

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG EPPENDORF

Klinik für Kinderherzmedizin und Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern

Klinikdirektoren Prof. Dr. med. Rainer Kozlik-Feldman und Prof. Dr. med. Michael Hübler

Normwerte des Transforming Growth Factor Beta im Kindesalter: Grundlage zur Beurteilung veränderter TGF β -Aktivität beim Marfan-Syndrom

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Johannes Lauri Joonatan Reincke
aus Berlin

Hamburg, 2024

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am:
04.06.2024

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Yskert von Kodolitsch

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Thomas Mir

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	3
Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	6
1. Fragestellung und Zielsetzung	8
2. Einleitung	9
2.1. TGF β	9
2.1.1. Biochemische Grundlagen	9
2.1.2. Allgemeine Funktion und Pathophysiologie	14
2.2. Das Marfan-Syndrom	20
2.2.1. Genetik.....	20
2.2.2. Pathogenese	22
2.2.3. Klinik und Diagnose	23
2.2.4. Spezielle pathophysiologische Bedeutung von TGF β für das MFS	25
2.2.5. Therapie Herz-Kreislaufsystem.....	27
2.2.6. Spezielle Bedeutung von TGF β in der medikamentösen Therapie des MFS ..	28
3. Proband:innen und Methoden.....	32
3.1. Studienstruktur Tiger for Kids.....	32
3.2. Proband:innenrekrutierung.....	33
3.3. Aufklärung und Einwilligung	34
3.4. Probenentnahme.....	34
3.5. Fragebogen.....	35
3.6. Probenverarbeitung/Präanalytik.....	37
3.7. TGF β -Messung	38
3.8. Klinische Daten und Laborparameter.....	38

3.9. Statistische Auswertung und Analyse	39
4. Ergebnisse	40
5. Diskussion	57
6. Zusammenfassung.....	68
7. Summary.....	68
Abkürzungsverzeichnis	69
Literaturverzeichnis	71
Danksagung	81
Lebenslauf.....	82
Eidesstattliche Versicherung	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Large latent complex aus TGF β , LAP und LTBP (8).....	10
Abbildung 2: Extra- und intrazelluläre TGF β -Signaltransduktion (4).....	13
Abbildung 3: Mit pathologischer TGF β -Aktivität assoziierte angeborene Herzfehler (50).....	17
Abbildung 4: Standardisierte Wachstumsraten der Aortenwurzel auf Höhe des Sinus Valsalva im Verhältnis zu Körperoberfläche und Alter (57).....	27
Abbildung 5: Logo der Tiger for Kids-Studie.	32
Abbildung 6: Beispielhafter Auszug aus dem studienbegleitenden Fragebogen.	36
Abbildung 7: TGF β untersucht nach Alter in Jahren dargestellt als einfache Streuung mit Trendlinie und Bestimmtheitsmaß R^2	45
Abbildung 8: TGF β untersucht nach Altersgruppen dargestellt als Boxplot-Diagramm mit Minimum, erstem Quartil, Median, drittem Quartil, Maximum sowie milden und extremen Ausreißern.....	45
Abbildung 9: TGF β untersucht nach Diagnosegruppen dargestellt als Boxplot-Diagramm mit Minimum, erstem Quartil, Median, drittem Quartil, Maximum sowie milden und extremen Ausreißern.	47
Abbildung 10: Histogramm mit Normalverteilungskurve zu TGF β	49
Abbildung 11: Histogramm mit Normalverteilungskurve zu TGF β logarithmiert zur Basis 10.	49
Abbildung 12: TGF β untersucht nach Altersgruppen dargestellt als Boxplot-Diagramm mit Minimum, erstem Quartil, Median, drittem Quartil, Maximum sowie milden und extremen Ausreißern.....	51
Abbildung 13: TGF β untersucht nach Alter in Jahren dargestellt als einfache Streuung mit Trendlinie und Bestimmtheitsmaß R^2	53

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Syndrome mit ursächlicher FBN1-Mutation und ihre klinischen Manifestationen (68).	21
Tabelle 2: Altersgruppen der Studie.....	33
Tabelle 3: Diagnosegruppen der Studie.....	33
Tabelle 4: Probenmenge nach Alter der Patient:innen.	34
Tabelle 5: Materialien Präanalytik.	37
Tabelle 6: Klinische Daten und Laborparameter.....	39
Tabelle 7: Altersgruppenverteilung der Proband:innen.....	40
Tabelle 8: Diagnosegruppenverteilung der Proband:innen.....	40
Tabelle 9: Übersicht über alle in die gesunde Kohorte eingeschlossenen Diagnosen.	42
Tabelle 10: Vorerkrankungen der Proband:innen laut Fragebogen.....	42
Tabelle 11: Erweiterte Familienanamnese der Proband:innen laut Fragebogen.	43
Tabelle 12: Kardiovaskuläre Symptomatik der Proband:innen laut Fragebogen.	43
Tabelle 13: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Altersgruppen.	44
Tabelle 14: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Diagnosegruppen.	46
Tabelle 15: Deskriptive Statistik zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Altersgruppen.....	50
Tabelle 16: Einfaktorielle ANOVA zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Altersgruppen.....	50
Tabelle 17: Post-Hoc-Test (Tukey-HSD) zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Altersgruppen.	51
Tabelle 18: Deskriptive Statistik zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Alter in Jahren.	52
Tabelle 19: Einfaktorielle ANOVA zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Alter in Jahren.	52
Tabelle 20: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Geschlecht.	54
Tabelle 21: Levene-Test der Varianzgleichheit für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Geschlecht.....	54
Tabelle 22: Ungepaarter T-Test für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Geschlecht.	54
Tabelle 23: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach CRP.....	55

Tabelle 24: Levene-Test der Varianzgleichheit für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach CRP.	55
Tabelle 25: Ungepaarter T-Test für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach CRP.	55
Tabelle 26: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Kreatinin.	56
Tabelle 27: Levene-Test der Varianzgleichheit für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Kreatinin.	56
Tabelle 28: Ungepaarter T-Test für TGF β untersucht nach Kreatinin.	56

1. Fragestellung und Zielsetzung

Das Marfan-Syndrom (MFS) ist eine hereditäre Bindegewebserkrankung. Trotz seiner polymorphen Manifestation in unterschiedlichen Organsystemen stehen insbesondere die Aortenwurzeldilatation sowie die hieraus resultierenden und weiterhin auftretenden Komplikationen Aortendissektion und -ruptur im Vordergrund. In der Diagnostik und Therapie der Aortenerweiterung wurden über die letzten Dekaden große Fortschritte gemacht, sodass die Lebenserwartung von Menschen mit MFS deutlich gestiegen ist. Bei der medikamentösen Therapie der Aortenwurzeldilatation ist unverändert die Gabe von Beta-Blockern (β -Blocker) Goldstandard. In den letzten Jahren hat sich zunehmend auch die Gabe von Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptor-Antagonisten (AT1-Antagonisten) etabliert. Im Gegensatz zu den β -Blockern wirken diese sogenannten Sartane gezielt in der Pathogenese des MFS, indem sie den Spiegel von Transforming Growth Factor Beta (TGF β) senken. TGF β ist ein Zytokin, dessen Aktivität beim MFS gesteigert ist und maßgeblich die Aortenwurzeldilatation induziert. Trotz des gezielten Eingreifens in den Pathomechanismus zeigte sich in klinischen Studien die erhoffte Überlegenheit der Sartane gegenüber β -Blockern bislang nicht und über den Einsatz beider Medikamente gibt es seither einen andauernden Diskurs.

TGF β als Zielstruktur der AT1-Antagonisten ist in klinischen Studien bisher nur unzureichend untersucht. Zudem beruhen die derzeitigen Erkenntnisse größtenteils auf Studien mit Erwachsenen. Es gibt kaum TGF β -Werte von an MFS erkrankten oder mit Sartanen behandelten Kindern. Es wäre aber sinnvoll, TGF β und den Einsatz der AT1-Antagonisten in der Pädiatrie genauer klinisch zu untersuchen, da eine medikamentöse Therapie der Aortenwurzeldilatation häufig bereits im Kindesalter begonnen wird und die TGF β -Antagonisierung diesbezüglich präventiv wirken könnte. Zudem bietet sich TGF β möglicherweise sogar als prognostischer Marker für das MFS an.

Diese Arbeit soll zunächst TGF β -Werte bei herzgesunden Kindern untersuchen und Normbereiche für das Zytokin im Kindesalter definieren. Dafür wurden Blutproben von Patient:innen des gesamten kindlichen Altersspektrums gewonnen und TGF β gemessen. Die hieraus definierten Normwerte sollen die Grundlage für die Messung von TGF β bei an MFS erkrankten und auch mit Sartanen behandelten Kindern sein.

2. Einleitung

Im Rahmen dieser Dissertation sollen TGF β -Normwerte im Kindesalter definiert werden, um pathologische TGF β -Spiegel bei Kindern mit MFS zu beurteilen. Die Einleitung wird entsprechend zunächst TGF β in seiner Funktion und Pathophysiologie beleuchten und anschließend die Erkrankung des MFS und deren Zusammenhang mit TGF β darstellen.

2.1. TGF β

2.1.1. Biochemische Grundlagen

Aufbau und Isoformen

TGF β ist ein Polypeptid und Teil einer Superfamilie an Wachstumsfaktoren, zu welcher über 40 verwandte Proteine gezählt werden. Hierzu gehören unter anderem die Bone morphogenetic proteins (BMP), Activine, Inhibine und die Müllerian inhibitor substance (1). Sie alle haben eine Cystein-Struktur und teilen die Fähigkeit, Zellwachstum zu limitieren (2). Bisher sind fünf verschiedene Isoformen von TGF β identifiziert, die zu etwa drei Vierteln einen identischen Aufbau haben (3). Die Isoformen TGF β 1-3 kommen in Säugetieren vor. Im menschlichen Genom sind sie auf drei Chromosomen lokalisiert: 19q13, 1q41, und 14q24 (2). TGF β 1-3 unterscheiden sich in ihrer Rezeptorbindungsaffinität. Die Deletion einzelner Isoformen resultiert im Mausversuch in unterschiedlichen Phänotypen. Es ist also anzunehmen, dass jede Isoform spezifische und vielzählige Funktionen übernimmt (4).

Praktisch jede Zelle bildet TGF β und besitzt auch Rezeptoren für das Zytokin (4). TGF β 1 wird in endothelialen, hämatopoetischen und Bindegewebszellen, TGF β 2 in epithelialen sowie neuronalen Zellen und TGF β 3 vor allem in mesenchymalem Gewebe exprimiert. TGF β 1 und TGF β 3 wirken vorrangig in der frühen Gewebsentwicklung, TGF β 2 in der späteren -ausdifferenzierung (4).

Synthese und Sekretion

Jede Isoform wird zunächst als inaktive Vorstufe synthetisiert. Diese Präkursor-Proteine nennt man Latent TGF β (LTGF β). LTGF β wird intrazellulär von einer Furin-Konvertase in ein größeres N-terminales Propeptid, Latency-associated peptide (LAP) genannt, sowie ein kürzeres C-terminales aktives Peptid gespalten (5). Das aktive Peptid ist das Zytokin TGF β in seiner reifen Form (6). Im Gegensatz zu den meisten anderen Propeptiden bleibt LAP nicht-kovalent an das Zytokin gebunden (7). Die

Rezeptor-interagierenden Epitope werden durch das LAP geschützt und TGF β bleibt somit inaktiv (6).

Die Struktur aus LAP und aktivem TGF β bildet den Small latent complex (SLC) (6). Als SLC kann TGF β nicht an seine Rezeptoren binden (8). Dies gelingt erst über Latent TGF β -binding proteins (LTBP). LTBP binden LAP und damit den gesamten SLC. LTBP und SLC bilden zusammen den Large latent complex (LLC, siehe Abbildung 1) (8). TGF β wird also nicht als einzelnes aktives Zytokin, sondern als Teil eines inaktiven Proteinkomplexes sezerniert (9).

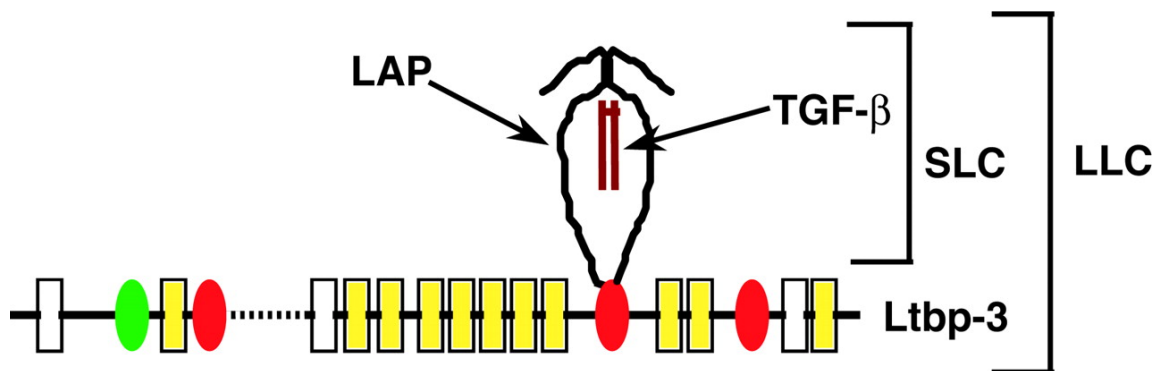


Abbildung 1: Large latent complex aus TGF β , LAP und LTBP (8).

LTBP

Vier verschiedene LTBP wurden bisher identifiziert, von denen insbesondere LTBP1 und LTBP3 starke kovalente Bindungen mit allen TGF β -Isoformen eingehen können (10). Über die LTBP wird TGF β an die extrazelluläre Matrix (ECM) gebunden. Dies gelingt über die Bindung an Fibrillin-1 (FBN1), welches Bestandteil der ECM ist (11). Der Nutzen der LTBP besteht zunächst intrazellulär in der korrekten Faltung und Sekretion sowie anschließend extrazellulär in der exakten Positionierung des TGF β -Komplexes an unterschiedlichen extrazellulären Strukturen (6, 10, 12). Die vier LTBP-Formen kommen dabei in unterschiedlichen Geweben vor. Nach der korrekten Lagerung an der ECM kann TGF β schnell und lokal seine Wirkung entfalten. LTBP können die Verfügbarkeit und Aktivität von TGF β maßgeblich regulieren (8). Ohne die Bindung an LTBP ist eine korrekte Aktivierung von TGF β nicht möglich. Eine Dysregulation bzw. das Fehlen von LTBP führt zu Pathologien, wie sie auch bei einer gänzlich fehlenden Aktivität von TGF β beobachtet werden (13, 14).

Aktivierung

TGF β wird als inaktives Zytokin sezerniert. Es verbleibt inaktiv, solange es an LAP gebunden ist. Tatsächlich liegt TGF β größtenteils im Parenchym als latente Form vor. Bereits die Aktivierung eines geringen Anteils von TGF β führt zu erheblichen zellulären Reaktionen (7). Die Aktivierung von TGF β ist komplex und nur rudimentär verstanden. Grundsätzlich versteht man hierunter die Freisetzung des aktiven Zytokins aus dem LLC durch Lösung vom LAP (7). Verschiedene Aktivierungsmechanismen und -reize wurden in vitro untersucht und in vivo beobachtet, unter anderem ein niedriger pH-Wert, Hitze, reaktive Sauerstoffspezies, Plasmin, Thrombospondin, Integrine und Proteasen (6, 7). Welche davon physiologisch tatsächlich agieren und maßgeblich an der Aktivierung beteiligt sind, ist unklar (15, 16). Abhängig von Kontext und jeweiligem Zelltyp scheinen unterschiedliche Mechanismen zu wirken (6). Allen Aktivierungsmechanismen ist jedoch gemein, dass sie auf die Lösung des aktiven TGF β vom LLC zielen und dabei LAP als Zielstruktur haben (7). Im Folgenden werden zwei gut untersuchte Mechanismen vorgestellt:

Die Bindung von Thrombospondin-1 (TSP1) an LAP aktiviert in vivo TGF β . Die Interaktion unterbricht die nicht-kovalenten Bindungen von LAP zu TGF β und setzt somit das Zytokin frei (17). TSP1-Knockout-Mäuse teilen phänotypische Merkmale mit TGF β -Knockout-Mäusen. Es ist daher anzunehmen, dass TSP1 signifikant an der TGF β -Aktivierung beteiligt ist (17).

Ein anderer wichtiger Aktivierungsmechanismus für die Isoform TGF β 1 ist die Bindung der Integrine α v β 6 und α β 8 an LAP, was vermutlich eine Konformationsänderung des LAP und somit auch die Freisetzung von TGF β bewirkt (16). Mäuse mit einer veränderten LAP-Bindungssequenz für diese Integrine zeigen dieselben Merkmale wie TGF β -Knockout-Mäuse. Auch dieser Aktivierungsmechanismus scheint also elementar zu sein (18). Für TGF β 2 kann dieser Aktivierungsmechanismus jedoch nicht reproduziert werden, da hier eine andere Bindungssequenz vorliegt (16).

Insgesamt sind die TGF β -Aktivierungsmechanismen noch unverstanden und wohl bei weitem nicht vollständig. Dennoch kann man neben der einheitlichen Zielstruktur LAP eine weitere Gemeinsamkeit feststellen. Alle Mechanismen können Ausdruck einer Störung bzw. Änderung der ECM sein, auf welche dann reaktiv TGF β ausgeschüttet wird (7).

Signaltransduktion

TGF β entfaltet seine Wirkung über die Bindung an drei verschiedene TGF β -binding receptors (TGFBR). Dabei ist TGFBR3 der am meisten vorkommende Rezeptortyp, welcher jedoch keine Signaltransduktion im eigentlichen Sinn übernimmt (4). TGFBR3 bindet das Zytokin und transferiert es anschließend zu TGFBR1 und TGFBR2. Diese beiden Rezeptoren sind sich strukturell ähnlich und haben intrazellulär Serin-Threonin-Kinase-Domänen, welche intrinsische Signalwege auslösen. Es sind bisher fünf Typ-2- und sieben Typ-1-Rezeptoren bei Säugetieren bekannt. Sie werden auch Activin-like receptor kinases (ALK) genannt (19). TGF β interagiert in den meisten Zellen mit TGFBR2 und ALK5, in Endothelzellen zusätzlich mit ALK1 (3).

Der grundlegende Weg der Signaltransduktion ist wie folgt: TGF β bindet an TGFBR3, welcher anschließend das Zytokin TGFBR2 präsentiert. TGF β 1 und TGF β 3 können auch direkt an TGFBR2 binden. TGF β 2 hat nur eine niedrige Affinität zu Typ-2-Rezeptoren und benötigt daher zunächst die Bindung an TGFBR3, um TGFBR2 aktivieren zu können (20). TGFBR2 bindet wiederum TGFBR1 und aktiviert dessen intrazelluläre Protein-Kinase-Aktivität (4). Zytoplasmatische Transkriptionsfaktoren, sogenannte SMAD-Proteine, werden vom aktivierten TGFBR1 phosphoryliert. Typ-1-Rezeptoren agieren also nachgeordnet zu Typ-2-Rezeptoren bzw. als heteromere Rezeptorkomplex. Unterschiedliche Rezeptorkombinationen sind möglich und determinieren den weiteren Signalweg (6).

SMAD-Proteine

SMAD-Proteine sind Transkriptionsfaktoren (4). Sie übernehmen den intrazellulären Signalkaskaden von TGF β , übermitteln also die Informationen von den Rezeptoren zum Zellkern (1). Es werden Rezeptor-assoziierte R-SMAD, kooperierende Co-SMAD und inhibitorische I-SMAD unterschieden. Sie agieren grundsätzlich in bestimmter Reihenfolge (siehe Abbildung 2) (1).

Die aktivierte ALK5 phosphoryliert die rezeptorassoziierten R-SMAD2 und 3, welche anschließend Co-SMAD4 binden. Der entstandene Komplex kann wiederum im Zellkern mit Transkriptionsfaktoren interagieren und Gentranskriptionen regulieren (4). ALK1 hingegen phosphoryliert die rezeptorassoziierten R-SMAD1, 5 und 8, welche ebenfalls im Anschluss Co-SMAD4 binden. Co-SMAD4 agiert also als gemeinsamer Mediator beider Signalkaskaden (21). I-SMAD6 und 7 haben eine inhibierende bzw. negative Feedback-Funktion und konkurrieren um die Bindung an ALK1 bzw. 5 (1, 19).

Die Vielzahl und Spezifität der von TGF β induzierten Signalwege wird durch diverse Interaktionen der SMAD-Proteine untereinander, sowie durch Bindung weiterer Transkriptionsfaktoren erreicht (22). Zudem sind auch SMAD-unabhängige Signalwege beschrieben (23).

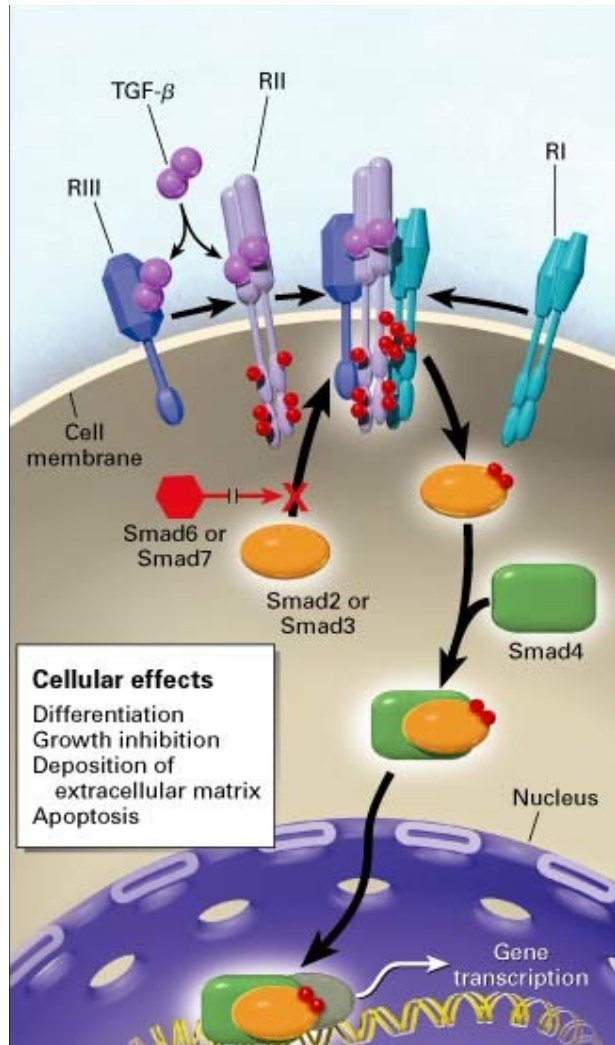


Abbildung 2: Extra- und intrazelluläre TGF β -Signaltransduktion (4).

RI=TGFBR1;RI= TGFBR2; RIII=TGFBR3

Zusammenfassung der biochemische Grundlagen zu TGF β

Die biochemischen Grundlagen der Synthese, Sekretion und Signaltransduktion zeigen, wie viele mögliche Stellschrauben zur Verfügung stehen, um die Wirkung von TGF β zu determinieren. Die Aktivität kann bzw. wird bei jedem einzelnen Schritt reguliert, sodass TGF β mit nur drei verschiedene Isoformen unzählige Wirkungen entfalten kann. Außerdem lassen die biochemischen Grundlagen bereits erahnen, dass neben physiologischen Prozessen ebenfalls pathophysiologische Vorgänge Einfluss auf TGF β ausüben können bzw. von dem Zytokin beeinflusst werden.

2.1.2. Allgemeine Funktion und Pathophysiologie

TGF β kommt nahezu ubiquitär im adulten und embryonalen Gewebe vor. Gleiches gilt für die TGF β -Rezeptoren (4). Es gehört zu den pleiotrop sezernierten und multifunktionalen Zytokinen mit autokriner, parakriner und endokriner Wirkung (6). TGF β wird als Regulator vielzähliger Prozesse beschrieben. Es steuert unter anderem Zellwachstum und -differenzierung, Apoptose, Embryogenese, Immunprozesse, Wundheilung und Angiogenese. Jeder Zelltyp bzw. Kontext löst dabei unterschiedliche Signalkaskaden mit eigenen spezifischen Wirkungen aus (1). Die kritische Bedeutung von TGF β für einen vitalen Organismus wird durch die fehlende Lebensfähigkeit von TGF β -Knockout-Mäusen deutlich. Bereits das Fehlen einer Isoform führt zu etlichen Pathologien und letztendlich zum frühen Versterben der Mäuse innerhalb weniger Tage bis Wochen (24-27).

Veränderte TGF β -Aktivität wird mit einer Vielzahl an Erkrankungen in Verbindung gebracht. Ebenso führen Mutationen in Genen, die Strukturen des TGF β -Signalwegs kodieren zu diversen Pathologien (4). Physiologie und Pathophysiologie liegen hierbei oft dicht beieinander, sodass im Folgenden beide Aspekte für verschiedene Bereiche betrachtet werden.

Kardiovaskuläres System

TGF β reguliert sowohl Vaskulo- als auch Angiogenese, also die Gefäßneubildung aus Vorläuferzellen des Endothels sowie aus vorbestehenden Blutgefäßen (1). Die gezielte Deletion von TGF β 1 oder TGFBR2 resultiert im Mausexperiment in fehlerhafter Gefäßneubildung (28, 29). Eine dysregulierte TGF β -Signaltransduktion konnte für einige hereditäre Erkrankungen mit insbesondere kardiovaskulärer Manifestation und Symptomatik gezeigt werden.

Das Loeys-Dietz-Syndrom (LDS) ist eine autosomal dominant vererbte Bindegewebserkrankung. Sie basiert auf Mutationen in Genen, welche TGFBR1/ALK5 (LDS Typ 1) bzw. TGFBR2 (LDS Typ 2) kodieren. Das LDS führt zu thorakalen, zerebralen und abdominellen Aneurysmen und Dissektionen sowie kraniofazialen Stigmata, wie Hypertelorismus, Lippen-Kiefer-Gaumenspalte oder gespaltene Uvula. Darüber hinaus sind skelettale Veränderungen, wie Trichter- und Kielbrust, Skoliose oder luxierbare Gelenke sowie neurokognitive Beeinträchtigungen beschrieben (30). Das LDS ist dem MFS in seiner Pathophysiologie sowie klinisch in der unterschiedlich starken phänotypischen Ausprägung sehr ähnlich und führt zu vielen gemeinsamen Krankheitsmerkmalen. Es basiert jedoch auf anderen Mutationen.

Unter Familiären thorakalen Aortenaneurysmata und -dissektionen (TAAD) werden mehrere autosomal dominant vererbte Mutationen zusammengefasst. In betroffenen Familien kommt es gehäuft zu Veränderungen der thorakalen Aorta, darüber hinaus aber kaum zu syndromalen Merkmalen. Eine genetische Komponente und familiäre Häufung scheint grundsätzlich bei etwa jeder fünften Aortenerkrankung vorzuliegen. Dabei treten Veränderungen der Aorta bei TAAD deutlich früher als bei sporadischen Fällen auf. Bei syndromalen Krankheiten, wie dem MFS oder LDS, kommt es nochmals früher zu Aortenanomalien (31). Auch beim TAAD sind wie beim LDS neben vielen anderen ursächlichen Genveränderungen TGFBR2-Mutationen beschrieben (32).

Das MFS als prominenter Vertreter hereditärer Erkrankungen mit dysregulierter TGF β -Aktivität wird gesondert im zweiten Teil der Einleitung betrachtet (2.2.).

Den hereditären Erkrankungen ist gemein, dass die unterschiedlichen Mutationen alle eine erhöhte TGF β -Signalaktivität verursachen, welche zu einem gehäuften Vorkommen von Aortendilatationen, -aneurysmata und -dissektionen führt. Die darüber hinaus bestehende Symptomatik variiert.

Bei der pulmonalen arteriellen Hypertonie (PAH) kommt es durch den Umbau kleiner Gefäße im Lungengewebe zu einem erhöhten Blutdruck im kleinen Körperkreislauf, was wiederum zu Rechtsherzbelastung und letztendlich -versagen führt (1). Die PAH tritt meist als Folge anderer Erkrankungen auf, kann aber auch idiopathisch und familiär gehäuft auftreten. Am häufigsten sind Veränderungen des BMP-Rezeptor 2 aus der TGF β -Rezeptor-Superfamilie als genetische Ursache der PAH beschrieben. Patient:innen mit hereditärer hämorrhagischer Teleangiektasie (HHT) zeigen in einigen Fällen auch klinische und histologische Zeichen einer schweren PAH. Die HHT basiert auf einer ALK1-, also einer TGFBR1-Mutation. Somit kann auch die PAH durch Störungen der TGF β -Signalkaskade verursacht werden (33).

TGF β wird bezüglich der Atherosklerose vor allem eine protektive Rolle zugeschrieben. Es inhibiert die Proliferation und Migration von Bindegewebs- und Endothelzellen und wirkt stabilisierend auf atherosklerotische Plaques (4, 34, 35). Eine Deaktivierung des TGF β -Signalweges durch neutralisierende Antikörper im Mausmodell führt folglich zu einem Progress der Atherosklerose (1, 34). Interessanterweise führt das in der Therapie des Mammakarzinoms angewandte Medikament Tamoxifen zu erhöhten TGF β -Spiegeln und entfaltet so als Nebeneffekt seine atheroprotektive Wirkung (36). Apolipoprotein A, ein wichtiger familiärer

Risikofaktor für Atherosklerose, führt zu einer Proliferation von vaskulären glatten Muskelzellen. Es verhindert die TGF β -Aktivierung durch eine Inhibierung des TGF β -Aktivators Plasmin und wirkt somit atherogen (37).

TGF β scheint nach rekanalisierenden Interventionen eine entgegengesetzte Rolle einzunehmen. So werden alle TGF β -Isoformen und -Rezeptoren nach rekanalisierenden Verfahren in erhöhtem Maße exprimiert und induzieren die Bildung der Neointima, was zu Restenosen führen kann (38). Die experimentelle Suppression von TGF β konnte diesen Effekt wiederum unterbinden (39, 40). TGF β zeigt also je nach Kontext unterschiedliche Effekte, sodass es nicht per se als rein atheroprotektives Zytokin eingeordnet werden kann. Es hat eine komplexe und kontextabhängige Bedeutung für Physiologie und Pathophysiologie (41).

Der TGF β -Signalweg kann auch die Blutdruckregulation beeinflussen. Bestimmte Polymorphismen des TGF β 1-kodierenden Gens, welche zu erhöhten TGF β 1-Spiegel führen, sind mit arterieller Hypertonie assoziiert (42). Eine Neutralisierung von TGF β mittels AT1-Antagonisten senkt wiederum den Blutdruck bei vorbestehendem Nierenversagen (43). Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist eine wichtige Achse der Blutdruckregulation. Eine TGF β 1-Aktivierung wird direkt vom RAAS induziert und das Zytokin ist wichtiger Mediator der Wirkung von Angiotensin II (44). Die vom RAAS induzierte TGF β -Expression führt dabei nicht nur zu erhöhtem Blutdruck, sondern über Synthese kardialer Fibroblasten und Wachstumsinduktion der Kardiomyozyten auch zu kardialem Remodelling und Myokardhypertrophie. Das Zytokin scheint somit auch bedeutsam für die Entstehung sowie den Progress einer Kardiomyopathie und Herzinsuffizienz zu sein (45). Auch nach einem Myokardinfarkt ist der TGF β -Spiegel erhöht (46). Ohne wirksames TGF β entfaltet Angiotensin II keine hypertrophe Wirkung am Herzen (47). Das RAAS ist ein wichtiges Target der medikamentösen Therapie von arterieller Hypertonie und Herzinsuffizienz aber auch einer diabetischen Nephropathie. Die zusätzliche Blockade von TGF β zur Gabe von Angiotensin-converting enzyme (ACE)-Hemmern hat synergistische Effekte auf eine bestehende Proteinurie und Niereninsuffizienz (48).

Angeborene Herzfehler

Angeborene Herzfehler (CHD, englisch congenital heart disease) sind das Resultat einer fehlerhaften Kardiogenese und die häufigsten kongenitalen Fehlbildungen bei Neugeborenen (49). TGF β ist mit entscheidend für die korrekte Entwicklung des Herzens. Mausmodelle mit Defekten im TGF β -Signalweg führen zu verschiedenen

CHD (siehe Abbildung 3). In der Kardiogenese werden alle TGF β -Isoformen und -Rezeptoren zu unterschiedlichen Zeitpunkten und in verschiedenen Zelltypen exprimiert (50). Insbesondere für TGF β 2-Knockout-Mäuse sind kardiale Anomalien beschrieben. Sie zeigen häufig eine inkomplette ventrikuläre Septierung, oft verbunden mit einem Double-outlet right ventricle und inkomplettem Aortenbogen (26, 51, 52). Für TGF β 1- und TGF β 3-Knockout-Mäuse sind andere Organbeteiligungen führend, sodass der Einfluss dieser Isoformen an einer korrekten Kardiogenese unklar bleibt. Ein Verlust der TGF β -Rezeptoren führt ebenfalls zu kardialen Anomalien, insbesondere zu einem persistierendem Ductus arteriosus Botalli, sodass dem TGF β -Signalweg eine entscheidende Bedeutung für die Trennung des rechten vom linken Ausflusstraktes zugeschrieben wird (50, 53, 54). Weitere Studien weisen eine Beteiligung anderer Akteure des TGF β -Signalweges an der Kardiogenese bzw. an der Entstehung von CHD nach (50).

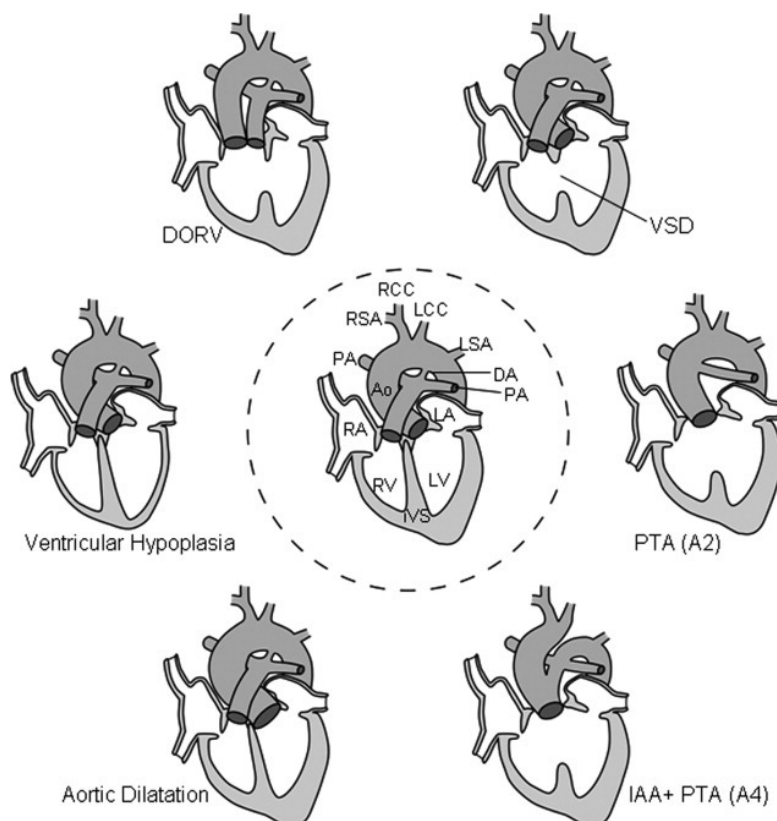


Abbildung 3: Mit pathologischer TGF β -Aktivität assoziierte angeborene Herzfehler (50).

In der Mitte Darstellung eines normalen Herzens, außen Darstellung verschiedener CHD assoziiert mit gestörter TGF β -Aktivität. Ao=Aorta; DA=Ductus arteriosus; DORV=double-outlet right ventricle; IAA=unterbrochener Aortenbogen; IVS=interventrikuläres Septum; LA=linker Vorhof; LCC=linke Arteria carotis communis; LSA=linke Arteria subclavia; LV=linker Ventrikel; PA=Arteria pulmonalis; PTA=persistierender Truncus arteriosus; RA=rechter Vorhof; RCC=rechte Arteria carotis communis; RSA=rechte Arteria subclavia; RV=rechter Ventrikel; VSD=Ventrikelseptumdefekt.

Fibrose und Inflammation

Unter Fibrose als Erkrankung versteht man den bindegewebigen Umbau von Organen als Reaktion auf inflammatorische Reize. Zum einen werden ECM-Komponenten, wie Kollagen oder Laminin, vermehrt synthetisiert. Es kommt zur Proliferation und Akkumulation mesenchymaler Zellen (Fibroblasten), welche zu Myofibroblasten differenzieren. Der gesamte Prozess wird auch vereinfacht als fehlgeleitete Wundheilung beschrieben (1, 55). TGF β ist ein wichtiger Regulator für Auf-, Um- und Abbau der ECM. Erhöhte TGF β -Aktivität führt in den betreffenden Organen zu vermehrter Synthese und vermindertem Abbau von Bindegewebsbestandteilen. Hierbei scheint insbesondere die durch SMAD3 getriggerte Synthese von Kollagen 1, dem Hauptbestandteil der ECM, bedeutsam zu sein (19). In vivo kann nach gezielter SMAD3-Deletion keine Fibrose durch beispielsweise Bleomycin oder Strahlung induziert werden (19).

TGF β wirkt sowohl antiinflammatorisch als auch Fibrose-fördernd (55). Eine abnorme TGF β -Regulation findet sich daher bei Erkrankungen, bei denen es zu fibrotischen Umbauprozessen als Reaktion auf Entzündungsreize kommt. Dazu zählen unter anderem Lungenfibrose, Myokarditis, kardiale Fibrose, Leberzirrhose, Glomerulonephritis und diabetische Nephropathie. Auch bei Autoimmunerkrankungen, wie rheumatoider Arthritis, systemischer Sklerose oder Morbus Crohn zeigt sich eine veränderte TGF β -Aktivität (1, 55).

Lungenerkrankungen

Eine erhöhte und anhaltende TGF β -Aktivität kann in der Lunge zu Umbauprozessen, insbesondere zu verminderter Alveolarisierung führen. Daraus resultieren eine verminderte Lungenfunktion sowie ein reduzierter Gasaustausch. Solch eine Einschränkung der Lungenfunktion besteht bei chronischen Lungenerkrankungen, wie der bronchopulmonalen Dysplasie des Früh- und Neugeborenen und der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung des Erwachsenen (56).

Weitere Aspekte

TGF β wird mit etlichen weiteren physiologischen und pathophysiologischen Prozessen in Verbindung gebracht, die nicht detailliert im Rahmen dieser Dissertation beleuchtet werden sollen. Zu nennen sind noch allen voran umfangreiche Untersuchungen zur Beteiligung des TGF β -Signalweges an der Regulation des Zellzyklus und somit der Entstehung von Tumorerkrankungen. Auch hier wird TGF β eine diametrale Rolle als tumorsuppressiver und gleichzeitig auch onkogener Faktor zugeschrieben (1, 4).

Zusammenfassung der allgemeinen Funktion und Pathophysiologie von TGF β

TGF β ist an vielen verschiedenen Prozessen beteiligt. Man kann dem Zytokin grundsätzlich keine eindeutig physiologische bzw. pathophysiologische Bedeutung zuschreiben. Vielmehr scheint die richtige Regulation der TGF β -Aktivität für einen gesunden und funktionierenden Organismus entscheidend zu sein. Eine Fehlsteuerung des TGF β -Signalweges verursacht viele Pathologien bzw. scheint Ausdruck vieler Erkrankungen sein. Eine dieser Erkrankungen mit einer dysregulierten TGF β -Aktivität ist das MFS, welches im folgenden Kapitel gesondert betrachtet werden soll.

2.2. Das Marfan-Syndrom

Das MFS ist eine autosomal dominant vererbte Bindegewebserkrankung. Die Inzidenz wird mit 2-3:10000 angegeben. Wie bei vielen anderen hereditären syndromalen Erkrankungen ist das MFS gekennzeichnet durch eine Vielzahl möglicher Symptome bei gleichzeitiger phänotypischer Varianz. Daraus resultiert ein sehr individueller Verlauf der Krankheit. Zum typischen Erkrankungsbild gehören kardiovaskuläre, ophthalmologische und skelettale Veränderungen. Lunge, Haut und zentrales Nervensystem können ebenfalls betroffen sein. Auch wenn über die Jahre deutliche Fortschritte in der Diagnostik und Behandlung gemacht wurden, sind weiterhin eine erhebliche Morbidität und verfrühte Mortalität mit dem MFS verbunden (57).

Erstmalig beschrieben wurde die Erkrankung im Jahr 1896 von ihrem Namensgeber, dem Pariser Kinderarzt Antoine-Bernard Marfan. Er berichtete bei einem fünfjährigen Mädchen über auffallend lange Finger sowie weitere skelettale Anomalien (58).

2.2.1. Genetik

Das MFS wird autosomal dominant vererbt. Dabei besitzt die weitergegebene Mutation vollständige Penetranz und variable Expressivität (59). Kein Geschlecht ist bevorzugt vom MFS betroffen. Ebenfalls sind weder ethnische noch geografische Unterschiede beschrieben (57). Insgesamt tritt das MFS zu etwa 75 % durch Vererbung und zu 25 % als Folge einer Neumutation auf. Geschwister von Erkrankten mit gesunden Eltern haben im Vergleich zur Normalbevölkerung ein leicht erhöhtes Risiko, ebenfalls zu erkranken. Ursache hierfür sind somatische oder Keimbahn-Mosaik (60).

1991 wurde erstmals bei zwei nicht verwandten Patient:innen mit MFS dieselbe De-novo-missense-Mutation nachgewiesen. Das betroffene Gen kodiert für das Glykoprotein FBN1. Der FBN1-Genlocus auf Chromosom 15q21.1 wurde somit als genetischer Ursprung der Erkrankung definiert (61). FBN1 ist Hauptbestandteil extrazellulärer Mikrofibrillen, welche maßgeblich zur Elastizität von Bindegeweben beitragen (62). Das Protein enthält unter anderem 47 Epidermal growth factor-ähnliche Domänen. Von diesen können wiederum 43 Calcium binden. Diese Eigenschaft ist wesentlich für die Funktion der Mikrofibrillen (63). Gerade die Calcium-bindenden Domänen scheinen bei vielen Mutationen verändert zu sein (64).

Mittlerweile sind über 1800 verschiedene FBN1-Mutationen beschrieben (62). Davon wurden nur 12 % der mit dem MFS assoziierten FBN1-Mutationen mehr als einmal in nicht verwandten Individuen festgestellt (65). Die meisten betroffenen Familien haben ihre eigene private und einzigartige Mutation (57). Dennoch gibt es kaum auffällige

Genotyp-Phänotyp-Korrelationen. Über die Ausprägung der Erkrankung lässt sich sowohl bei bekannter spezifischer Mutation als auch bei Verwandten von bereits Betroffenen schwer eine Vorhersage treffen (66). Einzig für einige Mutationen in Exon 24 bis 32 des FBN1-Gens ist ein gemeinsames Krankheitsbild beschrieben, welches früher Neonatales MFS genannt wurde. Es ist gekennzeichnet durch einen schweren und schnell voranschreitenden Verlauf mit hoher Letalität bereits in den ersten Lebensjahren (67). Gleichwohl finden sich in den selben Exons auch Mutationen mit eher milderem Phänotyp. Mutationen an anderen Loci können wiederum auch schwere Verläufe verursachen (60). Erschwerend kommt auch noch hinzu, dass nicht jede FBN1-Mutation das MFS verursacht. Weitere Erkrankungen können ebenfalls auf einer FBN1-Mutation beruhen (siehe Tabelle 1) (68).

Syndrome mit FBN1-Mutation

	Kardio- vaskulär	Okulär	Kranio- fazial	Muskulo- skelettal	Neuro- logisch	Dermato- logisch	Intestinal
MFS	+	+	+	+	+	+	+
MASS Phänotyp	+	+	+	+	+	+	+
Familiäre TAAD	+	–	–	+	+	+	+
Shprintzen-Goldberg- Syndrom	+	–	+	+	+	–	–
Mitralklappenprolaps	+	–	–	+	–	–	–
Weill-Marchesani- Syndrom	–	+	–	+	–	–	–
Familiäres Ectopia- Lentis-Syndrom	–	+	–	–	–	–	–

Tabelle 1: Syndrome mit ursächlicher FBN1-Mutation und ihre klinischen Manifestationen (68).

Zusammengefasst ist das wichtigste genetische Merkmal des MFS die Heterogenität bei allerdings kaum gegebener Genotyp-Phänotyp-Korrelation (67). Dies erklärt die weiterhin bestehenden Limitationen der genetischen Testung beim MFS. Der exakte Mutationsnachweis gibt keine definitive Aussage über den klinischen Verlauf der Erkrankung und hat somit über die Diagnosestellung hinaus nur bedingt therapeutische Konsequenzen. In wenigen Fällen findet sich trotz typischer klinischer Merkmale des MFS keine ursächliche Mutation im FBN1-Gen (60).

2.2.2. Pathogenese

FBN1 ist elementarer Bestandteil des ubiquitär vorkommenden Bindegewebes und verleiht ihm seine Elastizität. Bei einer FBN1-Mutation entsteht ein fehlerhaftes und nicht mehr funktionsfähiges Protein, welches trotzdem in die Mikrofibrillen eingebaut wird. Neben der qualitativen Veränderung führt eine Mutation auch zu einer quantitativen Störung der Synthese und Sekretion von FBN1 (69). Das verbleibende Aktivitätslevel von normalem FBN1 liegt weit unter den zu erwartenden 50 % bei einem mutierten Allel. Folgerichtig zeigen sich mildere phänotypische Ausprägungen, wenn das mutierte FBN1-Allel nur wenig aktiv ist und somit auch weniger defektes FBN1 produziert wird (64). Die Mutation hat also einen sogenannten dominant negativen Effekt und führt daher zur Krankheitsausprägung. Neben dieser dominant negativen Aktivität des abnormen FBN1 wird in der Literatur aber auch die unter 50 % reduzierte Produktion des normalen FBN1 (Haploinsuffizienz) als entscheidende Schwelle zur Manifestation des MFS beobachtet und diskutiert (57, 59, 60).

Gewebeproben zeigen beim MFS eine schwere Degeneration der Mikrofibrillenarchitektur (60). Dabei scheint eine FBN1-Mutation nicht den Verlust der elastischen Fasern per se von Geburt an zu bedeuten. Vielmehr können die Fasern im Verlauf nicht erhalten werden und degenerieren. Es handelt sich um einen fortlaufenden Prozess, was sich gut mit den typischerweise allmählich auftretenden klinischen Manifestationen des MFS deckt (57, 59).

Die gesamte Pathogenese einer so komplexen Krankheit auf nur ein verändertes Strukturprotein zurückzuführen, greift jedoch zu kurz. Forschungen der letzten Jahrzehnte zum MFS zeigen, dass es über das defekte FBN1 hinaus zu einer Zytokindysregulation kommt. Eine FBN1-Mutation und der damit einhergehende Funktionsverlust von FBN1 führt zu einer gesteigerten TGF β -Aktivität (70). Die Bedeutung von TGF β für die Pathogenese des MFS wird in Kapitel 2.2.4. beleuchtet.

2.2.3. Klinik und Diagnose

Auch wenn gerade die klinische Varianz so typisch für das MFS ist, ragen einige Merkmale heraus. Sie bestimmen häufig Prognose und Lebensqualität der Patient:innen.

Herz-Kreislaufsystem

Wichtigste Ursache für die Morbidität und Mortalität des MFS sind die kardiovaskulären Veränderungen. Unter diesen ist wiederum die Aortendilatation mit ihren Komplikationen zentrales Merkmal des MFS. Praktisch bei jeder Erkrankung kommt es im Verlauf zu einer relevanten Erweiterung der Aorta (65). Die meisten sind bereits im Kindes- und Jugendalter betroffen. Es gibt keinen typischen Altersgipfel für die Manifestation sondern eher eine sukzessive Zunahme mit jedem Lebensjahr (71). Die Dilatation tritt am häufigsten im Bereich der Aortenwurzel auf, kann aber auch andere Segmente der Aorta betreffen. Dies wird vor allem aufgrund der mittlerweile gestiegenen Lebenserwartung der Patient:innen mit MFS gehäuft im höheren Lebensalter beobachtet (72). Eine begleitende Aortenklappeninsuffizienz ist meist eine späte Folge der Aortenwurzeldilatation. Gefürchtet sind als Komplikationen der Dilatation die Aortendissektion und -ruptur. Die wichtigsten individuellen Risikofaktoren hierfür sind eine positive Familienanamnese für Dissektionen und Rupturen sowie Durchmesser und Wachstumsrate der Dilatation (57). Heutzutage treten diese Komplikationen insbesondere bei Patient:innen ohne bisherige Diagnose eines MFS auf. Gerade bei jungen Menschen unter 40 Jahren ist das MFS eine häufige Ursache für eine Aortendissektion (73). Auch ein Mitralklappenprolaps ist typisch für die Erkrankung und tritt ebenfalls bereits im Kindes- und Jugendalter auf. Im Verlauf kann sich hieraus eine relevante Mitralklappeninsuffizienz entwickeln (74). Weitere kardiale Manifestationen des MFS sind Trikuspidalklappenprolaps und -insuffizienz sowie eine Dilatation der Pulmonalarterie (57). Erkrankte sind zudem gehäuft von einer Kardiomyopathie mit reduzierter systolischer und diastolischer Funktion betroffen (75). Die erheblichen diagnostischen und therapeutischen Fortschritte haben zu einer gestiegenen Lebenserwartung geführt. Die kardiovaskuläre Manifestation des MFS hat sich folglich von der solitären Aortenwurzeldilatation zu einer komplexen Herzerkrankung mit multiplen Pathologien der Herzklappen, begleitender Kardiomyopathie und Herzrhythmusstörungen sowie distalen Aortendilatationen gewandelt (59).

Skelettales System

Typische Merkmale des MFS sind übermäßiges Knochenwachstum und abnorme Gelenkbeweglichkeit (60). Betroffene überschreiten ihre erwartete Zielgröße und sind auch meist im Vergleich zur Gesamtbevölkerung übermäßig groß gewachsen (60, 76). Ein extremes Wachstum zeigt sich insbesondere an den Händen (Arachnodaktylie), was klinisch durch positives Daumen- oder Handgelenkszeichen überprüft werden kann. Die Extremitäten sind im Vergleich zum Rumpf disproportional lang (60). Weiterhin sind Veränderungen von Thorax und Wirbelsäule klinisch relevant. Das Vorliegen einer Keil- oder Trichterbrust und einer Skoliose oder Kyphose kann zu Einschränkungen der Mobilität sowie der Lungenfunktion führen (57). Typische faciale Veränderungen sind unter anderem ein langer und schmaler Kopf (Dolichocephalie), eingefallene Augen (Enophthalmus) und ein nach hinten verlagertes Unterkiefer (Retrognathie) (60).

Augen

Neben der kardialen und genetischen Diagnostik führen ophthalmologische Befunde häufig zur Diagnose MFS (77). Die Linsenektopie ist dabei ein Kardinalsymptom, wenngleich sie bei anderen syndromalen Erkrankungen ebenfalls auftritt (57). Noch häufiger kommt es aufgrund einer verlängerten Bulbusachse zu einer Myopie. Zudem besteht ein erhöhtes Risiko für Netzhautablösungen, Glaukome und Katarakte (60).

Weitere Merkmale

Die Bindegewebsschwäche wirkt sich auf die Elastizität der Hirnhäute aus. Physiologische Druckschwankungen im Liquorraum werden nicht toleriert und es bilden sich Ausweitungen des Spinalkanals. Diese, meist lumbal auftretende, Duraektasie ist sehr sensitiv für das MFS und betrifft fast alle Patient:innen (78). Zumeist ist eine Duraektasie klinisch latent, wird jedoch in wenigen Fällen durch Schmerzen an Rücken, Kopf und proximalen Extremitäten symptomatisch (79).

Insbesondere in den Lungenoberlappen kann es zur Ausbildung von Bullae kommen. Diese erhöhen wiederum das Risiko für einen Spontanpneumothorax (60).

Striae atrophicae an ungewöhnlichen Stellen, wie zum Beispiel an Oberarm oder Axilla sind typisch für das MFS, ebenso die Ausbildung von Hernien (60).

Diagnose

Die Vielzahl an möglichen Symptomen erschwert die Diagnosestellung. Es ist nicht auf Anhieb erkennbar, ob zum Beispiel eine Überbeweglichkeit der Gelenke als physiologische Normvariante oder doch als Teil einer syndromalen Erkrankung

vorliegt. Erschwerend kommt hinzu, dass die einzelnen Symptome oft unabhängig voneinander und mit zeitlicher Latenz auftreten. Um diesen Umständen gerecht zu werden, wurden im Laufe der Jahre Diagnosekriterien für das MFS definiert und mehrfach revidiert.

Mit Einführung der Ghent-Nosologie im Jahre 1996 wurde erstmals zwischen Haupt- und Nebenkriterien unterschieden. So gelang eine stringenter Abgrenzung der Erkrankung zu anderen klinisch ähnlichen Syndromen sowie die Vermeidung einer Überdiagnose bei Verwandten von bereits Betroffenen. Außerdem fand erstmals die genetische Testung Berücksichtigung bei der Diagnosestellung (80). Die Ghent-Nosologie hat eine hohe Spezifität. Bis zu 97 % aller nach Ghent-Nosologie diagnostizierten Patient:innen mit MFS haben auch eine FBN1-Mutation. Die revidierte und aktuell angewandte Fassung der Ghent-Nosologie von 2010 definiert die Aortendilatation, Linsenluxation, FBN1-Mutation oder eine Kombination mehrerer Symptome, welche als Systemische Manifestation erfasst werden, als Hauptkriterien. Außerdem wird zwischen Patient:innen mit und ohne positiver Familienanamnese unterschieden (72).

Eine frühzeitige Diagnose der Erkrankung im Kindesalter bei Vorliegen nur milder oder noch klinisch latenter Symptome bleibt jedoch weiterhin eine große Herausforderung. Sie wäre jedoch wünschenswert und wichtig, um frühzeitig Präventions- und Therapiemöglichkeiten zu evaluieren und gegebenenfalls zu beginnen.

2.2.4. Spezielle pathophysiologische Bedeutung von TGF β für das MFS

FBN1 wurde lange vorrangig eine strukturelle Funktion zugeschrieben und das MFS demzufolge als Erkrankung eines strukturell defekten Bindegewebes betrachtet. Die Aortendilatation und Linsenluxation sind durch ein schwaches Bindegewebe tatsächlich auch recht plausibel erklärt (81). Weitere Manifestationen wie z. B. das übermäßige Knochenwachstum bleiben aber durch diesen Erklärungsansatz unverstanden (82).

FBN1 trägt nicht nur zur Stabilität verschiedener Gewebe bei sondern hat auch eine regulierende Funktion für TGF β . FBN1 reguliert die Bioverfügbarkeit des Zytokins (83, 84). Es bindet und lagert den LLC und hält TGF β in seiner inaktiven Form (81, 85). Defektes FBN1 führt durch die fehlende Regulation zu erhöhter TGF β -Aktivität. Sowohl im Serum als auch im Gewebe sind die TGF β -Spiegel erhöht (81, 85).

In mehreren Mausmodellen wurden Zusammenhänge zwischen erhöhter TGF β -Aktivität und klinischen Merkmalen des MFS nachgewiesen. Neptune et al. konnten zunächst zeigen, dass Mäuse mit FBN1-Mutation eine erhöhte TGF β -Aktivität aufweisen, was eine gestörte alveolare Septierung der Lunge zur Folge hatte. Dies führte bei den Mäusen zur Ausbildung eines Lungenemphysems und folglich zu einem Pneumothorax. Die perinatale Antagonisierung von TGF β durch einen neutralisierenden TGF β -Antikörper konnte diesen Prozess wiederum verhindern (70). Die Entwicklung von Mitralklappenprolaps und -insuffizienz war im Mausmodell ebenfalls assoziiert mit einer FBN1-Mutation und erhöhter TGF β -Aktivität. Auch diese Pathologie ließ sich durch TGF β -Antagonisierung unterbinden (86).

Auch das Kardinalsymptom der Aortendilatation ist mit erhöhter TGF β -Aktivität assoziiert. Habashi et al. konnten in ihrem Mausmodell nachweisen, dass Mäuse mit FBN1-Mutation bereits im Alter von 2 Wochen eine progressive Erweiterung der Aortenwurzel zeigen. Mit zunehmendem Alter nimmt auch die Aortendilatation zu. Histologisch ist die Media der Aortenwand verdickt. Ebenfalls ist die physiologische Struktur der elastischen Fasern zerstört und es kommt zu einer vermehrten Kollageneinlagerung und Akkumulation von phosphoryliertem SMAD2, einem wichtigen Mediator der TGF β -Signalkaskade (83). Diese Veränderungen zeigen sich auch in Gewebeproben der Hauptschlagader von Patient:innen mit MFS (30). Die postnatale Gabe neutralisierender Antikörper führte zu geringerer TGF β -Aktivität in der Gefäßwand. Nach achtwöchiger Behandlung war die Wachstumsrate der Aortenwurzel in Wildtypmäusen und behandelten Mäusen mit FBN1-Mutation identisch. Auch die histologischen Veränderungen waren unter Therapie rückläufig. Die Aortendilatation ließ sich also durch TGF β -Antagonisierung im Mausmodell erfolgreich eindämmen und wurde sogleich als möglicher Therapieansatz diskutiert (83).

Die Beteiligung einer abnormen TGF β -Aktivität ist für die Entstehung der kardiovaskulären, skelettalen und kraniofazialen Merkmale des MFS beschrieben (87). Für die klinische Praxis ist entscheidend, dass ein Eingreifen in den TGF β -Signalweg sich als potentieller Therapieansatz anbietet (siehe Kapitel 2.2.6.). TGF β wird auch als möglicher Biomarker der Erkrankung, insbesondere für den Schweregrad einer Aortendilatation, diskutiert (81).

2.2.5. Therapie Herz-Kreislaufsystem

In der Behandlung des MFS liegt das Hauptaugenmerk auf der Prävention von Komplikationen. Dies gilt insbesondere für die kardiovaskulären Manifestationen. Durch regelmäßige klinische und apparative Kontrolluntersuchungen sowie eine medikamentöse Therapie sollen Progress und Komplikationen bestenfalls vermieden oder zumindest frühzeitig erkannt und therapiert werden.

Die Beurteilung der kardialen Pathologien erfolgt mittels Echokardiographie. Hierbei kann der Verlauf der Hauptschlagader bis zur Aorta descendens und die intrakardiale Anatomie dargestellt werden (65). Für exakte Messungen der Aortenwurzel sind genaue Untersuchungstechniken beschrieben. Durch Abgleich mit Nomogrammen wird der individuelle Verlauf nachvollzogen (siehe Abbildung 4). Ergänzend stehen als bildgebende Verfahren die Computertomographie und Magnetresonanztomographie zur Verfügung, anhand derer weitere Abschnitte der Aorta sowie andere Gefäße beurteilt werden können (57).

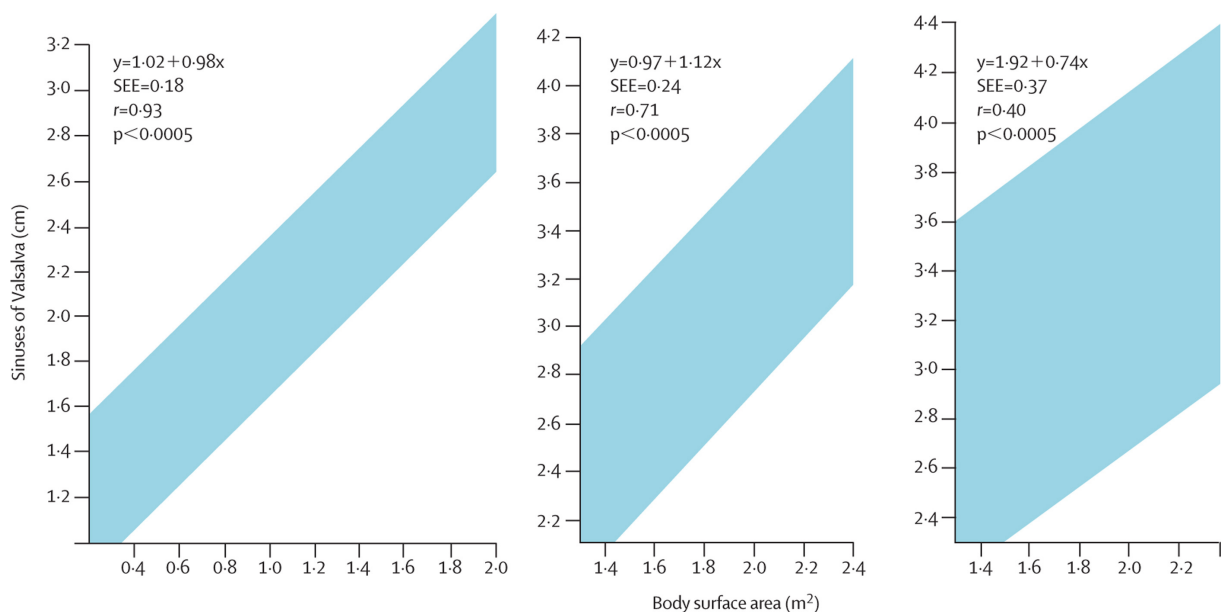


Abbildung 4: Standardisierte Wachstumsraten der Aortenwurzel auf Höhe des Sinus Valsalva im Verhältnis zu Körperoberfläche und Alter (57).

Von links nach rechts Nomogramm für Kinder und Jugendliche, Erwachsene <40 Jahre und Erwachsene >40 Jahre, jeweils hellblau hervorgehoben der Normbereich.

Seit fast 50 Jahren ist der Einsatz von β -Blockern zur Behandlung der Aortendilatation Goldstandard (57). Weitere Aspekte und Möglichkeiten der medikamentösen Therapie sind Inhalt des folgenden Kapitels.

Bei relevanter Dilatation der Aorta ist eine chirurgische Therapie indiziert, da die Gefahr einer lebensgefährlichen Dissektion mit Zunahme des Durchmessers der Aortenwurzel steigt (88). Ein frühzeitiges elektives Vorgehen ist hierbei akuten

Notfalleingriffen deutlich überlegen. Der elektive Ersatz des Aortenbogens geht mit einer geringen 30-Tage-Mortalität von 1,5 % einher. Bei dringlichen bzw. akuten Operationen mit bereits vorliegender Dissektion beträgt diese hingegen 2,6 % bzw. 11,7 % (89). Ab welchem Durchmesser der Aorta ein elektiver Aortenbogenersatz erfolgen soll, ist ein viel diskutiertes Thema. Neben dem tatsächlichen Durchmesser auf Höhe des Sinus Valsalva fließen weitere Faktoren, wie die Familienhistorie früherer Dissektionen, die Geschwindigkeit der Durchmesserzunahme und das Ausmaß der Aortenklappeninsuffizienz mit in die Indikationsstellung ein (65). Gerade für pädiatrische Patient:innen fehlen jedoch verlässliche Empfehlungen, sodass hier Einzelfallentscheidungen überwiegen (90). Grundsätzlich hat sich die Lebenserwartung von Menschen mit MFS durch die Aorten Chirurgie erheblich gebessert (91). Zu beachten ist, dass bereits operierte Patient:innen im Verlauf häufig auf anderer Höhe der Hauptschlagader erneut operiert werden müssen (65). Primär elektiv operierte Patient:innen müssen jedoch seltener erneut operiert werden als Patient:innen mit einer akuten Aortendissektion (91).

Als elektives Standardverfahren ist die klappenerhaltende Operation nach David üblich (65). Hierbei wird die Aortenwurzel durch eine Gefäßprothese ersetzt. Im Gegensatz zum ebenfalls angewandten Bentall-Verfahren enthält die Prothese keine künstliche sondern die reimplantierte native Aortenklappe. Bei der Operation nach David besteht postoperativ ein geringeres Risiko für thromboembolische Ereignisse, Blutungen und infektiöse Endokarditiden. Außerdem ist keine lebenslange Antikoagulation notwendig (91-94). Jedoch ist zu bedenken, dass es nach dem Klappen-erhaltenden David-Verfahren häufiger zu einer Aortenklappeninsuffizienz kommt als beim Aortenklappenersatz nach Bentall (95).

2.2.6. Spezielle Bedeutung von TGF β in der medikamentösen Therapie des MFS

Die medikamentöse Therapie der Aortenwurzeldilatation beim MFS erfolgte lange ausschließlich mit β -Blockern. Die vorrangig als Blutdrucksenker eingesetzten β -Blocker wirken in erster Linie durch Veränderungen der Hämodynamik auf die Aortendilatation. Neben einer Blutdrucksenkung bewirken sie eine Reduktion der Herzfrequenz und des linksventrikulären Auswurfes. Es kommt zu einer erhöhten Dehnbarkeit der Gefäßwand und Abnahme der Pulswellengeschwindigkeit. Dies hat zusammengenommen positive Auswirkungen auf die vulnerable Aortenwand beim MFS. Sie wird vereinfacht betrachtet unter Therapie mit β -Blockern einem geringeren hämodynamischem Stress ausgesetzt (96, 97).

Der Nutzen speziell für das MFS wurde erstmals 1971 beschrieben (98). Eine randomisierte Studie zum Einsatz der β -Blocker zeigte 1994 bei 80 adoleszenten und erwachsenen Patient:innen mit MFS unter Therapie mit β -Blockern einen signifikant geringeren Progress der Aortendilatation und weniger Komplikationen (99). Bei Kindern waren erste Studienergebnisse weniger eindeutig. Trotz signifikant geringerer Progression der Dilatation im Vergleich zur Kontrollgruppe kam es nur bei Proband:innen unter β -Blocker-Einnahme im Verlauf zu kardialen Komplikationen (100). Selamet Tierney et al. konnten prospektiv bei 63 pädiatrischen MFS-Patient:innen keine eindeutigen Nutzen der β -Blocker im Vergleich zu keiner Medikation beobachten (101). Ladouceur et al. sahen retrospektiv bei 155 Kindern hingegen einen signifikanten Vorteil der Medikation (102). Letztendlich hat sich die Empfehlung einer möglichst frühzeitigen β -Blocker-Therapie beim MFS durchgesetzt (57, 65, 103). Der Progress der Aortendilatation kann jedoch nicht gestoppt oder rückgängig gemacht werden. Er wird nur verlangsamt (57, 99). Keinen Einfluss hat das Medikament auf eine bestehende Aortenklappeninsuffizienz. Auch das Risiko für eine spätere Operation an der Aorta bleibt unverändert (104).

Ein Umdenken in der medikamentösen Therapie wurde durch die bereits zuvor erwähnten Untersuchungen zur Beteiligung des TGF β -Signalwegs an der Pathogenese des MFS ausgelöst. Neben der Therapie mit β -Blockern boten sich nun Medikamente an, die gezielt TGF β hemmen: AT1-Antagonisten, ACE-Hemmer und AT1-Antagonisten inhibieren auf unterschiedliche Weise das RAAS. Dass Sartane darüber hinaus sehr effektiv auch TGF β inhibieren, konnte zunächst in Studien zu hypertropher Kardiomyopathie, arterieller Hypertonie und Niereninsuffizienz gezeigt werden (43, 105). ACE-Hemmer blockieren sowohl die Typ-1- als auch Typ-2-Rezeptor-vermittelte Wirkung von Angiotensin II. Sartane blockieren hingegen nur den Typ-1-Rezeptor. Dieser vermittelt eine Aktivierung des TGF β -Signalwegs. Der Typ-2-Rezeptor antagonisiert wiederum viele Effekte des Typ-1-Rezeptors (83, 106). Eine zusätzliche Typ-2-Rezeptor-Inhibition würde also die Effekte der Typ-1-Rezeptor-Blockade aufheben. Daher sind AT1-Antagonisten die spezifischeren und wirksameren Medikamente zum Eingreifen in die Pathogenese des MFS (83).

Die bereits zuvor erwähnte Studie von Habashi et al. untersuchte neben dem Einsatz von neutralisierenden TGF β -Antikörpern auch die Gabe von AT1-Antagonisten im Vergleich zu β -Blockern im Mausmodell. Sie waren in vitro nicht nur wirksam zur Eindämmung der Aortendilatation sondern den β -Blockern gar überlegen. Während

mit Propanolol behandelte Mäuse einen zunehmenden Zerfall der normalen Aortenwandarchitektur zeigten, erholte sich die Gefäßwand bei Mäusen, die mit Losartan behandelt wurden, insbesondere bei frühzeitigem Beginn der Therapie. Auch weitere Manifestationen des MFS, wie die Ausbildung von Bullae in der Lunge besserten sich unter Therapie mit AT1-Antagonisten (83). Sartane senken zudem wie β -Blocker Herzfrequenz und Blutdruck. Während β -Blocker also nur den hämodynamischen Stress auf die erkrankte Gefäßwand reduzieren, scheinen Sartane darüber hinaus eine sehr gezielte Wirkung gegen die eigentlichen Pathomechanismen der Erkrankung zu haben und der Degeneration der Aortenwand entgegenzuwirken (83, 104, 107).

Diese vielversprechenden Erkenntnisse zu den Sartanen konnten allerdings in klinischen Studien nicht im selben Ausmaß bestätigt werden. Eine retrospektive Studie mit 215 pädiatrischen MFS-Patient:innen zeigte keine Überlegenheit der AT1-Antagonisten gegenüber β -Blockern. Die Aortendilatation wurde im selben Maß eingedämmt (108). In einer viel beachteten prospektiven und randomisierten Untersuchung von Lacro et al. mit 608 Kindern und jungen Erwachsenen gab es über einen Verlauf von drei Jahren ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Medikamenten (109). Milleron et al. untersuchten bei vorrangig erwachsenen Patient:innen den alleinigen Nutzen von Losartan im Vergleich zur Placebo-Gabe, wobei einige Patient:innen bereits β -Blocker erhielten. Losartan hatte keinen Effekt auf den Progress der Aortendilatation (110). Weitere Studien kommen zu heterogenen Ergebnissen. Eine 2020 veröffentlichte Metaanalyse aus sieben klinischen Studien mit insgesamt 1510 Patient:innen zum Einsatz von AT1-Antagonisten beim MFS kam zum Ergebnis, dass Sartane effizienter den Progress einer Aortendilatation eindämmen. In Bezug auf klinische Endpunkte, wie die Notwendigkeit einer Operation oder das Auftreten einer Dissektion sowie die Mortalität bestehen jedoch keine Vorteile gegenüber dem Einsatz von β -Blockern (111). Keine klinische Studie konnte bisher eine eindeutige Überlegenheit der AT1-Antagonisten nachweisen, wie sie zuvor im Mausmodell so eindrücklich gesehen wurde.

Aktuell werden beim MFS sowohl Sartane als auch β -Blocker nach individueller Abwägung angewendet. Einigkeit besteht über den möglichst frühen Beginn der medikamentösen Prophylaxe bei signifikanter Aortendilatation. Ob eine Medikation als primär präventive Maßnahme vor Auftreten einer Aortendilatation effektiv und sinnvoll ist, bleibt unklar (112).

Folgende Überlegungen sind zu diesem Thema erwähnenswert. Die meisten klinischen Daten liegen zu Jugendlichen und jungen Erwachsenen vor. Kinder stellen aber die interessanteste Zielgruppe für eine medikamentöse Behandlung dar, weil die Erkrankung noch wenig fortgeschritten ist. Hierzu fehlen Daten aus größeren prospektiven klinischen Studien.

Die molekularen Wirkmechanismen der AT1-Antagonisten sind recht gut verstanden. Es fehlen aber Untersuchungen zur richtigen Dosierung der Sartane und inwiefern diese eine Auswirkung auf den Erfolg der Therapie haben. Klinisch wurden meist geringere Dosierungen der Sartane angewandt als im Tierexperiment. Im Vergleich zur hohen β -Blocker-Dosierung ist die Dosis der AT1-Antagonisten in klinischen Studien häufig recht gering, sodass das gesamte Potential dieses Wirkstoffes wohlmöglich noch nicht ausgereizt wurde (109, 112).

Zudem standen beim Großteil der Studien der Durchmesser der Aortenwurzel und klinische Endpunkte als Outcome im Blickpunkt. TGF β als Zielmolekül der Sartane wurde bisher in klinischen Studien vernachlässigt. Experimentell wurde die herausragende Rolle des Zytokins bereits in etlichen Facetten beschrieben. Für den klinischen Alltag bleibt seine Relevanz bisher unklar. Um hier einen Beitrag zu leisten, wurde im Rahmen dieser Dissertation TGF β bei gesunden Kindern ohne MFS bestimmt. Es soll dabei überprüft werden, ob sich ein Referenzbereich für TGF β im Kindesalter bestimmen lässt, welcher verlässlich als physiologisch angesehen werden kann. Somit wäre im Anschluss die Einordnung pathologischer TGF β -Spiegel möglich.

3. Proband:innen und Methoden

3.1. Studienstruktur Tiger for Kids

Diese Arbeit ist Teil der Tiger for Kids-Studie. Ziel der Studie ist, TGF β -Spiegel bei herzgesunden Kindern sowie Kindern mit MFS zu bestimmen und miteinander zu vergleichen. In einem weiteren Schritt wird bei Kindern mit MFS der TGF β -Spiegel unter medikamentöser Therapie mit Sartanen gemessen. Somit soll TGF β hinsichtlich seiner prognostischen Aussagekraft und sein Potential als möglicher Verlaufparameter für das MFS, auch für den Erfolg einer medikamentösen Therapie, bewertet werden. In dieser Dissertation werden zunächst TGF β -Werte bei herzgesunden Kindern des gesamten Altersspektrums bestimmt.

In allen Teilstudien ist die Messung und der Vergleich von TGF β -Werten Endpunkt des Versuchs. Hierfür wurden Serumproben von den Proband:innen gewonnen. Die Messung erfolgte anschließend über ein Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Neben dem TGF β -Spiegel wurden anamnestiche, klinische und laborchemische Daten und Parameter der untersuchten Kinder in einer Datenbank festgehalten und bei der Auswertung berücksichtigt.



Abbildung 5: Logo der Tiger for Kids-Studie.

3.2. Proband:innenrekrutierung

Von April 2017 bis April 2019 wurde von 125 Patient:innen Serumproben gewonnen und TGF β gemessen. Die Kohorte unterteilten wir in vier Altersgruppen (siehe Tabelle 2).

Altersgruppen der Studie

	Alter
Säuglinge und Kleinkinder	1-24 Monate
Kleinkinder und Schulkinder	25 Monate-11 Jahre
Kinder und Jugendliche	12-14 Jahre
Jugendliche	15-18 Jahre

Tabelle 2: Altersgruppen der Studie.

Die Proband:innen wurden in der Kinderklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) rekrutiert. Dafür wurden regelmäßig stationäre Patient:innen der Stationen K2a (Kinderkardiologie und -chirurgie), K2b (Kindergastroenterologie und -neurologie) sowie K3 (Säuglings- und Kleinkindstation) gesichtet, ebenfalls ambulante Patient:innen aus der Notaufnahme des UKE. Wir schlossen in die gesunde Kohorte Kinder mit akuten und milden Krankheitsbildern ein. Die Proband:innen wurden sechs Diagnosegruppen zugeordnet. Hinzu nahmen wir als siebte Gruppe Kinder, welche in der Marfan-Sprechstunde des Universitären Herz- und Gefäßzentrums Hamburg (UHZ) mit Verdacht auf (V. a.) eine hereditäre Bindegewebserkrankung (MFS oder LDS) vorgestellt wurden. Zumeist erfolgte dies bei Erkrankung eines Verwandten. Bei den eingeschlossenen Proband:innen bestätigte sich der Verdacht in der genetischen Diagnostik nicht, sodass wir diese ebenfalls in die gesunde Kohorte aufnehmen konnten (siehe Tabelle 3).

Diagnosegruppen
Trauma
Infektion
Neurologische Diagnosen und Beschwerden
Psychiatrische Diagnosen und psychosoziale Beschwerden
Elektive Operationen und Interventionen
Sonstige Diagnosen und Beschwerden
Verdacht auf hereditäre Bindegewebserkrankung, genetisch negativ getestet

Tabelle 3: Diagnosegruppen der Studie.

Neben dem Ausschluss kardiovaskulärer Belastungen waren weitere medizinische Ausschlusskriterien chronische und systemische Erkrankungen, wie zum Beispiel Autoimmunerkrankungen, Tumorerkrankungen, hereditäre Systemerkrankungen und systemische Infektionen. Weitere Ausschlusskriterien waren eine Schwangerschaft, die fehlende Zustimmung des Kindes oder der Eltern, eine mangelnde Einwilligungsfähigkeit (zum Beispiel aufgrund einer Sprachbarriere) und sonstige physische oder psychische Gegebenheiten, welche eine Teilnahme an der Studie nicht ermöglichten. Somit war die herzgesunde Kontrollgruppe eine das gesamte Kindes- und Jugendalter abbildende Kohorte mit heterogenem Diagnosespektrum, jedoch unter Ausschluss einer chronischen kardiovaskulären Belastung oder Erkrankung.

3.3. Aufklärung und Einwilligung

Die Aufklärung und schriftliche Einwilligung erfolgte stets vor der Blutentnahme und Laboruntersuchung. Ab einem Alter von sechs Jahren wurde gemäß Empfehlung des Bundesgerichtshofes neben der mündlichen auch die schriftliche Einwilligung des Kindes zusätzlich zu den Erziehungsberechtigten eingeholt. Die Studie wurde von der Ethikkommission Hamburg genehmigt (Ethiknummer PV 5457).

3.4. Probenentnahme

Die Blutentnahme erfolgte entweder über eine periphere Venenpunktion oder eine bereits liegende rückläufige periphere Venenverweilkanüle. Die Probenmenge richtete sich dabei nach dem Alter der Proband:innen (siehe Tabelle 4). Grundsätzlich benötigten wir für die Bestimmung von TGF β 40 μ l Serum.

Alter	Serum in ml
1-36 Monate	1,3
36 Monate-8 Jahre	2,6
8-14 Jahre	4,9
14-18 Jahre	9,8

Tabelle 4: Probenmenge nach Alter der Patient:innen.

Bei der Blutentnahme kam es in einzelnen Fällen bei schwieriger oder auch sehr einfacher Venenpunktion zu Abweichungen von der angestrebten Probenmenge. Die Venenpunktion wurde stets mit einer für die klinische Behandlung notwendigen Blutentnahme kombiniert, um den Teilnahmeaufwand für die Kinder so gering und angenehm wie möglich zu halten.

3.5. Fragebogen

Wir baten alle Proband:innen bzw. deren Eltern, einen Fragebogen auszufüllen, um mögliche Ausschlusskriterien zu detektieren sowie die bisherige Krankheitsgeschichte der Patient:innen zu dokumentieren und zu evaluieren. Ebenso wurde anhand einer Familienanamnese das individuelle Risiko für eine mögliche chronische, insbesondere kardiovaskuläre Belastung oder Erkrankung erfasst.

Zunächst wurden allgemeine Daten zur Person und zum aktuellen Krankenhausaufenthalt erhoben. Es folgten die Abfrage von Vorerkrankungen und Dauermedikationen. Bezüglich der Familienanamnese wurde nach Erkrankungen bei Geschwistern sowie dem kardiovaskulärem Risikoprofil der Eltern und Großeltern gefragt. Danach waren Fragen zum alltäglichem Leben mit Augenmerk auf sportliche Betätigung, Alkohol- oder Drogenkonsum sowie Schlafverhalten zu beantworten. Zur Abklärung einer kardiovaskulären Belastung fragten wir nach typischen Symptomen wie Dyspnoe in Ruhe und bei Belastung, peripheren Ödemen, eingeschränkter Belastbarkeit, Herzrhythmusstörungen und Synkopen. Abschließend baten wir die Proband:innen um eine Beurteilung ihres allgemeinen Gesundheitszustandes unter Einbeziehung von Mobilität, Einschränkungen im Alltag, Belastbarkeit und Schmerzen.

17. Hier folgen einige genauere Fragen zur Gesundheit deiner Eltern und Großeltern. (Bitte beachte bzw. beachten Sie, dass hier die Angaben der leiblichen Eltern bzw. Großeltern erforderlich sind.)			
Hat ein Arzt jemals (leibliche Mutter bzw. leiblicher Vater bzw. leibliche Großeltern) eine der folgenden Erkrankungen festgestellt?			
	leibliche Mutter	leiblicher Vater	leibliche Großeltern
Herzinfarkt	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Schlaganfall	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Koronare Herzerkrankung (Durchblutungsstörungen am Herzen, Verengung der Herzkrankgefäße, Angina Pectoris)	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Angeborener Herzfehler	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht Wenn ja, welcher _____	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht Wenn ja, welcher _____	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht Wenn ja, welcher _____
Bluthochdruck	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Übergewicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit)	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Fettstoffwechselstörung	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht
Bindegewbserkrankung (z.B. Marfan-Syndrom)	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weiß nicht

Abbildung 6: Beispielhafter Auszug aus dem studienbegleitenden Fragebogen.

3.6. Probenverarbeitung/Präanalytik

Die gewonnenen Proben wurden umgehend pseudonymisiert und anschließend im Labor verarbeitet. Die Durchführung der Präanalytik erfolgte mit den in Tabelle 5 aufgeführten Geräten, Verbrauchsmaterialien und Hilfsmitteln.

Geräte

Arbeitsgefrierschrank 80 °C Hera freeze Nummer 5
Ziath Scanner
Thermo Scientific Scanner
Thermo Scientific 8 Channel Decapper auf LVL Caps umgerüstet
Hettic Rotina 420 R
Eppendorf Zentrifuge 5810 R
Pipettensatz Eppendorf

Verbrauchsmaterialien

Einmalhandschuhe
Pipettenspitzen für die Volumina 100-1000 µl
Verschlussdeckel (Screw Caps)
0,3 ml Screw Tubes
Rack CCS Original (LVL)

Hilfsmittel

Reagenzglasständer

Tabelle 5: Materialien Präanalytik.

Bei jedem Probeneingang prüften wir zunächst die Vollständigkeit und Unversehrtheit des Materials. Zu jeder Probe wurde ein Bioprobenbegleitprotokoll (BPP) angelegt, in welchem Informationen zur Probenverarbeitung erfasst wurden. Die Registrierung des Probeneingangs erfolgte in der Probenmanagementdatenbank (PMD). Die Serum-Monovetten wurden frühestens 30 Minuten nach der Blutentnahme zentrifugiert, damit die Koagulation in der Monovette abgeschlossen war. Die Zentrifugation erfolgte für zehn Minuten mit Beschleunigungsgröße 3000 g und bei 18 °C.

Anschließend wurden 0,3 ml Screw Tubes mit je 300 µl Serum aus den Monovetten befüllt. Es wurden so viele Tubes befüllt, wie mit dem jeweiligen Probenvolumen ausreichend befüllt werden konnten (siehe Tabelle 4). Die Monovetten wurden anschließend entsorgt. Die Archivierung der Proben erfolgte in der PMD. Alle Angaben aus dem BPP wurden ebenfalls elektronisch in der PMD erfasst.

Nach Befüllung und Verschluss der Tubes wurde diese direkt im Arbeitsgefrierschrank bei -80 °C gelagert.

3.7. TGF β -Messung

Die TGF β -Bestimmung erfolgte mittels Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Dieses Verfahren wird in der Labormedizin zum Nachweis verschiedener Moleküle in Körperflüssigkeiten angewendet. Für die TGF β -Messung nutzten wir das Quantikine human TGF β 1 Immunoassay (R&D Systems Incorporated, Minneapolis, MN, USA; Katalognummer DB100B) nach Anleitung des Herstellers.

Die Mikrotiterplatten des ELISA sind beschichtet mit einem Antikörper, welcher TGF β als Antigen bindet. Die Proben werden als erstes zu den Mikrotiterplatten hinzugegeben. Das TGF β im Serum bindet den Antikörper. Nach zweistündiger Inkubation werden die restlichen Bestandteile des Serums gewaschen. Dann wird ein zweiter Antikörper, der sogenannte Detektions-Antikörper, hinzugegeben, welcher das fixierte TGF β ebenfalls bindet. Nach erneuter zweistündiger Inkubation werden noch ungebundene Detektions-Antikörper gewaschen. Der Detektions-Antikörper ist markiert mit einer Meerrettich-Peroxidase (HRP, englisch horseradish peroxidase), welche als sogenanntes Reporterenzym dient. Im dritten Schritt wird als Substrat für das Reporterenzym HRP Tetramethylbenzidin hinzugegeben. Die enzymatische Reaktion führt zur Entwicklung eines blauen Farbstoffs, dessen Menge proportional zum gebundenen TGF β und damit zum Serumspiegel ist. Nach 30-minütiger Inkubation unter Lichtschutz wird die enzymatische Reaktion mit einer verdünnten Salzsäure-Lösung unterbrochen. Nun wird für jede Probe die optische Dichte mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät photometrisch bei 450 nm gemessen. Mit Hilfe einer Kalibrierungskurve werden aus den gemessenen Werten die TGF β -Konzentrationen in pg/ml bestimmt (113).

Die TGF β -Messung für alle Serumproben erfolgte gleichzeitig, sodass die Versuchsbedingungen im Labor für alle Proben identisch waren.

3.8. Klinische Daten und Laborparameter

Neben der aus dem Fragebogen gewonnenen anamnestischen Informationen erfassten wir aktuelle klinische und laborchemische Parameter zu den Proband:innen (siehe Tabelle 6).

Klinische Daten	Laborparameter
Blutdruck	Kleines Blutbild: Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, mittleres korpuskuläres Volumen, mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt, mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration, Hämatokrit, Hämoglobin
Temperatur	
Herzfrequenz	Kreatinin
Sauerstoffsättigung	Glukose
Körpergröße	Natrium, Kalium, Kalzium, Magnesium
Körpergewicht	C-reaktives Protein (CRP)

Tabelle 6: *Klinische Daten und Laborparameter.*

3.9. Statistische Auswertung und Analyse

Die Erhebung und Archivierung in einer Datenbank erfolgte mit Microsoft Excel Version 16 (Microsoft, Redmond, WA, USA). Für die Datenauswertung, statistische Analyse sowie Erstellung von Grafiken und Diagrammen benutzten wir die Programme Microsoft Excel und SPSS Statistics Version 26 (IBM, Armonk, NY, USA).

Quantitative Daten werden als absolute Zahlen mit der relativen Häufigkeit in Prozent in runden Klammern (%) oder als Mittelwerte (M) \pm Standardabweichung (SD, englisch Standard deviation) angegeben, teilweise ergänzt um Minima und Maxima in runden Klammern. Alle TGF β -Werte werden in pg/ml angegeben. In den Tabellen zur deskriptiven Statistik werden zusätzlich Anzahl (N), Minimum und Maximum, Standardfehler (SE, englisch Standard error) sowie 95 %-Konfidenzintervalle (95 %-KI) für den Mittelwert angegeben.

4. Ergebnisse

125 Proband:innen wurden in die gesunde Kontrollgruppe eingeschlossen. Das Kollektiv bestand aus 53 (42,4 %) weiblichen und 72 (57,6 %) männlichen Kindern mit einem mittleren Alter von $9,4 \pm 5,7$ Jahren (1 Monat; 18 Jahre). Die Altersgruppe der Kleinkinder ab 25 Monaten und Schulkinder bis elf Jahren war am stärksten, die Gruppe der Säuglinge und Kleinkinder bis 24 Monaten am schwächsten vertreten. Die Jugendlichen ab zwölf Jahren bildeten in etwa die Hälfte des Kollektivs (siehe Tabelle 7).

Altersgruppenverteilung

	Häufigkeit
1 Monat-24 Monate	22 (17,6 %)
25 Monate-11 Jahre	43 (34,4 %)
12-14 Jahre	30 (24,0 %)
15-18 Jahre	30 (24,0 %)
Gesamt	125 (100 %)

Tabelle 7: Altersgruppenverteilung der Proband:innen..

Die meisten Kinder wurden aufgrund einer Infektion ambulant oder stationär behandelt, gefolgt von Traumata. An dritter Stelle folgten elektive Operationen oder Interventionen (siehe Tabelle 8).

Diagnosegruppen

	Häufigkeit
Trauma	24 (19,2 %)
Infektion	43 (34,4 %)
Neurologische Diagnosen und Beschwerden	6 (4,8 %)
Psychiatrische Diagnosen und psychosoziale Beschwerden	6 (4,8 %)
Elektive Operationen und Interventionen	21 (16,8 %)
Sonstige Diagnosen und Beschwerden	19 (15,2 %)
Verdacht auf hereditäre Bindegewebserkrankung, genetisch negativ getestet	6 (4,8 %)

Tabelle 8: Diagnosegruppenverteilung der Proband:innen.

Eine Übersicht aller in die gesunde Kontrollgruppe eingeschlossenen Diagnosen zeigt Tabelle 9.

Diagnosegruppen

	Diagnosen
Trauma	Sturz Schädelhirntrauma Verkehrsunfall Schädelfraktur Traumatische Pankreasruptur
Infektion	Peritonsillarabszess Gastroenteritis Abklärung von Effloreszenzen am ehesten infektiöser Genese Tonsillitis (Verdacht auf) Appendizitis Ileitis terminalis Phlegmone Harnwegsinfekt und Pyelonephritis Infekt der oberen Atemwege Cholezystitis Wundinfektion Fieberkrampf Mastoiditis
Neurologische Diagnosen und Beschwerden	Kopfschmerzen Verdacht auf Neuroborreliose Stauungspapille Schwindel und Synkope Idiopathische Facialisparesie Verdacht auf Migräne
Psychiatrische Diagnosen und psychosoziale Beschwerden	Anorexia nervosa Trinkverweigerung Überwachung nach Alkohol- oder Medikamentenintoxikation
Elektive Operationen und Interventionen	Hypospadiekorrektur Tonsillotomie, Adenotomie, Parazentese Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie (ERCP) bei Verdacht auf Duodenalstenose Orchidopexie Trichterbrustkorrektur Materialentfernung nach Frakturversorgung Zahnextraktion Harnröhrenplastik Sinus pinoidalis

Sonstige Diagnosen und Beschwerden

Obstipation und Meteorismus
Gastritis, Dyspepsie
Bauchschmerzen
Leistungsabfall
nicht näher bezeichnete Schmerzen
Dysurie ohne Infektnachweis
Allergische Reaktion
Verdacht auf arteriellen Hypertonus
Hodentorsion
Myositis unklarer Genese
Cholezystolithiasis
Bandscheibenvorfall

Verdacht auf hereditäre Bindegewebserkrankung, Verdacht auf Marfan-Syndrom
genetisch negativ getestet Verdacht auf Loeys-Dietz-Syndrom

Tabelle 9: Übersicht über alle in die gesunde Kohorte eingeschlossenen Diagnosen.

Auswertung Fragebogen

Der Fragebogen wurde von 124 Proband:innen (99,2 %) ausgefüllt. 43 Personen (34,4 %) gaben an, in den vergangenen 14 Tagen einen Infekt oder Fieber gehabt zu haben. Am häufigsten wurden als Vorerkrankungen muskuloskelettale Beschwerden und Erkrankungen sowie Asthma bronchiale angegeben (siehe Tabelle 10). Unter sonstigen Vorerkrankungen wurden zum Beispiel Obstipation, Eisenmangelanämie, Neurodermitis oder Depression angegeben.

Vorerkrankungen

	Häufigkeit
Infekt oder Fieber in den vergangenen 14 Tagen	43 (34,4 %)
Herzfehler	0 (0,0 %)
Herzrhythmusstörung	0 (0,0 %)
Arterielle Hypertonie	2 (1,6 %)
Asthma bronchiale	6 (4,8 %)
Nierenerkrankung	3 (2,4 %)
Lebererkrankung	1 (0,8 %)
Diabetes mellitus	0 (0,0 %)
Fettstoffwechselstörung	0 (0,0 %)
Autoimmunerkrankung	0 (0,0 %)
Muskuloskelettale Beschwerden und Erkrankung	8 (6,4 %)
Stoffwechselerkrankung	1 (0,8 %)
Schilddrüsenerkrankung	1 (0,8 %)
Maligne Erkrankung	0 (0,0 %)
Epilepsie	0 (0,0 %)
Skoliose	1 (0,8 %)
Sonstige	10 (8,0 %)

Tabelle 10: Vorerkrankungen der Proband:innen laut Fragebogen.

87 (69,6 %) Eltern gaben an, gesund zu sein. Die erweiterte Familienanamnese für die Eltern- und Großelterngeneration ergab am häufigsten das Vorliegen bzw. Vorkommen von arterieller Hypertonie, Adipositas, Herzinfarkt, Diabetes mellitus und Schlaganfall (siehe Tabelle 11).

Vorerkrankungen der Eltern und Großeltern

	Häufigkeit
Herzinfarkt	42 (33,6 %)
Schlaganfall	30 (24,0 %)
Koronare Herzerkrankung	29 (23,2 %)
Angeborener Herzfehler	4 (3,2 %)
Arterielle Hypertonie	54 (43,2 %)
Adipositas	46 (36,8 %)
Diabetes mellitus	37 (29,6 %)
Fettstoffwechselstörung	4 (3,2 %)
Marfan-Syndrom	5 (4,0 %)
Plötzlicher Herztod	14 (11,2 %)

Tabelle 11: Erweiterte Familienanamnese der Proband:innen laut Fragebogen.

Elf Kinder (8,8 %) gaben Dyspnoe in den letzten zwölf Monaten und zehn Proband:innen (8,0 %) Dyspnoe bei körperlicher Belastung an. Eine Synkope in den letzten zwölf Monaten wurde achtmal (6,4 %) angegeben (siehe Tabelle 12).

Beschwerden

	Häufigkeit
Dyspnoe in den letzten 12 Monaten	11 (8,8 %)
Nächtliche Dyspnoe in den letzten 12 Monaten	4 (3,2 %)
Dyspnoe bei Aktivität	10 (8,0 %)
Abendliche Ödeme der unteren Extremitäten	1 (0,8 %)
Herzinsuffizienz	0 (0,0 %)
Herzstolpern, Herzrasen, unregelmäßiger Herzschlag	3 (2,4 %)
Synkope in den letzten 12 Monaten	8 (6,4 %)
Zerebrale Ischämie oder Blutung	0 (0,0 %)

Tabelle 12: Kardiovaskuläre Symptomatik der Proband:innen laut Fragebogen.

Der eigene Gesundheitszustand wurde von 37 (29,6 %) Proband:innen mit ausgezeichnet, von 55 (44,0 %) bzw. 24 (19,2 %) Kindern mit sehr gut bzw. gut angegeben. Nur fünf (4,0 %) Kinder gaben den eigenen Gesundheitszustand als weniger gut oder schlecht an. Auf einer Skala von eins (sehr gut) bis acht (sehr schlecht) wurde bei 14 fehlenden Angaben die eigene Leistungsfähigkeit im Durchschnitt mit 1,7 bewertet.

Deskriptive Statistik TGFβ

Im Folgenden werden die Ergebnisse zunächst in deskriptiven Statistiken wiedergegeben. Die weitere Einordnung mittels explorativer Analyse folgt anschließend.

Die Messung der TGFβ-Spiegel aller 125 Kinder ergab einen Mittelwert von 6517 ± 2843 pg/ml (1818; 16914 pg/ml). Der Mittelwert aller weiblichen Probandinnen lag bei 6574 ± 3069 pg/ml (1818; 15788 pg/ml), der Mittelwert aller männlichen Probanden bei 6475 ± 2685 pg/ml (2157; 16914 pg/ml).

Bezüglich der Altersgruppen lagen die mittleren TGFβ-Spiegel der ein bis 24 Monate alten und 25 Monate bis elf Jahre alten Kinder mit 7326 ± 2394 pg/ml (3877; 15273 pg/ml) bzw. 7578 ± 3609 pg/ml (3189; 16914 pg/ml) nah beieinander. Zu beachten ist, dass in der zweiten Altersgruppe zwar beinahe doppelt so viele Proband:innen wie in der ersten vertreten waren, die Spanne der einzelnen TGFβ-Spiegel innerhalb der Gruppe jedoch deutlich größer war. Ebenfalls unterschieden sich die Mittelwerte der 12- bis 14-jährigen von den 15- bis 18-jährigen Proband:innen mit 5360 ± 1717 pg/ml (2157; 8883 pg/ml) bzw. 5560 ± 2024 pg/ml (1818; 12161 pg/ml) nur gering (siehe Tabelle 13 sowie Abbildungen 7 und 8).

TGFβ in pg/ml

Altersgruppe	N	Mittelwert	SD	SE	95 %-KI für den Mittelwert		Minimum	Maximum
					Untergrenze	Obergrenze		
1-24 Monate	22	7326	2394	510	6265	8387	3877	15273
25 Monate- 11 Jahre	43	7578	3609	550	6467	8689	3189	16914
12-14 Jahre	30	5360	1717	313	4718	6001	2157	8883
15-18 Jahre	30	5560	2024	370	4804	6316	1818	12161
Gesamt	125	6517	2843	254	6014	7020	1818	16914

Tabelle 13: Deskriptive Statistik zu TGFβ untersucht nach Altersgruppen.

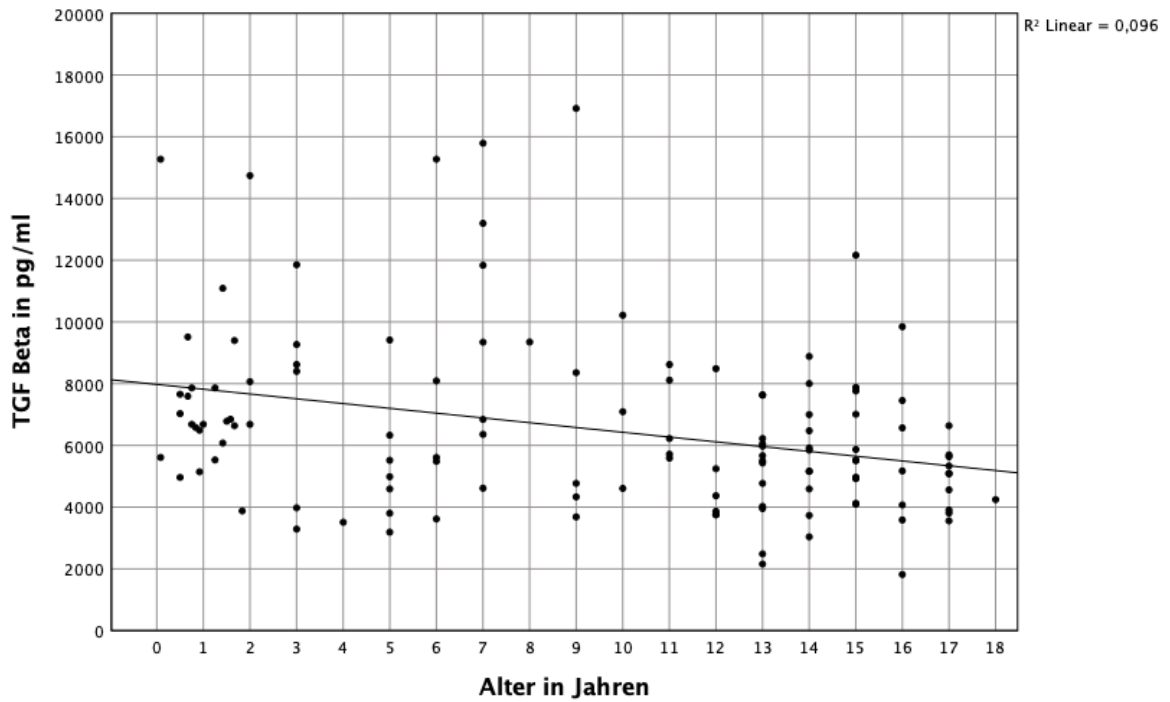


Abbildung 7: TGF β untersucht nach Alter in Jahren dargestellt als einfache Streuung mit Trendlinie und Bestimmtheitsmaß R^2 .

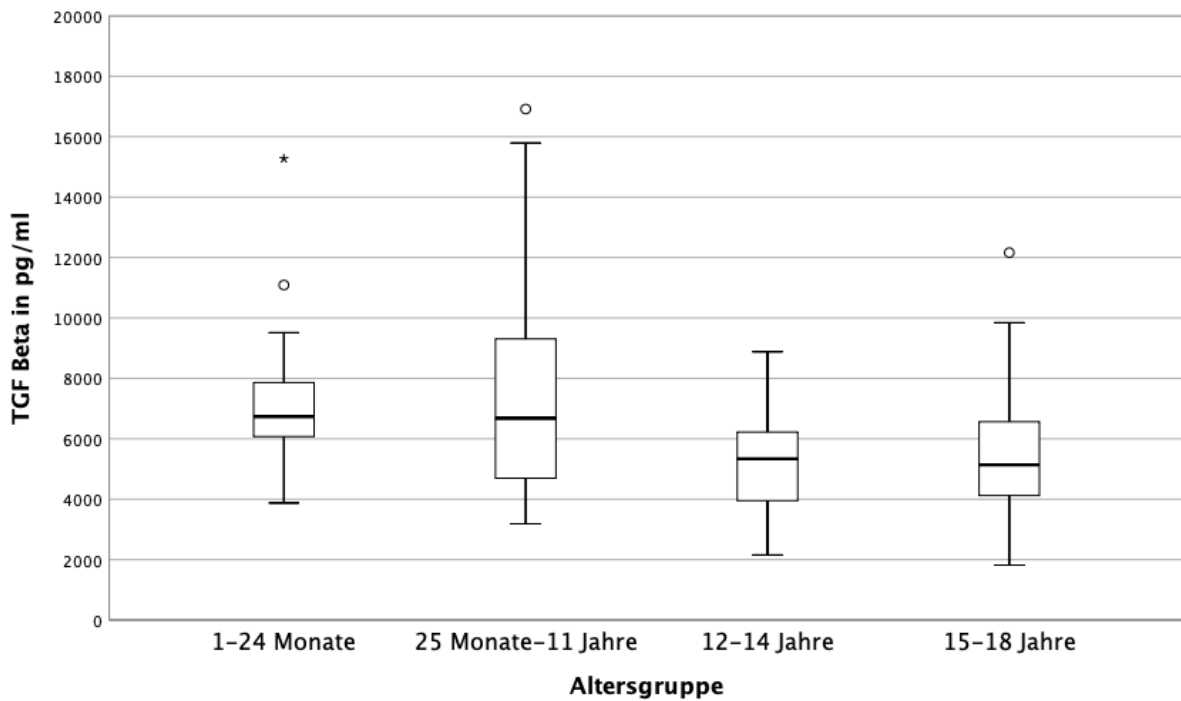


Abbildung 8: TGF β untersucht nach Altersgruppen dargestellt als Boxplot-Diagramm mit Minimum, erstem Quartil, Median, drittem Quartil, Maximum sowie milden und extremen Ausreißern.

Beim Vergleich der TGF β -Spiegel zwischen den Diagnosegruppen ist zu beachten, dass die Anzahl der Proband:innen sich teils deutlich unterschied (6; 43). Der höchste Mittelwert wurde bei Kindern gemessen, die mit V. a. eine hereditäre Bindegewebserkrankung vorgestellt, im Verlauf aber genetisch negativ getestet wurden. Der Mittelwert dieser Gruppe betrug 7969 \pm 3659 pg/ml (5611; 15273 pg/ml). Der niedrigste Mittelwert wurde in der Gruppe der psychiatrischen Diagnosen und psychosozialen Beschwerden mit 4831 \pm 1671 pg/ml (3037; 7881 pg/ml) gemessen. Beide Gruppen waren mit jeweils nur sechs Proband:innen sehr schwach vertreten. Die Mittelwerte der stark vertretenen Diagnosegruppen Trauma, Infektion, elektive Operationen und Interventionen sowie andere Diagnosen und Beschwerden lagen enger beieinander (siehe Tabelle 14, Abbildung 9).

TGF β in pg/ml

	N	Mittelwert	SD	SE	95 %-KI für den Mittelwert		Minimum	Maximum
					Untergrenze	Obergrenze		
Trauma	24	6505	2310	472	5530	7481	2157	11833
Infektion	43	6268	2119	323	5616	6920	3189	14739
Neurologische Diagnosen und Beschwerden	6	6642	5105	2084	1284	12000	3583	16914
Psychiatrische Diagnosen und psychosoziale Beschwerden	6	4831	1671	682	3077	6584	3037	7881
Elektive Operationen und Interventionen	21	7033	3340	729	5513	8553	3289	15273
Sonstige Diagnosen und Beschwerden	19	6559	3484	799	4880	8238	1818	15788
Verdacht auf hereditäre Bindegewebs- erkrankung, genetisch negativ getestet	6	7969	3659	1494	4129	11809	5611	15273
Gesamt	125	6517	2843	254	6014	7020	1818	16914

Tabelle 14: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Diagnosegruppen.

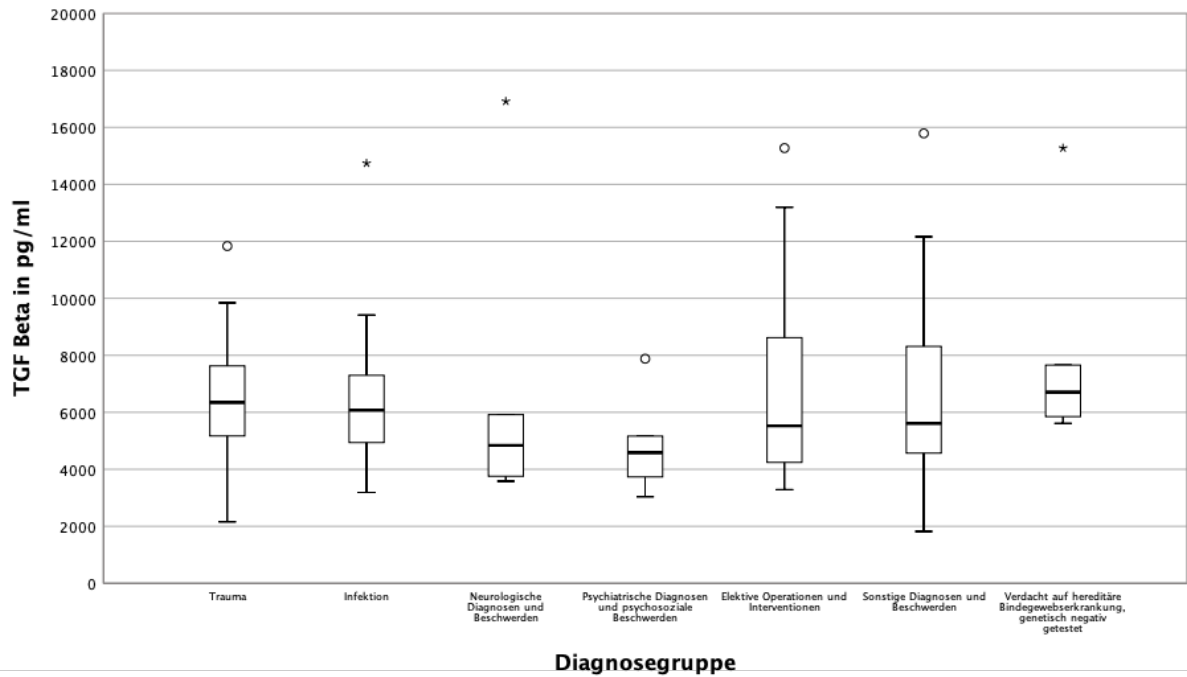


Abbildung 9: TGF β untersucht nach Diagnosegruppen dargestellt als Boxplot-Diagramm mit Minimum, erstem Quartil, Median, drittem Quartil, Maximum sowie milden und extremen Ausreißern.

Explorative Analyse der TGF β -Werte

Ziel dieser Arbeit ist die Definition von TGF β -Normwerten für das Kindesalter. Die statistische Analyse erfolgte explorativ. Berechnete p-Werte werden deshalb als deskriptive Werte betrachtet.

Wie zuvor in der deskriptiven Statistik beschrieben, konnten wir für die Altersgruppen unterschiedliche TGF β -Spiegel messen. Gleiches gilt nochmals deutlicher für die unterschiedlichen Diagnosegruppen, wobei hier die unterschiedliche Anzahl an Proband:innen je Gruppe den Vergleich verzerrt. Bei den Altersgruppen konnten wir vier in etwa gleich starke Gruppen vergleichen (siehe Tabelle 7). Demzufolge wollten wir wissen, ob die gemessenen Unterschiede zwischen den Altersgruppen zufällig sind oder nicht.

Zur Auswahl des passenden Testverfahrens prüften wir zunächst unsere gemessenen Werte auf Normalverteilung. Die TGF β -Werte waren nicht exakt normalverteilt sondern rechts schief (siehe Abbildung 10). Durch Logarithmustransformation zur Basis 10 erhielten wir eine approximative Normalverteilung (siehe Abbildung 11). Diese diente als Grundlage für die weiteren Berechnungen. Die mittlere Differenz (MD) sowie Unter- und Obergrenze der 95 %-KI in den Tabellen 17, 22, 25 und 28 sind logarithmisch rücktransformiert.

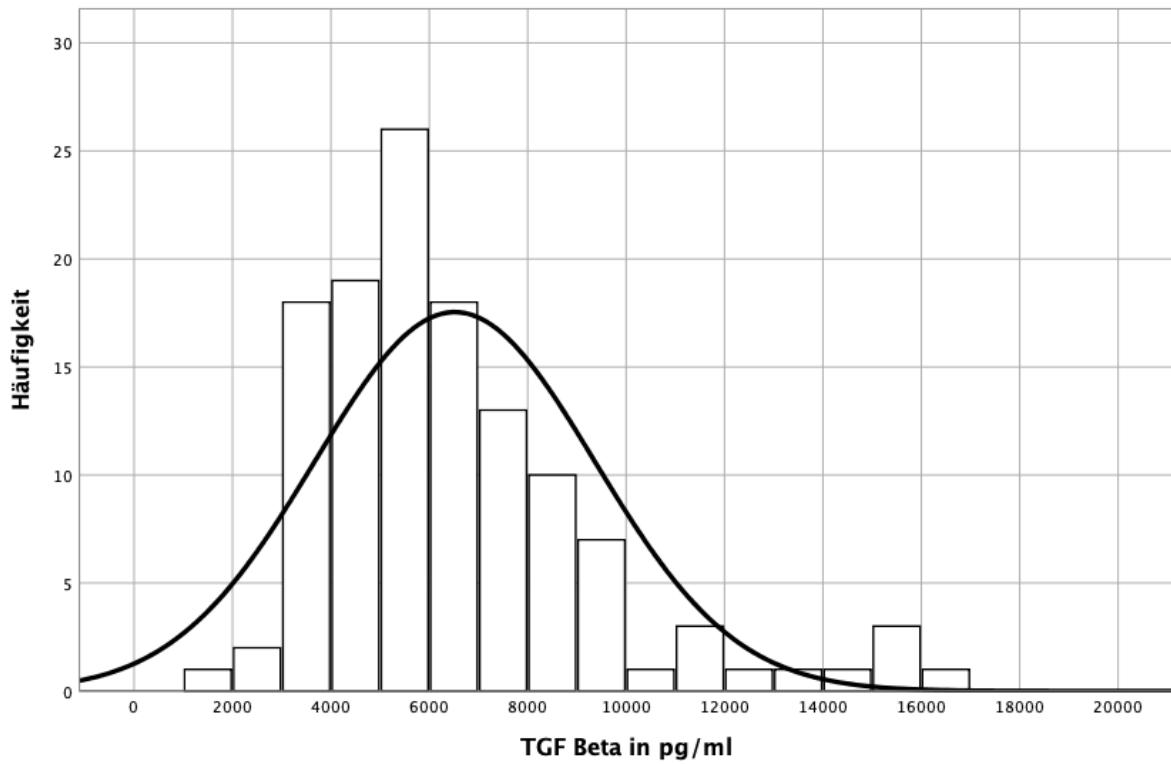


Abbildung 10: Histogramm mit Normalverteilungskurve zu TGF β .

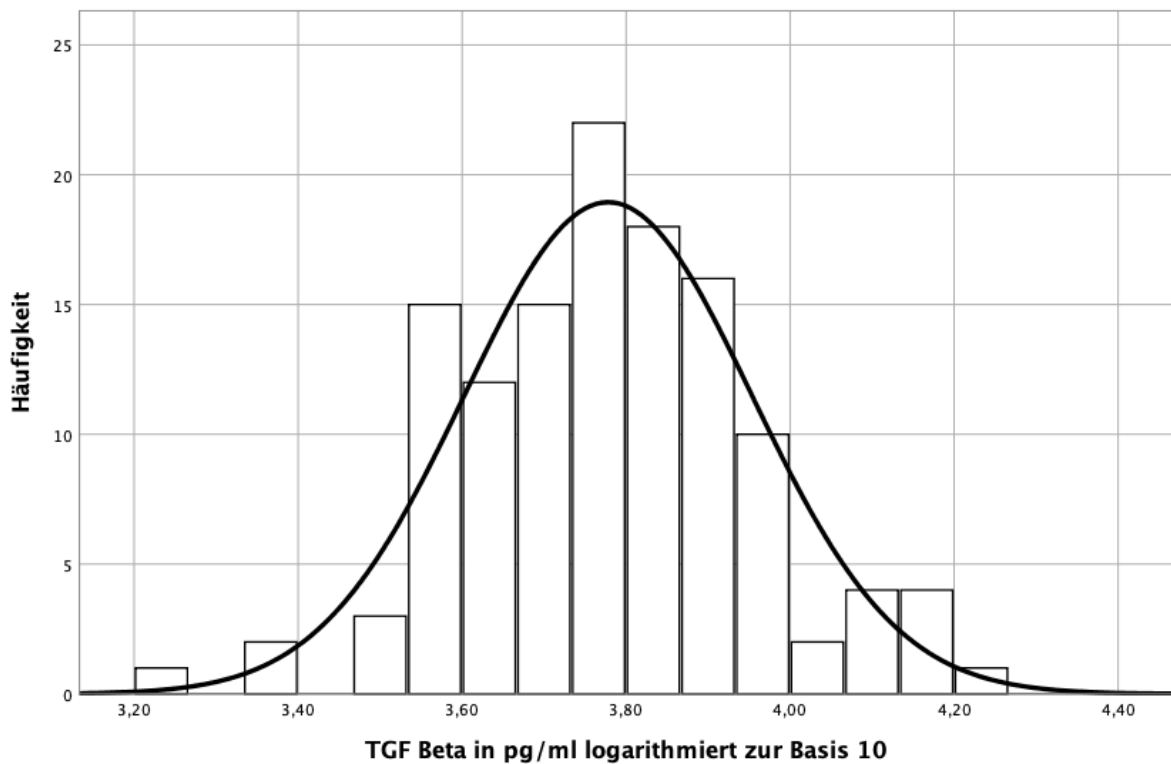


Abbildung 11: Histogramm mit Normalverteilungskurve zu TGF β logarithmiert zur Basis 10.

Zum Vergleich der TGF β -Spiegel zwischen den Altersgruppen wählten wir als statistischen Test die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA, englisch analysis of variance). Um die ANOVA anwenden zu können, ist von Homogenität der Varianzen auszugehen. Wir werteten die SD der logarithmierten Werte im medizinischen Kontext als annähernd gleich (siehe Tabelle 15). Die Berechnung der ANOVA ergab einen p-Wert von 0,001 (siehe Tabelle 16). Somit unterschieden sich in unseren Messungen die TGF β -Spiegel zwischen den Altersgruppen.

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10

Altersgruppe	N	Mittelwert	SD	Varianz	Minimum	Maximum
1-24 Monate	22	3,8465	0,12531	0,016	3,59	4,18
25 Monate-11 Jahre	43	3,8348	0,19815	0,039	3,50	4,23
12-14 Jahre	30	3,7056	0,15002	0,023	3,33	3,95
15-18 Jahre	30	3,7192	0,15375	0,024	3,26	4,08
Insgesamt	125	3,7781	0,17551	0,031	3,26	4,23

Tabelle 15: Deskriptive Statistik zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Altersgruppen.

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10

	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Zwischen den Gruppen	0,503	3	0,168	6,111	0,001
Innerhalb der Gruppen	3,317	121	0,027		
Gesamt	3,820	124			

Tabelle 16: Einfaktorielle ANOVA zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Altersgruppen.

df=Freiheitsgrade; F=F-Wert

Um genauer zu differenzieren, zwischen welchen Altersgruppen genau sich die TGF β -Spiegel unterschieden, wendeten wir als Post-Hoc-Test den Tukey's honestly significant difference (HSD)-Test an. Den Berechnungen zufolge unterschieden sich die TGF β -Spiegel der Säuglinge und Kleinkinder bis 11 Jahren von den TGF β -Spiegeln bei Kindern und Jugendlichen ab 12 Jahren (p-Wert <0,05). Zwischen der ersten und zweiten bzw. dritten und vierten Altersgruppe zeigten sich keine Unterschiede (siehe Tabelle 17). Wir konnten also aus unserer Analyse ableiten, dass etwa mit Beginn der Pubertät und Adoleszenz der TGF β -Spiegel bei Gesunden abnimmt. Diese Beobachtung lässt sich auch graphisch im hier nochmals aufgeführten Boxplot zu TGF β untersucht nach Altersgruppen nachvollziehen (siehe Abbildung 13).

Mehrfachvergleiche

Abhängige Variable: TGFβ in pg/ml logarithmiert zur Basis 10

Tukey-HSD

(I) Altersgruppe (J) Altersgruppe	MD		Signifikanz	95 %-KI		
	(I-J)	SE		Untergrenze	Obergrenze	
1-24 Monate	25 Monate-11 Jahre	1,309	0,04340	0,993	0,79	1,332
	12-14 Jahre	1,383	0,04647	0,016	1,047	1,828
	15-18 Jahre	1,341	0,04647	0,035	1,014	1,772
25 Monate-11 Jahre	1-24 Monate	0,973	0,04340	0,993	0,75	1,263
	12-14 Jahre	1,346	0,03939	0,007	1,063	1,705
	15-18 Jahre	1,305	0,03939	0,021	1,03	1,653
12-14 Jahre	1-24 Monate	0,723	0,04647	0,016	0,547	0,955
	25 Monate-11 Jahre	0,743	0,03939	0,007	0,587	0,941
	15-18 Jahre	0,969	0,04275	0,989	0,75	1,253
15-18 Jahre	1-24 Monate	0,746	0,04647	0,035	0,564	0,986
	25 Monate-11 Jahre	0,766	0,03939	0,021	0,605	0,971
	12-14 Jahre	1,032	0,04275	0,989	0,798	1,333

Tabelle 17: Post-Hoc-Test (Tukey-HSD) zu TGFβ logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Altersgruppen.

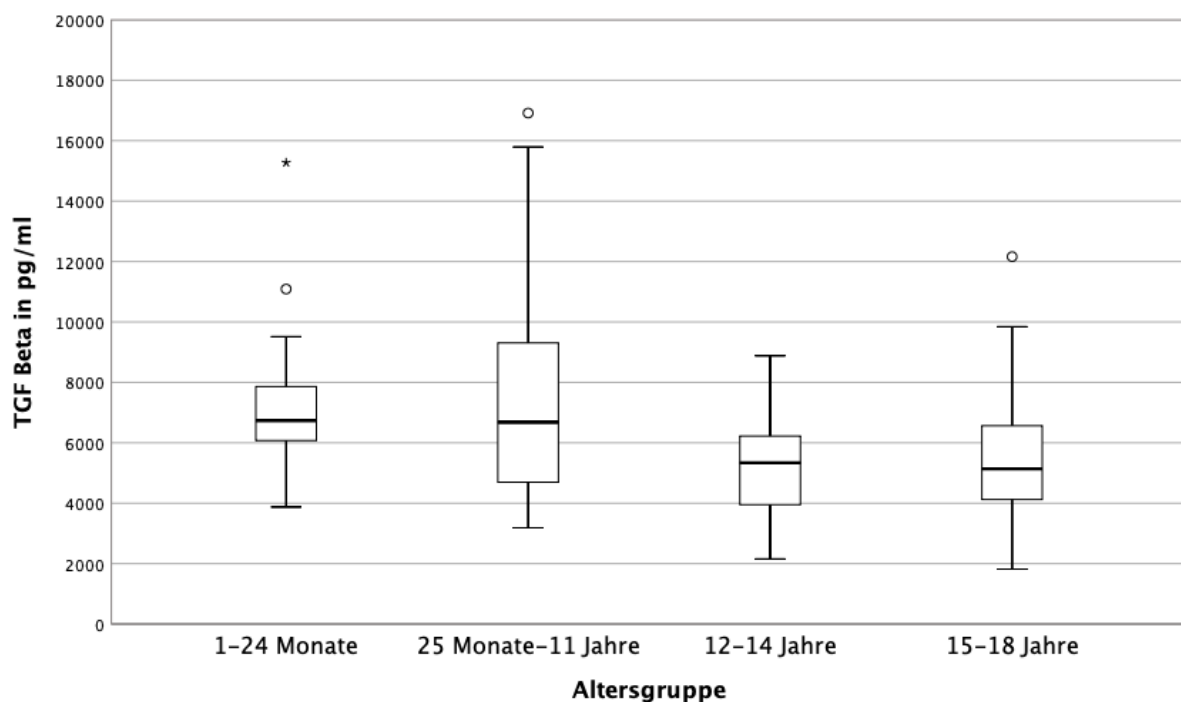


Abbildung 12: TGFβ untersucht nach Altersgruppen dargestellt als Boxplot-Diagramm mit Minimum, erstem Quartil, Median, drittem Quartil, Maximum sowie milden und extremen Ausreißern.

Beim Vergleich der TGF β -Spiegel jeden Alters in Jahren mittels ANOVA betrug der p-Wert 0,17. Es ist jedoch zu beachten, dass auf Grund der Verteilung der Altersgruppen einzelne Lebensalter im Vergleich über- bzw. unterrepräsentiert waren (siehe Tabellen 18, 19 sowie Abbildung 13).

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10

Alter in Jahren	N	Mittelwert	SD	Varianz	Minimum	Maximum
0	12	3,8567	0,13073	0,017	3,70	4,18
1	10	3,8342	0,12427	0,015	3,59	4,04
2	3	3,9667	0,17950	0,032	3,82	4,17
3	6	3,8362	0,22321	0,050	3,52	4,07
4	1	3,5455	-	-	3,55	3,55
5	7	3,7085	0,15325	0,023	3,50	3,97
6	5	3,8277	0,23447	0,055	3,56	4,18
7	7	3,9521	0,19261	0,037	3,66	4,20
8	1	3,9709	-	-	3,97	3,97
9	5	3,8064	0,27121	0,074	3,57	4,23
10	3	3,8411	0,17321	0,030	3,66	4,01
11	5	3,8285	0,08786	0,008	3,75	3,94
12	6	3,6708	0,13817	0,019	3,57	3,93
13	13	3,6888	0,16823	0,028	3,33	3,88
14	11	3,7445	0,13783	0,019	3,48	3,95
15	12	3,7732	0,13585	0,018	3,61	4,08
16	7	3,6886	0,24222	0,059	3,26	3,99
17	10	3,6850	0,08752	0,008	3,55	3,82
18	1	3,6278	-	-	3,63	3,63
Insgesamt	125	3,7781	0,17551	0,031	3,26	4,23

Tabelle 18: Deskriptive Statistik zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Alter in Jahren.

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10

	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Zwischen den Gruppen	0,962	18	0,054	1,981	0,17
Innerhalb der Gruppen	2,858	106	0,027		
Gesamt	3,820	124			

Tabelle 19: Einfaktorielle ANOVA zu TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Alter in Jahren.

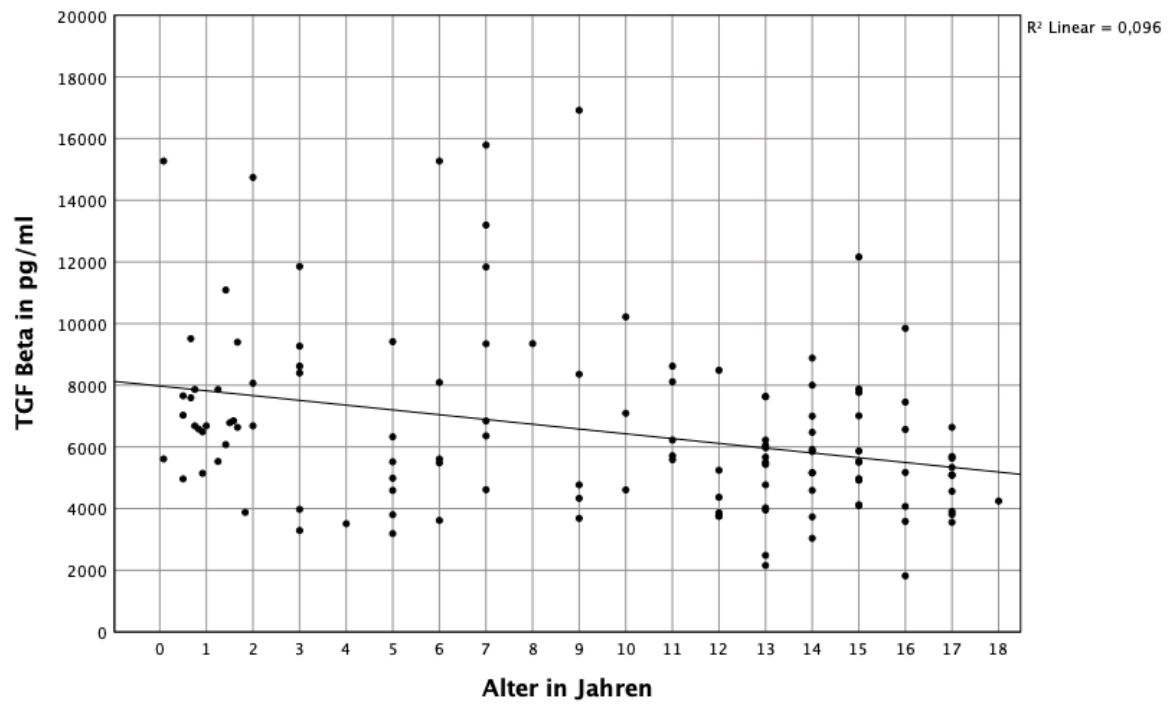


Abbildung 13: TGF β untersucht nach Alter in Jahren dargestellt als einfache Streuung mit Trendlinie und Bestimmtheitsmaß R^2 .

Um zu untersuchen, ob sich die TGF β -Spiegel zwischen den Geschlechtern unterschieden, wendeten wir nach Prüfung der Varianzhomogenität mittels Levene-Test den ungepaarten T-Test an. Der p-Wert betrug 0,9. Die TGF β -Spiegel unterschieden sich in unseren Messungen somit nicht zwischen den Geschlechtern (siehe Tabellen 20-22).

TGF β in pg/ml

Geschlecht	N	Mittelwert	SD	Median	Minimum	Maximum
weiblich	53	6574	3069	5611	1818	15788
männlich	72	6475	2685	5946	2157	16914
Insgesamt	125	6517	2843	5852	1818	16914

Tabelle 20: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Geschlecht.

Test bei unabhängigen Stichproben – Levene-Test der Varianzgleichheit

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10	F	Signifikanz
Varianzen sind gleich	1,44	0,232
Varianzen sind nicht gleich		

Tabelle 21: Levene-Test der Varianzgleichheit für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Geschlecht.

Test bei unabhängigen Stichproben – T-Test für die Mittelwertgleichheit

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10	T	df	Signifikanz (2-seitig)	MD	SE der Differenz	95 % KI der Differenz	
						Untere	Obere
Varianzen sind gleich	-0,125	123	0,900	0,990	0,03189	0,857	1,146
Varianzen sind nicht gleich	-0,122	100,800	0,903	0,990	0,03271	0,853	1,150

Tabelle 22: Ungepaarter T-Test für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Geschlecht.

T=T-Wert

Wir untersuchten, ob sich die gemessenen TGF β -Werte zwischen Proband:innen mit hohem und niedrigem CRP-Wert unterschieden. Da sehr viele Kinder mit akuten Infektionen in unsere gesunde Kohorte eingeschlossen wurden, hatten viele Proband:innen als laborchemisches Korrelat einer Infektion erhöhte CRP-Spiegel (<5; 240 mg/l). In der Literatur ist bisher keine Veränderung des TGF β -Spiegels aufgrund eines erhöhten CRP-Werts beschrieben. Wir verglichen nach Prüfung der Varianzhomogenität mittels Levene-Test in einem ungepaartem t-Test Kinder ohne CRP-Erhöhung (<5 mg/l) mit Kindern, bei denen das CRP erhöht war (>5 mg/l). Der p-Wert betrug 0,559. Somit gab es in unseren Messungen keinen Unterschied zwischen diesen Gruppen (siehe Tabellen 23-25).

TGF β in pg/ml

	N	Mittelwert	SD	Median	Minimum	Maximum
CRP normwertig	71	6559	3155	5712	1818	16914
CRP erhöht	39	6469	2054	6076	3618	14739
Insgesamt	110	6527	2805	5946	1818	16914

Tabelle 23: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach CRP.

Test bei unabhängigen Stichproben – Levene-Test der Varianzgleichheit

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10	F	Signifikanz
Varianzen sind gleich	7,793	0,006
Varianzen sind nicht gleich		

Tabelle 24: Levene-Test der Varianzgleichheit für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach CRP.

Test bei unabhängigen Stichproben – T-Test für die Mittelwertgleichheit

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10	T	df	Signifikanz (2-seitig)	MD	SE der Differenz	95 %-KI der Differenz	
						Untere	Obere
Varianzen sind gleich	-0,587	108	0,559	0,954	0,03519	0,812	1,12
Varianzen sind nicht gleich	-0,667	105,906	0,506	0,954	0,03098	0,828	1,098

Tabelle 25: Ungepaarter T-Test für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach CRP.

Wir prüften ebenfalls, ob die Nierenfunktion Einfluss auf den TGF β -Spiegel hat. Dafür verglichen wir Kinder mit normwertigem Kreatinin- und Kinder mit erhöhtem Kreatinin-Wert als Maß für die Nierenfunktion nach Prüfung der Varianzhomogenität mittels Levene-Test in einem ungepaarten t-Test miteinander. Der p-Wert betrug 0,581. Somit gab es in unseren Messungen keinen Unterschied zwischen diesen Gruppen (siehe Tabellen 26-28).

TGF β in pg/ml

	N	Mittelwert	SD	Median	Minimum	Maximum
Kreatinin normwertig	88	6754	3072	6066	2481	16914
Kreatinin erhöht	14	6151	2124	5766	2157	11090
Insgesamt	102	6671	2959	5988	2157	16914

Tabelle 26: Deskriptive Statistik zu TGF β untersucht nach Kreatinin.

Test bei unabhängigen Stichproben – Levene-Test der Varianzgleichheit

TGF β in pg/ml logarithmiert zur Basis 10	F	Signifikanz
Varianzen sind gleich	1,669	0,199
Varianzen sind nicht gleich		

Tabelle 27: Levene-Test der Varianzgleichheit für TGF β logarithmiert zur Basis 10 untersucht nach Kreatinin.

Test bei unabhängigen Stichproben – T-Test für die Mittelwertgleichheit

TGF β in pg/ml	T	df	Signifikanz (2-seitig)	MD	SE der Differenz	95 %-KI der Differenz	
						Untere	Obere
Varianzen sind gleich	0,553	100	0,581	1,067	0,05086	0,846	1,346
Varianzen sind nicht gleich	0,595	18,429	0,559	1,067	0,04731	0,849	1,341

Tabelle 28: Ungepaarter T-Test für TGF β untersucht nach Kreatinin.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Wir konnten in der statistischen Auswertung einen mit dem Alter abnehmenden TGF β -Spiegel feststellen. Hierbei sinkt der TGF β -Spiegel markant zu Beginn des zweiten Lebensjahrzehnts bzw. übertragen auf die kindliche Entwicklung in etwa mit Beginn der Pubertät. Unterschiede zwischen den Geschlechtern gab es in unseren Messungen nicht. Auch erhöhte CRP- oder Kreatinin-Werte als Ausdruck einer Entzündung oder einer eingeschränkten Nierenfunktion hatten in unseren Untersuchungen keinen Einfluss auf den TGF β -Spiegel.

5. Diskussion

Im Rahmen der Tiger for Kids-Studie bestimmten wir Serum-TGF β -Spiegel in der unseres Wissens nach bisher größten pädiatrischen Kohorte, um TGF β -Normwerte für das Kindesalter zu definieren. Diese Werte können mit TGF β -Spiegeln von Kindern mit MFS oder anderen hereditären Bindegewebserkrankungen verglichen werden. Aus unserer Untersuchung gehen TGF β -Werte zu insgesamt 125 herzgesunden Kindern im Alter von einem Monat bis 18 Jahren hervor. Die Proband:innen wurden im regulären Krankenhausbetrieb in den pädiatrischen Abteilungen sowie der Notfallambulanz des UKE rekrutiert und vier Altersgruppen zugeordnet.

Entscheidendes Ergebnis unserer Studie ist, dass der TGF β -Spiegel mit zunehmendem Alter sinkt, insbesondere zu Beginn der zweiten Lebensdekade. Darüber hinaus beobachteten wir drei weitere Aspekte: weder das Geschlecht noch erhöhte Entzündungs- oder Nierenretentionsparameter hatten Einfluss auf die TGF β -Konzentration.

Diskussion von Proband:innen und Methoden

Diese Arbeit ist gemessen an der Kohorte die unseres Wissens nach gegenwärtig größte Untersuchung zu TGF β -Spiegeln im Kindesalter. Die Rekrutierung von Kindern für klinische Studien ist hierbei eine besondere Herausforderung. Es besteht in der Wissenschaft ein breiter Konsens, dass Forschungsergebnisse von Erwachsenen nicht automatisch auf Kinder übertragen werden sollen und können. Der Bedarf an pädiatrischen Studien ist daher groß. Jedoch ist die Proband:innenrekrutierung um einiges schwieriger. Vor allem die Sorge, Kindern durch experimentelle Therapien zu schaden wiegt schwer, nicht nur bei den Wissenschaftler:innen sondern gerade bei den Eltern und Angehörigen (114).

Das Teilnahmerisiko an unserer Studie war gering, da es sich um eine rein diagnostische und nicht eine interventionelle Untersuchung handelte. Dennoch war die Teilnahme mit einem gewissen Aufwand für die Proband:innen verbunden. Zudem resultierte weder für die Kinder noch ihre Eltern ein direkter Vorteil aus dem Mitwirken. Den wenigsten Familien war das MFS bekannt. Die meist als schmerzhaft oder zumindest unangenehm empfundenen Blutentnahme war der wesentliche Aufwand für die Kinder. Eine Blutentnahme allein für unsere Studie wäre in der Studienzulassung ethisch komplexer gewesen und hätte zudem voraussichtlich auch die Bereitschaft zur Teilnahme deutlich reduziert. Daher erfolgte die Probengewinnung stets im Rahmen von medizinisch indizierten Blutentnahmen zur Diagnostik und Behandlung der

betroffenen Kinder oder aus bereits liegenden und rückläufigen peripheren Venenverweilkanülen. Die Rekrutierung der Proband:innen gestaltete sich somit bezüglich der Teilnahmebereitschaft auch problemlos. Erschwerend war jedoch, dass unsere Proband:innen, welche die gesunde Norm repräsentieren sollten, stets auch Patient:innen mit meist akuter Einschränkung ihrer Gesundheit waren. Wir definierten daher Ausschlusskriterien, um eine mögliche Beeinflussung des gemessenen TGF β -Spiegels durch etwaige Erkrankungen zu minimieren. Darüber hinaus beantworteten alle Teilnehmer:innen bzw. deren Sorgeberechtigte einen Fragebogen zu Gesundheit, Vorerkrankungen, Medikation, Familienanamnese und körperlicher Verfassung. Dieser wurde von fast allen Teilnehmer:innen bzw. ihren Eltern vollständig und aussagekräftig ausgefüllt.

Ausschlusskriterien für die gesunde Kontrollgruppe waren insbesondere chronische und systemische Erkrankungen mit besonderem Augenmerk auf kardiovaskulären Vorerkrankungen. Gleichzeitig war es uns ganz bewusst ein Anliegen, die Kohorte innerhalb des gesetzten Rahmens sehr umfassend zu gestalten. Hierbei lag das Augenmerk insbesondere auf dem Alter der teilnehmenden Kinder. Es gibt unseres Wissens nach bisher keine Studien, die TGF β im gesamten kindlichen Altersspektrum untersucht haben. Wir können mit unseren Messungen erstmalig TGF β -Werte bei Kindern jeglichen Alters abgesehen von der Neugeborenenperiode präsentieren und somit auch eine umfassende Aussage zu TGF β -Spiegeln bei Kindern treffen. Anzumerken ist, dass die von uns definierten Altersgruppen leider ungleich repräsentiert waren (prozentualer Anteil 17,6; 34,4; 24; 24 %). Die pädiatrische Abteilung des UKE hat als Universitätsklinikum sowohl ambulant als auch stationär ihren Schwerpunkt in der Behandlung von seltenen und komplexen Erkrankungen. Gerade in der Altersgruppe der Säuglinge und Kleinkinder bis 24 Monaten war es schwierig, geeignete Proband:innen für unsere Studie im Stationsalltag zu finden. Sie waren somit am Ende der Rekrutierungsphase leider unterrepräsentiert.

Das Geschlechterverhältnis war ebenfalls nicht exakt ausgeglichen (42,4 % weiblich; 57,6 % männlich). Unsere Messungen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Diese Beobachtung deckt sich mit anderen Arbeiten, sodass das asymmetrische Geschlechterverhältnis keine Einschränkung bei der Betrachtung der Ergebnisse darstellt (115, 116).

Großzügig gestalteten wir ganz bewusst den Rahmen der einzuschließenden Diagnosen. So fanden sich innerhalb unserer Kohorte sehr unterschiedliche

Behandlungsgründe wie zum Beispiel Kinder mit akuter Entzündung oder Kinder nach Unfällen wieder. Dies hatte zum Vorteil, dass wir einen breiten und auch repräsentativen Querschnitt der gesunden Kinder abbildeten und nicht eine einzelne Subgruppe isoliert betrachteten. Offensichtlicher Nachteil unserer Herangehensweise war, dass unsere Messungen natürlich anfälliger für uns unbekannte Störgrößen waren. Auch hierbei stellte sich die Proband:innenrekrutierung in einem Universitätsklinikum zeitweilig als schwierig heraus, da akute und milde Erkrankungen eher die Ausnahme und nicht die Norm im Behandlungsspektrum darstellen. In Kliniken mit Fokus auf der Grundversorgung wäre eine homogenere Rekrutierung bezüglich der eingeschlossenen Diagnosen leichter gewesen, da die gesuchten Krankheitsbilder schlichtweg häufiger vorkommen.

Andere Studien mit Messung pädiatrischer TGF β -Spiegel untersuchten deutlich kleinere aber dafür homogener Kohorten. Okamoto et al. bestimmten TGF β -Spiegel bei 55 Kindern im Alter von ein bis 14 Jahren, die eine operative Leistenhernienkorrektur oder Zirkumzision erhielten. Darüber hinaus waren die Kinder gesund (115). Rosensweig et al. rekrutierten für ihre gesunde Kontrollgruppe zum einen neun zweijährige Kleinkinder, welche ebenfalls elektive kleinere Operationen erhielten und zum anderen zehn Jugendliche (mittleres Alter 13 Jahre), zu denen allerdings keine weiteren klinischen Angaben gemacht werden (117). Sack et al. untersuchten in ihrer Arbeit zwar nicht TGF β sondern andere Zytokinkonzentrationen bei Kindern, dies jedoch in einem ähnlichen Versuchsaufbau. Mit 275 Kindern war die Kohorte deutlich größer, die teilnehmenden Kinder deckten allerdings nur die Altersspanne von drei bis 17 Jahren ab. Rekrutiert wurden die Proband:innen ebenfalls im Rahmen von elektiven chirurgischen Eingriffen oder anderen nicht genauer bezeichneten medizinischen Kontrolluntersuchungen (118). Ein wichtiger Unterschied all dieser Studien gegenüber unserer Untersuchung ist der Ausschluss akuter Infektionen (115, 117, 118). Sack et al. schlossen explizit Kinder mit erhöhtem CRP aus der Studie aus (118). In unseren Messungen gab es jedoch keinen signifikanten Einfluss eines erhöhten CRP-Levels auf den TGF β -Spiegel, weswegen wir unsere Entscheidung als vertretbar halten.

Unsere Studie hebt sich also insbesondere durch die Größe der Kohorte sowie die erstmalige Betrachtung der gesamten kindlichen Altersspanne und somit auch der gesamten kindlichen Entwicklung, die Neugeborenenperiode ausgenommen, von bisherigen Untersuchungen ab. Zukünftige Studien sollten hier anknüpfen und

ebenfalls stets die gesamte Altersspanne berücksichtigen. Es ist aber auch festzuhalten, dass die Rekrutierung insbesondere gesunder Kinder für klinische Studien stets einen Kompromiss darstellt. Eine Studienteilnahme erfolgt bei Kindern fast ausschließlich aus einem klinischen Kontext (zum Beispiel elektive Eingriffe, Kontrolluntersuchungen, Notaufnahme). Für eine klinische Studie ist eine pädiatrische Kontrollgruppe gänzlich ohne gesundheitliche Einschränkungen schwer zu bilden und zu untersuchen. Letztendlich bleibt es den Wissenschaftler:innen überlassen, wie streng die Ein- und Ausschlusskriterien definiert werden. Eine möglichst homogene Kohorte bietet zwar in ihrer Vergleichbarkeit viele Vorteile, engt jedoch gleichzeitig die Betrachtung der gesunden Norm sehr stark auf eine Subgruppe ein.

Die TGF β -Messung erfolgte mit einem etablierten und in anderen Studien verwendeten und beschriebenen ELISA-Verfahren (85, 116, 119, 120). Dieses Verfahren eignet sich zur Bestimmung von TGF β nicht nur aus Serum sondern auch aus Plasma, Urin und Zellkulturen (113). Die Rekrutierung aller Proband:innen erfolgte zwar über einen langen Zeitraum, die eigentliche TGF β -Messung für sämtliche Proben aber exakt zur selben Zeit unter identischen Laborbedingungen. So konnten wir sicherstellen, dass alle erhobenen Werte miteinander vergleichbar sind. Auch bei der Präanalytik erfolgten die einzelnen Schritte von Probengewinnung bis -lagerung standardisiert und gemäß den Empfehlungen (113, 116).

Diskussion der Ergebnisse

Wir stellten in unseren Messungen fest, dass das Alter einen Einfluss auf den TGF β -Spiegel bei Kindern hat. Hierbei unterschieden sich die mittleren TGF β -Spiegel der ersten und zweiten bzw. der dritten und vierten Altersgruppe kaum. Deutlich waren hingegen die Unterschiede zwischen den TGF β -Spiegeln der ersten zwei Altersgruppen und denen der dritten und vierten Altersgruppe.

Grundsätzlich gibt es wenig Literatur zu TGF β -Spiegeln bei Gesunden, noch weniger zu Kindern. Die meisten Arbeiten setzen sich mit einem bestimmten Krankheitsbild auseinander und untersuchen TGF β -Spiegel bei Erkrankten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (81, 85, 120). Auch die Tiger for Kids-Studie verfolgt das übergeordnete Ziel, die hier erhobenen TGF β -Spiegel mit denen von an MFS erkrankten Kindern zu vergleichen und diese bisher in der Literatur bestehende Lücke zu schließen. Alleinige Betrachtungen zu TGF β -Spiegeln bei Gesunden sind rar. Unsere Beobachtung der mit dem Alter fallenden TGF β -Spiegel deckt sich allerdings mit bisherigen Studien. In der bereits zuvor zitierten Arbeit von Okamoto et al. wurden

TGF β -Spiegel im Serum zwischen 55 gesunden Kindern und 44 gesunden Erwachsenen (Alter zwischen 21 und 67 Jahren) verglichen. Sie stellten einen fallenden TGF β -Spiegel mit dem Alter fest ($r=-0,517$; $p<0,0001$, $n=99$), die mittleren Spiegel der Kinder unterschieden sich signifikant von denen der Erwachsenen ($61,7\pm 18,5$ ng/ml vs. $40,3\pm 17,7$ ng/ml; $p<0,01$) (115). Rosensweig et al. untersuchten in Ihrer Arbeit primär TGF β -Spiegel im Plasma bei Patient:innen mit Lebererkrankungen, verglichen diese aber auch mit einer gesunden Kontrollgruppe von insgesamt 29 Kleinkindern, Jugendlichen und Erwachsenen (mittleres Alter der Erwachsenen 30 Jahre). Zwischen diesen Untergruppen der gesunden Kohorte war der TGF β -Spiegel mit dem Alter ebenfalls abnehmend ($r=-0,7478$, $p<0,0001$). Die Proband:innenanzahl dieser Studie, insbesondere der Kinder, war allerdings sehr klein. Ein Signifikanzniveau beim Vergleich der mittleren TGF β -Spiegel von Kleinkindern, Jugendlichen und Erwachsenen wurde nicht angegeben (42 ± 6 ng/ml, $n=9$; 9 ± 2 ng/ml, $n=10$; 1 ± 1 ng/ml, $n=10$) (117). Dennoch stellten Rosensweig et al. analog zu unseren Ergebnissen in ihren Messungen einen Unterschied im Vergleich von gesunden Kleinkindern und Jugendlichen fest.

Unsere Untersuchungen fügen sich in diese Ergebnisse bisheriger Arbeiten ein und weiten diese deutlich aus, da wir wesentlich umfassender das Kindesalter betrachteten.

Es gibt Arbeiten zu TGF β -Spiegeln bei gesunden Erwachsenen. Die Tendenz der abnehmenden TGF β -Spiegel setzt sich mit dem Alter nicht fort. Young et al. untersuchten neben weiteren Zytokinkonzentrationen im Serum auch die von TGF β bei gesunden erwachsenen Blutspender:innen im Alter von 20 bis 58 Jahren. In ihren Messungen stellten sie keine signifikanten Veränderungen mit dem Alter fest ($n=74$; $r=0,010$; $p=0,931$) (116). Forsey et al. betrachteten in ihrer Studie insbesondere das hohe Erwachsenenalter. Sie bestimmten dabei höhere mittlere Spiegel an aktivem TGF β im Plasma von 86- bis 94-jährigen im Vergleich zu 32- bis 59-jährigen Proband:innen (399 pg/ml, $n=138$ vs. $141,5$ pg/ml, $n=18$; $p<0,0001$). Die Messung des gesamten TGF β im Plasma inklusive der latenten Form zeigte wiederum keine Unterschiede im Vergleich derselben Altersgruppen (121). Peterson et al. konnten beim Vergleich ähnlicher Altersgruppen keine Unterschiede feststellen. Der mittlere TGF β -Spiegel im Serum von 26 Proband:innen mit einem mittleren Alter von 79 Jahren unterschied sich nicht von 13 Proband:innen mit einem mittleren Alter von 30 Jahren

(kein Signifikanzniveau angegeben) (122). Eine Abnahme des TGF β -Spiegels mit dem Alter, wie wir sie für Kinder feststellen konnten, setzt sich also bei Erwachsenen nicht kontinuierlich fort. Auch für andere Zytokine wie Interferon γ oder Interleukin 8 sind zwischen gesunden Kindern und Erwachsenen signifikante Unterschiede beschrieben (116, 118).

Diese Arbeiten bekräftigen, dass man nicht von Studien mit Erwachsenen direkt auf Kinder schließen sollte. Gerade im Hinblick auf eine hereditäre Erkrankung wie das MFS ist es wichtig, dies zu betonen. Betroffene müssen von Kindheit an begleitet und behandelt werden und somit benötigen wir Normwerte für jedes Alter.

Unsere Messungen ergaben keinen Unterschied der TGF β -Spiegel zwischen den Geschlechtern. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen bisheriger Arbeiten sowohl für Kinder als auch für Erwachsene (81, 115, 116).

So gut sich die Beobachtungen aus unserer Arbeit also in die bisherige Literatur einfügen, müssen einige Auffälligkeiten beim Betrachten der absoluten TGF β -Werte erwähnt werden. Innerhalb unserer Kohorte gab es teilweise große Schwankungen. Der niedrigste und höchste gemessene TGF β -Spiegel lagen etwa 15000 pg/ml auseinander. Gerade bei Betrachtung der unterschiedlichen Diagnosegruppen sahen wir deutliche Unterschiede, sodass wir uns im Nachhinein fragen müssen, ob die Einschlusskriterien zu großzügig formuliert waren.

Dennoch lassen sich innerhalb des von uns betrachteten breiten Spektrums an Diagnosen interessante Beobachtungen machen. Wir schlossen in unsere Studie auch Kinder ein, die mit V. a. Bindegewebserkrankung in der Marfan-Ambulanz des UHZ gesehen und im Verlauf genetisch gesichert negativ getestet wurden. Der Verdacht ergab sich aufgrund Verwandter (Eltern oder Geschwister) mit diagnostizierter Bindegewebserkrankung. Diese Kinder hatten in unseren Messungen im Vergleich zu den anderen Gruppen den höchsten mittleren TGF β -Spiegel (Mittelwert 7969 pg/ml; Mittelwert der gesamten Kohorte 6517 pg/ml). Diese Beobachtung unterscheidet sich von den Ergebnissen der Studie von Hillebrandt et al. zu TGF β -Spiegeln im gesamten Spektrum der hereditären Aortenerkrankungen bei Erwachsenen. Proband:innen, bei denen sich genetisch der Verdacht auf eine hereditäre Aortenerkrankung nicht bestätigte, hatten in dieser Arbeit keine erhöhten TGF β -Spiegel im Vergleich zu Gesunden. Dies ist umso erstaunlicher, da bei jeweils etwa einem Drittel dieser Patient:innen eine Aortenwurzeldilatation nachgewiesen wurde oder ein operativer Eingriff an der Hauptschlagader bereits erfolgt war. 15 % der Proband:innen hatten

sogar schon eine Aortendissektion erlitten (85). Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Beobachtungen wäre, dass in unserer Arbeit Kinder, in der Arbeit von Hillebrand et al. wiederum Erwachsene untersucht wurden.

Kinder mit akuten Infektionen waren in unserer Studie prominent vertreten, zeigten aber keine auffälligen TGF β -Spiegel im Vergleich zur restlichen Kohorte. Zum Einfluss des CRP-Spiegels auf den TGF β -Spiegel gibt es unserer Kenntnis nach bisher keine Studien. Für zukünftige Betrachtungen gesunder pädiatrischer Kollektive kann man anhand unserer Studie festhalten, dass Kinder mit akuten und milden Infektionen in die Betrachtung eingeschlossen werden können. Kinder, die in ihrer Familienanamnese hereditäre Bindegewebserkrankungen wie das MFS aufweisen, sollten für TGF β -Messungen bei Gesunden jedoch ausgeschlossen werden, selbst wenn genetische Testungen negativ ausfallen.

Vergleicht man unsere gemessenen absoluten TGF β -Spiegel mit Werten aus anderen Studien, so fallen teils deutliche Diskrepanzen auf. Unsere Messwerte ordnen sich unterhalb der bisher aus Serumproben bestimmten TGF β -Werte bei Kindern ein (Mittelwert und SD unserer Kohorte 6517 ± 2843 pg/ml = $6,5 \pm 2,8$ ng/ml vs. Mittelwert und SD aus der pädiatrischen Kohorte von Okamoto et al. $61,7 \pm 18,5$ ng/ml) (115). Auch im Vergleich zu Plasmaspiegeln von TGF β zeigt sich dieser Unterschied (117). Verglichen mit TGF β -Spiegeln von Erwachsenen ergeben sich ebenfalls Differenzen im Bereich von mehreren 1000 pg/ml (116). Forsey et al. bestimmten im Serum nochmals deutlich niedrigere TGF β -Spiegel (Mittelwert unserer Kohorte 6517 pg/ml vs. Mittelwert der Kohorten aus Forsey et al. 399,91 bzw. 141,5 pg/ml; $p < 0,0001$) (121). Dies deckt sich zwar mit der generellen Beobachtung, dass TGF β -Spiegel bei Erwachsenen niedriger sind als bei Kindern, die Deutlichkeit der absoluten Unterschiede ist dennoch auffällig.

Der Vergleich unserer Ergebnisse mit denen von Erwachsenen mit MFS ist auch nicht gänzlich schlüssig. Franken et al. definieren in ihrer Arbeit 140 pg/ml im Plasma als Grenzwert, ab dem bei Betroffenen mit MFS ein 6,5-faches Risiko für ein relevantes klinisches Ereignis besteht (Aorten Chirurgie oder Aortendissektion) (81). Angewandt auf unsere Daten liegen sämtliche Proben deutlich über diesem Grenzwert. Hillebrandt et al. maßen wiederum für ihre erwachsenen Proband:innen einen mittleren TGF β -Spiegel im Serum von $32 \pm 26,8$ ng/ml für die gesunde Kontrollgruppe (n=119). Patient:innen mit MFS hatten einen mittleren Spiegel von $44,4 \pm 34,9$ ng/ml (n=128). Unsere Daten ordnen sich im Vergleich wiederum unterhalb dieser beiden Gruppen

ein. Die Messungen der Studie von Matt et al. bewegen sich in etwa im identischem Spektrum mit mittleren TGF β -Spiegeln im Plasma von $15\pm 1,7$ ng/ml für die Proband:innen mit MFS (n=53) gegenüber $2,5\pm 0,4$ ng/ml für die gesunde Kontrollgruppe (n=74). In dieser Studie wurde allerdings mit Elektrochemilumineszenz ein anderes Verfahren zur TGF β -Messung verwendet (120).

Eine mögliche erkennbare Ursache für diese teils deutlichen Unterschiede in den TGF β -Messungen ist der Einsatz von ELISA-Verfahren unterschiedlicher Hersteller. Unser Messverfahren erfolgte nach Hersteller- und Literaturangaben. Im wesentlichen Ablauf des ELISA mit Antikörperbindung an einer Mikrotiterplatte, Inkubation, Zugabe eines Detektionsantikörpers, erneuter Inkubation sowie Zugabe eines Substrats und photometrischer Messung der enzymatischen Reaktion gibt es keine wesentlichen Unterschiede zu Messverfahren anderer Hersteller. Somit bleiben diese Diskrepanzen ungeklärt. Auch bei der Probengewinnung und -verarbeitung von der Blutentnahme bis zur Lagerung unterscheiden sich die Studien nicht wesentlich. Wenn man in zukünftigen Arbeiten dieselben Proben mit mehreren ELISA-Verfahren unterschiedlicher Hersteller messen würde, könnten die Differenzen möglicherweise hinreichend erklärt werden. Dies ist zwingend notwendig, bevor man TGF β in der klinischen Anwendung etablieren möchte. Es wäre jedoch auch kein Novum, wenn absolute Unterschiede zwischen unterschiedlichen Testverfahren bestehen bleiben, wie das Beispiel der Bestimmung von Transglutaminase-Antikörpern bei der Zöliakie-Diagnostik zeigt. In der aktuellen Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten wurde festgehalten, dass absolute Werte verschiedener Testverfahren zur Bestimmung der Transglutaminase-Antikörper nicht miteinander vergleichbar sind. Als auffällig wird ein Abweichen um ein Vielfaches der jeweiligen Norm gewertet (123).

Mehrfach wurde bereits erwähnt, dass TGF β von etlichen Faktoren beeinflusst wird. Wie marginal bzw. kurzweilig diese Einflüsse bei Gesunden bereits sein können, beschreiben Czarkowska-Paczek et al. in ihrer Arbeit. Sie untersuchten bei 14 jungen und gesunden Personen Zytokinkonzentrationen nach sportlicher Betätigung (Radfahren auf einem Hometrainer für etwa 20 Minuten). Direkt und zwei Stunden nach Belastung konnten sie im Vergleich zu den Ausgangswerten fast zwei- bis dreifach erhöhte TGF β -Spiegel messen (Mittelwerte vor Belastung, direkt nach Belastung und zwei Stunden nach Belastung $20,58$ ng/ml; $55,37$ ng/ml; $40,03$ ng/ml). Ähnliche Anstiege wurden für andere Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel VEGF

beobachtet. Als Grund für diesen Anstieg vermuten die Autoren eine kurzzeitige Hypoxie, insbesondere im Muskelgewebe (124). TGF β reagiert offenbar sehr sensibel und unterliegt etlichen Einflüssen und damit auch Schwankungen. Vermutlich betrifft dies gerade Kindern im Wachstum. TGF β -Bestimmungen unterliegen somit wohl stets einer gewissen Dynamik. Der definierte Normbereich sollte also nicht zu eng ausfallen. Für unsere Messungen mit teils deutlichen Differenzen zwischen den einzelnen Werten lässt sich nicht ausschließen, dass die eingeschlossenen milden und akuten Erkrankungen durchaus schon erhebliche Veränderungen des TGF β -Spiegels verursachen, auch wenn wir dies exemplarisch für Entzündung und eingeschränkte Nierenfunktion nicht feststellen konnten. Möglich ist zudem, dass uns noch unklare und daher nicht mitbedachte Variablen Einfluss auf TGF β haben, beispielsweise zirkadiane Schwankungen oder Veränderungen der Stoffwechsellage bei Belastung oder im Rahmen bestimmter Erkrankungen. Zukünftige Messungen sollten soweit möglich neben einer homogeneren Kohorte auch den Zeitpunkt der Probenentnahme einheitlicher gestalten (zum Beispiel Uhrzeit, elektive vs. notfallmäßige Behandlung).

Lehren für den Gebrauch von TGF β als potentiellen Biomarker für das MFS

Übergeordnetes Ziel der Tiger for Kids-Studie ist es, den Nutzen einer TGF β -Messung bei pädiatrischen Patient:innen mit MFS für den klinischen Gebrauch zu evaluieren. In vielen experimentellen Arbeiten ist die Bedeutung einer erhöhten TGF β -Aktivität für die Pathophysiologie des MFS, insbesondere der Aortenwurzeldilatation, herausgearbeitet worden. Klinische Studien zu Erwachsenen zeigten, dass diese erhöhte Aktivität nicht nur in Gewebeproben sondern auch direkt im Blut betroffener Patient:innen messbar ist (81, 85, 120). Franken et al. konnten darüber hinaus feststellen, dass bei erhöhtem TGF β -Spiegel auch der Durchmesser der Aortenwurzel vergrößert ist. Im Verlauf kam es bei erhöhtem TGF β -Spiegel zudem häufiger zu einem elektiven herzchirurgischen Eingriff oder einer Aortendissektion. Daher sehen sie in TGF β einen prognostischen Biomarker für das MFS (81). Matt et al. konnten nachweisen, dass unter medikamentöser Therapie mit AT1-Antagonisten oder β -Blockern die TGF β -Spiegel signifikant niedriger sind. Daher sprechen sie TGF β neben der prognostischen auch eine therapeutische Relevanz zu. In der Studie wurde jedoch nicht genauer differenziert, wie lange die Proband:innen bereits eine medikamentöse Therapie erhielten (120).

Wir können anhand unserer Messungen zu gesunden Kindern festhalten, dass von den gerade erwähnten Arbeiten zu Erwachsenen mit MFS nicht direkt Rückschlüsse

auf Kinder gemachten werden sollen. Neben der Erkrankung selbst tritt bei Kindern noch das Alter als beeinflussender Faktor hinzu. Es ist denkbar, dass die TGF β -Spiegel auch bei Kindern mit MFS im Vergleich zu gleichaltrigen Gesunden erhöht sind. Gleichzeitig weisen unsere Ergebnisse darauf hin, dass der ohnehin vielseitig beeinflusste TGF β -Spiegel im Rahmen einer normalen kindlichen Entwicklung wohl noch größeren Schwankungen als bei Erwachsenen unterliegt und somit die Abgrenzung zu einer pathologischen Erhöhung möglicherweise schwierig ist. Wie bereits zuvor erwähnt bestehen zudem beim Vergleich der absoluten TGF β -Werte zwischen den einzelnen Studien teils deutliche Unterschiede. Diese müssen vor einem Einsatz im klinischen Alltag geklärt werden. Die Anwendung von TGF β als verlässlichen Biomarker für das MFS oder eine medikamentöse Therapie kann erst erfolgen, wenn tatsächlich genügend Daten zu TGF β -Spiegeln gesunder und erkrankter Kinder vorliegen.

Schlussfolgerung und Ausblick

Wir konnten mit unserer Arbeit zeigen, dass die TGF β -Spiegel bei herzgesunden Kindern mit dem Alter sinken. Damit bestätigen wir eine wichtige Beobachtung aus sehr kleinen pädiatrischen Kohorten bisheriger Studien. Unsere Arbeit ist bezüglich ihres Umfangs die unseres Wissens nach bisher größte Studie zu TGF β -Spiegeln im Kindesalter. Der TGF β -Spiegel unterschied sich nicht zwischen den Geschlechtern, was ebenfalls in der Literatur vorbeschrieben war. Wir konnten auch zeigen, dass weder Entzündung noch eine eingeschränkte Nierenfunktion Einfluss auf den TGF β -Spiegel hat. Kinder, bei denen sich der Verdacht auf eine hereditäre Bindegewebserkrankung genetisch nicht bestätigte, hatten in unseren Messungen dennoch auffällig hohe TGF β -Spiegel. Hier unterscheiden sich unsere Ergebnisse von bisherigen Beobachtungen zu erwachsenen Personen.

Die Fortführung dieser Arbeit mit der Untersuchung von TGF β -Spiegeln bei Kindern mit MFS wird für die weitere Einordnung unserer Ergebnisse wichtige Erkenntnisse liefern. Es wird sich zeigen, ob die TGF β -Spiegel bei Kindern mit MFS sich signifikant von denen der gesunden Kontrollgruppe trotz der großen Differenzen innerhalb unserer Kohorte unterscheiden. Außerdem können Untersuchungen zum TGF β -Spiegel vor, während und nach der Gabe von Sartanen wichtige Einblicke in die Wirksamkeit dieser Medikamente geben. Für einen so kurzen und individuell isolierten Beobachtungszeitraum sind wohlmöglich auch die vielen potenziellen Störgrößen und

andere Einflüsse, denen TGF β unterliegt, zu vernachlässigen. So könnte die Beurteilung von TGF β -Spiegeln im akuten Ereignis einer kritischen Zunahme der Aortendilatation für kurze Zeit ein wichtiger Parameter sein, welcher miteinbezogen werden kann, zum Beispiel zur Beurteilung der Notwendigkeit einer operativen Therapie oder zur Steuerung der Dosierung der AT1-Antagonisten.

Es ist uns mit unserer Studie leider nicht gelungen, ubiquitär gültige und valide Normwerte für gesunde Kinder jeden Alters zu definieren. Dafür fallen unsere Ergebnisse zu heterogen aus und es bestehen aktuell noch zu viele Unklarheiten zur Messung und möglichen Einflussfaktoren von TGF β .

TGF β ist ein Zytokin mit sehr vielfältigen und komplexen Funktionen. Eine isolierte Beanspruchung für die Pathophysiologie des MFS erscheint daher vermessen. Andere, nicht kardiovaskuläre Einflüsse sollten bei TGF β -Bestimmungen stets bedacht werden. Ob sich TGF β als verlässlicher Biomarker für das MFS gerade bei Kindern eignet, muss anhand weiterer Forschung noch evaluiert werden. Ebenfalls bedarf es für eine verlässliche Definition eines Normbereichs im Gesunden bei Kindern weiterer Studien mit noch größeren Kohorten. Es sollten sehr strenge Einschlusskriterien definiert und die Untersuchungsbedingungen einheitlich gestaltet werden, auch wenn dies bei klinischen Studien mit Kindern eine besondere Herausforderung darstellt. Auch sollten verschiedene Messverfahren in ein und derselben Studie zum Einsatz kommen.

Es ist gut möglich, dass die TGF β -Spiegel zwischen einzelnen Individuen sich grundsätzlich zu sehr unterscheiden, hingegen beim MFS der individuelle Verlauf wichtige Informationen über das Krankheitsgeschehen liefert. Auch kann es sein, dass sich TGF β für die Anwendung im klinischen Alltag als zu komplex bzw. zu fragil herausstellt.

Lohnen wird sich weitere klinische Forschung zu diesem Zytokin insbesondere bei Kindern allemal, da TGF β so vielfältig in seinen Funktionen und allgegenwärtig bei etlichen Prozessen ist. Mit neuen Erkenntnissen wird auch stetig das Verständnis für TGF β und somit auch für die Pathophysiologie des MFS wachsen.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Dissertation wurden TGF β -Spiegel bei gesunden Kindern bestimmt und untersucht. Dies soll als Grundlage zur weiteren Untersuchung der Pathophysiologie des MFS und seiner medikamentösen Therapie mit Sartanen dienen, bei der TGF β eine entscheidende Rolle einnimmt. Wir untersuchten TGF β bei der bisher größten Kohorte an Kindern. Zudem betrachteten wir das gesamte kindliche Altersspektrum.

Unsere Messungen ergaben einen abnehmenden TGF β -Spiegel mit zunehmenden Alter, insbesondere zu Beginn der zweiten Lebensdekade und Pubertät. Diese Beobachtung korreliert mit bisherigen Untersuchungen an kleineren pädiatrischen Kohorten. Für das Erwachsenenalter ist eine weitere Abnahme nicht beschrieben. Dies betont die Notwendigkeit eigener TGF β -Normwerte für Kinder.

Auf Grundlage dieser Arbeit können TGF β -Spiegel bei Kindern mit MFS bestimmt und eingeordnet werden. Die Relevanz von TGF β für die klinische Anwendung bleibt allerdings unklar, da die Funktionen des Zytokins für Physiologie und Pathophysiologie noch nicht hinreichend geklärt sind. Die TGF β -Spiegel in unseren Messungen unterschieden sich zudem teils erheblich. Es wird noch weiterer Grundlagenforschung und klinischer Studien bei Kindern bedürfen, bevor eine TGF β -Bestimmung Einzug in den diagnostischen und klinischen Alltag finden wird.

7. Summary

In this study, we measured and examined TGF β -levels in healthy children to further investigate TGF β 's role in the pathophysiology of MFS and its possible medical treatment with AT1-antagonists. Therefore, we analyzed levels of TGF β in the entire age span in the largest cohort size to date.

Our results show a decline of TGF β -levels with increasing age, especially at the reach of puberty. These results correlate with present smaller studies. The decline does not continue in adulthood, emphasizing the importance of separate TGF β -levels for children. Regarding this study, TGF β -levels in children with MFS can be analyzed. Yet the relevance of TGF β for clinical practice remains unclear, as its functions seem complex and not sufficiently clarified. Besides, the TGF β -levels vary considerably. Further fundamental and clinical research with TGF β -measurements in children needs to be carried out to establish clinical and diagnostic relevance for TGF β -levels.

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-converting enzyme
ALK	Activine-like receptor kinase
ANOVA	Einfaktorielle Varianzanalyse (englisch: Analysis of variance)
AT1-Antagonisten	Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptor-Antagonisten
β -Blocker	Beta-Blocker
BMP	Bone morphogenetic proteins
BPP	Bioprobenbegleitprotokoll
CHD	Angeborene Herzfehler (englisch: congenital heart disease)
CRP	C-reaktives Protein
df	Freiheitsgrade
ECM	Extrazelluläre Matrix
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
F	F-Wert
FBN1	Fibrillin-1
HHT	Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie
HRP	Meerrettich-Peroxidase (englisch: horseradish peroxidase)
HSD	Honestly significant difference
LAP	Latency-associated peptide
LDS	Loeys-Dietz-Syndrom
LLC	Large latent complex
LTBP	Latent Transforming growth factor Beta-binding protein
LTGF β	Latent Transforming growth factor Beta
M	Mittelwert
MD	Mittlere Differenz
MFS	Marfan-Syndrom
N	Anzahl
PAH	Pulmonale arterielle Hypertension
PMD	Probenmanagementdatenbank
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SD	Standardabweichung (englisch: Standard deviation)
SE	Standardfehler (englisch: Standard error)

SLC	Small latent complex
T	T-Wert
TAAD	Familiäre thorakale Aortenaneurysmata und -dissektionen
TGF β	Transforming growth factor Beta
TGFBR	Transforming growth factor Beta receptor
TSP1	Thrombospondin 1
UHZ	Universitäres Herz- und Gefäßzentrum Hamburg
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
V. a.	Verdacht auf
95 %-KI	95 %-Konfidenzintervall

Literaturverzeichnis

1. Santibanez JF, Quintanilla M, Bernabeu C. TGF-beta/TGF-beta receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. 2011;121(6):233-51.
2. Roberts AB. Molecular and cell biology of TGF-beta. *Miner Electrolyte Metab*. 1998;24(2-3):111-9.
3. Lifshitz V, Frenkel D. Chapter 225 - TGF- β . In: Kastin AJ, editor. *Handbook of Biologically Active Peptides (Second Edition)*. Boston: Academic Press; 2013. p. 1647-53.
4. Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1350-8.
5. Dubois CM, Laprise MH, Blanchette F, Gentry LE, Leduc R. Processing of transforming growth factor beta 1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem*. 1995;270(18):10618-24.
6. ten Dijke P, Arthur HM. Extracellular control of TGFbeta signalling in vascular development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(11):857-69.
7. Annes JP, Munger JS, Rifkin DB. Making sense of latent TGFbeta activation. *J Cell Sci*. 2003;116(Pt 2):217-24.
8. Rifkin DB. Latent transforming growth factor-beta (TGF-beta) binding proteins: orchestrators of TGF-beta availability. *J Biol Chem*. 2005;280(9):7409-12.
9. Dallas SL, Park-Snyder S, Miyazono K, Twardzik D, Mundy GR, Bonewald LF. Characterization and autoregulation of latent transforming growth factor beta (TGF beta) complexes in osteoblast-like cell lines. Production of a latent complex lacking the latent TGF beta-binding protein. *J Biol Chem*. 1994;269(9):6815-21.
10. Saharinen J, Keski-Oja J. Specific sequence motif of 8-Cys repeats of TGF-beta binding proteins, LTBP, creates a hydrophobic interaction surface for binding of small latent TGF-beta. *Mol Biol Cell*. 2000;11(8):2691-704.
11. Isogai Z, Ono RN, Ushiro S, Keene DR, Chen Y, Mazzieri R, et al. Latent transforming growth factor beta-binding protein 1 interacts with fibrillin and is a microfibril-associated protein. *J Biol Chem*. 2003;278(4):2750-7.
12. Miyazono K, Olofsson A, Colosetti P, Heldin CH. A role of the latent TGF-beta 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF-beta 1. *EMBO J*. 1991;10(5):1091-101.
13. Dabovic B, Chen Y, Colarossi C, Obata H, Zambuto L, Perle MA, et al. Bone abnormalities in latent TGF-[beta] binding protein (Ltbp)-3-null mice indicate a role for Ltbp-3 in modulating TGF-[beta] bioavailability. *J Cell Biol*. 2002;156(2):227-32.

14. Sterner-Kock A, Thorey IS, Koli K, Wempe F, Otte J, Bangsow T, et al. Disruption of the gene encoding the latent transforming growth factor-beta binding protein 4 (LTBP-4) causes abnormal lung development, cardiomyopathy, and colorectal cancer. *Genes Dev.* 2002;16(17):2264-73.
15. Munger JS, Harpel JG, Gleizes PE, Mazzieri R, Nunes I, Rifkin DB. Latent transforming growth factor-beta: structural features and mechanisms of activation. *Kidney Int.* 1997;51(5):1376-82.
16. Sheppard D. Integrin-mediated activation of latent transforming growth factor beta. *Cancer Metastasis Rev.* 2005;24(3):395-402.
17. Crawford SE, Stellmach V, Murphy-Ullrich JE, Ribeiro SM, Lawler J, Hynes RO, et al. Thrombospondin-1 is a major activator of TGF-beta1 in vivo. *Cell.* 1998;93(7):1159-70.
18. Yang Z, Mu Z, Dabovic B, Jurukovski V, Yu D, Sung J, et al. Absence of integrin-mediated TGFbeta1 activation in vivo recapitulates the phenotype of TGFbeta1-null mice. *J Cell Biol.* 2007;176(6):787-93.
19. Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor-beta and fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2007;13(22):3056-62.
20. Sankar S, Mahooti-Brooks N, Centrella M, McCarthy TL, Madri JA. Expression of transforming growth factor type III receptor in vascular endothelial cells increases their responsiveness to transforming growth factor beta 2. *J Biol Chem.* 1995;270(22):13567-72.
21. Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin CH. Smad regulation in TGF-beta signal transduction. *J Cell Sci.* 2001;114(Pt 24):4359-69.
22. Feng XH, Derynck R. Specificity and versatility in tgf-beta signaling through Smads. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005;21:659-93.
23. Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature.* 2003;425(6958):577-84.
24. Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992;359(6397):693-9.
25. Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, et al. Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(2):770-4.
26. Sanford LP, Ormsby I, Gittenberger-de Groot AC, Sariola H, Friedman R, Boivin GP, et al. TGFbeta2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGFbeta knockout phenotypes. *Development.* 1997;124(13):2659-70.

27. Kaartinen V, Voncken JW, Shuler C, Warburton D, Bu D, Heisterkamp N, et al. Abnormal lung development and cleft palate in mice lacking TGF-beta 3 indicates defects of epithelial-mesenchymal interaction. *Nat Genet.* 1995;11(4):415-21.
28. Dickson MC, Martin JS, Cousins FM, Kulkarni AB, Karlsson S, Akhurst RJ. Defective haematopoiesis and vasculogenesis in transforming growth factor-beta 1 knock out mice. *Development.* 1995;121(6):1845-54.
29. Oshima M, Oshima H, Taketo MM. TGF-beta receptor type II deficiency results in defects of yolk sac hematopoiesis and vasculogenesis. *Dev Biol.* 1996;179(1):297-302.
30. Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet.* 2005;37(3):275-81.
31. Coady MA, Davies RR, Roberts M, Goldstein LJ, Rogalski MJ, Rizzo JA, et al. Familial patterns of thoracic aortic aneurysms. *Arch Surg.* 1999;134(4):361-7.
32. Pannu H, Tran-Fadulu V, Milewicz DM. Genetic basis of thoracic aortic aneurysms and aortic dissections. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2005;139C(1):10-6.
33. Morse JH, Deng Z, Knowles JA. Genetic aspects of pulmonary arterial hypertension. *Ann Med.* 2001;33(9):596-603.
34. Mallat Z, Gojova A, Marchiol-Fournigault C, Esposito B, Kamate C, Merval R, et al. Inhibition of transforming growth factor-beta signaling accelerates atherosclerosis and induces an unstable plaque phenotype in mice. *Circ Res.* 2001;89(10):930-4.
35. Cipollone F, Fazia M, Mincione G, Iezzi A, Pini B, Cucurullo C, et al. Increased expression of transforming growth factor-beta1 as a stabilizing factor in human atherosclerotic plaques. *Stroke.* 2004;35(10):2253-7.
36. Grainger DJ, Witchell CM, Metcalfe JC. Tamoxifen elevates transforming growth factor-beta and suppresses diet-induced formation of lipid lesions in mouse aorta. *Nat Med.* 1995;1(10):1067-73.
37. Grainger DJ, Kemp PR, Liu AC, Lawn RM, Metcalfe JC. Activation of transforming growth factor-beta is inhibited in transgenic apolipoprotein(a) mice. *Nature.* 1994;370(6489):460-2.
38. Ward MR, Agrotis A, Kanellakis P, Dilley R, Jennings G, Bobik A. Inhibition of protein tyrosine kinases attenuates increases in expression of transforming growth factor-beta isoforms and their receptors following arterial injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):2461-70.

39. Ward MR, Agrotis A, Kanellakis P, Hall J, Jennings G, Bobik A. Tranilast prevents activation of transforming growth factor-beta system, leukocyte accumulation, and neointimal growth in porcine coronary arteries after stenting. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(6):940-8.
40. Yamamoto K, Morishita R, Tomita N, Shimozato T, Nakagami H, Kikuchi A, et al. Ribozyme oligonucleotides against transforming growth factor-beta inhibited neointimal formation after vascular injury in rat model: potential application of ribozyme strategy to treat cardiovascular disease. *Circulation.* 2000;102(11):1308-14.
41. Toma I, McCaffrey TA. Transforming growth factor-beta and atherosclerosis: interwoven atherogenic and atheroprotective aspects. *Cell Tissue Res.* 2012;347(1):155-75.
42. Li B, Khanna A, Sharma V, Singh T, Suthanthiran M, August P. TGF-beta1 DNA polymorphisms, protein levels, and blood pressure. *Hypertension.* 1999;33(1 Pt 2):271-5.
43. Lavoie P, Robitaille G, Agharazii M, Ledbetter S, Lebel M, Lariviere R. Neutralization of transforming growth factor-beta attenuates hypertension and prevents renal injury in uremic rats. *J Hypertens.* 2005;23(10):1895-903.
44. Kupfahl C, Pink D, Friedrich K, Zurbrugg HR, Neuss M, Warnecke C, et al. Angiotensin II directly increases transforming growth factor beta1 and osteopontin and indirectly affects collagen mRNA expression in the human heart. *Cardiovasc Res.* 2000;46(3):463-75.
45. Rosenkranz S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling. *Cardiovasc Res.* 2004;63(3):423-32.
46. Liu G, Ma C, Yang H, Zhang PY. Transforming growth factor beta and its role in heart disease. *Exp Ther Med.* 2017;13(5):2123-8.
47. Schultz Jel J, Witt SA, Glascock BJ, Nieman ML, Reiser PJ, Nix SL, et al. TGF-beta1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II. *J Clin Invest.* 2002;109(6):787-96.
48. Benigni A, Zoja C, Corna D, Zatelli C, Conti S, Campana M, et al. Add-on anti-TGF-beta antibody to ACE inhibitor arrests progressive diabetic nephropathy in the rat. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(7):1816-24.
49. Tennant PW, Pearce MS, Bythell M, Rankin J. 20-year survival of children born with congenital anomalies: a population-based study. *Lancet.* 2010;375(9715):649-56.
50. Arthur HM, Bamforth SD. TGFbeta signaling and congenital heart disease: Insights from mouse studies. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;91(6):423-34.

51. Bartram U, Molin DG, Wisse LJ, Mohamad A, Sanford LP, Doetschman T, et al. Double-outlet right ventricle and overriding tricuspid valve reflect disturbances of looping, myocardialization, endocardial cushion differentiation, and apoptosis in TGF-beta(2)-knockout mice. *Circulation*. 2001;103(22):2745-52.
52. Molin DG, DeRuiter MC, Wisse LJ, Azhar M, Doetschman T, Poelmann RE, et al. Altered apoptosis pattern during pharyngeal arch artery remodelling is associated with aortic arch malformations in Tgfbeta2 knock-out mice. *Cardiovasc Res*. 2002;56(2):312-22.
53. Wang J, Nagy A, Larsson J, Dudas M, Sucov HM, Kaartinen V. Defective ALK5 signaling in the neural crest leads to increased postmigratory neural crest cell apoptosis and severe outflow tract defects. *BMC Dev Biol*. 2006;6:51.
54. Wurdak H, Ittner LM, Lang KS, Leveen P, Suter U, Fischer JA, et al. Inactivation of TGFbeta signaling in neural crest stem cells leads to multiple defects reminiscent of DiGeorge syndrome. *Genes Dev*. 2005;19(5):530-5.
55. Pohlers D, Brenmoehl J, Loffler I, Muller CK, Leipner C, Schultze-Mosgau S, et al. TGF-beta and fibrosis in different organs - molecular pathway imprints. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792(8):746-56.
56. Morty RE, Konigshoff M, Eickelberg O. Transforming growth factor-beta signaling across ages: from distorted lung development to chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6(7):607-13.
57. Judge DP, Dietz HC. Marfan's syndrome. *Lancet*. 2005;366(9501):1965-76.
58. Marfan A. Un cas de deformation congenitale des quatre membres plus prononcee aux extremités caracterisee par l'allongement des os avec un certain degre d'amincissement. *Bull Mem Soc Med Hop Paris*. 1896;13:220-1.
59. von Kodolitsch Y, Robinson PN. Marfan syndrome: an update of genetics, medical and surgical management. *Heart*. 2007;93(6):755-60.
60. Dietz H. Marfan Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
61. Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE, Maslen CL, Sakai LY, Corson GM, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature*. 1991;352(6333):337-9.
62. Collod-Beroud G, Le Bourdelles S, Ades L, Ala-Kokko L, Booms P, Boxer M, et al. Update of the UMD-FBN1 mutation database and creation of an FBN1 polymorphism database. *Hum Mutat*. 2003;22(3):199-208.
63. Corson GM, Chalberg SC, Dietz HC, Charbonneau NL, Sakai LY. Fibrillin binds calcium and is coded by cDNAs that reveal a multidomain structure and alternatively spliced exons at the 5' end. *Genomics*. 1993;17(2):476-84.

64. Dietz HC, McIntosh I, Sakai LY, Corson GM, Chalberg SC, Pyeritz RE, et al. Four novel FBN1 mutations: significance for mutant transcript level and EGF-like domain calcium binding in the pathogenesis of Marfan syndrome. *Genomics*. 1993;17(2):468-75.
65. Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, Bersin RM, Carr VF, Casey DE, Jr., et al. 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with Thoracic Aortic Disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine. *Circulation*. 2010;121(13):e266-369.
66. Ammash NM, Sundt TM, Connolly HM. Marfan syndrome-diagnosis and management. *Curr Probl Cardiol*. 2008;33(1):7-39.
67. Tiecke F, Katzke S, Booms P, Robinson PN, Neumann L, Godfrey M, et al. Classic, atypically severe and neonatal Marfan syndrome: twelve mutations and genotype-phenotype correlations in FBN1 exons 24-40. *Eur J Hum Genet*. 2001;9(1):13-21.
68. Ramachandra CJ, Mehta A, Guo KW, Wong P, Tan JL, Shim W. Molecular pathogenesis of Marfan syndrome. *Int J Cardiol*. 2015;187:585-91.
69. Milewicz DM, Pyeritz RE, Crawford ES, Byers PH. Marfan syndrome: defective synthesis, secretion, and extracellular matrix formation of fibrillin by cultured dermal fibroblasts. *J Clin Invest*. 1992;89(1):79-86.
70. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, Myers L, Bunton TE, Gayraud B, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet*. 2003;33(3):407-11.
71. van Karnebeek CD, Naeff MS, Mulder BJ, Hennekam RC, Offringa M. Natural history of cardiovascular manifestations in Marfan syndrome. *Arch Dis Child*. 2001;84(2):129-37.
72. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, Callewaert BL, De Backer J, Devereux RB, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet*. 2010;47(7):476-85.
73. Januzzi JL, Isselbacher EM, Fattori R, Cooper JV, Smith DE, Fang J, et al. Characterizing the young patient with aortic dissection: results from the International Registry of Aortic Dissection (IRAD). *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(4):665-9.
74. Pyeritz RE, Wappel MA. Mitral valve dysfunction in the Marfan syndrome. Clinical and echocardiographic study of prevalence and natural history. *Am J Med*. 1983;74(5):797-807.

75. De Backer JF, Devos D, Segers P, Matthys D, Francois K, Gillebert TC, et al. Primary impairment of left ventricular function in Marfan syndrome. *Int J Cardiol.* 2006;112(3):353-8.
76. Benoist G, Tubach F, Roy C, Rioux S, Michelon-Jouneaux M, Chevallier B, et al. Skeletal evolution in Marfan syndrome: growth curves from a French national cohort. *Pediatr Res.* 2018;83(1-1):71-7.
77. Rybczynski M, Bernhardt AM, Rehder U, Fuisting B, Meiss L, Voss U, et al. The spectrum of syndromes and manifestations in individuals screened for suspected Marfan syndrome. *Am J Med Genet A.* 2008;146A(24):3157-66.
78. Fattori R, Nienaber CA, Descovich B, Ambrosetto P, Reggiani LB, Pepe G, et al. Importance of dural ectasia in phenotypic assessment of Marfan's syndrome. *Lancet.* 1999;354(9182):910-3.
79. Foran JR, Pyeritz RE, Dietz HC, Sponseller PD. Characterization of the symptoms associated with dural ectasia in the Marfan patient. *Am J Med Genet A.* 2005;134A(1):58-65.
80. De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, Hennekam RC, Pyeritz RE. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet.* 1996;62(4):417-26.
81. Franken R, den Hartog AW, de Waard V, Engele L, Radonic T, Lutter R, et al. Circulating transforming growth factor-beta as a prognostic biomarker in Marfan syndrome. *Int J Cardiol.* 2013;168(3):2441-6.
82. Keane MG, Pyeritz RE. Medical management of Marfan syndrome. *Circulation.* 2008;117(21):2802-13.
83. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, Cohn RD, Loeys BL, Cooper TK, et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science.* 2006;312(5770):117-21.
84. Chaudhry SS, Cain SA, Morgan A, Dallas SL, Shuttleworth CA, Kielty CM. Fibrillin-1 regulates the bioavailability of TGFbeta1. *J Cell Biol.* 2007;176(3):355-67.
85. Hillebrand M, Millot N, Sheikhzadeh S, Rybczynski M, Gerth S, Kolbel T, et al. Total serum transforming growth factor-beta1 is elevated in the entire spectrum of genetic aortic syndromes. *Clin Cardiol.* 2014;37(11):672-9.
86. Ng CM, Cheng A, Myers LA, Martinez-Murillo F, Jie C, Bedja D, et al. TGF-beta-dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome. *J Clin Invest.* 2004;114(11):1586-92.
87. Dietz HC, Loeys B, Carta L, Ramirez F. Recent progress towards a molecular understanding of Marfan syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2005;139C(1):4-9.

88. Davies RR, Goldstein LJ, Coady MA, Tittle SL, Rizzo JA, Kopf GS, et al. Yearly rupture or dissection rates for thoracic aortic aneurysms: simple prediction based on size. *Ann Thorac Surg.* 2002;73(1):17-27; discussion -8.
89. Gott VL, Greene PS, Alejo DE, Cameron DE, Naftel DC, Miller DC, et al. Replacement of the aortic root in patients with Marfan's syndrome. *N Engl J Med.* 1999;340(17):1307-13.
90. Zanotti G, Vricella L, Cameron D. Thoracic aortic aneurysm syndrome in children. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2008:11-21.
91. Finkbohner R, Johnston D, Crawford ES, Coselli J, Milewicz DM. Marfan syndrome. Long-term survival and complications after aortic aneurysm repair. *Circulation.* 1995;91(3):728-33.
92. Karck M, Kallenbach K, Hagl C, Rhein C, Leyh R, Haverich A. Aortic root surgery in Marfan syndrome: Comparison of aortic valve-sparing reimplantation versus composite grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;127(2):391-8.
93. Kallenbach K, Karck M, Pak D, Salcher R, Khaladj N, Leyh R, et al. Decade of aortic valve sparing reimplantation: are we pushing the limits too far? *Circulation.* 2005;112(9 Suppl):I253-9.
94. David TE. Surgical treatment of ascending aorta and aortic root aneurysms. *Prog Cardiovasc Dis.* 2010;52(5):438-44.
95. Coselli JS, Volguina IV, LeMaire SA, Sundt TM, Connolly HM, Stephens EH, et al. Early and 1-year outcomes of aortic root surgery in patients with Marfan syndrome: a prospective, multicenter, comparative study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;147(6):1758-66, 67 e1-4.
96. Groenink M, de Roos A, Mulder BJ, Spaan JA, van der Wall EE. Changes in aortic distensibility and pulse wave velocity assessed with magnetic resonance imaging following beta-blocker therapy in the Marfan syndrome. *Am J Cardiol.* 1998;82(2):203-8.
97. Rios AS, Silber EN, Bavishi N, Varga P, Burton BK, Clark WA, et al. Effect of long-term beta-blockade on aortic root compliance in patients with Marfan syndrome. *Am Heart J.* 1999;137(6):1057-61.
98. Halpern BL, Char F, Murdoch JL, Horton WB, McKusick VA. A prospectus on the prevention of aortic rupture in the Marfan syndrome with data on survivorship without treatment. *Johns Hopkins Med J.* 1971;129(3):123-9.
99. Shores J, Berger KR, Murphy EA, Pyeritz RE. Progression of aortic dilatation and the benefit of long-term beta-adrenergic blockade in Marfan's syndrome. *N Engl J Med.* 1994;330(19):1335-41.
100. Rossi-Foulkes R, Roman MJ, Rosen SE, Kramer-Fox R, Ehlers KH, O'Loughlin JE, et al. Phenotypic features and impact of beta blocker or calcium antagonist therapy on aortic lumen size in the Marfan syndrome. *Am J Cardiol.* 1999;83(9):1364-8.

101. Selamet Tierney ES, Feingold B, Printz BF, Park SC, Graham D, Kleinman CS, et al. Beta-blocker therapy does not alter the rate of aortic root dilation in pediatric patients with Marfan syndrome. *J Pediatr.* 2007;150(1):77-82.
102. Ladouceur M, Fermanian C, Lupoglazoff JM, Edouard T, Dulac Y, Acar P, et al. Effect of beta-blockade on ascending aortic dilatation in children with the Marfan syndrome. *Am J Cardiol.* 2007;99(3):406-9.
103. Salim MA, Alpert BS, Ward JC, Pyeritz RE. Effect of beta-adrenergic blockade on aortic root rate of dilation in the Marfan syndrome. *Am J Cardiol.* 1994;74(6):629-33.
104. Lacro RV, Dietz HC, Wruck LM, Bradley TJ, Colan SD, Devereux RB, et al. Rationale and design of a randomized clinical trial of beta-blocker therapy (atenolol) versus angiotensin II receptor blocker therapy (losartan) in individuals with Marfan syndrome. *Am Heart J.* 2007;154(4):624-31.
105. Lim DS, Lutucuta S, Bachireddy P, Youker K, Evans A, Entman M, et al. Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2001;103(6):789-91.
106. Jones ES, Black MJ, Widdop RE. Angiotensin AT2 receptor contributes to cardiovascular remodelling of aged rats during chronic AT1 receptor blockade. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;37(5):1023-30.
107. Brooke BS, Habashi JP, Judge DP, Patel N, Loeys B, Dietz HC, 3rd. Angiotensin II blockade and aortic-root dilation in Marfan's syndrome. *N Engl J Med.* 2008;358(26):2787-95.
108. Mueller GC, Stierle L, Stark V, Steiner K, von Kodolitsch Y, Weil J, et al. Retrospective analysis of the effect of angiotensin II receptor blocker versus beta-blocker on aortic root growth in paediatric patients with Marfan syndrome. *Heart.* 2014;100(3):214-8.
109. Lacro RV, Dietz HC, Sleeper LA, Yetman AT, Bradley TJ, Colan SD, et al. Atenolol versus losartan in children and young adults with Marfan's syndrome. *N Engl J Med.* 2014;371(22):2061-71.
110. Milleron O, Arnoult F, Ropers J, Aegerter P, Detaint D, Delorme G, et al. Marfan Sartan: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur Heart J.* 2015;36(32):2160-6.
111. Al-Abcha A, Saleh Y, Mujer M, Boumegouas M, Herzallah K, Charles L, et al. Meta-analysis Examining the Usefulness of Angiotensin Receptor blockers for the Prevention of Aortic Root Dilation in Patients With the Marfan Syndrome. *Am J Cardiol.* 2020;128:101-6.
112. Singh MN, Lacro RV. Recent Clinical Drug Trials Evidence in Marfan Syndrome and Clinical Implications. *Can J Cardiol.* 2016;32(1):66-77.
113. R&D Systems I. Quantikine® ELISA Human TGF-β1 Immunoassay (Package insert) 2019 [Available from: <https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/db100b.pdf?v=20210309>.

114. Joseph PD, Craig JC, Caldwell PHY. Clinical trials in children. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2015;79(3):357-69.
115. Okamoto Y, Gotoh Y, Uemura O, Tanaka S, Ando T, Nishida M. Age-dependent decrease in serum transforming growth factor (TGF)-beta 1 in healthy Japanese individuals; population study of serum TGF-beta 1 level in Japanese. *Dis Markers*. 2005;21(2):71-4.
116. Young DG, Skibinski G, Mason JI, James K. The influence of age and gender on serum dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S), IL-6, IL-6 soluble receptor (IL-6 sR) and transforming growth factor beta 1 (TGF-beta1) levels in normal healthy blood donors. *Clin Exp Immunol*. 1999;117(3):476-81.
117. Rosensweig JN, Omori M, Page K, Potter CJ, Perlman EJ, Thorgeirsson SS, et al. Transforming growth factor-beta1 in plasma and liver of children with liver disease. *Pediatr Res*. 1998;44(3):402-9.
118. Sack U, Burkhardt U, Borte M, Schadlich H, Berg K, Emmrich F. Age-dependent levels of select immunological mediators in sera of healthy children. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998;5(1):28-32.
119. Gallo-Oller G, Di Scala M, Aranda F, Dotor J. Transforming growth factor beta (TGF-beta) activity in immuno-oncology studies. *Methods Enzymol*. 2020;636:129-72.
120. Matt P, Schoenhoff F, Habashi J, Holm T, Van Erp C, Loch D, et al. Circulating transforming growth factor-beta in Marfan syndrome. *Circulation*. 2009;120(6):526-32.
121. Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, et al. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev*. 2003;124(4):487-93.
122. Peterson PK, Chao CC, Carson P, Hu S, Nichol K, Janoff EN. Levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin 6, interleukin 10, and transforming growth factor beta are normal in the serum of the healthy elderly. *Clin Infect Dis*. 1994;19(6):1158-9.
123. Felber J, Bläker H, Fischbach W, Koletzko S, Laaß M, Lachmann N, et al. Aktualisierte S2k-Leitlinie Zöliakie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS). *Z Gastroenterol*. 2022;60(5):790-856.
124. Czarkowska-Paczek B, Bartłomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. *J Physiol Pharmacol*. 2006;57(2):189-97.

Danksagung

Ich möchte an erster Stelle meiner Betreuerin Frau Dr. med. Veronika Stark danken, die mich von den ersten Schritten bis zur Abgabe exzellent betreut hat und stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Insbesondere danke ich für die nicht nachlassende Ausdauer und Motivation über die vielen Jahre. Auch möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Thomas Mir für die Unterstützung während der gesamten Promotion danken.

Herrn Prof. Dr. med. Rainer Kozlik-Feldmann und Herrn Prof. Dr. med. Michael Hübler gilt mein Dank für die Möglichkeit, in der Klinik für Kinderherzmedizin und Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern promovieren zu dürfen, Frau Prof. Dr. rer. nat. Tanja Zeller danke ich, dass ich in Ihrem Labor meine Versuche durchführen konnte.

Darüber hinaus danke ich allen Mitarbeiter:innen der Kinderherzmedizin und der Kinderklinik auf Station, in der Ambulanz und im Büro sowie allen Mitarbeiter:innen im Labor, die mir in so vieler Art und Weise bei der Proband:innenrekrutierung, Probengewinnung und -verarbeitung geholfen haben. Es hat mir sehr viel Freude bereitet, mit euch zusammenzuarbeiten und ich behalte viele schöne Erinnerungen an unsere gemeinsame Zeit.

Frau Maria Stark vom Institut für Epidemiologie und Biometrie danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Arbeit.

Am Ende gilt mein Dank all meinen Freundinnen und Freunden, Camilla, meinen Brüdern und allen voran meinen Eltern: Vielen Dank für Motivation, Geduld und Zuversicht über die vielen Jahre.

Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: