

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. J. Dötsch

Asprosin als molekularer Marker für das Marfan-Syndrom

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Julius Johannes Klaßen
aus Osnabrück

promoviert am 04. Februar 2025

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln
Druckjahr: 2025

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink
1. Gutachter: Professor Dr. rer. nat. G. F. Sengle
2. Gutachter: Privatdozent Dr. med. W. Ahmad

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Herr Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Sengle (Leiter der Arbeitsgruppe Angeborene Bindegewebserkrankungen, Fibrilopathien an der Klinik und Poliklinik für Kinder-/ Jugendmedizin an der Universität zu Köln), Frau Dr. med. Verena Strunz (Fachärztin, Kinder- und Jugendmedizin mit dem Schwerpunkt Kinderkardiologie, Klinik und Poliklinik für Kinderkardiologie der Universität zu Köln), Herr Dr. med. Christopher Hohmann (Facharzt, Kardiologie, Schwerpunkt EMAH, Klinik III für Innere Medizin der Universität zu Köln), Herr Dr. med. Philipp von Stein (Assistenzarzt, Kardiologie, Schwerpunkt EMAH, Klinik III für Innere Medizin der Universität zu Köln), Frau PD Dr. med. Iliana Tantcheva-Poór (Fachärztin für Dermatologie, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie an der Universität zu Köln), Dr. rer. nat. Yousef Morcos (Postdoctoral Researcher, AG Sengle: Angeborene Bindegewebserkrankungen, Fibrilopathien an der Klinik und Poliklinik für Kinder-/ Jugendmedizin an der Universität zu Köln), Antje Gerken (Technische Assistentin, AG Sengle).

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Bei der Auswahl der Patienten für diese Arbeit wurde ich von Frau Dr. Strunz in der

Kinderkardiologie, von Herrn Dr. Hohmann und Herrn Dr. von Stein in der Kardiologie und von Frau PD Dr. Tantcheva-Poór in der Dermatologie unterstützt.

Die für diese Arbeit benötigten Speichelproben sind von mir selbst in der Klinik und Poliklinik für Kinderkardiologie, in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie und in der Klinik III für Innere Medizin, Kardiologie in der Universitätsklinik Köln gewonnen worden.

Die klinischen Daten der Patienten wurden von mir selbst herausgesucht, erhoben, dokumentiert und ausgewertet.

Die in dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente sind zum größeren Anteil von Dr. rer. nat. Yousef Morcos und Antje Gertken im Labor der AG Sengle durchgeführt worden.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 14.09.2024

Unterschrift:

Danksagung

Hiermit möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Sengle für die Möglichkeit, unter seiner Aufsicht diese Doktorarbeit schreiben zu können, danken. Ich habe mich sehr über den freundlichen Umgang und die positiven Anregungen der letzten Jahre gefreut.

Ebenfalls danke ich den Kollegen aus den Kliniken: Frau Dr. Verena Strunz, Herrn Dr. Philipp von Stein, Herrn Dr. Christopher Hohmann und Frau PD Dr. Iliana Tantcheva-Poór, die mich bei der Auswahl der Patienten und Probanden tatkräftig unterstützt haben. Durch den gemeinsamen Praxisalltag durfte ich neben spannenden Einblicken in verschiedene Arbeitsbereiche verschiedener Kliniken auch den individuellen Arzt-Patienten-Umgang kennenlernen, der mich sicher für meine Zukunft prägen wird.

An dieser Stelle möchte ich mich auch noch ausdrücklich bei Herrn Dr. rer. nat. Yousef Morcos bedanken, der mit seiner Expertise und seinen Kenntnissen zur ELISA-Auswertung zum Thema Asprosin einen großen Beitrag zu dieser Arbeit geleistet hat. Die Zeiten im Labor haben meine Vorstellung von wissenschaftlichen Arbeiten sehr positiv geprägt und die Zusammenarbeit habe ich sehr wertgeschätzt.

An dieser Stelle bedanke ich mich auch an allen teilnehmenden Patienten und Probanden, die sich bereit erklärt haben, an dieser Studie teilzunehmen. Der Dank ist insbesondere an die Geduld und das Verständnis der Eltern teilnehmender Kinder zu richten. Herzlichen Dank geht auch an alle Mitarbeiter der Ambulanzen der Kinderkardiologie, der Klinik III der Inneren Medizin und der Dermatologie und Venerologie.

Außerdem danke ich den mir nahestehenden Menschen, die mir in dieser Zeit Zuspruch und Selbstvertrauen gegeben haben: Meiner Familie, meinen Freunden.

Für meine Eltern.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1. ZUSAMMENFASSUNG	10
2. EINLEITUNG	11
2.1. Die Rolle von Fibrillin-1 in der extrazellulären Matrix (EZM)	11
2.1.1. Die EZM ist kein toter Raum	11
2.1.2. Die EZM als Vermittler von Biomechanik und Stoffwechselaktivität	11
2.1.3. Matrikine als Signalgeber	11
2.1.4. Fibrillin als wichtiges Strukturprotein in der EZM	12
2.1.5. Asprosin: Das Matrikin des Fibrillin-1	14
2.1.6. Medizinische Bedeutung des Asprosins	15
2.2. <i>FBN1</i> Mutationen führen zum Marfan-Syndrom	18
2.2.1. Das Marfan-Syndrom: Epidemiologie	19
2.2.2. Klinik	19
2.2.3. Diagnostik	22
2.2.4. Differenzialdiagnosen zum Marfan-Syndrom	24
2.2.5. Therapie und Prophylaxe	24
2.3. Fragestellungen und Ziel der Arbeit	26
3. MATERIAL UND METHODEN	27
3.1. Aufbau der Studie	27
3.1.1. Patienten- und Probandenkollektiv	27
3.1.2. Zu ermittelnde Zielgröße und Einflussgrößen	28
3.2. Studienablauf	31
3.2.1. Vorbereitung der Studie	31
3.2.2. Speichelabnahme und Kryokonservierung nach SOP	31
3.2.3. Experimentelle Auswertung: Labormedizinische ELISA-Messung	33
3.3. Statistik	36
4. ERGEBNISSE	37
4.1. Kohortenbeschreibung	37

4.2.	Asprosin in MFS ist nicht erniedrigt	38
4.3.	Asprosin in Kontroll-Kohorte	39
4.3.1.	Asprosin in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht	39
4.3.2.	Asprosin in Abhängigkeit von der Nüchternzeit	42
4.3.3.	Asprosin in Abhängigkeit von der Konstitution	42
4.4.	Asprosin in MFS-Kohorte	45
4.4.1.	Asprosin in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht	45
4.4.2.	Asprosin in Abhängigkeit von der Nüchternzeit	47
4.4.3.	Asprosin in Abhängigkeit von der Konstitution	48
4.5.	Asprosin bei MFS unter kardiologischer Betrachtung	50
4.5.1.	Z-Score	51
4.5.2.	Aorta-Operation	53
4.6.	Asprosin: Hautscore, Verwandtschaft	55
5.	DISKUSSION	57
5.1.	Hintergrund und Einordnung der Studie	57
5.2.	Asprosin in MFS nicht reduziert	58
5.3.	Asprosin unter Betrachtung von Einflussgrößen	58
5.3.1.	Asprosin steigt unter Fasten an	58
5.3.2.	Asprosin ist im mittleren Lebensalter erhöht	58
5.3.3.	Asprosin bei Frauen im reproduktionsfähigem Alter erhöht	59
5.3.4.	Asprosin unter konstitutionellem Einfluss	59
5.4.	<i>FBN1</i> Mutation nimmt Einfluss auf Asprosin	60
5.5.	Asprosin bei MFS unter kardiologischer Betrachtung	62
5.5.1.	MFS Patienten entwickeln eine Aortendilatation	62
5.5.2.	Asprosin als Hinweis für den Schweregrad von MFS	62
5.6.	Hautscore	65
5.7.	Ausblick	65
6.	LITERATURVERZEICHNIS	67
7.	ANHANG	72

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Beschreibung
AgRP ⁺	Agouti-Related-Peptide positive
AN	Anorexia nervosa
AS	Aminosäure
AT-1 Blocker	Angiotensin-1-Rezeptor-Blocker
BMI	Body-Mass-Index
cAMP-PKA	cyclisches Adenosinmonophosphat – Proteinkinase A
DD	Differenzialdiagnose
DM	Diabetes mellitus
EDS	Ehlers-Danlos-Syndrom
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMAH	Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EZM	Extrazelluläre Matrix
GABA	Gamma-Aminosäurebuttersäure
FBN	Fibrillin
FMF	Fibrillin-Mikrofibrille
IOP	Intraokularlinsen-Implantation
kDa	Kilodalton
KOF	Körperoberfläche
m	männlich
MMP	Matrix Metalloprotease
MFLS	Marfanoid-progeroid-lipodystrophy-syndrome
MFS	Marfan-Syndrom
M	Mittelwert
NF-κB	Nuclear-Factor-Kappa-B
nm	nanomolar
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
Pat.-ID	Patienten-Identifikation
PBS	Phosphate Buffered Saline
PKCδ	Proteinkinase C-δ
POMC	Proopiomelanocortin
PCOS	Polycystisches Ovar-Syndrom
Ptprd	Protein-Tyrosin-Phosphatase-Rezeptor δ
SD	Standardabweichung

SGLT-2	Sodium-Glucose Linked Transporter 2
TAAD	Thorakale abdominale Aortendissektion
TGF- β	Transforming-Growth-Factor- β
TNF	Tumornekrosefaktor
TLR-4	Toll-like-receptor-4
T1DM	Typ1 Diabetes mellitus
T2DM	Typ2 Diabetes mellitus
w	weiblich
ZNS	Zentrale Nervensystem

1. Zusammenfassung

Patienten mit Marfan-Syndrom zeichnen sich morphologisch durch einen typischen asthenischen Hochwuchs und gleichzeitige Arachnodaktylie aus. Klinisch betrachtet besteht das größte Risiko in der Entwicklung einer progressiven Aortendilatation, die nicht selten tödlich durch eine Ruptur oder Dissektion endet. Marfan-Syndrom wird durch Mutationen im *FBN1* Gen verursacht, welche mit Störungen der Fibrillin-1 Synthese einhergehen. Dies führt zu einer beeinträchtigten Integrität und Stabilität der extrazellulären Matrix.

Vor einigen Jahren wurde ein hauptsächlich aus dem weißen Fettgewebe stammendes Hormon namens Asprosin entdeckt. Dieses entsteht als Spaltprodukt während der Synthese von Fibrillin-1 und weist metabolische Aktivität auf. Es unterliegt einer zirkadianen Rhythmik, die an den Hungerzustand gekoppelt ist, und im ZNS nicht nur einen Hungerstimulus erzeugt, sondern auch in der Leber Glucose freisetzt. Verschiedene Arbeiten stellten die Bedeutung von Asprosin im Kontext mit Erkrankungen des metabolischen Syndroms dar oder prognostizierten das Potential von Asprosin entweder als mögliches Markerhormon oder aber als mögliche Zielstruktur in pharmakologischen Zusammenhängen.

Angesichts des gemeinsamen Vorläuferproteins von Fibrillin-1 und Asprosin sowie der metabolischen Rolle des Asprosins auf marfanoide Phänotypen scheint ein Zusammenhang zwischen Marfan-Syndrom und Asprosin plausibel.

In dieser Arbeit wurde eine umfassende klinische Querschnittsstudie im Fall-Kontroll-Vergleich von insgesamt 130 Patienten bei Kindern und Erwachsenen mit quantitativer Analyse des Asprosins im Speichel durchgeführt. Ziel dieser Studie war es, die Bedeutung von Asprosin als molekularen Marker für Marfan-Syndrom im Hinblick auf verschiedene klinische Einflussgrößen zu untersuchen.

Die Ergebnisse zeigen, dass Asprosin weniger zur Erstdiagnose des Marfan-Syndroms geeignet ist, sondern sich vielmehr als ein risikostratifizierender Marker hinsichtlich Aortendilatation und potenzieller Operationsindikation eignet. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Messung von Asprosin im Speichel eine nicht-invasive Möglichkeit zur Bestimmung von Asprosin darstellt.

2. Einleitung

2.1. Die Rolle von Fibrillin-1 in der extrazellulären Matrix (EZM)

2.1.1. Die EZM ist kein toter Raum

Die EZM stellt die Mikroumgebung der Zellen dar. Hier befinden sich verschiedene Makromoleküle, die ein komplexes strukturgebendes Netzwerk bilden¹. Sie wird durch die umgebenden Zellen produziert und nimmt selbst im Sinne eines Regelkreises rückwirkend Einfluss auf das Verhalten und die Funktion der Zellen². Zellen erhalten Signale nicht nur von Zytokinen, Hormonen und Wachstumsfaktoren, sondern auch von speziellen Fragmenten der Makromoleküle, die die EZM bilden. Diese nennen sich allgemein Matrikine und sind von interessanter Bedeutung³. Die EZM stellt keinen toten Raum dar, sondern formt vielmehr im Verbund mit Zellen Gewebe und Organe und spielt eine bedeutende stoffwechselaktive Rolle^{1,4}.

2.1.2. Die EZM als Vermittler von Biomechanik und Stoffwechselaktivität

Physiologisch lässt sich der Aufbau der EZM in zwei Bereiche unterteilen: Einerseits formgebende Faserproteine und andererseits eine ausfüllende Grundsubstanz, bestehend aus Glykoproteinen und Proteoglykanen. Zu den Faserproteinen gehören die Kollagene, die quantitativ am bedeutendsten sind, sowie Hauptkomponenten elastischer Fasern wie Elastin und Fibrillin-1. Diese binden sich gegenseitig und bilden mit oberflächlichen Zelladhäsionsrezeptoren wie den Integrinen das extrazelluläre Strukturgerüst, welches den Geweben und Organen ihre biomechanischen Eigenschaften verleiht^{1,5-7}.

Dieses Gerüst ist nicht starr, sondern durch ständige Umbauprozesse hochdynamisch, wodurch sich auch die Stoffwechsel bezogene Aktivität der EZM verändert⁴.

Einerseits sind EZM Proteine in der Lage, lösliche Wachstumsfaktoren zu binden und dadurch die Verteilung, Präsenz und Bioaktivität dieser für Zellen zu regulieren, andererseits leiten sie über ihre direkte Zell-Matrix-Adhäsion Signale an die Zellen weiter^{1,5}.

Stoffwechselphysiologisch besteht sowohl auf Ebene des Zellmetabolismus ein Einfluss der EZM auf Proliferation, Differenzierung und Wachstum als auch auf Gewebe- und Organebene beispielsweise hinsichtlich Angiogenese, Knochenumbau und Wundheilung. Störungen in der EZM Zusammensetzung sind meist mit pathologischen Mechanismen in Geweben verbunden und können mit einem fibrosierenden oder tumorösem Zustand einhergehen^{1,4}.

2.1.3. Matrikine als Signalgeber

Matrikine sind EZM Proteinfragmente, die biologische Aktivität zeigen und sich von den ursprünglichen Aufgaben des Vorläuferproteins unterscheiden. Sie werden entweder im Verlauf der Biosynthese durch enzymatische oder nicht-enzymatische Spaltung vom Proteinvorläufer

gebildet oder aber entstehen bei einem fortschreitenden Gewebeschaden mit einhergehender EZM Degradation^{3,6,8}. Die Freisetzung dieser bioaktiven Proteinfragmente erfolgt beispielsweise durch Metalloproteasen (MMP)^{9,10} oder Propeptidkonvertasen wie Furin^{11,12}. Es gibt eine Vielzahl an EZM Proteinen, aus denen verschiedene Matrikine entstehen. Einige werden ins Blut abgegeben und zeigen somit auch an peripheren Rezeptoren Effekte, weshalb hier auch von hormonähnlichen Spaltprodukt-Peptiden gesprochen werden kann¹¹.

Funktionell spielen diese Spaltprodukte keine Rolle für die Gerüstarchitektur, sondern haben ihre Aufgabe einzig in der Signalwirkung auf Zellen hinsichtlich Proliferation, Migration, Proteaseproduktion und Apoptose, weshalb einigen Matrikinen auch eine Rolle in der Tumorprogression zugeschrieben wird⁹.

Zu hormonähnlich wirkenden Matrikinen gehören beispielsweise Asprosin und Placensin, die in der Biosynthese von Fibrillin-1 beziehungsweise Fibrillin-2 entstehen und glucogene Eigenschaften aufweisen^{11,12}. Endotrophin, das Spaltprodukt von Kollagen-VI, hingegen fördert tumoröse Eigenschaften wie Angiogenese, Fibrose und Entzündung, während das Kollagen-XVIII-Spaltprodukt Endostatin antiproliferative und somit positive antifibrotische Effekte bewirkt^{13,14}. Darüber hinaus zeigt sich auch eine Beteiligung von Matrikinen an der Pathogenese von pulmonalen Erkrankungen oder Atherosklerose^{6,15}.

2.1.4. Fibrillin als wichtiges Strukturprotein in der EZM

Fibrillin-1 ist ein in der EZM vorkommendes Faserprotein, welches zusammen mit Elastin am Aufbau von elastischen Fasern beteiligt ist⁷. Diese sind Bestandteil verschiedener elastischer Gewebe, vor allem von Haut, Lunge und Blutgefäße¹⁶.

Biochemie und Physiologie von Fibrillin-1

Fibrilline (Fibrillin-1, -2, und -3) stellen mit 350 kDa vergleichsweise große Glykoproteine der EZM dar¹⁷. Extrazellulär organisieren sie sich zu Fibrillin-Mikrofibrillen (FMF), die allein oder in Kombination mit Elastin dem Bindegewebe die erforderliche Biomechanik verleihen^{18,19}.

Drei verschiedene Gene (*FBN1*, *FBN2* und *FBN3*) exprimieren beim Menschen entsprechend auch drei verschiedene Fibrilline, die sich sowohl hinsichtlich Zeitpunkt der Synthese als auch Funktion unterscheiden²⁰. Fibrillin-2 und Fibrillin-3 werden hauptsächlich während der Embryogenese und peripartal produziert, Fibrillin-1 hingegen zeitlebens konstant²¹. Bezüglich des Einflusses auf elastische Fasern konnte gezeigt werden, dass Fibrillin-2 in den frühen Prozessen der elastischen Faserbildung eine regulierende Funktion übernimmt, während Fibrillin-1 als struktur- und kraftgebende Komponente vor allem eine wichtige Funktion für die Gewebemöbilität hat^{18,22}.

Die extrazellulär organisierten FMF zeigen sich in einer charakteristischen Form als „Perlen an einer Schnur“²³ bei einem Durchmesser von 10-12 nm^{17,24}. Die Mikrofibrillen dienen als Gerüst

für Tropoelastin Ablagerung und sind somit fester Bestandteil reifer elastischer Fasern, deren Elastizität sich vor allem in größeren arteriellen Gefäßen, in der Haut oder im Lungengewebe zeigt. Die Mikrofibrillen fungieren hier als Rückstellkraft nach erfolgter Dehnung^{23,25}. Auch in den Zonulafasern, die die Linse des Auges stabilisieren, oder in der Knochensubstanz lassen sich FMF nachweisen^{17,26}.

Fibrilline sind zudem an der Speicherung und Regulation der Bioverfügbarkeit von Wachstumsfaktoren der transforming-growth-factor- β -Superfamilie (TGF- β) beteiligt^{19,27}. TGF- β wirkt parakrin und reguliert verschiedene Prozesse wie Embryonalentwicklung, Zellwachstum, Apoptoseinduktion, Kollagenproduktion oder den Umbau der EZM²⁸.

FMF sind somit omnipräsent im humanen Bindegewebe und haben nicht nur durch ihre Elastizität eine biomechanische Funktion, sondern sind auch an der extrazellulären Kontrolle von Signalereignisse beteiligt²⁹.

Fibrillin-1

Fibrillin-1 wird durch das an chromosomaler Position 15q21.1 befindliche *FBN1* Gen codiert^{28,30}. Das zunächst translatierte und 2871 Aminosäuren (AS) umfassende Profibrillin-1 wird durch die Propeptidkonvertase Furin am C-terminalen Ende gespalten. Es entsteht zum einen das reife Fibrillin-1, welches nun in die EZM sezerniert werden kann, und andererseits das C-terminale Spaltprodukt. Dieses Spaltprodukt hat eine Größe von 140 AS und wurde von Romere *et al.* Asprosin genannt. Der Name ist abgeleitet vom griechischen Wort für „weiß“ und bezieht sich auf das weiße Fettgewebe, welches als eine der maßgeblichen Bildungsquellen für Asprosin angesehen wird¹¹.

Es wird zudem beschrieben, dass nur das reife, korrekt gespaltene Fibrillin-1 die Zelle extrazellulär verlässt und in die EZM eingebaut werden kann. Ergeben sich Mutationen im Bereich der Furin-Spaltstelle unterbleibt diese Spaltung mit der Folge, dass das nicht korrekt gebildete Fibrillin-1 die Zelle nicht verlassen kann³¹.

Asprosin ist aber kein Proteinfragment ohne jegliche Funktion als vielmehr ein vielversprechender Kandidat für pharmakologische Therapien im Bereich von Volkserkrankungen wie Adipositas oder Diabetes mellitus. Dies ist darin begründet, dass Asprosin als Matrikin diverse stoffwechselrelevante Funktionen aufweist^{11,32}.

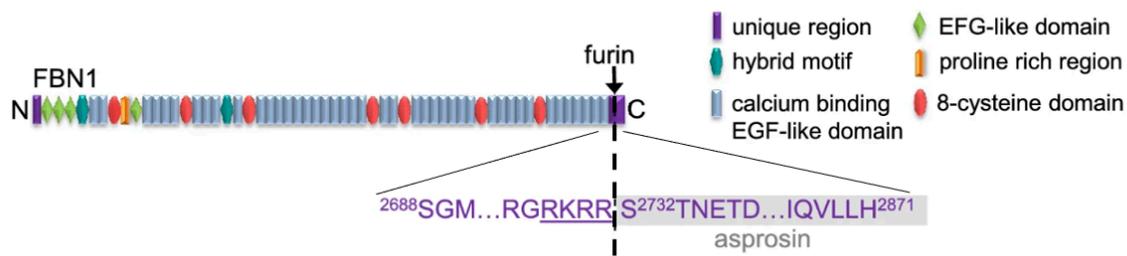


Abbildung 1: Abspaltung von Asprosin von Profilin-1 am C-terminalen Ende durch Furin. Die Spaltstelle von Furin ist mit einem Pfeil markiert und die Spaltungssequenz unterstrichen. Asprosin umfasst 140 Aminosäuren (S2732-H2871). Dargestellt sind auch die einzelnen Domänen von Profilin-1. Eigene Darstellung in Anlehnung an ³³.

2.1.5. Asprosin: Das Matrikin des Fibrillin-1

Das in der Bildung von Fibrillin-1 anfallende Spaltprodukt Asprosin ist ein glykogenwirkendes Matrikin, welches einer zirkadianen Rhythmik unterliegt und die Leber als funktionelles Zielorgan hat. Asprosin gelangt hormonähnlich über den Blutfluss zu verschiedenen Rezeptoren unterschiedlicher Organe, um seine Wirkung zu entfalten. Seine Bildung und Freisetzung erfolgt zu einem Großteil im weißen Fettgewebe und Lungengewebe, jedoch wird auch berichtet, dass kleinere Organe wie Speicheldrüsen in der Lage sind, Asprosin zu synthetisieren. Der quantitative Nachweis von Asprosin bewegt sich in der Größenordnung nanomolarer (nm) Konzentrationen und gelingt sowohl im Plasma als auch im Speichel^{11,34,35}.

Die zirkadiane Rhythmik von Asprosin ist eng an die Nahrungsaufnahme und dem Hungerzustand gekoppelt. So zeigt sich eine nächtliche, durch Fasten induzierte Erhöhung dieses Hormons, welche sich durch die über Tag gekoppelte Nahrungsaufnahme wieder reduziert¹¹.

Die Leber gilt als Zielorgan von Asprosin, wo es über den hepatischen OLF734- G-Proteingekoppelten Rezeptor über den cAMP-PKA-Weg (cyclisches Adenomonophosphat – Proteinkinase A) eine schnelle Glucosefreisetzung bewirkt. Die durch den Anstieg des Blutzuckers bedingte Insulinfreisetzung wiederum wirkt inhibierend auf die Asprosinsekretion. MgR-Mäuse, die genetisch bedingt verminderte Asprosin-Konzentrationen im Plasma aufweisen, zeigten im Fastentest hypoglykämische Stoffwechsellagen, die sich durch die rekombinante Gabe von Asprosin stabilisieren ließen^{11,36-38}.

Über die Steuerfunktion des Insulinhaushalts hat Asprosin auch einen Einfluss auf den Glucose-Plasma-Haushalt. So konnte gezeigt werden, dass Asprosin zum einen in den β -Zellen des Pankreas die Insulinsekretion reduziert und zum anderen die Sensibilität von Muskelzellen gegenüber Insulin beeinträchtigt^{11,38,39}.

Im Jahr 2009 durchgeführte Forschungsarbeiten von an Diabetes mellitus (DM) erkrankten Patienten stellten dar, dass die verringerte Insulinsekretion und Apoptose der β -Zellen über eine

Entzündungsreaktion durch Aktivierung des Toll-like-receptors-4 (TLR4) induziert wird⁴⁰. Asprosin führt neben einer vermehrten Expression dieses TLR-4 auch zu einer erhöhten Phosphorylierung des Entzündungsmarkers Nuclear-Factor-Kappa-B (NF-κB) und Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine wie Tumornekrosefaktor (TNF). Dadurch entwickeln sich inflammatorische Prozesse mit resultierender Dysfunktion der pankreatischen β-Zellen und reduzierter Insulinsekretion⁴¹.

Analog dazu zeigten *in-vitro* Untersuchungen an Muskelzellen, dass Asprosin einen Anstieg von Entzündungsmediatoren und Proteinkinase C-δ (PKCδ) vermittelten Stressmarkern des endoplasmatischen Retikulums (ER) bedingt. Auch hier ergeben sich daraus Entzündungsprozesse, die zu einer reduzierten Insulinsensibilität mit verminderter Glucoseaufnahme führen³⁹.

Zudem konnte im Mausversuch auch eine Wirkung im zentralen Nervensystem (ZNS) nachgewiesen werden. Demzufolge ist Asprosin in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und im Hypothalamus als Ligand des Protein-Tyrosin-Phosphatase-Rezeptors δ (Ptprd) orexigene AgRP⁺-Neurone (Agouti-related-peptide-Neurone) zu aktivieren⁴². Diese inhibieren nachgeschaltete GABA (Gamma-Aminosäurebuttersäure) abhängige anorexigene POMC (Proopiomelanocortin)-positive Neuronen, sodass es zu einem Hungergefühl und Appetitanregung kommt. Dies lässt darauf schließen, dass erhöhte Plasmakonzentrationen von Asprosin mit einem gesteigerten Hungergefühl einhergehen⁴³.

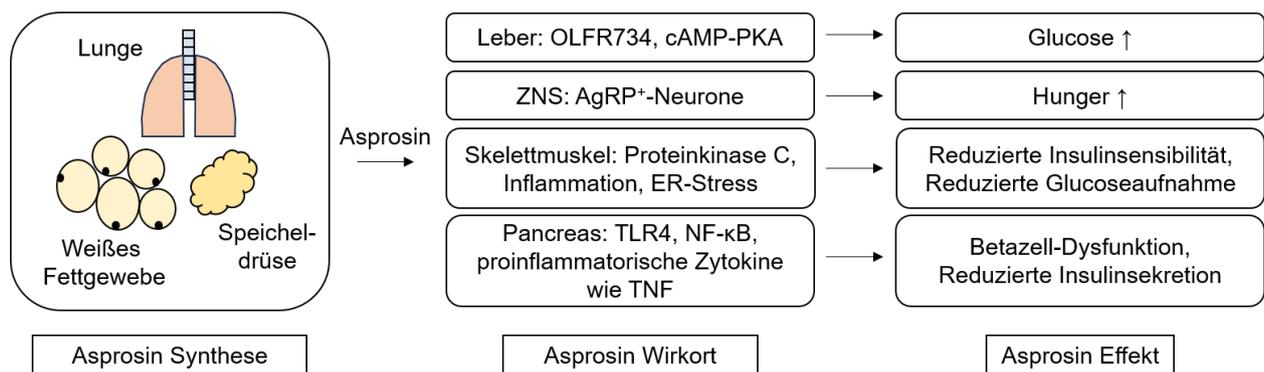


Abbildung 2: Überblick über die metabolischen Effekte von Asprosin. Die Sekretion erfolgt im weißen Fettgewebe, Lungengewebe und Speicheldrüsen. Über das Gefäßsystem erfolgt physiologisch eine hepatische Glucosefreisetzung und eine Appetitanregung im ZNS. Zusätzlich kommt es zu Inflamationsprozessen im Pankreas mit reduzierter Insulinsekretion und im Skelettmuskel mit reduzierter Insulinsensibilität. Eigene Darstellung in Anlehnung an⁴⁴.

2.1.6. Medizinische Bedeutung des Asprosin

Nach der Entdeckung und erstmaligen Beschreibung des C-terminalen Spaltprodukts von Fibrillin-1 als Asprosin durch Romere *et al.* im Jahre 2016 folgte eine Fülle weiterer

Forschungsarbeiten, die die Rolle dieses metabolisch aktiven Matrikins im Zusammenhang verschiedener Erkrankungen untersuchten¹¹.

So ließen sich bei Patienten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern pathologisch veränderte Asprosinkonzentrationen im Plasma nachweisen.

Asprosin und Energiehaushalt

Bei Patienten mit metabolischem Syndrom ließ sich allgemein zeigen, dass diese pathologisch erhöhte Asprosinkonzentrationen im Plasma aufwiesen⁴⁵. Das metabolische Syndrom umfasst verschiedene klinische und metabolische Faktoren wie Adipositas, Insulinresistenz, arterielle Hypertonie und atherosklerotische Dyslipidämie, die sich gegenseitig bedingen und zu einem erhöhten kardiovaskulären Risiko führen. Es ließ sich zeigen, dass nicht nur das metabolische Syndrom mit seinen einzelnen klinischen Faktoren mit einer erhöhten Plasma Asprosin Konzentration assoziiert ist, sondern auch die klinischen Folgen des metabolischen Syndroms mit dieser einhergehen^{45,46}.

Expliziter ließ sich dieser Asprosin Plasmaanstieg für Patienten mit Insulinresistenz^{11,33}, Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM)⁴⁷ oder T2DM⁴⁸⁻⁵⁰ zeigen. Bei T2DM-Patienten konnte darüber hinaus auch der physiologische Konzentrationsabfall von Asprosin nach Anstieg der Blutglucose nicht mehr nachgewiesen werden, was auf eine Dysregulation und Etablierung des DM hinweist⁵¹. Außerdem ließ sich auch die oftmals bei einer DM-Erkrankung als Folgeerkrankung einhergehende diabetische Nephropathie positiv mit erhöhten Asprosin-Levels korrelieren⁵². Erhöhte Asprosin Plasmakonzentrationen zeigten sich auch bei Patienten mit einer non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), die sich meist in der Folge von Insulinresistenz und DM etabliert^{47,53}.

Ein positiver Zusammenhang fand sich zudem zwischen Adipositas und erhöhten Asprosin-Plasmakonzentrationen, was auch dahingehend nachvollziehbar ist, da das weiße Fettgewebe bekanntlich als der hauptsächliche Synthesort gilt^{11,32,34,36,54}. Interessant sind die Erkenntnisse aus zwei Arbeiten, die sich mit der Veränderung der Plasmakonzentration beschäftigt haben. So konnte gezeigt werden, dass sich die einst erhöhten Asprosin-Plasmaspiegel adipöser Patienten durch bariatrische Operationen und einer folglich Gewichtsreduktion reduzieren ließen⁵⁴. Demgegenüber stehen Untersuchungen, die bei Patienten mit Anorexia nervosa (AN) durchgeführt wurden und zeigten, dass diese zu Beginn ihrer Erkrankung Hunger induziert erhöhte Asprosinpiegel aufzeigten, welche sich aber im Verlauf durch den progredienten Verlust von Fettgewebe verringerten^{55,56}. Ein niedriges Asprosinlevel wiesen auch tumorbedingt kachektische Patienten und Patienten mit einer Akromegalie auf, was nochmals die starke Korrelation von Body-Mass-Index (BMI) und Asprosin-Plasmaspiegel belegt^{56,57}. Eine Analogie eines erhöhten Asprosinpiegels bei adipösen Kindern und Jugendlichen ließ sich bisher nicht eindeutig bestätigen⁵⁸⁻⁶⁰.

Asprosin und kardiovaskuläre Erkrankungen

Es ist bekannt, dass das metabolische Syndrom als eines der Hauptrisikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen verantwortlich ist⁶¹ und gleichzeitig mit erhöhten Plasmaspiegeln für Asprosin einhergeht⁴⁵. Daran anlehnend ließen sich auch bei Patienten mit atherosklerotisch bedingten Plaques in den Carotiden oder Patienten mit einer instabilen Angina pectoris erhöhte Asprosin-Konzentrationen im Plasma messen^{62,63}.

Asprosin und Karzinome

Verschiedene Arbeiten stellten zudem eine Korrelation zwischen Asprosin und Karzinomen her. So wurde beschrieben, dass Asprosin als ein Biomarker für maligne Mesotheliome und Pankreas-Karzinome angesehen werden kann^{64,65}. Ebenfalls wurde eine erhöhte Asprosin-Konzentration bei Patienten mit invasivem duktalem Brustkrebs beschrieben⁶⁶.

Gynäkologisch

Darüber hinaus konnten erhöhte Asprosin-Konzentrationen bei Vorliegen des polycystischen Ovar-Syndroms (PCOS)^{36,67,68} oder bei Auftreten einer Präeklampsie oder eines Gestationsdiabetes gemessen werden⁶⁹.

Aufgrund seiner metabolisch vielseitigen Rolle stellt Asprosin eine interessante therapeutische Zielstruktur dar. Bei adipösen Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine gegen Asprosin gerichtete Antikörpertherapie über eine Senkung der Asprosinlevel zu einer Verringerung des Körpergewichts, einer Abnahme des Appetits sowie zu einer Wiederherstellung reduzierter Blutzuckerwerte führt⁷⁰. Denkbar sind somit Indikationen bei Patienten mit einem T2DM^{11,41} und Adipositas³². Andere Forschungsarbeiten haben aber auch gezeigt, dass sich die Asprosin-Konzentration im Plasma über andere Wege, und zwar durch eine SGLT2-Hemmer-Therapie (sodium-glucose linked transporter 2)⁷¹ oder durch bariatrische Operationen⁵⁴ senken lässt, sodass eine Erreichung genannter Effekte auch so denkbar wäre.

Demgegenüber scheint therapeutisch auch eine bewusste Gabe von Appetit anregendem rekombinantem Asprosin bei Patienten hilfreich, die beispielsweise im Rahmen eines Karzinomleidens ein reduziertes Hungergefühl haben⁵⁶.

Weitere Forschungsarbeiten sind daher noch nötig, um die klinische Bedeutung und die therapeutischen Möglichkeiten des Asprosin zu klären.

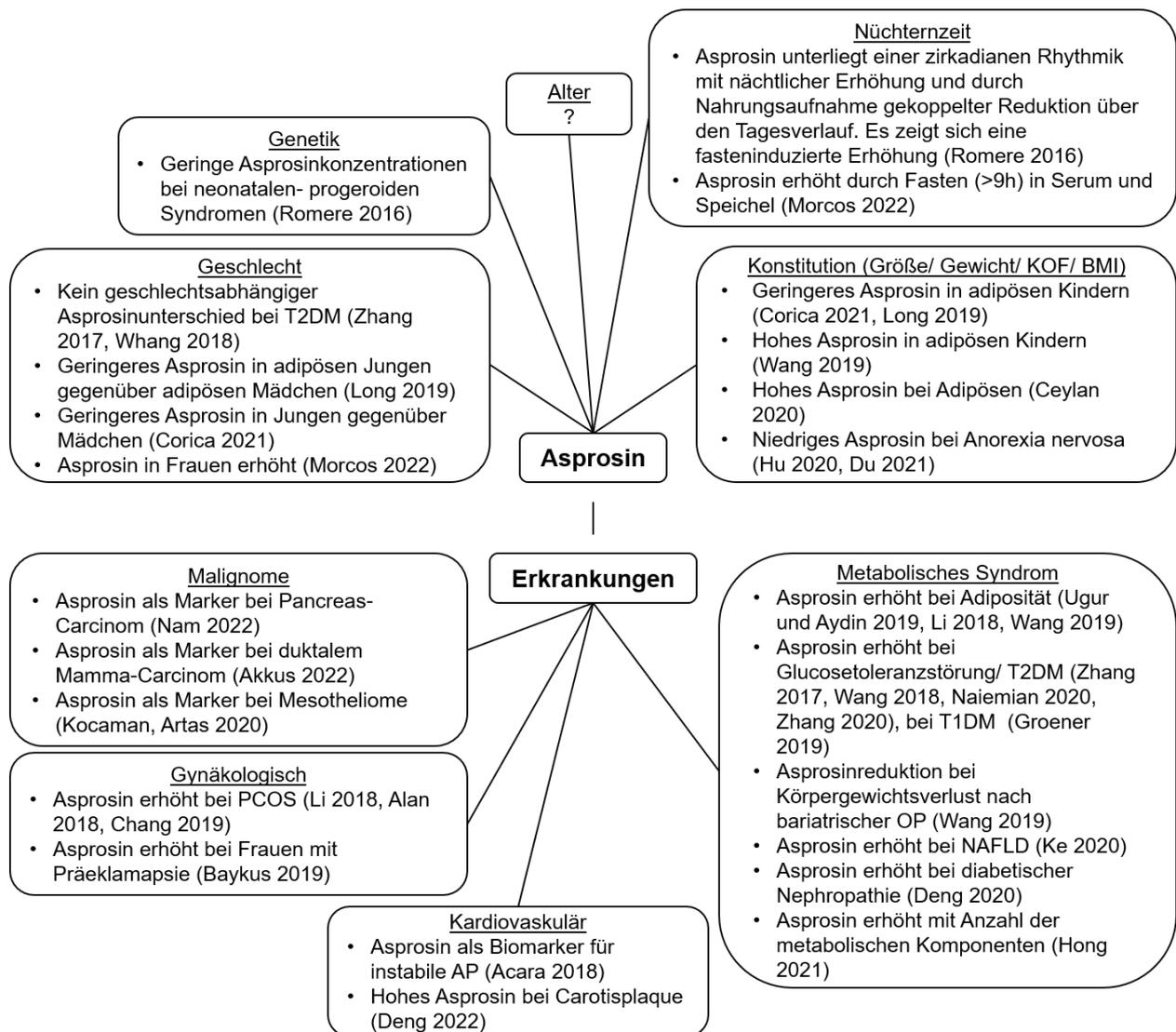


Abbildung 3: Die AsprosinKonzentration steht in Abhängigkeit von verschiedenen Einflussgrößen: Genetik, Konstitution, Geschlecht, Nüchternzeit und Alter. Es gibt allerdings auch eine Vielzahl von Erkrankungen, die mit einer veränderten AsprosinKonzentration einhergehen. Hierzu zählen kardiovaskuläre, gynäkologische und maligne Erkrankungen oder Erkrankungen im Rahmen des metabolischen Syndroms.

2.2. *FBN1* Mutationen führen zum Marfan-Syndrom

Das Marfan-Syndrom (MFS) ist eine hereditäre Bindegewebserkrankung, die ihren Ursprung in einer Mutation im für Fibrillin-1 codierenden *FBN1* Gen hat. Morphologisch zeichnet es sich durch einen typischen asthenischen Hochwuchs und vergleichsweise lange Extremitäten aus. Ein besonderes Augenmerk gehört der kardiologischen Untersuchung der Aorta von MFS Patienten, da hier ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung lebensgefährlicher pathologischer Prozesse wie Aneurysmen und Dissektionen besteht^{30,72}.

2.2.1. Das Marfan-Syndrom: Epidemiologie

Das MFS geht auf Antoine Bernard-Jean Marfan zurück, der im Jahre 1896 erstmals die typischen Symptome dieses Syndroms beschrieb⁷³.

Mit einer Prävalenz von zwei bis drei Betroffenen auf 10000 Menschen stellt es die häufigste hereditäre Bindegewebserkrankung mit vaskulärer Beteiligung dar^{30,72,74}. Die *FBN1* Mutation wird autosomal-dominant vererbt, ereignet sich zu $\frac{1}{4}$ allerdings durch Neumutation³⁰. Die mittlere Lebenserwartung betrug in den 1980er Jahren etwa 32 Jahre mit einer großen Schwankungsbreite. Diese ließ sich in den letzten Jahrzehnten durch präventive Maßnahmen und neue therapeutische, operative Möglichkeiten auf das Doppelte erhöhen⁷⁵.

2.2.2. Klinik

Mit einer ebenso hohen Anzahl an bekannten MFS auslösenden Mutationen im *FBN1* Gen, nämlich mehr als 3000, zeigt sich auch die klinische Ausprägung dieses Syndroms sehr individuell mit einer hohen inter- und intrafamiliäre Variabilität⁷⁶. Es wird hier von leichten, inkompletten über klassischen bis hin zu schweren Erscheinungsformen, zu der das tödliche neonatale MFS gehört, unterschieden⁷⁴. Klinische Veränderungen machen sich an vielen Stellen bemerkbar, vor allem aber im orthopädischen, kardiologischen und ophthalmologischen Bereich³⁰.

Orthopädisch

Angesichts der aufbauenden und funktionellen Rolle von Fibrillin-1 als FMF im muskuloskelettalem Gewebe sind auch orthopädische Probleme im Rahmen des MFS nicht ungewöhnlich⁷⁷.

Klassischerweise haben MFS Patienten einen leptosomischen Körperbau mit langen Extremitäten, die in einigen Fällen sogar unterschiedliche Längen aufweisen. Ebenso sind Deformitäten und Asymmetrien des Brustkorbs typisch, was sich als Pectus carinatum oder Pectus excavatum präsentieren kann^{73,77}. Die Gelenke neigen zu einer erhöhten Laxizität, die Finger hingegen stellen sich typischerweise im Vergleich zum Handteller lang und dünn dar, weshalb dieses Phänomen auch als Arachnodaktylie bezeichnet wird⁷⁷. Zudem entwickelt sich bei vielen MFS Patienten eine meist thorakale Skoliose, die nicht selten allein oder additiv mit einem Pectus excavatum zu Einengungserscheinungen der Lunge mit respiratorischen Defiziten führt⁷².

Ophthalmologisch

Bei etwa 60% der MFS Patienten zeigt sich eine Linsendislokation. Dies ist auf eine Schwäche der Zonulafasern zurückzuführen, die die Linse in ihre korrekte anatomische Position halten und durch Beugung der Linse Einfluss auf den Visus nehmen. Daher besteht bei jedem Kind mit einer

spontanen Linsensubluxation der Verdacht auf das Vorliegen eines MFS, welches durch weitere Diagnostik abgeklärt werden sollte. Aber auch unabhängig von einer Dislokation der Linse stellt sich bei einer Vielzahl von Patienten mit einem MFS eine Myopie und ein schlechter Visus ein^{72,77}.

Kardiologisch

Auf kardiologischer Ebene zeigen sich durch die Bindegewebsschwäche bei MFS Pathologien auf Klappen- und vaskulärer Ebene. Die Mitralklappe ist die am häufigsten betroffene Klappe, die sich in 30-90% der Fälle bei MFS Patienten als Mitralklappenprolaps darstellt und sich nicht selten zu einer Mitralklappeninsuffizienz weiterentwickelt⁷³.

Ein besonderes Augenmerk sollte der Aorta zuteilwerden. Bei bis zu 80% der Betroffenen lässt sich im Verlauf eine Dilatation der Aorta nachweisen, die ein Risiko für eine Aortenruptur oder Dissektion darstellt. Am lebensbedrohlichsten ist die Typ-A-Dissektion nach Stanford, die mit einem Letalitätsrisiko von 50% binnen 48 Stunden, in denen keinen Notfall-Operation erfolgt, einhergeht^{30,73}. Eine Schwangerschaft, vor allem das Zeitfenster vom dritten Trimenon bis zur frühen postpartalen Zeit, erhöht das Risiko für die Entstehung dieser aortalen Pathologien nochmals⁷².

Sonstige Merkmale

Es lassen sich neben den orthopädischen, ophthalmologischen und kardiologischen Manifestationen noch weitere typische Merkmale feststellen.

Der Schädel und das Gesicht zeigen Merkmale, die zum schlanken Hochwuchs passen. So ist die Kopfform oft schmal und länglich, was als Dolichocephalie bezeichnet wird. Die Wangenknochen stellen sich hypoplastisch dar, die Augen sind im Sinne eines Enophthalmus eingefallen. Die Lidachsen fallen nach lateral ab und der Kiefer kann infolge einer Retrognathie zu Zahnfehlstellungen führen. Chirurgisch nicht zu vernachlässigen ist das gehäufte Auftreten von Varizen und Hernien⁷³.

Zudem haben MFS Patienten durch die Bildung apikaler Bullae in den Lungenflügeln ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von spontan auftretenden Pneumothoraces⁷³.

Typisch sind auch Dehnungstreifen (Striae distensae) auf der Haut, die sich in Folge des Wachstums bilden und sich meist am Rücken, den Schultern, den Knien und den Achseln zeigen^{73,77}.

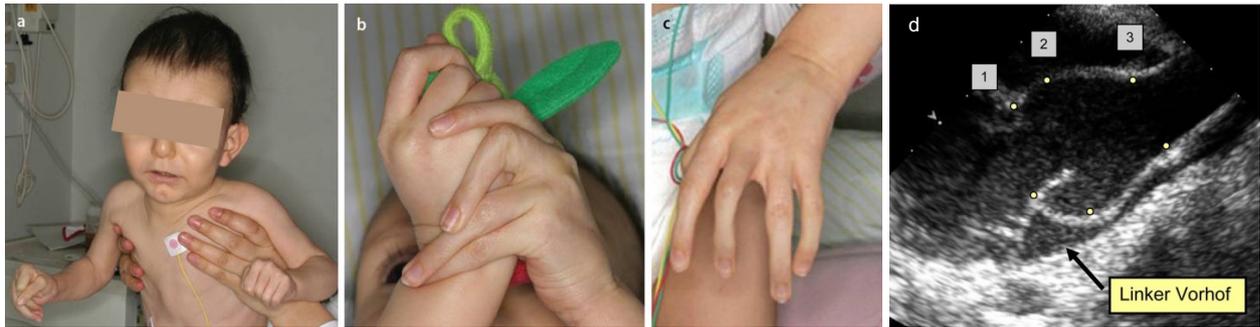


Abbildung 4: Junge mit Marfan-Syndrom (heterozygote Spleißmutation: c.3965-1G →C im *FBN1* Gen). In den Fotografien (a, b, c) ist der Junge 9 Monate alt und präsentiert sich mit einem typischen marfanoiden Phänotyp mit progeroider Fazies, leichter Retrognathie, kurzem Philtrum sowie langen dünnen Finger, die nach ulnar deviiert sind. In d ist eine transthorakale Echokardiografie in parasternaler langer Achse dargestellt, als der Junge 18 Monate alt war. Hier zeigte sich eine Aortendilatation an den verschiedenen Markierungen: 1 (Annulus aortae, 22mm, Z-Score 12), 2 (Sinus valsalvae, 36mm, Z-Score: 14), 3 (sinotubulärer Übergang, 19mm, Z-Score 3,6). Zudem ist der linke Vorhof mit einem Pfeil markiert. Eigene Darstellung in Anlehnung an³⁰.

Marfanoid-progeroid-lipodystrophy-syndrome

Das Marfanoid-progeroid-lipodystrophy-syndrome (MFLS) stellt eine schwere Form des MFS dar, die durch Mutationen innerhalb des Exon 64 am 3'-Ende des *FBN1* Gens, der Spaltstelle des Furins, ausgelöst wird. Es kommt hier neben den typischen marfanoiden Merkmalen auch zu progeroiden Gesichtszügen und schwerer Lipodystrophie mit einem abnormal dünnen Phänotyp^{11,78}. Es konnte gezeigt werden, dass diese Patienten eine deutlich reduzierte Menge von Asprosin, dem C-terminalen Spaltprodukt von Fibrillin-1, aufweisen¹¹.

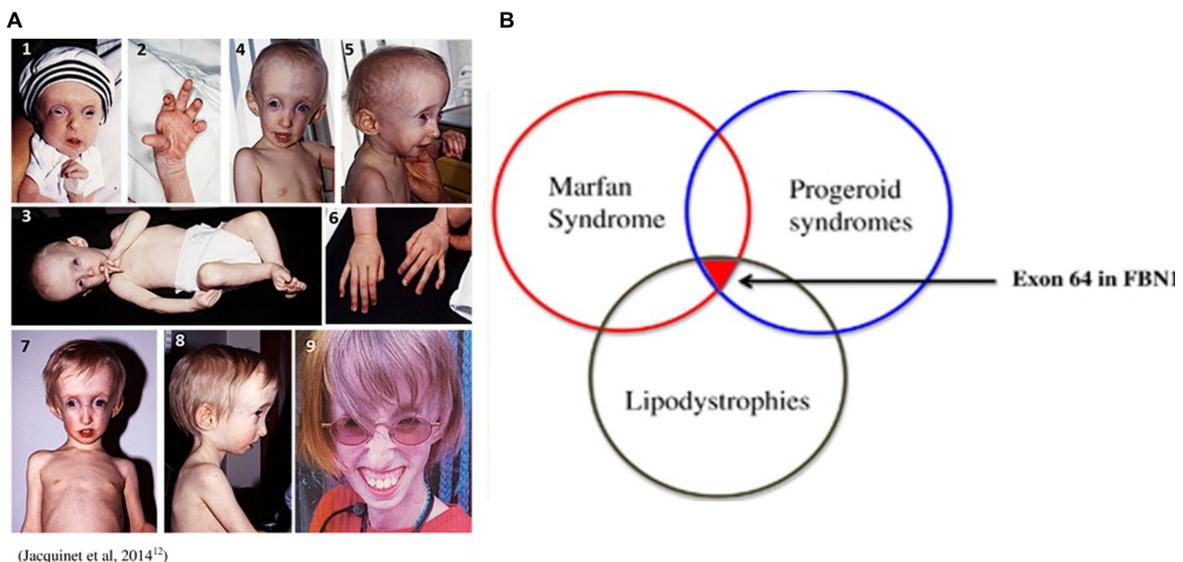


Abbildung 5: Marfanoid-progeroid-lipodystrophy-syndrome (MPLS) durch Mutation im Exon 64. **A.** Klinische Merkmale einer Patientin mit Mutation im Exon 64 (c.8226+1G>A). Die Fotografien wurden bei Geburt (1,2), im Alter von 6 Monaten (C), 8 Monaten (D-F), 21 Monaten (G-H) und 16 Jahren (I) aufgenommen. Phänotypisch zeigt sich eine Makrocephalie, progeroide Gesichtszüge, Hypoplasie der Gesichtsknochen, Enophthalmus, dünne, lange Finger und Lipodystrophie. **B.** Mutationen im Exon 64 im *FBN1* Gen umfassen die Merkmale des MFS, progeroider Zeichen und Lipodystrophie. Eigene Darstellung angelehnt an⁷⁸.

2.2.3. Diagnostik

Der initiale Verdacht auf das Vorliegen eines MFS erfolgt typischerweise durch Betrachtung des asthenischen Habitus bei langen Extremitäten. Einfache klinische Untersuchungen sind das Handgelenk und Daumen-Zeichen, bei denen der Patient auf seine Arachnodaktylie getestet wird^{30,73}.

Dieses klassische Bild zeigen allerdings nicht alle Patienten mit MFS, weshalb der Familienanamnese und der molekulargenetischen Diagnostik eine besondere Rolle zuteil kommt⁷³.

Ghent-Nosologie

Die definitive Diagnosestellung eines MFS erfolgt mithilfe der im Jahre 2010 revidierten Ghent-Nosologie, die verschiedene Kriterien mit unterschiedlicher Gewichtung berücksichtigt. Ein Betroffener muss somit nicht alle Kriterien erfüllen, sondern nur ausgewählte in bestimmten Kombinationen. Zu diesen Ghent-Kriterien gehören neben der Familienanamnese ein molekulargenetischer Nachweis einer *FBN1* Mutation, eine Linsenluxation, eine Dilatation des Sinus valsalvae der Aorta und ein aus verschiedenen klinischen Manifestationen zusammengesetzter systemischer Score^{30,73,79}.

In der Diagnoseführung ist es sinnvoll, ganz zu Beginn eine Anamnese zum Vorliegen eines familiären MFS zu führen. Kommt MFS bereits in einer Familie vor, kann die Diagnose eines MFS durch wenige weitere Kriterien erfüllt werden, als wenn keine positive Familienanamnese vorliegt⁷⁹.

Als vergleichbare Größe für die Aortendilatation wurde der Z-Score definiert. Dieser gibt die Abweichung von einem an Alter, Geschlecht und Körpergröße angepassten Normwert an und sollte normalerweise zwischen -2 und +2 liegen. Mittels Echokardiografie wird die Größe der Aorta bestimmt, anhand dessen im Anschluss der Z-Score über entsprechende Formeln ermittelt werden kann⁷³.

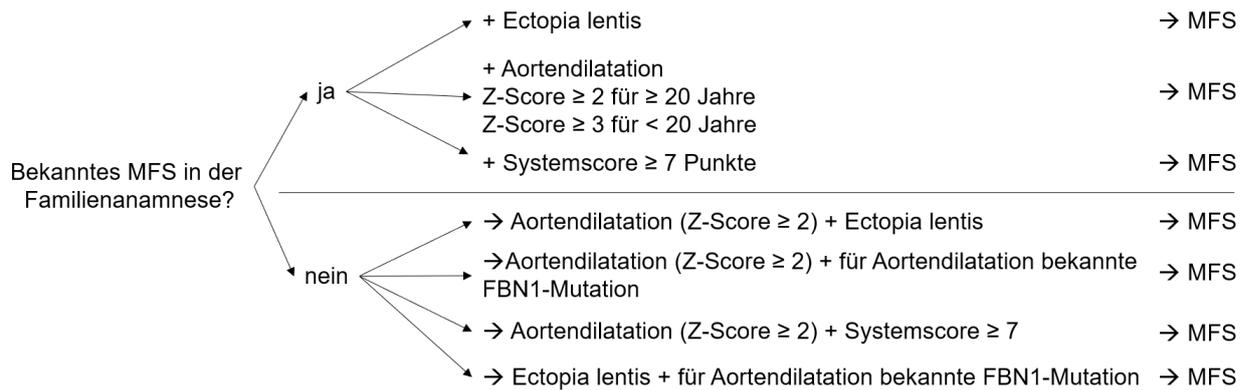


Abbildung 6: Revidierte Ghent Nosologie von 2010 - Eigene Darstellung in Anlehnung an⁷⁹.

Bei dem Systemscore handelt es sich um eine Aufzählung klinischer und radiologischer Befunde, die sich in skelettale und nicht-skelettale Merkmale aufteilen lassen. Maximal ist eine Punktzahl von 20 möglich. Um als positives Ghent-Kriterium gelten zu können, muss der Systemscore in Summe mindestens 7 Punkte aufweisen⁷⁹.

Tabelle 1: Systemscore der Ghent-Nosologie - Eigene Darstellung in Anlehnung an⁷⁹.

Merkmale	Punkte
Handgelenk- und Daumenzeichen	3
Handgelenk- oder Daumenzeichen	1
Pectus carinatum	2
Pectus excavatum / Thorax-Asymmetrie	1
Hinterfuß-Deformität	2
Pes planus	1
Protrusio acetabuli	2
Reduziertes Oberkörper-Unterkörper-Verhältnis und erhöhte Arm-/ Körperlänge bei Nicht-Vorliegen einer Skoliose	1
Skoliose oder thorakolumbale Kyphose	1
Reduzierte Ellenbogen-Extension	1
Gesichtsauffälligkeiten (3/5): Dolichocephalie, Enophthalmus, abfallende Lidspalten, Malar Hypoplasie, Retrognathie	1
Pneumothorax	2
Dehnungsstreifen	1
Myopie > 3 Dioptrien	1
Mitralklappenprolaps	1
Duraektasie	1

Die molekulargenetische Untersuchung stellt bei Verdacht auf MFS insofern eine wichtige Rolle dar, da der Nachweis einer *FBN1* Mutation als Ghent-Kriterium in der Diagnose des MFS zu werten ist. Andererseits ergeben sich über diesen Weg auch Möglichkeiten in der Abklärung von Differenzialdiagnosen, die sowohl klinisch als auch phänotypisch dem MFS ähnlich sind^{73,79}.

2.2.4. Differenzialdiagnosen zum Marfan-Syndrom

Das MFS resultiert aus einer Mutation im *FBN1* Gen, von denen über 3000 verschiedene bekannt sind⁷⁶. Interessanterweise lösen Mutationen an bestimmten Stellen des *FBN1* Gens klinisch gesehen gegensätzliche Syndrome zu MFS wie beispielsweise das Weill-Merchesani-Syndrom aus, welches durch Kleinwuchs und Brachydaktylie gekennzeichnet ist⁷⁴. Phänotypisch betrachtet handelt es sich hier um keine Differenzialdiagnose (DD) zum MFS.

Zwar ist der molekulargenetische Nachweis einer entsprechenden *FBN1* Mutation Gegenstand der Ghent-Nosologie, allerdings nicht unabdingbar für die Diagnosestellung. Da es einige DD gibt, die dem MFS sowohl klinisch als auch phänotypisch ähnlich sind, stellt die genetische Untersuchung einen bedeutenden Schritt in der Abklärung und Abgrenzung dieser DD dar^{30,73}. Es konnte gezeigt werden, dass in weniger als 10% der Fälle, bei denen zunächst klinisch mithilfe der Diagnosekriterien MFS diagnostiziert wurde, sich dieses molekulargenetisch allerdings nicht als solches bewahrheitete⁷³.

Es gibt eine Vielzahl an DD, die in der Diagnostik eines MFS berücksichtigt werden sollten. Zu den wichtigsten DD gehören die Homocystinurie, die kongenitale kontrakturale Arachnodaktylie (CCA), das Loeys-Dietz-Syndrom, das Sphrintzen-Goldberg-Syndrom, die Cutis-laxa-Syndrome und aus der Gruppe der Ehlers-Danlos-Syndrome (EDS) vor allem das vaskuläre EDS. Auch ist an eine familiäre Form thorakaler Aneurysmen und eine Dissektion der Aorta (TAAD) zu denken. All diese Syndrome resultieren nicht aus einer *FBN1* Mutation und zeichnen sich durch feine klinische Unterschiede ab^{30,73}.

Exemplarisch hervorzuheben ist das Loeys-Dietz-Syndrom, welches aus einer Mutation im TGF- β -Rezeptor 1,2 oder 3 oder im *SMAD3* Gen entsteht. Phänotypisch imponieren wie auch beim MFS eine Arachnodaktylie, überstreckbare Gelenke und eine Skoliose, grenzt sich allerdings durch eine Uvula bifida, einem Hypertelorismus und einem höheren Risiko für die Ausbildung eines Aortenaneurysmas und -dissektion ab^{30,73}.

2.2.5. Therapie und Prophylaxe

Kardiovaskulär

Die Ruptur oder Dissektion der Aorta stellt bei MFS Patienten die Haupttodesursache und damit die gefährlichste Komplikation dar³⁰.

Aufgrund der Unwissenheit vieler Menschen über das Vorliegen eines MFS, ist es nicht verwunderlich, dass $\frac{1}{3}$ aller Diagnosestellungen für das MFS erst im Rahmen eines akuten

Dissektionsereignisses gestellt werden. MFS Patienten, die hingegen medizinisch speziell betreut werden, zeigen ein geringeres Risiko für die Etablierung einer Dissektion. Es stellt sich somit das prophylaktische und therapeutische Ziel, Patienten früh zu diagnostizieren und ein Aortenaneurysma beziehungsweise Aortendissektion zu verhindern^{30,72}.

Da es keine kausalen Therapieansätze für das MFS gibt, stehen die regelmäßigen kardiologischen Verlaufsuntersuchungen sowie die medikamentöse und chirurgische Therapie der Aorta im Vordergrund³⁰.

Die medikamentöse Behandlung eines MFS Patienten wird in Betracht gezogen, wenn es Hinweise dafür gibt, dass eine Dissektion oder eine Aortenruptur infolge eines Aneurysmas wahrscheinlich wird. Dazu zählt neben dem Vorliegen einer MFS-positiven Familienanamnese hinsichtlich eines Dissektionsereignisses auch der Nachweis einer *FBN1* Mutation, die eine starke Assoziation zur Aortendilatation oder Aortendissektion hat oder aber, wenn eine bestehende Aortendilatation definierte Z-Scores überschreitet. Hier gilt für Erwachsene mit einem Z-Score von >2 eine Empfehlung zur medikamentösen Therapie. Bei Kindern und Jugendlichen besteht diese Handlungsempfehlung erst ab einem Z-Score von >3 ⁷². Als pharmakologisch wirksame Substanz wird hier entweder auf die β -Rezeptor-Antagonisten Propranolol und Atenolol zurückgegriffen, deren Wirkung auf eine Senkung von TGF- β zurückzuführen ist, oder aber auf Losartan aus der Gruppe der Angiotensin-1-Rezeptor-Blocker (AT1-Blocker). Dieses wirkt ebenfalls über eine Reduktion von TGF- β , zudem aber auch über einen stabilisierenden Einfluss auf die Architektur der Aortenwand^{30,72}.

Die chirurgische Operation der Aortenwurzel stellt eine Alternative zur medikamentösen Therapie dar und sollte bei MFS bedingten Aortendilatationen deutlich früher prophylaktisch durchgeführt werden als bei vergleichbaren Dilatationen, die nicht auf ein MFS zurückzuführen sind. Eine klare Indikation zur chirurgischen Versorgung besteht bei einer Aortendilatation von >5 cm. Eine Operation kann aber schon ab einem Durchmesser von $>4,5$ cm in Erwägung gezogen werden, wenn bestimmte Risikofaktoren wie eine positive Familienanamnese für Rupturen oder Dissektionen oder aber eine zeitlich betrachtet schnelle Zunahme der Dilatation vorliegen. Technisch betrachtet wird bei diesem aortalen Gefäßersatz zwischen zwei Methoden unterschieden: Zum einen die klappenerhaltende Graft-Implantation, die meist nach Tirone David durchgeführt wird, und zum anderen die Composite-Graft-Implantation nach Bentall, bei der neben der Aortenwurzel auch die Aortenklappe durch eine mechanische oder biologische Klappenprothese ersetzt wird^{30,73}.

Orthopädisch

Nahezu 60% der MFS Patienten weisen eine Skoliose auf, die sich vor allem thorakal manifestiert und zusammen mit Deformitäten des knöchernen Thorax zu pulmonalen Insuffizienzen führen kann. Da die Skoliose oftmals progressiv verläuft und eine konservative Therapie durch das

Tragen eines Korsetts häufig erfolglos ist, besteht hier in den meisten Fällen die Indikation für eine Spondylodese, bei der über den dorsalen Operationsweg eine Versteifung der Wirbelsäule vorgenommen wird⁸⁰.

Ophthalmologisch

Durch die Insuffizienz der Zonulafasern stellt die Linsendislokation mit der Folge der Etablierung einer Myopie ein sehr häufiges Symptom der MFS Patienten dar. Therapeutisch lässt sich die Aphakie mit Kontaktlinsen oder mit Brillengläsern hoher Dioptrienstärke korrigieren. Andernfalls gibt es verschiedene operative Möglichkeiten einer Intraokularlinsen-Implantation (IOL), bei der eine künstliche Linse an die anatomisch korrekte Position gebracht und über alternative Methoden als den insuffizienten Suspensionsbändern in Position gehalten wird⁸⁰.

2.3. Fragestellungen und Ziel der Arbeit

MFS ist klinisch durch einen schlanken Hochwuchs und Lipodystrophie gekennzeichnet und wird durch Mutationen im *FBN1* Gen verursacht. Das Gewebehormon Asprosin ist das Propeptid von Profibrillin-1 und spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Energiehaushalts und des Stoffwechsels.

Unter Berücksichtigung des biochemischen Ursprungs des Asprosins scheint daher eine systemisch niedrigmolare Asprosinkonzentration für das MFS erwartbar. Dies konnte bereits für das MPLS, einer spezifischen Unterform des MFS mit Mutationsnachweis in Nähe der Furin-Spaltstelle und einer starken Genotyp-Phänotyp-Korrelation, nachgewiesen werden. Unklar bleibt allerdings, inwiefern diese Hypothesen und ersten Ergebnisse repräsentativ für das MFS sind. Bisher gibt es keine veröffentlichte Studie, die die Asprosinkonzentration bei einer entsprechend großen Stichprobe von MFS Patienten gegenüber Gesunden untersucht hat. Darüber hinaus ist derzeit unklar, in welchem Ausmaß die genaue Lokalisation und Art der MFS verursachenden *FBN1* Mutation die Asprosinkonzentration verändert.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Durchführung einer umfassenden diagnostischen Querschnittsstudie von MFS Patienten und gesunden Kontrollpersonen hinsichtlich der Bestimmung der Asprosin-Konzentration im Hinblick auf verschiedene klinischer Parameter. Das Projekt zielt auf die Fragestellung ab, ob sich die Bestimmung von Asprosin in der Diagnostik und als molekularer Marker für das MFS eignet.

3. Material und Methoden

3.1. Aufbau der Studie

Es wird eine diagnostische Querschnittsstudie im Fall-Kontroll-Vergleich durchgeführt, bei der eine einmalige Abnahme einer Speichelprobe von MFS Patienten und gematchten gesunden Personen erfolgt, in dessen Anschluss sich die labormedizinische Ermittlung der AsprosinKonzentration und nachfolgenden statistischen Auswertung anschließt.

3.1.1. Patienten- und Probandenkollektiv

Das Kollektiv an Personen, die an dieser Studie teilnahmen, setzte sich aus Patienten mit MFS (Fallgruppe: MFS⁺ Patienten) und aus der Gruppe der gesunden Probanden (Kontrollgruppe: MFS⁻ Patienten) zusammen. Vor dem Ziel, eine möglichst große Spannweite hinsichtlich des Alters zu generieren, wurden sowohl Kinder als auch Erwachsene in die Studie eingeschlossen, sodass sich die Fall- und die Kontrollkohorte jeweils noch einmal hinsichtlich des Alters aufteilen ließ.

Die Fall-1-Kohorte wird von den MFS⁺-Kindern und Jugendlichen gebildet, die Fall-2-Kohorte hingegen von den MFS⁺-Erwachsenen. Ebenso verhält es sich bei den MFS⁻-Kindern und Jugendlichen, die die Kontroll-1-Kohorte bildeten, und den MFS⁻-Erwachsenen, die die Kontroll-2-Kohorte bildeten.

Die Rekrutierung der Patienten und Probanden erfolgte ausschließlich in der Universitätsklinik zu Köln. Dazu wurden verschiedene Ein- und Ausschlusskriterien berücksichtigt, die hier tabellarisch aufgelistet sind.

Tabelle 2: Überblick über die Kohorten (Fall1, Fall2, Kontroll1, Kontroll2) und deren Einschlusskriterien (Alter [Jahren], Zuordnung der Kontrollkohorten zu Fallkohorten hinsichtlich Konstitution, Alter und Geschlecht und Vorliegen von MFS anhand der Ghent Nosologie von 2010), deren Ausschlusskriterien (Nebendiagnosen, Sonstiges) und deren Rekrutierungsort an der Uniklinik Köln.

Kohorte	Einschlusskriterien			Ausschlusskriterien		Rekrutierung
	Alter [Jahre]	Zuordnung	Ghent-Nosologie von 2010	Neben diagnose	Sonstiges	
Fall1	3-18		MFS ⁺		Verständnis probleme (kognitiv, sprachlich)	Kinderkardiologie
Fall2	>18					EMAH MFS ⁺ -Eltern von Fall-1

Kontroll1	3-18	Zu Fall-1	MFS-	Strukturelle Herz- erkrankung	Fehlendes Vorliegen einer Einwilligung s-/ Einverständnis erklärung	Kinderdermatologie
Kontroll2	>18	zu Fall-2		Potenzielles MFS entsprechend der Ghent-Nosologie von 2010		MFS-Eltern von Fall-1, Kontroll-1 Begleitpersonen von Fall-2 Mitarbeiter aus der Klinik

Die Probanden der Kontrollkohorten werden denen der Fallkohorten hinsichtlich verschiedener Einflussgrößen gezielt ausgesucht und zugeordnet. Diese Zuordnung hat den Hintergrund, die gesuchte Zielgröße, die Ermittlung der Asprosinkonzentration, von bestimmten Einflussgrößen unabhängiger zu machen.

Alle in dieser Studie eingeschlossenen Patienten und Probanden nehmen an dieser Studie freiwillig teil und haben eine Einwilligungs-/ Einverständniserklärung unterzeichnet. Die Studie wurde am 24.11.2021 von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln positiv gewertet und im Deutschen Register für klinische Studien eingetragen (DRKS00025822).

3.1.2. Zu ermittelnde Zielgröße und Einflussgrößen

Die quantitative Ermittlung der Asprosinkonzentration im Speichel ist die festgelegte Zielgröße, die unter Erhebung verschiedener klinischer Einflussgrößen näher beleuchtet werden soll.

Zielgröße: Asprosinkonzentration im Speichel

Entgegen der meisten vergleichbaren Studien, in denen die Asprosinkonzentration im Blutplasma ermittelt wurde^{11,36,54}, wird in dieser Studie Speichel als Analysat verwendet. Der Grund wird einerseits in der Nichtinvasivität und Praktikabilität der Probengewinnung gesehen, andererseits konnte eine positive Korrelation zwischen der Konzentration von Asprosin im Speichel und Plasma nachgewiesen werden³⁴.

Diese Korrelation ließ sich auch mit einem eigenen an der Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin entwickelten Sandwich-ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) zeigen³³, mit dem auch die in dieser Studie durchzuführenden Messungen erfolgen. Der Sandwich-ELISA wies bei 14 Probanden (acht weiblich, sechs männlich) mit einer Nüchternzeit von 8-9 h eine Asprosinkonzentration von $1,1 \text{ ng/ml} \pm 0,9$ nach³³.

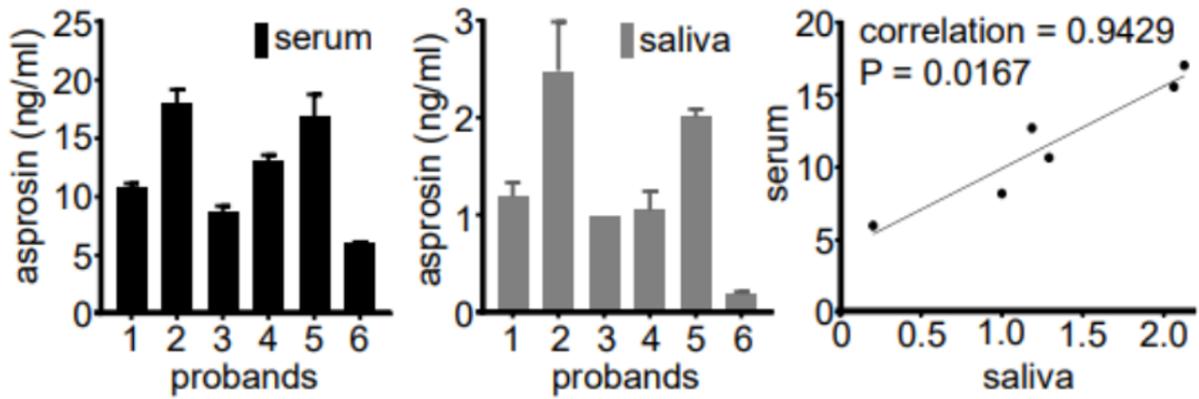


Abbildung 7: Korrelation der AsprosinKonzentrationen in Speichel und Serum mit einem eigens an der Uniklinik Köln entwickelten Sandwich-ELISA. Stark positive Korrelation nach Spearman von $R=0,9429$, signifikant bei $* P=0,0167$. Eigene Darstellung in Anlehnung an ³³.

Einflussgrößen

Parallel zur Gewinnung der Speichelprobe werden weitere klinische Parameter und Daten erhoben, die als Einflussgrößen eine Wirkung auf die Zielgröße haben können. Dadurch ließ sich zum einen eine gezielte Zuordnung von Kontroll- an Fallkohorten steuern, zum anderen konnte so die Abhängigkeit der Zielgröße von einzelnen Einflussgrößen untersucht werden:

Nüchternzeit

Es erfolgte eine Dokumentation des Zeitpunkts der Speichelabnahme und der letztmaligen Nahrungsaufnahme. So ergab sich die damit verbundene Nüchternzeit.

Alter, Geschlecht und Konstitution

Im Rahmen der Probengewinnung wurden weitere individuelle Informationen wie Alter, biologisches Geschlecht, Größe und Gewicht erhoben. Anhand dieser Daten lässt sich zudem der BMI (Body-Mass-Index) und die KOF nach Mosteller (Körperoberfläche) berechnen.

$$\begin{array}{ll}
 \text{A} & \text{B} \\
 \text{BMI} \left[\frac{\text{kg}}{\text{m}^2} \right] = \frac{\text{Gewicht} [\text{kg}]}{\text{Körpergröße}^2 [\text{m}^2]} & \text{KOF}_{\text{Mosteller}} [\text{m}^2] = \sqrt{\frac{\text{Körpergröße} [\text{cm}] \times \text{Körpergewicht} [\text{kg}]}{3600}}
 \end{array}$$

Formel 1: Darstellung der Formeln zur Berechnung von BMI (A)⁸¹ und der Körperoberfläche (KOF) nach Mosteller (B)⁸².

Anhand des BMI und des Alters ließen sich Gewichtsklassifizierungen vornehmen. Die Einteilung hierzu erfolgte im Kindes-/ Jugendbereich (<18 Jahre) anhand von BMI-Perzentilen [kg/m^2] in Abhängigkeit vom Alter: Untergewicht (<10. Perzentile), Normalgewicht (10.-90. Perzentile), Übergewicht (90.-97. Perzentile), Adipositas (97.-99,5. Perzentile), Hochgradige Adipositas (>99,5. Perzentile)^{83,84}.

Im Erwachsenenbereich erfolgte diese Einteilung unabhängig des Alters anhand fester BMI-Größen [kg/m²]: Untergewicht (<18,5), Normalgewicht (18,5-24,9), Übergewicht (25-29,9), Adipositas Grad 1 (30-34,9), Adipositas Grad 2 (35-39,9) und Adipositas Grad 3 (>40)⁸⁵.

Verwandschaftliche Beziehungen unter teilnehmenden Patienten und Probanden wurden gezielt dokumentiert.

Z-Score

Die Aortengröße an der Stelle des *Sinus valsalvae* der MFS Patienten wurde den Arztbriefen entnommen und in den Z-Score als Maß für die standardisierte Aortenweite nach Alter, Geschlecht, Körperhöhe und -gewicht überführt. Bei bereits an der Aorta operierten MFS Patienten wurde der präoperative Wert genutzt. Die Berechnung des Z-Score erfolgte einheitlich nach gleichem Schema auf der offiziellen Internetseite von marfan.org⁸⁶.

FBN1 Mutation

Außerdem wurde im klinikinternen Orbis-Programm nach der genauen individuellen *FBN1* Gen-Mutation für die Patienten der Fall1- und Fall2-Kohorten gesucht und falls vorhanden dokumentiert.

Hautscore

Zudem wurde bei den Patienten aus den beiden Fall-Kohorten eine allgemeine dermatologische Untersuchung hinsichtlich des Einflusses des MFS als systemische Bindegewebserkrankung auf die Beschaffenheit der Haut durchgeführt. Bei diesem sogenannten Hautscore werden sechs dermatologische Aspekte überprüft und mit einer Punktezahl von 0 bis maximal 2 versehen. Da eines dieser Untersuchungskriterien nur zwischen keinem und einem Punkt differenziert, ergibt sich summiert eine maximale Anzahl von 11 Punkten. Zu den teils taktil und teils visuell erfassbaren Bewertungsaspekten gehört zur Erhebung des Hautscores die Beurteilung der Weichheit der Haut, der Venenzeichnung, der Dehnungsstreifen (*Striae distensae*), der piezogenen Knötchen, der Hämatome und der atrophen Narben.

Der zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht veröffentlichte Hautscore wurde von der Oberärztin für Dermatologie und Venerologie Frau PD Dr. med. Tantcheva-Poór entwickelt und zielt zum einen auf die Untersuchung des Einflusses des MFS auf die Hautbeschaffenheit ab, zum anderen auf die mögliche diagnostische Rolle des Hautscores im Rahmen von Bindegewebserkrankungen.

Die bei jedem MFS⁺ Patienten durchgeführte dermatologische Untersuchung wurde durch die gleiche Person durchgeführt und entsprechend dokumentiert. Diese Person wurde zu Beginn der Studie durch die Oberärztin Frau PD Dr. med. Tantcheva-Poór praktisch angeleitet.

Hautscore		
	Score	Bemerkung
1. Ungewöhnlich weiche Haut ⓪ sehr weich ⓫ extrem	⓪ ⓫ ⓬	Extrem: _____
2. Venzeichnung	⓪ ⓫ ⓬	Lokalisation: _____
3. Striae distensae ⓪ Ja, vorhanden ⓫ nicht erklärbar durch SS/Gewicht/ ungewöhnliche Lokalisation	⓪ ⓫ ⓬	Seit wann? _____ Lokalisation: _____
4. Piezogene Knötchen bds.	⓪ ⓫	Seit wann? _____
5. Hämatome ⓪ aufgrund der Anamnese oder aktuell (≤5) ⓫ > 5 Hämatome	⓪ ⓫ ⓬	Zahl: _____ Größe (durchschnittlich): _____
6. Atrophe Narben ⓪ ≤ 5 Narben (postoperativ) ⓫ spontane Narben oder > 5 Narben	⓪ ⓫ ⓬	Zahl der Narben (insgesamt): _____ Zahl der atrophen Narben: _____ <input type="checkbox"/> spontan <input type="checkbox"/> postoperativ
Insgesamt:	<input type="text"/> <input type="text"/>	
Besonderheiten	<input type="checkbox"/> <i>hämosiderotische Narben</i> <input type="checkbox"/> <i>Molluskoide Pseudotumore</i> <input type="checkbox"/> <i>Akrogerie</i> <input type="checkbox"/> <i>Cutis laxa</i>	

Abbildung 8: Hautscore zur Einschätzung der Beschaffenheit der Haut im Rahmen einer Bindegewebserkrankung. Dieser Hautscore wurde in der Dermatologie und Venerologie des Universitätsklinikums Köln entwickelt, aber noch nicht publiziert.

3.2. Studienablauf

3.2.1. Vorbereitung der Studie

Es erfolgte eine anfängliche Auflistung der potenziell für diese Studie in Frage kommenden MFS⁺ Patienten in der EMAH und der Kinderkardiologie. Durch eine telefonische Kontaktierung konnte zum einen die Bereitswilligkeit der Patienten zur Teilnahme an der Studie eingeschätzt werden und zum anderen auf das Vorhaben der Durchführung der Studie beim nächsten ambulanten Termin in der Fachabteilung der Klinik hingewiesen werden. Hier erfolgte dann die Aufklärung mit Unterzeichnung der Einverständniserklärung, die Gewinnung einer Speichelprobe und die Erhebung weiterer klinischer Parameter. Die Datenspeicherung hierfür erfolgte in dem webbasierten Datenerfassungssystem REDCap.

3.2.2. Speichelabnahme und Kryokonservierung nach SOP

Die Speichelabnahme wurde wie auch die Erhebung der anderen klinischen Parameter durch die gleiche Person durchgeführt. Hierbei wurde auf die Befolgung eines standardisierten Schemas geachtet.

Material zur Speichelabnahme

Für die Gewinnung einer Speichelprobe wurde folgendes Equipment benötigt:

<u>Material</u>	<u>Maße/ Besonderheit</u>
Schutzhandschuhe	
Probenbehälter	50 ml Falcon Tubes 15 ml Falcon Tubes 0,5 ml Eppendorf Tubes
Zentrifuge	4° C
Probenlagerung	-80° C Ultra-Tiefkühltruhe
Kühlbox zum Transport	Eis
Pipette	verstellbar µl - ml

Methode zur Speichelabnahme bis zur Kryokonservierung

Die Gewinnung der Speichelprobe erfolgte im Rahmen des individuellen ambulanten Termins in der Fachabteilung der Klinik nach Aufklärung und Unterzeichnung der Einverständniserklärung. Zur Teilnahme mussten beteiligte Patienten vor der Speichelabgabe mindestens eine Stunde frei von der Aufnahme von Nahrung, Getränken oder Nutzung hygienischer Produkte wie Kaugummikauen oder Zähneputzen sein. Es folgte dann ein Ausspülen des Mundes mit klarem Wasser. Nach 5-minütiger Wartezeit wurde der Patient dann gebeten, in ein gekühltes 50 ml Falcon Tube eine Menge von 4-5 ml zu spucken. Es wurde dabei gezielt darauf hingewiesen, ein Hochhusten von bronchialem Mucus zu unterlassen. In einer mit Eis gekühlten Kühlbox wurde das Falcon dann in die Laboratorien der Kinderklinik gebracht. Hier erfolgte nach Pipettieren des Speichels in ein 15 ml Falcon Tube die Zentrifugation bei 2600 g für 10 Minuten bei 4° C. Bei inkompletter Separation wurde für weitere 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde schließlich in ein neues 15 ml Falcon Tube gesammelt, gemischt und dann in verschiedene 1,5 ml Eppendorf Tubes zu je 250 µl aufgeteilt. Die Lagerung der Speichelproben erfolgte pseudonymisiert (Patienten-Identifikation (Pat.-ID)) in einem -80° C kalten Tiefkühlschranks. Insgesamt wurde Wert daraufgelegt, die Zeit von der Abnahme der Speichelprobe bis zur definitiven Kryokonservierung gering zu halten. So wurde eine nicht zu überschreitende Zeit von 30 Minuten hierfür festgelegt. Mit Hinblick auf die zirkadiane Rhythmik des Asprosin-Spiegels im Körper¹¹ wurde zudem darauf geachtet, die Probengewinnungen nach Möglichkeit am Vormittag zu generieren.

Die Zeitpunkte der letzten Nahrungsaufnahme, der Abgabe der Speichelprobe und der Kryokonservierung wurden notiert.

3.2.3. Experimentelle Auswertung: Labormedizinische ELISA-Messung

Nach Gewinnung und der im Zuge dessen erfolgten Kryokonservierung aller Speichelproben folgte die laborbiochemische Analyse. Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der AsprosinKonzentration wurde auf das Verfahren des Sandwich-ELISAs zurückgegriffen.

Funktionsprinzip eines Sandwich-ELISA

Beim ELISA handelt es sich um eine häufig angewandte immunologische Nachweismethode im Bereich der Proteinanalytik, die auf das Wechselspiel von Antikörper-Antigen-Bindung basiert. Durch die Hinzugabe eines Substrats lässt sich mit Hilfe eines Enzyms ein Signal erzeugen, das nicht nur zum Nachweis geeignet ist, sondern auch aufgrund des proportionalen Zusammenhangs eine quantitative Aussage ermöglicht⁸⁷.

Bei dem ELISA werden verschiedene Methoden unterschieden, die jeweils ihre Vor- und Nachteile besitzen. In Abgrenzung zur direkten und indirekten Form eignet sich der Sandwich-ELISA vor allem bei der Analyse von Antigenen und Proteinen, die sich in biologischen Flüssigkeiten befinden, weshalb diese Methodik auch im Rahmen dieser Studie angewandt wurde⁸⁷. Auch wenn der Sandwich-ELISA mit einem vergleichsweise hohen Zeit- und Kostenaufwand verbunden ist, gilt diese Form des ELISAs als die mit der höchsten Empfindlichkeit⁸⁸.

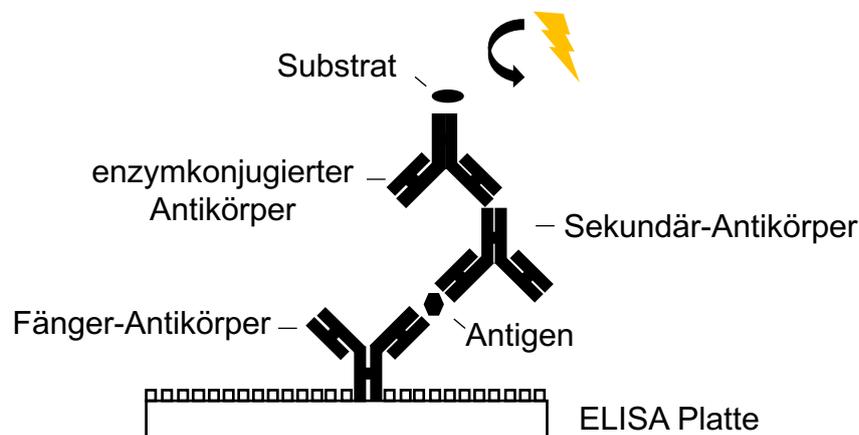


Abbildung 9: Schematischer Aufbau und Funktionsprinzip eines Sandwich-ELISA. Eigene Darstellung in Anlehnung an Fig. 3c⁸⁷. Die ELISA-Platte wird mit dem Fänger-Antikörper beschichtet, welcher das zu ermittelnde Antigen bindet. Über einen Sekundär- und enzymkonjugierten Antikörper kommt es durch einen Substratumsatz zu einer Reaktion mit Farbumschlag, die sich photometrisch quantifizieren lässt.

Der Name des Sandwich-ELISA begründet sich darin, dass das interessierende Antigen von zwei Antikörpern eingeschlossen wird. Ein an der Beschichtungsfläche der ELISA-Platte befindlicher Fänger-Antikörper (*Capture-Antibody*) bindet das gesuchte Antigen, welches in einem zweiten Schritt durch einen sekundären Antikörper (*Secondary-Antibody*) umschlossen

wird. Durch die Hinzugabe eines enzymkonjugierten Antikörpers (*Enzym-conjugated-Antibody*) und des entsprechenden Substrats kommt es dann zu einem Farbumschlag, der sich photometrisch quantifizieren lässt^{87,88}.

Entscheidung für die Entwicklung eines eigenen Sandwich-ELISA

Der Anlass für die Etablierung eines eigenen Sandwich-ELISA erfolgte aufgrund Rechercharbeiten gemessener Asprosinkonzentrationen in menschlichen Körperflüssigkeiten. Diese stellten große Differenzen hinsichtlich der Asprosinkonzentrationen fest (S1-Tabelle in ³³), die Zweifel an der Zuverlässigkeit der empfindlichen Asprosinmessungen geben³³. Aus diesem Grund erfolgte die Entwicklung eines eigenen ELISA mit dem Ziel, reproduzierbare verlässliche Ergebnisse zu liefern³³.

Der entwickelte Sandwich-ELISA verwendet als *Capture-Antibody* einen polyklonalen Antikörper (*pc-asp*), der gegen rekombinantes Asprosin gewonnen wurde. Der *pc-asp*-Antikörper weist eine hohe Spezifität für menschliches Asprosin auf und zeigte keine Kreuzreaktivität gegen murines Asprosin und N-terminalen oder C-terminalen Fibrillin-1 Spaltprodukten im Western Blot oder direktem ELISA (Abb. 1A; 1E, 1F in ³³). Im Sandwich-ELISA konnte zudem keine Kreuzreaktivität gegen Placensin nachgewiesen werden³³.

Zur Detektion des Asprosin wurde ein kommerziell verfügbarer monoklonaler Anti-Asprosin-Antikörper verwendet (*mab-asp*; clone Birdy-1, AdipoGen Life Sciences Inc., San Diego, USA). Eine optimierte Beschichtungskonzentration der ELISA-Platte mit *pc-asp*-Antikörpern von 3 µg/ml ergab ein lineares Detektionssignal von 0-0,15 ng/ml (0–4 pM) (Abb. 2C in ³³). Der Sandwich-ELISA weist Asprosin mit einer Empfindlichkeit von <65 pg/ml bei einem *inter-assay* Variabilitätskoeffizienten von <6,6 % (n=32) und einem *intra-assay* Variabilitätskoeffizienten <5,5 % (n=32) nach³³.

Material zur Durchführung des Sandwich-ELISA

Für die Durchführung des ELISA wurden folgende Materialien genutzt:

<u>Reagenzien</u>	<u>Maße/ Besonderheit</u>
Carbonate Coating Buffer	<ul style="list-style-type: none">• 8,4 g NaHCO₃• 3,56 g Na₂CO₃• Hinzufügen von ddH₂O bis 1,0 L und pH bis zu 9,5
Phosphate Buffered Saline (PBS)	
PBS/ Tween	<ul style="list-style-type: none">• 0,5 ml of Tween-20 in 1 L PBS
Blocking Solution	<ul style="list-style-type: none">• 5% nonfat dry milk/ PBS• Vor dem Gebrauch filtern, um Partikel zu entfernen.

TMB Stop Solution	• 30 % H ₂ SO ₄ (Schwefelsäure)
Enzym-konjugierter-Antikörper (Enzym-conjugated-Antibody)	• 1-Step Ultra TMB-ELISA-Substratlösung; TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)
Pc-asp-Antiasprosin-Antikörper (<i>Capture-Antibody</i>)	• generiert gegen humanes Volllängen Asprosin (AG Sengle)
mab-asp-Antiasprosin-Antikörper (<i>Secondary-Antibody</i>)	• clone Birdy-1, AG-20B-0073 (AdipoGen Life Sciences Inc., San Diego, USA)

Detaillierter ELISA-Ablauf für die Bestimmung der Asprosin-Konzentration

Der ELISA wurde innerhalb von drei Tagen durchgeführt.

Tag 1: Coating: Pc-asp-Antikörper (*Capture-Antibody*) wird in einer Konzentration von 3 µg/ml in *Carbonate Coating Buffer* verdünnt. Die 96 *Wells* der hochaffinen ELISA-Platte werden dann zu je 100 µl/ *Well* beschichtet. Die ELISA-Platte wird gegenüber Verdunstung verschlossen und bei 4°C über Nacht inkubiert.

Tag 2: Blocking: Die ELISA-Platte wird auf Raumtemperatur gebracht. Mit einem dreifachen Waschschrift mit *PBS/ Tween* werden ungebundene Pc-asp-Antikörper vollständig entfernt. Durch eine zweistündige abgedeckte Inkubation von 200 µl 5%iger Milch/ *PBS Blocking Solution* werden unspezifische Bindungsstellen blockiert. Es folgt erneut ein dreifacher Waschschrift mit *PBS/ Tween*, der mit einem sorgfältigen Ausklopfen auf sauberen Trockentüchern endet. Inkubation der Probe: 100 µl der aufgetauten kryokonservierten Speichelproben werden je direkt in die *Wells* geben. Die ELISA-Platte wird abgedeckt, für zwei Stunden bei Raumtemperatur und dann bei 4°C über Nacht inkubiert.

Tag 3: Die ELISA-Platte wird auf Raumtemperatur gebracht. Es folgt ein dreifacher Waschschrift mit *PBS/ Tween* mittels elektronischer Mehrkanalpipette und jeweiligem sorgfältigen Ausklopfen auf sauberen Trockentüchern. Sekundärantikörper Zugabe: Es werden jeweils 100 µl des mab-asp-Antikörpers (*Secondary-Antibody*) in einer Verdünnung von 1:2000 (0,5 µg/ml) in 2,5%iger Milch in PBS in die *Wells* hinzugefügt. Die ELISA-Platte wird abgedeckt und bei Raumtemperatur für 1 Stunde inkubiert. Es folgt nochmals ein dreifacher Waschschrift mit *PBS/ Tween* mittels elektronischer Mehrkanalpipette und Ausklopfen auf Trockentüchern. Entwicklung: Es werden 100 µl 1-Step Ultra TMB-ELISA-Substratlösung als *Enzym-conjugated-Antibody* zugegeben. Abgedeckt erfolgt eine Inkubation über 1-2 Stunden, bei der ein Farbumschlag ins Blaue (mit Hauptabsorptionswerten bei 370 nm und 652 nm) zu sehen ist. Die Reaktion wird durch Hinzufügen von 100 µl 30 %iger Schwefelsäure (H₂SO₄) (*TMB Stop Solution*) mit einem

Farbumschlag ins Gelbe beendet. Die optische Dichte hierbei beträgt 450 nm. Die anschließende optische Auswertung erfolgt mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät.

3.3. Statistik

Statistische Fallzahlplanung

Die statistische Fallzahlplanung dieser Studie wurde ähnlich einer anderen Studie, die die Asprosinkonzentrationen von Müttern und deren Kindern mit dem gleichen Sandwich-ELISA untersucht hatte, durchgeführt: N=83; Mittelwert (M)=7,3 ng/ml; Standardabweichung (SD)=3,2 ng/ml⁸⁹. Es wurde erwartet, dass MFS⁺ Patienten eine geringere Asprosin-Konzentration im Speichel aufweisen als MFS⁻ Patienten. Ausgehend von 30% als minimal relevanter Differenz (Effektstärke 0,689) erfordert der t-Test 34 Probanden je Gruppe, um den erwarteten Unterschied mit einer Power von 80% aufdecken zu können.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software GraphPadPrism 9. Korrelationsuntersuchungen erfolgten nach Spearman. Der Zusammenhang kann schwach ($R_s=0,2-0,39$), mittel ($R_s=0,4-0,59$) oder stark ($R_s=0,6-0,79$) bei einem unterschiedlich starken Signifikanzniveau (* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$, **** $P<0,0001$) vorliegen. Säulendiagramme wurden als Mittelwert (MW) \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Zur statistischen Analyse wurde bei ungepaarten, nicht-parametrischen Daten auf den t-Test (Mann-Whitney-Test) zurückgegriffen bzw. bei Gruppenvergleich auf die One-Way-ANOVA. Hier wurde das gleiche Signifikanzniveau wie bei den Spearman-Korrelationen festgelegt.

4. Ergebnisse

Aufgrund des metabolischen Einflusses von Asprosin und dem zugleich schlanken Hochwuchs von MFS Patienten erschien ein Zusammenhang dieser beiden Größen plausibel. Es folgte daher eine klinische Querschnittsstudie im Fall-Kontroll-Vergleich, die die Asprosinkonzentration bei MFS Patienten gegenüber Kontroll-Patienten erstmals untersuchte und der Fragestellung nachging, ob sich Asprosin als Marker für das MFS eignet.

Als Analysat wurden Speichelproben verwendet, deren Asprosin Gehalt mittels Sandwich-ELISA bestimmt wurde.

4.1. Kohortenbeschreibung

Die Studie umfasste insgesamt 130 Teilnehmende, die sich in 55 MFS⁺ und 75 MFS⁻ Patienten unterteilen. Entsprechend des Alters erfolgte eine Unterteilung in Kinder/ Jugendliche (3-18 Jahre) und Erwachsene (>18 Jahre), wobei die Kontrollpersonen bezüglich der Zuordnungskriterien von Alter, Geschlecht und Konstitution ausgewählt wurden.

Bei den Kindern/ Jugendlichen standen der Fall1-Kohorte (MFS) die Kontroll1-Kohorte gegenüber: Es konnten zwei mehr Kontroll Kinder (ein Junge, ein Mädchen) als MFS Kinder in die Studie aufgenommen werden (N=15, m (männlich): 7, w (weiblich): 8 gegenüber N=13, m: 6, w: 7). Es bestand sowohl hinsichtlich des Alters (Fall1: 9,1 ± 4,6 gegenüber Kontroll1: 9,5 ± 4,5 Jahre) als auch der Konstitution eine gute Übereinstimmung: Höhe (Fall1: 151,0 ± 30,3 gegenüber Kontroll1: 138,5 ± 26,8 cm), Gewicht (Fall1: 43,2 ± 25,7 gegenüber Kontroll1: 36,7 ± 20,1 kg), BMI (Fall1: 17,1 ± 4,6 gegenüber Kontroll1: 17,5 ± 4,0 kg/m²), KOF (Fall1: 1,3 ± 0,5 gegenüber Kontroll1: 1,2 ± 0,4 m²).

Bei den Erwachsenen konnten 42 MFS⁺ Patienten (Fall2-Kohorte) zu gleichen Geschlechtsverhältnissen (m: 21, w: 21) in die Studie aufgenommen werden. Dem gegenüber stand die Kontroll2-Kohorte, die N=60 Probanden mit 26 Männern und 34 Frauen umfasste. Auch hier zeigte sich eine gute Übereinstimmung in Bezug auf Alter (Fall2: 39,7 ± 13,0 gegenüber Kontroll2: 38,4 ± 13,7 Jahre) sowie der Konstitution: Höhe (Fall2: 187,8 ± 11,7 gegenüber Kontroll2: 180,5 ± 11,1 cm), Gewicht (Fall2: 83,7 ± 21,1 gegenüber Kontroll2: 79,6 ± 17,1 kg), BMI (Fall2: 23,6 ± 4,9 gegenüber Kontroll2: 24,3 ± 4,2 kg/m²), KOF (Fall2: 2,1 ± 0,3 gegenüber Kontroll2: 2,0 ± 0,3 m²).

Tabelle 3: Überblick über Kohorten mitsamt klinischer Daten und ermittelter AsprosinKonzentration: Kohortengröße [Anzahl], Geschlecht [Anzahl: männlich, weiblich], Alter [Jahre], Höhe [cm], Gewicht [kg], BMI [kg/m²], KOF [m²], AsprosinKonzentration [ng/ml] (ermittelt im Speichel mittels ELISA). M ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung.

Kohorte	Größe	Geschlecht	Alter	Höhe	Gewicht	BMI	KOF	AsprosinKonz.
	Anzahl	Anzahl	Jahre (M ± SD)	cm (M ± SD)	kg (M ± SD)	kg/m ² (M ± SD)	m ² (M ± SD)	ng/ml (M ± SD)
Fall1: MFS Kinder (3-18 Jahre)	13	m: 6 w: 7	9,1 ± 4,6	151,0 ± 30,3	43,2 ± 25,7	17,1 ± 4,6	1,3 ± 0,5	5,6 ± 3,7
Fall2: MFS Erwachsene (>18 Jahre)	42	m: 21 w: 21	39,7 ± 13,0	187,8 ± 11,7	83,7 ± 21,1	23,6 ± 4,9	2,1 ± 0,3	4,8 ± 4,9
Kontroll1: Kinder (3-18 Jahre)	15	m: 7 w: 8	9,5 ± 4,5	138,5 ± 26,8	36,7 ± 21,0	17,5 ± 4,0	1,2 ± 0,4	2,9 ± 3,4
Kontroll2: Erwachsene (>18 Jahre)	60	m: 26 w: 34	38,4 ± 13,7	180,5 ± 11,1	79,6 ± 17,1	24,3 ± 4,2	2,0 ± 0,3	5,0 ± 3,2
MFS (gesamt)	55	m: 27 w: 28	32,4 ± 17,5	179,1 ± 23,6	74,1 ± 23,6	22,1 ± 5,5	1,9 ± 0,5	5,0 ± 4,6
Kontroll (gesamt)	75	m: 33 w: 62	32,6 ± 17,0	172,1 ± 22,8	71,0 ± 24,6	22,9 ± 5,0	1,8 ± 0,4	4,6 ± 3,3
Gesamt	130	m: 60 w: 70	32,5 ± 17,1	174,4 ± 24,3	72,6 ± 28,4	23,8 ± 17,3	1,8 ± 0,5	4,8 ± 3,9

4.2. Asprosin in MFS ist nicht erniedrigt

Beim MPLS konnte eine erniedrigte AsprosinKonzentration im Serum festgestellt werden¹¹, weshalb die initiale Hypothese geäußert wurde, dass ein niedriges Asprosin auch für MFS Patienten anzunehmen sei.

Im Kindes-/ Jugendalter (3-18 Jahre) wurde für MFS Patienten eine signifikant höhere AsprosinKonzentration im Speichel als für die Kontrollen gemessen (*P=0,0325) (Abb. 10 A). Bei

den Erwachsenen (>18 Jahre) ergab sich ein ähnlicher Mittelwert ohne signifikanten Unterschied (Abb. 10 B). Bei Betrachtung der MFS Einzelwerte im Vergleich zu denen der Kontrollen zeigt sich sowohl bei den Kindern als auch den Erwachsenen eine größere Streuung um den Mittelwert. Repräsentativ stehen dafür die ermittelten Standardabweichungen, die bei MFS höher als bei Kontrollen waren: 3-18 Jahre (MFS: $5,6 \pm 3,7$ ng/ml gegenüber Kontroll: $2,9 \pm 3,4$ ng/ml), >18 Jahre (MFS: $4,8 \pm 4,9$ ng/ml gegenüber Kontroll: $5,0 \pm 3,2$ ng/ml). Asprosin liegt in MFS gegenüber den Kontrollen nicht erniedrigt vor.

Zudem ist bei Betrachtung der Kontrollkohorten ein altersabhängiger Anstieg der Asprosinkonzentration in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen (3-18 Jahre: $2,9 \pm 3,4$ ng/ml) zu der der Erwachsenen (>18 Jahre: $5,0 \pm 3,2$ ng/ml) erkennbar (Abb. 10 A, B).

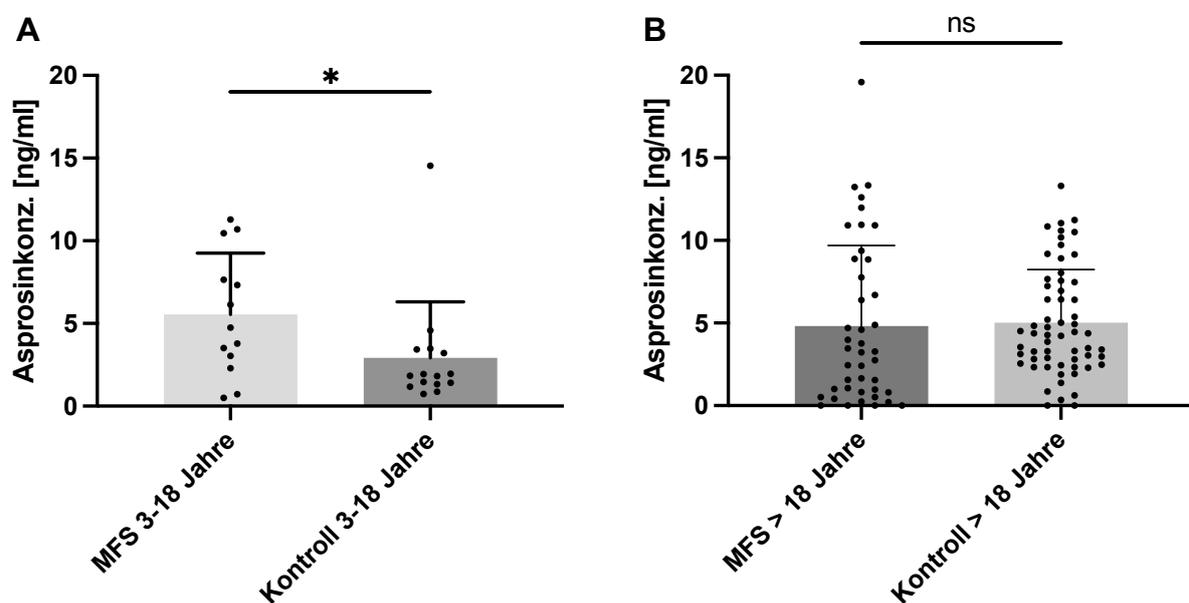


Abbildung 10: Die Eingangshypothese eines grundsätzlich erniedrigten Asprosin bei MFS Patienten konnte nicht bestätigt werden. Es zeigte sich ein altersabhängiger Unterschied zwischen MFS- und Kontroll-Gruppen. **A.** Asprosin war bei Kindern mit MFS (3-18 Jahren) signifikant erhöht (* $P=0,0325$). MFS (3-18 Jahre): $N=13$, $5,6 \pm 3,7$ ng/ml; Kontroll (3-18 Jahre): $N=15$, $2,9 \pm 3,4$ ng/ml. **B.** Es bestand kein signifikanter Unterschied in Asprosin bei erwachsenen MFS und Kontrollen (>18 Jahre). MFS (>18 Jahre): $N=42$, $4,8 \pm 4,9$ ng/ml; Kontroll (>18 Jahre): $N=60$, $5,0 \pm 3,2$ ng/ml. Statistische Untersuchung mit GraphPadPrism 9, t-Test, Mann-Whitney-Test (A, B). Darstellung des $M \pm SD$.

4.3. Asprosin in Kontroll-Kohorte

Es erfolgte zunächst die Betrachtung der Kontrollen, um den bei MFS Patienten vorliegenden genetischen Unterschied als Einflussgröße auf das Asprosin auszublenden.

4.3.1. Asprosin in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Bei Betrachtung der Asprosinkonzentration der Kontrollen ($N=70$) in Abhängigkeit vom Alter zeigte sich ein altersabhängiger Unterschied. Bei Kindern (3-18 Jahre) war bei steigendem Alter

eine Zunahme, bei Erwachsenen (>18 Jahre) hingegen eine Abnahme von Asprosin zu erkennen (Abb. 11 A). Die Daten lassen auf eine stufenweise Altersintervall bezogene Zunahme von Asprosin schließen, welche von den 3-11 Jährigen ($2,5 \pm 1,3$ ng/ml) über die 12-18 Jährigen ($4,0 \pm 5,0$ ng/ml) bis hin zu den 19-40 Jährigen ($6,0 \pm 3,5$ ng/ml) eine Zunahme zeigte, ehe sich im höheren Alter dann eine Abnahme bemerkbar machte (41-59 Jährige: $3,6 \pm 2,3$ ng/ml; >60 Jährige: $2,4 \pm 2,0$ ng/ml) (Abb. 11 B).

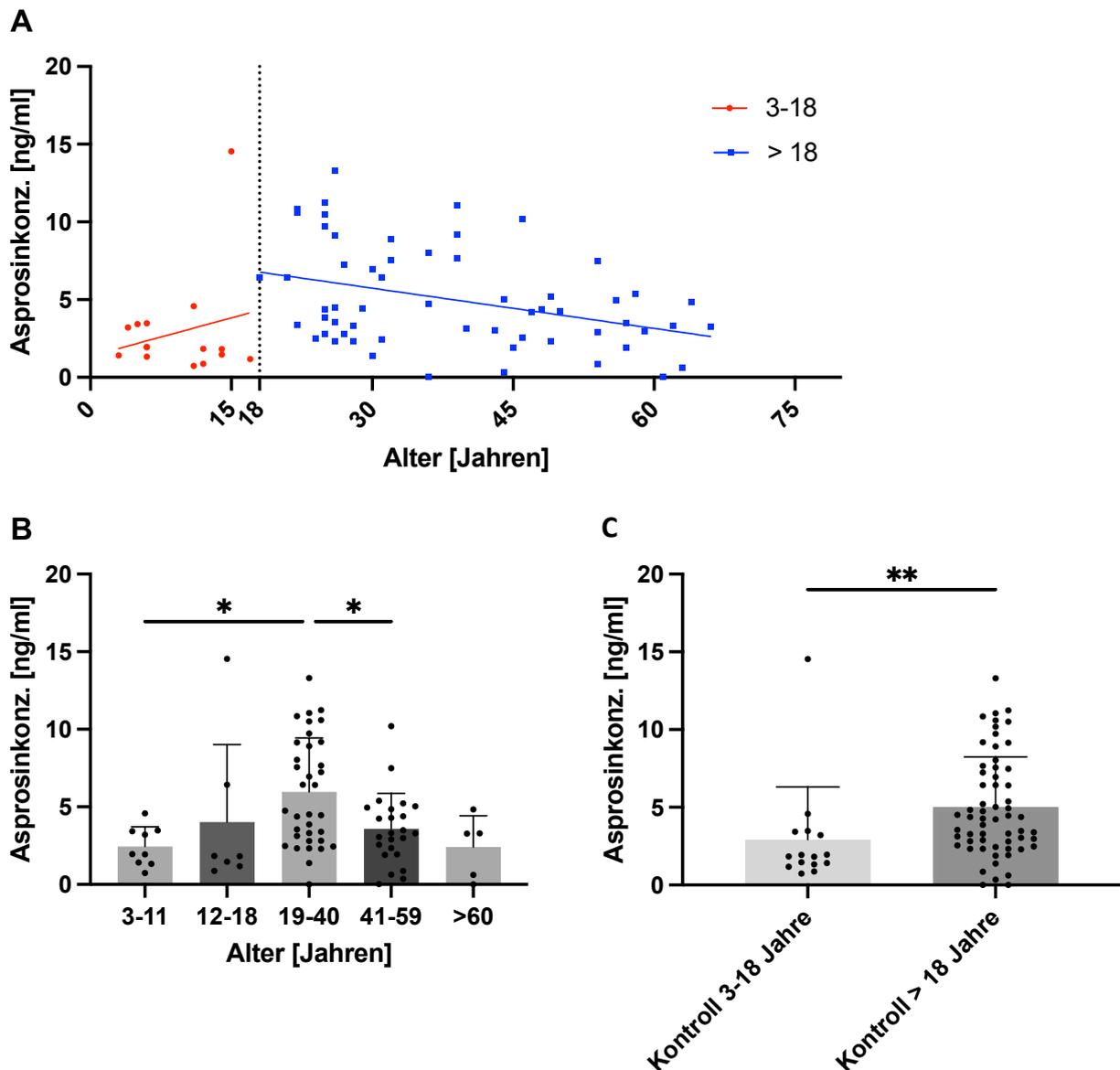


Abbildung 11: Altersabhängiger Unterschied von Asprosinmengen bei Kontrollen, N=75. **A.** Asprosin steigt im Alter von 3-18 Jahren (rot) an ($Y=0,1642x+1,365$), im Bereich >18 Jahren (blau) fällt Asprosin ab ($Y=-0,08629x+8,327$), lineare Regression. 3-18 Jahre: N=15. >18 Jahre: N=60. **B.** Asprosin zeigt eine altersabhängige Erhöhung im mittleren Lebensalter. Altersintervalle: 3-11 Jahre: N=9; $2,5 \pm 1,3$ ng/ml. 12-18 Jahre: N=7; $4,0 \pm 5,0$ ng/ml. 19-40 Jahre: N=35; $6,0 \pm 3,5$ ng/ml. 41-59 Jahre: N=24; $3,6 \pm 2,3$ ng/ml. >60 Jahre: N=5; $2,4 \pm 2,0$ ng/ml. Signifikante Asprosinerhöhung im Alter von 19-40 Jahren gegenüber 3-11 Jahre: *P=0,025; gegenüber 41-59 Jahren: *P=0,0329. **C.** Asprosin erhöht in Kontroll-Erwachsenen (>18 Jahre) gegenüber Kontroll Kindern (3-18 Jahre). Kinder: N=15; $2,9 \pm 3,4$ ng/ml. Erwachsene: N=60; $5,0 \pm 3,2$ ng/ml. Signifikant erhöht: **P= 0,0022. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, One-Way-ANOVA (B), t-Test, Mann-Whitney-Test (C). Darstellung des M \pm SD.

Im mittleren Altersbereich (19-40 Jahre) wurden somit die höchsten Asprosinkonzentrationen gemessen, die gegenüber dem jüngsten (3-11 Jahre) und nächst höheren (41-59 Jahre) Altersintervall signifikant erhöht waren (*P=0,025; *P=0,0329) (Abb. 11 B).

Erwachsene (>18 Jahre) zeigten ein signifikant höheres Asprosin gegenüber Kindern (3-18 Jahre), sodass dies in weiteren Betrachtungen berücksichtigt werden muss (** P=0,0022) (3-18 Jahre: $2,9 \pm 3,4$ ng/ml gegenüber >18 Jahre: $5,0 \pm 3,2$ ng/ml) (Abb. 11 C).

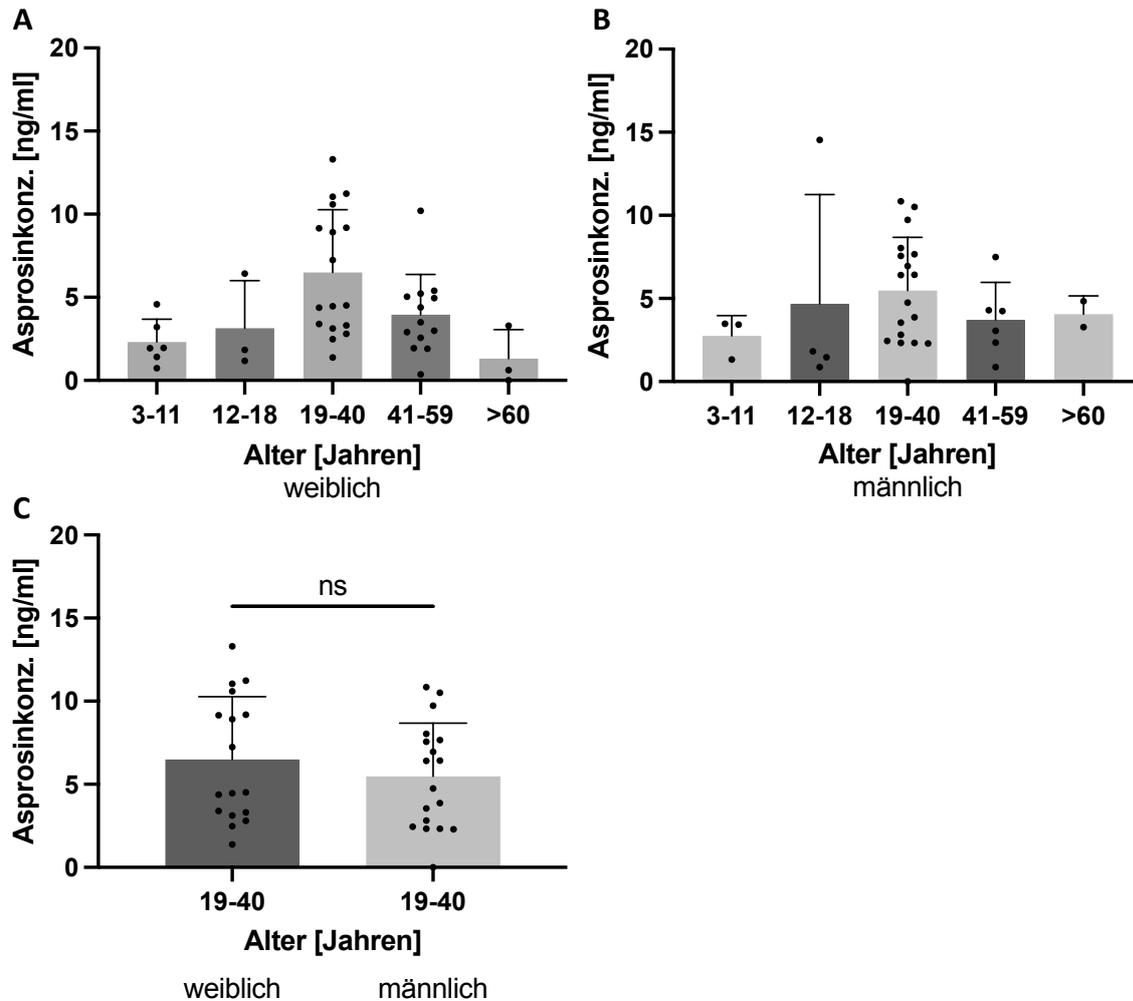


Abbildung 12: Asprosin ist im mittleren Altersbereich in Kontrollen sowohl bei Frauen als auch bei Männern am höchsten. **A.** Die höchsten Asprosin-Werte wurden bei mittelalten Frauen (19-40 Jahre) gemessen: N=17; $6,5 \pm 3,8$ ng/ml. Kein signifikanter Unterschied. **B.** Asprosin war auch bei mittelalten Männern (19-40 Jahre) am höchsten: N=18; $5,5 \pm 3,2$ ng/ml. Kein signifikanter Unterschied. **C.** Mittelalte Frauen zeigten ein höheres Asprosin als mittelalte Männer. Kein signifikanter Unterschied. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, One-Way-ANOVA (A, B), t-Test, Mann-Whitney-Test (C). Darstellung des M ± SD.

Das Vorliegen des höchsten Asprosin im Altersbereich der 19-40 Jährigen ließ sich sowohl bei Männern als auch bei Frauen zeigen (Abb. 12 A, B). Im direkten Vergleich dieser wiesen mittelalte Frauen ein leicht höheres Asprosin auf (weiblich: $6,5 \pm 3,8$ ng/ml, gegenüber männlich: $5,5 \pm 3,2$ ng/ml).

4.3.2. Asprosin in Abhängigkeit von der Nüchternzeit

Verschiedene Studien stellten bisher einen Anstieg von Asprosin unter fortschreitendem Fasten dar^{11,33,48}. Dies konnte in dieser Studie mit einem schwach positiven signifikanten Zusammenhang zwischen der AsprosinKonzentration und der Nüchternzeit von $R_S=0,2327$ bei $*P=0,0446$ nach Spearman (Abb. 13 A) bestätigt werden. Unter intervallsbezogener Betrachtung der Nüchternzeit (Abb. 13 B) stellte sich zu jedem Zeitpunkt der Nüchternzeit ein höheres Asprosin in der Gruppe der länger Fastenden (2h, 4h, 6h, 8h, 10h) dar. Ein signifikanter Unterschied ergab sich im Vergleich der Werte für 6h und 8h ($*P=0,028$, $**P=0,0059$).

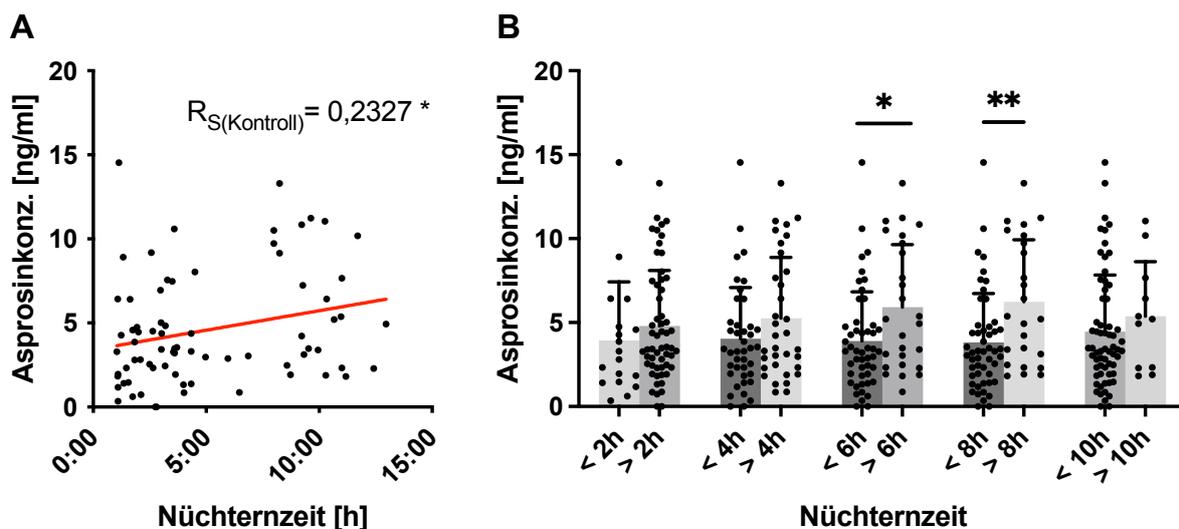


Abbildung 13: Asprosin zeigte in Kontrollen eine positive Korrelation zur Nüchternzeit. **A.** Signifikant positive Korrelation nach Spearman mit steigender Asprosinmenge bei steigender Nüchternzeit: $R_S=0,2327$; $*P=0,0446$. Lineare Regression (rot: $Y=0,2319x+3,412$). **B.** Asprosin ist in jedem Vergleich bei höherer Nüchternzeit erhöht. Ein signifikanter Unterschied zeigte sich im Vergleich der Werte für 6h und 8h. <6h: $N=49$; $3,9 \pm 2,9$ ng/ml. >6h: $N=26$; $5,9 \pm 3,7$ ng/ml. <8h: $N=51$; $3,8 \pm 2,9$ ng/ml. >8h: $N=24$; $6,2 \pm 3,7$ ng/ml. <10h: $N=64$; $4,5 \pm 3,4$ ng/ml. >10h: $N=11$; $5,4 \pm 3,2$. Signifikanter Unterschied bei <6h gegenüber >6h: $*P=0,028$; bei <8h gegenüber >8h: $**P=0,0059$. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, Spearman-Korrelation (A), t-Test, Mann-Whitney-Test (B). Darstellung des $M \pm SD$.

4.3.3. Asprosin in Abhängigkeit von der Konstitution

Verschiedene Publikationen stellten bisher unterschiedliche Korrelationen zwischen Asprosin und konstitutionellen Eigenschaften her (Abb. 3), sodass auch in dieser Studie die Einflussgrößen Gewicht [kg] und Höhe [cm] erfasst wurden. Rechnerisch ließ sich daraus der BMI und die KOF ermitteln (Formel 1, A, B). Anhand des BMI ließ sich eine Gewichtsklassifizierung vornehmen, die im Alter von 3-18 Jahren anhand von BMI-Perzentilkurven entsprechend dem Alter, im Alter von >18 Jahren anhand von festen BMI-Intervallen erfolgte.

Bei den 3-18 Jährigen wurde unabhängig von der Zunahme der Gewichtsintervalle nahezu gleichbleibendes Asprosin von etwa 2,5 ng/ml bei Vernachlässigung des Ausreißers im Intervall 50-75 kg gemessen (Pat.-ID: 305). Erwachsene wiesen eine nahezu doppelt so hohe Menge an

Asprosin auf, welches einer graduellen Abnahme bei steigendem Gewicht unterlag. Die Unterschiede waren in der statistischen Analyse nicht signifikant (Abb. 14 A).

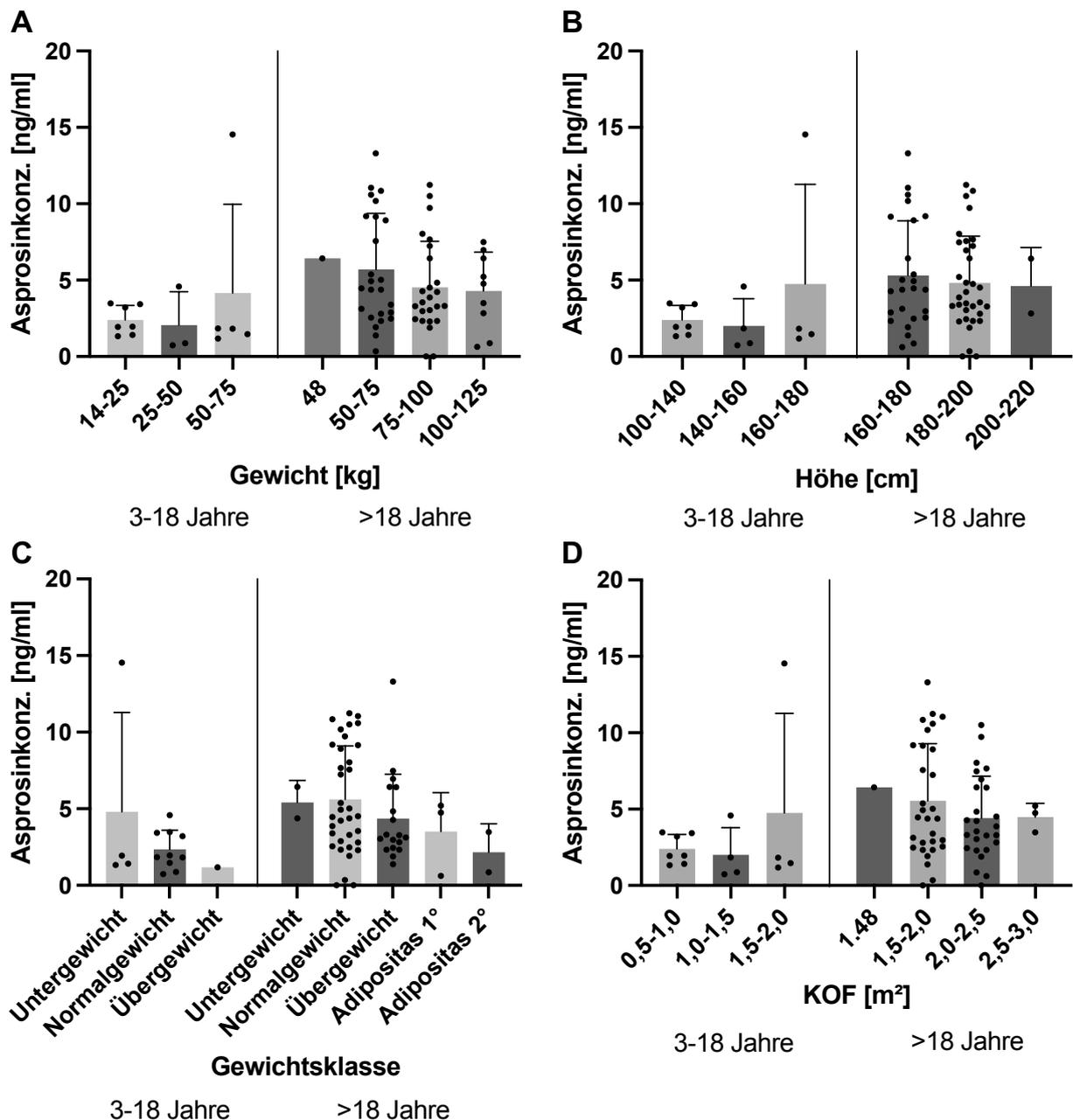


Abbildung 14: Asprosin in Abhängigkeit von der Konstitution in Kontrollen, unterschieden bei Kindern und Erwachsenen. **A.** Asprosin-Mengen zeigten bei den 3-18 Jährigen in den Gewichtsintervallen bei Vernachlässigung des Ausreißers (Pat.-ID: 305) keinen Unterschied. Bei den Erwachsenen (>18 Jahre) ist eine graduelle Abnahme bei Zunahme des Gewichts erkennbar. Keine signifikanten Unterschiede. **B.** Asprosin wurde in Abhängigkeit von der Höhe sowohl bei den Kindern als auch den Erwachsenen ebenso analysiert wie in Abhängigkeit vom Gewicht (Abb. 14, A). Keine signifikanten Unterschiede. **C.** Asprosin-Mengen fallen bei Zunahme der Gewichtsklasse ab. Asprosin ist sowohl in adipösen Kindern und adipösen Erwachsenen reduziert. Kein signifikanter Unterschied von Asprosin in Abhängigkeit von einzelnen Gewichtsklassen. Die Gewichtsklassen in der Gruppe 3-18 Jahre wurde anhand der einzelnen BMI-Perzentilkurven entsprechend dem Alter bestimmt (vgl. 2.1.2.); die der Gruppe >18 Jahre anhand des BMI: Untergewicht (BMI: <18,5 kg/m²), Normalgewicht (BMI: 18,5-24,9 kg/m²), Übergewicht (25-29,9 kg/m²), Adipositas 1°

(30-34,9 kg/m²), Adipositas 2° (35-39,9 kg/m²) (vgl. 2.1.2). **D.** Asprosin stellt sich in Abhängigkeit von der KOF sowohl bei den Kindern als auch den Erwachsenen ähnlich dar wie in Abhängigkeit von Gewicht (Abb. 14 A) und Höhe (Abb. 14 B). Keine signifikanten Unterschiede. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, One-Way-ANOVA (A, B, C, D), Darstellung des M ± SD.

Eben gleiches Bild zeigte sich sowohl bei den 3-18 Jährigen als auch den Erwachsenen unter Betrachtung der Höhe. Bei den Kindern wurden bei Vernachlässigung des Ausreißers im Intervall 160-180 cm (Pat.-ID: 305) nahezu konstante Werte ermittelt. Bei den Erwachsenen nahm das Asprosin bei Höhenzunahme ohne signifikante Unterschiede leicht ab (Abb. 14 B).

Hinsichtlich der gemessenen Asprosin-Mengen in Abhängigkeit von Gewichtsklasse stellte sich im Alter der 3-18 Jährigen auch bei Vernachlässigung des Ausreißers bei Untergewicht eine Abnahme von Asprosin bei Zunahme der Gewichtsklasse dar. Pat.-ID: 303 (17 Jahre, weiblich) war das einzige übergewichtige Kontrollkind (BMI: 27,6 kg/m²) und hatte mit 1,2 ng/ml einen sehr niedrigen Asprosin-Spiegel. Analog dazu verhielt es sich bei den Erwachsenen: Normalgewichtige wiesen die höchsten Asprosin-Mengen auf, Adipöse die geringsten. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied (Abb. 14 C).

Unter Betrachtung der KOF (Abb. 14 D) zeigte sich ein ähnliches Bild wie unter Betrachtung von Gewicht und Höhe (Abb. 14 A, B). Auch hier ergab sich statistisch kein signifikanter Unterschied.

4.4. Asprosin in MFS-Kohorte

4.4.1. Asprosin in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Wie auch bei den Kontrollen stieg Asprosin bei MFS (N=55) im Altersbereich der 3-18 Jährigen zunächst an, ehe es bei den Erwachsenen (>18 Jahre) bei Zunahme des Alters abfiel (Abb. 15 A). Die lineare Regression zeigt für die Kinder (rot) einen Anstieg, und für die Erwachsenen (blau) einen Abfall im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen (Abb. 11 A).

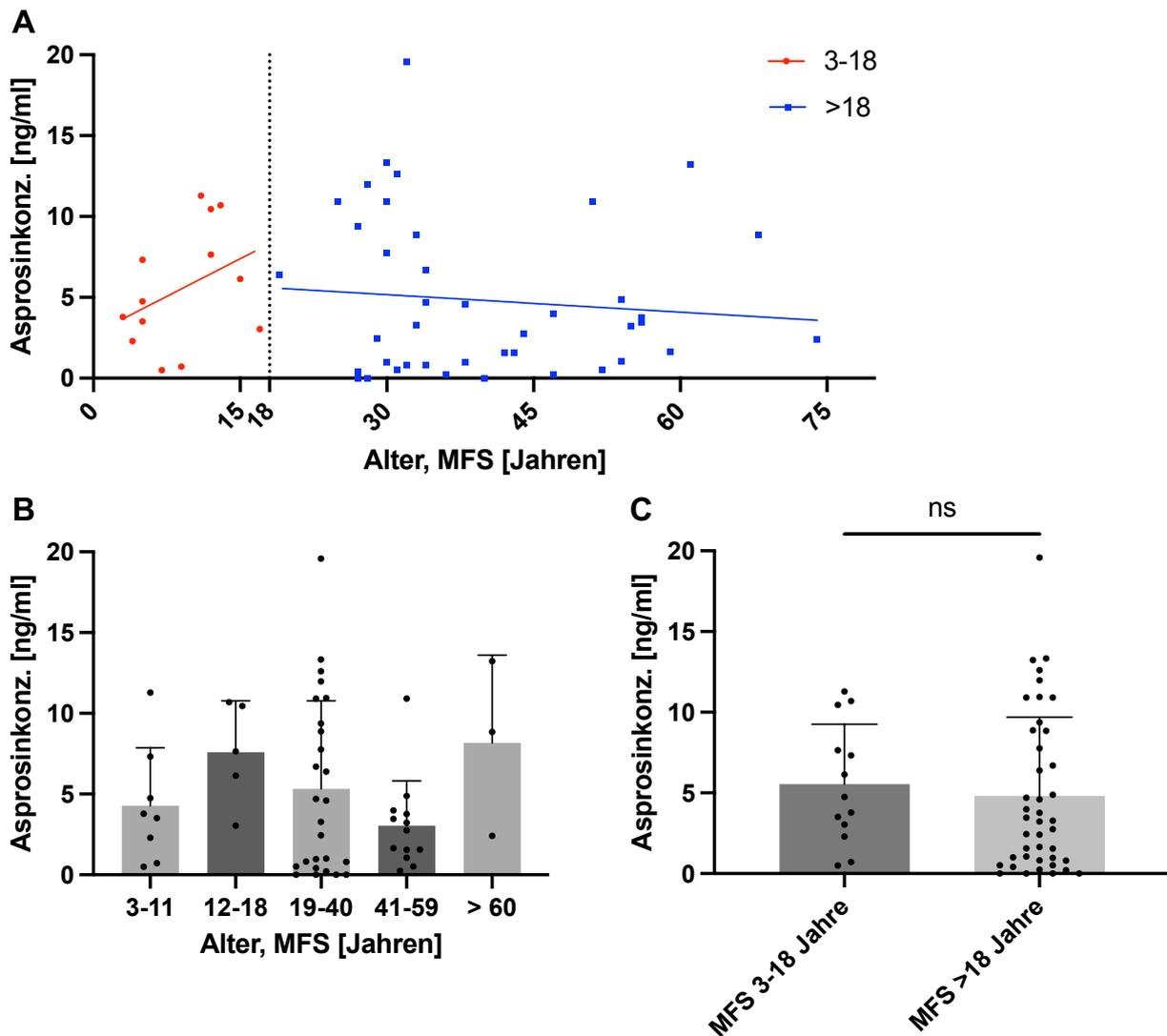


Abbildung 15: Asprosinmessungen bei MFS Patienten, N=55. **A.** Asprosin-Mengen nehmen in der Gruppe 3-18 Jahren (rot) zu ($Y=0,3097x+2,741$), und fallen in der Gruppe >18 Jahren (blau) ab ($Y=-0,03595x+6,245$). Lineare Regression: 3-18 Jahre: N=13, >18 Jahre: N=42. **B.** Asprosin ist im mittleren Altersbereich nicht am höchsten. Kein signifikanter Unterschied. Es zeigt sich eine Streuung der Einzelwerte von niedrigen bis hohen Werten in jedem Altersintervall: 3-11 Jahre: N=8, $4,3 \pm 3,6$ ng/ml. 12-18 Jahre: N=5, $7,6 \pm 3,2$ ng/ml. 19-40 Jahre: N=26, $5,3 \pm 5,5$ ng/ml. 41-59: N=13, $3,1 \pm 2,8$ ng/ml. >60: N=3, $8,2 \pm 5,4$ ng/ml. **C.** Asprosin in MFS Kinder nicht-signifikant gegenüber erwachsenen MFS Patienten erhöht: MFS 3-18 Jahre: N=13, $5,6 \pm 3,7$ ng/ml. MFS Patienten >18 Jahre: N=42, $4,8 \pm 4,9$ ng/ml. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, One-Way-ANOVA (B), t-Test, Mann-Whitney-Test (C), Darstellung des $M \pm SD$.

Bezüglich der gewählten Altersintervalle war die Verteilung der Asprosin-Mengen bei mittelalten (19-40 Jahre) MFS Patienten und Kontrollen unterschiedlich (Abb. 11 B). Es zeigte sich bei MFS Patienten vielmehr eine stärkere Streuung mit hohen und niedrigen Asprosin-Mengen in jedem Altersintervall, ohne Nachweis signifikanter Unterschiede (Abb. 15 B).

Dies führte gerade bei den MFS Kindern, die eine vergleichsweise geringe Stichprobengröße stellten, zu hohen Mittelwerten (MFS: 3-11 Jahre: N=8, $4,3 \pm 3,6$ ng/ml. 12-18 Jahre: N=5, $7,6 \pm 3,2$ ng/ml) (Abb. 15 B), was sich auch im Vergleich der MFS Kinder und MFS Erwachsenen widerspiegelte. Bei den Kontrollen zeigten die Erwachsenen hier erhöhte Asprosin-Mengen mit signifikantem Unterschied (Abb. 11 C), während die MFS Kinder sogar höhere Asprosin-Mengen als die MFS Erwachsene aufwiesen, nicht signifikant (MFS: 3-18 Jahre: $5,6 \pm 3,7$ ng/ml gegenüber >18 Jahre: $4,8 \pm 4,9$ ng/ml).

Ebenso zeigten auch zwei der drei MFS Erwachsenen, über 60 Jahre alt, im Gegensatz zur Kontrollkohorte (Abb. 12 B) sehr hohe Asprosin-Werte, wodurch der Mittelwert im Vergleich zu der der Kontrollgruppe stark erhöht wurde (MFS Patienten: >60 Jahre: N=3, $8,2 \pm 5,4$ ng/ml gegenüber Kontroll-Gruppe: >60: N=5, $2,4 \pm 2,0$ ng/ml). Die beiden MFS-Ausreißer haben die Pat.-ID: 203 (8,8 ng/ml) bzw. 233 (13,2 ng/ml).

Auch nach Trennung der Geschlechter konnte bei MFS Patienten im Gegensatz zu der Kontrollkohorte keine Korrelation der Asprosin-Mengen in Abhängigkeit von den Altersintervallen beobachtet werden (Abb. 12 A, B). Auch hier präsentierten sich die Asprosin-Einzelwerte mit einer großen Streuung in jedem Altersbereich, unabhängig des Geschlechts. In beiden Gruppen stellten sowohl weibliche MFS Patienten mittleren Alters (19-40 Jahre) als auch männliche MFS Patienten mittleren Alters nicht die Gruppe mit der höchsten Asprosin-Konzentration dar (Abb. 16 A + B).

Wie auch bei den Kontrollen konnte auch bei MFS Patienten ein höheres Asprosin bei Frauen mittleren Alters (19-40 Jahre) gegenüber männlichen MFS Patienten gleichen Alters festgestellt werden (MFS, weiblich, 19-40 Jahre: N=12, $6,0 \pm 6,8$ ng/ml gegenüber MFS, männlich, 19-40 Jahre: N=14; $4,7 \pm 4,1$ ng/ml).

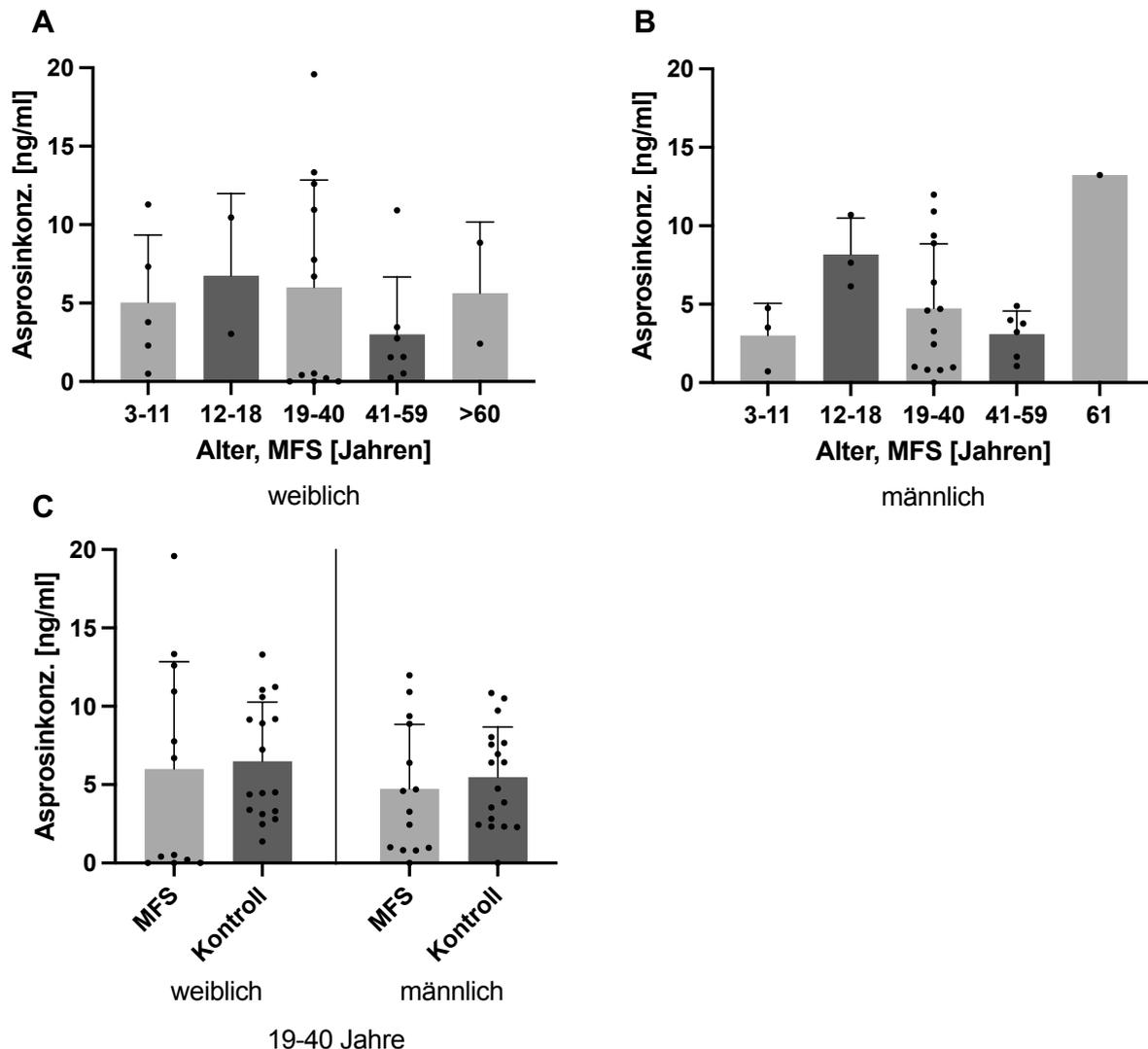


Abbildung 16: Keine signifikanten Unterschiede in der Asprosinmessung bei MFS Patienten unter Berücksichtigung des Geschlechts. **A.** Die Asprosin-Konzentration bei MFS Patientinnen zeigte keine signifikanten Unterschiede zueinander. **B.** Asprosin-Mengen bei männlichen MFS Patienten mittleren Alters zeigten auch keine signifikanten Unterschiede. **C.** Asprosin-Mittelwerte bei weiblichen und männlichen MFS Patienten mittleren Alters (19-40 Jahre) und jeweiligen Kontrollen gegenübergestellt zeigten keinen signifikanten Unterschied. MFS Patienten, weiblich: N=12; $6,0 \pm 6,8$ ng/ml. Kontroll, weiblich: N=17; $6,5 \pm 3,8$ ng/ml. MFS Patienten, männlich: N=14; $4,7 \pm 4,1$ ng/ml. Kontroll, männlich: N=18; $5,5 \pm 3,2$ ng/ml. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, One-Way-ANOVA (A, B, C), Darstellung des $M \pm SD$.

4.4.2. Asprosin in Abhängigkeit von der Nüchternzeit

Asprosin stieg auch in MFS Patienten unter Fasten an. Hier zeigte sich im Vergleich zu den Kontrollen (Abb. 13 A) allerdings ein etwas schwächerer positiver Zusammenhang mit $R_s=0,1931$ nach Spearman, der nicht signifikant war ($P=0,1577$) (Abb. 17 A). In der intervallsbezogenen Betrachtung der Nüchternzeit zeigte sich in jeder Gegenüberstellung, dass die länger Fastenden

(2h, 4h, 6h, 8h, 10h) ein höheres Asprosin hatten. Ein signifikanter Unterschied wurde hier allerdings nicht beobachtet (Abb. 17 B).

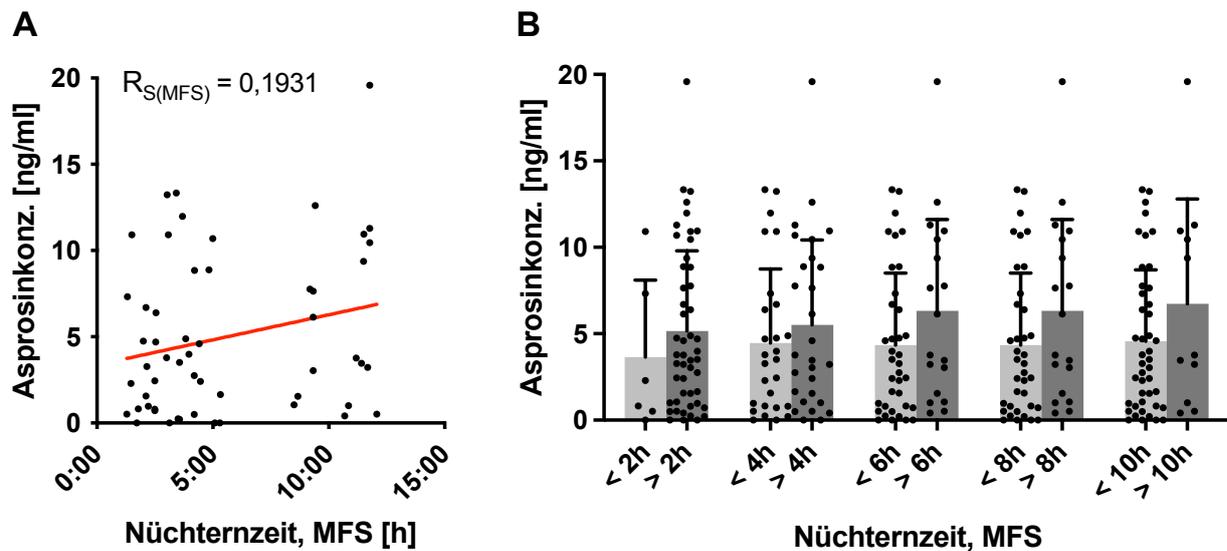


Abbildung 17: Asprosin steigt auch in MFS Patienten unter Fasten an. **A.** Nicht signifikant positive Korrelation nach Spearman mit steigendem Asprosin mit steigender Nüchternzeit: $R_S=0,1931$; $P=0,1577$. Lineare Regression (rot: $Y=0,2906x+3,370$). **B.** Asprosin ist in jeder Gegenüberstellung in der Gruppe der höheren Nüchternzeit erhöht. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied. <2h: $N=6$, $3,6 \pm 4,5$ ng/ml. >2h: $N=49$, $5,2 \pm 4,6$ ng/ml. <4h: $N=27$, $4,5 \pm 4,3$ ng/ml. >4h: $N=28$, $5,5 \pm 4,9$ ng/ml. <6h: $N=37$, $4,3 \pm 4,2$ ng/ml. >6h: $N=18$, $6,3 \pm 5,3$ ng/ml. <8h: $N=37$, $4,3 \pm 4,2$ ng/ml. >8h: $N=18$, $6,3 \pm 5,3$ ng/ml. <10h: $N=44$, $4,6 \pm 4,1$ ng/ml. >10h: $N=11$, $6,7 \pm 6,0$ ng/ml. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, Spearman-Korrelation (A), t-Test, Mann-Whitney-Test (B). Darstellung des $M \pm SD$.

4.4.3. Asprosin in Abhängigkeit von der Konstitution

Der bei den Kontrollen im Kindesalter dargestellte gleichbleibende und im Erwachsenenalter graduell abfallende Verlauf der Asprosinkonzentration in Abhängigkeit von Gewicht, Höhe und KOF (Abb. 14 A, B, D) konnte bei den MFS Patienten nicht gezeigt werden. Die Streuung der gemessenen Einzelwerte mit sehr hohen und sehr niedrigen Mengen folgte keinem Muster (Abb. 18 A, B, D).

Lediglich in Abb. 18 C, die das ermittelte Asprosin in den einzelnen Gewichtsklassen darstellt, ist eine Analogie zu den Befunden in den Kontrollen (vgl. Abb. 14 C) zu sehen. Auch 3-18 jährige MFS Patienten mit Übergewicht zeigten gegenüber den Untergewichtigen und Normalgewichtigen eine Asprosin-Reduktion (MFS Patienten 3-18 Jahre mit Untergewicht: $N=4$, $6,8 \pm 3,4$ ng/ml; mit Normalgewicht: $N=7$, $5,2 \pm 4,4$ ng/ml; mit Übergewicht: $N=2$, $4,6 \pm 2,2$ ng/ml). Bei den MFS Erwachsenen war eine Reduktion von Asprosin mit zunehmender Gewichtsklasse nicht feststellbar (Abb. 18 C).

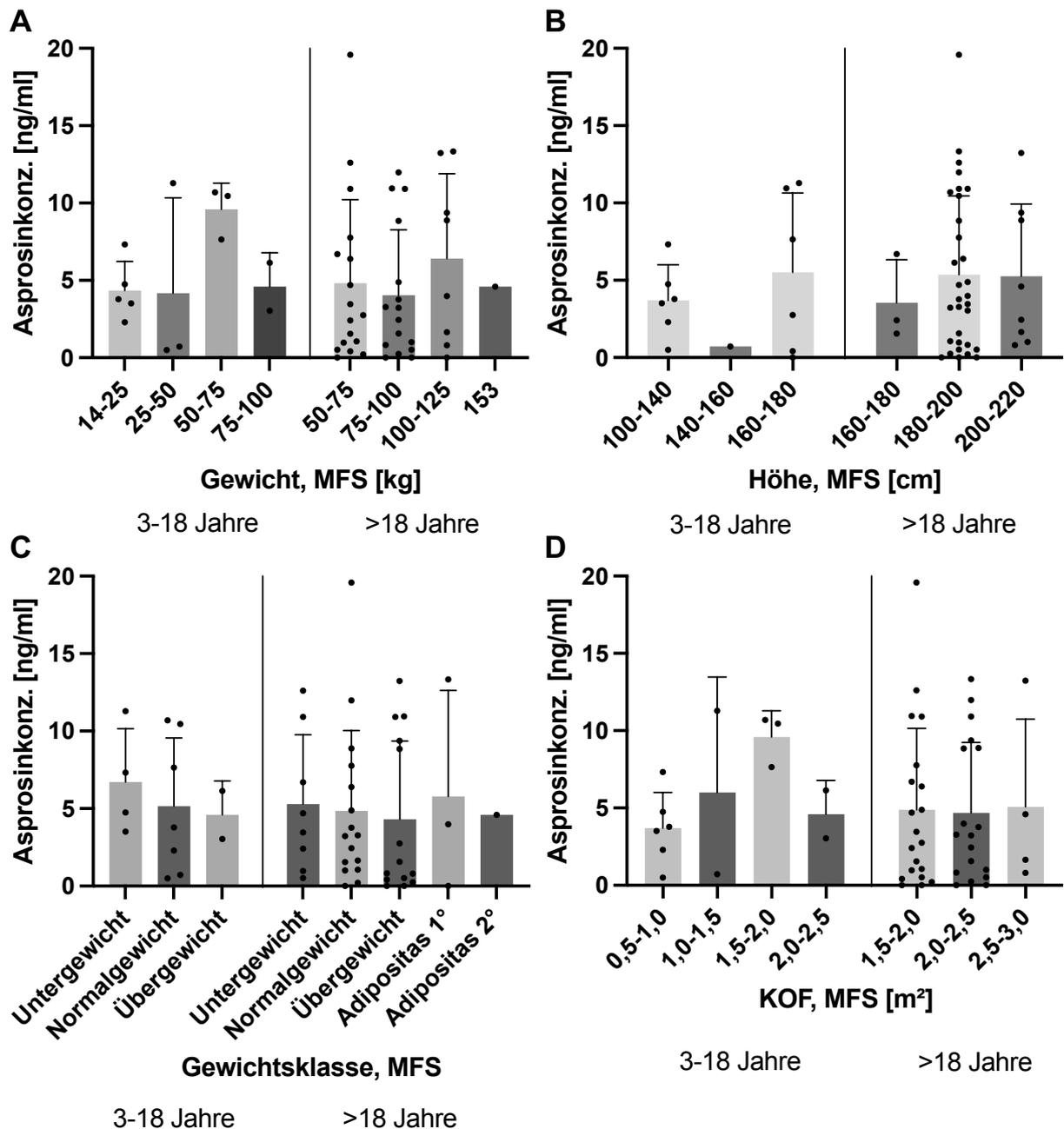


Abbildung 18: Asprosin bei MFS Patienten in Abhängigkeit von der Konstitution. **A.** Asprosin in Abhängigkeit vom Gewicht. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied. **B.** Asprosin in Abhängigkeit von der Höhe. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied. **C.** Asprosin in Abhängigkeit von der Gewichtsklasse. Bei Kindern mit MFS (3-18 Jahre) zeigte sich eine Abnahme von Asprosin mit steigender Gewichtsklasse. Dieser Trend ist bei den erwachsenen MFS Patienten nicht zu sehen. Keine signifikanten Unterschiede. Die Gewichtsklassen der Gruppe der 3-18 Jährigen wurde anhand der einzelnen BMI-Perzentilkurven entsprechend dem Alter bestimmt (vgl. 2.1.2.); die der Gruppe der >18 Jährigen anhand des BMI: Untergewicht (BMI: <18,5 kg/m²), Normalgewicht (BMI: 18,5-24,9 kg/m²), Übergewicht (25-29,9 kg/m²), Adipositas 1° (30-34,9 kg/m²), Adipositas 2° (35-39,9 kg/m²) (vgl. 2.1.2.). **D.** Asprosin in Abhängigkeit von KOF. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Statistische Auswertung mit GraphPadPrism 9, One-Way-ANOVA (A, B, C, D), Darstellung des M ± SD.

4.5. Asprosin bei MFS unter kardiologischer Betrachtung

Das MFS birgt das Risiko der Etablierung einer Aortendilatation, die sich in Folge zu einer tödlichen Aortendissektion entwickeln kann^{30,73}. Die Aortengröße wird bei MFS Patienten in regelmäßigen Abständen quantifiziert und in einen Z-Score überführt, der unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht, Körpergewicht und -höhe das standardisierte Maß für die Aortendilatation ist. Physiologisch liegt dieser Z-Score bei ± 2 ⁷³.

Im Rahmen der Datenerhebung wurden bei den MFS Patienten weitere spezifische Informationen gewonnen: Z-Score, Alter bei erster Aorten-Operation und die genaue *FBN1* Mutation.

Die bekannten 55 MFS Patienten ließen sich unterteilen in eine Gruppe von 13 Kindern mit sieben Mädchen und sechs Jungen sowie 42 Erwachsenen mit 21 Frauen und 21 Männern. Der Z-Score war bei allen Kindern bekannt und lag bei $3,1 \pm 4,5$, bei den Erwachsenen war er bei 28 Patienten dokumentiert und betrug $4,5 \pm 2,9$. Zwei der 13 Kinder wurden bereits an der Aorta operiert. Das Alter bei der 1. Aorten-OP lag bei diesen bei $9 \pm 5,6$ Jahren. Bei den Erwachsenen wurde fast die Hälfte (20 Erwachsene) bereits operiert, wobei das Alter bei der ersten Aorten-OP bei $32,5 \pm 9,3$ Jahren lag. Wurde ein MFS-Patient bereits operiert, so wurde der Z-Score notiert, welchen der Patient vor der 1. Aorten-OP hatte. Bei neun der 13 MFS Kinder war die ursächliche *FBN1* Mutation bekannt und dokumentiert, bei den Erwachsenen war diese bei 20 bekannt (Tab. 4).

Tabelle 4: Überblick über die MFS-Kohorten, unterteilt in MFS Kinder (3-18 Jahre), MFS Erwachsene (>18 Jahre) und MFS-Gesamt unter Betrachtung der Kohortengröße (Anzahl), Geschlecht (Anzahl: weiblich, männlich), Alter (Jahre), Z-Score (Anzahl)/ Wert, Alter der ersten Aorten-OP (Anzahl)/ (Jahre), der bekannten *FBN1* Mutation (Anzahl) und der ermittelten AsprosinKonzentration [ng/ml] (ermittelt im Speichel mittels ELISA). M \pm SD.

MFS-Kohorte	Größe	Geschlecht	Alter	Z-Score		Alter erste Aorten-OP		<i>FBN1</i> Mut. bek.	Asprosin-Konz.
	Anzahl	Anzahl	Jahre (M \pm SD)	Anzahl	M \pm SD	Anzahl	Jahre (M \pm SD)	Anzahl	ng/ml (M \pm SD)
Kinder (3-18 Jahre)	13	w: 7 m: 6	9,1 \pm 4,6	13	3,1 \pm 4,5	2	9 \pm 5,6	9	5,6 \pm 3,7
Erwachsene (>18 Jahre)	42	w: 21 m: 21	39,7 \pm 13	28	4,5 \pm 2,9	20	32,5 \pm 9,3	20	4,8 \pm 4,9
Gesamt	55	w: 28 m: 27	32,4 \pm 17,5	41	3,5 \pm 0,5	22	30,4 \pm 11,3	29	5,0 \pm 4,6

Bei den 55 bekannten MFS Patienten lag eine Asprosin-Konzentration von $5,0 \pm 4,6$ ng/ml vor. Das 99% Konfidenzintervall hierfür lag bei 3,3-6,7 ng/ml (Tab. 5).

Tabelle 5: Überblick über Kohorten von MFS Patienten, Kontrollen und Gesamtproben mit Angabe der Kohortengröße (Anzahl), der im Speichel mittels ELISA ermittelten Asprosin-Konzentration (ng/ml) und dem 95%- und 99%-Konfidenzintervall der Asprosin-Konzentration (ng/ml). $M \pm SD$.

Kohorte	Größe	Asprosin-Konz.	AsprosinKonz. 95% KI	AsprosinKonz. 99% KI
	Anzahl	ng/ml (MW \pm S)	ng/ml	ng/ml
MFS	55	$5,0 \pm 4,6$	3,7-6,2	3,3 – 6,7
Kontroll	75	$4,6 \pm 3,3$	3,8 – 5,4	3,6 – 5,6
Gesamt	130	$4,8 \pm 3,9$	4,1 – 5,4	3,9 – 5,7

4.5.1. Z-Score

Mit zunehmendem Alter kommt es bei MFS Patienten zu einer Erhöhung des Z-Score. Dieser zeigte in Abhängigkeit vom steigenden Alter eine schwach positive Korrelation nach Spearman mit $R_s=0,3615$, die nicht signifikant war ($P=0,1726$). Ab einem Alter von 40 Jahren wies jeder der teilnehmenden MFS Patienten einen über das physiologische Maß überschreitenden Z-Score auf (Abb. 19 A).

Acht der 13 Kinder (3-18 Jahre) hatten einen physiologischen Z-Score im Rahmen von ± 2 (Abb. 19 B, rot), zwei Kinder jedoch zeigten stark erhöhte Z-Scores (Pat-ID: 106, Z-Score: 16,2. 119, Z-Score: 7,9). Bei den Erwachsenen (>18 Jahre) hatten nur fünf der 28 MFS Patienten eine normwertige Aortengröße (Abb. 19 B, blau). Von den 41 MFS Patienten, deren Z-Score bekannt war, wiesen nur acht eine Asprosin-Konzentration im 99%-KI auf. Der Großteil hatte stark abweichende Asprosinwerte (Abb. 19 B).

Die Z-Scores der Erwachsenen mit stark abweichenden Asprosin-Werten ($<3,3$ ng/ml und $>6,7$ ng/ml) zeigten eine bei etwa gleichem Median stärkere Streuung. Die Z-Scores der Kinder mit MFS wurden bei dieser Betrachtung aufgrund der bekannt höheren Asprosin-Mengen in Erwachsenen (Abb. 11 C) herausgenommen.

In der Diagnostik des MFS findet der Z-Score als Ghent-Kriterium Anwendung. Das Ghent-Kriterium ist positiv, sobald ein MFS Patient von <20 Jahren einen Z-Score von ≥ 3 , oder aber von >20 Jahren einen Z-Score von ≥ 2 aufweist (Abb. 19 B). In Abhängigkeit von der Asprosin-

Konzentration ergab sich bei den <20-jährigen MFS Patienten am unteren Grenzwert (<3,3 ng/ml) nie ein positives Ghent-Kriterium, im 99%-KI. Bei den MFS Patienten von >20 Jahren überwog in allen Asprosinbereichen die Anzahl der positiven Ghent-Kriterien (Abb. 19 D).

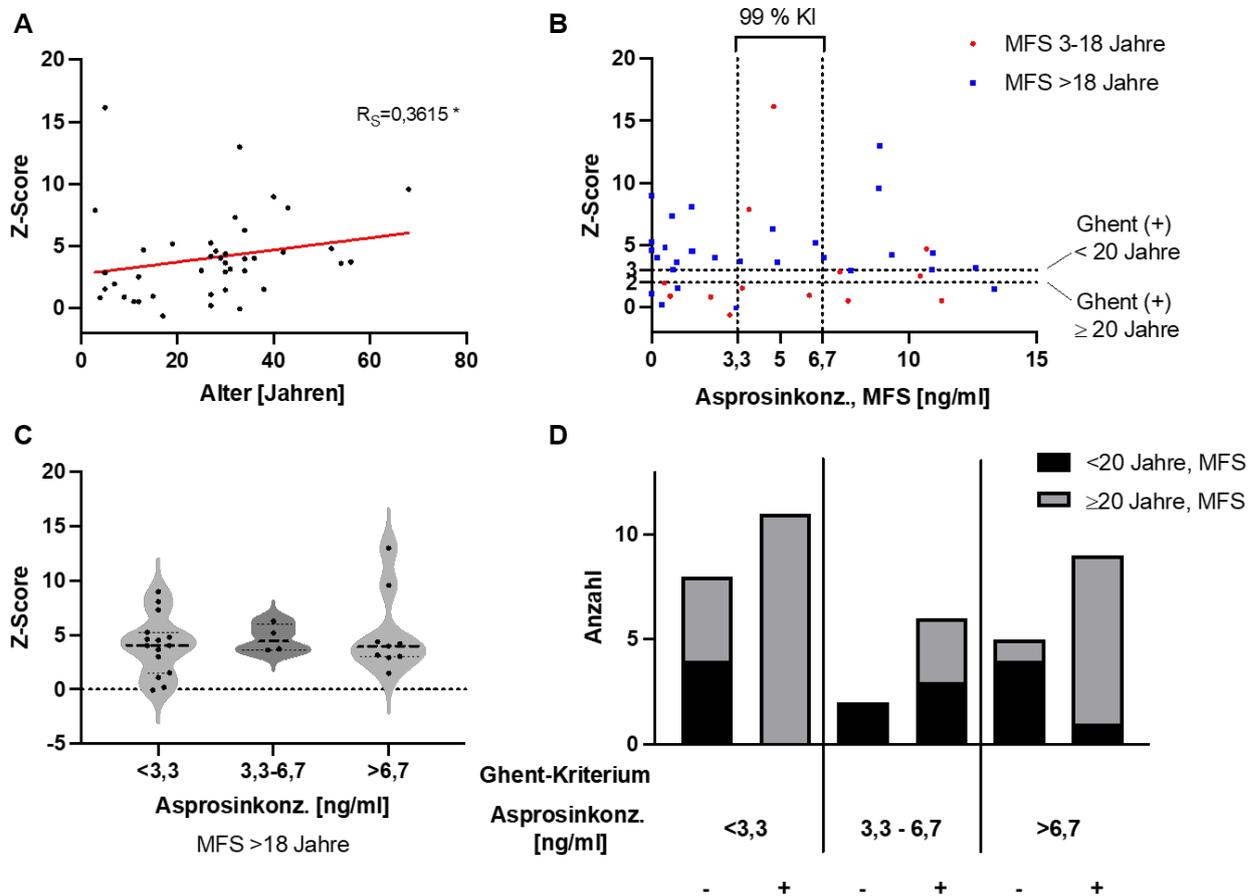


Abbildung 19: Betrachtung kardiologischer Größen in Zusammenhang mit Asprosin-Mengen bei MFS Patienten. Der Z-Score ist ein standardisiertes Maß für die Aortendilatation und liegt physiologisch zwischen ± 2 . N=41. **A.** Mit steigendem Alter kam es zu einer Erhöhung des Z-Scores. Es zeigte sich eine schwach positive Korrelation nach Spearman von $R_s=0,3615$, nicht signifikant bei $P=0,1726$. Ab einem Alter von >40 Jahre wies jeder der MFS Patienten einen erhöhten Z-Score von >2 auf. Zwei Kinder hatten stark pathologisch erhöhte Z-Scores. **B.** Dargestellt ist der Z-Score in Abhängigkeit von der ermittelten Asprosin-Konzentration, die durch die beiden vertikalen gestrichelten Linien des 99%-Konfidenzintervalls (3,3-6,7 ng/ml) in drei Bereiche geteilt wird. Die beiden horizontal gestrichelten Linien stellen die Grenzen des Z-Scores dar, bei deren Überschreitung das Ghent-Kriterium positiv ist. Bei den <20 Jährigen liegt dieses bei einem Z-Score von 3, bei den ≥ 20 Jährigen bei einem Z-Score von 2. Die roten Punkte stellen die Werte der Kinder mit MFS (3-18 Jahre) dar. Diese sind größtenteils normwertig. Zwei MFS Kinder hatten einen stark erhöhten Z-Score (Pat.-ID: 106, 119). Die blauen Markierungen stehen für die Erwachsenen, deren Z-Scores zum Großteil pathologisch erhöht war. Die MFS Patienten wiesen zum Großteil eine Asprosin-Konzentration außerhalb des 99%-KI auf. **C.** Z-Score der erwachsenen MFS Patienten in Violinform mit Darstellung des Median und des ersten (25%) und dritten (75%) Quartils in den Asprosin-Konzentrationsbereichen, die dem 99%-Konfidenzintervalls (KI) entsprechen: (<3,3 ng/ml), (3,3-6,7 ng/ml), (>6,7 ng/ml). Bei etwa gleichem Median zeigt sich eine stärkere Streuung der Z-Score-Einzelwerte an den Extremen. Kein signifikanter Unterschied. (<3,3): N=15, 4,0 ng/ml. (3,3-6,7): N=4, 4,5 ng/ml. (>6,7): N=9, 4,0 ng/ml (Median). **D.** Die Anzahl der negativen (-) gegenüber der positiven (+) Ghent-Kriterien, die nach der Ghent-Nosologie entsprechend dem Alter (<20 Jahre (N=14) / >20 Jahre (N=27)) und des ermittelten Z-Scores (>2/>3) definiert werden, werden zu den Asprosin-Gruppen des 99%-KI und seinen Grenzwerten (ng/ml) dargestellt. >20

Jährige zeigten in allen Asprosin-Konzentrationsbereichen positive Ghent-Kriterien. <20 Jährige MFS Patienten hatten im niedrigen Asprosin-Konzentrationsbereich nie, dafür aber im mittleren und hohen Asprosin-Konzentrationsbereich positive Ghent-Kriterien. Von links nach rechts: (<20): N=4, N=0, N=2, N=3, N=4, N=1. (>20): N=4, N=11, N=0, N=3, N=1, N=8.

4.5.2. Aorta-Operation

22 der 55 MFS Patienten, davon zwei Jungen, acht Frauen und 12 Männer, erhielten bisher eine Aorten-OP. Die erste Operation fand im Alter von $30,4 \pm 11,3$ Jahren statt. Bei zwölf der 22 MFS Patienten ist der Z-Score bekannt. Dieser belief sich im Mittel präoperativ auf einen Wert von $7,1 \pm 4,3$. Bei zehn dieser MFS Patienten ist die genaue *FBN1* Mutation bekannt (Tab. 6, Abb. 20 A).

Tabelle 6: Überblick über die an der Aorta operierten MFS Patienten. Dargestellt ist die Anzahl der Aorten-operierten MFS Patienten, deren Geschlechtsverteilung (weiblich/ männlich) in den beiden Altersbereichen (<18 Jahre und >18 Jahre), das Alter bei Speichelabgabe (Jahre), der Z-Score (Anzahl der MFS Patienten, deren Z-Score bekannt ist; $M \pm SD$), das Alter bei erster Aortenoperation (Jahre), die Anzahl der bekannten *FBN1* Mutationen und die Asprosin-Konzentration [ng/ml] (ermittelt mittels ELISA im Speichel), $M \pm SD$.

Operierte MFS Patienten	Altersbereich/ Geschlecht	Alter bei Speichelabgabe	Z-Score	Alter erste Aorten-OP	FBN1 Mut. bek.	Asprosin- Konz.
Anzahl	Jahre/ weiblich männlich	Jahre ($M \pm SD$)	Anzahl/ $M \pm SD$	Jahre ($M \pm SD$)	Anzahl	ng/ml ($M \pm SD$)
22	< 18 Jahre W: 0 M: 2	$40,8 \pm 17,5$	N=12/ $7,1 \pm 4,3$	$30,4 \pm 11,3$	10	$4,6 \pm 4,3$
	> 18 Jahre W: 8 M: 12					

Die beiden bereits operierten Kinder mit MFS (Pat.-ID: 105, 106) wiesen eine Asprosin-Konzentration auf, welche im mittleren Bereich lag (99% KI) oder sehr stark erhöht war. Kinder mit MFS mit Asprosin-Konzentration unterhalb des unteren Grenzwertes (<3,3 ng/ml) wurden nicht operiert. Die Verteilung der 20 von 42 operierten erwachsenen MFS Patienten vollzieht sich über alle Asprosin-Konzentrationsbereiche ohne Auffälligkeiten (Abb. 20 B).

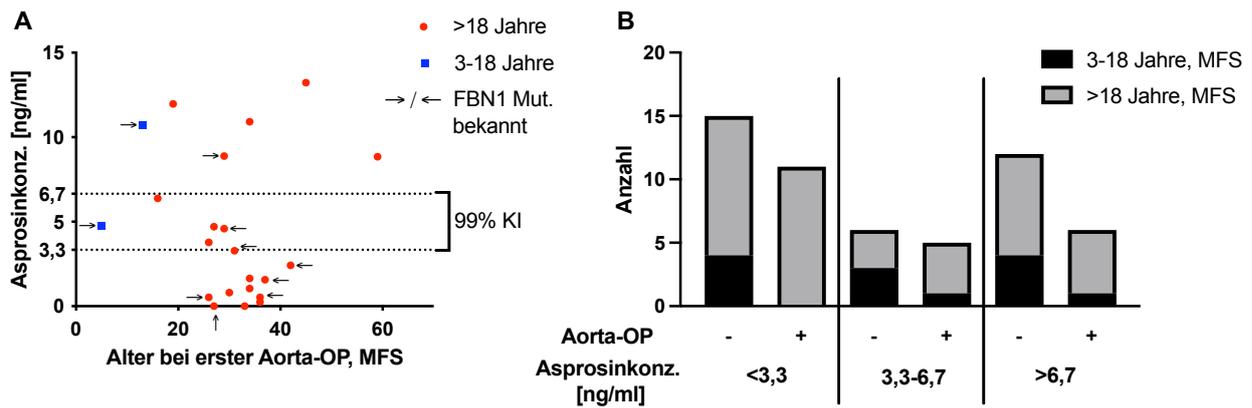


Abbildung 20: Betrachtung kardiologischer Parameter im Zusammenhang mit gemessenen Asprosin-Mengen. **A.** Asprosin-Konzentration bei operierten MFS Patienten in Abhängigkeit vom Alter bei 1. Aorten-Operation (N=22). Es wurden zwei Kinder operiert (blau) (Pat.-ID: 105, 106). Bei zehn MFS Patienten ist die *FBN1* Genmutation bekannt (mit Pfeil markiert). Es zeigt sich eine Häufung von gemessenen Asprosin-Konzentrationen außerhalb des 99%-KI. Der Zeitpunkt der ersten Aorta-OP liegt bei $30,4 \pm 11,3$ Jahren. **B.** Dargestellt ist die Anzahl der nicht- operierten (-) gegenüber den operierten (+) MFS Patienten in Abhängigkeit von ermittelten Asprosin-Konzentrationen, die dem 99%-Konfidenzintervall entsprechen. Es zeigt sich, dass 3-18-jährige MFS Patienten nie operiert wurden, wenn sie sehr niedrige Asprosin-Konzentrationen aufwiesen.

Wie auch bei den Kontrollen (Abb. 13 A) und der Gesamt-MFS-Kohorte (Abb. 17 A) zeigt sich auch bei den isoliert betrachteten MFS Patienten, deren *FBN1* Mutation bekannt ist, ein Anstieg der Asprosin-Konzentration bei steigender Nüchternzeit. Es wurde eine mittelstark positive Korrelation mit $R_s=0,537$ nach Spearman berechnet, die doppelt signifikant war (** $P=0,0027$). MFS Patienten mit einer hohen Nüchternzeit haben demzufolge erhöhte Asprosin-Mengen. Entgegen diesem physiologischen Anstieg über die Zeitdauer zeigen sich aber auch zwei Extrembereiche, die näher betrachtet werden müssen: Zum einen gibt es einige MFS Patienten, die selbst bei kurzer Nüchternzeit schon sehr hohe Asprosin-Werte aufwiesen, zum anderen MFS Patienten, die selbst bei sehr hoher Nüchternzeit noch sehr geringe Asprosin-Werte hatten. Es fällt auf, dass vor allem MFS Patienten in diesen Extrembereichen liegen, die bereits operiert wurden. Die beiden operierten MFS Patienten mit hoher Asprosin-Konzentration bei kurzer Nüchternzeit (Pat.-ID: 105, 220) haben beide eine Spleißmutation. Sehr niedrige Asprosin-Mengen bei hoher Nüchternzeit zeigte ein bereits operierter MFS Patient (Pat.-ID: 231), der eine Deletion im *FBN1* Gen und ein nicht-operierter MFS Patienten (Pat.-ID: 261) mit einer Nonsense-Mutation (Abb. 21). Eine Auflistung der nach Asprosin-Konzentrationen geordneten *FBN1* Mutationen findet sich im Anhang (Tab. 7, Anhang).

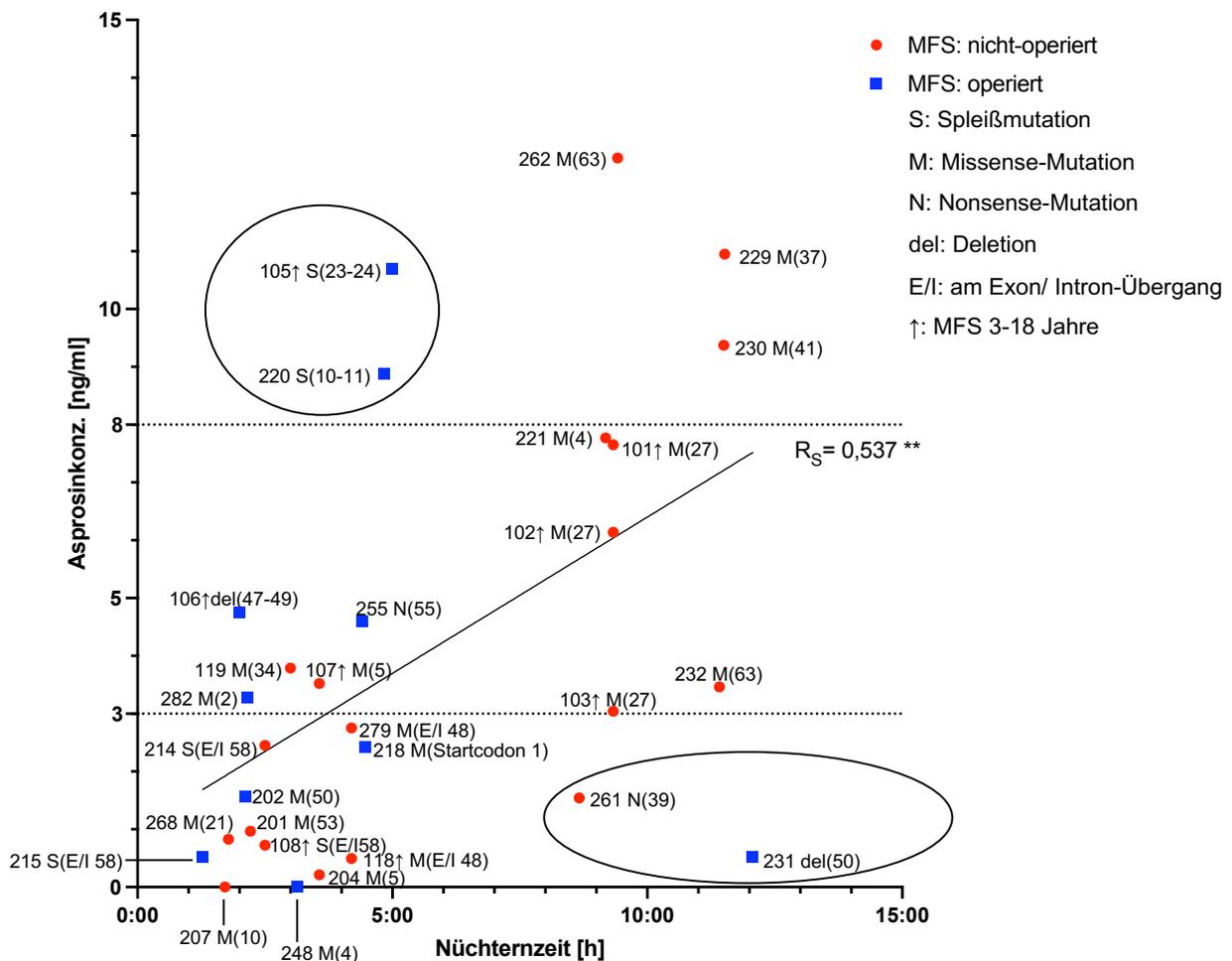


Abbildung 21: Dargestellt ist die Asprosin-Konzentration der MFS Patienten, deren genetische Mutation bekannt ist, in Abhängigkeit von der Nüchternzeit (N=29). Es zeigt sich eine positive Korrelation nach Spearman bei doppelter Signifikanz: $R_S=0,537$, $**P=0,0027$. Jeder Punktwert wurde mit der dreistelligen Patienten-ID, dem genetischen Mutationstyp und betroffenem Exon gekennzeichnet: Spleißmutation, Missense-Mutation, Nonsense-Mutation, Deletion, Mutation am Exon/ Intron-Übergang. Die MFS Patienten werden zwischen nicht-operiert und operiert farblich (rot/ blau) unterschieden. MFS Patienten im Alter von 3-18 Jahren wurden zudem mit einem Pfeil (†) versehen, da Kinder tendenziell eine geringere Asprosin-Konzentration aufweisen und dem Vergleich mit Eltern zufolge nach oben korrigiert werden müssten. Das 99%-Konfidenzintervall der Asprosin-Konzentration bei MFS wurde erweitert und durch die beiden gestrichelten Linien auf 3 ng/ml und 8 ng/ml gekennzeichnet. Es zeigen sich bei Betrachtung des Diagramms zwei Extreme: Zum einen der Bereich der hohen Nüchternzeit bei gleichzeitig niedriger Asprosin-Konzentration, zum anderen der Bereich der niedrigen Nüchternzeit bei gleichzeitig hoher Asprosin-Konzentration (eingekreiste Bereiche), in der vornehmlich operierte Patienten zu finden sind.

4.6. Asprosin: Hautscore, Verwandtschaft

Hautscore

Bei den 55 MFS Patienten wurde der unter 2.1.2. vorgestellte Hautscore erhoben. Unter den insgesamt sechs visuell oder taktil erfassbaren Diagnosekriterien stellte sich dar, dass MFS Erwachsene einen höheren mittleren Hautscore als MFS Kinder hatten (MFS Erwachsene: N=42,

1,9 ± 1,0; MFS Kinder: N=13, 0,8 ± 1,0). Die sowohl bei MFS Kindern als auch MFS Erwachsenen am häufigsten vorkommenden Kriterien waren die *Striae distensae* und die Venenzeichnung.

Tabelle 7: Darstellung der Ergebnisse des Hautscores bei MFS Kindern und MFS Erwachsenen.

MFS	Anzahl	Weichheit	Venenzeichnung	<i>Striae distensae</i>	Piezogene Knötchen	Hämatome	Atrophe Narben	Hautscore
	N	Summe						(MW ± S)
Kinder	13	2	4	5	0	0	0	0,8 ± 1,0
Erwachsene	42	7	23	42	0	7	0	1,9 ± 1,0

Es ergab sich in der statistischen Analyse keine Korrelationen, die auf einen Zusammenhang zwischen Hautscore und anderen aufgeführten untersuchten Kriterien wie Asprosin oder kardiologische Größen wie dem Z-Score oder durchgeführte Aorten-Operationen hinwiesen.

Verwandtschaft

In der Studie gab es mit Hinblick auf die verwandtschaftliche Beziehung drei MFS Familien, die entsprechend die gleiche *FBN1* Mutation aufwiesen. Diese waren:

1. Pat.-ID: 101,102,103
2. Pat.-ID: 118, 279
3. Pat.-ID: 108, 214, 215

Es zeigten sich grob übereinstimmende Asprosin-Konzentrationen in den generationsübergreifenden Familien. So wies die dritte Familie mit den Pat.-ID 108 (0,7 ng/ml), 214 (2,5 ng/ml) und 215 (0,5 ng/ml) ein ähnlich niedriges Asprosin auf. Hier lag eine ursächliche Spleißmutation zugrunde (vgl. Abb. 24, Anhang).

5. Diskussion

5.1. Hintergrund und Einordnung der Studie

MFS resultiert aus *FBN1* Gen-Mutationen und zeigt sich klinisch durch einen leptosomischen Phänotyp. Da Asprosin eine Hormon ähnliche orexigene Wirkung hat und als Spaltprodukt in der Fibrillin-1-Synthese entsteht, bestand unter Berücksichtigung eines bereits bei MPLS-Patienten ermittelten erniedrigten Serum-Asprosin von Romere *et al.*¹¹ die Vermutung, dass ein niedriges Asprosin generell für alle MFS Patienten gelte. Ziel der Studie war somit die Bedeutung von Asprosin als Marker für das MFS darzustellen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegen auf der Internetseite <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov> bisher vier Publikationen mit quantitativer Asprosinbestimmung im Speichel vor^{33,34,90,91}. Ein Vorteil der Speichelbestimmung gegenüber einer Messung im Blut wird grundsätzlich in der Nichtinvasivität und Praktikabilität gesehen³⁴. Die ASPMFS-Studie umfasste eine Teilnehmerzahl von 130 Personen, die sich aus 55 MFS Patienten und 75 zugeordneten Kontrollpersonen zusammensetzte. Es ist damit die Studie, die einerseits die weltweite größte Kohorte umfasst, bei der Speichel als Analysat zur Asprosinmessung verwendet wird, und zum anderen erstmals eine MFS Kohorte einbezieht und untersucht.

Die quantitative Analyse von Asprosin im Speichel wurde in dieser Studie mit Hilfe eines an der Uniklinik Köln entwickelten Sandwich-ELISAs durchgeführt³³. Die mittlere Asprosinkonzentration in der Gruppe der MFS Patienten lag bei $5,0 \pm 4,6$ ng/ml, und bei den Kontrollen bei $4,6 \pm 3,4$ ng/ml. Im Gegensatz dazu wurden in drei vorherigen Publikationen deutlich höhere Speichel-Asprosinwerte gemessen, die im zwei- bis dreistelligen ng/ml Konzentrationsbereich lagen (>10 ng/ml bis zu 120 ng/ml), und eine höhere Streuung aufwiesen^{34,90,91}. Diese Unterschiede in den Messungen sind wahrscheinlich auf die unterschiedliche Genauigkeit der verwendeten ELISAs zurückzuführen. Im Gegensatz zu den verwendeten ELISA-Kits der drei anderen Studien, bei denen es sich um käuflich erworbene Produkte chinesischer Firmen handelte^{34,90,91}, basiert die Detektion des an der Uniklinik Köln entwickelten Sandwich-ELISA, nicht auf in *E.coli* hergestelltem Asprosin. Der Antikörper wurde gegen rekombinantes menschliches Asprosin generiert, das in der menschlichen Zelllinie HEK293 hergestellt worden war³³. Dieses Asprosin trägt im Gegensatz zu in *E.coli* generierten rekombinanten Proteinen zahlreiche Glykosylierungen, welche die funktionellen Eigenschaften und Detektion von physiologischem Asprosin bedingen³³. Die in einer ersten Messreihe erhobenen Speichel-Asprosinwerte von Morcos *et al.*: $N=14$, $1,1 \pm 0,9$ ng/ml³³ stimmen in etwa mit denen in dieser Studie ermittelten Werten überein. Es zeigt sich eine leichte Diskrepanz von wenigen ng/ml, die möglicherweise auf die größere Anzahl an getesteten Individuen, die breitere Altersstreuung und Geschlechtsverteilung zurückzuführen ist.

5.2. Asprosin in MFS nicht reduziert

Ein wichtiger Befund dieser Arbeit ist, dass die gemittelten Asprosin-Konzentrationen in MFS Patienten im Vergleich zu den Kontrollen keine generelle Reduktion zeigten. Daher kann die Ausgangshypothese von niedrigen Speichel-Asprosinwerten als klares Kriterium für MFS in der Erst-Diagnostik verworfen werden.

Stattdessen konnte eine starke Streuung von Asprosin bei MFS Patienten mit extrem hohen und extrem niedrigen Werten beobachtet werden. Die Ursache dieser Extremwerte kann am ehesten mit den unterschiedlichen Effekten der individuellen *FBN1* Mutation auf die Asprosin Synthese und Bioverfügbarkeit begründet werden. Zudem korrelierten bestimmte *FBN1* Mutationen mit extremen Asprosin-Werten, dem Auftreten von Aortopathien und dem Bedarf einer Operation. Diese bei MFS Patienten auftretende größere Streuung der Werte mit Ausreißern führte zu einer im Vergleich zu den Kontrollen erschwerten Interpretation der Daten, besonders im Hinblick auf Korrelationsuntersuchungen zu bestimmten Einflussgrößen und klinischen Daten.

5.3. Asprosin unter Betrachtung von Einflussgrößen

5.3.1. Asprosin steigt unter Fasten an

Asprosin steigt mit zunehmender Nüchternzeit an. Dies ließ sich zu teils signifikanten Ergebnissen in der Kontroll-, MFS- sowie der operierten MFS-Kohorte bestätigen und wurde bereits in anderen Studien publiziert^{11,33,48}. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass es sich bei den in dieser Studie ermittelten Asprosin-Werten um Individualwerte zu einem Zeitpunkt handelt, die keinen Verlauf über eine Fastenperiode von mehreren Stunden repräsentieren. An dieser Stelle wären daher weitere Forschungsarbeiten denkbar, die den Anstieg von Asprosin in Abhängigkeit von der Fastenperiode zu festgelegten Zeitpunkten untersuchen, um diese Hypothese weiter zu bekräftigen.

5.3.2. Asprosin ist im mittleren Lebensalter erhöht

Asprosin zeigt ein altersabhängiges Verhalten. In keiner bislang bekannten Publikation wurde Asprosin im Zusammenhang mit Alter gesetzt oder ein Vergleich von Kindern gegenüber Erwachsenen gezogen. In dieser Studie zeigte sich sowohl in der Kontroll- als auch der MFS-Kohorte ein Anstieg von Asprosin im Kindes-/ Jugendalter, welcher ein Maximum im mittleren Altersbereich erreichte und im hohen Alter einen Abfall zeigte. Bei den Kontrollen war dieses Verhalten prägnanter und es stellten sich gerade bei den Erwachsenen signifikant höhere Asprosin-Konzentrationen im Vergleich zu Kindern dar. Eine Erklärung für die steigende Asprosinmenge im pubertären Alter könnte die mit der Größenzunahme und den hormonellen Veränderungen einhergehende absolute Zunahme an Fett- und Bindegewebe sein⁹², wo eine Asprosin Synthese schon beschrieben wurde^{11,33}. Eine Abnahme der Asprosin-Menge im hohen

Alter ist am ehesten Ursache eines reduziertes Fibrillin-Umsatzes mit verringerter Synthese von Asprosin. Dies ist ein häufig beobachtetes biologisches Verhalten des alternden Menschen in Bezug zu seinem Metabolismus und seiner Organfunktion⁹³⁻⁹⁵.

5.3.3. Asprosin bei Frauen im reproduktionsfähigem Alter erhöht

Zudem wiesen sowohl weibliche Kontrollen als auch weibliche MFS Patienten mittleren Alters höhere Asprosin-Mengen als die vergleichende Männergruppe auf. Dieses Muster wurde auch schon von Morcos *et al.* beobachtet³³. Vor dem Hintergrund des reproduktiven Fensters bei Frauen im mittleren Alter und der bereits beschriebenen Korrelation von Asprosin und PCOS^{67,68}, die beide mit einer Erhöhung der Östrogene einhergehen, wurde bereits klinisch eine Beeinflussung und Steigerung von Asprosin durch Östrogene beobachtet. *In-vitro* Studien konnten diesen Zusammenhang bekräftigen, indem sie zeigten, dass Östrogene die Synthese von Fibrillin-1 fördern⁹⁶. Östrogene tragen bekanntlich zum Aufbau des Fettgewebes bei⁹⁷, welches gleichzeitig den Hauptsyntheseort des Asprosin¹¹ darstellt und so mit erhöhten Asprosin-Mengen einhergehen kann.

Dieser Zusammenhang erklärt zudem als weiteres Argument die Asprosin-Reduktion bei älteren Frauen, da postmenopausal die Östrogen-Produktion erlischt⁹⁸ und dadurch die Fibrillin-1 Synthese einen Stimulus verliert⁹⁷.

5.3.4. Asprosin unter konstitutionellem Einfluss

Die Betrachtung von Asprosin hinsichtlich konstitutioneller Parameter lässt sich am ehesten unter Einbezug des Alters in den Kontrollen beurteilen.

Im Kindesalter zeigt sich Asprosin unabhängig von Gewicht, Höhe und KOF etwa konstant auf einem niedrigen Niveau. Eine Besonderheit erfahren hierbei übergewichtige Kinder: Während einige Studien ein erhöhtes Asprosin beobachteten⁵⁹, welches unter Berücksichtigung der Annahme, dass das Fettgewebe den Hauptort der Asprosin-Synthese darstellt¹¹, als schlüssig erscheinen lässt, ließen sich in dieser Studie die Ergebnisse zweier Forschungsarbeiten^{58,60} reproduzieren, dass übergewichtige Kinder ein erniedrigtes Asprosin aufweisen. Long *et al.* vermuteten als Ursache hierfür ein bei übergewichtigen Kindern vorliegenden kompensatorischen Metabolismus, bei dem der Körper das Asprosin regulierend reduzierend synthetisiert, um den Hungerstimulus und der damit verbundenen weiteren Zunahme des Gewichts zu drosseln⁵⁸.

Eine Korrelation von erhöhtem Asprosin bei Erwachsenen und einem der maßgeblichen Faktoren des metabolischen Syndroms, der Adipositas³⁴, ließ sich in dieser Studie nicht bestätigen. Wie übergewichtige Kinder hatten auch adipöse Erwachsene geringere Asprosin-Konzentrationen. Dies kann dahingehend verstanden werden, dass es durch noch unbekannte

Rückkopplungsmechanismen zu einer Hemmung der Freisetzung des Hunger stimulierenden Hormons Asprosin kommt⁵⁸.

Bei MFS Patienten war die Aussagekraft der Zusammenhänge zwischen Asprosin und genannter konstitutioneller Parameter durch erwähnte Ausreißer erschwert. Erniedrigte Asprosin-Werte in übergewichtigen Kindern mit MFS ließen sich aber auch hier beobachten.

Die extrem niedrigen und hohen Asprosin-Werte bei MFS Patienten führten zu einer hohen Variabilität von Mittelwerten und vergrößerten Standardabweichungen, wodurch Korrelationen nicht hergestellt werden konnten. Erhöhte Asprosin-Mengen bei Frauen, erniedrigte Asprosin-Mengen bei adipösen Kindern und steigende Asprosin-Konzentrationen bei Fasten ließen sich bei der Kontroll-Kohorte im Hinblick auf publizierte Arbeiten reproduzieren^{11,33,58,60}. Ein solches Asprosin-Muster in Bezug zu Alter und konstitutionelle Parameter stellte sich bei MFS Patienten nicht dar, sodass als Ursache dieser Asprosin-Devianz in MFS die Genetik oder andere, in dieser Studie nicht erfasste Begleiterkrankungen in Betracht gezogen werden müssen.

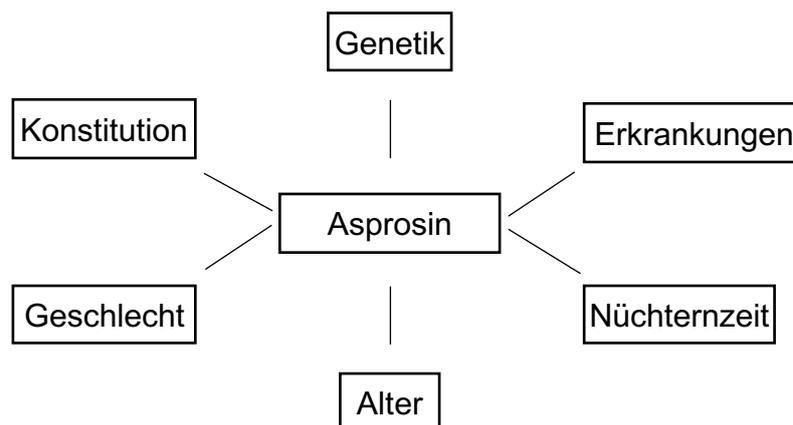


Abbildung 22: Überblick über mögliche Einflussfaktoren von Asprosin: Konstitution, Geschlecht, Alter, Nüchternzeit, Erkrankungen und Genetik.

5.4. *FBN1* Mutation nimmt Einfluss auf Asprosin

Die funktionellen Konsequenzen der individuellen *FBN1* Mutation könnte die Erklärung für divergierende Asprosin-Konzentrationen in MFS Patienten sein. Sezerniertes Fibrillin-1 wird als FMF in die EZM eingebaut und erfüllt dort primär zwei Aufgaben: Zum einen dient es als strukturgebende Komponente welche signifikant zur Stabilität des Bindegewebes beiträgt¹⁸, zum anderen nimmt es als Speicherort für beispielsweise Wachstumshormone der TGF- β -Superfamilie Einfluss auf die Bioverfügbarkeit dieser¹⁹.

Dies lässt sich auch auf die hier untersuchten Größen von Asprosin und Aortendilatation übertragen. Wird in MFS Patienten mutiertes Fibrillin-1 hergestellt und in die EZM eingebaut, führt dies zu einer Architekturstörung mit Stabilitätsverlust und damit Risiko für eine Aortendilatation³⁰.

Ebenso liegt die Vermutung nahe, dass FMF in der Lage sind, Asprosin zu binden, zu speichern und bei Bedarf freizugeben, wodurch eine direkte Einflussnahme auf die Bioverfügbarkeit von Asprosin erfolgt³³. Daraus wächst die Erkenntnis, dass *FBN1* Gen-Mutationen Einfluss auf die systemisch messbare AsprosinKonzentration nehmen: Entweder aufgrund einer verminderten Synthese oder aufgrund einer veränderten Bioverfügbarkeit von Asprosin durch strukturelle Veränderungen der FMF.

Es lassen sich somit drei Gruppen an *FBN1* Gen-Mutationen unterscheiden (Abb. 23):

1. Die *FBN1* Mutation führt zu einem Abbruch der Translation mit der Konsequenz eines (a) verkürzten oder (b) nicht prozessierten Fibrillin-1, wodurch auch das am Ende der Translation lokalisierte C-terminale Ende, das spätere Asprosin, nicht hergestellt wird. Eine auslösende Mutationsart wäre beispielsweise eine Nonsense-Mutation⁹⁹. Bei heterozygoter Mutationsanlage ergibt sich daraus eine Haploinsuffizienz^{100,101}: Das zweite, gesunde *FBN1* Allel sorgt für eine korrekte, aber insgesamt reduzierte Synthese von Fibrillin-1 und damit auch Asprosin. Bei niedrigem Asprosin ergibt sich in Abhängigkeit von der Syntheseleistung des mutierten *FBN1* Gens eine unterschiedliche Qualität und Anzahl des Fibrillin-1 in der EZM.
 - a) Das mutierte *FBN1* Gen führt zur Synthese von einem C-terminal trunkiertem Fibrillin-1: Es werden somit 100% Fibrillin-1 hergestellt, wovon 50% trunkiert sind. Asprosin Synthese ist um 50% reduziert.
 - b) Das mutierte *FBN1* Gen führt zum Abbruch der Fibrillin-1 Synthese: Es werden somit insgesamt nur 50% Fibrillin-1 hergestellt, was aber keinen qualitativen Mangel hat. Asprosin liegt mit einer 50%igen Reduktion vor.
2. Die *FBN1* Mutation führt zu einer nur leichten Strukturänderung des Fibrillin-1 bei unveränderter Synthese von Fibrillin-1 und Asprosin. Die Fibrillin-1 Synthese liegt bei 100%, wovon 50% mutiert sind und in FMF eingebaut werden. Asprosin ist in seiner Synthese nicht reduziert, kann aber durch Degradation der FMF freigesetzt werden. Asprosinlevel sind normal oder nur leicht erhöht.
3. Die *FBN1* Mutation ist an wichtigen, funktionellen Stellen des späteren Fibrillin-1 lokalisiert, welche die Bindungsaffinität zu Asprosin bedingen^{33,102}. Es werden zwar 100% Fibrillin-1 hergestellt, allerdings weisen 50% hiervon einen starken qualitativen Mangel auf, der sich mit einer reduzierten Bindungseigenschaft zum Asprosin bemerkbar macht. Die Asprosin-synthese ist unverändert bei 100%. Es kommt allerdings aufgrund der reduzierten Bindungskapazität der FMF bzw. ihrer starken Degradation zu erhöhten Mengen von Asprosin im Systemkreislauf.

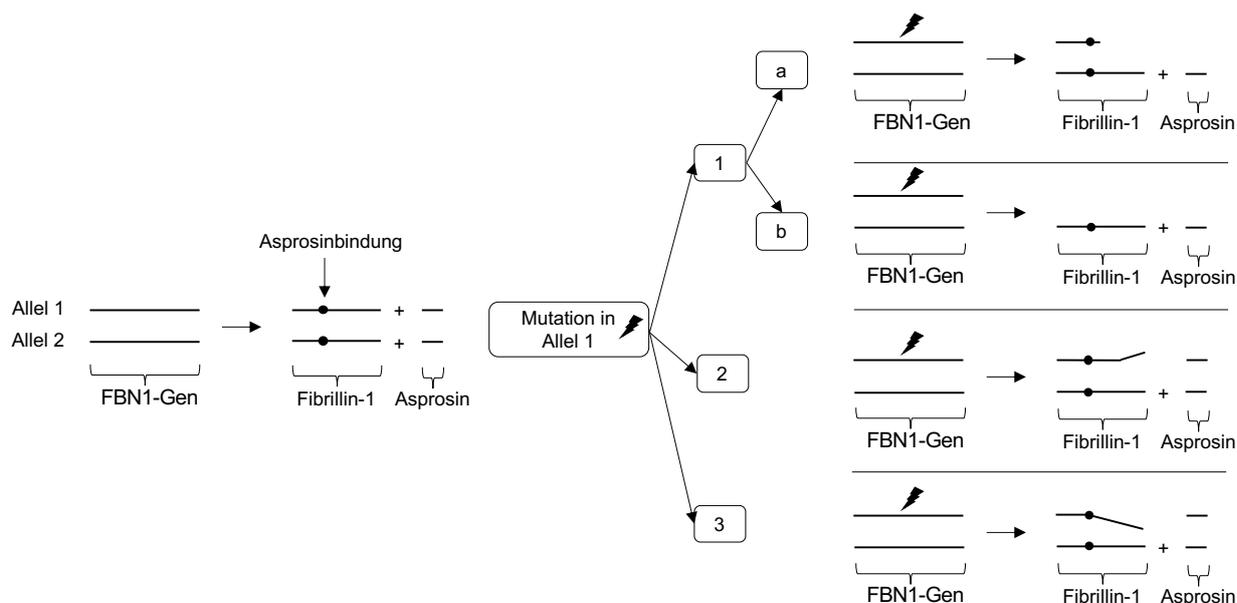


Abbildung 23: Verschiedene Mutationen im *FBN1* Gen führen zu unterschiedlichen qualitativen und quantitativen Ausprägungen von Fibrillin-1 und Asprosin. Zwei Allele, die das *FBN1* Gen tragen, führen jeweils zur Bildung von Fibrillin-1 und Asprosin. Es können drei Mutationsgruppen bei Allelmutation unterschieden werden: 1: Die *FBN1* Mutation führt zu einem (a) verkürzten oder einem (b) nicht-hergestellten Fibrillin-1 und nicht prozessiertem Asprosin. 2: Die *FBN1* Mutation führt zu einer geringen Strukturveränderung von Fibrillin-1 und nicht veränderten Asprosinproduktion. 3: Die *FBN1* Mutation führt zu einer Strukturveränderung von Fibrillin-1 an einer Bindungsstelle von Asprosin. Die Asprosinproduktion ist unverändert.

5.5. Asprosin bei MFS unter kardiologischer Betrachtung

5.5.1. MFS Patienten entwickeln eine Aortendilatation

Mit Bezug zu kardiologischen Größen ließ sich zeigen, dass der Z-Score als Maß für die Aortendilatation mit zunehmendem Alter bei MFS Patienten ansteigt. Alle über 40-jährigen MFS Patienten hatten in dieser Studie einen Z-Score außerhalb der Norm von ± 2 . Dieses deckt sich mit der Information von Langenbach *et al.*, dass etwa 80% der MFS Patienten eine erweiterte Aortenwurzel haben³⁰. Da dies als größtes Risiko für ein tödliches Aortenereignis gesehen wird, ist eine regelmäßige kardiologische Betreuung von MFS Patienten bis ins hohe Alter absolut indiziert. Allerdings hatten auch einige wenige Kinder mit MFS stark erhöhte Z-Scores. Dies stellt einerseits die Bedeutung einer engen kinder-kardiologischen Anbindung von Kindern mit MFS dar, andererseits zeigt es die hohe klinische Variabilität des MFS. MFS Patienten, die schon in der Kindheit eine Aortendilatation aufweisen, müssen als stark risikobehaftete Patienten betrachtet werden und entsprechend früher medikamentös und präventiv-operativ therapiert werden.

5.5.2. Asprosin als Hinweis für den Schweregrad von MFS

MFS Erwachsene hatten eine größere Schwankung des Z-Scores, wenn sie extrem niedrige oder extrem hohe Asprosin-Konzentrationen aufwiesen. Mit Rückblick auf Abb. 23 korreliert dies mit

der Hypothese, dass die individuelle *FBN1* Mutation zu unterschiedlichem Maße Einfluss auf die quantitative und qualitative Ausprägung von Fibrillin-1 und Asprosin nimmt. Demzufolge kann die Höhe des ermittelten Asprosin ein Hinweis auf die Schwere des MFS geben: Sehr niedrige oder sehr hohe Asprosin-Werte könnten somit Folge einer schwereren Ausprägung des MFS sein. Asprosin-Werte im mittleren Konzentrationsbereich würden somit eine weniger pathologische Variante des MFS indizieren. MFS Patienten müssen daher individualisiert nach ihrer genauen *FBN1* Mutation betrachtet und therapiert werden. Kinder mit MFS mit einer vergrößerten Aorta bei positivem Ghent-Kriterium und folglich Aorten-OP wiesen mittlere bis hohe Asprosin-Mengen auf. Unter Betrachtung, dass Kinder grundsätzlich weniger Asprosin als Erwachsene synthetisieren, sind diese bei Kindern ermittelten Asprosin-Werte im Vergleich mit Erwachsenen nach oben zu korrigieren. Daher kann angenommen werden, dass *FBN1* Mutationen, die mit hohen Asprosin-Mengen einhergehen und selbst schon im Kindesalter klinisch manifest werden und gar ursächlich für Operationen sind, als pathologischer einzustufen sind als *FBN1* Mutationen, welche zu niedrigen Asprosin-Mengen führen.

In dieser Studie war das mittlere Alter der MFS Patienten bei erster durchgeführten Aorten-OP bei $30,4 \pm 11,3$ Jahren. Dies stimmt mit der Publikation von Puluca *et al.* überein, die ebenfalls ein Alter von 30 Jahren im Mittel berechnet hatten¹⁰³.

Unter Betrachtung der Asprosin-Konzentration in Abhängigkeit von der Nüchternzeit können bei MFS Patienten zwei pathologische Extreme beobachtet werden: Niedrige Asprosin-Werte bei hoher Nüchternzeit, und hohe Asprosin-Werte bei geringer Nüchternzeit. Diese Extreme stehen im Gegensatz zu den mit steigender Nüchternzeit ansteigenden Asprosin-Werten. MFS Patienten, die bereits operiert wurden, wiesen nie hohe Asprosin-Werte bei steigender Nüchternzeit auf, sondern größtenteils nur niedrige Asprosin-Werte bei geringer Nüchternzeit. In zwei Fällen waren die Asprosin-Werte jedoch stark erhöht, was potenziell auf eine starke Gewebsdegradation und damit einhergehende Freisetzung von gelagertem Gewebe-Asprosin hervorgerufen durch die *FBN1* Mutation schließen lässt. Dagegen zeigten drei der bereits operierten MFS Patienten Asprosin-Werte im mittleren Bereich (3-5 ng/ml) bei niedriger Nüchternzeit, bei der die meisten der nicht operierten MFS Patienten Asprosin-Konzentrationen von unter 1 ng/ml zeigten. Dieses Muster lässt sich ebenfalls mit der bereits dargestellten Hypothese der individuellen *FBN1* Mutation mit folglichem Einfluss auf Fibrillin-1 und Asprosin Synthese erklären (Abb. 23).

1. Niedriges Asprosin bei hoher Nüchternzeit

Hier liegt eine *FBN1* Mutation der Gruppe 1 (Abb. 23) vor. Die Mutation führt zu einem a) verkürzten oder b) erst gar nicht hergestellten Fibrillin-1. Es kommt so zu einem a) qualitativen oder b) quantitativen Mangel, der zu einer gestörten Bindegewebsarchitektur mit der Folge einer Aortendilatation und OP-Indikation führt. Das Asprosin ist aufgrund der

50% reduzierten Syntheseleistung insgesamt reduziert. Selbst eine lange Nüchternzeit bewegt das Asprosin nicht in einen Konzentrationsbereich, der bei 100% Syntheseleistung liegen würde.

2. Hohes Asprosin bei geringer Nüchternzeit

Diese *FBN1* Mutationen sind der Gruppe 3 (Abb. 23) zuzuordnen. Die Mutation führt zu Strukturveränderungen des Fibrillin-1, die die Bindungseigenschaften der FMF gegenüber Asprosin verändernd reduzieren. Asprosin wird zu gleichen Anteilen zwar synthetisiert, wird allerdings nicht wie üblich an den FMF gebunden gespeichert, sodass ein vermehrter Anteil in den Systemkreislauf gelangt. Asprosin lässt sich demzufolge in Körperflüssigkeiten zu höheren Anteilen ermitteln. 50% des gesamt gebildeten Fibrillin-1 weist mit seiner Strukturveränderung einen qualitativen Mangel auf. Die Bindegewebsarchitektur ist qualitativ reduziert und führt zu Aortendilatation mit folglich früherer Indikationsstellung zur Operation.

3. Hohes Asprosin bei hoher Nüchternzeit

Diese *FBN1* Mutationen gehören der Gruppe 2 (Abb. 23) an und sind eher als Mutationen mit „mildem“ Verlauf anzusehen. Es kommt zwar zu einer leichten Strukturveränderung von Fibrillin-1, diese macht sich aber klinisch als Aortendilatation erst im höheren Alter bemerkbar. Bei den in dieser Studie Betroffenen wurden die Indikation zur Operation in keinem Fall gestellt. Asprosin wird zu 100% von beiden Allelen hergestellt und ist im mittleren Bereich.

Eine Asprosinmessung unter Berücksichtigung der erfolgten Nüchternzeit liefert also eine Einschätzung zum Schweregrad des MFS. Sinnvoll wäre eine Messung des Asprosin in zwei verschiedenen Proben, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten abgenommen wurden: Geringe Nüchternzeit (2h), hohe Nüchternzeit (8h). So lässt sich herausfinden, ob ein MFS Patient in einem der besagten Extrembereiche liegt oder aber einen physiologischen Anstieg von Asprosin bei steigender Nüchternzeit zu verzeichnen hat. Eine einzelne Asprosinmessung mit niedrigem Asprosin bei kurzer Nüchternzeit ist in erster Linie nicht aussagekräftig, da das Asprosin bei steigender Nüchternzeit sich physiologisch steigend oder pathologisch niedrig bleibend verhalten kann.

Es ließe sich durch ein solches Messvorhaben also das Risiko für eine Aortopathie einschätzen und die Diagnostik und Therapie gegebenenfalls anpassen.

5.6. Hautscore

Der in der Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Universitätsklinik Köln entwickelte Hautscore gibt eine Einschätzung über den dermatologischen Zustand bei Bindegewebserkrankungen.

Wie es bereits als typisches phänotypisches Kennzeichen für MFS Patienten beschrieben wurde^{30,73}, wiesen auch alle in dieser Studie teilnehmenden MFS Erwachsene *Striae distensae* auf. Diese seien anamnestisch am häufigsten mit dem Größenwuchs während der Pubertät aufgetreten. Ebenfalls häufig stellte sich eine positive Venenzeichnung im Rahmen einer Varikosis bei MFS Erwachsenen dar. Auch diese klinische Besonderheit wurde bereits als eine typische Folge des MFS beschrieben⁷³. Ein Zusammenhang zwischen MFS und einer reduzierten Wandstabilität der kleinen venösen Gefäße ist daher denkbar. Hierzu ließen sich zum aktuellen Zeitpunkt allerdings keine veröffentlichte Arbeit finden. Ein solch positiver Zusammenhang würde zudem die Vermutung der begünstigten Hämatomneigung bei MFS vor dem Hintergrund, dass ein Sechstel der MFS Erwachsenen subkutane Hämatome aufzeigte, unterstützen.

Bezüglich der anderen drei Untersuchungskriterien des Hautscores, die sich mit der Weichheit der Haut, piezogenen Knötchen und atrophen Narben beschäftigen, ließen sich ebenfalls keine entsprechenden Publikationen, die ein gehäuftes Auftreten bei MFS herstellen, finden. Einige wenige MFS Patienten wiesen eine weichere Haut im Vergleich zu anderen MFS Patienten auf. An dieser Stelle muss allerdings eingeräumt werden, dass die diagnostische Breite zur Einschätzung der Weichheit der Haut gering ist.

Der Hautscore stellt eine Möglichkeit dar, den dermatologischen Phänotyp bei MFS hinsichtlich seiner sechs Kriterien darzustellen. Zum Stellenwert des Hautscores im Vergleich zu anderen Bindegewebserkrankungen müssen weitere Arbeiten folgen.

5.7. Ausblick

Es ist unumstritten, dass *FBN1* Mutationen zu unterschiedlichen Anteilen Einfluss auf die klinischen Ausprägungen eines MFS Patienten nimmt. Es wäre von Vorteil, wenn einer jeden bekannten zum MFS führenden *FBN1* Mutation ein Risikoprofil zugeschrieben werden könnte. So scheint eine wie bei Familie 3 (Pat.-ID: 108, 214, 215) vorliegende Spleißmutation mit allesamt niedrigen Asprosin-Werten als hoch pathologisch einordbar. Vor dem Hintergrund, dass die bei Speichelabgabe 52-jährige MFS Patientin mit der Pat.-ID 215 im Alter von 32 Jahren das erste Mal an der Aorta operiert wurde, besteht auch für ihren Sohn und ihren Enkel ein erhöhtes Risiko, ein gleiches Schicksal zu erleiden.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass Asprosin weniger als Marker für das MFS im Rahmen der Diagnostik als vielmehr als Marker für das MFS in Bezug zur Einschätzung des Risikoprofils genutzt werden kann. Bei >3000 bekannten MFS auslösenden *FBN1* Mutationen besteht eine große klinische Heterogenität. Bestimmte Mutationen scheinen stärker mit Aortendilatationen und dem Bedarf einer Aorten-Operation assoziiert zu sein als andere. Asprosin-Messungen aus Speichel sind praktikabel und einfach und können bei Bestimmung zu zwei verschiedenen Fasten-Zeitpunkten einen Hinweis für einen schwerer anzunehmenden Verlauf geben.

Weitere Forschungsarbeiten, die den Zusammenhang zwischen exakter *FBN1* Mutation, Aortopathie und Asprosin herstellen, sind daher nötig. Eine klinische Studie, die die Asprosin Konzentrationen bei fastenden MFS Patienten zu festgelegten stündlichen Intervallen untersucht, wäre hierfür ein denkbarer Ansatz. Hier würde zum einen die Theorie des Asprosin-Anstiegs unter prolongiertem Fasten unterstützt werden, zum anderen wird ersichtlich werden, inwiefern welche MFS Patienten schon bei geringer Nüchternzeit hohe Asprosin-Werte und welche selbst bei hoher Nüchternzeit noch niedrige Asprosin-Werte aufweisen. Dies würde Informationen über das Risikoprofil bestimmter MFS auslösenden *FBN1* Mutationen liefern.

Die Verfügbarkeit einer informativen und aktualisierten Datenbank mit Überblick über bekannte MFS auslösenden *FBN1* Mutationen in Zusammenschau mit individuellem Risikoprofil wäre darüber hinaus wünschenswert.

6. Literaturverzeichnis

1. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev* 2016; **97**: 4-27.
2. Mecham RP. Overview of extracellular matrix. *Curr Protoc Cell Biol* 2012; **Chapter 10**: Unit 10.1.
3. Maquart FX, Siméon A, Pasco S, Monboisse JC. [Regulation of cell activity by the extracellular matrix: the concept of matrikines]. *J Soc Biol* 1999; **193**(4-5): 423-8.
4. Lu P, Takai K, Weaver VM, Werb Z. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; **3**(12).
5. Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009; **326**(5957): 1216-9.
6. Gaggar A, Weathington N. Bioactive extracellular matrix fragments in lung health and disease. *J Clin Invest* 2016; **126**(9): 3176-84.
7. Deutzmann R, Bruckner P. Extrazelluläre Matrix – Struktur und Funktion. In: Heinrich PC, Müller M, Graeve L, eds. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014: 931-51.
8. Ricard-Blum S, Salza R. Matricryptins and matrikines: biologically active fragments of the extracellular matrix. *Exp Dermatol* 2014; **23**(7): 457-63.
9. Maquart FX, Pasco S, Ramont L, Hornebeck W, Monboisse JC. An introduction to matrikines: extracellular matrix-derived peptides which regulate cell activity. Implication in tumor invasion. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; **49**(3): 199-202.
10. Heinz A, Jung MC, Duca L, et al. Degradation of tropoelastin by matrix metalloproteinases--cleavage site specificities and release of matrikines. *Febs j* 2010; **277**(8): 1939-56.
11. Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, et al. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell* 2016; **165**(3): 566-79.
12. Yu Y, He JH, Hu LL, et al. Placensin is a glucogenic hormone secreted by human placenta. *EMBO Rep* 2020; **21**(6): e49530.
13. Yamaguchi Y, Takihara T, Chambers RA, Veraldi KL, Larregina AT, Feghali-Bostwick CA. A peptide derived from endostatin ameliorates organ fibrosis. *Sci Transl Med* 2012; **4**(136): 136ra71.
14. Park J, Scherer PE. Endotrophin - a novel factor linking obesity with aggressive tumor growth. *Oncotarget* 2012; **3**(12): 1487-8.
15. Yuan M, Li W, Zhu Y, Yu B, Wu J. Asprosin: A Novel Player in Metabolic Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; **11**: 64.
16. Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Elastic fibres. *J Cell Sci* 2002; **115**(Pt 14): 2817-28.
17. Sakai LY, Keene DR, Engvall E. Fibrillin, a new 350-kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 1986; **103**(6 Pt 1): 2499-509.
18. Zhang H, Hu W, Ramirez F. Developmental expression of fibrillin genes suggests heterogeneity of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 1995; **129**(4): 1165-76.
19. Zeyer KA, Reinhardt DP. Fibrillin-containing microfibrils are key signal relay stations for cell function. *J Cell Commun Signal* 2015; **9**(4): 309-25.
20. Corson GM, Charbonneau NL, Keene DR, Sakai LY. Differential expression of fibrillin-3 adds to microfibril variety in human and avian, but not rodent, connective tissues. *Genomics* 2004; **83**(3): 461-72.
21. Sabatier L, Miosge N, Hubmacher D, Lin G, Davis EC, Reinhardt DP. Fibrillin-3 expression in human development. *Matrix Biol* 2011; **30**(1): 43-52.
22. Chaudhry SS, Gazzard J, Baldock C, et al. Mutation of the gene encoding fibrillin-2 results in syndactyly in mice. *Hum Mol Genet* 2001; **10**(8): 835-43.
23. Kielty CM, Wess TJ, Haston L, Ashworth JL, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Fibrillin-rich microfibrils: elastic biopolymers of the extracellular matrix. *J Muscle Res Cell Motil* 2002; **23**(5-6): 581-96.

24. Handford PA. Fibrillin-1, a calcium binding protein of extracellular matrix. *Biochim Biophys Acta* 2000; **1498**(2-3): 84-90.
25. Wagenseil JE, Mecham RP. New insights into elastic fiber assembly. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2007; **81**(4): 229-40.
26. Hubmacher D, Reinhardt DP, Plesec T, Schenke-Layland K, Apte SS. Human eye development is characterized by coordinated expression of fibrillin isoforms. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; **55**(12): 7934-44.
27. Zimmermann LA, Correns A, Furlan AG, Spanou CES, Sengle G. Controlling BMP growth factor bioavailability: The extracellular matrix as multi skilled platform. *Cell Signal* 2021; **85**: 110071.
28. Benke K, Ágg B, Szilveszter B, et al. The role of transforming growth factor-beta in Marfan syndrome. *Cardiol J* 2013; **20**(3): 227-34.
29. Sengle G, Carlberg V, Tufa SF, et al. Abnormal Activation of BMP Signaling Causes Myopathy in Fbn2 Null Mice. *PLoS Genet* 2015; **11**(6): e1005340.
30. J.Langenbach CCFPKMKGSPDBCDP. Neugeborenes mit Arachnodaktylie, Arthrogyposis und Aortendilatation. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2012; **160**(6): 531-5.
31. Jensen SA, Aspinall G, Handford PA. C-terminal propeptide is required for fibrillin-1 secretion and blocks premature assembly through linkage to domains cbEGF41-43. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2014; **111**(28): 10155-60.
32. Hoffmann JG, Xie W, Chopra AR. Energy Regulation Mechanism and Therapeutic Potential of Asprosin. *Diabetes* 2020; **69**(4): 559-66.
33. Morcos YAT, Lutke S, Tenbrieg A, et al. Sensitive asprosin detection in clinical samples reveals serum/saliva correlation and indicates cartilage as source for serum asprosin. *Sci Rep* 2022; **12**(1): 1340.
34. Ugur K, Aydin S. Saliva and Blood Asprosin Hormone Concentration Associated with Obesity. *Int J Endocrinol* 2019; **2019**: 2521096.
35. Greenhill C. Liver: Asprosin - new hormone involved in hepatic glucose release. *Nat Rev Endocrinol* 2016; **12**(6): 312.
36. Li X, Liao M, Shen R, et al. Plasma Asprosin Levels Are Associated with Glucose Metabolism, Lipid, and Sex Hormone Profiles in Females with Metabolic-Related Diseases. *Mediators Inflamm* 2018; **2018**: 7375294.
37. Wen MS, Wang CY, Yeh JK, et al. The role of Asprosin in patients with dilated cardiomyopathy. *BMC Cardiovasc Disord* 2020; **20**(1): 402.
38. Li E, Shan H, Chen L, et al. OLFMR734 Mediates Glucose Metabolism as a Receptor of Asprosin. *Cell Metab* 2019; **30**(2): 319-28.e8.
39. Jung T, Kim HC, Kim H, et al. Asprosin attenuates insulin signaling pathway through PKC δ -activated ER stress and inflammation in skeletal muscle. *Journal of Cellular Physiology* 2019; **234**.
40. Schulthess FT, Paroni F, Sauter NS, et al. CXCL10 impairs beta cell function and viability in diabetes through TLR4 signaling. *Cell Metab* 2009; **9**(2): 125-39.
41. Lee T, Yun S, Jeong JH, Jung TW. Asprosin impairs insulin secretion in response to glucose and viability through TLR4/JNK-mediated inflammation. *Mol Cell Endocrinol* 2019; **486**: 96-104.
42. Mishra I, Xie WR, Bournat JC, et al. Protein tyrosine phosphatase receptor δ serves as the orexigenic asprosin receptor. *Cell Metab* 2022; **34**(4): 549-63.e8.
43. Duerrschmid C, He Y, Wang C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nat Med* 2017; **23**(12): 1444-53.
44. Janoschek R, Hoffmann T, Morcos YAT, Sengle G, Dötsch J, Hucklenbruch-Rother E. Asprosin in pregnancy and childhood. *Mol Cell Pediatr* 2020; **7**(1): 18.
45. Hong T, Li JY, Wang YD, et al. High Serum Asprosin Levels Are Associated with Presence of Metabolic Syndrome. *Int J Endocrinol* 2021; **2021**: 6622129.
46. Luís C, Fernandes R, Soares R, von Hafe P. A state of the art review on the novel mediator asprosin in the metabolic syndrome. *Porto Biomed J* 2020; **5**(6): e108.

47. Groener JB, Valkanou A, Kender Z, et al. Asprosin response in hypoglycemia is not related to hypoglycemia unawareness but rather to insulin resistance in type 1 diabetes. *PLoS One* 2019; **14**(9): e0222771.
48. Zhang L, Chen C, Zhou N, Fu Y, Cheng X. Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently associated with fasting glucose and triglyceride. *Clin Chim Acta* 2019; **489**: 183-8.
49. Zhang H, Hu W, Zhang G. Circulating asprosin levels are increased in patients with type 2 diabetes and associated with early-stage diabetic kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2020; **52**(8): 1517-22.
50. Naiemian S, Naeemipour M, Zarei M, et al. Serum concentration of asprosin in new-onset type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr* 2020; **12**: 65.
51. Zhang X, Jiang H, Ma X, Wu H. Increased serum level and impaired response to glucose fluctuation of asprosin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Investig* 2020; **11**(2): 349-55.
52. Deng X, Zhao L, Guo C, et al. Higher Serum Asprosin Level is Associated with Urinary Albumin Excretion and Renal Function in Type 2 Diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2020; **13**: 4341-51.
53. Ke F, Xue G, Jiang X, et al. Combination of asprosin and adiponectin as a novel marker for diagnosing non-alcoholic fatty liver disease. *Cytokine* 2020; **134**: 155184.
54. Wang CY, Lin TA, Liu KH, et al. Serum asprosin levels and bariatric surgery outcomes in obese adults. *Int J Obes (Lond)* 2019; **43**(5): 1019-25.
55. Hu Y, Xu Y, Zheng Y, et al. Increased plasma asprosin levels in patients with drug-naive anorexia nervosa. *Eat Weight Disord* 2021; **26**(1): 313-21.
56. Du C, Wang C, Guan X, et al. Asprosin is associated with anorexia and body fat mass in cancer patients. *Support Care Cancer* 2021; **29**(3): 1369-75.
57. Ke X, Duan L, Gong F, et al. Serum Levels of Asprosin, a Novel Adipokine, Are Significantly Lowered in Patients with Acromegaly. *Int J Endocrinol* 2020; **2020**: 8855996.
58. Long W, Xie X, Du C, et al. Decreased Circulating Levels of Asprosin in Obese Children. *Horm Res Paediatr* 2019; **91**(4): 271-7.
59. Wang M, Yin C, Wang L, et al. Serum Asprosin Concentrations Are Increased and Associated with Insulin Resistance in Children with Obesity. *Ann Nutr Metab* 2019; **75**(4): 205-12.
60. Corica D, Aversa T, Currò M, et al. Asprosin serum levels and glucose homeostasis in children with obesity. *Cytokine* 2021; **142**: 155477.
61. Galassi A, Reynolds K, He J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med* 2006; **119**(10): 812-9.
62. Deng X, Zhao Z, Zhao L, et al. Association between circulating asprosin levels and carotid atherosclerotic plaque in patients with type 2 diabetes. *Clin Biochem* 2022.
63. Acara AC, Bolatkale M, Kızıloğlu İ, İbişoğlu E, Can Ç. A novel biochemical marker for predicting the severity of ACS with unstable angina pectoris: Asprosin. *Am J Emerg Med* 2018; **36**(8): 1504-5.
64. Kocaman N, Artaş G. Can novel adipokines, asprosin and meteorin-like, be biomarkers for malignant mesothelioma? *Biotech Histochem* 2020; **95**(3): 171-5.
65. Nam H, Hong SS, Jung KH, et al. A Serum Marker for Early Pancreatic Cancer With a Possible Link to Diabetes. *J Natl Cancer Inst* 2022; **114**(2): 228-34.
66. Akkus G, Koyuturk LC, Yilmaz M, Hancer S, Ozercan IH, Kuloglu T. Asprosin and meteorin-like protein immunoreactivity in invasive ductal breast carcinoma stages. *Tissue Cell* 2022; **77**: 101855.
67. Alan M, Gurlek B, Yilmaz A, et al. Asprosin: a novel peptide hormone related to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2019; **35**(3): 220-3.
68. Chang CL, Huang SY, Hsu YC, Chin TH, Soong YK. The serum level of irisin, but not asprosin, is abnormal in polycystic ovary syndrome patients. *Sci Rep* 2019; **9**(1): 6447.
69. Baykus Y, Yavuzkir S, Ustebay S, Ugur K, Deniz R, Aydin S. Asprosin in umbilical cord of newborns and maternal blood of gestational diabetes, preeclampsia, severe preeclampsia, intrauterine growth retardation and macrosomic fetus. *Peptides* 2019; **120**: 170132.

70. Mishra I, Duerschmid C, Ku Z, et al. Asprosin-neutralizing antibodies as a treatment for metabolic syndrome. *Elife* 2021; **10**.
71. Jiang A, Feng Z, Yuan L, Zhang Y, Li Q, She Y. Effect of sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors on the levels of serum asprosin in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr* 2021; **13**(1): 34.
72. Yildiz M, Matyas G, Wustmann K, et al. Interdisziplinäre Betreuung von Menschen mit Marfan-Syndrom – Genetik, bildgebende Untersuchung und kardiovaskuläres System. *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie* 2020; **34**(2): 115-26.
73. Attenhofer Jost C, Rohrbach M, Baumgartner M, et al. Marfan-Syndrom. *Swiss Medical Forum - Schweizerisches Medizin Forum* 2015; **15**(29-30): 674-83.
74. Sakai LY, Keene DR, Renard M, De Backer J. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. *Gene* 2016; **591**(1): 279-91.
75. Pyeritz RE. Marfan syndrome: improved clinical history results in expanded natural history. *Genet Med* 2019; **21**(8): 1683-90.
76. Wu Y, Sun H, He Y, Zhang H. A novel intron mutation in FBN-1 gene identified in a pregnant woman with Marfan syndrome. *Hereditas* 2021; **158**(1): 6.
77. Al Kaissi A, Zwettler E, Ganger R, Schreiner S, Klaushofer K, Grill F. Musculo-skeletal abnormalities in patients with Marfan syndrome. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskeletal Disord* 2013; **6**: 1-9.
78. Passarge E, Robinson PN, Graul-Neumann LM. Marfanoid-progeroid-lipodystrophy syndrome: a newly recognized fibrillinopathy. *Eur J Hum Genet* 2016; **24**(9): 1244-7.
79. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010; **47**(7): 476-85.
80. Yildiz M, Matyas G, Wustmann K, et al. Interdisziplinäre Betreuung von Menschen mit Marfan-Syndrom – Pharmakologie, Schwangerschaft, Auge, Skelett und organisatorische Aspekte. *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie* 2021; **35**(4): 232-41.
81. Weir CB, Jan A. BMI Classification Percentile And Cut Off Points. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
82. Fancher KM, Sacco AJ, Gwin RC, Gormley LK, Mitchell CB. Comparison of two different formulas for body surface area in adults at extremes of height and weight. *J Oncol Pharm Pract* 2016; **22**(5): 690-5.
83. Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2001; **149**(8): 807-18.
84. Schienkiewitz A, Damerow S, Schaffrath Rosario A, Kurth B-M. Body-Mass-Index von Kindern und Jugendlichen: Prävalenzen und Verteilung unter Berücksichtigung von Untergewicht und extremer Adipositas. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 2019; **62**(10): 1225-34.
85. Brix JM, Andersen B, Aydinkoc-Tuzcu K, et al. [Overweight and obesity in adults: general principles of treatment and conservative management]. *Wien Klin Wochenschr* 2023; **135**(Suppl 6): 706-20.
86. Devereux RB, de Simone G, Arnett DK, et al. Normal limits in relation to age, body size and gender of two-dimensional echocardiographic aortic root dimensions in persons ≥15 years of age. *Am J Cardiol* 2012; **110**(8): 1189-94.
87. Tabatabaei MS, Ahmed M. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods Mol Biol* 2022; **2508**: 115-34.
88. Alhaji M, Farhana A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
89. Hoffmann T, Morcos YAT, Janoschek R, et al. Correlation of metabolic characteristics with maternal, fetal and placental asprosin in human pregnancy. *Endocr Connect* 2022; **11**(3).
90. Gozel N, Kilinc F. Investigation of plasma asprosin and saliva levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus patients treated with metformin. *Endokrynol Pol* 2021; **72**(1): 37-43.

91. Gül SNS, Eminoğlu D, Laloğlu E, Aydın T, Dilsiz A. Salivary and serum asprosin hormone levels in the 2018 EFP/AAP classification of periodontitis stages and body mass index status: a case-control study. *Clin Oral Investig* 2024; **28**(1): 91.
92. Alberga AS, Sigal RJ, Goldfield G, Prud'homme D, Kenny GP. Overweight and obese teenagers: why is adolescence a critical period? *Pediatr Obes* 2012; **7**(4): 261-73.
93. Mangoni AA, Jackson SH. Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications. *Br J Clin Pharmacol* 2004; **57**(1): 6-14.
94. Nikolaus T. Physiologisches Altern, Morbidität und Mortalität. In: Nikolaus T, Becker C, Oster P, Pientka L, Schlierf G, von Renteln-Kruse W, eds. *Klinische Geriatrie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2000: 10-6.
95. Akhtar S, Ramani R. Geriatric Pharmacology. *Anesthesiol Clin* 2015; **33**(3): 457-69.
96. Renard M, Muiño-Mosquera L, Manalo EC, et al. Sex, pregnancy and aortic disease in Marfan syndrome. *PLoS One* 2017; **12**(7): e0181166.
97. Hetemäki N, Mikkola TS, Tikkanen MJ, et al. Adipose tissue estrogen production and metabolism in premenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2021; **209**: 105849.
98. Leeners B, Geary N, Tobler PN, Asarian L. Ovarian hormones and obesity. *Hum Reprod Update* 2017; **23**(3): 300-21.
99. Potapova NA. Nonsense Mutations in Eukaryotes. *Biochemistry (Mosc)* 2022; **87**(5): 400-12.
100. Johnson AF, Nguyen HT, Veitia RA. Causes and effects of haploinsufficiency. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2019; **94**(5): 1774-85.
101. Franken R, Groenink M, de Waard V, et al. Genotype impacts survival in Marfan syndrome. *Eur Heart J* 2016; **37**(43): 3285-90.
102. Sotomayor-Vivas C, Hernández-Lemus E, Dorantes-Gilardi R. Linking protein structural and functional change to mutation using amino acid networks. *PLoS One* 2022; **17**(1): e0261829.
103. Puluca N, Burri M, Cleuziou J, Krane M, Lange R. Consecutive operative procedures in patients with Marfan syndrome up to 28 years after initial aortic root surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2018; **54**(3): 504-9.

7. Anhang

Tabelle 8: Dargestellt sind die 29 bekannten MFS Fälle, deren genetische Mutationen bekannt ist nach Asprosin-Konz.-Klassen (<3 ng/ml), (3-8ng/ml), (>2ng/ml). Aufgelistet sind die jeweilige Pat.-ID, die auslösende Mutation im *FBN1* Gen, der Mutationstyp und das betroffene Nukleotid, Aminosäure und Exon.

Asprosin-Konz. [ng/ml]	Pat.-ID	Mutation	Mutationstyp	Nukleotid	Aminosäure	Exon
<3	207	Missense-Mutation (Exon 10, c.1147G>A (p.E383K))	Missense-Mutation (Glu-Lys)	1147	383	10
	248	C.268G > C	Missense-Mutation (Gly-Arg)	268	90	4
	204	c.367T>C; Exon 5, heterozygot	Missense-Mutation (Cys-Arg)	367	142	5
	118	c.5789A>G	Missense-Mutation (Exon/Intron-Übergang)	5789	1930	48
	215	c.7204+1G>A)	Spleißmutation am Beginn des Introns zwischen Exon 58 und Exon 59	7204+1	2402-2403	58-59
	231	c.6067delA	Deletion an Stelle 6067 (A), frameshift, mit Stop- Codon in Exon 51	6067	2023	50
	108	c.7204+1G>A	Spleißmutation am Beginn des Introns zwischen Exon 58 und Exon 59	7204+1	2402-2403	58-59
	268	c.2517A>T, heterozygot	Missense-Mutation (Asp-Val)	2517	839	21
	201	c.6391T>C	Missense-Mutation (Cys-Arg)	6391	2131	53
	261	c.4786C>T, Stopp-Codon	Mutation (Arg-Stop)	4786	1596	39
	202	c.6113G>C, p.C2038S	Missense-Mutation (Gly-Ser)	6113	2038	50
	218	c.2T>C, p.Meth1Treon im Startcodon des Exon 1	Missense-Mutation (Met-Thr), Veränderung Startcodon (Startcodon dann erst im Exon 4)	2	1	1
	214	c.7204+1G>A	Spleißmutation am Beginn des Introns zwischen Exon 58 und Exon 59	7204+1	2402-2403	58-59
	279	c.5789A>G	Missense-Mutation (Exon/Intron-Übergang)	5789	1930	48

3-8	103	c.3380G>T, heterozygot	Missense-Mutation (Gly-Val)	3380	1127	27
	282	c.164G>A	Missense-Mutation (Gly-Glu)	164	55	2
	232	c.7769G>A, heterozygot	Missense-Mutation (Cys-Tyr)	7769	2590	63
	107	c.367T>C; Exon 5, heterozygot	Missense-Mutation (Cys-Arg)	367	142	5
	119	c.4172>A; p. Cys1391Tyr (de-novo, heterozygot)	Missense-Mutation (Cys-Tyr)	4172	1391	34
	255	heterozygoten Sequenzveränderung im Exon 55 (c.6658C>T), vorzeitiges Stop-Codon an Position 2220 (p.Arg2220*)	Nonsense-Mutation (Arg-Stop)	6658	2220	55
	106	Deletion Exon 47-49; neonatales Marfan-Syndrom	Exon-Deletion (47-49)	5672-6073	1892-2013	47-49
	102	c.3380G>T, heterozygot	Missense-Mutation (Gly-Val)	3380	1127	27
	101	c.3380G>T, heterozygot	Missense-Mutation (Gly-Val)	3380	1127	27
	221	c.298T>C	Missense-Mutation (Cys-Arg)	298	100	4
>8	220	c.1148-2A>G	Spleißmutation am Ende des Introns zwischen Exon 10 und Exon 11	1148-2	383-384	10-11
	230	c.5014T>G, p.Cys1672Gly, heterozygote Missense Mutation	Missense-Mutation (Cys-Gly)	5014	1672	41
	105	c.2729-2>G, Spleiß-Mutation:	Spleißmutation am Ende des Introns zwischen Exon 23 und Exon 24	2729-2	910-911	23-24
	229	c.4489T>A innerhalb des <i>FBN1</i> Gens, Sequenzveränderung, Klasse-4-Variante	Missense-Mutation (Cys-Ser)	4489	1497	37
	262	c.7726C>T; p. (Arg2576Cys) in Exon 63 des <i>FBN1</i> Gens, a.e. Neumutation), heterozygot	Missense-Mutation (Arg-Cys)	7726	2576	63

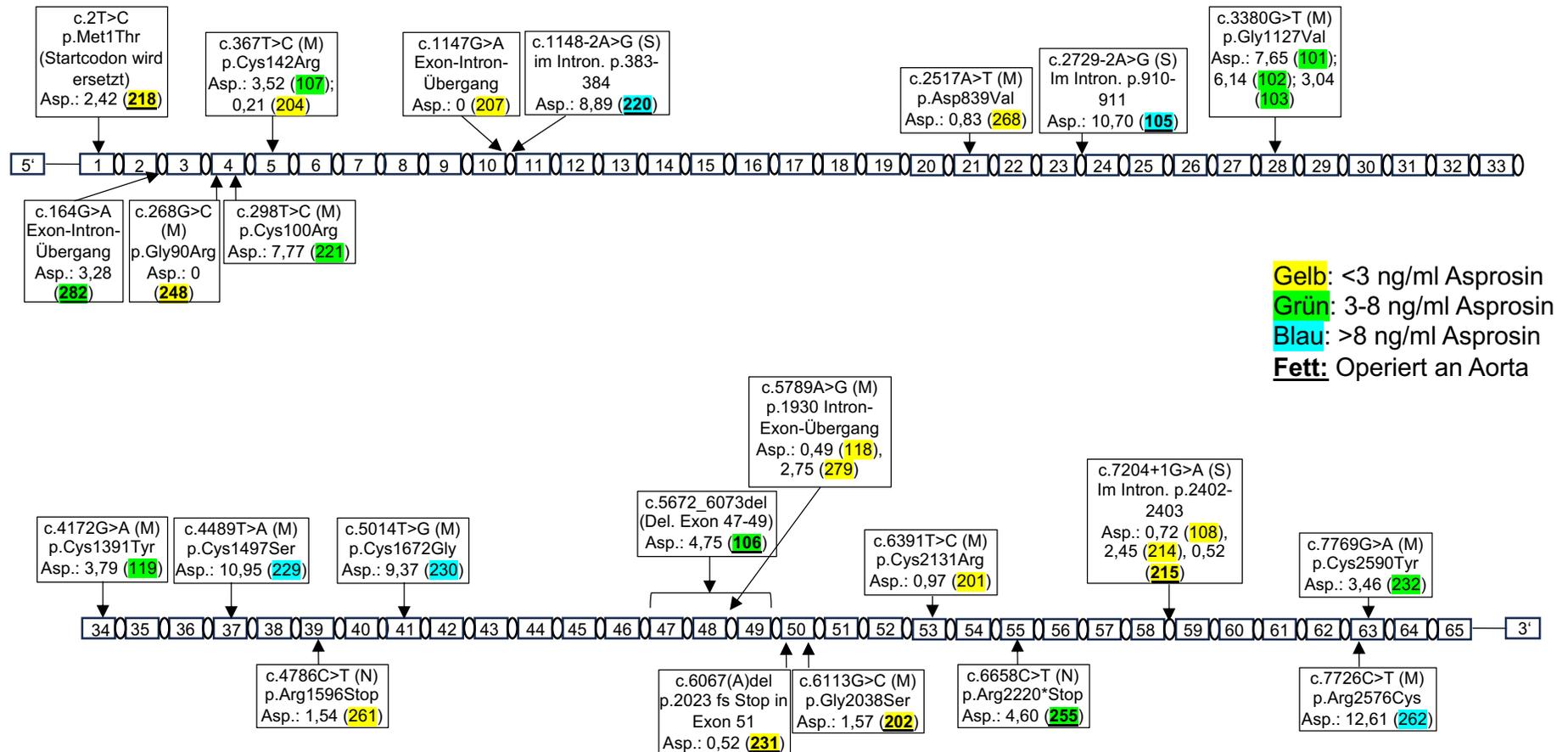


Abbildung 24: Dargestellt ist das *FBN1* Gen von 5' zum 3'-Ende mitsamt seiner 65 nummerierten Exons und den dazwischen liegenden Introns (oval). Eingetragen sind die 29 bekannten MFS-Mutationen am Mutationsort im *FBN1* Gen. Die farblichen Markierungen kennzeichnen die jeweils ermittelten Asprosin-Konzentrationen: (gelb): <3 ng/ml. (grün): 3-8 ng/ml. (blau): >8 ng/ml. In fett und unterstrichen unterlegt sind die zehn Pat.-ID, die bereits eine Aorta-Operation erhalten haben. In den einzelnen Kästchen erfolgt die Information der genauen Mutation im entsprechenden Exon bei ermittelter Asprosin-Konzentration (ng/ml) und der zugehörigen Pat.-ID.