schwangerschaft (über die üblichen Vorsorgeuntersuchungen hinaus) irgendwelche **medizinischen Eingriffe**?  
Ja  Welche? .....  
Nein
4. Mussten Sie während Ihrer Schwangerschaft **stationär** in einem Krankenhaus aufgenommen werden?  
Ja  Ursache? .....  
Nein
5. Haben Sie während der Schwangerschaft in **städtischem** oder **ländlichem** Umfeld gelebt?  
städtisch  ländlich  gemischt   
Seit wie vielen Jahren leben Sie bereits in dieser Umgebung? ..... Jahre
6. Haben Sie während Ihrer Schwangerschaft eine größere **Reise** ins Ausland unternommen?  
Ja  Wohin? .....  
Nein  Wann? 1. Drittel  2. Drittel  3. Drittel  der Schw.

## Überblick Schwangerschaften

(War dies Ihre allererste Schwangerschaft überhaupt? Ja?  Dann können Sie dieses Kapitel überspringen.)

1. Waren unter allen Ihren bisherigen Schwangerschaften auch Zwillings- bzw. Drillings- oder Vierlings-Geburten?  
Ja  ..... Zwillingsgeburt ..... Drillingsgeburt ..... Vierlingsgeburt  
Nein
2. Wie viele Ihrer Kinder kamen **zu früh** auf die Welt (vor der 37. Schwangerschaftswoche, einschließlich Ihres gerade geborenen Kindes)?  
..... Frühgeburten Keine
3. Wie haben Sie Ihre Kinder geboren (einschließlich Ihres gerade geborenen Kindes)?  
Anzahl Spontangeburt ..... Zangengeburt/Vakuumextraktionen ..... Kaiserschnitte .....

[4]



4. Hatten Sie bereits einen Abort, eine stille Geburt oder eine Bauchhöhlenschwangerschaft?
- Ja  Anzahl ..... Abort ..... Stille Geburt ..... Bauchhöhlenschw.  
 Nein

5. Falls es leibliche Geschwister gibt, wie viele? ..... Mädchen ..... Jungen

6. Leidet eines bzw. mehrere dieser Geschwister an einer von einem Arzt diagnostizierten **Grunderkrankung?** (Wenn keine Geschwister, überspringen Sie Frage 6)

Allergie / Unverträglichkeit	Ja <input type="checkbox"/>	Welche? .....
	Nein <input type="checkbox"/>	Bei wem? .....
Asthma	Ja <input type="checkbox"/>	Bei wem? .....
	Nein <input type="checkbox"/>	
Neurodermitis	Ja <input type="checkbox"/>	Bei wem? .....
	Nein <input type="checkbox"/>	
Diabetes	Ja <input type="checkbox"/>	Typ 1 <input type="checkbox"/> Bei wem? .....
	Nein <input type="checkbox"/>	Typ 2 <input type="checkbox"/>
Erbkrankheiten	Ja <input type="checkbox"/>	Welche? .....
	Nein <input type="checkbox"/>	Bei wem? .....
Andere	Ja <input type="checkbox"/>	Welche? .....
	Nein <input type="checkbox"/>	Bei wem? .....

### Reproduktionsmedizin

1. Haben Sie bei diesem Kind medizinische Hilfe in Anspruch genommen, um schwanger zu werden?

Nein  (Wenn nein, können Sie dieses Kapitel überspringen)

Ja   Gesamtzahl Versuche/eingesetzte Embryonen

<input type="checkbox"/> Ausschließlich Hormontherapie	...../.....
<input type="checkbox"/> In-vitro- Fertilisation (IVF)	...../.....
<input type="checkbox"/> Intra-zytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)	...../.....
<input type="checkbox"/> Testikuläre Spermienextraktion mit ICSI (TESE)	...../.....
<input type="checkbox"/> Mikrochir. epididymale Spermatozoenaspiration mit ICSI (MESA)	...../.....

2. Falls eine Form der künstlichen Befruchtung stattgefunden hat, stammte der Samen von Ihrem Mann?

Ja  Nein, von einem Spender  Keine künstliche Befr.

3. Haben Sie im Rahmen der Maßnahmen eine Hormontherapie erhalten?

Ja  Welche? / Name des Präparats .....

Nein

4. Hat der Vater des Kindes im Rahmen der Maßnahmen eine Hormontherapie erhalten?

Ja  Welche? / Name des Präparats .....

Nein

## Konsumverhalten

- Sind Sie oder Ihr Mann **Raucher**?
 

Nicht-Raucher	Mutter	<input type="checkbox"/>	Vater	<input type="checkbox"/>
Ehemaliger Raucher	Mutter	<input type="checkbox"/>	Vater	<input type="checkbox"/>
Raucher	Mutter	<input type="checkbox"/>	Vater	<input type="checkbox"/>

*(Sollten Sie beide schon immer Nicht-Raucher gewesen sein, springen Sie zu Frage 6)*
- Haben Sie, die Mutter, (jemals) **vor** der Schwangerschaft geraucht?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Wie viele Zigaretten? .....	pro Tag / .....	pro Woche
		Wie viele Jahre haben Sie geraucht? .....	Jahre	
Ggf.: Wann haben Sie mit dem Rauchen aufgehört? Vor .....	Jahren			
Nein	<input type="checkbox"/>			
- Haben Sie, die Mutter, **während** der Schwangerschaft geraucht?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Wie viele Zigaretten pro Tag? .....	pro Tag / .....	pro Woche
Nein	<input type="checkbox"/>			
- Wurde in Ihrer **Wohnung** / Ihrem **Haus** in den letzten 12 Monaten geraucht? Zigaretten die auf dem Balkon / der Terasse geraucht wurden, sollen nicht mitgezählt werden.
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Anzahl der Zigaretten pro Tag	.....	pro Tag
		Davon Mutter	.....	pro Tag
		Davon Partner	.....	pro Tag
		Davon andere	.....	pro Tag
Nein	<input type="checkbox"/>			
- Wurde **zuvor** in Ihrer Wohnung / Ihrem Haus geraucht, in den letzten 12 Monaten jedoch nicht mehr?
 

Ja, bis vor 12 Monaten wurde im Haushalt geraucht	<input type="checkbox"/>
Nein, es wurde auch in den letzten 12 Monaten geraucht	<input type="checkbox"/>
Ich/wir habe/n nie in der Wohnung / im Haus geraucht	<input type="checkbox"/>
- Haben Sie **vor** Beginn der Schwangerschaft regelmäßig Alkohol konsumiert?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Anzahl der alkoholischen Getränke	.....	pro Tag / .....	pro Woche
Nein	<input type="checkbox"/>				
- Haben Sie **während** der Schwangerschaft regelmäßig Alkohol konsumiert?
 

Ja	<input type="checkbox"/>	Anzahl der alkoholischen Getränke	.....	pro Tag / .....	pro Woche
Nein	<input type="checkbox"/>				

## Tierkontakte

- Sind Sie zeitweise mit Haustieren / engem Tierkontakt aufgewachsen? Mutter  Vater  Nein
  - Gab es im Jahr **vor** der Schw. ein Haustier in Ihrem Haushalt? .....
  - Gab es **während** der Schw. ein Haustier in Ihrem Haushalt? .....
  - Haben Sie, die **Mutter**, beruflich oder in Ihrer Freizeit mit Tieren zu tun? .....
  - Hat der **Vater** beruflich oder in seiner Freizeit mit Tieren zu tun? .....
- Ggf.: Ihr Kommentar zum Thema Tierkontakte: .....

[6]

## Allgemeine Fragen

Die Fragen 1-4 beziehen sich v.a. auf Ihre ethnische **Abstammung**, weniger auf Ihre Staatsangehörigkeit.  
 (wenn immer gleich, gerne Abkürzungen verwenden)

mütter-  
licherseits

1. In welchem Land wurden **Sie** geboren? Mutter .....
2. In welchem Land wurden Ihre **Eltern** geboren? Großmutter .....  
 Großvater .....

väter-  
licherseits

3. In welchem Land wurde der **Vater** des Kindes geboren? Vater .....
4. In welchem Land wurden die **Eltern** des Vaters geboren? Großmutter .....  
 Großvater .....

5. Was sind Sie von **Beruf**?

Mutter ..... Vater .....

6. Welchen **Bildungsweg** haben Sie genommen?

	Mutter	Vater
Kein Schulabschluss	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mittelschule	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mittlere Reife	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Fach-)Abitur	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Fach-)Hochschule, Universität	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anderer Bildungsweg	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## Fragen zum Vater

1. Größe des Vaters ..... , ..... m
2. Gewicht des Vaters ..... kg
3. Alter des Vaters ..... Jahre

## Abschlussfrage

Wenn Sie die hinter Ihnen liegende Schwangerschaft auf einer Skala von 1 („keine Belastung“) bis 10 („unerträgliche Belastung“) bewerten müssten, welche Punktzahl würden Sie vergeben? .....

## Nachwort

Wir möchten uns herzlich für Ihre Geduld und Gewissenhaftigkeit bei der Beantwortung unseres Fragebogens bedanken. Ihnen und Ihrem neuen Familienmitglied wünschen wir von Herzen alles Gute für Ihre gemeinsame Zukunft!

Optional: Ihre E-mail-Adresse für evtl. Rückfragen: .....

Möchten Sie in ca. 2 Jahren per E-Mail über Ergebnisse unserer Studie informiert werden? Ja  Nein

[7]

## 10 Literaturverzeichnis

1. Akinbami, L.J., A.E. Simon, and K.C. Schoendorf, *Trends in allergy prevalence among children aged 0-17 years by asthma status, United States, 2001-2013*. Journal of Asthma, 2016. **53**(4): p. 356-362.
2. Jackson, K.D., L.D. Howie, and L.J. Akinbami, *Trends in allergic conditions among children: United States, 1997-2011*. NCHS Data Brief, 2013(121): p. 1-8.
3. Klimek, L., C. Vogelberg, and T. Werfel, *Gleitwort*, in *Weißbuch Allergie in Deutschland*, L. Klimek, C. Vogelberg, and T. Werfel, Editors. 2019, Springer: Berlin, Heidelberg. p. 9-11.
4. Thamm, R., et al., *Allergische Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland – Querschnittergebnisse aus KiGGS Welle 2 und Trends*. Journal of Health Monitoring, 2018. **3**(3): p. 3-18.
5. Savage, J. and C.B. Johns, *Food allergy: epidemiology and natural history*. Immunology and allergy clinics of North America, 2015. **35**(1): p. 45-59.
6. Anagnostou, K., *Anaphylaxis in Children: Epidemiology, Risk Factors and Management*. Current pediatric reviews, 2018. **14**(3): p. 180-186.
7. Sicherer, S.H., et al., *US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up*. The Journal of allergy and clinical immunology, 2010. **125**(6): p. 1322-1326.
8. Renz, H., *Immunologische Grundlagen*, in *Weißbuch Allergie in Deutschland*, L. Klimek, C. Vogelberg, and T. Werfel, Editors. 2019, Springer: Berlin, Heidelberg. p. 21-26.
9. Kardas, G., P. Kuna, and M. Panek, *Biological Therapies of Severe Asthma and Their Possible Effects on Airway Remodeling*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 1134.
10. Worm, M., *Anaphylaxie*, in *Weißbuch Allergie in Deutschland*, L. Klimek, C. Vogelberg, and T. Werfel, Editors. 2019, Springer: Berlin, Heidelberg. p. 101-109.
11. Moneret-Vautrin, D.A., et al., *Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review*. Allergy, 2005. **60**(4): p. 443-51.
12. LoVerde, D., et al., *Anaphylaxis*. Chest, 2018. **153**(2): p. 528-543.
13. Ring, J., et al., *Leitlinie zu Akuttherapie und Management der Anaphylaxie - Update 2021*. Allergo J, 2021. **30**(1): p. 20-49.
14. Braganza, S.C., et al., *Paediatric emergency department anaphylaxis: different patterns from adults*. Archives of disease in childhood, 2006. **91**(2): p. 159-63.
15. Warren, C.M., J. Jiang, and R.S. Gupta, *Epidemiology and Burden of Food Allergy*. Curr Allergy Asthma Rep, 2020. **20**(2): p. 6.
16. Descotes, J. and G. Choquet-Kastylevsky, *Gell and Coombs's classification: is it still valid?* Toxicology, 2001. **158**(1-2): p. 43-49.
17. Ring, J., *Allergische Krankheitsbilder: Einführung*, in *Weißbuch Allergie in Deutschland*, L. Klimek, C. Vogelberg, and T. Werfel, Editors. 2019, Springer: Berlin, Heidelberg. p. 98-100.
18. Wahn, U., et al., *Allergische Erkrankungen*, in *Kinder- und Jugendmedizin*, B. Koletzko, Editor. 2013, Springer: Berlin, Heidelberg.
19. Durham, S.R., *The inflammatory nature of allergic disease*. Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 1998. **28 Suppl 6**: p. 20-24.
20. Moffatt, M.F., et al., *Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma*. Nature, 2007. **448**(7152): p. 470-3.
21. Unoki, M., et al., *Association studies of 33 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 29 candidate genes for bronchial asthma: positive association a T924C polymorphism in the thromboxane A2 receptor gene*. Human Genetics, 2000. **106**(4): p. 440-6.
22. Ortiz, R.A. and K.C. Barnes, *Genetics of allergic diseases*. Immunology and allergy clinics of North America, 2015. **35**(1): p. 19-44.

23. Holloway, J.W., I.A. Yang, and S.T. Holgate, *Genetics of allergic disease*. The Journal of allergy and clinical immunology, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. 81-94.
24. Stocker, C.J. and M.A. Cawthorne, *The influence of leptin on early life programming of obesity*. Trends Biotechnol, 2008. **26**(10): p. 545-51.
25. Ravelli, G.P., Z.A. Stein, and M.W. Susser, *Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy*. N Engl J Med, 1976. **295**(7): p. 349-53.
26. Renz-Polster, H., et al., *Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood*. Clin Exp Allergy, 2005. **35**(11): p. 1466-72.
27. Uldbjerg, C.S., et al., *Antibiotic exposure during pregnancy and childhood asthma: a national birth cohort study investigating timing of exposure and mode of delivery*. Archives of Disease in Childhood, 2021.
28. Schäfer, T., et al. *S3-Leitlinie Allergieprävention - Update 2014*. 2015 17.09.2022]; Available from: [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/061-016l\\_S3\\_Allergiepr%C3%A4vention\\_2014-07-abgelaufen.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/061-016l_S3_Allergiepr%C3%A4vention_2014-07-abgelaufen.pdf).
29. Strachan, D.P. and D.G. Cook, *Health effects of passive smoking. 6. Parental smoking and childhood asthma: longitudinal and case-control studies*. Thorax, 1998. **53**(3): p. 204-12.
30. Peters, U., A.E. Dixon, and E. Forno, *Obesity and asthma*. J Allergy Clin Immunol, 2018. **141**(4): p. 1169-1179.
31. DGKJ, D. *S3-Leitlinie Allergieprävention*. 2021 01.10.2023]; Available from: <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/061-016>.
32. Strachan, D.P., *Hay fever, hygiene, and household size*. BMJ (Clinical research ed.), 1989. **299**(6710): p. 1259-1260.
33. Schaub, B., R. Lauener, and E. von Mutius, *The many faces of the hygiene hypothesis*. The Journal of allergy and clinical immunology, 2006. **117**(5): p. 969-977.
34. Haahtela, T., *A biodiversity hypothesis*. Allergy, 2019. **74**(8): p. 1445-1456.
35. Rook, G.A., *Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis*. Immunology, 2009. **126**(1): p. 3-11.
36. Kukkonen, A.K., et al., *Ara h 2 and Ara 6 are the best predictors of severe peanut allergy: a double-blind placebo-controlled study*. Allergy, 2015. **70**(10): p. 1239-45.
37. Worm, M., et al., *Update Leitlinie zum Management IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien*. Allergologie, 2021. **44**(7/2021): p. 488-541.
38. Mori, F., et al., *Oral Immunotherapy for Food-Allergic Children: A Pro-Con Debate*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 636612.
39. Akdis, M. and C.A. Akdis, *Mechanisms of allergen-specific immunotherapy*. J Allergy Clin Immunol, 2007. **119**(4): p. 780-791.
40. Allam, J.P., et al., *Phl p 5 resorption in human oral mucosa leads to dose-dependent and time-dependent allergen binding by oral mucosal Langerhans cells, attenuates their maturation, and enhances their migratory and TGF-beta1 and IL-10-producing properties*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **126**(3): p. 638-645.e1.
41. Nouri-Aria, K.T., et al., *Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity*. J Immunol, 2004. **172**(5): p. 3252-3259.
42. Pfaar, O., et al., *Guideline on allergen-specific immunotherapy in IgE-mediated allergic diseases: S2k Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI), the Society for Pediatric Allergy and Environmental Medicine (GPA), the Medical Association of German Allergologists (AeDA), the Austrian Society for Allergy and Immunology (ÖGAI), the Swiss Society for Allergy and Immunology (SGAI), the German Society of Dermatology (DDG), the German Society of Oto- Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery (DGHNO-KHC), the German Society of Pediatrics and Adolescent Medicine (DGKJ), the Society for Pediatric Pneumology (GPP), the German Respiratory Society (DGP), the German Association of ENT Surgeons (BV-HNO), the Professional Federation of Paediatricians and Youth Doctors (BVKJ), the Federal Association of Pulmonologists (BDP) and the German Dermatologists Association (BVDD)*. Allergo journal international, 2014. **23**(8): p. 282-319.

43. Akdis, M., et al., *Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells*. *J Exp Med*, 2004. **199**(11): p. 1567-75.
44. Andrews, A.G., *Estimation of amniotic fluid phospholipids by high-performance liquid chromatography*. *J Chromatogr*, 1984. **336**(1): p. 139-150.
45. Dethloff, L.A., L.B. Gilmore, and G.E. Hook, *Separation of pulmonary surfactant phospholipids by high-performance liquid chromatography*. *J Chromatogr*, 1986. **382**: p. 79-87.
46. Falkenby, L.G., et al., *Integrated solid-phase extraction-capillary liquid chromatography (speLC) interfaced to ESI-MS/MS for fast characterization and quantification of protein and proteomes*. *J Proteome Res*, 2014. **13**(12): p. 6169-75.
47. Bache, N., et al., *A Novel LC System Embeds Analytes in Pre-formed Gradients for Rapid, Ultra-robust Proteomics*. *Mol Cell Proteomics*, 2018. **17**(11): p. 2284-2296.
48. Aebersold, R. and M. Mann, *Mass spectrometry-based proteomics*. *Nature*, 2003. **422**(6928): p. 198-207.
49. Geyer, P.E., et al., *Plasma Proteome Profiling to detect and avoid sample-related biases in biomarker studies*. *EMBO Mol Med*, 2019. **11**(11): p. e10427.
50. Wewer Albrechtsen, N.J., et al., *Plasma Proteome Profiling Reveals Dynamics of Inflammatory and Lipid Homeostasis Markers after Roux-En-Y Gastric Bypass Surgery*. *Cell Syst*, 2018. **7**(6): p. 601-612.e3.
51. Tyers, M. and M. Mann, *From genomics to proteomics*. *Nature*, 2003. **422**(6928): p. 193-197.
52. Tyanova, S., et al., *The Perseus computational platform for comprehensive analysis of (prote)omics data*. *Nature Methods*, 2016. **13**(9): p. 731-740.
53. Wüthrich, et al., *Das atopische Ekzem: Neue pathophysiologische Konzepte und exogene Provokationsfaktoren*. *Dtsch Arztebl International*, 1997. **94**.
54. Statistisches Bundesamt (Destatis). *Lebendgeborene: Bundesländer, Jahre, Geschlecht*. 2020 07/03/2021]; Available from: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=abruftabelleBearbeiten&levelindex=1&levelid=1615127009074&auswahloperation=abruftabelleAuspraegungAuswaehlen&auswahlverzeichnis=ordnungsstruktur&auswahlziel=werteabruf&code=12612-0100&auswahltext=&werteabruf=Werteabruf#abreadcrumb>.
55. Kiserud, T., et al., *The World Health Organization Fetal Growth Charts: A Multinational Longitudinal Study of Ultrasound Biometric Measurements and Estimated Fetal Weight*. *PLOS Medicine*, 2017. **14**(1): p. e1002220.
56. Statistisches Bundesamt (Destatis). *Durchschnittliches Alter der Mutter bei der Geburt ihrer lebend geborenen Kinder: Deutschland, Jahre, Familienstand der Eltern*. 2020 02/03/2021 02/03/2021]; Available from: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=previous&levelindex=2&step=2&titel=Ergebnis&levelid=1614687592150&acceptscookies=false#abreadcrumb>.
57. Heimat, O.B.i.G.d.B.d.I.u.f. *Zeitpunkt der Familiengründung*. o.J. 30.04.2023]; Available from: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Geburten/Tabellen/alter-geburt-bildung.html>.
58. Statistisches Bundesamt (Destatis). *Durchschnittliches Alter des Vaters bei Geburt des Kindes: Deutschland, Jahre*. 2020 02/03/2021 02/03/2021]; Available from: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=abruftabelleBearbeiten&levelindex=0&levelid=1614688120509&auswahloperation=abruftabelleAuspraegungAuswaehlen&auswahlverzeichnis=ordnungsstruktur&auswahlziel=werteabruf&code=12612-0022&auswahltext=&werteabruf=starten#abreadcrumb>.
59. Statistisches Bundesamt (Destatis). *Statistisches Jahrbuch Deutschland und Internationales*. 2019 07/03/2021]; Available from: [https://www.statistischebibliothek.de/mir/receive/DEAusgabe\\_mods\\_00004527](https://www.statistischebibliothek.de/mir/receive/DEAusgabe_mods_00004527).
60. Consortium, T.U. *P26038 · MOES\_HUMAN*. o.J. 18.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P26038/entry>.

61. Charrin, S. and A. Alcover, *Role of ERM (ezrin-radixin-moesin) proteins in T lymphocyte polarization, immune synapse formation and in T cell receptor-mediated signaling*. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 2006. **11**: p. 1987-1997.
62. Serrador, J.M., et al., *Moesin interacts with the cytoplasmic region of intercellular adhesion molecule-3 and is redistributed to the uropod of T lymphocytes during cell polarization*. *The Journal of cell biology*, 1997. **138**(6): p. 1409-1423.
63. Shaffer, M.H., et al., *Ezrin and moesin function together to promote T cell activation*. *Journal of immunology*, 2009. **182**(2): p. 1021-1032.
64. Gómez-Henao, W., et al., *Expression Dynamics of the O-Glycosylated Proteins Recognized by Amaranthus leucocarpus Lectin in T Lymphocytes and Its Relationship With Moesin as an Alternative Mechanism of Cell Activation*. *Frontiers in immunology*, 2021. **12**: p. 788-880.
65. Lagresle-Peyrou, C., et al., *X-linked primary immunodeficiency associated with hemizygous mutations in the moesin (MSN) gene*. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 2016. **138**(6): p. 1681-1689.
66. Taytard, A., et al., *Platelet kinetics in stable atopic asthmatic patients*. *Am Rev Respir Dis*, 1986. **134**(5): p. 983-5.
67. Consortium, T.U. *P61224 · RAP1B\_HUMAN*. o.J. 18.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P61224/entry>.
68. Lee, H.S., et al., *Phostensin enables lymphocyte integrin activation and population of peripheral lymphoid organs*. *J Exp Med*, 2022. **219**(8).
69. Katagiri, K. and T. Kinashi, *Rap1 and integrin inside-out signaling*. *Methods Mol Biol*, 2012. **757**: p. 279-96.
70. Chu, H., et al., *Rap1b regulates B cell development, homing, and T cell-dependent humoral immunity*. *J Immunol*, 2008. **181**(5): p. 3373-83.
71. Su, W., et al., *Rap1 and its effector RIAM are required for lymphocyte trafficking*. *Blood*, 2015. **126**(25): p. 2695-703.
72. Stefanini, L. and W. Bergmeier, *RAP1-GTPase signaling and platelet function*. *J Mol Med (Berl)*, 2016. **94**(1): p. 13-9.
73. Chrzanowska-Wodnicka, M., et al., *Rap1b is required for normal platelet function and hemostasis in mice*. *J Clin Invest*, 2005. **115**(3): p. 680-7.
74. Consortium, T.U. *P13796 · PLSL\_HUMAN*. o.J. 28.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P13796/entry>.
75. Joshi, H. and S.C. Morley, *Efficient T Cell Migration and Activation Require L-Plastin*. *Frontiers in immunology*, 2022. **13**: p. 916137.
76. Wabnitz, G.H., et al., *Costimulation induced phosphorylation of L-plastin facilitates surface transport of the T cell activation molecules CD69 and CD25*. *European journal of immunology*, 2007. **37**(3): p. 649-662.
77. Todd, E.M., L.E. Deady, and S.C. Morley, *The actin-bundling protein L-plastin is essential for marginal zone B cell development*. *Journal of immunology* 2011. **187**(6): p. 3015-3025.
78. Schaffner-Reckinger, E. and R.A.C. Machado, *The actin-bundling protein L-plastin-A double-edged sword: Beneficial for the immune response, maleficent in cancer*. *International review of cell and molecular biology*, 2020. **355**: p. 109-154.
79. Consortium, T.U. *Q6XQN6 · PNCB\_HUMAN*. o.J. 13.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q6XQN6/entry>.
80. Audrito, V., V.G. Messina, and S. Deaglio, *NAMPT and NAPRT: Two Metabolic Enzymes With Key Roles in Inflammation*. *Frontiers in oncology*, 2020. **10**: p. 358.
81. Consortium, T.U. *P07737 · PROF1\_HUMAN*. o.J. 29.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07737/entry>.
82. Kleine-Tebbe, J., H. Behrendt, and M. Raulf, *Allergene*, in *Weißbuch Allergie in Deutschland*, L. Klimek, C. Vogelberg, and T. Werfel, Editors. 2019, Springer: Berlin, Heidelberg. p. 73-97.
83. Wiedemann, P., et al., *Molecular and structural analysis of a continuous birch profilin epitope defined by a monoclonal antibody*. *J Biol Chem*, 1996. **271**(47): p. 29915-21.

84. Consortium, T.U. *P63104 · 1433Z\_HUMAN*. o.J. 15.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P63104/entry>.
85. Guo, F., et al., *miR-375-3p/YWHAZ/ $\beta$ -catenin axis regulates migration, invasion, EMT in gastric cancer cells*. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 2019. **46**(2): p. 144-152.
86. Lage-Vickers, S., et al., *The expression of YWHAZ and NDRG1 predicts aggressive outcome in human prostate cancer*. *Communications biology*, 2021. **4**(1): p. 103.
87. Liu, Y., et al., *Paclitaxel Suppresses Hepatocellular Carcinoma Tumorigenesis Through Regulating Circ-BIRC6/miR-877-5p/YWHAZ Axis*. *OncoTargets and therapy*, 2020. **13**: p. 9377-9388.
88. Lim, G.E., et al., *Ywhaz/14-3-3 $\zeta$  Deletion Improves Glucose Tolerance Through a GLP-1-Dependent Mechanism*. *Endocrinology*, 2016. **157**(7): p. 2649-2659.
89. Soini, L., et al., *The 14-3-3/SLP76 protein-protein interaction in T-cell receptor signalling: a structural and biophysical characterization*. *FEBS Letters*, 2021. **595**(3): p. 404-414.
90. Consortium, T.U. *P20073 · ANXA7\_HUMAN*. o.J. 28.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P20073/entry>.
91. Mo, H.Q., et al., *ANXA7 regulates trophoblast proliferation and apoptosis in preeclampsia*. *American journal of reproductive immunology*, 2019. **82**(6): p. e13183.
92. Yazid, S., et al., *Anti-allergic drugs and the Annexin-A1 system*. *Pharmacol Rep*, 2010. **62**(3): p. 511-7.
93. Ferreira, T.P.T., et al., *Annexin-A1-Derived Peptide Ac2-26 Suppresses Allergic Airway Inflammation and Remodelling in Mice*. *Cells*, 2022. **11**(5).
94. Consortium, T.U. *P37802 · TAGL2\_HUMAN*. o.J. 10/16/2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P37802/entry>.
95. Na, B.R., et al., *TAGLN2 regulates T cell activation by stabilizing the actin cytoskeleton at the immunological synapse*. *J Cell Biol*, 2015. **209**(1): p. 143-62.
96. Zhao, Z., L. Lu, and W. Li, *TAGLN2 promotes the proliferation, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells by activating STAT3 signaling through ANXA2*. *Oncol Lett*, 2021. **22**(4): p. 737.
97. Yin, L.M., L. Ulloa, and Y.Q. Yang, *Transgelin-2: Biochemical and Clinical Implications in Cancer and Asthma*. *Trends Biochem Sci*, 2019. **44**(10): p. 885-896.
98. Yin, L.M., et al., *Transgelin-2 as a therapeutic target for asthmatic pulmonary resistance*. *Sci Transl Med*, 2018. **10**(427).
99. Consortium, T.U. *P07359 · GP1BA\_HUMAN*. o.J. 30.03.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07359/entry>.
100. Feng, S., et al., *Cytoplasmic domains of Gplbalpha and Gplbbeta regulate 14-3-3zeta binding to Gplb/IX/V*. *Blood*, 2000. **95**(2): p. 551-7.
101. Shah, S.A., et al., *Platelets Independently Recruit into Asthmatic Lungs and Models of Allergic Inflammation via CCR3*. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2021. **64**(5): p. 557-568.
102. Consortium, T.U. *P30740 · ILEU\_HUMAN*. o.J. 28.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P30740/entry>.
103. Hou, L., et al., *The protease cathepsin L regulates Th17 cell differentiation*. *Journal of autoimmunity*, 2015. **65**: p. 56-63.
104. Oboki, K., et al., *Th17 and allergy*. *Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology*, 2008. **57**(2): p. 121-134.
105. Torriglia, A., E. Martin, and I. Jaadane, *The hidden side of SERPINB1/Leukocyte Elastase Inhibitor*. *Semin Cell Dev Biol*, 2017. **62**: p. 178-186.
106. Consortium, T.U. *Q15181 · IPYR\_HUMAN*. o.J. 13.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q15181/entry>.
107. Chang, H.N., et al., *Blocking of the PD-1/PD-L1 Interaction by a D-Peptide Antagonist for Cancer Immunotherapy*. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 2015. **54**(40): p. 11760-11764.



108. Li, L., et al., *Clinical significance and functional validation of inorganic pyrophosphatase in diffuse large B cell lymphoma in humans*. Cytotechnology, 2018. **70**(2): p. 641-649.
109. Bodnar, M., et al., *Proteomic profiling identifies the inorganic pyrophosphatase (PPA1) protein as a potential biomarker of metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma*. Amino Acids, 2016. **48**(6): p. 1469-1476.
110. Consortium, T.U. *P43115 · PE2R3\_HUMAN*. o.J. 13.08.2022]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P43115/entry>.
111. Kunikata, T., et al., *Suppression of allergic inflammation by the prostaglandin E receptor subtype EP3*. Nature immunology, 2005. **6**(5): p. 524-531.
112. Park, H.W., et al., *Association between genetic variations in prostaglandin E2 receptor subtype EP3 gene (Ptger3) and asthma in the Korean population*. Clinical and Experimental Allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 2007. **37**(11): p. 1609-1615.
113. License, C.C.A.-S.I. *The Human Protein Atlas*. 10/10/2022]; Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000050628-PTGER3>.
114. Basha, S., N. Surendran, and M. Pichichero, *Immune responses in neonates*. Expert Rev Clin Immunol, 2014. **10**(9): p. 1171-84.
115. Simon, A.K., G.A. Hollander, and A. McMichael, *Evolution of the immune system in humans from infancy to old age*. Proc Biol Sci, 2015. **282**(1821): p. 20143085.
116. Jakwerth, C.A., et al., *Sputum microRNA-screening reveals Prostaglandin EP3 receptor as selective target in allergen-specific immunotherapy*. Clin Exp Allergy, 2021. **51**(12): p. 1577-1591.
117. Consortium, T.U. *P04114 · APOB\_HUMAN*. o.J. 26.04.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04114/entry>.
118. Perelman, B., A. Adil, and P. Vadas, *Relationship between platelet activating factor acetylhydrolase activity and apolipoprotein B levels in patients with peanut allergy*. Allergy Asthma Clin Immunol, 2014. **10**(1): p. 20.
119. Bai, J., et al., *iTRAQ-based proteomic analysis reveals potential regulatory networks in dust mite-related asthma treated with subcutaneous allergen immunotherapy*. Mol Med Rep, 2020. **22**(5): p. 3607-3620.
120. Consortium, T.U. *P62834 · RAP1A\_HUMAN*. o.J. 30.04.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P62834/entry>.
121. Wang, J.C., et al., *The Rap1-cofilin-1 pathway coordinates actin reorganization and MTOC polarization at the B cell immune synapse*. J Cell Sci, 2017. **130**(6): p. 1094-1109.
122. Consortium, T.U. *P04792 · HSPB1\_HUMAN*. o.J. 28.03.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P04792/entry>.
123. Zhu, Y., et al., *Airway fibrin formation cascade in allergic asthma exacerbation: implications for inflammation and remodeling*. Clin Proteomics, 2022. **19**(1): p. 15.
124. Consortium, T.U. *P07900 · HS90A\_HUMAN*. o.J. 28.03.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07900/entry>.
125. Wang, C.M., et al., *Differential DNA methylation profiles of peripheral blood mononuclear cells in allergic asthmatic children following dust mite immunotherapy*. J Microbiol Immunol Infect, 2020. **53**(6): p. 986-995.
126. Consortium, T.U. *P78417 · GSTO1\_HUMAN*. o.J. 30.03.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P78417/entry>.
127. Dittrich, A.M., et al., *Glutathione peroxidase-2 protects from allergen-induced airway inflammation in mice*. Eur Respir J, 2010. **35**(5): p. 1148-54.
128. Eaton, D.L. and T.K. Bammler, *Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology*. Toxicological Sciences, 1999. **49**(2): p. 156-164.
129. Sokulsky, L.A., et al., *GSTO1-1 is an upstream suppressor of M2 macrophage skewing and HIF-1 $\alpha$ -induced eosinophilic airway inflammation*. Clin Exp Allergy, 2020. **50**(5): p. 609-624.
130. Consortium, T.U. *P05106 · ITB3\_HUMAN*. o.J. 30.04.2023]; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P05106/entry>.

131. Weiss, L.A., et al., *Variation in ITGB3 is associated with asthma and sensitization to mold allergen in four populations*. Am J Respir Crit Care Med, 2005. **172**(1): p. 67-73.
132. Wood, G.W., *Mononuclear phagocytes in the human placenta*. Placenta, 1980. **1**(2): p. 113-23.
133. Bland, I., et al., *Appearance of immunoglobulin G in the plasma of piglets following intake of colostrum, with or without a delay in sucking*. Animal Science, 2003(77(2)): p. 277-286.
134. Werhahn, E., F. Klobasa, and J.E. Butler, *Investigation of some factors which influence the absorption of IgG by the neonatal piglet*. Vet Immunol Immunopathol, 1981. **2**(1): p. 35-51.
135. Jeffcott, L.B., *Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals*. Equine Vet J, 1974. **6**(3): p. 109-15.
136. Bittrich, S., et al., *Preterm as compared with full-term neonatal calves are characterized by morphological and functional immaturity of the small intestine*. J Dairy Sci, 2004. **87**(6): p. 1786-95.
137. Brewer, B.D. and T.S. Mair, *Failure of passive transfer: to treat or not to treat?* Equine Vet J, 1988. **20**(6): p. 394-6.
138. Pignataro, F.S., et al., *Asthma and gender: The female lung*. Pharmacol Res, 2017. **119**: p. 384-390.
139. Liu, L., et al., *Comparison of next-generation sequencing systems*. J Biomed Biotechnol, 2012. **2012**: p. 251364.
140. Bundesausschuss, G., *Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern*. 2023: Bundesanzeiger AT.
141. Kulak, N.A., et al., *Minimal, encapsulated proteomic-sample processing applied to copy-number estimation in eukaryotic cells*. Nat Methods, 2014. **11**(3): p. 319-24.
142. Grinfeld, D., et al., *Phase-Constrained Spectrum Deconvolution for Fourier Transform Mass Spectrometry*. Anal Chem, 2017. **89**(2): p. 1202-1211.
143. Scheltema, R.A. and M. Mann, *SprayQc: a real-time LC-MS/MS quality monitoring system to maximize uptime using off the shelf components*. J Proteome Res, 2012. **11**(6): p. 3458-66.
144. Cox, J. and M. Mann, *MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification*. Nat Biotechnol, 2008. **26**(12): p. 1367-72.

# 11 Danksagung

Der allererste Dank gilt den teilnehmenden Familien. Ohne das offene Ohr an einem Tag, der nichts als überwältigende Neuerungen für Eltern und Kind bereithält, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ich bedanke mich von ganzem Herzen für das Vertrauen und die Geduld aller Eltern und die Tränen aller Kinder.

Als nächstes möchte ich mich bei meiner Doktormutter bedanken, die nicht nur diese Arbeit initiiert und ermöglicht hat, sondern mit ihrer stets fordernden Haltung einen Stillstand des Projektes verhindert hat. Ohne ihre Persistenz wäre dieses Dokument in den Abgründen meines Computers verschwunden. Frau Prof. Genzel-Borovicény vielen Dank für Ihre Hartnäckigkeit und Ihr Verständnis.

Weiterhin danke ich meiner Betreuerin Dr. Susanne Pangratz-Führer für ihre endlose Begeisterung, ansteckende Euphorie und professionelle Unterstützung. Gerade in der Phase der klinischen Implementierung und erneut in dem Gefühl der überwältigenden Hilflosigkeit der Datenanalyse war sie der Fels in der Brandung dieses Projektes. Susanne, vielen Dank für deine Unermüdlichkeit!

Ebenso möchte ich mich bei den Kollegen des Max-Planck-Institutes bedanken, hierbei besonders Johannes Müller und Philipp Geyer, die, ohne mit der Wimper zu zucken, bei meinen begrenzten mathematischen Fähigkeiten alles mehrfach erklärten und mit ihrem Team die Datenanalyse durchführten.

Mein Dank geht auch an die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Kinderklinik Maistraße, die uns bei der Durchführung der Studie halfen. Vielen Dank für Eure Unterstützung.

Und dann liegt es mir noch sehr am Herzen, mich bei meinen Mit-Doktoranden zu bedanken. Gemeinsam haben wir das gewuppt und keiner von uns hätte es ohneinander geschafft. Robin Eisenburger und Wolfgang Bodensohn, ich danke euch für die tolle Zusammenarbeit, das freudige Tüfteln und das gegenseitig Mut machen.

Und zu guter Letzt geht der Dank an meine Familie und Freunde, welche meine schlechte Laune, Verzweiflung und das ständige Ausweichen zur Frage „und wie läuft’s?“ ausgehalten haben. Größten Dank an meine Mutter, die mir in allen Lebenslagen als Vorbild voranschreitet und an meinen Vater, der mir Sicherheit gibt und jeden Brand löschen kann.

## 12 Publikationsliste

Pangratz-Fuehrer S, Genzel-Boroviczény O, Bodensohn WE, Eisenburger R, Scharpenack J, Geyer PE, et al. Cohort profile: the MUNICH Preterm and Term Clinical study (MUNICH-PreTCI), a neonatal birth cohort with focus on prenatal and postnatal determinants of infant and childhood morbidity. *BMJ Open*. 2021;11(6):e050652.

## 13 Affidavit

Scharpenack, Janne Klara

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

*„Eine massenspektrometrische Analyse der Proteinfragmente im Blut von reifen Neugeborenen und deren potenzieller Zusammenhang mit allergischen Erkrankungen“*

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe. Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort und Datum: Hamburg, den 09.11.2023

Unterschrift der Doktorandin:

---

(Janne Klara Scharpenack)