

Aus der
Medizinischen Klinik und Poliklinik IV
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Martin Reincke

**Klinische Untersuchung zur Tenascin X-Mutation
bei Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom**

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

Vorgelegt von
Andrea Sappl
aus Starnberg

Jahr
2025

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Nicole Reisch
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Ursula Kuhnle-Krahl
PD Dr. Verena Hoffmann

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2025

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	7
1.1	Erläuterung der relevanten Stoffwechselwege	7
1.1.1	Der Cortisolstoffwechsel.....	7
1.1.2	Der Mineralokortikoid-Stoffwechsel	8
1.1.3	Der Androgen-Stoffwechsel der Nebenniere	8
1.2	Das Adrenogenitale Syndrom.....	8
1.2.1	Übersicht und Pathophysiologie.....	8
1.2.2	Genetik	9
1.2.3	Klinisches Bild	10
1.2.4	Therapiemanagement	10
1.3	Das Ehlers-Danlos-Syndrom	11
1.3.1	Pathophysiologie und klinisches Bild	11
1.3.2	Therapiemanagement	11
1.4	Tenascin X als Auslöser des EDS	12
1.4.1	Einteilung	12
1.4.2	Genetik	12
1.4.3	Klinisches Bild	13
1.4.4	Heterozygote Mutation des TNXB-Gens	13
1.5	CAH-X Syndrom als Zeichen eines Tenascin X-Mangels bei Patienten mit AGS... 13	
1.5.1	Pathophysiologie des CAH-X Syndroms.....	15
1.5.2	Diagnostik	15
1.5.3	Bisher bekannte Mutationen.....	16
2.	Zielsetzung	18
3.	Material und Methoden	19
3.1	Studiendesign.....	19
3.2.	Mutations-Screening.....	19
3.3	Auswahl der Studienteilnehmer.....	21
3.3.1	Selektion der „Fallgruppe“	21
3.3.2	Auswahl der Kontrollgruppe	21
3.4	Teil 1: Untersuchungen im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie	21
3.4.1	Verwendete Fragebögen.....	23
3.4.2	Protokoll der klinischen Untersuchung	24
3.4.2.1	Bioimpedance Analysis.....	24
3.4.2.2	Neurologischer Status	25

3.4.2.3	Klinische Untersuchung auf Überbeweglichkeit.....	25
3.4.2.4	Weitere klinische Untersuchungen.....	26
3.4.3	Muskelultraschall	27
3.4.4	Echokardiographische Untersuchung.....	28
3.5	Laborchemische Untersuchung	28
3.5.1	Messung von Tenascin X im Blut	28
3.6	Auswertung der Daten	28
3.7	Teil 2: Weiterführende Untersuchung der Patienten mit AGS.....	29
4.	Ergebnisse	31
4.1	Screening-Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie.....	31
4.2	Auswahl der Studienteilnehmer.....	31
4.3	Auswertung der Fragebögen.....	33
4.4	Ergebnisse der klinischen Untersuchung.....	34
4.4.1	Ergebnisse der neurologischen und muskuloskelettalen Untersuchung	34
4.4.2	Ergebnisse des Beighton- und Brighton-Scores.....	35
4.4.3	Ergebnisse des FI-2-Upper-Extremity-Tests und des QMFT	35
4.4.4	Ergebnisse der BIA-Messung.....	36
4.5	Ergebnisse der Tenascin X-Messung im Serum.....	36
4.7	Ergebnis der echokardiologischen Untersuchung	37
4.8	Ergebnis des Muskelultraschalls	38
4.9	Tabellarische Übersicht aller erhobenen Werte.....	38
4.10	Teil 2: Klinische Untersuchung der gesamten AGS-Kohorte	40
4.11	Charakterisierung der Patienten mit CAH-X Syndrom– Übersicht	43
5.	Diskussion	44
5.1	Verwendete Methoden.....	44
5.2	Klinische Symptomatik	45
5.3	Optimales Vorgehen im Umgang mit CAH-X Patienten	50
6.	Fazit.....	52
6.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	52
6.2	Ausblick.....	52
7.	Abkürzungsverzeichnis	54
8.	Abbildungsverzeichnis	56
9.	Tabellenverzeichnis.....	56
10.	Literaturverzeichnis.....	57
11.	Anhang	64
12.	Danksagung.....	78

13.	Affidavit	79
14.	Publikationsliste	80

1. Einleitung

1.1 Erläuterung der relevanten Stoffwechselwege

Das Adrenogenitale Syndrom (AGS) ist eine autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung der Nebenniere, die Mädchen und Jungen gleichermaßen betrifft (1, 2). Die Inzidenz der klassischen Verlaufsform liegt bei 1:15.000 Geburten (3).

Die Nebenniere ist ein paarig angelegtes, endokrines Organ, welches sich im Retroperitonealraum befindet und überlebensnotwendige Aufgaben des Stoffwechsels übernimmt. Sie ist aufgeteilt in einen Mark- und Rindbereich. Im Nebennierenmark werden die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin gebildet. Die Nebennierenrinde kann in drei Schichten unterteilt werden, welche sich in ihrem histologischen Aufbau sowie in ihrer Funktion unterscheiden. Die Blutversorgung erfolgt durch die Arteria suprarenalis superior aus der Arteria phrenica inferior, die Arteria suprarenalis media aus der Aorta sowie die Arteria suprarenalis inferior aus der Arteria renalis. Der Abfluss erfolgt über die Vena suprarenalis in die Vena renalis und die Vena cava inferior (4). In der Nebennierenrinde werden verschiedene Steroidhormone gebildet. Im Folgenden werden die Stoffwechselwege genauer erläutert.

1.1.1 Der Cortisolstoffwechsel

Cortisol ist ein Glukokortikoid, welches in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde produziert wird. Die Steuerung der Hormonsynthese unterliegt dem übergeordneten Adrenocorticotropen Hormon (ACTH), welches wiederum von CRH (Corticotropin-releasing Hormon) reguliert wird (5). Den Ursprung aller Stoffwechselwege der Nebennierenrinde bildet Cholesterin. Aus diesem entsteht durch Hydroxylierung sowie Abspaltung einer C6-Alkylseitenkette Pregnenolon, welches wiederum zu Progesteron oxidiert wird. Pregnenolon und Progesteron bilden gemeinsam die Grundlage aller resultierenden Steroidhormone.

Für die Herstellung von Cortisol katalysiert das Enzym Steroid-17-Hydroxylase die Hydroxylierung von Pregnenolon und Progesteron. Die daraus entstehende C19-Carbonfigur wird mithilfe der 3 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase sowie der 21-Steroid-Hydroxylase (Auch: 21-Hydroxylase) zu 11-Deoxycortisol oxidiert. Aus diesem wird mittels der 11 β -Hydroxylase das aktive Hormon Cortisol gebildet (5). Cortisol wird auch als „Stresshormon“ bezeichnet, da es für diverse körperliche Reaktionen in Belastungssituationen verantwortlich ist. Bei einem Ausfall dieses Hormons kann es in Stresssituationen zu lebensbedrohlichen Stoffwechsellentgleisungen kommen (6, 7).

1.1.2 Der Mineralokortikoid-Stoffwechsel

Die Synthese von Mineralokortikoiden findet in der Zona glomerulosa der Nebenniere statt. Für die Herstellung werden drei Enzyme benötigt, die teilweise auch im Glukokortikoid-Stoffwechsel der Nebenniere aktiv sind: Die 3-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase, die 21-Steroid-Hydroxylase sowie die Aldosteron-Synthase. Aldosteron als wichtigstes Mineralokortikoid bildet einen Teil des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und reguliert in diesem Zusammenhang den Wasser- sowie Salzhaushalt der Niere. Insbesondere steigert Aldosteron die Wasser- und Natrium-Rückresorption sowie die Kaliumausscheidung und ist dadurch für die Blutdruckregulation mitverantwortlich (5). Erhöhte Aldosteronspiegel können einen Hypertonus verursachen (8, 9).

1.1.3 Der Androgen-Stoffwechsel der Nebenniere

Androgene werden in der Zona reticularis der Nebennierenrinde synthetisiert. Zu ihnen gehören Androstendion sowie die beiden Steroidhormone Dehydroepiandrosteron (DHEA) und Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEA-S). In peripheren Geweben wird ausgehend von DHEA und DHEA-S Testosteron sowie Östrogen gebildet (5). Für die Herstellung der Androgene wird die 21-Hydroxylase nicht benötigt. Bei einer Überproduktion von Androgenen, insbesondere einer Überproduktion von Testosteron kommt es bei Frauen zur Entwicklung sekundärer männlicher Geschlechtsmerkmale.

1.2 Das Adrenogenitale Syndrom

1.2.1 Übersicht und Pathophysiologie

Verschiedene Enzymmutationen im Stoffwechselweg der Steroidsynthese können zum Bild der Stoffwechselerkrankung Adrenogenitales Syndrom (auch: AGS, englisch Congenital Adrenal Hyperplasia, CAH) führen. Aufgrund eines Mangels oder Fehlens verschiedener Enzyme kann Cortisol und häufig auch Aldosteron nicht mehr adäquat produziert werden. Stattdessen wird ein alternativer Stoffwechselweg vermehrt durchlaufen: die Synthese von Androgenen (10). Am häufigsten wird die Erkrankung durch eine Mutation der 21-Hydroxylase verursacht. (5). Die Klinik der Krankheit unterscheidet sich in den betroffenen Individuen durch einen zum Teil vorliegenden Mangel an Mineralokortikoiden (11). Bei einer kompletten Inaktivität der 21-Hydroxylase können schon kurze Zeit nach der Geburt lebensgefährliche Salzverlustkrisen auftreten. Besteht eine ausreichende Restaktivität des Enzyms, kann es zu mildereren Verläufen kommen. Aufgrund der möglichen gravierenden Komplikationen wurde das Adrenogenitale

Syndrom 1999 bayernweit in das postnatale Stoffwechselscreening aufgenommen (12), seit 2005 ist das Neugeborenencreening bundesweit umgesetzt (13).

Generell erfolgt eine Einteilung in drei Schweregrade, hiervon werden zwei unter der Bezeichnung des „klassischen Adrenogenitalen Syndroms“ zusammengefasst: das Adrenogenitale Syndrom mit Cortisol- und Aldosteronmangel, das sogenannte AGS mit Salzverlust („salt-wasting type“, 67 % der Fälle) das AGS, bei dem die Aldosteronproduktion erhalten ist, jedoch ein Cortisolmangel vorliegt („simple-virilizing“). Das „nicht-klassische Adrenogenitale Syndrom manifestiert sich meist spät, da kein Aldosteronmangel und in der Regel auch kein klinisch relevanter Cortisolmangel vorliegen. Es können jedoch milde Symptome des Androgenexzesses auftreten, z.B. die prämatüre Pubarche und Knochenalterakzeleration bei Kindern (13, 14). Bei Frauen kommt es häufig ab der Pubertät zu Zyklusunregelmäßigkeiten sowie Fertilitätsproblemen. Bei Männern kann der Verlauf auch asymptomatisch sein, selten kann es vermehrt zu Akne oder Subfertilität kommen. (13, 15). Mit einer Inzidenz von etwa 1:1000 Geburten in der kaukasischen Bevölkerung tritt diese Form des AGS häufig auf (3). Die Dunkelziffer der nicht diagnostizierten nicht-klassischen Fälle ist vermutlich sehr hoch (11, 16).

1.2.2 Genetik

Das CYP21A2-Gen liegt innerhalb des HLA-Histokompatibilitätskomplexes und kodiert für die 21-Hydroxylase (11, 15). Die meisten Betroffenen sind compound heterozygot mit unterschiedlichen Veränderungen des CYP21A2-Gens auf beiden Allelen (10). Der klinische Phänotyp richtet sich in diesem Fall nach dem Allel, das weniger schwer betroffen ist (17).

Die benachbarten Gene des CYP21A2 heißen RP1, C4 sowie TNXB. Diese bilden gemeinsam einen Komplex, der „RCCX“ genannt wird (RP-C4-CYP21-TNX) (18). RP1 und C4 kodieren für Serin/Threoninproteasen des Komplementsystems; TNXB kodiert für das Gewebsprotein Tenascin X (15). Dem Komplex benachbart liegt ein Pseudogen namens CYP21A1, welches zu 98 % homolog zu CYP21A2, jedoch inaktiv ist.

Es sind mehrere hundert verschiedene Mutationen bekannt, welche zu einem AGS führen können. Das CYP21A2-Gen und die 21-Hydroxylase sind hierbei am häufigsten betroffen (5). Die meisten Mutationen beruhen auf homologen Rekombinationen innerhalb der beiden CYP21A-Gene. Deletionen, lange Konversionen sowie Nonsense- oder Frameshift-Mutationen führen meist zur Salzverlust-Form des Adrenogenitalen Syndroms (5). Schon eine ein- bis zweiprozentige Restaktivität des Enzyms reicht aus, um eine ausreichende Menge an

Mineralokortikoiden zu produzieren und führt somit zur „simple-virilizing“ Form, deren führendes Symptom der Glukokortikoidmangel- und adrenale Androgenexzess ist (5).

1.2.3 Klinisches Bild

Die vermehrte Produktion von adrenalen Androgenen kann bei Mädchen schon intrauterin zu einer Virilisierung des äußeren Genitales führen, wobei das innere Genitale (Ovarien und Uterus) weiblich angelegt ist. Nach der Geburt und vor allem während der Pubertät zeigt sich bei den Kindern ein vermehrtes Haarwachstum (Hirsutismus) an Gesicht, Armen, Beinen, Intimbereich und Brust. Es können vermehrt Zyklusunregelmäßigkeiten auftreten (10). Die Fertilität kann bei Frauen und Männern gleichermaßen eingeschränkt sein, bei gut eingestellter Therapie ist eine Schwangerschaft jedoch möglich (17). Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom können eine geringere Körpergröße aufweisen als die Vergleichspopulation, da es aufgrund eines adrenalen Androgenexzesses zu einem vorzeitigem Schluss der Wachstumsfugen kommen kann (19). Patienten mit AGS neigen zudem zur Entwicklung von Adipositas (20, 21). Dies führt gemeinsam mit einem erhöhten Anteil an viszeralem Fettgewebe sowie dem häufigen Auftreten des metabolischen Syndroms dazu, dass für Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko besteht (17).

Bei ausreichender Restfunktion der 21-Hydroxylase kann die Erkrankung asymptomatisch verlaufen, dann spricht man von einem „nicht-klassischen Adrenogenitalen Syndrom“ (10, 13). Bei Auftreten eines klassischen AGS mit Salzverlust zeigen sich die unzureichende Aktivität der 21-Hydroxylase und der daraus resultierende Cortisolmangel insbesondere Stresssituationen, auf welche der Körper nicht adäquat reagieren kann. Dies führt in seltenen Fällen zu einer lebensgefährlichen Nebennierenkrise, welche sich primär in unspezifischen Beschwerden wie Schwächegefühl oder Erbrechen äußert (1, 22). Auch bei einem klassischen AGS ohne Salzverlust („simple-virilizing“) kann Cortisol nicht in ausreichendem Maß produziert werden, weswegen es auch in diesen Fällen zu Nebennierenkrisen kommen kann.

1.2.4 Therapiemanagement

Die Notwendigkeit der therapeutischen Maßnahmen richtet sich nach Art der Mutation und der daraus resultierenden klinischen Symptomatik. Bei Mädchen, welche mit einem äußerlich virilisierten Genital zur Welt kommen, wurde in der Regel innerhalb der ersten Lebensjahre eine geschlechtsangleichende Operation durchgeführt (23, 24). Geschlechtsangleichende Operationen an Kindern wurden durch den Deutschen Bundestag im Mai 2021 untersagt (25, 26).

Die medikamentöse Therapie erfolgt durch eine lebenslange Einnahme von Glukokortikoiden (16). Bei einem „Salt-wasting type“ müssen aufgrund des Aldosteron-Mangels zusätzlich Mineralokortikoide zugeführt werden. Das Therapiemonitoring erfolgt im Erwachsenenalter über meist jährlich stattfindende ambulante Kontrollen und über die Messung des 17-OH-Progesteronspiegels sowie der Androgenkonzentrationen (5, 16). Bei einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Adrenogenitalen Syndroms kann schon pränatal eine Glukokortikoidgabe notwendig werden, um die Virilisierung im Falle eines weiblichen Embryos zu verhindern (27). Bei einem nicht-klassischen AGS kann eine symptomatische Therapie notwendig werden. So kann beispielsweise bei Knochenalterakzeleration im Kindesalter eine individuell angepasste Glukokortikoidtherapie erfolgen, um einen drohenden Kleinwuchs vorzubeugen. Auch eine Therapie mit antiandrogene Substanzen kann im Verlauf zu einer Besserung der klinischen Symptomatik führen (13).

1.3 Das Ehlers-Danlos-Syndrom

1.3.1 Pathophysiologie und klinisches Bild

Unter dem Begriff „Ehlers-Danlos-Syndrom“ (EDS) wird eine heterogene Gruppe von Erkrankungen zusammengefasst, die mit einer Hypermobilität der Gelenke einhergeht (28, 29). Die Prävalenz innerhalb der Bevölkerung beträgt etwa 1:5000 (30). Die Ursache der Erkrankung liegt in Mutationen auf Kollagen-kodierenden oder Kollagen-modifizierenden Genen. Erstmals beschrieben wurde die Krankheit in den 1960er Jahren durch Peter Beighton, von welchem auch ein nach ihm benannter Score zur Bestimmung der Hypermobilität stammt (28, 31). Die Einteilung in sechs Haupttypen wurde 2017 von einer differenzierteren Unterteilung in 13 Typen abgelöst (29, 32). Abgesehen von der Hypermobilität kann sich die Erkrankung in betroffenen Individuen durch verschiedene Symptome wie beispielsweise gastrointestinale Beschwerden äußern. Weiterhin können vaskuläre Abnormalitäten vorliegen (33, 34). Der häufigste Grund für das Auftreten einer Ehlers-Danlos-Erkrankung ist eine Mutation im Kollagen V-Gen (28). Eine weitere Ursache, ehemals als Ehlers-Danlos-Typ III beschrieben, stellt eine Mutation des TNXB-Gens dar. Die Diagnose eines Ehlers-Danlos-Syndroms wird klinisch gestellt (28).

1.3.2 Therapiemanagement

Es existiert keine kausale Therapie. Therapeutisch wird deswegen vor allem eine Vermeidung von Verletzungen im Sinne einer Trauma-Prävention empfohlen. Präventive Bandagen, insbesondere bei Kindern, können Verletzungen vorbeugen. Auch Physiotherapie kann eine

therapeutische Maßnahme darstellen. Aufgrund eines erhöhten kardiovaskulären Risikos sollten regelmäßige echokardiologische Kontrollen erfolgen (28).

1.4 Tenascin X als Auslöser des EDS

1.4.1 Einteilung

Die durch eine TNXB-Mutation verursachte Form des Ehlers-Danlos-Syndroms wurde zunächst als Typ III-Untergruppe in die 1998 Villefranche-Klassifikation der Ehlers-Danlos-Syndrome aufgenommen, welche sechs verschiedene Subtypen identifizierte (31, 35). In einer Neubewertung 2017 erhielt sie als eine von nun 13 Untergruppen den Namen „Classical-like Ehlers-Danlos-Syndrom“, da sie ähnliche Symptome hervorruft wie die häufigere Mutation des Kollagen V, welche als „classical EDS“ (ehemals Typ I) bezeichnet wird (32). Das „classical-like EDS“ wird autosomal-rezessiv vererbt. Da TNXB die einzige Ursache für ein „classical-like Ehlers Danlos Syndrome“ darstellt, kann zur molekulargenetischen Bestätigung eine Sequenzierung des TNXB-Gens herangezogen werden (29).

1.4.2 Genetik



Abbildung 1: Bereich der TNXB-Region auf Chromosom 6.

TNXB-Gen nicht komplett dargestellt; Einordnung benachbart dem Gen CYP21A2 (kodierend für die 21-Hydroxylase) und C4B (Complement component 4B); Pseudogen TNXA (Tenascin XA) benachbart dem Gen STK19P (kodierend für die Serin/Threonin Kinase 19 Pseudogen) sowie CYP21A1P (Cytochrom P450 family 21, subfamily A, member 1 Pseudogen). Ebenfalls dargestellt C4A (Complement C4A) sowie STK19 (Serin/Threonin Kinase 19), Abbildung schematisch. (36)

Das TNXB-Gen befindet sich auf Chromosom 6 und kodiert für das extrazelluläre Gewebsprotein Tenascin X (im Folgenden auch TNX genannt), eines der drei großen Matrixproteine der Tenascin-Familie. TNXB umfasst 68,2 kb und 44 Exons, welche zu einer mRNA mit 12 kb transkribiert werden. Ein Alleinstellungsmerkmal des TNXB-Gens ist, dass sowohl das 3'- als auch das 5'-Ende mit anderen Genen überlappen. So kann sich eine Mutation von Nachbargenen auch auf das TNXB-Gen auswirken (36, 37). Aufgrund der Gendichte in der HLA-Region und dem Vorhandensein homologer Pseudogene ist diese Region für homologe Rekombinationen prädestiniert. Die Anzahl an Kopien des RCCX-Komplexes variiert innerhalb der Individuen und führt auf diese Weise zu Chimären zwischen CYP21A2/CYP21A1P sowie TNXA/TNXB. Tenascin X wird in verschiedenen Bindegewebsarten exprimiert, ein C-terminales Fragment des Proteins ist zudem auch im Serum nachzuweisen (38). Wissenschaftler um Kazuo Yamada wiesen nach, dass bei einer generalisierten Gelenk-Überbeweglichkeit die Tenascin X-Konzentrationen im Serum

erniedrigt waren, obwohl keine Mutation des TNXB-Gens nachzuweisen war. Sie folgerten daraus, dass erniedrigte Tenascin X-Serumkonzentrationen einen Risikofaktor für eine Gelenküberbeweglichkeit darstellen (39).

1.4.3 Klinisches Bild

Erstmals beschrieben wurde ein Mangel an Tenascin X als Auslöser eines Ehlers-Danlos-Syndroms im Jahr 1997 bei einem Patienten mit AGS, der eine Überbeweglichkeit der Gelenke, überdehnbare Haut sowie vermehrte Narbenbildung aufwies (37). Hautbiopsien ergaben ein komplettes Fehlen von Tenascin X (3, 32). Führendes Symptom eines durch TNX-Mangel bedingten Ehlers-Danlos-Syndroms ist die Überbeweglichkeit der Gelenke. Weitere Hauptkriterien bei der Diagnosestellung sind häufige Luxationen sowie leichte Verletzbarkeit der Haut. Bei Frauen wurde ein gehäuftes Auftreten von Uterus- und Vaginalprolaps beschrieben (32). Kardiovaskuläre Auffälligkeiten konnten nachgewiesen werden (40). Zudem wurden Trachea-Rupturen bei Patienten mit Tenascin X-Mangel beschrieben (41).

1.4.4 Heterozygote Mutation des TNXB-Gens

Sowohl homozygote als auch compound-heterozygote Mutationen des TNXB-Gens können ein Fehlen von Tenascin X hervorrufen (32). Es zeigten sich jedoch auch Symptome, wenn nur ein Allel betroffen war, es konnte also auch bei Patienten mit einer heterozygoten Mutation ein Tenascin X-Mangel auftreten. Dies wurde als TNXB-Haploinsuffizienz bezeichnet (36).

Es gibt Studien, die auf einen protektiven Effekt einer Tenascin X-Heterozygotie im Alter hindeuten, da es bei ansonsten asymptomatischen Patienten zu einer verminderten Rigidität und Steifigkeit der Myokardgefäße kommen kann (42). Jedoch haben auch asymptomatischen Patienten ihr Leben lang ein deutlich erhöhtes Risiko für Gefäßrupturen. Wie beim klassischen Ehlers-Danlos-Syndrom kann bei Haploinsuffizienz nur eine symptomatische Therapie erfolgen (32).

1.5 CAH-X Syndrom als Zeichen eines Tenascin X-Mangels bei Patienten mit AGS

Beim ersten beschriebenen Fall eines TNX-Mangels wurde eine 30 kb-Deletion auf Chromosom 6 eines Patienten mit AGS nachgewiesen, welche sowohl das CYP21A2- als auch das TNXB-Gen betraf (32, 37). Diese Konstellation wird im Folgenden als CAH-X Syndrom bezeichnet (3).

Die Entdeckung war Auslöser für weitere Studien mit dem Ziel, den Zusammenhang zwischen einem 21-Hydroxylase-Mangel und der Ehlers-Danlos-Symptomatik zu beleuchten. 2013

wurden im Rahmen einer Studie an einer Kohorte von 192 Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom des NIH Clinical Center in Bethesda, Maryland 12 Patienten identifiziert, welche zusätzlich zu einer Deletion im CYP21A2-Gen Mutationen des TNXB-Gens aufwiesen; hierbei handelte es sich ebenfalls um Deletionen. Bei einem weiteren Patienten wurde ein vorzeitiges Stopcodon nachgewiesen (3). 12 dieser 13 Patienten wiesen klinische Symptome im Sinne eines hypermobilen Ehlers-Danlos-Syndroms auf. Insgesamt ließ sich bei 7 % der AGS-Kohorte ein CAH-X Syndrom nachweisen. Bei diesen Patienten wurden zudem kardiovaskuläre Auffälligkeiten wie Klappenerkrankungen beschrieben. Es traten Aortenaneurysmata und -wurzeldissektionen sowie Ventrikelvergrößerungen auf (3).

Eine Mutation des CYP21A2-Gens, welche sich auf das TNXB-Gen auswirkt und mit einem Mangel an Tenascin X einhergeht, wurde in dieser sowie allen folgenden Publikationen als CAH-X(-Syndrom) bezeichnet (36). Das kombinierte Auftreten eines TNX-Mangels und eines Adrenogenitalen Syndroms wurde 2017 ebenfalls als eine von 13 Untergruppen mit der Bezeichnung „The contiguous gene syndrome with congenital adrenal hyperplasia and TNX-deficiency“ in die Klassifikation der Ehlers-Danlos-Syndrome aufgenommen (32).

1.5.1 Pathophysiologie des CAH-X Syndroms

Die Mutation des CYP21A2-Gens kann verschiedene Ausprägungen haben. Eine Deletion innerhalb des Gens kann sich auf das Nachbar-Gen TNXB ausdehnen, für welches ebenso wie für das CYP21A2-Gen ein homologes Pseudogen bekannt ist. Dieses trägt den Namen TNXA und befindet sich neben dem CYP21A1P-Gen, ähnlich dem TNXB, welches das CYP21A2-Gen flankiert (3). Durch homologe Rekombination kann während der Meiose eine sogenannte TNXA/TNXB-Chimäre entstehen, welche die Produktion von Tenascin X verhindert (s.u.).

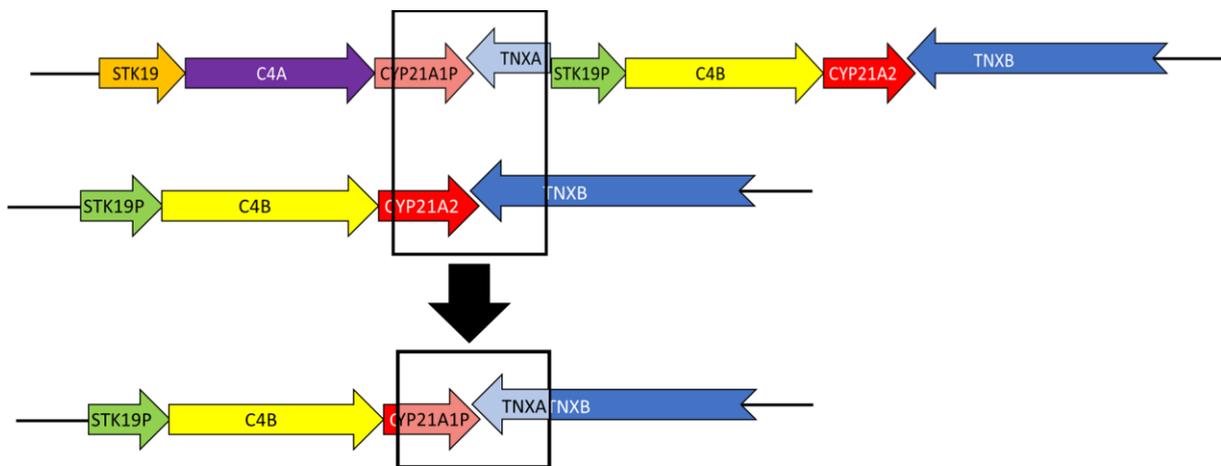


Abbildung 2: Schematische Abbildung eines Crossovers der Tenascin Gene mit resultierender TNXA/TNXB-Chimäre (modifiziert nach Merke et al. 2013, the Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism)

TNXB liegt seinem Pseudogen TNXA benachbart; während der Meiose kann es zu Rekombinationen kommen. Hierbei werden verschiedene Exons des TNXB-Gens durch Teile von TNXA ersetzt. Pseudogen TNXA sowie Pseudogen CYP21A1P ersetzen Teile der TNXB (Tenascin X) sowie CYP21A2 (21-Hydroxylase).

1.5.2 Diagnostik

Der Nachweis der TNXA/TNXB-Chimäre gestaltet sich aufgrund der Gendichte schwierig. Letztendlich werden die Mutationen mithilfe eines PCR Assays bewiesen (43). Hierfür werden dem Assay zusätzlich zu den Primern für die Amplifikation des betreffenden Genabschnitts, ein TNXB-Sense- und -Antisense-Primer (auch: Forward- und Reverse-Primer) sowie ein (TN)XA-Antisense-Primer zugefügt. Bei Patienten mit Mutation kann der XA-Antisense-Primer binden und so eine Multiplikation des vorliegenden Genabschnitts erzeugen. Bei Fehlen der Mutation liegt bei Hybridisierung des XA-Antisense-Primers mit dem eigentlichen TNXA-Gen kein PCR-Produkt vor. Auf einem Agarose-Gel kann nun differenziert werden zwischen den Patienten, bei denen eine Multiplikation des TNXA-Gens erfolgt ist und solchen, bei denen sich die PCR unauffällig darstellt. Zeigen sich in der Gelelektrophorese zwei Banden, so

konnten beide Antisense-Primer die DNA amplifizieren. Dies tritt so bei Vorliegen einer TNXB-Haploinsuffizienz auf. Der TNXB-Sense-Primer kann in diesem Fall die vorliegende DNA binden und amplifizieren. Kann er dies nicht, so fehlt in der Elektrophorese die Bande, welche ein intaktes TNXB-Gen anzeigt, es liegt eine homozygote Veränderung vor. Diese verursacht das Vollbild eines EDS (32).

1.5.3 Bisher bekannte Mutationen

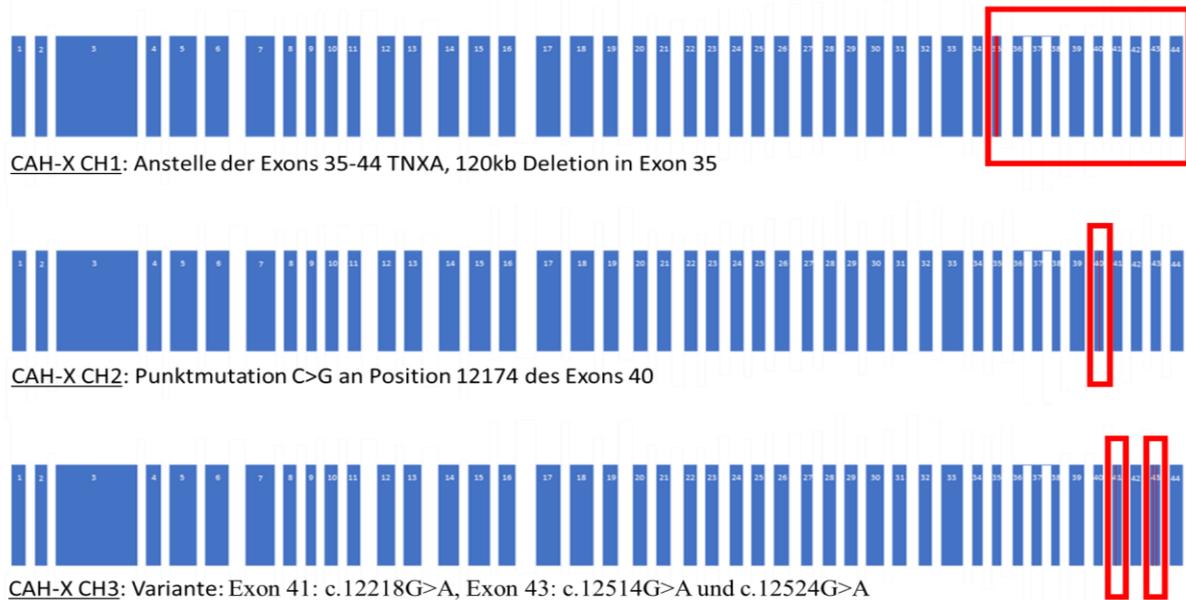


Abbildung 3: Bisher bekannte Varianten der TNXA/TNXB-Chimäre

Bisher wurden drei verschiedene TNXA/TNXB-Chimären beschrieben (35, 44, 45). Bei einer davon zeigte sich eine 120 kb Deletion auf Exon 35 des TNXB-Gens. Exon 35 bis 44 des TNXB-Gens wurden durch TNXA ersetzt, dies wurde als CAH-X CH-1 bezeichnet (30). Die bisher vorliegenden Studien beschreiben CAH-X CH-1 als die am häufigsten auftretenden CAH-X Chimäre, sie lag je nach Studie in 62 % (30, 46), 48 % (36) oder 59 % (47) der Fälle mit einem CAH-X Syndrom vor. Eine weitere wurde als Punktmutation C > G an Position 12174 des Exons 40 auf ebendiesem Gen beschrieben, welche dominant-negativ zu einer Minderexpression von Tenascin X führt. Diese Mutation wurde als CAH-X CH-2. Es wurde beobachtet, dass diese Mutation zu klinisch schwereren Verläufen führt als Typ CH1 (30). 2016 wurde zudem eine weitere dominant-negative Chimäre des TNXB-Gens beschrieben und als CAH-X CH-3 bezeichnet. Diese letzte Mutation stellt eine Variante dreier Mutationen (Exon 41: c.12218G>A (p.Arg4073His); Exon 43: c.12514G>A (p.Asp4172Asn) und c.12524G>A (p.Ser4175Asn)) dar, welche primär beschrieben wurden als in Kombination mit CAH-X CH-2 auftretend. Sie können jedoch auch für sich selbst stehend Auswirkungen auf das

Bindegewebe haben, welche den zuvor genannten ähnlich sind (35). Ein biallelisches Auftreten ist möglich und zeigt sich in einem ausgeprägteren Phänotyp. CH-2 wurde in 22 %, 33 %, 34 % oder 38 % und CH-3 als am seltensten auftretende Chimäre mit einer Häufigkeit von 0,5 %, 17 % oder 19 % aller Patienten mit einem CAH-X Syndrom (30, 36, 45-47) beobachtet. Insgesamt wurde ein Auftreten des CAH-X Syndroms in bis zu 15 % der Patienten mit AGS beschrieben (48).

Alle drei Mutationen führen zu Strukturveränderungen des Tenascin X-Proteins und zur klinischen Symptomatik eines Ehlers-Danlos-Syndroms (35). Dies bedeutete für die Patienten häufigere kardiovaskuläre Kontrollen sowie Konsequenzen bei einer Anästhesie, unter anderem aufgrund möglicher, klinisch unauffälliger Herzfehler. So besteht aufgrund der Gewebsveränderungen die Möglichkeit, dass eine lokale Anästhesie wirkungslos bleibt und vermehrt Blutungen auftreten (49).

Der Nachweis der Mutation hat weitreichende Folgen für die Betroffenen und bringt therapeutische Konsequenzen mit sich.

2. Zielsetzung

Im Rahmen der von uns durchgeführten Studie sollte in Erfahrung gebracht werden, ob sich innerhalb der Patientenkohorte, welche in der Endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV des Universitätsklinikums München betreut wird, ebenfalls Patienten mit einer TNXB-Mutation befinden und ob sich der aus vorangehenden Studien anzunehmende Anteil von 5-10 % an Patienten mit dem CAH-X CH1 Syndrom bestätigen lässt.

Bei Nachweis einer Mutation sollte zunächst die klinische Symptomatik dieser Patienten exploriert werden. Hierfür wurden verschiedene klinische Untersuchungen geplant, welche unter anderem einen Muskelultraschall sowie eine echokardiologische Untersuchung beinhalteten.

Zudem wurde die Messung der Tenascin X-Konzentration geplant, um eine Korrelation zwischen Serumspiegel des Proteins sowie einer in den klinischen Untersuchungen festgestellten Überbeweglichkeit aufzudecken. Es sollte überprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Protein-Expression und der Intensität der Symptome besteht.

Die Auswahl der Untersuchungen erfolgte im Hinblick auf eine Optimierung des Therapiemanagements für Patienten mit AGS, insbesondere hinsichtlich kardiovaskulärer und orthopädischer Beschwerden. Falls sich vermehrt Herzbeschwerden bei betroffenen Patienten zeigen sollten, so sollte ein echokardiologisches Untersuchungsprotokoll etabliert werden, ebenso Maßnahmen zum gelenkschonenden Arbeiten und physiotherapeutische Übungen.

Abhängig von der Ausprägung der in dieser Studie nachgewiesenen Beschwerden der Patienten sollte die Einführung eines geeigneten Screeningverfahrens diskutiert werden.

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die primäre Datenerhebung wurde aufgrund der geringen Fallzahl als Fall-Kontroll-Studie angelegt und in der Medizinischen Klinik IV des Universitätsklinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. Die klinische Untersuchung fand im Zeitraum November 2018 bis Dezember 2022 statt, die Genotypisierung erfolgte bereits im Vorfeld über einen Zeitraum von zwei Jahren, das biologische Material hierfür wurde teils bei Ambulanzterminen gewonnen, teils wurde Material aus früheren Studien verwendet.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt (Ethikvotum Nr. 19-281). Alle Studienteilnehmer/innen gaben ihr schriftliches Einverständnis.

3.2 Mutations-Screening

Es wurde innerhalb der Gruppe der Patienten mit AGS eine Screening-PCR auf die Vollständigkeit des TNXB-Gens durchgeführt. Die Detektion von TNXA/TNXB Chimären gestaltete sich aufgrund der hohen Gendichte, der Interferenz mit Pseudogenen und der ungewöhnlichen Größe des TNXB-Gens als schwierig (s. o.) (30). Nach Rücksprache mit dem Labor von Deborah Merke, welche 2013 als Erste zu diesem Thema publiziert hatte, wurde ein Screening-Verfahren etabliert (3). Die Diagnostik erfolgte mithilfe von MLPA, einer der Multiplex-PCR ähnlichen Technik, welche dafür eingesetzt wird, Deletionen und Duplikationen bestimmter Gene nachzuweisen. Es werden hierbei bestimmte Primer eingesetzt, welche nur bei Vorliegen dieser Mutationen mit ihren Zielstrukturen hybridisieren, anschließend ligiert und in einem nächsten Schritt amplifiziert werden (43). Hier wurde ein Assay verwendet, welcher speziell zur Detektion einer Mutation des TNXB-Gens zu diagnostischen Zwecken bei einem Verdacht auf ein Ehlers-Danlos-Syndrom zugelassen ist (50). Hiermit ist die Detektion von CAH-X CH1 möglich, welches die häufigste der drei verschiedenen TNXA/TNXB-Chimären darstellt (s.o.).

Zu Versuchszwecken wurden als erster Schritt innerhalb der Patientenkohorte Patienten mit AGS ausgewählt, bei denen man aufgrund der bereits bekannten Genetik (keine Deletion im CYP21A2-Gen) davon ausging, dass bei ihnen keine Mutation des TNXB-Gens vorliegt. Es wurde getestet, welche Ergebnisse sie in der Multiplex-PCR lieferten, der man einen TNXB-Sense- und Reverse-Primer sowie einen XA-Reverse-Primer zugefügt hatte. Von dem TNXB-Sense-Primer wurde erwartet, in jedem Fall an das Gen zu binden. Bei Vorliegen einer

TNXA/TNXB-Chimäre sollten beide Reverse-Primer ihre Zielstruktur binden können, was in der anschließenden Gelelektrophorese überprüft wurde. Bei intaktem TNXB-Gen sollte nur der TNXB-Reverse-Primer zu einer Amplifikation führen.

Im Anschluss wurde die PCR bei allen Patienten durchgeführt, die sich zu dieser Zeit in Betreuung der endokrinologischen Spezialambulanz für das Adrenogenitale Syndrom befanden und ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme gaben. Hierbei war irrelevant, ob ein klassisches AGS mit oder ohne Salzverlust oder ein nicht-klassisches AGS vorlag. Erwartet wurde, dass sich bei Patienten ohne eine TNXA/TNXB Chimäre in der Gelelektrophorese bei TNXB-Reverse-Primer ein positives, in der Elektrophorese zu dem XA-Reverse-Primer jedoch ein negatives Ergebnis zeigt. Zur Bestätigung sollten alle PCRs mit einem auffälligen (negatives Ergebnis bei TNXB-Reverse- oder positives Ergebnis bei XA-Reverse-Primer) oder nicht-eindeutigem Ergebnis wiederholt werden.

Die Blutabnahme für den Assay erfolgte gemeinsam mit weiteren Laborkontrollen im Zeitraum zwischen 8 Uhr und 12 Uhr. Die DNA-Extraktion erfolgte aus EDTA-Blut. Für die Amplifikation des relevanten genomischen TNXB DNA-Bereichs aus Blutproben wurde das SALSA MLPA KIT P155-B1 von MRC Holland, ein Assay lediglich zu diagnostischen Zwecken im Rahmen einer Ehlers-Danlos-Erkrankung, verwendet. Die Durchführung der Multiplex-PCR erfolgte nach dem MLPA® General Protocol, die MLPA-Daten wurden mithilfe einer Coffalyser 9.4 Software ausgewertet (3, 50).

Tabelle 1: Verwendete Primer für das Screening

Zum Ausschluss bzw. zum Nachweis einer homologen Rekombination zwischen TNXA und TNXB verwendete Primer nach Merke et al (3).

MLPA-Primer	Sequenz
TNXB-Forward-Primer	TCTCTGCCCTGGGAATGACAG
TNXB-Reverse-Primer	GGGATCAGCCCCTGGAGTTT
(TN)XA-Reverse-Primer	TTCTTGACTCCCACCTGGAGT

Der Vorgang wurde zur Bestätigung der Ergebnisse wiederholt durchgeführt. Allen Patienten sollte das Ergebnis der Untersuchung bei ihrem nächsten Besuch in der Endokrinologischen Ambulanz in einem humangenetischen Beratungsgespräch mitgeteilt werden. Die für den Vortest benötigte isolierte Rest-DNA sowie die extrahierten PCR-Produkte wurden entweder aufbewahrt.

3.3 Auswahl der Studienteilnehmer

3.3.1 Selektion der „Fallgruppe“

In der Ambulanz der Medizinischen Klinik IV wurden zwischen 2016 und 2018 Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom auf eine Mutation des TNXB-Gens hin untersucht. Hierfür wurde die oben beschriebene Multiplex-PCR durchgeführt. Zeigten sich auch bei Wiederholung Auffälligkeiten in diesem Bereich, erfolgte eine klinische Untersuchung: Die betroffenen Patienten wurden zwischen November 2018 bis Mai 2019 im Rahmen ihrer routinemäßigen Verlaufskontrollen in der Endokrinologischen Ambulanz hinsichtlich Muskelschwäche und Überbeweglichkeit untersucht (s.u.). Außerdem wurde bei jedem der Patienten ein Muskelultraschall und eine transthorakale Echokardiographie durchgeführt sowie die Tenascin X-Konzentration im Blut bestimmt, wobei aufgrund der aktuellen Studienlage ein Mangel des Proteins Tenascin X bei der Fallgruppe erwartet wurde.

3.3.2 Auswahl der Kontrollgruppe

Innerhalb der Patientenkohorte der Endokrinologischen Ambulanz des LMU Klinikums München, Ziemssenstraße 5, die ca. 200 Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom umfasst, wurden pro positiver PCR zwei weitere Patienten ausgewählt, bei denen die Screening-PCR keine Auffälligkeiten im Bereich des TNXB-Gens zeigte und die hinsichtlich Geschlecht, Alter sowie Body-Mass-Index mit den betroffenen Patienten gematcht werden konnten. Der Vergleich zwischen Fall- und Kontrollgruppe erfolgte somit mithilfe eines 2:1-Matchings. Bestehend aus jeweils drei Personen (vgl. statistische Auswertung). Die Patienten der Kontrollgruppe wurden ebenfalls im Anschluss an ihre jährliche Verlaufskontrolle anhand des gleichen Protokolls untersucht. Es wurde ebenfalls ein Muskelultraschall durchgeführt. Die Tenascin X-Konzentration im Blut wurde bestimmt. Eine echokardiologische Untersuchung wurde in dieser Gruppe nicht durchgeführt. Auch bei der Kontrollkohorte wurde im Vorfeld der Untersuchungen die schriftliche Zustimmung eingeholt.

3.4 Teil 1: Untersuchungen im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie

Die Blutentnahme für die Screening-PCR im Rahmen der Genotypisierung erfolgte während der ambulanten Routinekontrollen. Die Patienten, die ein auffälliges Ergebnis zeigten hatten oder für die Kontrollgruppe ausgewählt worden waren, wurden bei ihrer nächsten jährlichen Routinekontrolle klinisch untersucht.

In dieser Studie wurden verschiedene klinische Instrumente verwendet, um die Patienten adäquat miteinander vergleichen zu können.

Alle Teilnehmer der Fall-Kontroll-Studie bekamen einen Fragebogen ausgehändigt und wurden im Anschluss anhand eines zuvor erstellten Protokolls klinisch untersucht (s. Anhang 1, Anhang 2). Die Untersuchungen fanden im Anschluss an reguläre Visiten zur Verlaufskontrolle für Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom statt. Es wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt: Messung des Beighton- und Brighton Scores mit Evaluation der Gelenkbeweglichkeit, Reflexstatus sowie orientierende neurologische und dermatologische Untersuchung. Die Handkraft wurde mittels Dynamometer evaluiert und die Medical Research Council Scale (MRC) zur Einstufung der Muskelkraft eingesetzt. Teilweise wurden diese klinischen Analysesysteme auch in anderen, bereits publizierten Studien verwendet, die ebenfalls eine Mutation des TNXB-Gens und das Auftreten von Hypermobilität bei Patienten mit AGS beschrieben hatten. Insbesondere Beighton- und Brighton-Score wurden bisher als geeignete Messinstrumente genannt (3, 40). In unserer Erhebung wurde jedoch im Vergleich zu den bisherigen Studien ein stärkerer Fokus auf die neurologische und muskuloskeletale Untersuchung gelegt. Die geeigneten Tests wurden im Vorfeld in Zusammenarbeit mit dem Friedrich-Baur-Institut ausgewählt. Dieses Vorgehen wurde gewählt, um eine angemessene Vergleichbarkeit zu erreichen. Auf eine Hautbiopsie wie in vorangehenden Studien wurde aufgrund der Invasivität verzichtet, stattdessen wurde der Tenascin X-Gehalt im Serum der Patienten bestimmt (3).

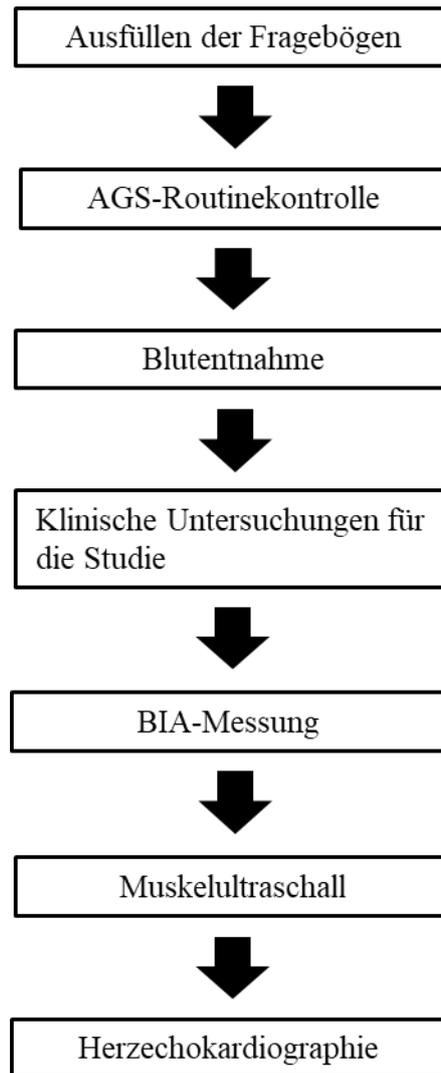


Abbildung 4: Zeitlicher Ablauf der Untersuchungen
Reihenfolge der Durchführung in der klinischen Ambulanz

3.4.1 Verwendete Fragebögen

Die Fragebögen wurden allen Patienten unmittelbar vor ihrem Ambulanztermin ausgehändigt und von den Patienten ausgefüllt. (s. Anhang 1). Die Bögen beinhalteten Fragen nach Gelenkerkrankungen sowie generellen Gelenkproblemen in der Familie, Fragen zur kardiovaskulären Gesundheit und familiären Vorbelastung diesbezüglich sowie bisherige Diagnostik. Der Short McGill Pain Questionnaire wurde erhoben, welcher sich in 15 Fragen mit der Intensität und dem Charakter eines ggf. vorhandenen Schmerzes auseinandersetzt (51), da Studien zufolge das Ausmaß der Gelenküberbeweglichkeit mit der Schmerzintensität korreliert (28). Zudem wurden Daten wie Gewicht und Alter der Patienten ermittelt, der Phänotyp des AGS erfasst (AGS mit Salzverlust/ ohne Salzverlust/ nicht-klassisch/ unklar) und eine kurze dermatologische Anamnese durchgeführt. Hierbei wurde abgefragt, ob das Gefühl

bestünde, sich rasch zu verletzen und ob Narben wieder gut abheilen. Zudem wurde nach einer bestehenden Überdehnbarkeit der Haut gefragt, wobei hier zum einen das subjektive Empfinden der Patienten dokumentiert wurde, zum anderen eine klinische Untersuchung diesbezüglich erfolgte. Zur genaueren Einordnung von möglichen dermatologischen Beschwerden wurde eine etwaige Medikation mit Glukokortikoiden dokumentiert.

Für die Auswertung der Kraftübungen wurde festgehalten, ob die Patienten Rechts- oder Linkshänder sind. Die sportliche Aktivität der Patienten wurde abgefragt und unterteilt in mehr oder weniger als zwei Stunden Sport/körperliche Aktivität pro Woche.

3.4.2 Protokoll der klinischen Untersuchung

Die klinische Untersuchung wurde bei den Patienten der Kontrollgruppe direkt im Anschluss an ihre ärztliche Verlaufskontrolle des AGS durchgeführt, bei den Patienten mit einer Mutation im genetischen Screening im Anschluss an die echokardiologische Untersuchung. Alle Patienten befanden sich zu diesem Zeitpunkt in einer guten, leistungsfähigen Verfassung. Es wurde eine kurze Anamnese durchgeführt, welche die Abfrage des Nikotinkonsums sowie des wöchentlichen Bewegungspensums beinhaltete, bevor im Anschluss die klinische Untersuchung der Patienten durchgeführt wurde (s. Anhang 2).

3.4.2.1 Bioimpedance Analysis

Die Untersuchung beinhaltete eine BIA-Messung (Bioimpedance Analysis), bei der unter anderem die Muskelmasse und der Körperfettanteil der Studienteilnehmer ermittelt wurden. Die Bioimpedance-Analyse ist eine nichtinvasive, einfach durchzuführende Messung, die einen Rückschluss auf die Körperzusammensetzung der Patienten zulässt. Es werden jeweils zwei Elektroden am rechten Arm und rechten Bein des Studienteilnehmers angebracht, über die ein Wechselstrom mit minimaler Stromstärke in den Körper gesandt wird. Hierbei bildet die Impedanz das Hindernis des Wechselstromes ab und ist von Frequenz und Phasenwinkel abhängig. Der gemessene Widerstand ist abhängig von der Verteilung der verschiedenen Gewebearten und lässt somit Rückschlüsse auf Menge von Wasser, Muskel und Fett zu (52). Möglich ist dies aufgrund der unterschiedlichen elektrischen Eigenschaften der Gewebe. So stellt Wasser beispielsweise einen sehr guten elektrischen Leiter dar, während Fett elektrische Impulse kaum leitet. Der Berechnung zugrunde liegt ein vereinfachtes Modell des menschlichen Körpers als Zylinder. Der Körper wird grob in fünf Bereiche eingeteilt: Rumpf sowie die vier Extremitäten. Innerhalb der Bereiche wird Fettmasse sowie fettfreie Masse unterschieden, die fettfreie Masse wird dabei als „Magermasse“ bezeichnet. Bei der Messung wird davon ausgegangen, dass die fettfreie Masse eine konstante Hydratation von 73 % besitzt

(53). Die fettfreie Masse wird abermals unterteilt in zwei Kompartimente, die Extrazellulärmatrix sowie die Körperzellmatrix. Die fettfreie Masse besteht dabei vor allem aus Wasser sowie Körpermineralien (54).

Für die Bioimpedance-Analyse wurde das BIA-Gerät der Endokrinologischen Ambulanz des Universitätsklinikums München verwendet, die Auswertung erfolgte über das Programm NutriPlus. Durch die Bioimpedance-Messung war es möglich, einen Unterschied zwischen Kontroll- und Fallgruppe bei der Verteilung von Fett- und Muskelgewebe und Körperzellmasse und Extrazellulärmatrix zu ermitteln sowie die körperliche Fitness der Patienten für die restlichen Untersuchungen abzuschätzen.

3.4.2.2 Neurologischer Status

Es erfolgte eine kurze neurologische Untersuchung, beinhaltend verschiedene Tests zur Koordination. Beim Finger-Nose-Test (auch: Finger-Nase-Versuch, Finger-Nose-Finger-Test) musste der Patient abwechselnd seine Nase sowie den Finger des Untersuchers berühren, dieser bewegte währenddessen seinen Finger in verschiedene Richtungen. Beim Romberg-Test streckte der stehende Patient beide Arme aus und schloss beide Augen. Bei positivem Test zeigte sich bei geschlossenen Augen eine Schwank- oder Fallneigung, aus diesem Grund muss der Patient während der Durchführung gegen Stürze gesichert werden. Mögliche Ursachen eines positiven Romberg-Tests können spinale Erkrankungen darstellen. Es wurde der Reflexstatus erhoben sowie das Vibrationsempfinden getestet. Da es kein Standardprotokoll zur neurologischen sowie myogenen Untersuchung bei Ehlers-Danlos-Patienten gibt, wurde eine Auswahl an Untersuchungsmethoden anderer muskulärer Erkrankungen verwendet, welche durch das Friedrich-Baur-Institut München empfohlen worden war. Der 30-second Chair Stand Test wurde neben dem Romberg-Test im Rahmen der Gleichgewichtsuntersuchung durchgeführt. Bei diesem Test musste der Patient mit vor der Brust gekreuzten Armen innerhalb von 30 Sekunden so oft wie möglich vom Stuhl aufstehen und sich wieder setzen (55).

3.4.2.3 Klinische Untersuchung auf Überbeweglichkeit

Der Beighton-Score wurde ermittelt, der Brighton-Score aus dem Beighton-Score sowie den erhobenen Daten und der Anamnese erstellt. Die beiden Tests stellen den Goldstandard beim Nachweis einer generalisierten Überbeweglichkeit dar. Sie wurden in den bisher durchgeführten Studien als Messinstrument verwendet (3).

Bei den Patienten wurde hierfür die Dehnbarkeit der Kleinfinger-, Daumen-, Ellbogen-, Knie- und Hüftgelenke betrachtet (Beighton-Score). Mit jedem überdehnbaren Gelenk konnte ein

Punkt erzielt werden. Insgesamt wurden maximal 9 Punkte erhoben. Ab einem Wert von mindestens vier Punkten gilt ein Patient als überbeweglich (56). Das Ergebnis des Beighton-Scores fließt in den Brighton-Score mit ein (57). Der Brighton-Score gilt als positiv, sobald zwei Hauptkriterien, ein Haupt- und ein Nebenkriterium oder vier Nebenkriterien erfüllt sind. Zu den Hauptkriterien zählen neben einem positiven Beighton-Score Schmerzen in mindestens vier Gelenken seit mindestens drei Monaten. Zu den Nebenkriterien gehören unter anderem Rückenschmerzen, Spondylolisthesis, Schmerzen in ein bis drei Gelenken und mehrmalige Gelenkluxationen (57). Beighton- und Brighton-Score haben von allen Tests den größten Konsens in der Diagnostik des Ehlers-Danlos-Syndroms gefunden und werden bei Patienten mit EDS routinemäßig zur Diagnostik der Hypermobilität eingesetzt (58-60).

3.4.2.4 Weitere klinische Untersuchungen

Bei der Inspektion der Haut der Patienten wurde auf vermehrte Narbenbildung und Striae geachtet, mithilfe eines Kalipers (Zange zur Messung des Unterhautfettgewebes) wurde die Dicke einer Trizepsfalte gemessen, ebenso wurde der Patient gebeten, eine Hautfalte des Unterarmes von diesem wegzuziehen. Ein positiver Befund wurde dokumentiert, sobald sich eine Hautfalte des Unterarmes mehr als 4 cm durch den Patienten selbst vom Arm wegziehen ließ.

Der Quick Motor Function Test ist ein Muskel-Funktionstest, der ursprünglich für die Diagnostik der Progression der Muskelschwäche bei Patienten mit Morbus Pompe entwickelt wurde. Er besteht aus 16 Items und testet die Funktion unterschiedlicher Muskelgruppen. Patienten müssen beispielsweise aus der Hocke aufstehen, ohne sich abzustützen und die Arme 180° über den Kopf heben (s Anhang 2: Klinische Untersuchung) (61). Auf Empfehlung des Friedrich-Baur-Instituts gab diese Untersuchung bei unserer Studie einen Überblick über das körperliche Leistungsvermögen der Studienteilnehmer, welches mit dem FI-2-Upper-Extremity-Index differenzierter betrachtet wurde. Dieser Test wird insbesondere bei Patienten mit Muskelschwäche, beispielsweise bei Dermatomyositis, eingesetzt (62). Er beinhaltet die regelmäßige Ausführung einer bestimmten Bewegung in einem bestimmten Rhythmus. Eine Mindestanzahl an Wiederholungen, welche die Patienten erreichen sollen, wird vorgegeben. Zu den ausgeführten Bewegungen gehören Hüft- und Schulterflexion sowie Zehenspitzen- und Fersenstand. Diese werden in der Regel in einer Frequenz von 40 Einheiten pro Minute wiederholt, maximal werden meist 60 Wiederholungen gefordert. Im Anschluss an jede Durchführung wird die subjektive Anstrengung mittels der Borg-Cr10-Skala abgefragt (62).

Es wurde an jedem Arm dreimal eine Messung mittels Dynamometer durchgeführt, als Indikator für die Kraft der gesamten Armmuskulatur (63). Es wurde dabei jeweils der dominante Arm verglichen. Die Muskelkraft wurde zudem an oberen und unteren Extremitäten manuell mithilfe der Medical-Research-Council-Skala (MRC-Skala) bestimmt (es erfolgt eine Punkteverteilung von 0 – 5 Punkten, 0 bedeutet keine Kontraktion des betreffenden Muskels, 5 bedeutet volle Kontraktion, keine Kraftminderung) (64). Mit einem Hand-Algometer wurde die Sensibilität der Patienten an vier verschiedenen Punkten gemessen (Tibia Vorderseite, Oberschenkel Oberseite, Musculus Deltoideus und Musculus Brachioradialis nach dem Standardprotokoll des Friedrich-Baur-Instituts München).

3.4.3 Muskelultraschall

Der Muskelultraschall wurde vor der körperlichen Untersuchung in der Dr. von Hauner'schen Kinderklinik des LMU Klinikums mithilfe eines GE LOGIQ E Gerätes durchgeführt. Dem Untersucher war der CAH-X Status des Patienten nicht bekannt. Die Untersuchung beinhaltete im Bereich der unteren Extremität die Sonographie des Musculus quadriceps, der Adduktoren sowie des Musculus gracilis und des Musculus semimembranosus. Der Musculus gastrocnemius wurde ebenso dargestellt. Des Weiteren wurden im Bereich des Abdomens die Rektusscheide sowie der Rückenmuskel geschallt. Im Bereich der oberen Extremität wurden Deltoideus, Trizeps und Unterarmmuskeln, insbesondere die langen Fingerbeuger geschallt. Der Nervus medianus wurde ebenfalls dargestellt. Die Muskeldicke sowie der Muskelquerschnitt an der Stelle des größten Durchmessers wurden gemessen. Beim Schall wurde insbesondere auf eine Veränderung der Architektur, insbesondere auf einen fettigen Umbau der Muskulatur geachtet. Die Einteilung der Pathologien erfolgte nach einer modifizierten Heckmatt-Skala (65). Die Heckmatt-Skala beurteilt den Muskel nach der Intensität in der Sonographie. Hierbei erfolgt eine Einteilung in vier Stufen, wobei Stufe 1 einen Normalbefund beschreibt, bei welchem die Muskelsepten gut erkennbar sind, Stufe 4 einen pathologischen Befund mit erhöhter Echogenität der Muskulatur und nicht mehr klar abgrenzbaren Muskelsepten. Stufe 2 und 3 stellen Abstufungen zwischen den Befunden dar (65). Auffälligkeiten können sich beispielsweise bei Muskelerkrankungen oder aufgrund eines bindegewebigen Umbaus des Muskelgewebes zeigen. Es erfolgte zudem ein Vergleich des Muskelultraschalls mit den erhobenen Daten der Medical Research Council-Skala (MRC-Skala) (s.o.).

3.4.4 Echokardiographische Untersuchung

Bei den vom CAH-X Syndrom betroffenen Patienten wurde zusätzlich zu den bisher genannten Untersuchungen ein transthorakaler Herz- und Aortenultraschall durchgeführt, da Studien darauf hindeuten, dass es bei Tenascin X-Haploinsuffizienz gehäuft zu kardiovaskulären Auffälligkeiten kommen kann (3). Die echokardiologische Untersuchung erfolgte im Anschluss an den Muskelultraschall in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des LMU Klinikums München durch erfahrene Kardiologen. Diesen war der CAH-X Status der Patienten ebenfalls nicht bekannt. Beim Schall wurde speziell auf das Vorhandensein von Klappenabnormalitäten (Insuffizienzen, quadrikuspide Aortenklappe), Veränderungen der Aorta (Dissektionen, Aneurysmata) und Ventrikelveränderungen und Vorhofseptumdefekten geachtet, da bei Patienten mit CAH-X Syndrom von den genannten Veränderungen berichtet worden war (36).

3.5 Laborchemische Untersuchung

3.5.1 Messung von Tenascin X im Blut

Nach der Screening-PCR wurde jedem der Studienteilnehmer beider Gruppen Blut abgenommen, um darin den Gehalt des Tenascin X-Proteins zu bestimmen. Dieses ist im Extrazellularraum für die Stabilität der elastischen Fasern verantwortlich (vgl.1.4) (42). Die Messung erfolgte aus dem Serum, welches nach der Abnahme für 8-10 Minuten bei 3000 Umdrehungen und 4°C zentrifugiert und im Anschluss bei -80°C zwischengelagert wurde. Anschließend wurde an allen Proben gemeinsam ein ELISA durchgeführt. Das ELISA-Kit inklusive der für die Durchführung benötigten Reagenzien, im Folgenden als A und B bezeichnet, wurde bei der Firma Cloud-Clone Corporation bestellt, die Durchführung erfolgte im hauseigenen endokrinologischen Forschungslabor der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV, LMU Klinikum München nach Protokoll des Herstellers. Hierfür wurden 100 µl der Blutproben bei 37°C auf einer 96-Well Platte für eine Stunde inkubiert. 100 µl der Reagenz A wurden zugegeben und eine weitere Stunde inkubiert. Das Produkt wurde dreimal mit 30-fach konzentriertem Waschpuffer ausgewaschen, 100 µl von Reagenz B zugegeben und eine halbe Stunde bei 37°C inkubiert. Eine Menge von 90 µl Substrate Solution wurde zugefügt, wiederum 10-20 Minuten inkubiert, 50 µl Stop Solution beigegeben und das Ergebnis bei 450 nm abgelesen.

3.6 Auswertung der Daten

Die Daten wurden mit Excel erfasst, die Auswertung erfolgte über das Programm SPSS. Die Beschreibung der Datenverteilung erfolgte mithilfe deskriptiver Statistik. Um die Häufigkeiten

zu bestimmen, wurden die Mediane ermittelt und die Verteilung mithilfe von Boxplots angegeben. Die Daten wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung geprüft. Eine solche lag nicht vor. Für einen Vergleich der beiden Gruppen wurde bei den Fragebögen zur Korrelationsanalyse die konditionale logistische Regression verwendet, um das 1:2-Matching zu berücksichtigen. Da mit einer geringen Fallzahl zu rechnen war, hätte eine Prüfung der Signifikanz mithilfe des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests nahegelegen. Da jedoch dieser Test dem 1:2-Matching nicht gerecht geworden wäre und möglicherweise einen Selection-Bias zur Folge gehabt und somit zu einer Überschätzung der Odds Ratio geführt hätte, wurde nach Rücksprache mit dem Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der LMU München die Signifikanz mittels konditionaler logistischer Regression berechnet. Diese wurde im Programm SPSS mithilfe Cox-Survival-Analyse sowie einer additiven Gruppenvariablen erzeugt (66, 67). Aufgrund der geringen Fallzahl wurde versucht, Tendenzen anzugeben. Aufgrund des Studiendesigns wurde anstelle eines Relativen Risikos mit der Odds Ratio gearbeitet, welche im Folgenden auch angegeben wird, um eine Einschätzung der Variablen erlauben, bei denen eine Angabe der Signifikanz nicht möglich war. Die graphische Auswertung erfolgte mithilfe von SPSS, Word und PowerPoint. Als nichtparametrische Tests wurden zum Vergleich der TNXB-Messung der beiden nicht-normalverteilten Gruppen die Mediane und der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verwendet.

3.7 Teil 2: Weiterführende Untersuchung der Patienten mit AGS

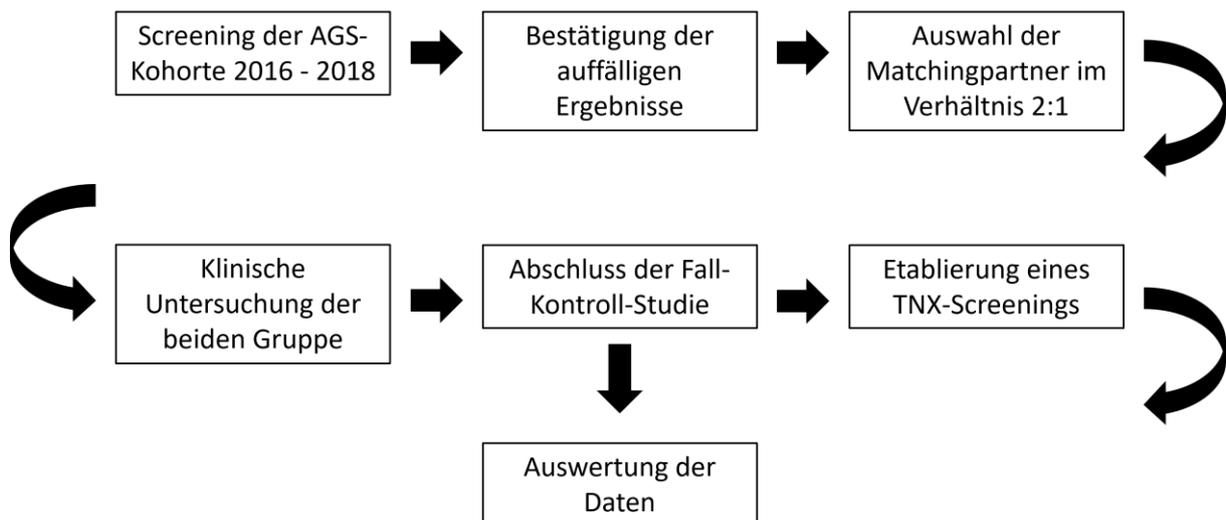


Abbildung 5: Studienablauf

Im Anschluss an die Fall-Kontroll-Studie wurde ein Standardverfahren zur Detektion von CAH-X Patienten innerhalb der AGS-Kohorte etabliert. Hierfür wurde ein Screening auf

Überbeweglichkeit und das mutierte TNXB-Gen in die Routineuntersuchung der Patienten aufgenommen. Es wird seither bei allen Patienten mit AGS durchgeführt, welche sich im Rahmen einer Routinekontrolle in der Endokrinologischen Ambulanz vorstellen. Der klinische Teil des Verfahrens beinhaltet das Ausfüllen des Fragebogens in unveränderter Ausführung (s. 3.4.1; Anhang 1).

Das Protokoll der körperlichen Untersuchung wurde angepasst und für eine einfachere Praxisanwendung verkürzt. Für die körperliche Untersuchung wurde der Beighton-Score ausgewählt, um damit eine kurze und prägnante Aussage zu einer möglichen Hypermobilität der Patienten treffen zu können. Es wurden Romberg-Test und Finger-Nose-Test im Rahmen einer kurzen orientierenden neurologischen Untersuchung durchgeführt. Die Messung der Armkraft erfolgte mithilfe der subjektiven MRC-Skala der Oberarm- und Schultermuskulatur sowie des Dynamometers. Eine Vollblutprobe wurde auf das Vorliegen eines mutierten TNXB-Gens gescreent (Vorgehen wie oben beschrieben) und, soweit logistisch möglich, wurde bei allen Patienten ein Muskelultraschall durchgeführt.

Bei Vorliegen eines mutierten TNXB-Screenings wurde eine MLPA zur Bestätigung des Vorliegens der Mutation durchgeführt.

Es wurden genau diese Untersuchungen im Vergleich zu den anderen im Rahmen der Studie erhobenen Daten ausgewählt, da sich gezeigt hatte, dass hier eine Durchführung im klinischen Alltag unkompliziert möglich ist. Zudem hatten sie sich als am spezifischsten für das Vorliegen eines auffälligen TNXB-Gens im Screening erwiesen.

4. Ergebnisse

4.1 Screening-Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie

Die initiale genmolekulare Untersuchung der drei zufällig ausgewählten Patienten mit AGS ohne Deletion im CYP21A2-Gen („Negativkontrollen“), bei denen eine PCR auf die Vollständigkeit des TNXB-Gens durchgeführt wurde, erbrachten positive Ergebnisse in der Gelelektrophorese mit dem TNXB-Reverse-Primer des TNXB-Gens, alle Gele waren unauffällig für die TNXA/TNXB Chimäre.

Die anschließende Screening-PCR, welche bei insgesamt 81 Patienten mit klassischem AGS durchgeführt wurde, die sich im Lauf der folgenden zwei Jahre in der Ambulanz vorstellten, zeigte im ersten Durchgang bei neun Patienten Auffälligkeiten. Bei acht von ihnen zeigte sich sowohl ein positiver Befund für TNXB-Sense- und -Antisense-Primer (entspricht der Nomenklatur „Forward- und Reverse-Primer“) als Verweis auf ein intaktes TNXB-Gen. Sie waren ebenfalls positiv in der Auswertung der Amplifikation mit dem TNXA-Antisense-Primern, was als Indiz für das Vorhandensein eines homologen Pseudogens gewertet wurde. Bei einer Patientin zeigte die Auswertung der Multiplex-PCR für den TNXB-Sense- und -Antisense-Primer, welche auf die Intaktheit des Gens zumindest eines Allels hinweist, einen negativen Befund. Die Auswertung der Gele für die TNXB-Sense- und XA-Antisense-Primer war positiv. Bei dieser Patientin war schon im Vorfeld die Diagnose eines Ehlers-Danlos-Syndroms gestellt und genetisch nachgewiesen worden. Unsere Untersuchung bestätigte das Vorliegen von Mutationen beider Allele.

Die Bestätigungs-PCR ergab einen auffälligen Befund bei noch fünf Patienten, inklusive der Patientin mit dem schon bekannten Ehlers-Danlos-Syndrom. Bei ihnen allen war, teils schon Jahre zuvor, aufgrund ihres Adrenogenitalen Syndroms eine genetische Untersuchung des CYP21A2-Gens erfolgt. Hier hatte sich bei zwei Patienten, welche Verwandte 1. Grades sind, eine homozygote Konversion gezeigt. Bei zwei anderen Patienten war eine Deletion nachgewiesen worden, bei dem letzten Patienten zeigte sich eine homozygote I172N-Punktmutation, welche in diesem Fall mit einem „salt-wasting type“ des Adrenogenitalen Syndroms assoziiert war (68). Im weiteren Verlauf wurde auch bei dieser Patientin eine Deletion nachgewiesen.

4.2 Auswahl der Studienteilnehmer

Im Vorfeld wurde mit einer Fallzahl von ca. 80 – 150 Patienten gerechnet, welche für ein Screening rekrutiert werden könnten. Da laut Studien mit einer CAH-X CH1 Häufigkeit von 5

bis 10 Prozent zu rechnen war, bedeutete dies eine Fallzahl von ca. 4 bis 15 Patienten mit diesem Syndrom und ca. 8 bis 30 Probanden (gematchte Patienten mit AGS, jedoch negativ für das CAH-X Syndrom) für die klinische Untersuchung.

Insgesamt umfasste die Gruppe der Studienteilnehmer, die im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie klinisch untersucht wurden, letztendlich 15 Patienten. Davon wiesen 5 eine auffällige Identifikations-PCR auf (drei Frauen und zwei Männer), die anderen 10 zeigten einen unauffälligen genetischen Befund. Das Alter der Patienten (CAH-X und gematchte Patienten mit AGS ohne CAH-X Syndrom) reichte von 24 bis 54 Jahre, es befanden sich 4 Männer und 9 Frauen darunter. Die Bandbreite des BMI umfasste 17,6 bis 41 kg/m². Eine Glukokortikoidtherapie erfolgte zum Untersuchungszeitpunkt bei allen teilnehmenden Patienten.

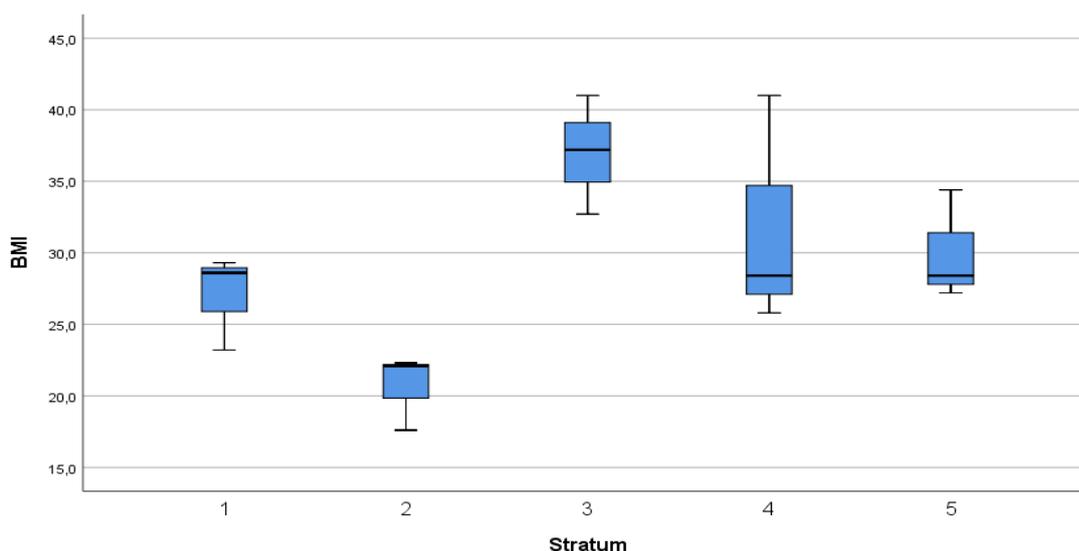


Abbildung 6: Verteilung der Patienten nach BMI

Das Stratum 1-5 bildet jeweils eine Kleingruppe ab, bestehend aus einem Patienten mit CAH-X Syndrom und zwei gematchten Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom und ohne TNXA/TNXB Chimäre in der molekulargenetischen Untersuchung; das Matching erfolgte nach Alter und BMI. In der Boxplot-Analyse hier abgebildet die Streuung des BMIs innerhalb der Matchinggruppen zur Veranschaulichung der Präzision des Matchings.

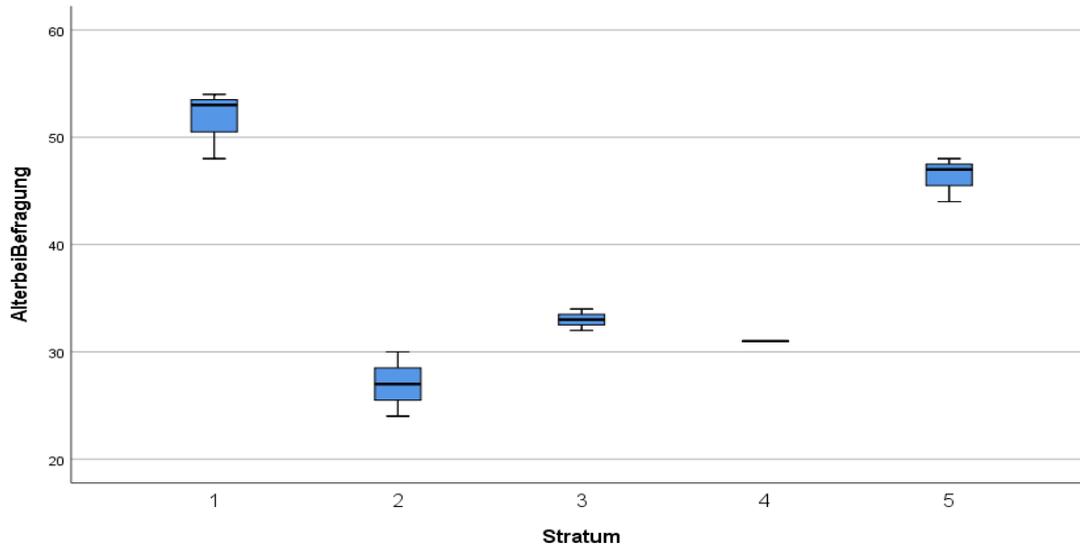


Abbildung 7: Verteilung der Patienten nach Alter

Streuung des Alters am Untersuchungstag innerhalb der Matchinggruppen mittels Boxplot-Analyse veranschaulicht. Stratum 1-5 jeweils eine Kleingruppe, bestehend aus einem Patienten mit CAH-X Syndrom und zwei gematchten Patienten mit AGS und ohne CAH-X Syndrom; das Matching erfolgte nach Alter und BMI.

4.3 Auswertung der Fragebögen

Im neurologischen Teil des Fragebogens gaben alle Patienten an, keine akuten Schmerzen zu haben. Der Short McGill Pain Questionnaire wurde von allen Patienten mit 0 Punkten ausgefüllt. Jedoch gaben alle Patienten mit Mutation sowie 40 % der Patienten in der Kontrollgruppe an, häufig an Rückenschmerzen zu leiden.

Ebenso gaben alle Patienten der Fallgruppe an, dass bei ihnen Fußdeformitäten (Knick-, Senk- oder Spreizfuß) bekannt seien, wohingegen in der Kontrollgruppe wiederum nur 40 % betroffen waren. In der Patientengruppe wurde in 80 % der Fälle die Fußdeformität als „Plattfuß“ näher spezifiziert, in einem Fall wurde keine nähere Angabe gemacht. Die Signifikanz des Unterschieds zwischen beiden Gruppen konnte nicht ermittelt werden, da in der Kontrollgruppe keine Ereignisse auftraten. Die Odds Ratio zeigte einen Wert größer 1. Gastrointestinale Beschwerden in Form von häufiger Verstopfung sowie Verstopfung gemischt mit häufigen Durchfällen wurden von einem Patienten der Kontrollgruppe (20 %) sowie von zwei Patienten der Kontrollgruppe angegeben (ebenfalls 20 %). Bei der Häufigkeit des Auftretens von Migräne bestand ebenfalls kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen, auch hier war die Kontrollgruppe mit zwei Patienten genauso oft betroffen wie die Fallgruppe mit einem Teilnehmer (jeweils 20 %).

Hernien waren bei noch keinem Teilnehmer der Studie aufgetreten. Ebenso wenig war ein vesikorenalereflux bei einem der Teilnehmer oder einem Familienangehörigen bekannt.

Sich leicht zu verletzen, gaben zwei Patienten der Kontrollgruppe sowie ein Patient der Fallgruppe an. Eine überdehnbare Haut hatte nach eigenen Angaben lediglich der Patient mit manifestem Ehlers-Danlos-Syndrom, auch nur bei diesem Patienten ließ sich eine überdehnbare Haut klinisch nachweisen (Länge einer Hautfalte des Armes gemessen mehr als 4 cm).

Sportliche Aktivität von mehr als zwei Stunden pro Woche gab ein Patient der Fallgruppe (20 %) sowie sechs Patienten der Kontrollgruppe (60 %) an. Damit zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,389$), die Odds Ratio lag jedoch deutlich unter 1 ($OR = 0,014$).

4.4 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

4.4.1 Ergebnisse der neurologischen und muskuloskelettalen Untersuchung

Die Reflexe waren bei allen untersuchten Patienten auslösbar, das Reflexniveau befand sich bei allen innerhalb eines Bereiches von schwach bis lebhaft, jedoch ohne auffällige Unterschiede zwischen den Gruppen. Ebenso wenig zeigte sich ein pathologisch gesteigertes Reflexniveau. Es bestanden keine Seitendifferenzen oder Verbreiterungen der Reflexzonen. Pathologische Reflexe zeigten sich auch nicht (Babinski negativ).

Der Rydell-und-Seiffer-Test (Synonym: Stimmgabeltest, Vibrationsgabeltest), gemessen an Innenknöchel sowie Handgelenk, zeigte für alle Patienten Werte im Normbereich ($> 6/8$) mit Ausnahme der Patientin, bei der das Ehlers-Danlos-Syndrom bekannt war. Hier erbrachte die Messung an den unteren Extremitäten einen Wert von 5 bzw. 5,5/8. Es zeigte sich dennoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,11$).

Weitere neurologische Tests wie der Finger-Nose-Test, Romberg-Test, Tandem-Gang, der 30-second Chair Stand Test, sowie der Heel-to-knee-to-toe-test zeigten bei allen Patienten unauffällige Ergebnisse. Die Messung der Schmerz-Sensitivität mittels Algometer erbrachte bei wiederum fehlender Signifikanz die Tendenz, dass die Patienten mit TNXB-Mutation an allen vier gemessenen Punkten etwas schmerzempfindlicher waren (OR jeweils < 1).

Für die Auswertung der Kraft der Bizepsmuskulatur mittels Dynamometer wurde der Median der drei Messungen verwendet. Von den 15 untersuchten Patienten waren 14 Rechtshänder. Ein 1987 geborener Patient musste als Kind umlernen und ist aus diesem Grund umgelernter Linkshänder, hier wurde dennoch der rechte Arm für die Auswertung verwendet, da mit diesem ein höherer Wert erzielt wurde. Es zeigte sich für den jeweils dominanten Arm kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,167$). Tendenziell schien die Kontrollgruppe mehr Kraft aufbringen zu können als die betroffenen Patienten ($OR > 1$).

4.4.2 Ergebnisse des Beighton- und Brighton-Scores

Der Beighton-Score, welcher regulär bei der Untersuchung von Ehlers-Danlos-Patienten erhoben wird und Gelenküberbeweglichkeit untersucht, zeigte bei drei der fünf betroffenen Patienten ein positives Ergebnis. Eine Patientin mit bekanntem Ehlers-Danlos-Syndrom erzielte einen Wert von 7 Punkten (Test positiv ab 4 Punkten). Zwei weitere Patienten erzielten Werte von 5 bzw. 8 Punkten bei maximal 9 möglichen Punkten.

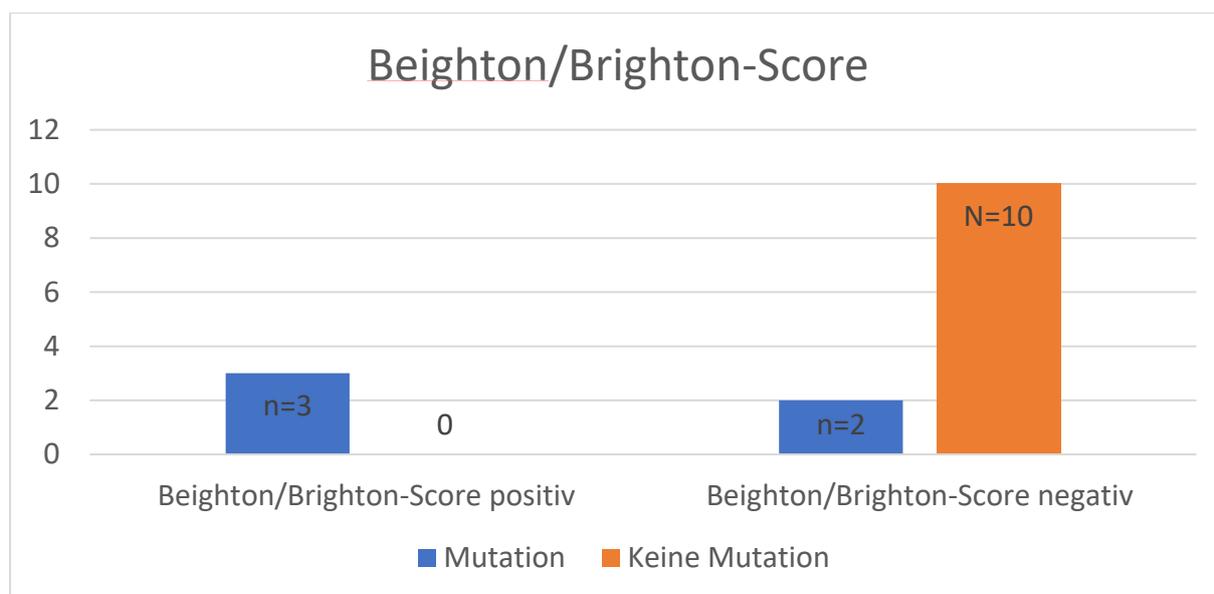


Abbildung 8: Graphische Darstellung eines positiven (pathologischen) Hypermobilitäts-Scores

Auftreten eines auffälligen Wertes bei 60 % aller Patienten mit CAH-X Syndrom (n), kein Auftreten eines pathologischen Wertes in der Kontrollgruppe (N)

Bei allen Patienten mit positivem Beighton-Score war auch der Brighton-Score positiv. Der Beighton-Score stellt eines der Hauptkriterien für einen auffälligen Brighton-Score dar. Insgesamt drei von fünf betroffenen Patienten hatten somit dort ein auffälliges Ergebnis, während sich bei keinem Patienten der Kontrollgruppe ein positiver Wert zeigte. Eine Signifikanz konnte aufgrund fehlender positiver Werte in der Kontrollgruppe nicht berechnet werden. Die Odds Ratio lag deutlich über 1.

4.4.3 Ergebnisse des FI-2-Upper-Extremity-Tests und des QMFT

Es zeigte sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Tendenziell hielten die Patienten mit auffälliger PCR die Übungen weniger lang durch, jedoch schienen diese Patienten die Bewegungen auch subjektiv weniger anstrengend zu finden.

Alle Patienten konnten die Bewegungen des QMFT ohne Probleme durchführen. Kleine Unsicherheiten, etwa beim Einbeinstand, waren vernachlässigbar.

4.4.4 Ergebnisse der BIA-Messung

Es wurde eine genaue Analyse der Körperzusammensetzung durchgeführt. Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Da die beiden Gruppen nach BMI gematcht wurden, zeigten sich hier ähnliche Werte (Mittelwert 31,4 kg/m² (Fallgruppe) vs. 28,2 kg/m² bei den Kontrollen). Die geringe Abweichung erklärte sich dadurch, dass aufgrund eines sehr hohen BMIs für zwei Patienten keine idealen Matchingpartner gefunden werden konnten. Patienten der Kontrollgruppe waren tendenziell etwas kleiner als Patienten mit CAH-X Syndrom (165,2 cm vs. 162,9 cm). Patienten mit CAH-X Syndrom wiesen einen erhöhten Körperfettanteil sowie erhöhte absolute Körperfettwerte, Magermasse sowie einen erhöhten ECM/BCM-Index auf. Der Zellanteil stellte sich niedriger dar. Zwischen den beiden Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 2: Auswertung der BIA-Messung

Gegenüberstellung der gemessenen Parameter in Fall- und Kontrollgruppe sowie statistische Signifikanz

	Fallgruppe n=5	Kontrollgruppe n=10	Signifikanz
Gewicht [kg]	87,20 +/- 34,11	74,90 +/- 12,74	p=0,216
Größe [cm]	165,20 +/- 7,01	162,90 +/- 7,46	p=0,435
BMI [kg/m ²]	31,44 +/- 10,62	28,20 +/- 4,49	p=0,266
Körperfettanteil [%]	36,88 +/- 10,26	30,16 +/- 8,85	p=0,257
Absolute Fettmasse [kg]	33,98 +/- 19,75	23,10 +/- 9,50	p=0,339
Körperwasser [l]	38,96 +/- 12,66	37,92 +/- 5,93	p=0,710
Magermasse [kg]	53,22 +/- 17,28	51,80 +/- 8,09	p=0,710
ECM	25,12 +/- 7,10	23,44 +/- 3,36	p=0,346
BCM	28,06 +/- 10,25	28,34 +/- 5,15	p=0,902
ECM/BCM	0,922 +/- 0,11	0,84 +/- 0,09	p=0,106
Zellanteil [%]	52,14 +/- 2,94	54,59 +/- 2,66	p=0,110

4.5 Ergebnisse der Tenascin X-Messung im Serum

Es wurde eine Messung des Tenascin X-Gehaltes im Blut der Patienten durchgeführt. Studien hatten zuvor ergeben, dass Biopsien der Haut bei betroffenen Patienten einen Mangel an Tenascin X zeigten (3). Es wurden insgesamt 34 Patientenproben ausgewertet, 5 Proben der Patienten mit molekulargenetischer Veränderung im TNXB-Gen sowie 29 Patientenproben, bei denen eine TNXA/TNXB Chimäre nicht nachgewiesen werden konnte. Studien hatten eine durchschnittliche Tenascin X-Konzentration von 378 ng/ml (Spannweite 269-657 ng/ml) in der Normalbevölkerung nachgewiesen (38). In unserer Messung zeigten sich erheblich niedrigere Durchschnittswerte für alle Patienten mit AGS (Median 147,2 ng/ml, Spannweite 56,70 – 366,40 ng/ml, durchschnittlicher Wert 171,6 ng/ml). Die high- bzw low-controls in unserer Messung wurden nach Herstellerangaben mit 64,7 bzw. 520,4 ng/ml angegeben.

Tabelle 3: Ergebnisse der Tenascin X-Messung im Serum, nach Größe absteigend.

Orange markiert: Patienten mit positiver Screening-PCR.

Blau markiert: Patienten mit positiver Screening-PCR und zusätzlich positivem Beighton-Score

Messergebnis in ng/ml		
	184,5	134
366,4	183,5	133,3
345,9	176,1	119,6
305,3	175,9	119,4
284,9	162,6	118,9
243,6	150,7	114,2
223,7	144,5	114
217,9	141,4	97,2
207,2	140,6	97
205,7	140,1	65,2
199,9	136,2	56,7
194,1	134,9	

Innerhalb der Fallgruppe zeigten sich keine erniedrigten Werte der betroffenen Patienten. Tatsächlich wiesen diese sogar einen höheren Durchschnittswert im Vergleich zur Kontrollgruppe auf (185,56 vs. 169,22 ng/ml), jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant. Aufgrund der Ergebnisse wurde davon abgesehen, den Tenascin X-Spiegel der verbleibenden Proben zu messen. Insgesamt zeigte sich jedoch bei allen Patienten mit AGS ein stark erniedrigter Tenascin X-Serumspiegel im Vergleich zu den Werten der Allgemeinbevölkerung, die vom Hersteller des Kits angegeben waren (38).

4.7 Ergebnis der echokardiologischen Untersuchung

Bei den fünf Patienten, bei denen sich eine Mutation des TNXB-Gens gezeigt hatte, wurde zusätzlich eine echokardiologische Untersuchung durchgeführt, um mögliche kardiovaskuläre Veränderungen nachzuweisen. Die Untersuchung erfolgte in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des LMU Klinikums München. Bei einer Patientin war schon im Vorfeld ein pathologischer Befund bekannt. Sie war mit einem Truncus arteriosus communis geboren worden, welcher im Alter von 6 Monaten korrigiert worden war. Die echokardiologische Untersuchung zeigte den Zustand nach Operation mit einer exzentrischen Aorten- sowie Mitralinsuffizienz. Die Pumpfunktion stellte sich regelrecht dar. Bei zwei Patienten zeigte sich ein durchgehend unauffälliger, altersentsprechender Normalbefund bei eingeschränkter Schallbarkeit aufgrund Adipositas permagna. Bei einem Patienten zeigte sich eine geringgradige Mitralinsuffizienz, welche nicht behandlungsbedürftig war, eine Kontrolle in zwei bis drei Jahren wurde empfohlen. Bei einer Patientin zeigte sich eine nicht-behandlungsbedürftige Relaxationsstörung. Weitere pathologische Befunde wurden nicht erhoben, insbesondere zeigten sich keine Aortenaneurysmata.

4.8 Ergebnis des Muskelultraschalls

Der Muskelultraschall wurde bei den fünf betroffenen Patienten durchgeführt sowie bei fünf Patienten der Kontrollgruppe im Sinne eines 1:1-Matchings. Die Auswertung nach der Heckmatt-Skala zeigte auffällige Befunde (Abstufung größer als zwei, s.o.) bei drei der fünf betroffenen Patienten. Bei zwei der fünf Patienten lag eine erhöhte Echogenität als Zeichen einer fettgewebigen Umbaus vor, bei einem Patienten zeigte sich eine Störung der Muskelstruktur. Bei Patienten mit einem positiven Beighton-Score zeigte sich in 67 % der Fälle auch ein auffälliger Muskelultraschall. Kein Patient der Kontrollgruppe zeigte Auffälligkeiten.

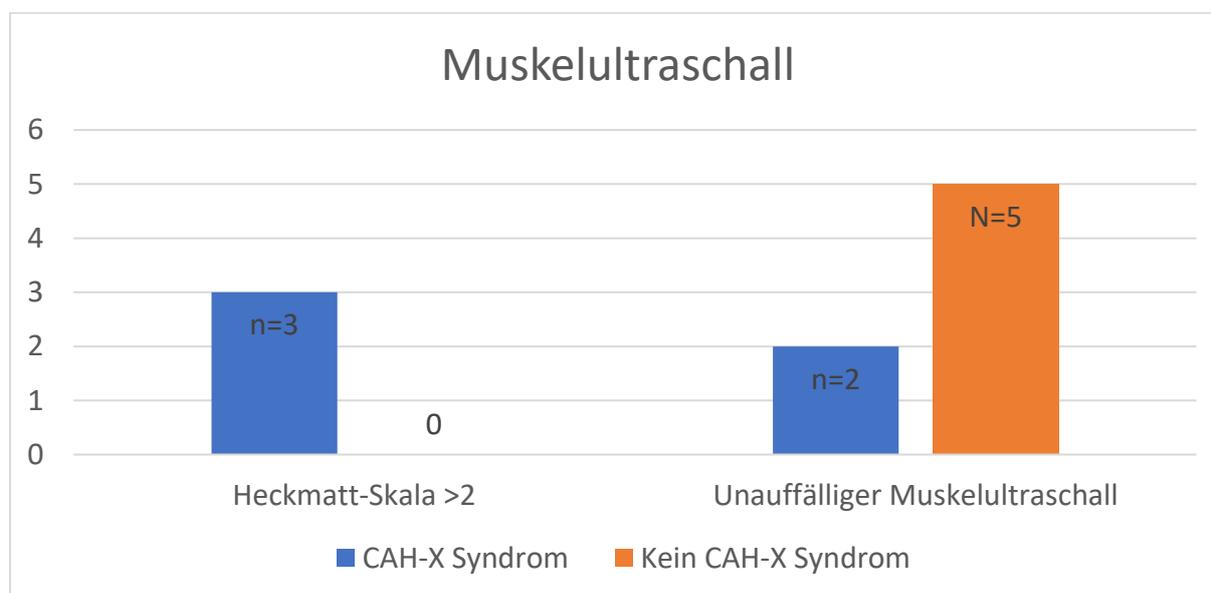


Abbildung 9: Ergebnis des Muskelultraschalls, graphisch dargestellt
In der Kontrollgruppe zeigte sich in allen Fällen ein unauffälliger Muskelultraschall (N=5), bei den Patienten mit CAH-X Syndrom hatten n=3 ein auffälliges Ergebnis

4.9 Tabellarische Übersicht aller erhobenen Werte

Tabelle 4: Gesammelte Auswertungsergebnisse aller durchgeführten Untersuchungen

In der Übersicht zeigt sich die Signifikanz aller Variablen, berechnet mittels SPSS. Eine Odds Ratio >1 zeigt eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven Ereignis von einem CAH-X Syndrom betroffen zu sein, Bei einem Wert <1 liegt folglich eine verringerte Wahrscheinlichkeit vor. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten beider Gruppen läge bei einem p-Wert <0,05 vor. Dies wurde aufgrund geringer Fallzahl nicht erzielt. Die Signifikanz einiger Variablen konnte nicht berechnet werden, da aufgrund fehlender Ereignisse in der Kontrollgruppe keine Konvergenz der Koeffizienten vorlag.

Untersuchung	Odds Ratio	95 % CI	p-Wert
Größe	1,103	0,862; 1,412	0,435
Gewicht	1,068	0,962; 1,184	0,216
Raucher	0,026	0,000; 601,023	0,477
Sport > 2h pro Woche	0,014	0,000; 224,621	0,389
Hernien familiär	0,011	0,000; 1587,452	0,459
Luxationen	2,331	0,340; 15,998	0,389
Beighton Wert	2,682	0,466; 15,421	0,269
Migräne	1,000	0,091; 11,028	1,000

Tabelle 4: Auswertungsergebnisse aller durchgeführten Untersuchungen (Forts.)

Gastrointestinale Beschwerden	2,219	0,381; 12,928	0,375
Rasche Verletzungen	1,000	0,091; 11,028	1,000
Striae	1,686	0,135; 21,129	0,686
Unterhautfettgewebe	0,419	0,110; 1,593	0,202
Quick Motor Function Test (QMFT) - Punktzahl	0,319	0,043; 2,381	0,265
Dynamometer dominante Extremität	0,776	0,542; 1,111	0,167
Dynamometer nicht-dominante Extremität	0,825	0,547; 1,245	0,360
Algometer Tibia	0,828	0,365; 1,876	0,651
Algometer Quadriceps	0,855	0,160; 4,562	0,854
Algometer Deltoid	0,455	0,107; 1,927	0,285
Algometer Brachioradial	0,814	0,211; 3,141	0,765
Körperfettanteil	1,971	0,610; 6,369	0,257
Fett_absolut	1,670	0,507; 5,502	0,399
Körperwasser	1,040	0,845; 1,280	0,710
Magermasse	1,029	0,884; 1,199	0,710
30-second-chair	0,920	0,776; 1,091	0,338
Vibrationssinn	0,363	0,106; 1,243	0,106
Body-Mass-Index	1,153	0,897; 1,483	0,266
Extrazelluläre Masse (ECM)	1,182	0,835; 1,671	0,346
Körperzellmasse (BCM)	0,984	0,759; 1,275	0,902
%-Zellanteil	0,556	0,271; 1,141	0,110
Schulterflexion re.	0,953	0,870; 1,043	0,293
Subjektive Anstrengung ↑	0,837	0,563; 1,244	0,379
Schulterflexion li.	0,970	0,912; 1,032	0,335
Subjektive Anstrengung ↑	0,850	0,550; 1,313	0,463
Schulterabduktion re.	0,978	0,912; 1,049	0,533
Subjektive Anstrengung ↑	1,032	0,764; 1,394	0,838
Schulterabduktion li.	0,887	0,606; 1,297	0,535
Subjektive Anstrengung ↑	0,976	0,670; 1,423	0,899
Kopfheben	0,967	0,895; 1,044	0,387
Subjektive Anstrengung ↑	0,939	0,603; 1,461	0,780
Hüftflexion re.	0,948	0,879; 1,024	0,175
Subjektive Anstrengung ↑	0,972	0,647; 1,460	0,891
Hüftflexion li.	0,869	0,700; 1,080	0,205
Subjektive Anstrengung ↑	1,094	0,723; 1,656	0,671
Stufentest re.	0,940	0,853; 1,037	0,218
Subjektive Anstrengung ↑	1,464	0,817; 2,623	0,200
Stufentest li.	0,855	0,621; 1,177	0,336
Subjektive Anstrengung ↑	1,147	0,763; 1,724	0,509
Fersenheben	0,936	0,842; 1,041	0,224
Subjektive Anstrengung ↑	0,850	0,576; 1,254	0,413
Zehenheben	0,977	0,934; 1,022	0,316
Subjektive Anstrengung ↑	0,836	0,549; 1,272	0,402

4.10 Teil 2: Klinische Untersuchung der gesamten AGS-Kohorte

Nach Auswertung der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie mit deutlichen Auffälligkeiten in der Gruppe der Patienten mit CAH-X Syndrom gegenüber den gematchten Kontrollen wurde bei allen Patienten mit AGS unserer Kohorte eine klinische sowie genetische Untersuchung auf Auffälligkeiten in Assoziation mit dem CAH-X Syndrom durchgeführt.

Mit Stand 24.08.2022 waren (inklusive der Patienten der Fall-Kontroll-Studie) 76 Patienten klinisch und genetisch untersucht (Stand Dezember 2022) sowie 46 weitere Patienten lediglich genetisch getestet worden. Bei insgesamt 6 von ihnen konnten Auffälligkeiten in der genetischen Untersuchung mit dem Vorliegen einer Deletion im TNXB-Gen nachgewiesen werden, zusätzlich zu den 5 bereits bekannten Fällen wurden ein weiterer CAH-X Fall detektiert. Zusätzlich wurde bei einer weiteren Patientin, welche lediglich genetisch untersucht wurde, die TNXA/TNXB Chimäre nachgewiesen. Als Mutation des CYP21A2-Gens lag in den neu entdeckten Fällen einmal eine hemizygoten c.844G>t (p.val282Leu) Mutation vor, einmal eine homozygote I172N Mutation in Kombination mit einer Deletion.

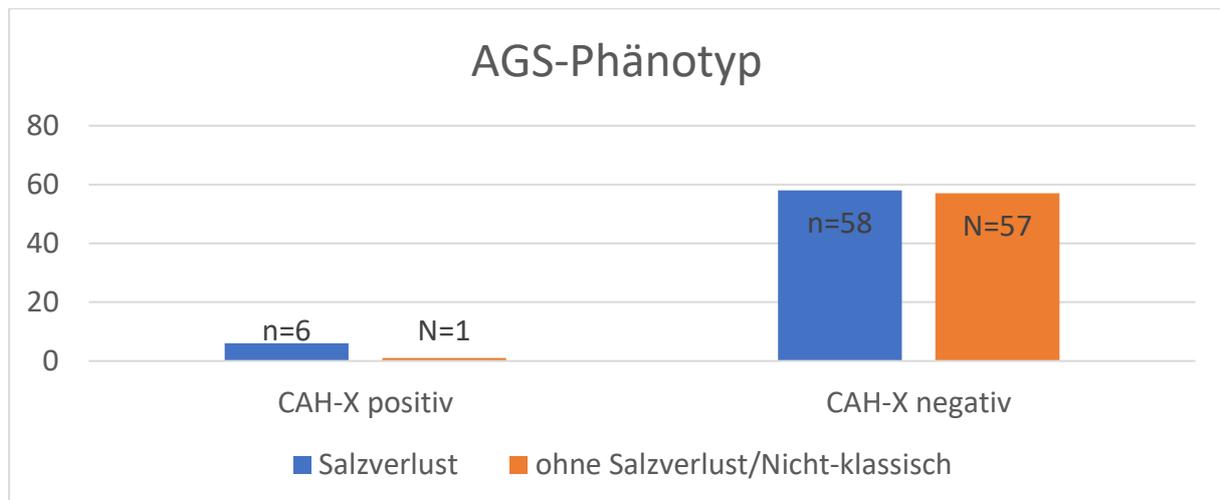


Abbildung 10: Einteilung der Patienten nach AGS-Phänotyp

Bei 11 % (n=8) aller klinisch untersuchten Patienten zeigte sich ein positiver Beighton-Score (ein Punktwert größer 4), davon waren 37,5 % (n=3) von einer TNXB-Chimäre betroffen: eine Patientin wies einen Wert von 8 Punkten auf, bei maximal 9 erreichbaren Punkten. Eine weitere Patientin erzielte 7, ein Patient 5 Punkte. In der Gruppe der CAH-X Patienten lag die Prävalenz damit bei 50 %, bei den nicht vom CAH-X CH1 Syndrom betroffenen Patienten mit AGS bei 7 %. Der Durchschnittswert der erzielten Punkte betrug dabei bei allen Patienten mit einem positiven Beighton-Score bei 5,5, bei allen anderen bei einem Durchschnittswert von 0,5. Betrachtete man die CAH-X Patienten isoliert, so lag bei ihnen der durchschnittliche

Punktwert des Scores bei 3,5 Punkten, während der durchschnittliche Wert der Kontrollgruppe 0,85 Punkte betrug.

Der Muskelultraschall zeigte Auffälligkeiten bei drei Patienten, wobei alle drei ein auffälliges Screeningergebnis hinsichtlich CAH-X Syndrom aufwiesen. Bei Patienten mit genetisch nachgewiesener TNXB-Mutation zeigte sich somit in 50 % der Fälle ein auffälliger Ultraschall. Kein Patient ohne CAH-X Syndrom wies einen Wert größer zwei auf der Heckmatt-Skala auf.

Eine echokardiologische Untersuchung wurde bei den fünf CAH-X Patienten durchgeführt. Bei drei von ihnen zeigten sich Auffälligkeiten, darunter ein bereits bekannter und voroperierter Truncus arteriosus communis, eine geringgradige Mitralinsuffizienz sowie eine nicht behandlungsbedürftige Relaxationsstörung. Es wurde kein Aortenaneurysma festgestellt.

Kardiovaskuläre Erkrankungen wurden von 3 Patienten ohne CAH-X CH1 Syndrom angegeben (4 %). Davon gab ein Patient an, an einem arteriellen Hypertonus zu leiden. Des Weiteren traten ein Schlaganfall bei persistierendem Foramen ovale sowie ein Raynaud-Syndrom auf.

Fußdeformitäten lagen in 36 % (n=25) der Patienten mit AGS sowie von 83 % (n=5) der Patienten mit TNXB-Veränderung vor, eine genauere Spezifizierung wiederum erbrachte in 28 % bzw. 80 % der Fälle die Diagnose Plattfüße.

Mindestens einmal monatlich an Rückenschmerzen litten alle Patienten mit TNXB Mutation sowie 35 von 70 Patienten ohne Mutation (50 %). Gelenkschmerzen in mindestens einem Gelenk monatlich gaben 22 der Patienten mit AGS (31 %) sowie 3 der Patienten mit zusätzlich CAH-X Syndrom (50 %) an.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung nahmen die Patienten zur Therapie ihres AGS durchschnittlich 33,67 mg/d Cortisoläquivalent ein, wobei 8 Patienten hierzu keine Angaben machten. Bei den Patienten mit CAH-X Mutation betrug der Durchschnitt 33,54 mg. Bei fünf der sechs klinisch untersuchten Patienten mit CAH-X Mutation lag ein AGS mit Salzverlust vor (83 %). Dies war bei 61 % (n=43) der Patienten ohne molekulargenetische Veränderung des TNXB-Gens der Fall.

Von Luxationen oder Subluxationen eines Gelenkes betroffen waren 7 % (n=5) der Patienten ohne und einer der sechs Patienten mit CAH-X Syndrom (17 %).

Hernien jedweder Genese (Leisten-, Nabel-, oder Narbenhernien) traten bisher bei 5 Patienten mit AGS (7 %) sowie bei einem Patienten mit zusätzlicher CAH-X Mutation (17 %) auf.

Ein vesikorener Reflux war bei zwei Patienten ohne Chimäre nachgewiesen worden (3 %). In der Gruppe der Patienten mit CAH-X Syndrom war kein Patient betroffen.

Bei keinem Patienten innerhalb beider Gruppen lag eine neurologische Erkrankung vor.

Migräne wurde von zwei Patienten mit CAH-X und 12 Patienten ohne Chimäre angegeben.

Gastrointestinale Beschwerden wurden von 12 Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom und von einem Patienten mit CAH-X Syndrom angegeben. Führende Symptome waren Obstipation sowie das Reizdarmsyndrom, weiterhin wurden Reflux, Diarrhoe und eine Ösophagitis genannt.

Dermatologisch gaben 45 der Patienten mit AGS an, dass Auffälligkeiten vorlägen. Am öftesten genannt wurde das Auftreten von Striae, gefolgt von einer Neigung zur Hämatombildung. In der Gruppe der Patienten mit CAH-X Syndrom gaben vier Patienten an, dass bei ihnen Striae vorlägen. Eine Patientin gab eine Tendenz zu schneller Narbenbildung an.

Eine Muskelschwäche wurde von keinem Patienten mit CAH-X Syndrom beschrieben. Von den Patienten ohne Chimäre gaben 4 Patienten an, subjektiv unter einer Muskelschwäche zu leiden. In drei Fällen wurde keine Beeinträchtigung der Alltagsaktivitäten angegeben sowie regulär kein Hilfsbedarf. In einem Fall lag eine Halbseitenlähmung aufgrund einer Tumorerkrankung als Ursache der Muskelschwäche vor, in einem weiteren Fall eine Spastik einer Körperhälfte. Bei den Patienten, die eine Muskelschwäche angaben, lag der durchschnittlich mittels Dynamometer erzielte Wert bei 22,2 kg bei Ausschluss der gelähmten/spastischen Körperhälfte. Bei allen anderen Patienten betrug der Durchschnitt 35,1 kg. Bei den Patienten mit CAH-X Syndrom lag der Durchschnitt bei 32,9 kg und damit unter dem Durchschnitt der Patienten ohne Deletion (34,8 kg).

Tabelle 5: Übersicht zu den klinischen Daten aller klinisch untersuchter Patienten

Klinische Daten	CAH-X positiv	CAH-X negativ	Gesamt
Salzverlust	5 (83 %)	43 (61 %)	48 (63 %)
Beighton-Score positiv	3 (50 %)	5 (7 %)	8 (11 %)
Heckmatt-Scale >2	3 (50 %)	0	3 (4 %)
Kardiovaskuläre Erkrankung	1 (17 %)	3 (4 %)	4 (5 %)
Fußdeformitäten	5 (83 %)	25 (36 %)	30 (39 %)
Rückenschmerzen	6 (100 %)	35 (50 %)	41 (54 %)
Gelenkschmerzen	3 (50 %)	22 (31 %)	25 (33 %)
Hydrocortison-Äquivalent	Ø 33,54 mg	Ø 33,67 mg	Ø 33,66 mg
Luxationen	1 (17 %)	5 (7 %)	6 (8 %)
Hernien	1 (17 %)	5 (7 %)	6 (8 %)

Tabelle 5: Übersicht zu den klinischen Daten aller klinisch untersuchter Patienten (Forts.)

Body-Mass-Index (BMI) [kg/m ²]	Ø 29,8	Ø 27,3	Ø 27,5
Dermatologisch auffällig	5 (83 %)	45 (64 %)	50 (66 %)
Neurologisch auffällig	0	0	0
Gastrointestinale Beschwerden	1 (17 %)	12 (17 %)	13 (17 %)
Migräne	2 (33 %)	12 (17 %)	14 (18 %)
Dermatometer	Ø 33 kg	Ø 35 kg	Ø 35 kg

4.11 Charakterisierung der Patienten mit CAH-X Syndrom– Übersicht

Bis zum Abschluss der Datenaufnahme wurde zusätzlich zu den Patienten der Fall-Kontroll-Studie bei zwei weiteren Patienten die TNXA/TNXB Chimäre nachgewiesen. Insgesamt fanden sich somit 6 Patienten mit CAH-X Syndrom sowie eine Patientin mit homozygoter Chimäre, welche im Folgenden zur Gruppe der Patienten mit CAH-X gerechnet wird.

Tabelle 6: Übersicht CAH-X Patienten

Patienten 1, 2, 4, 5, 6 waren bereits Teil der Fall-Kontroll-Studie und somit vollständig charakterisiert. Bei Patientin 7 wurde zusätzlich zur klinischen Untersuchung der Muskelultraschall durchgeführt. Patientin Nummer 3 wurde lediglich genetisch charakterisiert, die körperliche Untersuchung konnte bis zum Abschluss der Arbeit nicht durchgeführt werden. Del=Deletion, het=heterozygot, hom=homozygot, conv=Conversion

CAH-X Pat. Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Genetik	I172N/del	del/del	del/del	conv/conv	conv/conv	I172N/del	c.844G>t/del
TNXB-Exon 35	del het	del hom	del het	del het	del het	del het	del het
CYP21A2-Exon 6	del het	del hom	del het	del het	del het	del het	del het
Exon 3	del het	del hom	del het	del hom	del hom	del het	del het
Beighton-Score (Punktzahl)	0	7		8	5	0	0
Score positiv	nein	ja		ja	ja	nein	nein
Herzecho	Truncus arteriosus communis	Relaxationsstörung		Unauffällig	Unauffällig	Mitralinsuffizienz	Unauffällig
Muskelultraschall	Unauffällig	Auffällig		Auffällig	Auffällig	Unauffällig	Unauffällig

5. Diskussion

Die Häufigkeit einer TNXB-Mutation innerhalb der 122 genetisch getesteten Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom in unserer untersuchten Kohorte lag bei 5,7 % und damit innerhalb der erwarteten Größenordnung. Die Einschätzung früherer Studien, welche ein Auftreten des CAH-X CH1 Syndroms bei 5-10 % der Patienten prognostiziert hatten, wurde bei uns so bestätigt (Nachweis bei 7 Patienten einer 122 Personen umfassenden Kohorte) (3). Es zeigte sich auch bei uns, dass das CAH-X Syndrom unter den Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom häufig auftritt und aus diesem Grund genauer beleuchtet werden sollte. Die Fallzahl war mit sechs Patienten mit CAH-X CH1 Syndrom und einem Patienten mit homozygoter Mutation des TNXB-Gens nicht hoch genug, um allgemeingültige Aussagen treffen zu können. Es wurde bei uns lediglich auf das Vorhandensein von CAH-X CH1 gescreent, welches Studien zufolge den größten Anteil an CAH-X Mutationen ausmacht. Aus diesem Grund wurde darauf verzichtet, die Genetik der gesamten Kohorte auf zusätzlich CAH-X CH2 und CAH-X CH3 zu untersuchen. Stattdessen wurden im Vergleich zu den zuvor erfolgten Studien der Schwerpunkt auf eine umfangreichere körperliche Untersuchung gesetzt, welche vor allem Muskeln und Neurologie miteinbezog. Dadurch ließen sich trotz der geringen Fallzahl Auffälligkeiten gegenüber der Kontrollgruppe nachweisen. Die Ergebnisse werden vor diesem Hintergrund im Folgenden diskutiert. Anschließend wurde die Untersuchung auf die gesamte Kohorte der Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom ausgeweitet.

5.1 Verwendete Methoden

Die Aussagen der Studie können aufgrund zu geringer Fallzahlen nicht unverändert auf die Gesamtpopulation von Patienten mit AGS übertragen werden.

Die von uns verwendeten Methoden stellten zu einem Großteil klinische Standarduntersuchungen dar (MRC-Skala, Beighton-Score, diverse neurologische Tests). Die Durchführung ist untersucherabhängig. Da jedoch alle Untersuchungen von den Untersuchern im Vorfeld gemeinsam durchgesprochen und geübt wurden, kann dennoch von einer guten Vergleichbarkeit ausgegangen werden. Auch die Reihenfolge der durchgeführten Untersuchungen wurde nicht verändert, da die Belastbarkeit nicht von externen Faktoren (beispielsweise emotionaler Aufregung nach Durchführung der echokardiologischen Untersuchung oder körperlicher Verausgabung bei Änderung der Reihenfolge der verschiedenen Tests) beeinflusst werden sollte. Lediglich die Blutentnahme erfolgte aus organisatorischen Gründen manchmal vor und manchmal nach der körperlichen Untersuchung.

Eine Veränderung der erhobenen Ergebnisse dadurch ist nicht zu erwarten. Einige Tests, welche die körperliche Leistungsfähigkeit der Patienten testen sollten (z.B. der FI2-Upper-Extremity-Test oder der 30-second Chair Stand Test), sind auf die Mitarbeit der Patienten angewiesen.

Die Echokardiographie wurde von unterschiedlichen Personen ausgeführt, jedoch nach standardisiertem und bewährtem Ablauf der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums München.

Die Auswertung der Fall-Kontroll-Studie erfolgte mittels SPSS anhand von konditionaler logistischer Regression. Probleme traten hierbei auf, da das 1:2-Matching nur mithilfe einer additiven Gruppenvariablen erzeugt werden konnte (67) und für einige Variablen keine Ergebnisse berechnet werden konnten, da die Koeffizienten nicht konvergierten. Eine statistische Aussage bezüglich der Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe war somit nicht möglich, eine prozentuale Gegenüberstellung beider Gruppen ersetzte diese.

5.2 Klinische Symptomatik

Es zeigte sich eine Hypermobilität bei drei der sechs molekulargenetisch bestätigten und untersuchten Fälle von Patienten mit einer TNXA/TNXB Chimäre, ohne dass dabei ein Zusammenhang mit den gemessenen Tenascin X Serum-Spiegel hergestellt werden konnte. Frühere Studien hatten durchschnittlich um 50 % reduzierte Tenascin X-Serumlevel bei Patienten mit einem CAH-X Syndrom im Vergleich zu Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom, jedoch ohne CAH-X Syndrom beschrieben (36, 69). In unserer Studie waren jedoch insbesondere auch die Tenascin X-Werte des Patienten mit dem bekannten Ehlers-Danlos-Syndrom im Vergleich zu den anderen Patienten nicht verändert. Jedoch wies die gesamte Kohorte der Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom im Vergleich zur Gesamtbevölkerung deutlich erniedrigte, durchschnittlich sogar halbierte Werte auf (vgl. Tabelle 3). Dies wurde bereits in einer Studie von Kolli et al. aus dem Jahr 2018 beschrieben (69). Da sowohl diese als auch eine weitere Studie von Miller (36) aus dem Jahr 2019 bereits darauf hindeuten, dass es gehäuft zu erniedrigten Serum-Spiegeln bei Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom kommt, sollten weitere Untersuchungen erfolgen mit dem Ziel, die klinische Bedeutung der Serum-Tenascin-Level im Zusammenhang mit dem Adrenogenitalem Syndrom eingehender zu erforschen. Laut unseren Daten besteht kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Tenascin X-Spiegel und der Überbeweglichkeit, dem Vorhandensein einer TNXA/TNXB-Chimäre oder kardiovaskulären oder neurologischen Symptomen (69). Die klinische Bedeutung des erniedrigten Tenascin X-Spiegels bei Patienten mit AGS sind unklar, es konnte kein Zusammenhang mit einem der anderen Symptome hergestellt werden.

Aufgrund der niedrigen Fallzahl an Patienten konnte bei keiner klinischen Untersuchung ein signifikanter Unterschied zwischen Fall- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Auch der anschließende Vergleich der Patienten mit CAH-X Syndrom mit allen untersuchten Patienten ohne Syndrom erbrachte in keiner der Variablen einen statistisch signifikanten Unterschied. Die Angabe des Risikos erfolgte über die Odds Ratio sowie einer Gegenüberstellung der prozentualen Daten. Die Diskussion der Ergebnisse richtet sich aus diesem Grund nach den Tendenzen, die sich in der klinischen Untersuchung abzeichneten, sowie nach der Beschreibung der Ergebnisse.

Die Auswertung der Fragebögen ließ den Schluss zu, dass chronische Rückenschmerzen sowie Fußdeformitäten in der Gruppe der CAH-X Patienten häufiger auftreten als in der Kontrollgruppe. Alle betroffenen Patienten gaben an, mindestens einmal im Monat an Rückenschmerzen zu leiden, während in der Kontrollgruppe mit 4 Patienten nur 40 % äußerten, häufig Rückenschmerzen zu haben. Auf die komplette Kohorte bezogen gaben 100 % vs. 50 % der Patienten Rückenschmerzen an. Eine durch eine Mutation des TNXB-Gens verursachte Proteinstörung scheint Auswirkungen auf das muskuloskeletale System zu haben, die sich unter anderem in einer erhöhten Inzidenz von Rückenschmerzen sowie Gelenkschmerzen äußern. Chronische Rückenschmerzen als mögliches Symptom des CAH-X Syndroms wurden bisher lediglich bei Merke et al. erwähnt (3), in dieser Studie konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe hergestellt werden ($p=0,09$), zudem wurde in dieser Kategorie nicht zwischen Rückenschmerzen und Schmerzen in ein bis drei Gelenken differenziert.

Eine Überbeweglichkeit zeigte sich bei drei der fünf Patienten mit CAH-X Syndrom der Fallgruppe, wobei lediglich bei der Patientin mit homozygoter Mutation Gelenkluxationen aufgetreten waren. Die mittels Beighton-Scores verifizierte Überbeweglichkeit lag zum Teil deutlich über dem festgelegten Cut-off-Wert von 4 Punkten. In der Kontrollgruppe erreichte kein Patient einen Wert größer zwei. Anhand von Werten, die durch andere Studien aus der Bevölkerung bekannt sind, kann bei durchschnittlich 26,2 % der Allgemeinbevölkerung ein positiver Beighton-Score angenommen werden, wobei Frauen mit knapp 37 % häufiger erhöhte Werte aufweisen. Dies ging aus Untersuchungen von Russek et al. an einem Kollektiv von 267 Collegestudierenden und Doktoranden hervor (70). Dass es hierbei jedoch ethnische Unterschiede geben kann, legt unter anderem eine Studie an 1774 Universitätsstudierenden aus dem Irak nahe, welcher einen positiven Beighton-Score 25,4 % der männlichen und 38,5 % der weiblichen Studierenden dokumentierte (71). Klemp et al. wiederum beschrieben 2002 in ihrer Studie, für die sie 804 Einwohner Neuseelands untersucht hatten (Maori und europäische Neuseeländer) einen positiven Beighton-Score bei lediglich 4 % der europäischen

Neuseeländer, wobei auch hier die männliche Bevölkerung im Durchschnitt einen niedrigeren Beighton-Score aufwies als der weibliche Anteil (1,9 % vs. 5,6 %) (72). Die Anzahl an Menschen mit einer generellen Überbeweglichkeit der Gelenke (generalized joint hypermobility, GHJ) wurde in einer Review aus dem Jahr 2007 mit 5-15 % angegeben (73). In unserer Untersuchung zeigt sich insgesamt betrachtet in der Gruppe der betroffenen Patienten ein häufigeres Auftreten eines positiven Beighton-Scores (50 %) gegenüber der nicht-betroffenen Patienten (7 %) sowie allen in Studien für die Allgemeinbevölkerung beschriebenen Werten (max. 37 %). Der Beighton-Score erwies sich in der klinischen Umsetzung als leicht anwendbar und schnell durchführbar. Zudem zeigte er sich als ein sehr sensitives Instrument mit einer hohen negativ prädiktiven Aussagekraft (die Wahrscheinlichkeit, trotz negativen Beighton-Scores von einer CAH-X Mutation betroffen zu sein, betrug 4 %).

Fußdeformitäten wurden bei 83% der Patienten mit AGS festgestellt. Ein häufiges Auftreten von Plattfüßen war bereits von Merke et al. bei n=3 (23 %) Patienten mit CAH-X Syndrom beschrieben worden und konnte somit von uns bestätigt werden (3, 36). In der Vergleichsgruppe gaben nur 36 % der Patienten das Vorliegen einer Fußdeformität an. Dies ist in Einklang zu bringen mit einer Bindegewebsschwäche aufgrund einer TNXB-Mutation. Es konnte jedoch keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der TNX-Serummessung erkannt werden.

Der Patient mit AGS und bekanntem Ehlers-Danlos-Syndrom gab an, Luxationen schon an diversen Gelenken erlitten zu haben, ohne dass ein adäquates Trauma vorlag. Diese Angaben passen zu dem klinischen Vollbild einer homozygoten TNXB-Mutation. Innerhalb der Kontrollgruppe zeigte sich bei keinem Patienten eine Überbeweglichkeit, weshalb dieses Symptom als besonders spezifisch für das Vorliegen eines CAH-X Syndroms gewertet werden kann.

Dermatologisch traten sowohl bei Patienten mit als auch bei Patienten ohne CAH-X Syndrom Auffälligkeiten auf, die sich in unserer Untersuchung meist als Striae präsentierten. Aufgrund der geringen Fallzahlen können nur eingeschränkt Aussagen über ein häufigeres Auftreten in der einen oder anderen Gruppe getroffen werden. In früheren Studien wurden ebenfalls dermatologische Besonderheiten beschrieben, hier gaben Patienten insbesondere an, sich leicht zu verletzen: in einer Übersichtsarbeit von Miller et al. mit n=29 Patienten gaben 14 davon an, sich schnell blaue Flecke zu-zuziehen. Weniger häufig kam es auch zu einer überschießenden Narbenbildung (n=7) und dem Vorliegen überdehnbarer Haut (n=9). Vergleichsweise selten wurde eine schlechte Wundheilung angegeben (n=2). Das Auftreten von Striae wurde in dieser

Studie nicht erwähnt (36). Auch in der Beschreibung einer italienischen Kohorte wurde von Paragliola et al. auf Hautauffälligkeiten hingewiesen, von einer Gesamtzahl von 21 Patienten wiesen 11 pathologische Veränderungen auf, auch hier dominierten eine überdehnbare Haut (n=5) und die leichte Hämatombildung (n=5), Striae wurden hier nur bei zwei Patienten nachgewiesen (46). In künftigen Studien sollte vermehrt der Leidensdruck der Patienten eruiert werden, dies wurde in bisher keiner Studie abgebildet.

Die Gruppe der Patienten mit TNXB-Veränderung zeigte sich tendenziell etwas schmerzempfindlicher als die Kontrollgruppe. So wurden von den betroffenen Patienten bei der Messung der Schmerzsensitivität mittels Algometer eine durchschnittlich niedrigere Schmerzschwelle angegeben als von den Patienten der Kontrollgruppe. Die Ursache hierfür ist unklar, möglicherweise können häufige Rücken- und Gelenkschmerzen zu einer Sensibilisierung gegenüber Schmerzen im Allgemeinen geführt haben. Um einer Chronifizierung von Schmerzen vorzubeugen, sollte diskutiert werden, Patienten mit Rückenschmerzen präventiv Übungen zur Schmerzlinderung zu verordnen. Chronische Schmerzen wurden auch in anderen Studien beschrieben, jedoch meist bezogen auf chronische Gelenkschmerzen. So wurden 2022 von Paragliola et al. in 14 % der Patienten mit CAH-X Syndrom und 2018 von Miller et al. in 38 % der Fälle chronische Arthralgie beschrieben (36, 46). Eine Messung der Schmerzempfindlichkeit wurde bisher noch nicht durchgeführt und auch in Bezug auf Rückenschmerzen wurde deren Auftreten lediglich bei Merke et al. 2013 erwähnt, jedoch ohne konkrete Zahlenangabe (3).

Des Weiteren zeigte sich im FI-2-Upper-Extremity Test, dass die Patienten die Bewegungen nicht so häufig wiederholen konnten wie die Kontrollgruppe und somit tendenziell weniger leistungsfähig erschienen, die Übungen jedoch subjektiv auch als nicht so anstrengend empfanden. Die Aussagekraft dieser Ergebnisse ist aufgrund der vom Individuum abhängigen Mitarbeit bei diesem Test eingeschränkt. Da trotz Bemühung um ein optimales Matching der durchschnittliche BMI der Patienten mit CAH-X Syndrom höher war als der BMI der Kontrollen (vgl. Abbildung 6), liegen die Ergebnisse möglicherweise in der Adipositas der Patienten bzw. dem niedrigeren Fitnesslevel begründet. Darüber, ob ein kausaler Zusammenhang zwischen Adipositas und dem Vorliegen eines CAH-X Syndroms besteht, kann keine Aussage getroffen werden. Aufgrund des Zeitaufwandes und der geringen Aussagekraft wurde dieser Test nur in der Fall-Kontroll-Studie und nicht an der gesamten Kohorte durchgeführt. Zudem wurde der Test in bisher keiner Studie verwendet, sodass kein Vergleich mit anderen Kohorten durchgeführt werden kann.

Auch unsere Ergebnisse der BIA-Messung lassen in dieser Hinsicht keinen anderen Schluss zu. An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass wir die Ersten sind, die diese Messung an Patienten mit CAH-X Syndrom durchgeführt haben. Unseren Resultaten nach besteht bei den Patienten mit CAH-X Syndrom ein erhöhter Körperfettanteil, ein höherer Anteil an Extrazellulärmatrix sowie ein erniedrigter prozentualer Zellanteil gegenüber der Kontrollgruppe. Diese Werte sind jedoch in keinem der Fälle signifikant und in ihrer Aussagekraft eingeschränkt. Zwar wurde das bestmögliche Matching zwischen den beiden Gruppen gewählt, aufgrund der Adipositas per magna einiger Patienten aus der Fallgruppe war eine höhere Korrelation jedoch nicht zu erzielen. Auffällig war jedoch eine fehlende Korrelation zwischen dem BMI und dem Körperfettanteil (der BMI war in beiden Gruppen zwar nicht identisch, aber doch deutlicher in der Übereinstimmung als die Odds Ratio des Körperfettanteils). Dies wiederum widerspricht der These, dass eine Adipositas der CAH-X Patienten die Werte verfälscht hat und impliziert, dass eine unterschiedliche Gewebsverteilung zugunsten des Fettgewebes bei den CAH-X Patienten vorliegt. Auch diese Untersuchung wurde nicht an der gesamten Kohorte durchgeführt, da die Logistik dies nicht zuließ.

Dafür sprechen auch die Ergebnisse des Muskelultraschalls. Hier wurden bei drei der fünf Patienten mit einer Mutation des TNXB-Gens Auffälligkeiten festgestellt, jedoch bei keinem Patienten der Kontrollgruppe. Somit kann auch der Muskelultraschall als ein sehr spezifisches Messinstrument gewertet werden. Bei Patienten mit einem positiven Beighton-Score zeigte sich in 67 % der Fälle auch ein auffälliger Muskelultraschall, durch eine Kombination von Muskelultraschall und Beighton-Score konnten vier von fünf betroffenen Patienten nur durch die klinische Untersuchung herausgefiltert werden, ohne dass in der Kontrollgruppe ein einziges positives Ereignis aufgetreten wäre.

Des Weiteren kann festgehalten werden, dass die betroffenen Patienten tendenziell seltener Sport treiben als ihre Matchingpartner der Kontrollgruppe. Eine Bestärkung der Patienten in ihrer sportlichen Aktivität könnte auch hinsichtlich der häufig auftretenden Rückenschmerzen sinnvoll sein. Gezielte Übungen zur Kräftigung der Rückenmuskulatur könnten zu einer Linderung der Beschwerden beitragen und sollten den Patienten nahegelegt werden.

Aortenaneurysmata wurden bei keinem der Patienten mit CAH-X Syndrom festgestellt. Diese hatten Miller et al. 2018 in einem Review beschrieben, welches insgesamt n=29 Patienten betrachtete. Dort waren zwei Fälle einer dilatierten Aortenwurzel bei Patienten mit CAH-X Syndrom erfasst worden (36). Wir konnten in unserer Kohorte keine Veränderungen an Aorta oder Aortenwurzel nachweisen, jedoch besteht ein fraglicher Zusammenhang mit dem Truncus

arteriosus communis einer CAH-X Patientin. Da der älteste Patient bei der Untersuchung jedoch auch erst 47 Jahre alt war, ist nicht auszuschließen, dass mit einer TNXB-Mutation auch die Inzidenz an (Aorten-)Aneurysmata steigt sowie das Erkrankungsalter sinkt. Hierfür wären eine größere Kohorte sowie eine Folgeuntersuchung in einigen Jahren von Interesse. Auch den weiteren echokardiologischen Auffälligkeiten (Mitralinsuffizienz, Relaxationsstörung) sollte Aufmerksamkeit im Sinne echokardiologischer Nachkontrollen geschenkt werden.

Gastrointestinale Beschwerden und Migräne traten ähnlich häufig bei betroffenen Patienten als auch bei Patienten ohne Mutation auf. Auch hier sind größere Studien oder Metaanalysen notwendig, um genauere Aussagen treffen zu können, da insbesondere gastrointestinale Störungen bereits in mehreren Studien erwähnt wurden. Bereits 2013 wurde von Merke et al. ein Gastroösophagealer Reflux, Rektumprolaps und Obstipation bei zwei der dreizehn Patienten mit CAH-X CH1 Syndrom, ausgehend von einer Kohorte aus 192 Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom beschrieben (3). Innerhalb einer italienischen Kohorte von 196 Patienten mit einem 21-Hydroxylasemangel wurde ein CAH-X CH1 Syndrom bei 21 Patienten nachgewiesen. Hierbei wurden weitere gastrointestinale Störungen beschrieben, so traten bei vier dieser Patienten zusätzlich zu den drei oben genannten Symptomen Meteorismus, rezidivierende Bauchschmerzen, Diarrhoen und Reizdarmsyndrom auf. Morphologisch waren zudem außer dem bereits genannten Rektumprolaps Zwerchfellhernien und Darminvaginationen beschrieben (46).

5.3 Optimales Vorgehen im Umgang mit CAH-X Patienten

Aufgrund der unterschiedlichen Befunde, von denen einerseits nicht sicher ersichtlich ist, ob sie dem CAH-X Syndrom zuzuordnen sind (Auftreten eines Truncus arteriosus communis in einer betroffenen Patientin), andererseits der Leidensdruck nicht besonders hoch ist (Fußdeformitäten), ist in jedem Fall eine weitere Forschung wünschenswert. So sollten Langzeitstudien durchgeführt werden, um Aussagen zu älteren Patienten treffen zu können, da die Patienten in dieser Studie überdurchschnittlich jung waren. Zudem sollte das Screening nach dieser Mutation weitergeführt werden, da aufgrund kleiner Fallgruppen in unterschiedlichen Zentren keine eindeutigen Aussagen getroffen werden können.

Aus kardiovaskulärer Sicht sind Langzeitstudien bei CAH-X Patienten aufgrund unterschiedlicher Aspekte interessant: Es sollte kontrolliert werden, ob die kardiovaskulären Auffälligkeiten, die sich in unseren Untersuchungen gezeigt haben, zu Einschränkungen im Alter führen oder ob im Gegensatz dazu eine verringerte Myokardinfarktrate besteht, wie sie für das Ehlers-Danlos-Syndrom gezeigt wurde (42).

Zudem ist ein Follow-Up der untersuchten Patienten in einigen Jahren aus verlaufstechnischer Sicht äußerst interessant, zum einen aufgrund der kardiologischen Befunde, die potenziell eine Progression zeigen, zum anderen die Veränderungen der Beweglichkeit betreffend.

6. Fazit

6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Das Adrenogenitale Syndrom ist eine genetische Erkrankung, welche auf einer Veränderung des Gens CYP21A2 auf Chromosoms 6 beruht. Diese führt dazu, dass nicht ausreichend Cortisol und in vielen Fällen, auch nicht ausreichend Mineralokortikoid gebildet werden kann. Neue Studien haben gezeigt, dass bis zu 15% der Patienten mit einem Adrenogenitalen Syndrom ebenfalls an einer Veränderung des TNXB-Gens leiden, welches sich ebenfalls auf Chromosom 6 befindet. TNXB kodiert für das Bindegewebsprotein Tenascin X. Ein Mangel dieses Proteins kann zu einer Bindegewebschwäche führen, welche bei homozygoter Mutation als Ehlers-Danlos-Syndrom bezeichnet wird. Studien haben gezeigt, dass bei Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom in bis zu 15% eine heterozygote Mutation des TNXB-Gens vorliegt. Diese kann ebenfalls mit klinischen Symptomen einer Bindegewebschwäche einhergehen und wird als CAH-X Syndrom bezeichnet. Das Vorliegen eines CAH-X Syndroms bei Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom in der Endokrinologischen Ambulanz des LMU Klinikums München war das Ziel unserer Untersuchung.

Die Fall-Kontroll-Studie auf das Vorliegen einer Mutation des TNXB-Gens wurde über einen Zeitraum von insgesamt drei Jahren in der Endokrinologischen Ambulanz des LMU Klinikums München durchgeführt (zwei Jahre lang genetisches Screening im Vorfeld, ein Jahr lang Durchführung der klinischen Untersuchungen). Eine Mutation des TNXB-Gens bei Patienten mit 21-Hydroxylasemangel und das Vorliegen eines CAH-X Syndroms konnte mithilfe einer Screening-PCR bei 6,2 % der zunächst 81 Patienten nachgewiesen werden. Bei CAH-X Patienten zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenziell ein häufigeres Auftreten von Überbeweglichkeit. Dies wurde mithilfe des Beighton-Scores verifiziert, welcher bei Gelenküberbeweglichkeit als klinisches Instrument zur Diagnostik Einsatz findet. Rücken- und Gelenkschmerzen und Fußdeformitäten traten häufiger auf. Patienten trieben seltener Sport und wiesen einen erhöhten Fettanteil auf. Es zeigten sich kardiovaskulär und muskuloskelettal häufiger Auffälligkeiten als in der Kontrollgruppe.

6.2 Ausblick

Aufgrund der Ergebnisse empfehlen wir, den Beighton-Score routinemäßig einmalig bei allen Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom durchzuführen. Er stellt ein preiswertes Instrument mit hoher Spezifität für das Vorliegen eines CAH-X Syndroms dar und kann auch bei einer zeitlich begrenzten Vorstellung in der Ambulanz gemeinsam mit der Blutdruck- und

Gewichtsmessung erhoben werden. Es sind kaum Vorkenntnisse für die Erhebung des Beighton-Scores nötig, die Durchführung erfolgt untersucherunabhängig. Durch eine Kombination mit einer Sonographie der Muskeln kann eine Erhöhung der Sensitivität erreicht werden. Von klinischem Interesse sind zudem die Unterschiede zu den beiden Mutationen CAH-X CH2 und CAH-X CH3, welche hier nicht beleuchtet wurden.

Die Messung der Protein-Konzentration von Tenascin X hingegen zeigt laut unserer Untersuchungen keinen Unterschied zwischen Patienten mit AGS und CAH-X Syndrom sowie Patienten ohne eine Mutation des TNXB-Gens und ohne CAH-X Syndrom. Eine Messung von Tenascin X im Serum kann dahingehend interessant sein, dass alle Patienten mit AGS niedrigere Werte aufwiesen als die in der Standardbevölkerung ermittelten. Die Konsequenz der erniedrigten Konzentrationen ist unklar, da sich kein Zusammenhang mit einem mutierten TNXB-Gen nachweisen ließ. Die nachträgliche Durchführung einer Hautbiopsie bei den untersuchten Patienten mit einem Vergleich der Serum-Tenascin-Level mit dem Tenascin X in der Hautbiopsie kann möglicherweise zu einer Klärung beitragen.

Von Interesse ist außerdem der Zusammenhang zwischen dem Auftreten des Truncus arteriosus communis und dem CAH-X Syndrom. Aufgrund der niedrigen Inzidenz wäre die Durchführung weitere Studien zur TNXB-Mutation bei TCA-Patienten notwendig.

Rückenschmerzen haben sich in unseren Untersuchungen als ein sehr sensibles Symptom der Patienten mit CAH-X Syndrom erwiesen. Sollte ein Patient angeben, häufig an Rückenschmerzen zu leiden, so muss eine Mutation des TNXB-Gens in Erwägung gezogen werden. Dasselbe gilt für Fußdeformitäten, welche ebenfalls ein wenig spezifisches, aber sehr sensibles Symptom der Patienten mit CAH-X darstellten.

Sollte eine TNXB-Mutation nachgewiesen worden sein, so ist die Durchführung einer Echokardiographie in jedem Fall sinnvoll, da sich teils schon bei jungen Patienten Auffälligkeiten zeigen können; bei unauffälligem Ultraschall können regelmäßige Nachuntersuchungen sinnvoll sein. Für den genauen zeitlichen Abstand an kardiologischen Nachuntersuchungen werden weitere Studien sinnvoll sein, insbesondere Langzeitstudien sind für das kardiovaskuläre Risiko oder die Detektion einer potenziellen Besserung im Alter von großem Interesse.

Abschließend kann gesagt werden, dass die klinische Untersuchung bei Patienten mit AGS ein unverzichtbares Instrument ist, dem nicht genug Beachtung geschenkt werden kann.

7. Abkürzungsverzeichnis

-OH-	-Hydroxy-
AGS	Adrenogenitales Syndrom
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ACTH	Adrenocorticotropin
BCM	Body Cell Mass
BMI	Body-Mass-Index
Bpm	Beats per minute; Schläge pro Minute
C4	Gen; Eigennamen
CAH	Congenital Adrenal Hyperplasia
Chimäre/-a	Aus mehreren Keimzellanteilen zusammengesetzter Organismus (74)
CI	Confidence Intervall
CRH	Corticotropin-releasing Hormone
CYP21A2	CYP21A2-Gen (Eigennamen)
DHEA-S	Dehydroepiandrosteron-Sulfat
DNA	Desoxyribonucleid acid
ECM	Extracellular Cell Mass
EDS	Ehlers-Danlos-Syndrom
Exo-SAP	Exonuclease – Shrimp Alkaline Phosphatase
FI	Functional Index
GHJ	Generalized joint hypermobility, generalisierte Gelenkhypermobilität
HLA	Human Leukocyte Antigen
HMG-CoA	3-Hydroxy-5-Methylglutaryl-Coenzym A
Kb	Kilobasen (Einheit)
LDL	Low-density Lipoprotein
MGZ	Medizinisch Genetisches Zentrum
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe amplification
MRC	Medical Research Council
(m)RNA	(messenger) Ribonucleid Acid; Ribonukleinsäure
NIH	National Institute of Health
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerase Chain Reaction; Polymerase-Kettenreaktion
QMFT	Quick Motor Function Test
RCCX	Genkomplex; Eigennamen

RP1	Gen; Eigenname
StAR	Steroidogenic cleavage enzyme
TAC	Truncus arteriosus communis
TART	Testikuläre Adrenale Resttumore
TNXB	TNXB-Gen (Eigenname)

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Bereich der TNXB-Region auf Chromosom 6.	12
Abbildung 2: Schematische Abbildung einer TNXA/TNXB-Chimäre	15
Abbildung 3: Bisher bekannte Varianten der TNXA/TNXB-Chimäre.....	16
Abbildung 4: Zeitlicher Ablauf der Untersuchungen.....	23
Abbildung 5: Studienablauf	29
Abbildung 6: Verteilung der Patienten nach BMI	32
Abbildung 7: Verteilung der Patienten nach Alter	33
Abbildung 8: Graphische Darstellung eines pathologischen Hypermobilitäts-Scores	35
Abbildung 9: Ergebnis des Muskelultraschalls, graphisch dargestellt.....	38
Abbildung 10: Einteilung der Patienten nach AGS-Phänotyp.....	40

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Primer für das Screening	20
Tabelle 2: Auswertung der BIA-Messung	36
Tabelle 3: Ergebnisse der Tenascin X-Messung im Serum	37
Tabelle 4: Auswertungsergebnisse aller durchgeführten Untersuchungen	38
Tabelle 5: Übersicht zu den klinischen Daten aller klinisch untersuchter Patienten	42
Tabelle 6: Übersicht CAH-X Patienten.....	43

10. Literaturverzeichnis

1. **Witchel SF, Azziz R.** Congenital Adrenal Hyperplasia. *Journal of pediatric and adolescent gynecology.* 2011;24(3):116-26.
2. **Fleming L, Van Riper M, Knafelz K.** Management of Childhood Congenital Adrenal Hyperplasia- an Integrative Review of the Literature. *J Pediatr Health Care.* 2017;31(5): 560–577.
3. **Merke DP, Chen W, et al.** Tenascin-X Haploinsufficiency Associated with Ehlers-Danlos Syndrome in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2013;98(2):E379-87.
4. **Benninghoff DD.** Taschenbuch Anatomie. Elsevier: Drenckhahn D, Waschke J; 2014. 582 p.
5. **Turcu AF, Auchus RJ.** Adrenal Steroidogenesis and Congenital Adrenal Hyperplasia. *Endocrinology and metabolism clinics of North America.* 2015;44(2):275-96.
6. **Broersen LHA, Jha M, Biermasz NR, Pereira AM, Dekkers OM.** Effectiveness of Medical Treatment for Cushing's Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pituitary.* 2018;21(6):631-41.
7. **Stormann S, Schopohl J.** New and Emerging Drug Therapies for Cushing's Disease. *Expert opinion on pharmacotherapy.* 2018;19(11):1187-200.
8. **Williams B, Mancia G, et al.** [2018 Esc/Esh Guidelines for the Management of Arterial Hypertension]. *Kardiol Pol.* 2019;77(2):71-159.
9. **Wilczynski C, Shah L, Emanuele MA, Emanuele N, Mazhari A.** Selective Hypoaldosteronism: A Review. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists.* 2015;21(8):957-65.
10. **El-Maouche D, Arlt W, Merke DP.** Congenital Adrenal Hyperplasia. *Lancet (London, England).* 2017;390(10108):2194-210.
11. **Merke DP, Bornstein SR.** Congenital Adrenal Hyperplasia. *Lancet (London, England).* 2005;365(9477):2125-36.
12. **Odenwald B, Dorr HG, et al.** Classic Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase-Deficiency: 13 Years of Neonatal Screening and Follow-up in Bavaria. *Klin Padiatr.* 2015;227(5):278-83.
13. **Deutsche Gesellschaft Für Kinderendokrinologie Und –Diabetologie (Dgked) E.V.** Adrenogenitales Syndrom (Ags) Im Kindes Und Jugendalter. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF): Deutsche Gesellschaft für

Kinderendokrinologie und –diabetologie (DGKED) e.V.; 2021. Available from:
https://register.awmf.org/assets/guidelines/174-003l_S1_Adrenogenitales-Syndrom-AGS-im-Kindes-und-Jugendalter_2022-03_1.pdf.

14. **Pang SY, Wallace MA, et al.** Worldwide Experience in Newborn Screening for Classical Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Pediatrics*. 1988;81(6):866-74.
15. **Narasimhan ML, Khattab A.** Genetics of Congenital Adrenal Hyperplasia and Genotype-Phenotype Correlation. *Fertility and sterility*. 2019;111(1):24-9.
16. **Reisch N, Arlt W, Krone N.** Health Problems in Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Hormone research in paediatrics*. 2011;76(2):73-85.
17. **Bachelot A, Grouthier V, Courtillot C, Dulon J, Touraine P.** Management of Endocrine Disease: Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase Deficiency: Update on the Management of Adult Patients and Prenatal Treatment. *European journal of endocrinology*. 2017;176(4):R167-r81.
18. **Chen W, Xu Z, et al.** Junction Site Analysis of Chimeric Cyp21a1p/Cyp21a2 Genes in 21-Hydroxylase Deficiency. *Clinical chemistry*. 2012;58(2):421-30.
19. **Nermoen I, Husebye ES, Myhre AG, Lovas K.** Classic Congenital Adrenal Hyperplasia. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2017;137(7):540-3.
20. **Moreira RP, Villares SM, Madureira G, Mendonca BB, Bachega TA.** Obesity and Familial Predisposition Are Significant Determining Factors of an Adverse Metabolic Profile in Young Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia. *Hormone research in paediatrics*. 2013;80(2):111-8.
21. **Arlt W, Willis DS, et al.** Health Status of Adults with Congenital Adrenal Hyperplasia: A Cohort Study of 203 Patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(11):5110-21.
22. **Dineen R, Thompson CJ, Sherlock M.** Adrenal Crisis: Prevention and Management in Adult Patients. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2019;10:2042018819848218.
23. **Kudela G, Gawlik A, Koszutski T.** Early Feminizing Genitoplasty in Girls with Congenital Adrenal Hyperplasia (Cah)-Analysis of Unified Surgical Management. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(11).
24. **Eckoldt-Wolke F.** Timing of Surgery for Feminizing Genitoplasty in Patients Suffering from Congenital Adrenal Hyperplasia. *Endocrine development*. 2014;27:203-9.

25. **Binet A, Lardy H, Geslin D, Francois-Fiquet C, Poli-Merol ML.** Should We Question Early Feminizing Genitoplasty for Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia and Xx Karyotype? *Journal of pediatric surgery.* 2016;51(3):465-8.
26. **Sz/Kna/Afis/Jsa.** Geschlechts-Ops an Intergeschlechtlichen Kindern Werden Verboten SZ.de2021/05/07 [Available from: <https://www.sueddeutsche.de/panorama/kinder-intergeschlechtlich-gesetz-1.5287608>, abgerufen am 27.08.2021.]
27. **Dorr HG, Binder G, et al.** Experts' Opinion on the Prenatal Therapy of Congenital Adrenal Hyperplasia (Cah) Due to 21-Hydroxylase Deficiency - Guideline of Dgked in Cooperation with Dggg (S1-Level, Awmf Registry No. 174/013, July 2015). *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2015;75(12):1232-8.
28. **Bowen JM, Sobey GJ, et al.** Ehlers-Danlos Syndrome, Classical Type. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics.* 2017;175(1):27-39.
29. **Malfait F, Francomano C, et al.** The 2017 International Classification of the Ehlers-Danlos Syndromes. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics.* 2017;175(1):8-26.
30. **Lao Q, Brookner B, Merke DP.** High-Throughput Screening for Cyp21a1p-Tnxa/Tnxb Chimeric Genes Responsible for Ehlers-Danlos Syndrome in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Mol Diagn.* 2019;21(5):924-31.
31. **Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, Tsipouras P, Wenstrup RJ.** Ehlers-Danlos Syndromes: Revised Nosology, Villefranche, 1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (Uk). *Am J Med Genet.* 1998;77(1):31-7.
32. **Brady AF, Demirdas S, et al.** The Ehlers-Danlos Syndromes, Rare Types. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics.* 2017;175(1):70-115.
33. **Ritter A, Atzinger C, et al.** Natural History of Aortic Root Dilation through Young Adulthood in a Hypermobile Ehlers-Danlos Syndrome Cohort. *American journal of medical genetics Part A.* 2017;173(6):1467-72.
34. **Kaufman CS, Butler MG.** Mutation in Tnxb Gene Causes Moderate to Severe Ehlers-Danlos Syndrome. *World journal of medical genetics.* 2016;6(2):17-21.
35. **Chen W, Perritt AF, et al.** Ehlers-Danlos Syndrome Caused by Biallelic Tnxb Variants in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia. *Human mutation.* 2016;37(9):893-7.
36. **Miller WL, Merke DP.** Tenascin-X, Congenital Adrenal Hyperplasia, and the Cah-X Syndrome. *Hormone research in paediatrics.* 2018;89(5):352-61.
37. **Burch GH, Gong Y, et al.** Tenascin-X Deficiency Is Associated with Ehlers-Danlos Syndrome. *Nature genetics.* 1997;17(1):104-8.

38. **Zweers MC, Peeters AC, et al.** Abdominal Aortic Aneurysm Is Associated with High Serum Levels of Tenascin-X and Decreased Aneurysmal Tissue Tenascin-X. *Circulation*. 2006;113(13):1702-7.
39. **Yamada K, Watanabe A, et al.** Measurement of Serum Tenascin-X in Joint Hypermobility Syndrome Patients. *Biol Pharm Bull*. 2019;42(9):1596-9.
40. **Schalkwijk J, Zweers MC, et al.** A Recessive Form of the Ehlers-Danlos Syndrome Caused by Tenascin-X Deficiency. *The New England journal of medicine*. 2001;345(16):1167-75.
41. **Besselink-Lobanova A, Maandag NJ, Voermans NC, Van Der Heijden HF, Van Der Hoeven JG, Heunks LM.** Trachea Rupture in Tenascin-X-Deficient Type Ehlers-Danlos Syndrome. *Anesthesiology*. 2010;113(3):746-9.
42. **Petersen JW, Douglas JY.** Tenascin-X, Collagen, and Ehlers-Danlos Syndrome: Tenascin-X Gene Defects Can Protect against Adverse Cardiovascular Events. *Medical hypotheses*. 2013;81(3):443-7.
43. **Schouten JP, Mcelgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G.** Relative Quantification of 40 Nucleic Acid Sequences by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(12):e57.
44. **Koppens PFJ, Hoogenboezem T, Degenhart HJ.** Carriership of a Defective Tenascin-X Gene in Steroid 21-Hydroxylase Deficiency Patients: Tnxb–Tnxa Hybrids in Apparent Large-Scale Gene Conversions. *Human Molecular Genetics*. 2002;11(21):2581-90.
45. **Figueras LM, Pacheco RM, González DG, Domènech MA, Zubicaray BE.** Molecular Characterization of the New Clinical Entity Associated with Congenital Adrenal Hyperplasia: The Cah-X Syndrome in the Spanish Population. *Adv Lab Med*. 2023;4(3):258-67.
46. **Paragliola RM, Perrucci A, Foca L, Urbani A, Concolino P.** Prevalence of Cah-X Syndrome in Italian Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia (Cah) Due to 21-Hydroxylase Deficiency. *J Clin Med*. 2022;11(13).
47. **Gao Y, Lu L, et al.** The Prevalence of the Chimeric Tnxa/Tnxb Gene and Clinical Symptoms of Ehlers-Danlos Syndrome with 21-Hydroxylase Deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020;105(7).
48. **Concolino P, Falhammar H.** Cah-X Syndrome: Genetic and Clinical Profile. *Mol Diagn Ther*. 2022;26(3):293-300.
49. **Wiesmann T, Castori M, Malfait F, Wulf H.** Recommendations for Anesthesia and Perioperative Management in Patients with Ehlers-Danlos Syndrome(S). *Orphanet journal of rare diseases*. 2014;9:109.

50. **Mrc Holland.** Product Description Salsa® Mlpa® Probemix P155 Eds 2019, October 03
[Available from:
<https://www.mrcholland.com/products/25198/Product%20description%20P155-E1%20EDS-v01.pdf>.]
51. **Melzack R.** The Short-Form McGill Pain Questionnaire. *Pain.* 1987;30(2):191-7.
52. **Sergi G, De Rui M, Stubbs B, Veronese N, Manzato E.** Measurement of Lean Body Mass Using Bioelectrical Impedance Analysis: A Consideration of the Pros and Cons. *Aging clinical and experimental research.* 2017;29(4):591-7.
53. **Korth O, Bosy-Westphal A, Zschoche P, Glüer C, Heller M, Müller M.** Vergleich Von 2-Kompartiment-Methoden Mit Einem 4-Kompartiment-Modell Zur Bestimmung Der Körperfettmasse. *Aktuelle Ernährungsmedizin.* 2005;30(06):289-97.
54. **Khalil SF, Mohktar MS, Ibrahim F.** The Theory and Fundamentals of Bioimpedance Analysis in Clinical Status Monitoring and Diagnosis of Diseases. *Sensors (Basel).* 2014;14(6):10895-928.
55. **Zhang Q, Li YX, et al.** A Comparative Study of the Five-Repetition Sit-to-Stand Test and the 30-Second Sit-to-Stand Test to Assess Exercise Tolerance in Copd Patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2018;13:2833-9.
56. **Singh H, Mckay M, et al.** Beighton Scores and Cut-Offs across the Lifespan: Cross-Sectional Study of an Australian Population. *Rheumatology (Oxford, England).* 2017;56(11):1857-64.
57. **Armstrong R, Greig DM.** The Beighton Score as a Predictor of Brighton Criteria in Sport and Dance. *Phys Ther Sport.* 2018;32:145-54.
58. **Juul-Kristensen B, Schmedling K, Rombaut L, Lund H, Engelbert RH.** Measurement Properties of Clinical Assessment Methods for Classifying Generalized Joint Hypermobility-a Systematic Review. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics.* 2017;175(1):116-47.
59. **Juul-Kristensen B, Rogind H, Jensen DV, Remvig L.** Inter-Examiner Reproducibility of Tests and Criteria for Generalized Joint Hypermobility and Benign Joint Hypermobility Syndrome. *Rheumatology (Oxford, England).* 2007;46(12):1835-41.
60. **Hermanns-Le T, Reginster MA, Pierard-Franchimont C, Delvenne P, Pierard GE, Manicourt D.** Dermal Ultrastructure in Low Beighton Score Members of 17 Families with Hypermobility-Type Ehlers-Danlos Syndrome. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:878107.
61. **Van Capelle CI, Van Der Beek NA, et al.** The Quick Motor Function Test: A New Tool to Rate Clinical Severity and Motor Function in Pompe Patients. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(2):317-23.

62. **Alexanderson H, Broman L, Tollback A, Josefson A, Lundberg IE, Stenstrom CH.** Functional Index-2: Validity and Reliability of a Disease-Specific Measure of Impairment in Patients with Polymyositis and Dermatomyositis. *Arthritis and rheumatism.* 2006;55(1):114-22.
63. **Buckinx F, Croisier JL, et al.** Reliability of Muscle Strength Measures Obtained with a Hand-Held Dynamometer in an Elderly Population. *Clinical physiology and functional imaging.* 2017;37(3):332-40.
64. **Compston A.** Aids to the Investigation of Peripheral Nerve Injuries. Medical Research Council: Nerve Injuries Research Committee. His Majesty's Stationery Office: 1942; Pp. 48 (Iii) and 74 Figures and 7 Diagrams; with Aids to the Examination of the Peripheral Nervous System. By Michael O'brien for the Guarantors of Brain. Saunders Elsevier: 2010; Pp. [8] 64 and 94 Figures. *Brain : a journal of neurology.* 2010;133(10):2838-44.
65. **Vill K, Schessl J, et al.** Muscle Ultrasound in Classic Infantile and Adult Pompe Disease: A Useful Screening Tool in Adults but Not in Infants. *Neuromuscular disorders : NMD.* 2015;25(2):120-6.
66. **Yoshida K.** Conditional Logistic Regression in Matched Case-Control Studies RPubS: RStudio; 2013 [Available from: https://rpubs.com/kaz_yos/clogit.]
67. **Campbell MJ.** Logistic Regression. *Statistics at Square Two.* 2006:32-52.
68. **New MI, Abraham M, et al.** Genotype-Phenotype Correlation in 1,507 Families with Congenital Adrenal Hyperplasia Owing to 21-Hydroxylase Deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(7):2611-6.
69. **Kolli V, Kim H, et al.** Measurement of Serum Tenascin-X in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia at Risk for Ehlers-Danlos Contiguous Gene Deletion Syndrome Cah-X. *BMC Res Notes.* 2019;12(1):711.
70. **Russek LN, Errico DM.** Prevalence, Injury Rate and, Symptom Frequency in Generalized Joint Laxity and Joint Hypermobility Syndrome in a "Healthy" College Population. *Clin Rheumatol.* 2016;35(4):1029-39.
71. **Al-Rawi ZS, Al-Aszawi AJ, Al-Chalabi T.** Joint Mobility among University Students in Iraq. *Rheumatology.* 1985;24(4):326-31.
72. **Klemp P, Williams SM, Stansfield SA.** Articular Mobility in Maori and European New Zealanders. *Rheumatology (Oxford, England).* 2002;41(5):554-7.
73. **Remvig L, Jensen DV, Ward RC.** Epidemiology of General Joint Hypermobility and Basis for the Proposed Criteria for Benign Joint Hypermobility Syndrome: Review of the Literature. *J Rheumatol.* 2007;34(4):804-9.

74. **Wenk RE.** A Review of the Biology and Classification of Human Chimeras. *Transfusion.* 2018;58(8):2054-67.

11. Anhang

Anhang 1: Fragebogen

Fragebogen zur Untersuchung von Tenascin-X Haploinsuffizienz in Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom (AGS)

Ihr Name: _____ Geburtsdatum: __ / __ / __

Geschlecht: männlich / weiblich (bitte umkreisen)

Das heutige Datum: _____

1) Welche Medikamente nehmen Sie täglich wegen des AGS ein?

2) Welchen AGS – Typus haben Sie?

- AGS mit Salzverlust
- AGS ohne Salzverlust
- nicht sicher

Ist bei Ihnen schon einmal eine Untersuchung auf ein Hypermobilitäts-Syndrom gemacht worden?

ja

Falls ja, welche Diagnose wurde gestellt?

nein

Fragen zur Gelenkgesundheit

Haben Sie Gelenkschmerzen?

ja

Falls ja, wie häufig?

Falls ja, seit wann?

Falls ja, welche Gelenke?

nein

Kommen Gelenkschmerzen in Ihrer Familie vor?

ja

nein

Hatten Sie schon Subluxationen (unvollständige Ausrenkung) oder Dislokationen (vollständige Ausrenkung) eines Gelenks?

ja

Falls ja, bitte geben Sie die entsprechende(n) Diagnose(n) mit Datum an:

nein

Kommen Subluxationen oder Dislokationen in Ihrer Familie vor?

ja, _____

nein

Haben Sie Rückenschmerzen?

ja

Falls ja, wie häufig?

Falls ja, seit wann?

nein

Hatten Sie schon einmal eine Hernie (Eingeweidebruch?)

ja

Falls ja, bitte geben Sie die entsprechende(n) Diagnose(n) mit Datum an:

nein

Kommen Hernien in Ihrer Familie vor?

ja, _____

nein

Sind bei Ihnen Fußdeformitäten bekannt? (Platt-, Senk-, Knick-, Spreizfuß)

ja, _____

nein

Leiden Sie unter gastrointestinalen Beschwerden? (Häufige Verstopfung, Chronische entzündliche Darmerkrankung oder ähnliches)

ja, _____

nein

Leiden Sie an Migräne?

ja, _____

nein

Haben Sie einen vesikorenenalen Reflux (Rückfluss von Harn aus der Blase in das Nierenbecken)?

ja

Falls ja, bitte geben Sie die entsprechende(n) Diagnose(n) mit Datum an:

nein

Kommt eine vesikorenenaler Reflux in Ihrer Familie vor?

ja, _____

nein

Rauchen Sie?

ja, seit ____ Jahren / _____ Schachteln am Tag

nein

Fragen zur Kardiovaskulären Gesundheit

Falls Sie eine Frage mit Ja beantworten, geben sie bitte entsprechende Details an.

Ist bei Ihnen eine Herz- oder Gefäßerkrankung bekannt?

- ja, _____
- nein

**Sind bei Ihnen schon einmal Herz- und Kreislaufuntersuchungen durchgeführt worden?
(z.B. Echokardiographie, 24h Blutdruckmessung / EKG o.ä.)**

- ja
- Falls ja, haben sich Auffälligkeiten gezeigt?

- _____
- nein

Sind in Ihrer Familie Herz- oder Gefäßerkrankungen aufgetreten?

- ja, _____
- nein

Hatte ein Verwandter 1. Grades einen Herzinfarkt vor seinem 60. Lebensjahr erlitten?

- ja, _____
- nein

Haben Sie Schmerzen im Bereich des Brustkorbes?

- ja, _____
- nein

Haben Sie Beschwerden bei Belastung?

- ja, _____
- nein

Verspüren Sie Luftnot?

- ja, _____
- nein

Fragen zur Neurologischen Gesundheit

I Normativ geschätzter Schmerzindex: Die unterstehenden Worte beschreiben den durchschnittlichen Schmerztyp. Setzen Sie ein Häkchen für alle nachstehenden Schmerztypen in der Spalte, die Ihrer gefühlten Schmerzstärke/Intensität entspricht.

	Keine	Gering/leicht	Mäßig	Stark
Klopfend	0	1	2	3
Einschießend	0	1	2	3
Stechend	0	1	2	3
Scharf	0	1	2	3
Klemmend	0	1	2	3
Nagend	0	1	2	3
Heiß/brennend	0	1	2	3
Schmerzend	0	1	2	3
Schwer	0	1	2	3
Empfindlich	0	1	2	3
Durchtrennend	0	1	2	3
Ermüdend/erschöpfend	0	1	2	3
Übelkeit erregend	0	1	2	3
Beängstigend	0	1	2	3
Strafend-grausam	0	1	2	3

II Momentane Schmerzintensität – Visuelle Analogskala (VAS)

Markieren Sie auf der untenstehenden Skala Ihre Schmerzintensität

Schmerzfrei I-----I Schlimmster denkbarer Schmerz

III Beurteilung der Intensität der gesamten Schmerzerfahrung: Setzen Sie ein Häkchen in die passende Zeile:

Beurteilung	
0	Schmerzfrei
1	Gering/leicht
2	Unangenehm
3	Belastend
4	Fürchterlich
5	Qualvoll

IV Punktzahl:

Nicht ausfüllen, nur für Auswertung	Punkte
I-a	Sensorischer Schmerzindex
I-b	Affektiver Schmerzindex
I-	Total Schmerzindex
II	Aktuelle Schmerzintensität
III	Gesamtbeurteilung der Schmerzintensität

Muskelschwäche**Leiden Sie unter Muskelschwäche?**

- ja, _____
- nein

Falls ja:

Bereitet Ihnen Muskelschwäche momentan Schwierigkeiten in Ihrem Leben?

- ja, sehr
- ja, ab und zu
- nein

Fühlen Sie sich müde/erschöpft aufgrund Ihrer Muskelschwäche?

- ja, _____
- nein

Bereitet Ihnen Müdigkeit/Erschöpfung aufgrund Ihrer Muskelschwäche Schwierigkeiten in Ihrem Leben?

- ja, _____
- nein

Beeinflusst Ihre Muskelschwäche Sie in Ihrem Alltag?

- ja, _____
- nein

Beeinflusst Ihre Muskelschwäche Ihr Aussehen? (Ist es notwendig für Sie, einen Stock oder Rollstuhl zu benutzen?)

- ja, _____
- nein

Erhalten Sie aufgrund Ihrer Muskelschwäche eine Therapie? (Physiotherapie o.ä.)

- ja, _____
- nein

Benötigen Sie Hilfe anderer Personen, um Ihre Aktivitäten ausführen zu können?

- ja, _____
- nein

Fragen zur Dermatologischen Gesundheit:

Haben Sie das Gefühl, sich schnell zu verletzen?

- ja, _____
- nein

Neigen Sie zu leichter Narbenbildung?

- ja, _____
- nein

Haben Sie Striae (Dehnungsstreifen)?

- ja, _____
- nein

Anhang 2: Protokoll Klinische Untersuchung

KLINISCHE UNTERSUCHUNG

Koordination:

finger-nose-finger test:

- Möglich/opB
 - nicht möglich
-

heel-to-knee-to-toe test:

- Möglich/opB
 - nicht möglich
-

Tandem Gang:

- Möglich/opB
 - nicht möglich
-

Romberg:

- unauffällig/opB
- positiv _____

Reflexe (Knie, Achillessehne, Bizeps, Trizeps, Babinski):

- Alle normal
- Lebhaft: _____
- Vermindert: _____

Beighton-Score

Beweglichkeitstest	Auswertung
Kleiner Finger, passive Extension über 90 Grad	Jeweils 1 Punkt rechts und links
Daumen, passive Bewegung bis Unterarm	Jeweils 1 Punkt rechts und links
Ellenbogen, Überstreckung mehr als 10 Grad	Jeweils 1 Punkt rechts und links
Kniegelenke, Überstreckung mehr als 10 Grad	Jeweils 1 Punkt rechts und links
Flexion der Wirbelsäule, Patient kann beide Handflächen bei gestreckten Knien ablegen	1 Punkt
Der Test ist positiv ab: 4 von 9 Punkten bei Erwachsenen bis 50 Jahre 3 von 9 Punkten bei Erwachsenen über 50 Jahren 5 von 9 Punkten bei Kindern	Maximale Punktzahl: 9

Brighton-Score:

Kriterien
Major Criteria
Beighton Score positiv (altersabhängig)
Schmerzen in vier oder mehr Gelenken seit mindestens drei Monaten
Minor Criteria
Beighton Score nur in wenigen Gelenken auffällig
Rückenschmerzen
Spondylolithese
Schmerzen in mindestens ein bis drei Gelenken
mehrmalige Gelenkluxationen
auffällig dehnbare Haut bzw. Hautprobleme
schlanker (oft inkomplett marfanoider) Körperbau
fallende Augenlider
Neigung zu Hernien, Hämorrhoiden, Venenproblemen oder blauen Flecken
bekannter Mitralklappen-, Uterus- oder Rektalprolaps
Der Test ist positiv ab:
2 Major Criteria
1 Major Criterion und 2 Minor Criteria
4 Minor Criteria
2 Minor Criteria und positive Familienanamnese

Ergebnis _____

Quick Motorfunction Test:

1. Oberkörper heben
 - beginnt nicht, Nacken zu heben
 - beginnt, Nacken zu heben, kann aber Kopf nicht bewegen
 - hebt Kopf, Torso verbleibt auf der Matte
 - hebt Kopf und Torso teilweise von der Matte
 - hebt Kopf und Torso komplett von der Matte ($\sim 45^\circ$)
2. Nacken heben
 - kein Anzeichen der Nackenflexion
 - beginnt Nackenflexion, aber kann Kopf nicht heben
 - hebt Kopf $< 45^\circ$
 - hebt Kopf auf 45° mit Schwierigkeiten
 - hebt Kopf auf 45° oder mehr ohne Schwierigkeiten
3. Hand überkreuzt
 - keine Anstalten, die Mittellinie zu erreichen
 - Anstalten, die Mittellinie zu erreichen
 - Erreicht Hand mit Arm, kreuzt jedoch die Mittellinie nicht
 - Erreicht Hand mit Arm, Hand kreuzt Mittellinie mit Schwierigkeiten
 - Erreicht Hand, kreuzt Mittellinie ohne Schwierigkeiten
4. Hüft- und Kniebeugung
 - unfähig, Knie und Hüftbeugung zu initiieren
 - Bewegung, aber keine Hüftbeugung über 10°
 - beugt Hüfte und Knie weniger als 90°
 - beugt Hüfte und Knie komplett, aber langsam und unter Schwierigkeiten
 - keine Schwierigkeiten
5. Strecken und Heben beider Beine
 - Keine Anstalten, die Beine zu heben
 - Macht Anstalten, die Beine zu heben, keines oder nur eines löst von Matte
 - löst Beine von der Matte, aber ohne Streckung/mit Hilfe der Arme
 - Löst Beine von der Matte, aber unter Schwierigkeiten (z.B. sehr kurz)
 - keine Schwierigkeiten
6. Aufsetzen aus dem Liegen ohne Hilfe
 - Keine Anstalten, sich aufzusetzen (oder den Nacken zu bewegen)
 - Macht Anstalten sich aufzusetzen, erreicht aber Sitz nicht
 - Erreicht Sitz unter Zuhilfenahme der Arme
 - Erreicht Sitz ohne Hilfe der Arme, aber unter Schwierigkeiten
 - Keine Schwierigkeiten
7. Heben der Arme um 180°
 - Kann Arme nicht heben
 - Hebt Arme nicht über Schulterlevel
 - Hand über dem Kopf, aber Arme erreichen 180° nicht
 - Arme über den Kopf auf 180° aber Schwierigkeiten und nicht gestreckt
 - Arme gestreckt, keine Schwierigkeiten
8. Aufstehen vom Stuhl ohne Arme
 - Kann nicht aufstehen
 - versucht, aufzustehen, aber schafft es nicht
 - Kann aufstehen mithilfe der Arme
 - Kann ohne Arme aufstehen, aber Schwierigkeiten (mehrere Versuche o.ä.)
 - keine Schwierigkeiten

9. Aufstehen aus knieender Position
- Keine Anstalten aufzustehen
 - versucht, aufzustehen, schafft es aber nicht
 - Steht auf, aber verwendet Arme
 - Steht ohne Arme auf, aber unter Schwierigkeiten
 - Keine Schwierigkeiten
10. Kniebeugen
- Keine Kniebeuge möglich
 - Kniebeuge, aber keine Beugung $\geq 90^\circ$ möglich
 - Kniebeuge mithilfe der Arme oder mithilfe von Festhalten
 - Kniebeuge unter Schwierigkeiten
 - Keine Schwierigkeiten
11. Aufstehen aus der Hocke
- Kann nicht in Hocke stehen bleiben
 - versucht aus der Hocke aufzustehen, aber schafft es nicht in den Stand
 - Kann mithilfe der Arme von der Hocke aufstehen
 - Kann aufstehen unter Schwierigkeiten
 - Keine Schwierigkeiten
12. Aufheben eines Gegenstandes vom Boden
- Macht keine Anstalten, das Objekt aufzuheben
 - Versucht es, kann Objekt aber nicht aufheben
 - Hebt Objekt auf, wiederaufrichten unter Zuhilfenahme der Arme
 - Hebt Objekt auf, wiederaufrichten unter Schwierigkeiten
 - Keine Probleme (schnell, kontrollierte Bewegungen)
13. Einbeinstand (10 sec)
- hebt Bein ohne Zuhilfenahme der Arme
 - steht ohne Zuhilfenahme der Arme < 3 sec
 - steht 3-9 sec
 - steht ≥ 10 sec unter Schwierigkeiten
 - steht ohne Schwierigkeiten
14. 10 Meter gehen
- Keine Bewegung möglich
 - Schafft auch mit Unterstützung keine 10 Meter
 - 10 Meter, aber braucht Hand oder Wand zur Unterstützung
 - 10 Meter ohne Unterstützung, kein normaler Gang (Pausen ect.)
 - Schafft regulär 10 Meter
15. Springen (beide Beine gleichzeitig)
- Kein Sprung möglich
 - springt < 10 cm vorwärts (oder fällt bei Landung)
 - springt 10-40 cm vorwärts
 - springt 40-100 cm vorwärts
 - springt ≥ 100 cm vorwärts
16. Treppensteigen (4 Stufen)
- Keine Stufe
 - steigt 1-3 Stufen mithilfe des Geländers
 - steigt 4 Stufen mithilfe des Geländers
 - steigt 4 Stufen ohne Geländer, Bein nicht wechselnd
 - steigt 4 Stufen ohne Geländer, wechselnde Beine

30-second chair stand Test:

Wiederholungen: _____

Risikoerhöhung für Stürze:

Age	Men	Women
60-64	<14	<12
65-69	<12	<11
70-74	<12	<10

FI-2-Upper-Extremity Test:

Muskelgruppe	Metronom Beats/min	Wiederholungen 0-60	%/max. 60 Wiederholungen	Muscle exertion Borg CR-10
1. Schulterflexion 1kg	rechts	40		
	links	40		
2. Schulterabduktion	rechts	40		
	links	40		
3. Kopfheben		40		
4. Hüftbeugung	rechts	40		
	links	40		
5. Stufentest	rechts	40		
	links	40		
6. Fersen heben		80		
7. Zehen heben		80		

Dynamometer:

Links: 1) 2) 3)

Rechts:1) 2) 3)

Algometer (OS, Tibia, Deltoid, Brachioradialis):

12. Danksagung

Zuallererst danke ich Herrn Prof. Dr. Reincke für die Möglichkeit, dieses Thema an der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV bearbeiten zu dürfen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Prof. Dr. Nicole Reisch, einerseits für die Überlassung dieses spannenden Themas, vor allem aber für die herausragende Betreuung, die hervorragende Einarbeitung und Unterstützung während der gesamten Arbeit. Darüber hinaus einen großen Dank an das gesamte Team der Arbeitsgruppe für die Unterstützung und die schöne Zusammenarbeit, insbesondere an Magdalena Maurer, Ann-Christin Welp und Fatemeh Promoli. Für die Bereitschaft der Teilnahme an der Studie, welche für sie oftmals einen erheblichen Aufwand bedeutet hat, möchte ich mich ganz besonders bei allen Patienten bedanken.

Ein großer Dank geht an Herrn Dr. Lottspeich sowie Frau Dr. Vill für die Durchführung des Muskelultraschalls. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei dem Endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV für die gute Zusammenarbeit sowie bei Frau Dr. Montagnese für die Unterstützung.

Mein größter Dank gebührt meiner Familie und meinem Partner für die bedingungslose Unterstützung.

13. Affidavit

**Eidesstattliche Versicherung**

Sappl, Andrea

Name, Vorname

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

Klinische Untersuchung zur Tenascin X-Mutation bei Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 26.09.2024

Ort, Datum

Andrea Sappl

Unterschrift

14. Publikationsliste

Teile dieser Arbeit wurden als Abstract oder Poster auf folgenden Kongressen vorgestellt:

Kongress der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (DGE) 2020. “CAH-X Syndrome in a Cohort of 21-Hydroxylase Deficiency”. Sapnl, A. Lottspeich, C. Vill, K. Morak, M. Bidlingmaier, M. Reisch, N.

European Congress of Endocrinology (ECE) 2020. “CAH-X Syndrome in a German Cohort of 21-Hydroxylase Deficiency”. Sapnl, A. Lottspeich, C. Vill, K. Morak, M. Bidlingmaier, M. Reisch, N.

Annual Meeting of The Endocrine Society (ENDO) 2020. “CAH-X Syndrome in a German Cohort of 21-Hydroxylase Deficiency”. Sapnl, A. Lottspeich, C. Vill, K. Morak, M. Bidlingmaier, M. Reisch, N.