

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



Verbesserung der Diagnostik von diffus-parenchymatösen Lungenerkrankungen (DPLD) im Kindesalter anhand der Erstellung einer pädiatrisch-pneumologischen Ontologie in der Human Phenotype Ontology (HPO) und der Erweiterung des Wissens um die Korrelation von Phänotyp / Krankheitsverlauf und Genotyp bei komplexen, bisher ungeklärten DPLD-Fällen im Kinderlungenregister (chILD-EU)

Dissertation

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

vorgelegt von

Dr. med. univ. Katrin Knoflach

aus Innsbruck / Österreich

2024

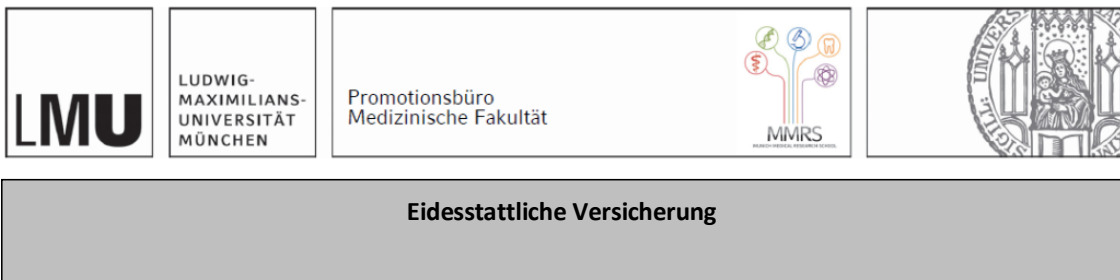
Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erster Gutachter: Prof. Dr. med. Matthias Griese
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. Julia Ley-Zaporozhan
Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. Dennis Nowak

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.06.2024

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Knoflach, Katrin

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Verbesserung der Diagnostik von diffus-parenchymatösen Lungenerkrankungen (DPLD) im Kindesalter anhand der Erstellung einer pädiatrisch-pneumologischen Ontologie in der Human Phenotype Ontology (HPO) und der Erweiterung des Wissens um die Korrelation von Phänotyp / Krankheitsverlauf und Genotyp bei komplexen, bisher ungeklärten DPLD-Fällen im Kinderlungenregister (chILD-EU).

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.

München, den 03.08.2024

Ort, Datum

Katrin Knoflach
Unterschrift Doktorandin

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Affidavit | 3 |
| Inhaltsverzeichnis | 4 |
| Abkürzungsverzeichnis | 5 |
| Publikationsliste | 6 |
| 1. Einleitung und Problemstellung | 9 |
| 2. Literaturübersicht und Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext | 10 |
| 2.1. chILD..... | 10 |
| 2.1.1 Definition und Epidemiologie | 10 |
| 2.1.2 Symptome und Diagnostik | 10 |
| 2.1.3 Therapie und Management | 11 |
| 2.2 Diffuse alveoläre Hämorrhagie bei Kindern/Jugendlichen | 13 |
| 2.2.1 Hintergrund..... | 13 |
| 2.2.2 Aktueller Forschungsstand und spezifische Fragestellungen | 16 |
| 2.3 Human Phenotype Ontology | 18 |
| 2.3.1 Grundlagen..... | 18 |
| 2.3.2 Beitrag zum pädiatrisch-pneumologischen Bereich der HPO | 18 |
| 2.3.3 Experimente zur Diagnosegenauigkeit des Phenomizer | 20 |
| 3. Eigenanteil an der Veröffentlichung | 21 |
| 4. Zusammenfassung | 22 |
| 5. Abstract (English) | 25 |
| 6. Veröffentlichung | 27 |
| 7. Literaturverzeichnis | 28 |
| Danksagung | 32 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------|--|
| ANAs | Antinukleäre Antikörper |
| ANCAs | Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper |
| BAL | Bronchoalveoläre Lavage |
| chILD | Childhood Interstitial Lung Disease |
| chILD-EU | European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases |
| CT | Computertomographie |
| DAG | Directed acyclic graph (gerichteter azyklischer Graph) |
| DAH | Diffuse alveoläre Hämorrhagie |
| DPLD | Diffus-parenchymatöse Lungenerkrankung (diffuse parenchymal lung disease) |
| GMCSF | Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (Granulozyten/Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor) |
| HPO | Human Phenotype Ontology |
| HCRT | High-resolution computed tomography (hochauflösende Computertomographie) |
| IPH | Idiopathische pulmonale Häm siderose |
| NGS | Next-Generation Sequencing |
| MMF | Mycophenolat-Mofetil |
| OBO | Open Biomedical Ontologies |
| OMIM® | Online Mendelian Inheritance in Man® |
| WES | Whole-exome sequencing (Exom-Sequenzierung) |

In dieser Arbeit wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Wann immer das generische Maskulinum verwendet wird, sind ausdrücklich auch weibliche und anderweitige Geschlechtsidentitäten gemeint.

Publikationsliste

Publikationen

2023

Li Y, Seidl E, Knoflach K, Gothe F, Forstner ME, Michel K, Pawlita I, Gesenhues F, Sattler F, Yang X, Kroener C, Reu-Hofer S, Ley-Zaporozhan J, Kammer B, Krüger-Stollfuß I, Dinkel J, Carlens J, Wetzke M, Morneo-Galdó A, Torrent-Vernetta A, Lange J, Krenke K, Rumman N, Mayell S, Sismanlar T, Aslan A, Regamey N, Proesmans M, Stehling F, Naehrlich L, Ayse K, Becker S, Koerner-Rettberg C, Plattner E, Manali ED, Papiris SA, Campo I, Kappler M, Schwerk N, Griese M.

ABCA3-related interstitial lung disease beyond infancy.

Thorax, 2023: doi: 10.1136/thorax-2022-219434.

Knoflach K, Rapp CK, Schwerk N, Carlens J, Wetzke M, Emiralioglu N, Kiper N, Madsen Ring A, Buchvald F, Manali E, Papiris S, Reu-Hofer S, Kappler M, Schieber A, Seidl E, Gothe F, Robinson PN, Griese M; ChILD EU collaborators.

Diffuse alveolar hemorrhage in children with interstitial lung disease: Determine etiologies!

Pediatric Pulmonology, 2023 Apr; 58(4): 1106-1121. doi: 10.1002/ppul.26301.

2022

Griese M, Panagiotou P, Manali ED, Stahl M, Schwerk N, Costa V, Duoros K, Kallieri M, Urbantat RM, von Bernuth H, Kolilekas L, Morais L, Ramos A, Landwehr K, Knoflach K, Gothe F, Reiter K, Papaevangelou V, Kaditis AG, Kanaka-Gantenbein C, Papiris SA.

Autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in children.

ERJ Open Research 2022; 8(1):00701-2021.

Seidl E, Schwerk N, Carlens J, Wetzke M, Emiralioglu N, Kiper N, Lange J, Krenke K, Szepefalusi Z, Stehling F, Baden W, Hämmerling S, Jerkic SP, Proesmans M, Ullmann N, Buchvald F, Knoflach K, Kappler M, chILD EU collaborators, Griese M.

Acute exacerbations in children's interstitial lung disease.

Thorax, 2022: thoraxjnl-20211-217941.

2021

Knoflach K, Holzapfel E, Roser T, Rudolph L, Paolini M, Muenchhoff M, Osterman A, Griese M, Kappler M, von Both U.

Case Report: Unilateral Sixth Cranial Nerve Palsy Associated With COVID-19 in a 2-year-old Child.

Frontiers in Pediatrics, 2021;17;9:756014.

Gothe F, Gehrig J, Rapp CK, Knoflach K, Reu-Hofer S, Länger F, Schramm D, Ley-Zaporozhan J, Ehl S, Schwerk N, Faletti L, Griese M.

Early-onset, fatal interstitial lung disease in STAT3 gain-of-function patients.

Pediatric Pulmonology, 2021; 56(12):3934-3941.

Köhler S, Gargano M, Matentzoglou N, Carmody LC, Lewis-Smith D, Vasilevsky NA, Danis D, Balagura G, Baynam G, Brower AM, Callahan TJ, Chute CG, Est JL, Galer PD, Ganesan S,

Griese M, Haimel M, Pazmandi J, Hanauer M, Harris NL, Hartnett MJ, Hastreiter M, Hauck F, He Y, Jeske T, Kearney H, Kindle G, Klein C, Knoflach K, Krause R, Lagorce D, McMurry JA, Miller JA, Munoz-Torres MC, Peters RL, Rapp CK, Rath AM, Rind SA, Rosenberg AZ, Segal MM, Seidel MG, Smedley D, Talmy T, Thomas Y, Wiafe SA, Xian J, Yüksel Z, Helbig I, Mungall CJ, Haendel MA, Robinson PN.

The Human Phenotype Ontology in 2021.

Nucleic Acids Research, 2021; 49(D1):D1207-D1217.

Vorträge und Posterpräsentationen

Knoflach K, Heinen F, Tacke M, Olivieri M, Sören S, Paolini M, von Both U.

Neurological deficits due to brain abscesses caused by disseminated infection with *Mycobacterium bovis*.

41. Jahrestagung der European Society for Pediatric Infectious Diseases (ESPID), Lissabon; Posterpräsentation, 05/2023

Rapp CK, Postma AV, Knoflach K, Volk AE, Lemke JR, Ackermann M, Regamey N, Latzin P, Celant L, Jansen SM, Bogaard HJ, Ilgun A, Alders M, van Spaendonck-Zwarts KY, Jonigk D, Klein C, Gräf S, Kubisch C, Houweling AC, Griese M.

Biallelic variants in the calpain regulatory subunit, CAPNS1, cause pulmonary arterial hypertension.

44. Jahrestagung der Gesellschaft für pädiatrische Pneumologie, Frankfurt am Main; Poster, 03/2023

Mangova M, Knoflach K, Reu-Hofer S, Rapp CK, Hirsch FW, Gräfe D, vom Hove M, Emiralioglu N, Gürsoy TR, Ullmann N, Griese M, Prenzel F.

Telomere gene mutations and associated childhood interstitial lung disease (chILD).

44. Jahrestagung der Gesellschaft für pädiatrische Pneumologie, Frankfurt am Main; Poster, 03/2023

Diffuse alveoläre Hämorrhagien. Ursachen, Differentialdiagnostik, Therapie.

Vortrag im Rahmen des Symposiums: Seltene Erkrankungen in der Kinderpneumologie - wen kümmert's?

43. Jahrestagung der Gesellschaft für pädiatrische Pneumologie, Bern; Vortrag, 09/2022

Knoflach K, Rapp C, Seidl E, Schwerk N, Wetzke M, Carlens J, Kiper N, Emiralioglu N, Buchvald F, Madsen Ring A, Robinson PN, Griese M.

Specifying pediatric pulmonary hemorrhage. Suggestion of a diagnostic algorithm as guide to disease subcategories.

European Respiratory Society (ERS) International Congress 2021 (virtuell); Kurzvortrag, 09/2021

Knoflach K, Rapp C, Treitl M, Gansland O, Henkes H, Hund K, Gesenhues F, Pawlita I, Sattler F, Seidl E, Kappler M, Griese M.

Arterio-venöse Malformationen in Lunge, Hirn, Magen-Darmtrakt und Haut- Differentialdiagnostik und Therapieoptionen.

42. Jahrestagung der Gesellschaft für pädiatrische Pneumologie, Hamburg (virtuell);

Kurzvortrag (Clinical Pearls), 03/2021

Knoflach K, Kunz M, Wollenberg A, Hauck F, Klein C, Klemme M, Schouten E, Herber-Jonat S, Flemmer AW.

Omphalitis und Pyoderma gangraenosum als Indikator eines Immundefektes.

45. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin e.V. und 27. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e.V., Leipzig; Posterpräsentation, 05/2019

Diplomarbeit

Fruktosemalabsorption und eosinophile Gastroenteropathie.

Department für Pädiatrie I, Medizinische Universität Innsbruck, betreut durch PD Dr. med. univ.
Peter Heinz-Erian, 01/2014-07/2014

1. Einleitung und Problemstellung

Zur Erweiterung des Wissens um komplexe, bisher ungeklärte kindliche interstitielle Lungenerkrankungen befasst sich die dieser Dissertation zugrundeliegende Publikation schwerpunktmäßig mit diffusen alveolären Hämorrhagien (DAH) bei Kindern. Dabei handelt es sich um eine seltene Erkrankung aus dem Spektrum der diffus-parenchymatösen Lungenerkrankungen (DPLD). Die Arbeit soll die bisher vorliegenden Kohortenstudien zu pädiatrischer DAH, die nachfolgend im Detail vorgestellt werden, vor allem um den Bereich Ätiologie und Diagnostik ergänzen. Möglich wurde dies durch eine retrospektive Analyse einer großen pädiatrischen Kohorte von insgesamt 350 Patienten, deren Daten im chILD-EU-Register (European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases) bzw. in einer hausinternen Datenbank gesammelt wurden.

Für ein verbessertes Verständnis der Ätiologie von DAH wurde versucht, das Spektrum an bekannten Erkrankungen, die zu DAH führen können, trennscharf zu DAH unbekannter Ursache darzustellen. Zur Identifikation möglicher zugrundeliegender genetischer Erkrankungen im Sinne einer Phänotyp/Genotyp-Korrelation wurden genetische Untersuchungen (Sanger-Sequenzierung, Whole-exome sequencing (WES)) aus Biomaterialien der ans Register angegliederten Biobank veranlasst.

Im Rahmen der Arbeiten zur Ätiologie wurde zunehmend klarer, dass sich auch innerhalb der Gruppe von Patienten mit DAH unbekannter Ursache einzelne Subgruppen bilden lassen. Dies wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben, und könnte möglicherweise zur Identifikation von Patientengruppen für erweiterte diagnostische Maßnahmen (z.B. zusätzliche genetische Untersuchungen, Proteom-Analysen) oder zielgerichtete therapeutische Optionen dienen (1).

Eng mit der Identifizierung der Ätiologie verknüpft war die kritische Evaluation der durchgeführten (und fehlenden) diagnostischen Maßnahmen bei Kindern mit DAH. Dieser zweite Schwerpunkt des Forschungsprojekts hatte neben einer Darstellung etablierter Diagnostik auch die Untersuchung eines (möglichen) diagnostischen Mehrwerts ontologischer Klassifikationssysteme zum Ziel. Dafür wurde eine pädiatrisch-pneumologische Ontologie in der Human Phenotype Ontology (HPO) zuerst erstellt und anschließend für Experimente zur Diagnosegenauigkeit verwendet. Die Fragestellung beschäftigte sich insbesondere damit, ob der „Phenomizer“, ein nachfolgend näher erklärtes Online-Tool, das auf die HPO-Daten zugreift, im klinischen Alltag den Weg zur Diagnose genetischer Erkrankungen unterstützen und beschleunigen könnte.

Der letztgenannte Aspekt des Forschungsvorhabens soll an der exemplarischen Anwendung des „Phenomizer“ für pädiatrische DAH-Fälle auch eine Abschätzung des Nutzens für andere, insbesondere ungeklärte, DPLD-Fälle im Kindesalter ermöglichen.

2. Literaturübersicht und Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext

2.1. chILD

2.1.1 Definition und Epidemiologie

Unter diffus-parenchymatösen Lungenerkrankungen (DPLD) bei Kindern versteht man eine ätiologisch heterogene Gruppe seltener, chronischer Erkrankungen des Lungenparenchyms (2-4). Im Englischen werden diese über 200 verschiedenen Erkrankungen häufig unter dem Akronym „chILD“ (childhood interstitial lung disease) zusammengefasst (5). Bei insgesamt schwankenden Angaben in der Literatur liegt die Inzidenz für Deutschland bei 1.3 Fällen pro 1 Million Kinder/Jahr (6), die internationale Prävalenz wird zwischen 1.5 und 3.6 Fälle pro 1 Million Kinder angegeben, in neuen Arbeiten jedoch bis auf 46.5 Fälle pro 1 Million Kinder geschätzt (5, 7-9).

Zur Erfassung der Charakteristika der einzelnen Erkrankungen existieren weltweit multizentrische Netzwerke und Register. Dazu zählen das chILD RN (chILD Research Network) in den Vereinigten Staaten, chILD-EU (European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases) in Europa, chILD RANZ (Children's Interstitial Disease Respiratory Network of Australia and New Zealand) in Australasien sowie die Arbeitsgruppe zu pädiatrischen interstitiellen Lungenerkrankungen des französischen RespiRare® (French Reference Centre for Rare Lung Diseases) (5). Für die dieser Dissertation zugrundeliegenden Publikation wurde unter anderem mit Daten aus dem chILD-EU-Register gearbeitet.

2.1.2 Symptome und Diagnostik

Von chILD betroffenen Kinder zeigen zum Teil unmittelbar postnatal Symptome respiratorischer Insuffizienz, andere entwickeln erst im Verlauf des Kindes- oder Jugendalters (teilweise sehr unspezifische) respiratorische Symptome (10). Führen entsprechende Klinik (Tachypnoe, Dyspnoe in Ruhe und/oder bei Belastung, Husten, Hämoptysen), pathologische Untersuchungsbefunde (Tachypnoe, Dyspnoezeichen wie Einziehungen/Nasenflügeln, pathologische Auskultationsbefunde, Trommelschlegelfinger, Uhrglasnägel, Gedeihstörung, respiratorische Insuffizienz), Hypoxämie und/oder diffuse pulmonale radiologische Veränderungen (Röntgen, Computertomographie (CT)) zum Verdacht auf eine interstitielle Lungenerkrankung, sollte sich eine weiterführende Diagnostik zur Klärung der genauen Ursache anschließen (3, 10, 11). Diese umfasst unter anderem eine Lungenfunktionsprüfung inkl. Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid, Echokardiographie, ggf. Vervollständigung der Bildgebung (CT des Thorax), Laboruntersuchungen, genetische Diagnostik, Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) sowie eine (offen oder thorakoskopisch gewonnene) Lungenbiopsie (5, 11). Andere, häufigere Erkrankungen, die eine ähnliche klinische Symptomatik verursachen können, sollten vorab ausgeschlossen werden (insbesondere zystische Fibrose, primäre Ziliendyskinesie, strukturelle Herzerkrankungen, Immundefekte, Atemwegsanomalien und/oder rezidivierende Aspirationen) (5).

Mit den Fortschritten im Bereich der Molekulargenetik und vermehrter Verfügbarkeit von Next-Generation Sequencing (NGS) und Whole-exome sequencing (WES) konnten zahlreiche

Genmutationen als Ursache interstitieller Lungenerkrankungen im Kindesalter identifiziert werden, sodass invasive Diagnostik in den letzten Jahren zunehmend in den Hintergrund rückte. Eine wesentliche Rolle spielen dabei Gene, die in den Surfactant-Metabolismus involviert sind (*SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, *ABCA3*, *NKX2-1*). Andere genetische Defekte führen etwa über autoinflammatorische Mechanismen (*TMEM173*, *COPA*, *ZNFX1*, *OAS1*) oder diffuse Entwicklungsstörungen der Lunge (*FOXF1*, *TBX4*, *FGFR2*, *EIF2AK4*) zu interstitiellen Lungenerkrankungen, oder zu speziellen Erkrankungsmanifestationen wie der pulmonalen Alveolarproteinose (*CSF2RA*, *CSF2RB*, *GATA2*, *MARS*). (3)

Im Rahmen der Diagnostik sollte eine möglichst spezifische Zuordnung der Patienten zu einer definierten Erkrankung erfolgen; falls dies nicht möglich ist, wird eine Einordnung in ein deskriptives Klassifikationssystem angestrebt (4). Primär histopathologische Klassifikationssysteme (etwa von Deutsch et al., 2007 (12)), wurden im Verlauf weiterentwickelt und ergänzt (2, 6). Aktuelle Empfehlungen zur Klassifikation interstitieller Lungenerkrankungen im Kindesalter orientieren sich zunehmend an der Ätiologie (13, 14).

Die definitive Ätiologie für etwa 12-18(-27) % der Fälle mit chILD bleibt ungeklärt (7, 12, 15). Die Zuordnung zu einer definitiven Diagnose innerhalb des chILD-Spektrums ist jedoch einerseits für das Angebot entsprechender therapeutischer Optionen relevant, hat zum anderen aber auch für den Umgang mit der Erkrankung innerhalb der betroffenen Familien eine wichtige Bedeutung (Selbsthilfegruppen, spezielle Unterstützungsangebote) (16). Diagnostisch sollte ein schrittweises Vorgehen gewählt werden, in dem auf nicht- oder wenig invasive Maßnahmen (insbesondere auch genetische Untersuchungen) invasivere Untersuchungen folgen (3). Die Durchführung einer chirurgischen Lungenbiopsie als invasive Maßnahme wird empfohlen, wenn mittels nicht-invasiver Untersuchungen keine definitive Diagnose gestellt werden konnte (11, 17). Bei ätiologisch ungeklärten chILD-Fällen hat die Lungenbiopsie weiterhin einen hohen Stellenwert: In den von uns publizierten Daten zu diffuser alveolärer Hämorrhagie bei Kindern ließ sich darstellen, dass bei einem hohen Anteil der Patienten, die eine Lungenbiopsie erhielten, auch die zugrundeliegende Erkrankung identifiziert werden konnte (bei 46 von insgesamt 59 biopsierten Kindern, entsprechend 78%) (1). *Hafezi et al.* konnten zeigen, dass eine definitive Klärung der Histopathologie mittels Lungenbiopsie bei 63% der untersuchten Patienten zu Therapieänderungen, vor allem hinsichtlich der verabreichten Steroiddosis, führte (16).

Im Rahmen dieses Promotionsprojekts gingen wir daher in unserer Patientenkohorte insbesondere auch der Frage nach, welche diagnostischen Maßnahmen bei ätiologisch ungeklärten Fällen unternommen wurden (1).

2.1.3 Therapie und Management

Randomisierte, kontrollierte Studien zu medikamentösen Therapieoptionen bei chILD liegen aktuell nicht vor (5). Supportive Maßnahmen beinhalten je nach Ausmaß der respiratorischen Insuffizienz Sauerstoffsupplementation und/oder Beatmung, außerdem hochkalorische Ernährung sowie die Sicherstellung eines optimalen Impfstatus (18). Empirische Therapieoptionen bei diffus-parenchymatösen Erkrankungen im Kindesalter basieren auf einem anti-inflammatorischen Therapieansatz und umfassen Kortikosteroide, Hydroxychloroquin und Azithromycin (5, 10). Teilweise werden auch andere Immunsuppressiva wie Azathioprin und Cyclosporin A oder Zytostatika (Cyclophosphamid, Methotrexat) eingesetzt (18).

Für einzelne Erkrankungen existieren spezifische Therapieoptionen, so etwa für die pulmonale Alveolarproteinose, bei der Whole lung Lavage-Prozeduren durchgeführt werden bzw. die

Inhalation von GMCSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) bei der autoimmunen Form zu einer Verbesserung der Symptome führen kann (5, 19). Für Nintedanib, das bei Erwachsenen zur Therapie von Lungenfibrosen zugelassen sind werden aktuell erste Daten bei Kindern mit interstitiellen Lungenerkrankungen gesammelt (5, 20). Pirfenidon, ebenso antifibrotisch wirksam, wurde in Einzelfällen bei Kindern mit Hermansky-Pudlak-Syndrom eingesetzt (21). Bei chILD im Rahmen anderer Grunderkrankungen, insbesondere autoinflammatorischer Erkrankungen und immunologisch vermittelter Bindegewebserkrankungen, werden unter anderem Mycophenolat-Mofetil (MMF), Azathioprin, Rituximab oder Januskinase-Inhibitoren zur Immunsuppression eingesetzt (3).

2.2 Diffuse alveoläre Hämorrhagie bei Kindern/Jugendlichen

2.2.1 Hintergrund

Als diffuse alveoläre Hämorrhagie (DAH) bezeichnet man histopathologisch den Nachweis intraalveolärer Erythrozyten und/oder hämosiderinhaltiger Makrophagen nach alveolären Blutungen (22, 23). Rezidivierende pulmonale Blutungen führen zum Krankheitsbild der pulmonalen Hämosiderose, bei dem sich histopathologisch zusätzlich Verdickungen der interalveolären Septen mit einer Hyperplasie der Typ-II-Pneumozyten sowie teilweise auch einer Kollagenvermehrung zeigen; bleibt die Ursache dafür unklar, wird die Erkrankung als idiopathische pulmonale Hämosiderose (IPH) bezeichnet (1, 23-25). Für dieses Forschungsprojekt wurde mit dem Klassifikationssystem des chILD-EU-Registers gearbeitet, das in der aktuellsten Version vier große Gruppen von DPLD bei Kindern unterscheidet: Erkrankungen, die sich nur an der Lunge manifestieren, DPLD im Rahmen von systemischen Erkrankungen, durch Exposition gegenüber externen Faktoren ausgelöste DPLD sowie vaskuläre Erkrankungen (14). Diffuse alveoläre Hämorrhagien können in allen Gruppen auftreten (22); die „idiopathische“ DAH ist der Gruppe der vaskulären Erkrankungen zugeordnet (14).

Pulmonale Hämorrhagien und DAH sind im Kindes- und Jugendalter selten (geschätzte Inzidenz: 0.24-1.23 Fälle pro 1 Million Kinder/Jahr), jedoch je nach Ausmaß des Blutungsgeschehens potentiell lebensgefährlich (25-27). Eine Reihe verschiedener Grunderkrankungen und Faktoren können zu DAH führen, darunter unter anderem entzündliche Veränderungen der pulmonalen Gefäße (Vaskulitis/Kapillaritis), Gerinnungsstörungen, immunologische Erkrankungen (etwa Immundysregulation beim COPA-Syndrom, Abstoßungsreaktionen nach Transplantation) kardiovaskuläre Erkrankungen (beispielsweise pulmonale Hypertension, arteriovenöse Malformationen) und durch Toxizität von Medikamenten vermittelte Blutungsgeschehen (1, 22, 28, 29). Für eine regionale Häufung von akuter pulmonaler Hämorrhagie bei Säuglingen in Cleveland zwischen 1993-1998 (Ohio, USA) konnte eine Assoziation zwischen der Exposition zu bestimmten Pilzen (vor allem *Stachybotrys chartarum*) und dem Auftreten von DAH gezeigt werden (30, 31).

Eine detaillierte Aufschlüsselung möglicher Ätiologien für DAH findet sich in **Abbildung 1**, die in Anlehnung an unsere Publikation die Daten der im Rahmen dieses Promotionsprojektes bearbeiteten DAH-Patientenkohorte abbildet (1). Davon abzugrenzen sind fokale pulmonale Hämorrhagien, die im Rahmen von Traumata, Fremdkörperaspirationen, (chronischen) Infektionen, Bronchiektasien (z.B. durch zystische Fibrose) oder tumorbedingt auftreten können (32). In **Abbildung 1** sind unter den Patienten mit DAH im Rahmen pulmonaler Erkrankungen auch Patienten mit pulmonaler Hypertonie angeführt. Dies erklärt sich in den meisten Fällen dadurch, dass Kinder mit $\geq 10\%$ hämosiderinhaltigen Makrophagen in der BAL in die Analyse eingeschlossen wurden (1). Bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie ist der gehäufte Nachweis hämosiderinhaltiger Makrophagen in der bronchoalveolären Lavage am ehesten in Zusammenhang mit druckbedingter Schädigung der pulmonal-arteriellen Gefäßwand, die zu Mikrotraumata und Blutungen führt, zu sehen (24).

Im Kindesalter zeigen die Patienten klassischerweise keine massiven Hämoptysen (nur bei etwa 1/3 der Patienten vorhanden), sondern häufig lediglich eine Anämie und radiologisch diffuse pulmonale Infiltrate, begleitend kann eine respiratorische Beeinträchtigung unterschiedlichen Ausmaßes mit Hypoxie auftreten (22). In manchen Fällen, insbesondere bei kleineren Kindern, steht eine unspezifische respiratorische Symptomatik (Husten, Tachypnoe, Dyspnoe, Wheezing)

im Vordergrund, zusätzlich können Blässe, Fatigue (im Rahmen der Anämie) und eine Gedeihstörung vorhanden sein (26, 28, 29).

Die Diagnostik bei DAH orientiert sich am in **Kapitel 1.1.2.** beschriebenen Vorgehen für chILD. Eine besonders wichtige Rolle nimmt die bronchoalveoläre Lavage (BAL) ein: Bei DAH wird die Lavageflüssigkeit typischerweise mit jedem Spülvorgang makroskopisch blutiger (33). Insbesondere bei ätiologisch unklaren Fällen ist die Durchführung einer Lungenbiopsie als diagnostischer Goldstandard relevant (34).

Die Therapie orientiert sich an der Therapie der Grunderkrankung, sofern diese bekannt ist. Für Patienten mit IPH werden von den in **Kapitel 1.1.3.** angeführten immunsuppressiven Medikamenten insbesondere systemische Kortikosteroide und Hydroxychloroquin eingesetzt, bei schwereren Fällen auch MMF und Cyclophosphamid sowie Rituximab (34, 35).

Bei einer akuten DAH können zur Stabilisierung der Patienten die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten, Sauerstoffsupplementation und nicht-invasive Beatmung (positiver endexpiratorischer Druck), ggf. auch invasive Beatmung nötig werden (28).

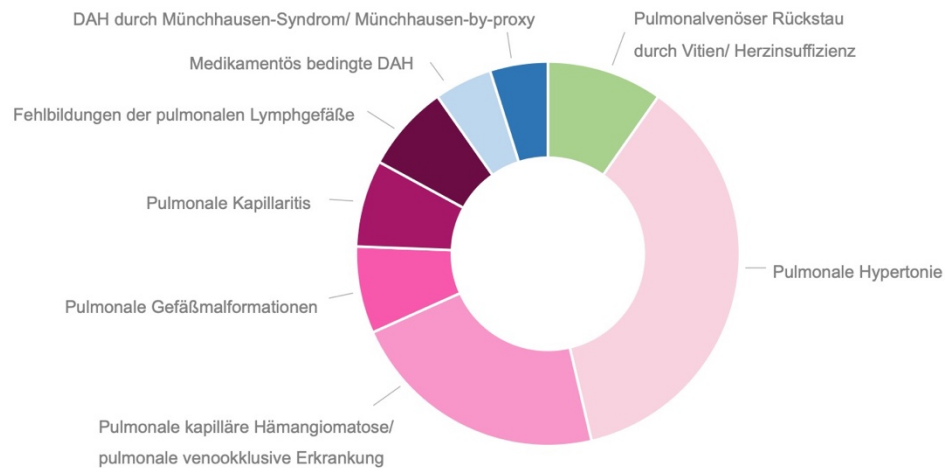
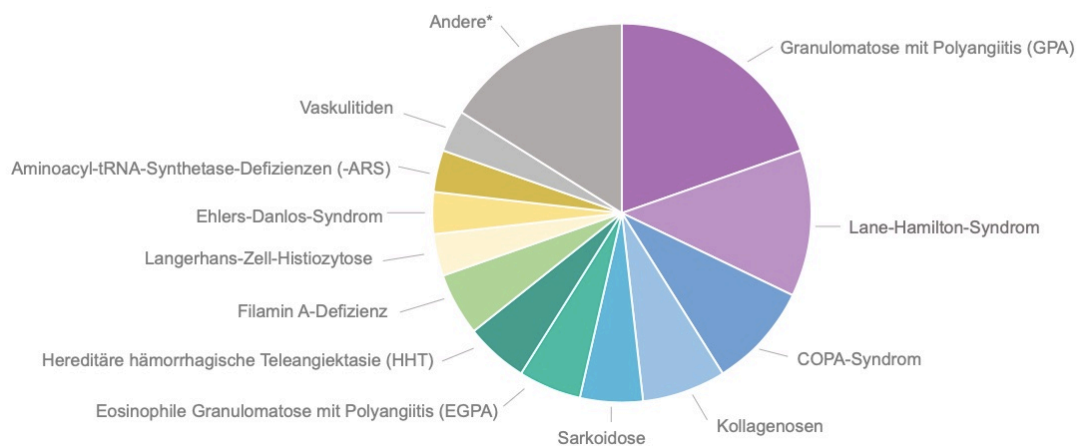
DAH im Rahmen pulmonaler/ kardialer Erkrankungen, oder durch exogene Faktoren bedingt (n = 41)**DAH im Rahmen systemischer Grunderkrankungen (n = 56)**

Abbildung 1. Mögliche Ursachen von DAH anhand unserer Patientenkohorte. Bei 97 von 131 Kindern konnte die DAH ätiologisch geklärt und folgenden Gruppen zugeordnet werden: kardiale Erkrankungen (n = 4, oben, grün), spezifische pulmonale Erkrankung (n = 33, oben, rosa/rot), durch exogene Faktoren ausgelöste DAH (n = 4, oben, blau), systemische Grunderkrankung (n = 56, unten). (1)

*Speichererkrankungen, Cantu-Syndrom, Familiäre Dysautonomie, kongenitale Fehlbildungen der Lymphgefäße, systemischer Lupus erythematodes, Goodpasture-Syndrom, mikroskopische Polyangiitis, Hyper-IgG4-Erkrankung, pulmonale thrombotische Mikroangiopathie bei atypischem hämolytisch-urämischem Syndrom (für alle: n = 1)

2.2.2 Aktueller Forschungsstand und spezifische Fragestellungen

Bisher gibt es nur wenige Arbeiten, die sich mit DAH und/oder IPH bei Kindern beschäftigen. Die verfügbaren Studien konzentrieren sich vor allem auf eine Beschreibung der klinischen Symptomatik und des Verlaufs sowie möglicher Therapieoptionen und ihrer Auswirkungen auf die Prognose (1). Ein Ziel dieses Promotionsprojektes und der daraus entstandenen Publikation war die Verbesserung der Datenlage zu Ätiologie und Diagnostik bei pädiatrischer DAH, womit zu einer vermehrten Identifikation zugrundeliegender Ursachen und damit auch Zuführung der Patienten zu entsprechenden Therapien beigetragen werden soll (1).

Vor allem bei IPH ergibt sich anhand der vorliegenden spezifischen Literatur immer wieder die Frage, wie ausführlich die diagnostischen Maßnahmen waren, mit denen andere mögliche Diagnosen als Ursache einer DAH (**vgl. Abbildung 1**) ausgeschlossen wurden. In einer älteren Publikation von 1983 werteten *Chryssantopoulos et al.* (Thessaloniki, Griechenland) Daten von 30 Kindern mit der Diagnose einer IPH aus (1957-1976), um prognostische Faktoren für den Verlauf zu identifizieren (36). Die Diagnose IPH wurde jeweils klinisch gestellt, invasive Untersuchungen/Lungenbiopsien werden nicht erwähnt, was sicherlich auch den im Vergleich zu heute eingeschränkteren diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten geschuldet ist; dementsprechend kritisch ist das in der Arbeit beschriebene schlechte Outcome der Patienten zu bewerten (zum Zeitpunkt der Auswertung waren 60% bereits verstorben) (36). Eine gut 15 Jahre später veröffentlichte retrospektive Analyse von *Saeed et al.* (Los Angeles, USA) liefert unter diesem Gesichtspunkt verlässlichere Daten: Bei 13 von 17 Kindern, bei denen im Zeitraum von 1972-1998 die Diagnose einer IPH gestellt wurde, lag auch ein Lungenbiopsie vor (37). Damit liegt der Anteil an Lungenbiopsien auch höher als in der von uns untersuchten Kohorte, bei der bei 12 von 34 pädiatrischen Patienten mit ungeklärten alveolären Hämorrhagien eine Lungenbiopsie gewonnen wurde (1). Neben der Darstellung der klinischen und diagnostischen Maßnahmen diskutieren die Autoren vor allem den Einfluss immunsuppressiver Therapie auf die Prognose; ihre Daten ergaben eine im Vergleich zu älteren Studien deutlich verbesserte 5-Jahres-Überlebensrate von 86% für IPH-Patienten (37).

In der im selben Zeitraum veröffentlichten retrospektiven Analyse zu 23 Kindern mit IPH (1979-1994) von *Kiper et al.* (Ankara, Türkei; 1999), in der die Autoren insbesondere für eine längerfristige Therapie mit niedrig dosierten Kortikosteroiden zur Vermeidung von Exazerbationen der Erkrankung plädieren, erhielt nur ein Kind im Rahmen der diagnostischen Abklärung eine Lungenbiopsie. Eine BAL wurde bei zwei Patienten durchgeführt, der Nachweis von hämosiderinhaltigen Makrophagen wurde überwiegend (n = 18) aus Magensaftaspirat erbracht. (38)

Auffallend an dieser Kohorte ist der hohe Anteil an konsanguinen Familien (11 Patienten, 43%), die eine genetische Prädisposition bei zumindest einem Teil Kinder nahelegen (38). Bedeutend für pulmonale Hämorrhagien ist dabei vor allem das 2015 erstbeschriebene COPA-Syndrom, eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die durch Autoinflammation zur Schädigung von Lunge, Gelenken und Niere führt (39, 40). Im Rahmen der differenzierten Untersuchung unserer Kohorte von Kindern mit ungeklärter diffuser alveolärer Hämorrhagie (n = 34) wurden daher, sofern Biomaterialien verfügbar waren, genetische Untersuchungen auf Mutationen im *COPA*-Gen (Exon 8, 9) bzw. teilweise auch ein Whole-Exom Sequencing durchgeführt (1).

Le Clainche et al. (Frankreich, 2000) sammelten 10-Jahres Follow-up-Daten zu 15 Kinder mit der Diagnose IPH und konnten zeigen, dass der Großteil der untersuchten Patienten im Langzeitverlauf keine oder nur milde respiratorische Symptome zeigte. Auch hier lag zur

Diagnosestellung jedoch bei weniger als der Hälfte der Kinder eine Lungenbiopsie ($n = 6$) oder BAL vor ($n = 7$) (41). Bei einem relevanten Anteil der Patienten ($n = 4$) wurden im Verlauf spezifische Grunderkrankungen diagnostiziert (rheumatologische Grunderkrankungen, Zöliakie), was die Hypothese unserer Arbeit stützt, dass einige Patienten mit der Diagnose IPH vermutlich alveoläre Hämorrhagien im Rahmen anderer Erkrankungen entwickeln, die verzögert diagnostiziert werden (1, 41).

In einer Arbeit von *Kabra et al.*, die 2007 die klinische Präsentation und den Verlauf 26 indischer Kinder mit IPH vorstellten, wurde im Vergleich dazu bei fast allen Patienten eine BAL durchgeführt ($n = 22$) (42). Alle Patienten erhielten ein laborchemisches Antikörper-Screening (ANAs (antinukleäre Antikörper), ANCAs (Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper)); Lungenbiopsien zur histopathologischen Abgrenzung anderer Erkrankungen wurden jedoch kaum durchgeführt ($n = 1$) (42). Auch bei *Taytard et al.*, die 2013 Daten zum klinischen Phänotyp und Verlauf von 25 Kindern mit IPH aus der RespiRare®-Kohorte publizierten, wurden nur in sechs Fällen eine Lungenbiopsie durchgeführt (43). In beiden Kohorten erhielten zwar alle Kinder eine thorakale Bildgebung, bei etwa einem Drittel wurden jedoch lediglich eine Röntgenuntersuchung und keine CT-Bildgebung angefertigt (42, 43).

Ein hinsichtlich der Ätiologie von DAH interessanter Aspekt der französischen Kohorte ist die erstmalige Beschreibung einer Assoziation von Trisomie 21 und IPH anhand von fünf Patienten, die in einer darauffolgenden Arbeit (*Alimi et al.*, 2018) weiter verfolgt wird (43, 44). Diese Assoziation konnten wir in unserer Kohorte nicht bestätigen, es fanden sich keine Fälle mit DAH und Trisomie 21 (1).

Auch aktuellere Arbeiten zeigen, dass es durchaus Bedarf zur Aufarbeitung diagnostischer Maßnahmen bei Kindern mit der Diagnose DAH/IPH gibt, und dass insbesondere Lungenbiopsien auch bei unklaren DAH-Fällen mit Diagnose einer IPH häufig nicht durchgeführt werden: *De Silva et al.* veröffentlichten 2019 eine Arbeit zu insgesamt 44 indischen Kindern mit pulmonaler Hämorrhagie, von denen 16 Fälle ungeklärt blieben und die Diagnose IPH vergeben wurde; allerdings wurden nur bei vier dieser Kinder eine Lungenbiopsie durchgeführt (45). In einer chinesischen Arbeit von *Zhang et al.* (2019) zu 107 Kindern, bei denen im Zeitraum von 1996-2017 die Diagnose einer IPH gestellt wurde, wurden nur bei 60 Kindern CT-Untersuchungen durchgeführt, und nur bei acht Kindern eine BAL; Lungenbiopsien wurden nicht gewonnen. Bei 79 Fällen lag initial eine Fehldiagnose vor (vor allem Eisenmangelanämie und Infektionen) (46). Nicht zuletzt lässt sich daraus der hohe Stellenwert eines vollständigen und systematischen Vorgehens zur Diagnosefindung bei Kindern mit DAH ableiten; dies war auch eine wichtige Schlussfolgerung aus unserem Forschungsprojekt (1). *Yang et al.* (Taiwan, 2021) berichten, mit dem Fokus vor allem auf therapeutischen Maßnahmen, von 12 Kindern mit der Diagnose IPH aus dem Zeitraum 1988-2018. Im Sinne unserer Fragestellungen fällt dabei neuerlich die niedrige Anzahl an Lungenbiopsien ($n = 2$) und bronchoalveolären Lavagen auf ($n = 5$) (47). Auch in der Arbeit von *Hizal et al.* (2021, Türkei), in der die Autoren versuchen, anhand der retrospektiven Analyse von 54 Kindern mit der Diagnose IPH Risikofaktoren für einen schweren Verlauf zu identifizieren, wurde nur bei fünf Kindern eine Lungenbiopsie durchgeführt; eine BAL lag bei 24 Patienten vor (48).

Dieses Promotionsprojekt soll damit insgesamt dazu beitragen, das Bewusstsein für die vielfältigen Ursachen von DAH und für notwendige diagnostische Maßnahmen zu schärfen.

2.3 Human Phenotype Ontology

2.3.1 Grundlagen

Eine Ontologie bezeichnet in der Informatik ein Datenmodell, das Begriffe, Merkmale und ihre Beziehungen zueinander als Baum oder gerichteten azyklischen Graphen (directed acyclic graph, DAG) darstellt (49, 50). Mittels DAG werden verschiedene Variable als sogenannte „Knoten“ (nodes) abgebildet, die vermuteten Beziehungen zwischen solchen Knoten werden als unidirektionale „Bögen“ (arcs) dargestellt (51). Im biomedizinischen Bereich gibt es eine Vielzahl von Ontologien; einen Überblick darüber geben etwa BioPortal (<https://bioportal.bioontology.org>) oder OLS (Ontology Lookup Service, <https://www.ebi.ac.uk/ols/index>).

Die Human Phenotype Ontology (HPO) wurde von einem Team um Prof. Dr. Peter N. Robinson (aktuell Professur für Computational Biology, Jackson Laboratory for Genomic Medicine, Farmington, Connecticut, USA) und Dr. Sebastian Köhler (Bioinformatiker, Berlin) an der Berliner Charité mit dem Ziel entwickelt, phänotypische Auffälligkeiten, die bei genetischen Erkrankungen beim Menschen auftreten können, mit definierten Begriffen („terms“, entsprechend oben genannten „nodes“) zu beschreiben, und diese den Erkrankungen als Annotationen („annotations“, entsprechend oben genannten „arcs“) zuzuordnen (49). Die HPO ist online frei zugänglich (<https://hpo.jax.org/app/>) und im OBO-Format (Open Biomedical Ontologies) konzipiert, wodurch Interoperabilität mit anderen Ontologien sichergestellt wird (49, 52). Der Fokus der HPO liegt auf einer Vernetzung von genetischen Veränderungen und phänotypischen Merkmalen, weshalb sich die Datenbank primär auf genetische Erkrankungen konzentriert. Mit Veröffentlichung der ersten HPO-Version 2008 wurden alle in OMIM® (Online Mendelian Inheritance in Man®) angeführten, überwiegend monogenetisch bedingten Erkrankungen mit HPO-Terms annotiert (49, 53). Seitdem wurde die Ontologie kontinuierlich vervollständig, überarbeitet und erweitert, sodass 2020 über 15.000 HPO-Terms bestanden, die knapp 110.000 Annotationen zu in OMIM® angeführten Erkrankungen bildeten (54-56). Zusätzlich wurden auch andere seltene Erkrankungen, die (noch) nicht genetisch definiert wurden oder durch andere Ursachen bedingt sind, über eine Zusammenarbeit mit Orphanet (www.orpha.net) mit HPO-Terms annotiert (ca. 96.000 Annotationen unter Verwendung von knapp 8.000 HPO-Terms, Stand 2020) (55, 57). Die Annotationen entstanden computergestützt durch Text Mining der bestehenden Einträge zu Erkrankungen in den jeweiligen Datenbanken, oder wurden durch das HPO-Team, häufig nach vorhergehender Zusammenarbeit mit externen klinischen Experten aus dem entsprechenden Feld, händisch vorgenommen (54).

Die HPO bzw. die mittlerweile übergeordnete Monarch Initiative stellt zudem verschiedene digitale Tools zur Verfügung, die anhand klinischer Information zum Phänotyp (Phenomizer; <https://compbio.charite.de/phenomizer/>) oder durch kombinierte Analyse von phänotypischen Merkmalen und Exom-Daten (Exomiser; <https://exomiser.monarchinitiative.org/exomiser/>) die Identifikation genetischer Erkrankungen erleichtern sollen, bzw. bei unklaren Phänotyp-/Genotyp-Korrelationen potentielle Genloci durch Clustering aufzeigen sollen (55, 58-60).

2.3.2 Beitrag zum pädiatrisch-pneumologischen Bereich der HPO

Der Bereich der respiratorischen Erkrankungen war in der HPO unzureichend abgebildet (55). Es wurde daher im Rahmen dieses Promotionsprojekts die systematische Evaluierung und Vervollständigung der Datenbank für diesen Bereich durchgeführt. Dabei wurden zuerst die bestehende Hierarchie, Ordnung und Organisation in beiden Kategorien „Abnormal respiratory

system morphology“ und „Abnormal respiratory system physiology“ überprüft und, wo nötig, entsprechend angepasst. Anschließend wurden die Lücken in der Ontologie durch Erstellung neuer Sammelbegriffe („Parent terms“) und nachfolgender Terms geschlossen. Der Bereich „Abnormal bronchoalveolar lavage fluid morphology“ wurde komplett neu erstellt. Insgesamt konnten im Rahmen des Forschungsprojektes 63 neue Terms im Bereich „Abnormality of the respiratory system“ und eng verwandten Bereichen der HPO erstellt werden (1, 54).

Für jeden neuen HPO-Term wurde eine Definition erstellt, die für einige Terms um einen Kommentar ergänzt wurde, ggf. wurden Synonyme sowie jedenfalls die Pubmed-Referenz angegeben. Ebenso wurden Erkrankungen, zu denen der jeweilige Term annotiert werden kann, aufgeführt. Zur Veranschaulichung ist exemplarisch der neu erstellte Term „Hemosiderin-laden macrophages in bronchoalveolar fluid“ (HP:0032979) in **Abbildung 2** dargestellt.

Die Erstellung neuer Terms wurde unter Feedback des HPO-Teams um Prof. Robinson über die Plattform GitHub (<https://github.com>) koordiniert, die eine gemeinsame Arbeit an den entsprechenden Terms erlaubte (61). Nach Evaluation durch das HPO-Team wurden ggf. nötig Korrekturen umgesetzt, anschließend erfolgte die Aufnahme der neuen Terms in die HPO sowie die Vergabe einer HPO-Nummer durch das HPO-Team.

Parallel wurden die Annotationen zu in OMIM® oder Orphanet eingetragene Erkrankungen aus dem Bereich der pädiatrischen Pneumologie auf ihre Vollständigkeit überprüft und ggf. zusätzliche HPO-terms annotiert, wobei hier der Schwerpunkt auf Erkrankungen aus dem Formenkreis der diffusen alveolären Hämorrhagie lag. Insgesamt konnten nach Überprüfung durch das HPO-Team 61 Terms zu insgesamt sechs verschiedenen Erkrankungen annotiert werden (Sarkoidose, OMIM:181000; Granulomatose mit Polyangiitis, OMIM:608710; Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie, OMIM:187300; Ehlers-Danlos-Syndrom, OMIM:130050; Goodpasture-Syndrom, OMIM:233450, COPA-Syndrom, OMIM:616414).

**Anti-granulocyte macrophage colony stimulating factor antibody positivity
(HP:0020050)**

The presence of autoantibodies in the serum that react against granulocyte-macrophage colony stimulating factor.

Synonyms: Anti-GM-CSF antibody positivity

Comment: Anti-granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) autoantibodies have been shown to cause acquired pulmonary alveolar proteinosis (PAP), a chronic lung disease characterized by abnormalities of surfactant metabolism.

Pubmed References: PMID:23509356

Disease Associations: OMIM:610910, Pulmonary alveolar proteinosis, acquired
OMIM:614370, Surfactant metabolism dysfunction, pulmonary, 5

Gene Associations: CSF2RB

Abbildung 2. Beispielhafte Darstellung eines HPO-Terms (62).

2.3.3 Experimente zur Diagnosegenauigkeit des Phenomizer

Der Phenomizer ist ein frei verfügbares, von Sebastian Köhler entwickeltes Online-Tool (<https://compbio.charite.de/phenomizer/>), das Mediziner bei der Diagnose genetischer Erkrankungen unterstützen soll. Basierend auf der HPO enthält das Programm einen Algorithmus, der für Kombinationen verschiedener HPO-Terms Vorschläge möglicher Diagnosen liefert, und durch die Angabe von Signifikanzwerten der jeweiligen Diagnosen ein differentialdiagnostisches Ranking erlaubt (59).

Seit der Veröffentlichung des Phenomizers 2009 beschäftigten sich mehrere Arbeitsgruppen mit der Untersuchung der diagnostischen Treffsicherheit des Phenomizers. *Rae et al.* konnten zeigen, dass sich bei 33% der von ihnen analysierten 27 Patienten mit primären Immundefekten das veränderte Gen in den vom Phenomizer generierten Listen potentiell zugrundeliegender genetischer Erkrankungen fand (unter allen Diagnosen mit p -Wert < 0.5) (63). Für angeborene Stoffwechselerkrankungen konnten *Barbosa-Gouveia et al.* mittels Phenomizer eine signifikante Korrelation (p -Wert < 0.05) von Phänotyp und Genotyp für 39% der untersuchten Patienten ($n = 311$) ermitteln, für genetisch bedingte neuromuskuläre Erkrankungen bei 21% der untersuchten Patienten ($n = 268$) (64, 65). In einer Analyse von fünf Familien/Fällen mit kongenitalen Fehlbildungen der oberen Extremitäten konnte in einer Arbeit aus 2017 das zugrundeliegende Gen bzw. die verursachende Erkrankung in allen Fällen ermittelt werden, die korrekte Diagnose lag im diagnostischen Ranking auf Position 1-25 (66).

Für Kinder mit pneumologischen Erkrankungen wurden solche Untersuchungen bisher nicht veröffentlicht. Es wurde daher nach Implementation der oben genannten Terms und Annotationen in die HPO (**Kapitel 1.3.2**) ein experimenteller Ansatz entwickelt, der darauf abzielte, retrospektiv die diagnostische Treffsicherheit des Phenomizers für Kinder mit pulmonaler Hämorrhagie zu überprüfen (1).

Wir extrahierten dafür manuell aus 25 zufällig ausgewählten, stichwortartig vorliegenden Fallberichten aus unserer Kohorte pädiatrischer DAH-Patienten so viele HPO-Terms wie möglich. Zusätzlich wählten wir 25 Fallberichte aus einem auf pädiatrische Pneumologie spezialisierten Journal (*Pediatric Pulmonology*) aus, in denen Fälle mit Diagnosen aus dem Spektrum der DAH vorgestellt wurden, und extrahierten die entsprechenden HPO-Terms aus den Texten. Via Phenomizer erfolgte die Erstellung eines auf Basis der HPO-Terms ermittelten Rankings möglicher zugrundeliegender Diagnosen. Technisch war die Auswertung zu dem Zeitpunkt lediglich für in OMIM® erfasste Erkrankungen möglich, sodass ein Diagnose-Ranking für 29 Fallberichte erstellt werden konnte. (1)

Dabei zeigte sich, dass für Patienten mit (idiopathischer) pulmonaler Häm siderose eine mäßig hohe diagnostische Treffsicherheit bestand: Bei allen 10 Fällen ermittelte der Phenomizer die Diagnose innerhalb der ersten 30 Vorschläge. Hinsichtlich der anderen, teilweise sehr unterschiedlichen Erkrankungen mit auch extrapulmonalen Manifestationen war die korrekte Diagnose bei acht Erkrankungen innerhalb der ersten 50 Diagnosevorschläge zu finden (Position 2-50), bei weiteren neun Erkrankungen innerhalb der ersten 1000 Vorschläge (Position 110-719), bei zwei weiteren Erkrankungen erst auf Position 1045 und 1381. Damit ist der Phenomizer aktuell zwar ein vielversprechendes Tool in der Diagnostik seltener Erkrankungen, muss für einen effektiven Einsatz in der Patientenversorgung aber sicherlich noch optimiert werden. (1)

3. Eigenanteil an der Veröffentlichung

Für die dieser Dissertation zugrundeliegende Publikation „Diffuse alveolar hemorrhage in children with interstitial lung disease: Determine etiologies!“ (Knoflach et al., Pediatric Pulmonology, 2023) bin ich als Erstautorin verantwortlich.

Gemeinsam mit meinem Betreuer, Prof. Dr. med. Matthias Griese, wurde zu Beginn als Ziel des Promotionsprojektes eine retrospektive, wissenschaftliche Aufarbeitung einer Kohorte von pädiatrischen Patienten mit diffuser pulmonaler Hämorrhagie definiert (*conceptualization*). Anschließend war ich für die Identifikation der entsprechenden Patienten aus dem chILD-EU-Register bzw. der hausinternen Datenbank zuständig (*resources*). Durch eine Auseinandersetzung mit dem Klassifikationssystem des chILD-EU-Registers (14) wurden relevante Diagnosekategorien definiert, systematisch durchsucht und dadurch insgesamt 131 Patienten mit diffuser alveolärer Hämorrhagie identifiziert. Zu all diesen Patienten erfolgte eine systematische, manuelle Erhebung von in den Datenbanken und zusätzlichen Dokumenten hinterlegten Informationen zur klinischen Symptomatik, diagnostischen Maßnahmen, Behandlung und Verlauf (*data curation*). Auf Basis bereits vorhandener Literatur wurde gemeinsam mit meinem Betreuer entschieden, den weiteren Fokus für das Forschungsprojekt auf die Darstellung der Ätiologie und eine kritische Auseinandersetzung mit diagnostischen Maßnahmen zu legen (*methodology*). Es erfolgte eine dahingehende Auswertung der in der Kohorte vorliegenden Erkrankungen und durchgeführten Untersuchungen (*formal analysis, investigation*). Bei einigen Patienten wurden als Folge davon genetische Untersuchungen aus Materialien aus der Biobank initiiert (praktische Durchführung der Analysen durch Mitglieder der Arbeitsgruppe Prof. Griese). Für eine Untergruppe der Kohorte (IPH-Patienten) erarbeitete ich verschiedene Vorschläge zur Erstellung von Subkategorien nach klinischen und laborchemischen Kriterien, die mit meinem Betreuer abgestimmt wurden und im Verlauf eine neuartige deskriptive Differenzierung innerhalb unserer IPH-Kohorte ermöglichten.

Im Zuge dieser Arbeiten entstand in Abgleich mit der bestehenden Literatur ein Vorschlag für einen diagnostischen Algorithmus für diese Patientengruppe, der sich unter anderem in der Form einer Checkliste in der Publikation wiederfindet (Supplement).

Parallel arbeitete ich gemeinsam mit meiner Kollegin aus der Forschungsgruppe (Christina K. Rapp) an der in **Kapitel 1.3.2** beschriebenen Erstellung einer pädiatrisch-pneumologischen Ontologie innerhalb der HPO. Wir setzten uns dabei intensiv mit dem Konzept der HPO und der bestehenden Hierarchie im pneumologischen Bereich auseinander und erstellten beide neue HPO-Terms und Annotationen. Zur Implementation der Änderungen befanden wir uns unter Supervision meines Betreuers in regelmäßigem Austausch mit Prof. Peter N. Robinson (Farmington, USA) vom HPO-Team. Gemeinsam mit Prof. Robinson und Prof. Griese wurden die Experimente zur diagnostischen Treffsicherheit des HPO-Tools Phenomizer entwickelt (*conceptualization, methodology*). Anschließend war ich für die Auswahl der Fälle aus der Literatur und die Extraktion der HPO-Terms aus den insgesamt 50 Fallberichten verantwortlich (*resources, formal analysis*). Die technische Durchführung des Experiments oblag Prof. Robinson.

Mit Vorliegen aller Daten schrieb ich die erste Version unseres Manuskripts und des Supplements, und stellte die Ergebnisse entsprechend grafisch dar (*visualization, writing - original draft*). In enger Zusammenarbeit mit meinem Betreuer und mit den Rückmeldungen der Ko-Autoren überarbeitete ich Texte und Grafiken und war für den Einreichungs- und Revisionsprozess inkl. Einarbeitung der Korrekturen der Reviewer verantwortlich.

4. Zusammenfassung

Hintergrund:

Diffuse alveoläre Hämorrhagien (DAH) sind bei Kindern selten, stellen jedoch eine potentiell lebensbedrohliche diffus parenchymatöse Lungenerkrankung dar. DAH kann sich als ein Symptom im Rahmen verschiedener Grunderkrankungen oder externer Einflüsse manifestieren, oder aber als eigenständige Krankheitsentität bisher unbekannter Ätiologie auftreten (idiopathische pulmonale Häm siderose, IPH). Diagnostisch führt ein stufenweises Vorgehen aus Bildgebung (insbesondere Computertomographie des Thorax), Laboruntersuchungen (inklusive Untersuchung der Gerinnung und verschiedener Autoantikörper), funktionellen Tests (Lungenfunktion, Messung der Diffusionskapazität) und invasiven Untersuchungen (Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage, Lungenbiopsie) im Idealfall zur Identifikation einer Grunderkrankung bzw. zugrundeliegenden Ursache der DAH.

Bisherige wissenschaftliche Arbeiten zu DAH und IPH bei Kindern beschäftigen sich überwiegend mit der Darstellung klinischer Charakteristika, medikamentöser Therapieoptionen, Verlauf und Prognose. Dieses Promotionsprojekt und die daraus entstandene Publikation in *Pediatric Pulmonology* fokussieren sich auf ätiologische Aspekte sowie die Evaluation diagnostischer Maßnahmen bei pädiatrischen Patienten mit DAH und/oder IPH.

Dabei stellte sich insbesondere auch die Frage, inwiefern Software-Programme die bereits etablierte Diagnostik ergänzen und zur möglichst raschen Ermittlung seltener Diagnosen beitragen könnten. Der Phenomizer, ein assoziiertes Online-Tool der Human Phenotype Ontology (HPO), liefert basierend auf dem durch HPO-Terms beschriebenen Phänotyp eines Patienten/einer Patientin Vorschläge für mögliche zugrundeliegende Diagnosen.

Methodik:

Unter Nutzung des chILD-EU-Registers (European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases) und der hausinternen Datenbank wurden retrospektiv 350 Kinder, bei denen im Zeitraum zwischen 07/1997 und 12/2020 eine interstitielle Lungenerkrankung diagnostiziert worden war, hinsichtlich des Vorliegens von DAH manuell analysiert. Eine DAH wurde durch das Vorliegen von zumindest einem der folgenden Kriterien definiert: klinische Anzeichen für Lungenblutungen (Hämoptysen, makroskopische Blutungshinweise in der Bronchoskopie); typische makroskopische Befunde bei der Gewinnung der bronchoalveolären Lavage, der zytologischen Aufarbeitung der Lavageflüssigkeit oder in der histopathologischen Untersuchung der Lungenbiopsie; Kombination von respiratorischen Symptomen mit auf Blutungsgeschehen hinweisenden bildgebenden und laborchemischen Befunden. Patienten, bei denen im Verlauf nicht-interstitielle Erkrankungen als Ursache der DAH diagnostiziert wurden, wurden ausgeschlossen. Insgesamt konnte so eine Kohorte von 131 pädiatrische Patienten mit DAH identifiziert werden, deren Daten systematisch gesammelt und untersucht wurden.

Um eine aussagekräftige Evaluation der diagnostischen Treffsicherheit des Phenomizer zu ermöglichen, wurden parallel dazu die (pädiatrisch-)pneumologischen Bereiche der HPO durch Restrukturierung und Erweiterung (neue HPO-Terms und Annotationen) optimiert. Für ein Experiment zur Diagnosefindung mittels Phenomizer wurden nachfolgend 25 pädiatrische Patienten mit DAH zufällig aus unserer Kohorte ermittelt, sowie zusätzlich 25 Fallvorstellungen zu DAH aus der spezialisierten Literatur (*Pediatric Pulmonology*) ausgewählt und aus diesen Fallberichten möglichst viele HPO-Terms manuell extrahiert. Die weiterführende Analyse durch den Phenomizer war zum Zeitpunkt der Experimente ausschließlich für Erkrankungen mit einer

OMIM®-Nummer möglich (n = 29). Dabei führte die Eingabe der aus den Fallberichten extrahierten Begriffe (HPO-Terms) in den Phenomizer zur Erstellung einer nach Signifikanzwerten geordneten Liste an möglichen zugrundeliegenden Diagnosen, die mit der (bekannten) Hauptdiagnose der Patienten abgeglichen wurde.

Ergebnisse:

Bei 97 der 131 Kinder mit DAH konnte die zugrundeliegende Ätiologie geklärt werden. Dabei lagen überwiegend systemische Grunderkrankungen (n = 56) vor, außerdem konnten spezifische pulmonale Erkrankungen (n = 33), kardiale Erkrankungen (n = 4) und exogene Trigger (n = 4) als Ursache der DAH identifiziert werden. Bei fast der Hälfte der Fälle (n = 46) war im Rahmen des diagnostischen Work-ups eine Lungenbiopsie durchgeführt worden.

Bei 34 Patienten konnte keine der DAH zugrundeliegende Ursache eruiert werden (IPH). Diese Fälle wurden anhand klinischer und laborchemischer Kriterien fünf deskriptiven Subgruppen zugeordnet: IPH mit autoimmunen Charakteristika (n = 9), IPH mit Eosinophilie (n = 5), IPH in Kombination mit renaler Erkrankung (n = 3), IPH mit Pathologien in mehreren anderen Organsystemen, am ehesten im Rahmen einer noch ungeklärten Grunderkrankung (n = 3), IPH ohne weitere Differenzierung (n = 14).

Die Hierarchie und Organisation der Terms in den beiden HPO-Kategorien „Abnormal respiratory system morphology“ und „Abnormal respiratory system physiology“ wurde überarbeitet und erweitert. Es wurden insgesamt 63 neue HPO-Terms aus dem Feld der (pädiatrischen) Pneumologie generiert, außerdem konnten 61 Annotationen zu in unserer Kohorte vertretenen Erkrankungen erstellt werden. Im Rahmen der Experimente zur Diagnosesicherheit des Phenomizers wurde ein Ranking an möglichen Diagnosen für 29 Fallberichte aus unserer Kohorte bzw. der Literatur erstellt. Dabei zeigte sich eine verhältnismäßig gute Treffsicherheit für Fälle mit IPH; die korrekte Diagnose war jeweils innerhalb der ersten 30 Diagnosen zu finden. Für die übrigen Diagnosen zeigten sich große Schwankungen hinsichtlich der diagnostischen Treffsicherheit: Die korrekte Diagnose war in etwa der Hälfte der Fälle innerhalb der ersten 50 Vorschläge zu finden, in den übrigen Fällen auf Rang 110-1381 der erstellten Vorschläge.

Im Rahmen der Analyse der diagnostischen Maßnahmen wurde eine Check-Liste für Diagnostik beim Kind mit DAH im klinischen Alltag entwickelt.

Schlussfolgerungen:

Aufgrund der Vielzahl an eigenständigen Grunderkrankungen bzw. externen Einflüssen, die zu einer DAH bei Kindern führen können, ist insbesondere bei ungeklärten Fällen eine Komplettierung und ggf. Wiederholung diagnostischer Maßnahmen essentiell. Trotz Fortschritten speziell im Bereich der genetischen Diagnostik tragen invasive Untersuchungen, insbesondere eine Lungenbiopsie, häufig zur Diagnosefindung bei. Diagnostische Checklisten können eine Orientierungshilfe im diagnostischen Vorgehen darstellen.

Sollten keine zugrundeliegende Ursache für eine DAH gefunden und die Diagnose einer IPH gestellt werden, schlagen wir eine weitere Differenzierung dieser in sich heterogenen Patientengruppe nach klinischen/laborchemischen Kriterien vor (autoimmune Charakteristika / Eosinophilie / renale Beteiligung / Multiorganerkrankung / keine weitere Differenzierung).

Der diagnostische Mehrwert vom hier als Beispiel für Software-gestützte Systeme verwendeten Phenomizer (HPO) ist aktuell vor allem gegeben, wenn die Erkrankung durch bestehende HPO-Terms gut zu charakterisieren ist und die entsprechenden Terms zur Erkrankung annotiert sind. Insbesondere bei systemischen Erkrankungen oder Multiorgan-Beteiligung ist eine

Komplettierung der Ontologie durch verschiedene Fachdisziplinen zur Steigerung der diagnostischen Treffsicherheit nötig, um perspektivisch eine Anwendung im klinischen Alltag zu ermöglichen.

*Der Eigenanteil an der Publikation ist in **Kapitel 2 (Eigenanteil an der Veröffentlichung)** im Detail dargestellt.*

5. Abstract (English)

Background:

Diffuse alveolar hemorrhage (DAH), a rare subgroup of diffuse parenchymal lung diseases, is potentially life-threatening in children. DAH may occur as a symptom of a variety of underlying diseases or harmful exogenous conditions. Recurrent DAH lacking an underlying etiology is generally referred to as idiopathic pulmonary hemosiderosis (IPH). To identify the underlying cause of DAH, a step-by-step approach of diagnostic measures including imaging (high-resolution computed tomography, HRCT), laboratory examinations (particularly coagulation studies and evaluation for autoantibodies), functional tests (pulmonary function test, diffusion capacity) and invasive procedures (bronchoscopy with bronchoalveolar lavage, lung biopsy) is indicated.

Whereas previous studies about pediatric DAH/IPH concentrate mainly on description of clinical characteristics, treatment options, clinical course and outcome, this dissertation and the related publication in *Pediatric Pulmonology* focus on etiology and the evaluation of diagnostic measures. Concerning diagnostic measures, we had a special interest in the investigation of the free software program *Phenomizer* and its possible contribution to making a diagnosis in rare diseases. The Phenomizer, an associated online-tool of the Human Phenotype Ontology (HPO), is able to provide suggestions for underlying diagnoses based on the description of a patient's phenotypical characteristics by HPO-terms.

Methods:

For this retrospective study, 350 children from the chILD-EU-register (European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases) and our inhouse database who were diagnosed with an interstitial lung disease between 07/1997 and 12/2020 were manually analyzed for the presence of DAH. DAH was defined to be present if at least one of the following criteria was demonstrated in a patient: clinical signs for pulmonary hemorrhage (hemoptysis, acute/former bleeding on bronchoscopy); typical macroscopic findings when obtaining a bronchoalveolar lavage; characteristic findings in cytological examination of bronchoalveolar lavage and/or histological examination of a lung biopsy; combination of respiratory symptoms with hints for pulmonary bleeding in both imaging and laboratory tests. Patients who were later diagnosed with a non-interstitial cause of DAH were excluded from this study. This way, 131 children with DAH were identified and systematically analyzed.

Besides, the pulmonological sections of the HPO were revised and extended via implementation of new HPO-terms and annotations to subsequently enable the evaluation of diagnostic accuracy and applicability of the Phenomizer. For this experiment, 25 pediatric patients with DAH were randomly chosen from our cohort.; additionally, 25 cases with pediatric DAH were retrieved from a journal specialized in pediatric lung diseases (*Pediatric Pulmonology*). For all 50 case-vignettes/case-reports as many HPO-terms as possible were extracted manually. At the time the experiment was performed, the Phenomizer would only calculate diagnoses with an OMIM® number, which meant the analysis was applicable to 29 of our cases. Insertion of HPO-terms into the Phenomizer produced a list of possible underlying diagnoses, ranked by *p*-values indicating higher/lower probability. The rank of the correct diagnosis was then registered for each case.

Results:

For 97 of 131 children, underlying etiology of DAH was clarified. In most cases, patients were diagnosed with a systemic disease (n = 56). For others, specific pulmonary disorders (n = 33),

cardial diseases (n = 4) or exogenous triggers as cause of DAH were identified. For nearly 50% of this group of patients, diagnostic work-up included a lung biopsy (n = 46).

For 34 patients, no plausible cause/underlying disease was found (IPH). These cases were further analyzed and finally assigned to five descriptive clusters according to their clinical/laboratory findings: IPH associated with autoimmune features (n = 9), IPH associated with eosinophilia (n = 5), IPH associated with renal disease (n = 3), IPH associated with multiorgan involvement, suspected undetermined systemic disease (n = 3), IPH without further differentiation (n = 14).

Within the HPO, the categories „Abnormal respiratory system morphology“ and „Abnormal respiratory system physiology“ were revised, reorganized and expanded by creation of 63 new HPO-terms covering the field of pediatric pneumology. Furthermore, 61 annotations were added to diseases represented in our cohort of children with DAH. Diagnostic accuracy of the Phenomizer for case-vignettes/case-reports was evaluated by analyzing the rank of the correct underlying diagnosis among all the calculated diagnoses. For the 29 cases with underlying OMIM®-diseases, the best results were achieved for the diagnosis of IPH: The correct diagnosis was indicated among the first 30 suggestions in all cases. For other cases, ranking was very variable depending on the condition. For about half of these cases, the correct diagnosis was displayed within the first 50 suggestions; for the remaining cases, the underlying diagnosis was ranked 110-1381 of all suggestions.

Overall, analysis of diagnostic measures led to the development of a check-list which is meant to support clinicians in a systematic diagnostic approach to the child with DAH.

Conclusions:

As a variety of underlying disease and exogenous conditions may cause pediatric DAH, precise and sometimes repeated diagnostics are essential especially in cases where no underlying cause for DAH was identified. Even though genetic testing is gaining importance, invasive examination including a lung biopsy often contributes to clarification of an underlying disease. Diagnostic check-lists may be helpful for clinicians to plan diagnostic measures.

For patients with the diagnosis of IPH- indicating that no underlying cause for DAH was found- we suggest a further differentiation into descriptive clusters according to clinical and laboratory findings (IPH associated with autoimmune features/eosinophilia/renal disease/multiorgan involvement/without further differentiation).

The diagnostic software-tool *Phenomizer* (HPO) may be useful for diseases that are well characterized by HPO-terms and where disease annotations have already been implemented. Especially for systemic diseases with multiorgan involvement this is still a challenge which requires further input from all medical disciplines but may increase diagnostic accuracy and potentially establish software-tools in clinical routine in the future.

The authors's own contribution to the publication is described in detail in **Kapitel 2 (Eigenanteil an der Veröffentlichung)**.

6. Veröffentlichung

Katrin Knoflach, Christina Katharina Rapp, Nicolaus Schwerk, Julia Carlens, Martin Wetzke, Nagehan Emiralioglu, Nural Kiper, Astrid Madsen Ring, Frederik Buchvald, Effrosyni Manali, Spyros Papiris, Simone Reu-Hofer, Matthias Kappler, Alexandra Schieber, Elias Seidl, Florian Gothe, Peter N. Robinson, Matthias Griese; ChILD EU collaborators.

Diffuse alveolar hemorrhage in children with interstitial lung disease:

Determine etiologies!

Pediatric Pulmonology, 2023 Apr; 58(4): 1106-1121.

doi: 10.1002/ppul.26301. PMID: 36588100. Epub 2023 Jan 13.

7. Literaturverzeichnis

1. Knoflach K, Rapp CK, Schwerk N, Carlens J, Wetzke M, Emiralioglu N, et al. Diffuse alveolar hemorrhage in children with interstitial lung disease: Determine etiologies! *Pediatr Pulmonol.* 2023;58(4):1106-21.
2. Griese M, Irnstetter A, Hengst M, Burmester H, Nagel F, Ripper J, et al. Categorizing diffuse parenchymal lung disease in children. *Orphanet J Rare Dis.* 2015;10:122.
3. Nathan N, Griese M, Michel K, Carlens J, Gilbert C, Emiralioglu N, et al. Diagnostic workup of childhood interstitial lung disease. *Eur Respir Rev.* 2023;32(167):220188.
4. Griese M. Chronic interstitial lung disease in children. *Eur Respir Rev.* 2018;27(147):170100.
5. Cunningham S, Jaffe A, Young LR. Children's interstitial and diffuse lung disease. *Lancet Child Adolesc Health.* 2019;3(8):568-77.
6. Griese M, Haug M, Brasch F, Freihorst A, Lohse P, von Kries R, et al. Incidence and classification of pediatric diffuse parenchymal lung diseases in Germany. *Orphanet J Rare Dis.* 2009;4:26.
7. Saddi V, Beggs S, Bennetts B, Harrison J, Hime N, Kapur N, et al. Childhood interstitial lung diseases in immunocompetent children in Australia and New Zealand: a decade's experience. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):133.
8. Dinwiddie R, Sharief N, Crawford O. Idiopathic interstitial pneumonitis in children: a national survey in the United Kingdom and Ireland. *Pediatr Pulmonol.* 2002;34(1):23-9.
9. Torrent-Vernetta A, Gaboli M, Castillo-Corullon S, Mondejar-Lopez P, Sanz Santiago V, Costa-Colomer J, et al. Incidence and prevalence of children's diffuse lung disease in Spain. *Arch Bronconeumol.* 2022;58(1):22-9.
10. Bush A, Cunningham S, de Blic J, Barbato A, Clement A, Epaud R, et al. European protocols for the diagnosis and initial treatment of interstitial lung disease in children. *Thorax.* 2015;70(11):1078-84.
11. Kurland G, Deterding RR, Hagood JS, Young LR, Brody AS, Castile RG, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: classification, evaluation, and management of childhood interstitial lung disease in infancy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(3):376-94.
12. Deutsch GH, Young LR, Deterding RR, Fan LL, Dell SD, Bean JA, et al. Diffuse lung disease in young children: application of a novel classification scheme. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(11):1120-8.
13. Kitazawa H, Kure S. Interstitial lung disease in childhood: clinical and genetic aspects. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med.* 2015;9(Suppl 1):57-68.
14. Griese M. Etiologic classification of diffuse parenchymal (interstitial) lung diseases. *J Clin Med.* 2022;11(6):1747.
15. Nathan N, Taam RA, Epaud R, Delacourt C, Deschildre A, Reix P, et al. A national internet-linked database for pediatric interstitial lung diseases: the French network. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:40.
16. Hafezi N, Heimberger MA, Lewellen KA, Maatman T, Montgomery GS, Markel TA. Lung biopsy in children's interstitial and diffuse lung disease: Does it alter management? *Pediatr Pulmonol.* 2020;55(4):1050-60.
17. Vece TJ, Young LR. Update on diffuse lung disease in children. *Chest.* 2016;149(3):836-45.
18. Nathan N, Borensztajn K, Clement A. Genetic causes and clinical management of pediatric interstitial lung diseases. *Curr Opin Pulm Med.* 2018;24(3):253-9.
19. Griese M, Panagiotou P, Manali ED, Stahl M, Schwerk N, Costa V, et al. Autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in children. *ERJ Open Res.* 2022;8(1):00701-2021.
20. Deterding R, Young LR, DeBoer EM, Warburton D, Cunningham S, Schwerk N, et al. Nintedanib in children and adolescents with fibrosing interstitial lung diseases. *Eur Respir J.* 2023;61(2):2201512.

21. Hengst M, Naehrlich L, Mahavadi P, Grosse-Onnebrink J, Terheggen-Lagro S, Skanke LH, et al. Hermansky-Pudlak syndrome type 2 manifests with fibrosing lung disease early in childhood. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):42.
22. Lara AR, Schwarz MI. Diffuse alveolar hemorrhage. *Chest.* 2010;137(5):1164-71.
23. Zander DS, Farver CF. *Pulmonary Pathology: Elsevier; 2017.*
24. Houser S, Mark EJ, Balis UJ. *Lung Pathology: Humana Press; 2007.*
25. Saha BK. Idiopathic pulmonary hemosiderosis: A state of the art review. *Respir Med.* 2021;176:106234.
26. States LJ, Fields JM. Pulmonary hemorrhage in children. *Semin Roentgenol.* 1998;33(2):174-86.
27. Ohga S, Takahashi K, Miyazaki S, Kato H, Ueda K. Idiopathic pulmonary haemosiderosis in Japan: 39 possible cases from a survey questionnaire. *Eur J Pediatr.* 1995;154(12):994-5.
28. Susarla SC, Fan LL. Diffuse alveolar hemorrhage syndromes in children. *Curr Opin Pediatr.* 2007;19(3):314-20.
29. Eber E, Midulla Fabio. *ERS Handbook of Paediatric Respiratory Medicine.* 2021:620-5.
30. Dearborn DG, Yike I, Sorenson WG, Miller MJ, Etzel RA. Overview of investigations into pulmonary hemorrhage among infants in Cleveland, Ohio. *Environ Health Perspect.* 1999;107 Suppl 3(Suppl 3):495-9.
31. Dearborn DG, Smith PG, Dahms BB, Allan TM, Sorenson WG, Montana E, et al. Clinical profile of 30 infants with acute pulmonary hemorrhage in Cleveland. *Pediatrics.* 2002;110(3):627-37.
32. Godfrey S. Pulmonary hemorrhage/hemoptysis in children. *Pediatr Pulmonol.* 2004;37(6):476-84.
33. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, du Bois RM, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(9):1004-14.
34. Saha BK, Aiman A, Chong WH, Saha S, Song J, Bonnier A. Updates in idiopathic pulmonary hemosiderosis in 2022: a state of the art review. *Pediatr Pulmonol.* 2023;58(2):382-91.
35. Terheggen-Lagro SWJ, Haarman EG, Rutjes NW, van den Berg JM, Schonenberg-Meinema D. Rituximab in idiopathic pulmonary hemosiderosis in children: a novel and less toxic treatment option. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022;15(12):1549.
36. Chryssanthopoulos C, Cassimos C, Panagiotidou C. Prognostic criteria in idiopathic pulmonary hemosiderosis in children. *Eur J Pediatr.* 1983;140(2):123-5.
37. Saeed MM, Woo MS, MacLaughlin EF, Margetis MF, Keens TG. Prognosis in pediatric idiopathic pulmonary hemosiderosis. *Chest.* 1999;116(3):721-5.
38. Kiper N, Gocmen A, Ozcelik U, Dilber E, Anadol D. Long-term clinical course of patients with idiopathic pulmonary hemosiderosis (1979-1994): prolonged survival with low-dose corticosteroid therapy. *Pediatr Pulmonol.* 1999;27(3):180-4.
39. Vece TJ, Watkin LB, Nicholas S, Canter D, Braun MC, Guillerman RP, et al. COPA syndrome: a novel autosomal dominant immune dysregulatory disease. *J Clin Immunol.* 2016;36(4):377-87.
40. Watkin LB, Jessen B, Wiszniewski W, Vece TJ, Jan M, Sha Y, et al. COPA mutations impair ER-Golgi transport and cause hereditary autoimmune-mediated lung disease and arthritis. *Nat Genet.* 2015;47(6):654-60.
41. Le Clainche L, Le Bourgeois M, Fauroux B, Forenza N, Dommergues JP, Desbois JC, et al. Long-term outcome of idiopathic pulmonary hemosiderosis in children. *Medicine (Baltimore).* 2000;79(5):318-26.
42. Kabra SK, Bhargava S, Lodha R, Satyavani A, Walia M. Idiopathic pulmonary hemosiderosis: clinical profile and follow up of 26 children. *Indian Pediatr.* 2007;44(5):333-8.

43. Taytard J, Nathan N, de Blic J, Fayon M, Epaud R, Deschildre A, et al. New insights into pediatric idiopathic pulmonary hemosiderosis: the French RespiRare® cohort. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:161.
44. Alimi A, Taytard J, Abou Taam R, Houdouin V, Forgeron A, Lubrano Lavadera M, et al. Pulmonary hemosiderosis in children with Down syndrome: a national experience. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):60.
45. de Silva C, Mukherjee A, Jat KR, Lodha R, Kabra SK. Pulmonary hemorrhage in children: etiology, clinical profile and outcome. *Indian J Pediatr.* 2019;86(1):7-11.
46. Zhang Y, Luo F, Wang N, Song Y, Tao Y. Clinical characteristics and prognosis of idiopathic pulmonary hemosiderosis in pediatric patients. *J Int Med Res.* 2019;47(1):293-302.
47. Yang CT, Chiang BL, Wang LC. Aggressive corticosteroid treatment in childhood idiopathic pulmonary hemosiderosis with better outcome. *J Formos Med Assoc.* 2021;120(2):838-46.
48. Hizal M, Eryilmaz Polat S, Ramasli Gursoy T, Ozsezen B, Ademhan Tural D, Karakaya J, et al. Risk factors for recurrent pulmonary exacerbation in idiopathic pulmonary hemosiderosis. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56(5):1060-8.
49. Robinson PN, Kohler S, Bauer S, Seelow D, Horn D, Mundlos S. The Human Phenotype Ontology: a tool for annotating and analyzing human hereditary disease. *Am J Hum Genet.* 2008;83(5):610-5.
50. Gross A, Pruski C, Rahm E. Evolution of biomedical ontologies and mappings: overview of recent approaches. *Comput Struct Biotechnol J.* 2016;14:333-40.
51. Tennant PWG, Murray EJ, Arnold KF, Berrie L, Fox MP, Gadd SC, et al. Use of directed acyclic graphs (DAGs) to identify confounders in applied health research: review and recommendations. *Int J Epidemiol.* 2021;50(2):620-32.
52. Smith B, Ashburner M, Rosse C, Bard J, Bug W, Ceusters W, et al. The OBO Foundry: coordinated evolution of ontologies to support biomedical data integration. *Nat Biotechnol.* 2007;25(11):1251-5.
53. Amberger JS, Bocchini CA, Scott AF, Hamosh A. OMIM.org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D1038-D43.
54. Kohler S, Gargano M, Matentzoglou N, Carmody LC, Lewis-Smith D, Vasilevsky NA, et al. The Human Phenotype Ontology in 2021. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D1207-D17.
55. Kohler S, Vasilevsky NA, Engelstad M, Foster E, McMurry J, Ayme S, et al. The Human Phenotype Ontology in 2017. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(D1):D865-D76.
56. Kohler S, Oien NC, Buske OJ, Groza T, Jacobsen JOB, McNamara C, et al. Encoding clinical data with the Human Phenotype Ontology for computational differential diagnostics. *Curr Protoc Hum Genet.* 2019;103(1):e92.
57. Rath A, Olry A, Dhombres F, Brandt MM, Urbero B, Ayme S. Representation of rare diseases in health information systems: the Orphanet approach to serve a wide range of end users. *Hum Mutat.* 2012;33(5):803-8.
58. Robinson PN, Kohler S, Oellrich A, Sanger Mouse Genetics P, Wang K, Mungall CJ, et al. Improved exome prioritization of disease genes through cross-species phenotype comparison. *Genome Res.* 2014;24(2):340-8.
59. Kohler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dolken S, Ott CE, et al. Clinical diagnostics in human genetics with semantic similarity searches in ontologies. *Am J Hum Genet.* 2009;85(4):457-64.
60. Shefchek KA, Harris NL, Gargano M, Matentzoglou N, Unni D, Brush M, et al. The Monarch Initiative in 2019: an integrative data and analytic platform connecting phenotypes to genotypes across species. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D704-D15.
61. Wilson G, Bryan J, Cranston K, Kitzes J, Nederbragt L, Teal TK. Good enough practices in scientific computing. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(6):e1005510.
62. <https://hpo.jax.org/app/browse/term/HP:0020050>. Zugriff am 14.09.2023.

-
63. Rae W, Ward D, Mattocks C, Pengelly RJ, Eren E, Patel SV, et al. Clinical efficacy of a next-generation sequencing gene panel for primary immunodeficiency diagnostics. *Clin Genet.* 2018;93(3):647-55.
64. Barbosa-Gouveia S, Vazquez-Mosquera ME, Gonzalez-Vioque E, Hermida-Ameijeiras A, Sanchez-Pintos P, de Castro MJ, et al. Rapid molecular diagnosis of genetically inherited neuromuscular disorders using next-generation sequencing technologies. *J Clin Med.* 2022;11(10):2750.
65. Barbosa-Gouveia S, Vazquez-Mosquera ME, Gonzalez-Vioque E, Alvarez JV, Chans R, Laranjeira F, et al. Utility of gene panels for the diagnosis of inborn errors of metabolism in a metabolic reference center. *Genes (Basel).* 2021;12(8):1262.
66. Baas M, Stubbs AP, van Zessen DB, Galjaard RH, van der Spek PJ, Hovius SER, et al. Identification of associated genes and diseases in patients with congenital upper-limb anomalies: a novel application of the OMT classification. *J Hand Surg Am.* 2017;42(7):533-45 e4.

Danksagung

Gib einem Mann einen Fisch und du ernährst ihn für einen Tag.

Lehre einen Mann zu fischen und du ernährst ihn für sein Leben.

(Konfuzius, 551 v.Chr. – 479 v. Chr.)

In diesem Sinne möchte ich mich bei ganz besonders bei meinem Doktorvater, Prof. Matthias Griese, bedanken, der mir während dieses Promotionsvorhabens viel beigebracht hat, mich stets förderte und mir durch die Aufnahme in seine wissenschaftliche Arbeitsgruppe die Mitarbeit an verschiedenen Projekten und den Kontakt zu zahlreichen anderen Wissenschaftlern und Medizinerinnen innerhalb des chILD-Netzwerkes ermöglichte.

Bedanken möchte ich mich auch sehr herzlich bei Herrn Prof. Matthias Kappler und Frau Prof. Julia Ley-Zaporozhan, die beide als Mitglieder der Betreuungskommission mein Promotionsvorhaben tatkräftig unterstützten.

Wesentlich für das Gelingen dieses Promotionsprojekts war außerdem die Kooperation mit Herrn Prof. Peter Robinson, dem ich für die ausgezeichnete Zusammenarbeit danken möchte.

Ein lieber Dank gebührt meiner Mentorin, Frau Prof. Bärbel Lange-Sperandio, für ihre Hilfe, den Fokus in meinem beruflichen und persönlichen Weg zu setzen und über den Anforderungen des Alltags nicht aus den Augen zu verlieren.

Innerhalb der Forschungsgruppe möchte ich mich besonders bei meiner Kollegin Christina Rapp für die schöne und produktive Zusammenarbeit bedanken, und für ihre Hilfe bei jeglicher Art von Anliegen zu Molekulargenetik. Florian Gothe möchte ich herzlich für die Unterstützung insbesondere hinsichtlich der formalen Anforderungen des Promotionsprojekts danken.

Weiters möchte ich Traudl Wesselak, Andrea Schams, Daniela Sebah und Nguyen-Binh Tran danken, die administrativ-organisatorisch immer wieder das scheinbar Unmögliche möglich gemacht haben.

Ich möchte mich außerdem bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) bedanken, die dieses wissenschaftliche Projekt finanziell unterstützt hat.

Ein sehr herzlicher Dank gilt meiner lieben Familie, meinen Eltern und meinen beiden Brüdern, für ihren stetigen Rückhalt, sowie meinem Freundeskreis, der mich in diesem Promotionsprojekt stets bestärkt hat.

Ganz besonders bedanken möchte ich bei meinem Lebenspartner Mathis Baalman für seine liebevolle Motivation und uneingeschränkte Unterstützung.