

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Serum levels of  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> and apolipoprotein A1 achieve high  
predictive power as biomarkers of anaphylaxis**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marcel Wittenberg

aus Düren-Birkesdorf

Datum der Promotion: 14.09.2018

# Inhaltsverzeichnis

Abstrakt in Deutsch .....	2
Abstrakt in Englisch .....	4
Eidesstattliche Versicherung mit Anteilserklärung .....	6
Auszug aus der Journal Summary List.....	9
Publikation .....	10
Lebenslauf .....	28
Publikationsliste.....	30
Danksagung .....	31

## **Serum levels of 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> and apolipoprotein A1 achieve high predictive power as biomarkers of anaphylaxis.**

### **Abstrakt**

**Einleitung:** Anaphylaxie ist definiert als akute allergische Reaktion, welche mit systemischen Symptomen einhergeht und potenziell lebensbedrohlich ist. Häufige Auslöser stellen Nahrungsmittel, Insektengifte oder Medikamente dar, die durch Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten die Freisetzung verschiedener Mediatoren wie Histamin, Prostaglandine, Tryptase oder plättchenaktivierender Faktor triggern. Die Diagnose der Anaphylaxie wird vor allem auf Basis von klinischen Symptomen gestellt. Hierbei können die Haut, der Gastrointestinaltrakt, der Respirationstrakt sowie das Herzkreislaufsystem betroffen sein. Zur Sicherung der Diagnose wird nach adäquater Akutversorgung die Bestimmung von Biomarkern im Serum empfohlen. Als Goldstandard gilt heutzutage der Mastzellmediator Tryptase, der bei erhöhten Werten die Diagnose der Anaphylaxie unterstützen kann. Aktuelle Studien zeigen jedoch, dass Tryptase bei Einmalmessungen nur eine geringe Zuverlässigkeit aufweist und ausschließlich bei bekanntem Grundwert über eine ausreichende Sensibilität und Spezifität verfügt. Neue, sensitivere Biomarker der Anaphylaxie werden deshalb dringend benötigt. Vor Kurzem konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub>, ein Metabolit von PGD<sub>2</sub>, signifikant nach anaphylaktischer Reaktion im Serum zunimmt und der Tryptase hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität überlegen ist.

**Methodik:** Zur Identifizierung neuer Biomarker der Anaphylaxie wurden Proteine im Serum von Nahrungsmittelallergikern mittels MS/MS ion Search, der Mascot Suchmaschine ([www.mascotscience.com](http://www.mascotscience.com)) sowie einer Proteindatenbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ermittelt, welche nach oraler Provokation relevante Konzentrationsänderungen aufwiesen. Basierend auf diesem Report sowie auf einer intensiven Literaturrecherche wurde die Konzentration von Apolipoprotein E (ApoE) und Apolipoprotein A1 (ApoA1) mittels ELISA in Maus- und Humansenen bestimmt und auf die Eignung als neue Biomarker hin untersucht. Zur Ermittlung der diagnostischen

Stärke wurden anschließend ROC-Kurven mit Hilfe des Statistikprogramms „R“ berechnet.

**Ergebnisse:** Im Tierversuch als auch nach oraler Provokation von Nahrungsmittelallergikern waren ApoE und ApoA1 signifikant erniedrigt. Im Anschluss wurde die ApoE und ApoA1-Konzentration bei Anaphylaxiepatienten mit denen verschiedener Kontrollgruppen verglichen. In dieser Konstellation zeigten sich für ApoE keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen, während die Konzentration von ApoA1 nach Anaphylaxie deutlich erniedrigt war. Obwohl ApoA1 nicht zuverlässig zwischen Anaphylaxie und Patienten mit Synkope oder Fieber unterscheiden konnte ergab sich bei der Kalkulation der ROC-Kurven ein hoher Wert von 0,91, welcher lediglich vom kürzlich identifizierten Protein  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> übertroffen wurde (AUC=0,95). Die größte Sensitivität und Spezifität mit einem AUC-Wert von 1,0 ergab sich durch die Kombination von ApoA1 mit  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub>.

**Schlussfolgerung:** Unsere Daten zeigen, dass der Biomarker bestehend aus der kombinierten Analyse von ApoA1 und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> die stärkste diagnostische Aussagekraft zur Identifizierung der Anaphylaxie besitzt.

## Abstract

**Introduction:** Anaphylaxis is defined as severe systemic hypersensitivity reaction with acute onset and potentially lethal outcome. Common triggers such as food, insect stings or medications lead to an activation of mast cells and basophiles, which subsequently release mediators like histamine, prostaglandins, tryptase or platelet activating factor. The diagnosis of anaphylaxis is mainly based on the clinical reaction patterns. Possible manifestations are skin, gastrointestinal, respiratory or cardiovascular symptoms. To confirm the diagnosis it is recommended to measure serum tryptase as the only available biomarker after the acute treatment. However recent studies have shown that tryptase failed to reliably identify cases of anaphylaxis and was only of use when the respective baseline value was known. For this reason further reliable biomarkers are urgently needed. We recently demonstrated that  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub>, a PGD<sub>2</sub> metabolite, increased significantly after anaphylaxis and outreached both, the sensitivity and specificity of tryptase.

**Methods:** To identify further biomarkers of anaphylaxis we analyzed proteins which showed a notable change after oral food challenge using MS/MS ion search of the Mascot search engine ([www.matrixscience.com](http://www.matrixscience.com)) together with a protein database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Based on this report and literature research, we measured apolipoprotein E (ApoE) and apolipoprotein A1 (ApoA1) levels in mouse sera before and after anaphylaxis as well as in human sera from different patient cohorts. In order to assess the suitability as novel biomarkers we calculated receiver operating characteristic curves using the „pROC“ package for the R statistic computing platform ([www.R-project.org](http://www.R-project.org)).

**Results:** ApoE and ApoA1 levels decreased significantly after anaphylaxis in mice as well as after oral food challenge in food allergic patients. We subsequently compared patients suffering from acute anaphylaxis with several groups. In this setting no difference was seen between the groups for ApoE. In contrast, ApoA1 was decreased significantly after anaphylaxis but failed to discriminate between anaphylaxis and patients with syncope or fever. However, the calculated ROC-curves revealed a high AUC value of 0.91, which was only inferior to  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> (AUC=0.95). The best

sensitivity and specificity was achieved through combining ApoA1 with  $9\alpha,11\beta$ -PGF2 (AUC=1.0).

**Conclusion:** Our data suggest that the use of the composite biomarker consisting of the combination of ApoA1 and  $9\alpha,11\beta$ -PGF2 has the highest diagnostic power in identifying anaphylaxis.

## Eidesstattliche Versicherung

Ich, Marcel Wittenberg, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Serum levels of 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF2 and apolipoprotein A1 achieve high predictive power as biomarkers of anaphylaxis.“, selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum        27.4.2017

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

## **Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation**

Publikation : [Wittenberg M, Nassiri M, Francuzik W, Lehmann K, Babina M, Worm M], [Serum levels of  $9\alpha, 11\beta$ -PGF<sub>2</sub> and apolipoprotein A1 achieve high predictive power as biomarkers of anaphylaxis], [Allergy], [2017]

Beitrag im Einzelnen:

1. Ausführliche Literaturrecherche zu Proteinen des Proteinidentifizierungsreports bezüglich deren Synthese, Funktion und Abbau. Intensive Literaturrecherche zur Anaphylaxie im Allgemeinen sowie zum aktuellen Forschungsstand der Biomarkerforschung im Besonderen.
2. Einbringung von Vorschlägen bezüglich der Eignung einzelner Proteine als potenzielle Biomarker der Anaphylaxie.
3. Empfehlung zur zusätzlichen Untersuchung von Apolipoprotein A1 als möglichen neuen Biomarker, basierend auf einer vorangegangenen Literaturrecherche.
4. Laborchemische Messungen von Apolipoprotein E und A1 in Seren von Mäusen, gesunden Kontrollen, Nahrungsmittelallergikern, Provokationspatienten, Anaphylaxiepatienten sowie von Patienten mit Fieber oder Synkope mittels ELISA.
5. Statistische Auswertung der gesammelten Daten mit Hilfe von PRISM 6.0. (Hiervon ausgenommen sind die Kalkulation der AUC-Werte sowie die Erstellung der ROC-Kurven)
6. Erstellung der Graphen mit PRISM 6.0 sowie der Abbildungen des Papers. (Hiervon ausgenommen sind die Darstellung der ROC-Kurven in Abbildung 2)
7. Erstellung und Verwaltung sämtlicher Tabellen inklusive der Recherche der Patientencharakteristiken sowie der klinischen Manifestationen.
8. Erarbeitung des Manuskripts unter Supervision und Korrektur von Dr. Maria Nassiri. (Abstract, Introduction, Material/Methods, Results, Discussion, Conclusion)
9. Reviewprozess: intensive Literaturrecherche zur Beantwortung der von den Reviewern gestellten Fragen, Überarbeitung der Graphen und Tabellen, laborchemische Messungen mittels ELISA für Zeitverlaufsmessungen von ApoA1 nach allergischer Reaktion, Überarbeitung des Manuskripts unter Supervision von Frau Dr. Maria Nassiri



Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

---

**Journal Data Filtered By: Selected JCR Year: 2015 Selected Editions: SCIE,SSCI  
Selected Categories: 'ALLERGY' Selected Category Scheme: WoS**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	ALLERGY AND	41,392	12.485	0.085270
<b>2</b>	<b>ALLERGY</b>	<b>13,752</b>	<b>6.335</b>	<b>0.024050</b>
3	DERMATITIS	5,514	5.692	0.005510
4	EXPERIMENTAL	10,350	5.587	0.015870
5	Clinical Immunology-In	1,062	5.429	0.004450
6	ALLERGY &	2,031	5.313	0.004920
7	AND IMMUNOLOGY	3,510	3.947	0.007990
8	ASTHMA &	6,345	3.475	0.010100
9	AND ASTHMA	1,745	3.127	0.004670
10	Allergy and Clinical	2,591	2.771	0.006060
11	ASTHMA	1,707	2.709	0.003480
12	ARCHIVES OF	4,772	2.677	0.007880
13	INTERNATIONAL	1,175	2.355	0.002730
14	ALLERGY CLINICS OF	1,225	2.352	0.002930
15	Immunology Research	798	2.309	0.002670
16	Clinical Immunology	563	2.283	0.002030
17	JOURNAL OF INVESTIGATIONAL	1,751	2.131	0.003380
18	JOURNAL OF ASTHMA	2,720	1.854	0.005880
19	IMMUNOPATHOLOGIA	780	1.689	0.001550
20	Alergologii	313	1.342	0.000760
21	JOURNAL OF	660	1.269	0.001270
22	Asthma and Immunology	407	1.117	0.000870
23	Immunology and	132	0.941	0.000630
24	Allergologie	224	0.217	0.000140
25	ALLERGOLOGIE	150	0.161	0.000060

## Publikation

1. Wittenberg M, Nassiri M, Francuzik W, Lehmann K, Babina M, Worm M. Serum levels of  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> and apolipoprotein A1 achieve high predictive power as biomarkers of anaphylaxis. *Allergy*. 2017;00:1-5.
2. <https://doi.org/10.1111/all.13176>







Supplementary

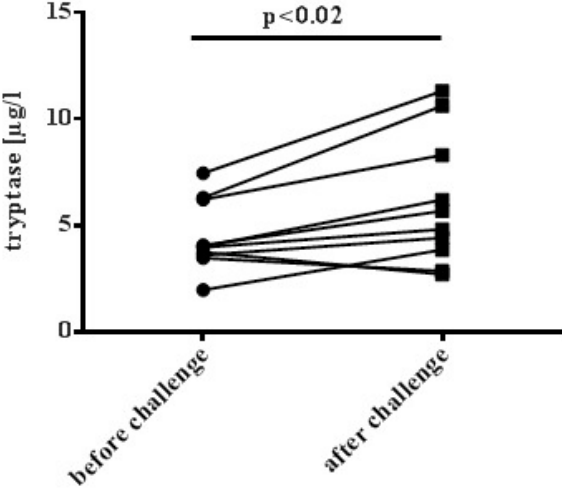


Figure S1

Serum tryptase prior to and after oral allergen challenge in food allergic patients (n=11). Blood was taken a maximum of 15 minutes after provocation, depending on clinical reactivity. A p-value of 0.05 was considered statistically significant.

**TABLE S1.** Definition of the food allergic patients and their clinical reaction pattern

Elicitor	Sex	Age	Clinical manifestation of initial reaction	Anaphylaxis severity of initial reaction	Clinical manifestation after oral food challenge	Anaphylaxis severity after oral food challenge	ApoE before/after challenge (µg/ml)	ApoA1 before/after challenge (µg/ml)	Tryptase before/after challenge (µg/L)	9α,11β-PGF <sub>2</sub> before/after challenge (pg/ml)
Celery	Female	27	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (hypotension, collapse, dizziness, reduction of alertness)	III	Skin symptoms	I	61.2 / 46.6	2493.2 / 1516.1	3.6 / 4.1	ND / ND
Apple	Female	49	Skin, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	Skin symptoms, respiratory symptoms	II	84.0 / 22.7	2394.1 / 1419.8	ND / ND	ND / ND
Hazelnut	Male	25	Skin, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	Skin symptoms, respiratory symptoms	II	218.9 / 186.5	3869.5 / 3577.5	6.2 / 8.3	80.5 / 309.9



<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation of initial reaction</b>	<b>Anaphylaxis severity of initial reaction</b>	<b>Clinical manifestation after oral food challenge</b>	<b>Anaphylaxis severity after oral food challenge</b>	<b>ApoE before/after challenge (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 before/after challenge (µg/ml)</b>	<b>Tryptase before/after challenge (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> before/after challenge (pg/ml)</b>
Hazelnut	Female	23	Skin, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	Skin symptoms, respiratory symptoms	II	39.6 / 37.7	4243.1 / 3813.3	3.5 / 2.8	37.2 / 161.1
Hazelnut	Female	26	Skin symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (collapse, dizziness)	II	Skin symptoms, respiratory symptoms	II	58.2 / 44.9	2317.3 / 2154.9	4.0 / 6.2	37.3 / 44.1
Peanut	Male	27	Skin, gastrointestinal symptoms	II	Skin symptoms, gastrointestinal symptoms	II	94.5 / 42.5	2313.2 / 2353.3	4.1 / 5.7	50.4 / 146.1
Peanut	Male	22	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms	II	Skin symptoms, respiratory symptoms, gastrointestinal symptoms	II	129.4 / 80.8	2490.3 / 2813.8	4.0 / 4.8	66.5 / 46.1

<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation of initial reaction</b>	<b>Anaphylaxis severity of initial reaction</b>	<b>Clinical manifestation after oral food challenge</b>	<b>Anaphylaxis severity after oral food challenge</b>	<b>ApoE before/after challenge (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 before/after challenge (µg/ml)</b>	<b>Tryptase before/after challenge (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> before/after challenge (pg/ml)</b>
Peanut	Female	22	Skin, gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	Skin symptoms, gastrointestinal symptoms	II	86.8 / 56.4	3348.0 / 2996.0	6.3 / 10.6	242.3 / 276.6
Peanut	Female	37	Skin, gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness, collapse)	III	Skin symptoms, gastrointestinal symptoms	III	87.4 / 50.3	3404.5 / 2637.4	2.0 / 3.8	80.9 / 616.5
Peanut	Female	27	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	Skin symptoms, gastrointestinal symptoms	III	161.8 / 101.8	4033.5 / 3692.0	7.5 / 11.3	36.2 / 96.3
Hazelnut	Female	22	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms	II	Skin symptoms, gastrointestinal symptoms	II	ND / ND	2901.9 / 2540.6	3.7 / 2.7	49.5 / 55.3

ND, not determined

**TABLE S2.** Definition of the post-anaphylaxis group and their clinical reaction patterns

<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation</b>	<b>Anaphylaxis severity</b>	<b>ApoE (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 (µg/ml)</b>	<b>Tryptase (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> (pg/ml)</b>
Insect	Female	44	Respiratory symptoms, cardiovascular symptoms	III	59.9	787.6	16.6	1233.3
Insect	Female	75	Skin, respiratory symptoms	III	43.1	957.7	10.4	281.0
Insect	Male	64	Cardiovascular symptoms	IV	71.2	1213.7	55.4	490.8
Insect	Male	63	Skin, cardiovascular symptoms	II	105.8	1207.1	39.2	1487.8
Insect	Male	74	Skin	I	127.0	ND	5.3	455.4
Insect	Male	57	Skin, cardiovascular symptoms	III	71.9	888.0	32.3	1184.0
Food	Female	19	Skin, cardiovascular symptoms	III	57.6	1119.0	0.0	208.7
Food	Female	25	Skin, cardiovascular symptoms	III	64.4	901.3	20.5	1148.5
Idiopathic	Female	28	Skin, cardiovascular symptoms	II	70.3	1870.9	1.8	49.7
Idiopathic	Female	49	Skin, cardiovascular symptoms	II	56.2	515.3	10.8	1794.5

ND, not determined

**TABLE S3.** Definition of the non-allergic group

Sex	Age	ApoE (µg/ml)	ApoA1 (µg/ml)	Tryptase (µg/L)	9α,11β-PGF <sub>2</sub> (pg/ml)
Female	24	108.4	4176.8	0.5	21.9
Male	24	80.9	3435.9	17.8	37.0
Male	24	79.3	3206.3	4.3	37.9
Female	46	60.8	4309.3	4.0	23.9
Female	35	74.9	3933.4	3.0	39.3
Male	27	61.2	1553.1	ND	44.7
Female	23	110.7	ND	1.1	72.7
Male	29	105.0	3701.5	ND	ND
Male	26	70.8	3075.6	2.6	50.2
Female	21	50.3	4085.9	ND	ND
Female	53	128.0	2727.6	ND	ND

ND, not determined

**TABLE S4.** Definition of the anaphylaxis-prone group and their clinical reaction patterns

<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation of the previous anaphylactic reaction</b>	<b>Anaphylaxis severity of the previous reaction</b>	<b>ApoE (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 (µg/ml)</b>	<b>Tryptase (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> (pg/ml)</b>
Food	Male	51	Skin, gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (loss of consciousness, hypotension, collapse, dizziness)	III	76.4	1202.5	3.9	100.6
Food	Female	24	Skin, gastrointestinal symptoms cardiovascular symptoms (dizziness)	III	123.1	3277.5	3.8	82.2
Food	Female	27	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (hypotension, collapse, dizziness, reduction of alertness)	III	61.2	2493.2	3.6	102.8
Food	Female	71	Skin, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (loss of consciousness, hypotension, collapse)	III	120.6	2945.0	3.6	ND

<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation of the previous anaphylactic reaction</b>	<b>Anaphylaxis severity of the previous reaction</b>	<b>ApoE (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 (µg/ml)</b>	<b>Tryptase (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> (pg/ml)</b>
Food	Female	21	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (hypotension, collapse, dizziness, tachycardia, reduction of alertness)	II	61.6	2087.3	3.1	114.8
Food	Male	23	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (loss of consciousness, hypotension, collapse, dizziness)	III	81.8	1558.0	7.6	160.9
Food	Female	49	Skin, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	84.0	2394.1	ND	ND
Food	Female	26	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (collapse, dizziness)	III	58.2	2317.3	4.0	37.3

<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation of the previous anaphylactic reaction</b>	<b>Anaphylaxis severity of the previous reaction</b>	<b>ApoE (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 (µg/ml)</b>	<b>Tryptase (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> (pg/ml)</b>
Food	Male	27	Skin, gastrointestinal symptoms	II	94.5	2313.2	4.1	50.4
Food	Male	22	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms	II	129.4	2490.3	4.0	66.5
Unknown Food	Male	71	Skin, cardiovascular symptoms (loss of consciousness)	III	68.8	1402.0	ND	ND
Idiopathic	Male	52	Gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (hypotension, collapse, dizziness, tachycardia, reduction of alertness)	III	71.4	4569.7	ND	ND
Idiopathic	Female	41	Skin	I	82.2	1304.2	ND	ND
Food	Female	22	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms	II	ND	2901.9	3.7	49.5
Food	Male	51	Skin, gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (loss of consciousness)	III	75.9	1784.5	3.3	177.6
Food	Female	22	Skin, gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	86.8	3348.0	6.3	242.3



<b>Elicitor</b>	<b>Sex</b>	<b>Age</b>	<b>Clinical manifestation of the previous anaphylactic reaction</b>	<b>Anaphylaxis severity of the previous reaction</b>	<b>ApoE (µg/ml)</b>	<b>ApoA1 (µg/ml)</b>	<b>Tryptase (µg/L)</b>	<b>9α,11β-PGF<sub>2</sub> (pg/ml)</b>
Food	Female	37	Skin, gastrointestinal symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness, collapse)	III	87.4	3404.5	2.0	80.9
Food	Female	27	Skin, gastrointestinal symptoms, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	161.8	ND	7.5	36.2
Unknown Food	Female	47	Skin, respiratory symptoms, cardiovascular symptoms (dizziness)	II	96.7	2988.4	ND	ND

ND, not determined

**TABLE S5.** Definition of the other diseases group and their clinical reaction patterns

Elicitor	Sex	Age	Clinical manifestation	ApoE (µg/ml)	ApoA1 (µg/ml)	Tryptase (µg/L)	9α,11β-PGF <sub>2</sub> (pg/ml)
Unknown	Female	73	Syncope	50.3	1462.8	3.9	24.8
Unknown	Male	79	Syncope	48.8	ND	4.0	ND
Unknown	Female	27	Syncope	58.8	1536.6	2.2	21.7
Unknown	Male	32	Syncope	30.2	1226.3	2.8	13.7
Unknown	Male	81	Syncope	53.5	1002.2	6.0	14.7
Unknown	Male	56	Syncope	55.5	1025.1	5.1	8.8
Unknown	Female	35	Fever	118.6	1568.0	1.8	36.2
Unknown	Male	23	Fever	60.3	1337.6	3.6	ND
Unknown	Female	32	Fever	76.6	ND	3.6	5.5
Unknown	Male	27	Fever	151.4	ND	1.9	36.4
Unknown	Female	unknown	Fever	107.8	1336.2	1.2	15.6
Unknown	Male	34	Fever	163.5	1394.4	1.9	15.7

ND, not determined

The study compared 5 groups of patients. Table E1 shows the food allergic patients (n=11), who had at least one anaphylactic reaction in the past (referred to as “initial reaction”) and were orally challenged with the respective allergen. Sera were taken before and within 15 minutes after positive oral allergen challenge (clinical manifestation and anaphylaxis severity are given for the reaction after food challenge). Table E2 shows the post-anaphylaxis cohort (n=10). Blood was obtained within a maximum of 2 hours after an anaphylactic reaction. Table E3 shows the non-allergic subjects (n=11). Table E4 shows patients outside of an acute reaction but who had at least 1 anaphylactic episode in the past (n=19). The clinical manifestations and severity grades for the latter group refer to that previous anaphylactic episode. The culprit elicitor (if known), sex, manifestation profile, and anaphylaxis grades according to Ring and Messmer and mediator levels are given for each patient. Table E5 shows patients with acute cardiovascular symptoms (n = 6) or fever of unknown origin (n = 6).

**TABLE S6.** AUC values are given for ApoE, ApoA1, 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> alone and in combination.

<b>Mediator</b>	<b>n</b>	<b>AUC</b>	<b>Lower 95% CI</b>	<b>Upper 95% CI</b>
<b>ApoE</b>	40	0.6333	0.4362	0.8305
<b>ApoA1</b>	36	0.9095	0.7898	1
<b>9<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-PGF<sub>2</sub></b>	37	0.9481	0.8518	1
<b>ApoE/9<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-PGF<sub>2</sub></b>	32	0.9591	0.8903	1
<b>ApoA1/9<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-PGF<sub>2</sub></b>	29	1	NA	NA

NA, not applicable

AUCs for the (combination of) mediators were calculated from ROC curves derived by using logistic regression analysis using with the post-anaphylactic patients as positive and the non-anaphylactic patients (“ANA prone” and “other diseases”) as negative samples. An AUC equal to 1.0 indicates that the diagnostic test discriminates perfectly between anaphylactic and non-anaphylactic responses.

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Publikationsliste

1. Wittenberg M, Nassiri M, Francuzik W, Lehmann K, Babina M, Worm M. Serum levels of  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> and apolipoprotein A1 achieve high predictive power as biomarkers of anaphylaxis. *Allergy*. 2017;00:1-5. <https://doi.org/10.1111/all.13176>  
Impact Factor: 6,335

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Worm, die mich in meinem Forschungsprojekt zu jedem Zeitpunkt unterstützt und die Fertigstellung der Arbeit so erst ermöglicht hat. Ganz herzlich möchte ich dabei bei Frau Prof. Worm, Herrn Dennis Ernst, Frau Dr. Sabine Dölle sowie Frau Dr. Maria Nassiri für ihre Unterstützung im Labor und ihre große Hilfsbereitschaft bedanken.

Ein großes Dankeschön geht außerdem an meine Familie in Berlin und am Bodensee.