

Diplomarbeit

Genetische Aspekte des Polycystischen Ovar-Syndroms (PCOS)

eingereicht von
Matthias Graupp

Mat.Nr.: 0533161

Zur Erlangung des akademischen Grades
**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ)**

An der
Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt an der
Universitätsklinik für Innere Medizin

Unter der Anleitung von
Univ.-Prof. Dr. Barbara Obermayer-Pietsch

Graz, Jänner 2010

Eidestattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 17.01.2010

Danksagung

An erster Stelle möchte ich allen Personen danken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben. Allen voran Frau Univ.-Prof. Dr. Barbara Obermayer-Pietsch, die mir nicht nur in fachlichen Fragen zur Seite stand, sondern mich auch immer wieder aufs Neue für dieses Thema motivierte. Weiters gilt mein Dank Frau Dr. Natascha Schweighofer, Frau Anni Forjanics und Frau Dr. Elisabeth Wehr, die mir bei der praktischen Umsetzung dieser Studie eine große Hilfe waren.

Außerdem möchte ich meinem Freund danken, der mir im privaten Bereich immer Halt gibt.

Abschließend gilt mein spezieller Dank meinen Eltern und Großeltern, die es mir ermöglicht haben, meinen Weg zu gehen und die auch in schwierigen Zeiten immer zu mir gestanden sind. Ihnen möchte ich diese Arbeit widmen.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Hormonhaushalt des Menschen	1
1.1.1	Hormone.....	2
1.1.2	Hormonachsen	3
1.1.2.1	Hypothalamus und Hypophyse	3
1.1.2.2	Hypothalamisch-hypophysär-ovarielle Hormonachse.....	4
1.1.3	Störungen der Hormonachsen.....	7
1.1.3.1	Amenorrhö.....	8
1.1.3.1.1	Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser-Syndrom	11
1.1.3.1.2	Gonadendysgenese	11
1.1.3.1.3	Kallmann-Syndrom	12
1.1.3.1.4	Hyperprolaktinämie	12
1.1.3.1.5	Adrenogenitales Syndrom	13
1.2	PCOS	14
1.2.1	Definition	15
1.2.2	Diagnose	18
1.2.2.1	Hyperandrogenismus.....	18
1.2.2.1.1	Klinisch	18
1.2.2.1.2	Biochemisch	19
1.2.2.2	Chronische Anovulation	19
1.2.2.3	Polyzystische Ovarien.....	20
1.2.2.4	Andere Merkmale.....	20
1.2.3	Differentialdiagnosen	21
1.2.3.1	Störungen der Schilddrüse.....	21
1.2.3.2	Hyperprolaktinämie	21
1.2.3.3	Adrenogenitales Syndrom.....	21

1.2.3.4	Cushing-Syndrom	22
1.2.3.5	Androgensezernierende Tumore.....	22
1.2.3.6	Insulinresistenz-Syndrome.....	23
1.2.3.7	Idiopathischer Hirsutismus	23
1.2.4	Betroffene Organsysteme.....	24
1.2.4.1	Haut.....	24
1.2.4.2	Metabolisches System	26
1.2.4.3	Kardiovaskuläres System.....	28
1.2.4.4	Reproduktives System	30
1.2.4.5	Andere Auswirkungen.....	31
1.2.5	Ursachen	32
1.2.6	Entstehung	34
1.2.6.1	Entstehungskreislauf.....	35
1.2.6.2	Ursprung.....	35
1.2.6.3	Ernährung und Insulinresistenz.....	35
1.2.6.4	Zwei-Stufen-Phänomen	36
1.3	Genetik	37
1.3.1	Struktur und Funktion der DNA.....	37
1.3.2	PCOS und Genetik	40
1.3.3	5 α -Reduktase	42
2	METHODEN	44
2.1	Studiendesign.....	44
2.1.1	Probandinnen mit PCOS	44
2.1.1.1	Einschlusskriterien.....	44
2.1.1.2	Ausschlusskriterien	45
2.1.2	Kontrollprobandinnen	45
2.2	Ausgewählte SNPs	45
2.2.1	SRD5A1	46
2.2.2	SRD5A2	47
2.3	Klinische Untersuchung und Anamnese	48
2.4	Laboruntersuchung.....	49
2.4.1	Hormonstatus	49

2.4.1.1	Labor für Endokrinologie und Stoffwechsel	49
2.4.1.2	Labor der Univ. Klinik für Gynäkologie	53
2.4.2	Weitere Laborparameter	54
2.4.2.1	Oraler Glukosetoleranztest	54
2.4.2.2	HOMA-Index	55
2.5	Molekulargenetische Methoden	56
2.5.1	DNA-Isolierung	56
2.5.2	Aufbewahrung	57
2.5.3	Real-Time-quantitative-PCR	57
2.5.3.1	Prinzip	57
2.5.3.2	Durchführung	60
2.5.3.2.1	rs39848	61
2.5.3.2.2	rs3797179	61
2.5.3.2.3	rs523349	62
2.5.3.3	Auswertung	62
2.5.3.3.1	rs39848	63
2.5.3.3.2	rs3797179	64
2.5.3.3.3	rs523349	64
2.6	Statistik	65
3	ERGEBNISSE	66
3.1	Anthropometrische Daten	66
3.1.1	Vergleich PCOS- zu Kontroll-Probandinnen	67
3.1.2	Vergleich adipöse zu normalgewichtigen PCOS-Probandinnen	67
3.2	SRD5A1	70
3.2.1	Primäre Analyse	70
3.2.2	Sekundäre Analyse	71
3.2.2.1	Ferriman-Gallwey-Score	71
3.2.2.2	Körperfettverteilung	72
3.2.2.3	Glukosehaushalt	73
3.2.2.4	Androgenhaushalt	74

3.3	SRD5A2	75
3.3.1	Primäre Analyse	75
3.3.2	Sekundäre Analyse	76
3.3.2.1	Ferriman-Gallwey-Score	76
3.3.2.2	Körperfettverteilung.....	77
3.3.2.3	Glukosehaushalt	78
3.3.2.4	Androgenhaushalt.....	79
4	DISKUSSION	80
4.1	Primäre Analysen	80
4.2	Sekundäre Analysen.....	83
4.2.1	Ferriman-Gallwey-Score.....	83
4.2.2	Körperfettverteilung	83
4.2.3	Glukosehaushalt.....	84
4.2.4	Androgenhaushalt	84
4.3	Limitationen	85
4.4	Schlussfolgerung	86
5	LITERATURVERZEICHNIS.....	87

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotrophes Hormon
AGA	Androgenetische Alopezie
BMI	Body Mass Index
CRP	C-reaktives Protein
CYP	Cytochrom P
DHEA	Dihydroepiandrosteron
DHEAS	Dihydroepiandrosteronsulfat
DNA	Desoxyribonucleinacid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FAI	Free Androgen Index
FGS	Ferriman-Gallwey Score
ft3	freies Trijodthyronin
ft4	freies Thyroxin
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
HAIR-AN	Hyperandrogenismus Insulinresistenz Acanthosis Nigricans
HDL	High Density Lipoprotein
HGH	Human Growth Hormone
HOMA	Homeostatic Model Assessment
IGF	Insuline-Like Growth Factor
IGT	Impaired Glucose Tolerance
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low Density Lipoprotein
LEU	Leucin
LH	luteinisierendes Hormon
LHRH	luteinisierendes Hormon releasing Hormon
LIA	Luminiscence Immunoassay

Mb	Morbus
MR	Magnetresonanz
mRNA	Messenger RNA
MUG	Medizinische Universität Graz
NBZ	Nüchternblutzucker
NIH	National Institute of Health
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
OR	Odds Ratio
PCOS	Polycystisches Ovar-Syndrom
PCR	Polymerase Kettenreaktion
RIA	Radioimmunoassay
RNA	Ribonucleinacid
rtPCR	real-time-quantitative PCR
SHBG	Sexualhormon bindendes Globulin
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SRD5A1	Isoform 1 der 5 α -Reduktase
SRD5A2	Isoform 2 der 5 α -Reduktase
TGAK	Thyreoglobulin-Antikörper
TPOAK	thyreoidale Peroxidase-Antikörper
TRAK	TSH-Rezeptor-Autoantikörper
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
VAL	Valin
WHR	Waist/Hip-Ratio
ZMF	Zentrum für Medizinische Grundlagenforschung

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: hypothalamisch-hypophysär-ovarielle Hormonachse [3].....	5
Abbildung 2: zyklusabhängiger Hormonverlauf [4]	6
Abbildung 3: Störungen der Hormonachse [4]	7
Abbildung 4: Sonographie normale vs. polyzystische Ovarien [20]	20
Abbildung 5: Mögliche Wege zur kardiovaskulären Erkrankungen beim PCOS [26]	29
Abbildung 6: Entstehung des PCOS [23]	34
Abbildung 7: DNA-Aufbau [35]	38
Abbildung 8: Transkription und Translation [35]	39
Abbildung 9: Androgenmetabolismus [50].....	42
Abbildung 10: Genstruktur und Linkage-Disequilibrium-Plot für SRD5A1; [50].....	46
Abbildung 11: Genstruktur und Linkage-Disequilibrium-Plot für SRD5A2 [50]	47
Abbildung 12: Prinzip der PCR [35].....	58
Abbildung 13: TaqMan-Methode [56]	59
Abbildung 14: Genotypenverteilung für rs39848.....	63
Abbildung 15: Genotypenverteilung für rs3797179.....	64
Abbildung 16: Genotypenverteilung für rs523349.....	64
Abbildung 17: oGTT Glukosewerte nach BMI	69
Abbildung 18: oGTT Insulinwerte nach BMI	69
Abbildung 19: FG-Score bei Haplotypen von SRD5A1.....	71
Abbildung 20: FG-Score bei Genotypen von SRD5A2	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Amenorrhö [5]	10
Tabelle 2: PCOS-Phänotypen [15]	16
Tabelle 3: verschiedene Diagnosekriterien für PCOS [19]	17
Tabelle 4: Kandidatengene I	41
Tabelle 5: Kandidatengene II	42
Tabelle 6: Laborparameter aus dem Labor für Endokrinologie und Stoffwechsel	52
Tabelle 7: Laborparameter aus dem Labor der Univ.-Klinik f. Gynäkologie	53
Tabelle 8: Normwerte des oGTT	54
Tabelle 9: Charakteristika der PCOS-Probandinnen	66
Tabelle 10: Vergleich PCOS- zu Kontroll-Probandinnen	67
Tabelle 11: Vergleich adipöse zu normalgewichtige PCOS-Probandinnen.....	68
Tabelle 12: Verteilung der Haplotypen für SRD5A1	70
Tabelle 13: Haplotyp TA aus SRD5A1 bei Normalgewichtigen	70
Tabelle 14: Körperfettverteilung SRD5A1	72
Tabelle 15: W/H-Ratio SRD5A1	73
Tabelle 16: Glukosehaushalt SRD5A1	73
Tabelle 17: Androgenhaushalt SRD5A1	74
Tabelle 18: Verteilung der Genotypen für SRD5A2	75
Tabelle 19: G-Allel in SRD5A2 bei Normalgewichtigen	75
Tabelle 20: Körperfettverteilung SRD5A2	77
Tabelle 21: W/H-Ratio SRD5A2	78
Tabelle 22: Glukosehaushalt SRD5A2	78
Tabelle 23: Androgenhaushalt SRD5A2	79

Zusammenfassung

Das Polycystische Ovar-Syndrom ist eine weit verbreitete Endokrinopathie mit einer Prävalenz zwischen 6 und 22% aller Frauen. Zur Diagnose müssen nach Ausschluss anderer Ursachen zwei der folgenden Kriterien zutreffen: 1.) klinisch oder biochemisch Hyperandrogenismus 2.) Oligo- und/oder Anovulation 3.) sonographisch polycystische Ovarien. Wichtig in der Pathophysiologie dieses Syndroms dürfte die 5 α -Reduktase sein, die nicht nur Testosteron zu Dihydrotestosteron metabolisiert, sondern auch für die Umwandlung von Cortisol zu Dihydrocortisol verantwortlich ist. Eine Aktivitätserhöhung dieses Enzyms in Ovarien und Peripherie konnte bei Betroffenen bereits nachgewiesen werden, wofür genetische Veränderungen verantwortlich sein könnten. Das Ziel dieser Studie war die Analyse repräsentativer genetischer Varianten beider Isoformen der 5 α -Reduktase hinsichtlich PCOS-Parametern.

Hierfür wurden von der Isoform 1 ein Haplotyp, bestehend aus den beiden SNPs rs39848 und rs3797179, und von der Isoform 2 der SNP rs523349, von 294 Probandinnen mit PCOS und 233 gesunden Kontrollpersonen mittels eines 5'-Exonuclease-Assays untersucht. Eine genaue Phänotypisierung mit anthropometrischen, klinischen sowie funktionellen Daten und Labor wurde vorgenommen.

Die Variante `TA` im untersuchten Haplotyp der Isoform 1 war bei normalgewichtigen Probandinnen mit einer signifikant höheren Frequenz für PCOS und einem signifikant höheren Ferriman-Gallwey-Score (Hirsutismus) verbunden. Weiters zeigte sich eine signifikant niedrigere Häufigkeit dieses Syndroms bei normalgewichtigen Frauen bei Vorliegen des G-Allels am untersuchten Genlocus der Isoform 2.

Ein Schlüsselement in der Entstehung des PCOS ist der Hyperandrogenismus, wobei dieser durch die erhöhte Aktivität der 5 α -Reduktase zu Stande kommen könnte. Es ist bekannt, dass Adipositas eine solche Aktivitätserhöhung bewirken kann. Bei normalgewichtigen Frauen scheinen jedoch genetische Faktoren eine entscheidende Rolle zu spielen.

Abstract

The polycystic ovary syndrome is one of the most common endocrine disorders, affecting between 6 and 22 % of all women in reproductive age. The diagnosis can be made after the exclusion of other diseases, if two of the following conditions are met: 1.) hyperandrogenism 2.) oligo- and/or anovulation 3.) polycystic ovaries. 5 α -reductase may be important in the pathophysiology of this syndrome, given its role in converting testosterone to dihydrotestosterone and cortisol to dihydrocortisol. An increased activity of this enzyme has already been demonstrated in ovaries of concerned women, which might be caused by genetic alterations. The aim of this study was to analyze representative genetic variants of both isoforms of the 5 α -reductase with regard to PCOS-parameters.

Therefore, we performed analysis of one haplotype of the isoform 1, consisting of the two SNPs rs39848 and rs3797179, and one SNP (rs523349) of the isoform 2 in 294 women with PCOS and 233 healthy women using a 5'-exonuclease-assay. Moreover we evaluated the metabolic phenotype of the women by means of anthropometric, clinical as well as functional tests and blood sampling.

In the investigated haplotype of isoform 1 the `TA`-variant was associated with an increased frequency of PCOS and an increased Ferriman-Gallwey-Score (hirsutism) in women of normal weight. The G-allele at the examined position of the isoform 2 showed a decreased frequency of PCOS in women of normal weight.

One of the keys in the development of the polycystic ovary syndrome is hyperandrogenism, which might be caused by the increased 5 α -reductase-activity. Obesity is known to result in an increase of this enzyme-activity. However genetics seem to play a decisive role when it comes to normal weight.

1 EINLEITUNG

In der vorliegenden Arbeit werden die genetischen Aspekte des Polycystischen Ovar-Syndroms, im Weiteren auch als PCO bezeichnet, untersucht. Da die Veränderungen dieser komplexen Erkrankung vor allem das vielseitige Zusammenspiel der Hormone in all seinen Facetten beeinträchtigt, soll hier anfangs ein kurzer Einblick in den Hormonhaushalt des menschlichen Körpers gegeben werden.

1.1 Hormonhaushalt des Menschen

Der menschliche Körper besteht aus einer geschätzten Anzahl von 10^{13} bis 10^{14} einzelnen Zellen, die zusammen das wohl komplexeste System der Erde darstellen und bis heute sind wir noch nicht in der Lage dieses System vollkommen zu verstehen. Wir wissen seit geraumer Zeit, dass all diese Zellen, aus denen wir bestehen, sich auf bestimmte Aufgaben spezialisieren und sich zu Organen zusammenfinden, die wiederum komplexe Organsysteme bilden. Somit entstehen komplizierte Regelkreise. Um die Gesamtfunktion dieses komplizierten Gebildes aber zu gewährleisten, müssen die verschiedenen Komponenten miteinander kommunizieren können und hierzu bedient sich die Natur unter anderem der Hormone, die Nachrichten auch über weite Strecken und in unserem gesamten Körper verbreiten können. Immerhin sind es diese Stoffe, die dafür verantwortlich sind, dass wir zum Beispiel wachsen und dass Frauen im Idealfall alle 28 Tage einen Eisprung haben.

1.1.1 Hormone

Was sind also diese Hormone eigentlich? Unter diesem Begriff werden verschiedene chemische Substanzen zusammengefasst, die in bestimmten Drüsenzellen gebildet und, teilweise in den Blutkreislauf, ausgeschüttet werden, um an ihren eigentlichen Wirkort zu gelangen. Im Bezug auf die Bildung werden glanduläre Hormone, also solche die in einer speziellen Drüse (Hypophyse, Pankreas etc.) gebildet werden, von autokrinen und parakrinen Hormonen unterschieden. Die beiden letztgenannten werden von einzelnen Zellen hergestellt, die in verschiedenen Organen wie zum Beispiel dem Herzen, der Niere oder auch dem Gastrointestinaltrakt verteilt sind. Autokrin bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die, gebildeten Hormone in die unmittelbare Umgebung abgegeben werden und somit auf die sezernierende Zelle selbst rückwirken können. Parakrine Hormone sind solche, die bis zu ihrem vorgesehenen Ort der Wirkung nur über kurze Strecken, meist entlang genau definierter Wege, transportiert werden. [1] Chemisch gesehen kann man diese Stoffe unterteilen in Peptidhormone, welche wie herkömmliche Proteine über Transkription und Translation von der Zelle hergestellt werden können, Steroidhormone (Kortisol und sämtliche Geschlechtshormone), allesamt Abkömmlinge des Cholesterins, und Aminosäure-Derivate (vor allem Schilddrüsenhormone), welche durch Veränderungen von Aminosäuren entstehen. [2] Nach der Bildung werden die Hormone je nach chemischen Eigenschaften unterschiedlich transportiert. Wenn sie an ihrem Bestimmungsort angekommen sind, müssen sie nunmehr an einen Rezeptor binden, um auch einen Effekt in der Zielzelle hervorrufen zu können. Sowohl die Rezeptoren als auch die weitere Verarbeitung der Information ist abhängig von den chemischen Eigenschaften des betreffenden Hormons. Peptidhormone binden durch die Tatsache, dass sie hydrophil sind, an Rezeptoren, die sich auf den Membranen der Zellen befinden, wohingegen Steroidhormone durch ihre lipophilen Eigenschaften an intrazelluläre Rezeptoren binden. [1]

1.1.2 Hormonachsen

Um die Wirkung dieser Stoffe anschließend auch kontrollieren zu können, haben sich Regelkreise entwickelt, die gewährleisten, dass auf die akuten Anforderungen des Organismus eingegangen werden kann und die Konzentrationen der Hormone in bestimmten Grenzen gehalten werden. In einem solchen Regelkreis wird durch Rezeptoren die aktuelle Höhe des Spiegels eines bestimmten Hormons gemessen und anschließend je nach Bedarf die Produktion bzw. die Sekretion dieses Hormons gesteigert oder vermindert, was als positive bzw. negative Rückkopplung bezeichnet wird. Anders ausgedrückt, werden mehrere Organe des endokrinen Systems zu so genannten Hormonachsen zusammengefasst, die gemeinsam für die Regulierung bestimmter Vorgänge verantwortlich sind.

1.1.2.1 Hypothalamus und Hypophyse

Eine zentrale Rolle hierbei nimmt der Hypothalamus ein. Mit seinem Sitz in der Nähe des dritten Ventrikels im Gehirn fungiert diese Struktur als Schaltstelle zwischen nervalen und hormonalen Signalen und kontrolliert dadurch eine Vielzahl an Körperfunktionen, wie das körperliche Wachstum und auch Sexualfunktionen. Die Hypophyse sitzt in der so genannten Sella turcica an der Schädelbasis und wird in einen Vorder- und einen Hinterlappen eingeteilt. Der hypothalamo-hypophysäre Portalkreislauf verbindet diese beiden wichtigen Strukturen und ermöglicht den notwendigen Stoffaustausch. Zum einen werden im Hypothalamus Hormone, wie Oxytocin oder Adiuretin, gebildet, die in der Neurohypophyse, dem Hypophysenhinterlappen nur zwischengespeichert und bei Bedarf in die Körperperipherie abgegeben werden, um dort direkt zu wirken. Zum anderen bildet der Hypothalamus Releasing- und Inhibiting-Hormone, die die Funktion der Adenohypophyse, also des Hypophysenvorderlappens, steuern, indem sie dazu führen, dass hier weitere Hormone gebildet oder deren Bildung gehemmt werden. Die vom Hypophysenvorderlappen gebildeten Hormone können wiederum eingeteilt werden in glandotrope und nicht-glandotrope Hormone.

Glandotrope Hormone, wie zum Beispiel ACTH (adrenocorticotropes Hormon) oder TSH (thyreoideastimulierendes Hormon) führen dazu, dass in weiteren Drüsen, wie zum Beispiel der Nebenniere, im Falle des ACTH oder in der Schilddrüse im Falle des TSH wiederum Hormone produziert werden, die dann in den meisten Fällen auf die eigentlichen Zielorgane wirken. Bei nicht-glandotropen Hormonen wie Prolaktin kann diese Zwischenstufe einer weiteren Drüse nicht beobachtet werden, sodass diese Hormone ihre Wirkung direkt im Körper vermitteln.

1.1.2.2 Hypothalamisch-hypophysär-ovarielle Hormonachse

Beispielhaft soll hier die hypothalamisch-hypophysär-ovarielle Hormonachse angeführt werden, da diese auch eine wichtige Rolle beim Polycystischen-Ovar Syndrom spielt. Wie oben angeführt, werden vom Hypothalamus so genannte Releasing-Hormone ausgeschüttet. Im konkreten Fall handelt es sich hierbei um das Gonadotropin-Releasing-Hormon, im Weiteren auch als GnRH bezeichnet, das über den oben beschriebenen Portalkreislauf vom Hypothalamus zur Hypophyse gelangt. Wichtig hierbei ist vor allem, dass die Freisetzung des GnRH in pulsatiler Form verläuft, wobei die Zeitintervalle zwischen den einzelnen Sekretionsmomenten des Hormons je nach aktueller Zyklusphase zwischen 60 und 120 Minuten betragen können. In der Hypophyse wird FSH (follikelstimulierendes Hormon) und LH (luteinisierendes Hormon) unter der Wirkung von GnRH gebildet und ausgeschüttet. FSH bewirkt in den Ovarien einerseits die Reifung und das Wachstum der Follikel und andererseits gemeinsam mit LH eine Östrogensynthese. Auch FSH wird in pulsatiler Form sezerniert und steigt in seiner Konzentration während der Follikelphase, also der ersten Phase des Zyklus, in dem eine Eizelle zum sprungreifen Follikel heranreift, bis zu einem Maximum in der Zyklusmitte an, um in der Corpus-Luteum-Phase, der zweiten Phase, die sich an die Ovulation, also den Eisprung, anschließt, wieder abzusinken. LH unterstützt ebenso die Eizellreifung und bewirkt zusammen mit FSH wie oben beschrieben die Östrogensynthese. Diese vom Ovar gebildeten Östrogene hemmen normalerweise im Sinne eines negativen Feedbackmechanismus die LH- bzw. FSH-Ausschüttung.

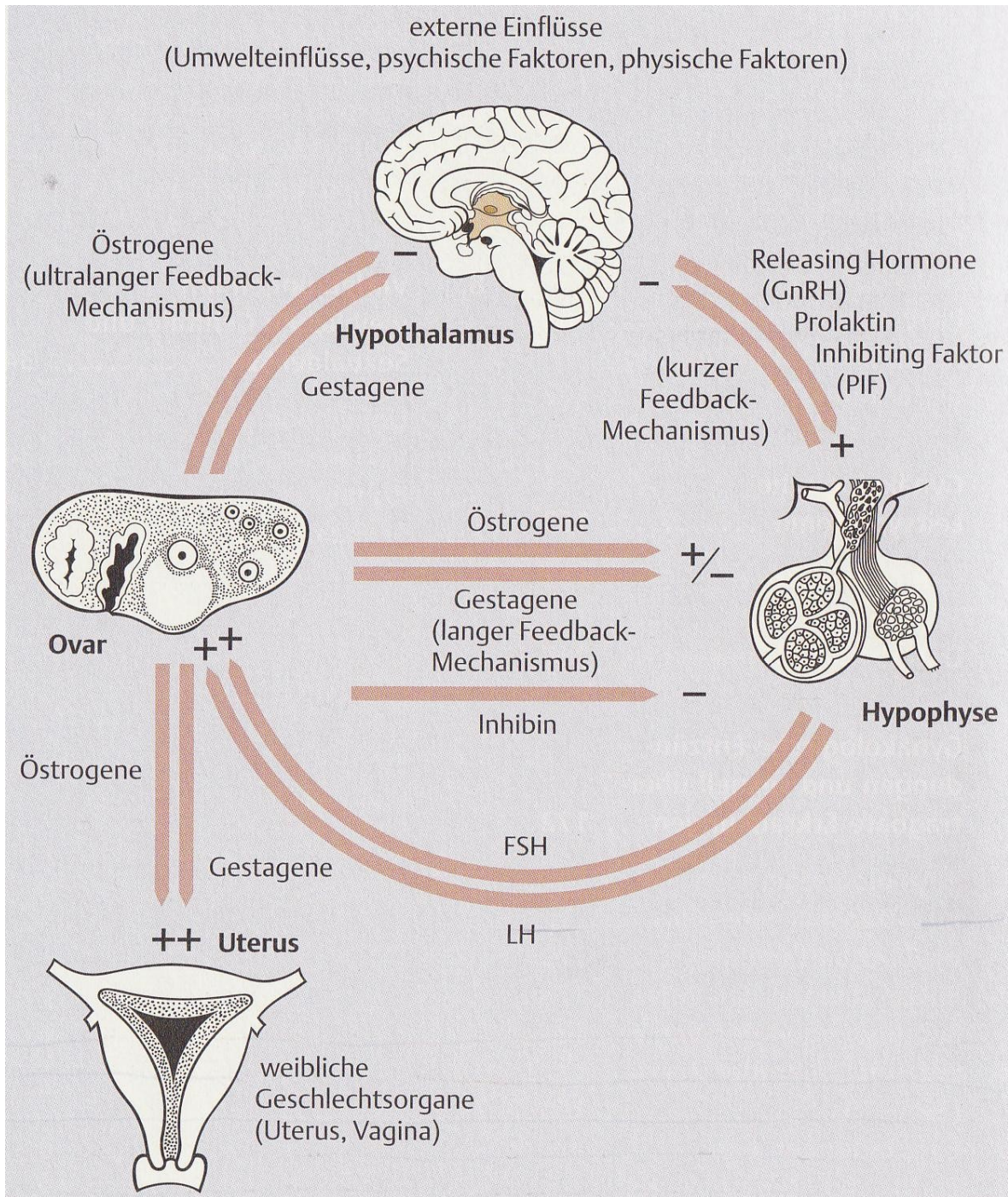


Abbildung 1: hypothalamisch-hypophysär-ovarielle Hormonachse [3]

Ungefähr 24 Stunden vor der Ovulation [1] schlägt dies jedoch in einen positiven Feedbackmechanismus um, sodass die während der Follikelphase gestiegene Östrogenkonzentration einen LH-Peak, also einen kurzzeitigen Anstieg der LH-Konzentration auf das zehnfache der Basiskonzentration, bewirkt, was die Ovulation

auslöst. In der Corpus-Luteum-Phase bewirkt LH außerdem die Progesteronbildung im Gelbkörper, der nach dem Eisprung aus dem Follikel entsteht. In den Ovarien werden, wie bereits erwähnt, in der Follikelphase Androgene und Östrogene unter dem Einfluss von LH und FSH in speziellen Zellschichten, nämlich der Granulosa- und der Thekazellschicht, die Teil des heranreifenden Follikels sind, gebildet. Androgene wie Androstendion und Testosteron werden in den Thekazellen aus Cholesterin gebildet, um anschließend in den Granulosazellen durch Aromatisierung zu Östrogenen umgewandelt zu werden. Die wichtigsten natürlichen Östrogene sind Östradiol, Östron und Östriol, die gemeinsam vor allem für die Reifung der weiblichen Geschlechtsorgane und die Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale verantwortlich sind. In den Granulosazellen des heranreifenden Follikels wird außerdem noch das Hormon Inhibin gebildet, das FSH selektiv hemmt. In der Gelbkörperphase nach der Ovulation wird durch den Einfluss von LH vor allem Progesteron im Corpus luteum gebildet, welches in erster Linie den Schutz einer eventuell eingetretenen Schwangerschaft durch verschiedene Mechanismen wie den Verschluss des Muttermundes und einer Tonusminderung der Uterusmuskulatur zur Aufgabe hat. [3]

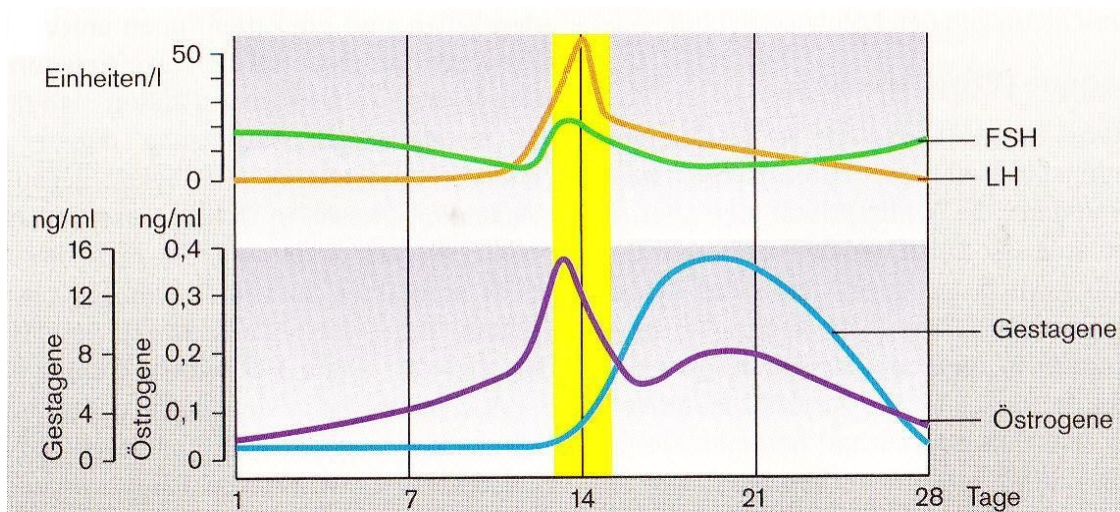


Abbildung 2: zyklusabhängiger Hormonverlauf [4]

1.1.3 Störungen der Hormonachsen

Aufgrund der oben beschriebenen Komplexität der Hormonachsen ergibt sich eine breite Palette an möglichen Störungen. So können unterschiedliche Ursachen, sowohl psychischer als auch physischer Natur solche Systeme stören.

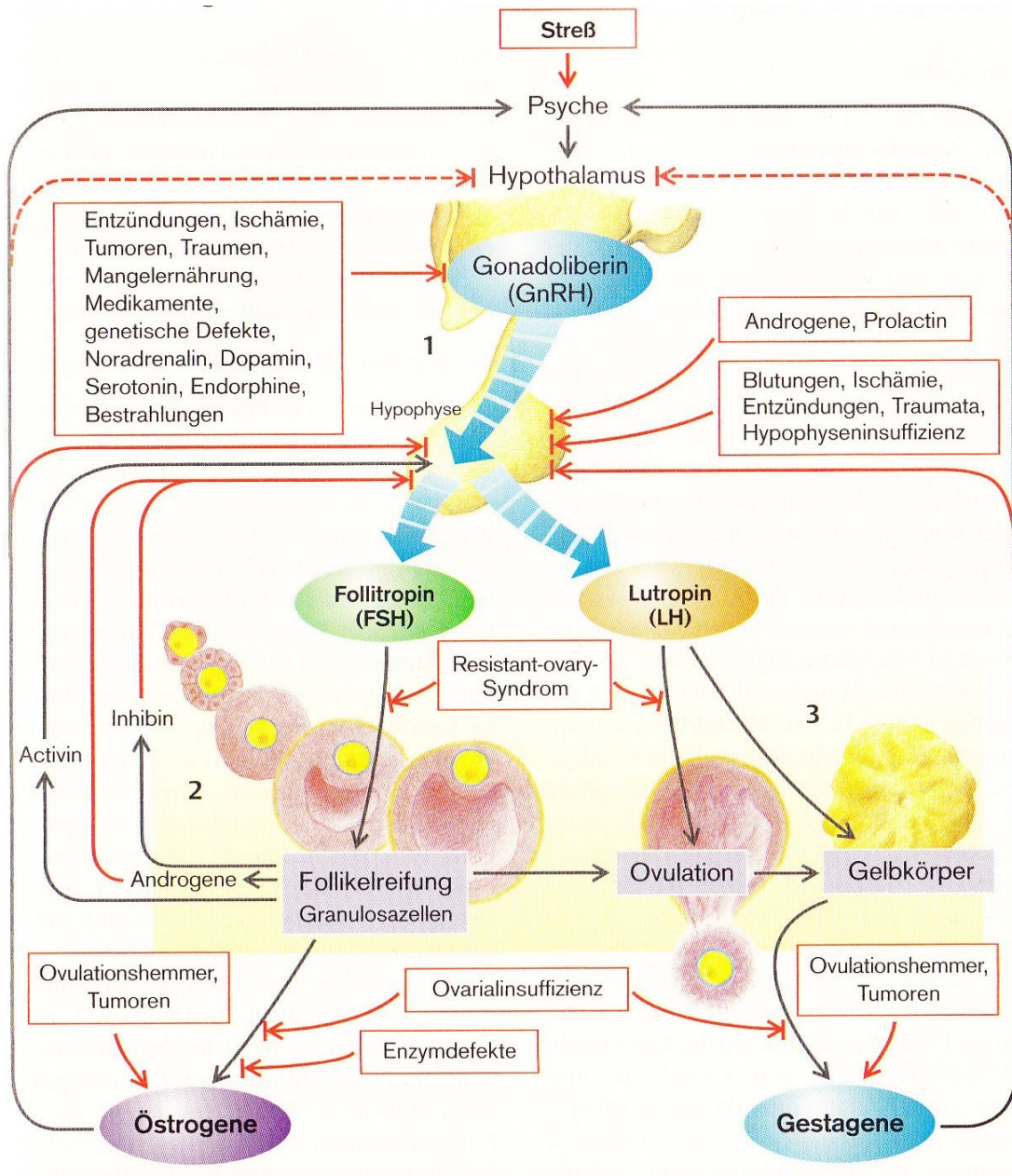


Abbildung 3: Störungen der Hormonachse [4]

Vor allem auch in der oben beschriebenen hypothalamisch-hypophysär-ovariellen Hormonachse können psychische Belastungen und Stress eine Verschiebung des Gleichgewichts der Hormone herbeiführen und sich in verschiedensten Beschwerden äußern. Aus physischer Sicht können sowohl strukturelle als auch funktionelle Störungen auf den verschiedensten Ebenen der Hormonachsen vorliegen. Hierbei kann es sich unter anderem um Entzündungen, Tumore, Traumen, Ischämien, Blutungen oder auch genetische Defekte handeln, die in Abhängigkeit des Ortes, an dem sie auftreten, die unterschiedlichsten Auswirkungen haben können. Die Beschwerden, die sich daraus ergeben, hängen in weiterer Folge davon ab, ob es durch die zu Grunde liegende Störung zu einem Mangel oder zu einem Überschuss an den betroffenen Hormonen kommt, welche dann entsprechend ihrer Wirkung die verschiedensten Symptome auslösen können. Abbildung 3 soll beispielhaft für die hypothalamisch-hypophysär-ovarielle Hormonachse mögliche Ursachen für Probleme in diesem System veranschaulichen. [4]

1.1.3.1 Amenorrhö

Als Beispiel für ein typisches Symptom, welches durch die unterschiedlichsten Störungen in der zuvor beschriebenen hypothalamisch-hypophysär-ovariellen Hormonachse entstehen kann, soll hier die Amenorrhö (griech. „fehlende Menses“) angeführt werden. Prinzipiell versteht man unter Amenorrhö das Ausbleiben der Regelblutung. Hierbei wird aber noch zwischen einer primären und einer sekundären Form unterschieden. Ersteres trifft auf Frauen zu, die bis zum 14. Lebensjahr keine Menarche verzeichnen und keine Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale zeigen, oder die bis zum 15. Lebensjahr keine spontane Menstruationsblutung haben, unabhängig von der Ausprägung sekundärer Geschlechtsmerkmale. Von einer sekundären Amenorrhö spricht man bei Frauen, die zuvor eine normale Monatsblutung hatten und bei denen für einen Zeitraum, der drei ihrer vorhergehenden Zyklusintervalle entspricht, oder für einen Zeitraum von mehr als sechs Monaten, die Menstruation ausbleibt. [3]

Die Gründe hierfür können, wie oben angeführt, sehr unterschiedlich sein, weshalb das „Practice Committee of the American Society of Reproductive Medicine“ eine Klassifikation erstellt hat, in der die Klassen nach der Ursache für das Ausbleiben der Regel eingeteilt werden kann. [5]

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, kann es sich dieser Einteilung zufolge also um anatomische Defekte, um einen primären Hypogonadismus, um hypothalamische Ursachen, hypophysäre Ursachen, um Erkrankungen anderer Hormondrüsen oder um multifaktorielle Ursachen handeln, die das Ausbleiben der Regel zur Folge haben können. Auf einige der in Tabelle 1 genannten Erkrankungen soll im Folgenden exemplarisch eingegangen werden.

TABLE 1**Classification of amenorrhea (not including disorders of congenital sexual ambiguity).**

- I. Anatomic defects (outflow tract)
 - A. Müllerian agenesis (Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome)
 - B. Complete androgen resistance (testicular feminization)
 - C. Intrauterine synechiae (Asherman syndrome)
 - D. Imperforate hymen
 - E. Transverse vaginal septum
 - F. Cervical agenesis—isolated
 - G. Cervical stenosis—iatrogenic
 - H. Vaginal agenesis—isolated
 - I. Endometrial hypoplasia or aplasia—congenital
- II. Primary hypogonadism
 - A. Gonadal dysgenesis
 - 1. Abnormal karyotype
 - a. Turner syndrome 45,X
 - b. Mosaicism
 - 2. Normal karyotype
 - a. Pure gonadal dysgenesis
 - i. 46,XX
 - ii. 46,XY (Swyer syndrome)
 - B. Gonadal agenesis
 - C. Enzymatic deficiency
 - 1. 17 α -Hydroxylase deficiency
 - 2. 17,20-Lyase deficiency
 - 3. Aromatase deficiency
 - D. Premature ovarian failure
 - 1. Idiopathic
 - 2. Injury
 - a. Chemotherapy
 - b. Radiation
 - c. Mumps oophoritis
 - 3. Resistant ovary
 - a. Idiopathic
- III. Hypothalamic causes
 - A. Dysfunctional
 - 1. Stress
 - 2. Exercise
 - 3. Nutrition-related
 - a. Weight loss, diet, malnutrition
 - b. Eating disorders (anorexia nervosa, bulimia)
 - 4. Pseudocyesis
 - B. Other disorders
 - 1. Isolated gonadotropin deficiency
 - a. Kallmann syndrome
 - b. Idiopathic hypogonadotropic hypogonadism
 - 2. Infection
 - a. Tuberculosis

ASRM Practice Committee. Amenorrhea. Fertil Steril 2008.

TABLE 1**Continued.**

- b. Syphilis
 - c. Encephalitis/meningitis
 - d. Sarcoidosis
 - 3. Chronic debilitating disease
 - 4. Tumors
 - a. Craniopharyngioma
 - b. Germinoma
 - c. Hamartoma
 - d. Langerhans cell histiocytosis
 - e. Teratoma
 - f. Endodermal sinus tumor
 - g. Metastatic carcinoma
- IV. Pituitary causes
 - A. Tumors
 - 1. Prolactinomas
 - 2. Other hormone-secreting pituitary tumor (ACTH, thyrotropin-stimulating hormone, growth hormone, gonadotropin)
 - b. Mutations of FSH receptor
 - c. Mutations of LH receptor
 - d. Fragile X syndrome
 - 4. Autoimmune disease
 - 5. Galactosemia
- V. Other endocrine gland disorders
 - A. Adrenal disease
 - 1. Adult-onset adrenal hyperplasia
 - 2. Cushing syndrome
 - B. Thyroid disease
 - 1. Hypothyroidism
 - 2. Hyperthyroidism
 - C. Ovarian tumors
 - 1. Granulosa-theca cell tumors
 - 2. Brenner tumors
 - 3. Cystic teratomas
 - 4. Mucinous/serous cystadenomas
 - 5. Krukenberg tumors
 - 3. Nonfunctional tumors (craniopharyngioma)
 - 4. Metastatic carcinoma
 - B. Space-occupying lesions
 - 1. Empty sella
 - 2. Arterial aneurysm
 - C. Necrosis
 - 1. Sheehan syndrome
 - 2. Panhypopituitarism
 - D. Inflammatory/infiltrative
 - 1. Sarcoidosis
 - 2. Hemochromatosis
 - 3. Lymphocytic hypophysitis
 - E. Gonadotropin mutations (FSH)
- VI. Multifactorial causes
 - A. Polycystic ovary syndrome

ASRM Practice Committee. Amenorrhea. Fertil Steril 2008.

Tabelle 1: Klassifikation der Amenorrhö [5]

1.1.3.1.1 Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser-Syndrom

Hierbei handelt es sich um den häufigsten anatomischen Defekt bei Amenorrhö. Bei den Betroffenen ist die Kanalisierung des Genitalstranges nicht ordnungsgemäß verlaufen, sodass die Scheide stark hypoplastisch ist oder vollständig fehlt. Die Gebärmutter dieser Frauen ist meist nur rudimentär angelegt und besitzt auch keine Verbindung zum Introitus, der normal ausgebildet ist. Da durch den normalen weiblichen Genotyp (46, XX) die Entwicklung des Aussehens, der Brüste und auch der Vulva normal verläuft, wird diese anatomische Anomalie meist erst in der Pubertät durch die Abklärung der primären Amenorrhö oder bei Kohabitationsbeschwerden festgestellt. Die Hormonsituation ist, auf Grund der meist normal entwickelten Ovarien nicht gestört, jedoch kommen kombinierte Fehlbildungen, vor allem im Bereich der Nieren häufig vor. Da die Frauen aufgrund der Fehlbildungen den Uterus betreffend infertil sind, besteht die Therapie hier in der Schaffung einer funktionsfähigen Scheide.

1.1.3.1.2 Gonadendysgenese

Bei der Gonadendysgenese handelt es sich um eine Form des primären Hypogonadismus. Hier werden die Gonaden durch bindegewebige Stränge, so genannte „streaks“, ersetzt, in denen sich jedoch keine Keimzellen befinden. Im Bezug auf den Chromosomensatz dieser Individuen kann es sich sowohl um einen weiblichen (46,XX), als auch um einen männlichen (46, XY) Genotyp handeln, was dann als Swyer-Syndrom bezeichnet wird. Auch (45, X0), also das Fehlen eines X-Chromosoms, besser bekannt als Ullrich-Turner-Syndrom und Mosaikformen sind hierbei möglich. Da die Ovarien dieser Frauen keine Hormone bilden können, bleiben die Geschlechtsorgane auf dem Stadium der Präpubertät stehen und durch das Ausbleiben der negativen Rückkopplung entstehen hohe FSH- und LH-Spiegel („hypergonadotroper Hypogonadismus“). Die Therapie sieht hier die jahrelange Substitution mit Östrogen-Gestage-Kombinationspräparaten vor und ist somit keine kausale Therapie. [3]

1.1.3.1.3 Kallmann-Syndrom

Beim Kallmann-Syndrom (auch olfaktogenitales Syndrom) kommt es bei den Betroffenen zu einem Fehlen des Geruchsinnes und primärer Amenorrhö. Der Grund hierfür liegt darin, dass durch einen genetischen Defekt die Migration von olfaktorischen und GnRH-bildenden Neuronen in den Hypothalamus gestört ist, weshalb dieses Syndrom zu den hypothalamischen Ursachen für Amenorrhö gezählt wird. Es handelt sich hierbei also um einen hypogonadotropen Hypogonadismus. Dies führt untherapiert auch zu einem Ausbleiben der Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale in der Pubertät. Da die Geschlechtsorgane selbst jedoch normal entwickelt sind ist es mit einer medikamentösen Hormontherapie möglich eine Ovulation auszulösen. Des Weiteren ist auch die Möglichkeit einer normalen Schwangerschaft gegeben. [6]

1.1.3.1.4 Hyperprolaktinämie

Unter den hypophysären Ursachen ist die Hyperprolaktinämie die häufigste. Hierbei handelt es sich um erhöhte Prolaktinspiegel im Blut, die wiederum durch verschiedenste Gründe entstehen können. So steigt Prolaktin bei der Einnahme von bestimmten Substanzen, wie zum Beispiel Neuroleptika, an. Weiters können auch Tumore Prolaktin bilden, hierbei kommt vor allem das Prolaktinom, ein Adenom der Hypophysenvorderlappens, vor. Pathologisch hohe Spiegel dieses Hormons führen zu einer Hemmung der GnRH-Freisetzung und des Weiteren somit zu einer Ovarialinsuffizienz. Ein typisches Symptom, welches jedoch nicht immer bei Hyperprolaktinämie vorhanden sein muss ist die Galaktorrhö, also die Milchproduktion der weiblichen, und in vielen Fällen auch männlichen, Brustdrüse außerhalb einer Schwangerschaft. Die Therapie dieser PatientInnen ist von der zu Grunde liegenden Ursache abhängig und reicht von der Gabe von Prolaktinhemmern bis zu neurochirurgischen Operationen bei Tumoren. [3]

1.1.3.1.5 Adrenogenitales Syndrom

Das adrenogenitale Syndrom wird im Englischen auch als „adult-onset adrenal hyperplasia“ bezeichnet und fasst verschiedene Enzymstörungen der Nebennierenrinde zusammen. Die drei am häufigsten gestörten Enzyme sind:

- 21-Hydroxylase
- 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase
- 11 β -Hydroxylase

Diese drei Enzyme sind alle an der Synthese des Cortisols beteiligt, welches durch deren Defekt nicht in ausreichender Menge produziert wird und somit zu einem Fehlen der negativen Rückkopplung führt. Dies bedingt wiederum eine vermehrte Sekretion von ACTH, was eine Hyperplasie der Nebennierenrinde zur Folge hat. Da in der Nebennierenrinde aber auch Androgene gebildet werden, steigen diese aufgrund dieser Rückkoppelung im weiteren Verlauf stark an. Dies führt bei Frauen mit einem weiblichen Genotyp (46, XX) und normal ausgebildeten inneren Genitalorganen zu einer Vermännlichung der äußeren Genitalorgane, was in der Ausprägung vom Zeitpunkt des Einsetzens und dem Ausmaß der Androgenwirkung abhängt. In der Therapie wird Cortisol substituiert, um die Produktion von ACTH zu vermindern und somit auch die Sekretion der Androgene zu senken. Außerdem können auch antiandrogen wirksame Kontrazeptiva gegeben werden. Langfristig kann in manchen Fällen unter Therapie eine Normalisierung der Ovarialfunktion und somit auch eine Schwangerschaft erreicht werden. [3]

1.2 PCOS

In der unter 1.1.3.1 angeführten Tabelle zur Klassifikation von Amenorrhö des „Practice Committee of the American Society of Reproductive Medicine“, findet sich in der Untergruppe IV „Multifaktorielle Ursachen“ das Polycystische Ovar-Syndrom, oder PCOS, welches das Kernthema der vorliegenden Arbeit darstellt.

Im Jahre 1935 veröffentlichten Stein und Leventhal erstmals die Ergebnisse von Untersuchungen, die sie an 7 Frauen mit Infertilität und Amenorrhö durchgeführt hatten, welche zeigten, dass die Ovarien dieser Patientinnen vergrößert waren und an der Oberfläche mehrere zystische Strukturen aufwiesen. Die Frauen litten außerdem an Hirsutismus und Adipositas. [7] Im Laufe der Zeit wurde daraus das Stein-Leventhal- oder auch Polycystische Ovar-Syndrom, welches vor allem in jüngster Zeit Gegenstand vieler Forschungsarbeiten ist. Ein Grund dafür ist, dass die Prävalenz dieser komplexen Erkrankung mit 5% bis 22% [8–12] aller Frauen, je nach Definition des Syndroms, angegeben wird. Das bedeutet, dass dies die meist verbreitete endokrinologische Erkrankung von Frauen im reproduktionsfähigen Alter ist.

1.2.1 Definition

Aufgrund der Komplexität und der Tatsache, dass das Spektrum der Ausprägungsgrade dieser Erkrankung ziemlich breit ist, wurde in letzter Zeit mehrmals versucht, eine passende Definition zu formulieren, die sowohl eine sinnvolle Diagnosestellung für Betroffene ermöglicht, als auch homogene Untersuchungskollektive für Studien zur Ursachenforschung schafft. Der Anfang wurde hier von den Kriterien des NIH (National Institute of Health) aus dem Jahre 1990 gemacht, wonach für die Diagnose des PCOS vorhanden sein mussten: 1.) Hyperandrogenämie und/oder klinischer Hyperandrogenismus 2.) menstruelle Dysfunktion und 3.) Ausschluss von anderen Erkrankungen. [13] Diese Definition wurde 2003 von den Rotterdam-Kriterien abgelöst, wonach für die Diagnosestellung nach Ausschluss anderer Ursachen zwei der drei folgenden Punkte erfüllt sein müssen:

- 1.) Oligo- und/oder Anovulation
- 2.) klinische und/oder biochemische Zeichen des Hyperandrogenismus
- 3.) sonographisch polycystische Ovarien. [14]

Diese Kriterien von 2003 sind im Grunde jedoch kein Ersatz, sondern vielmehr eine Erweiterung der vorherigen Definition aus dem Jahre 1990, da sie zwei zusätzliche Phänotypen zu den vorherigen mit der Diagnose PCOS ermöglichen. Somit gelten nach diesen Richtlinien Frauen mit 1.) Hirsutismus und/oder Hyperandrogenämie und 2.) polyzystischen Ovarien jedoch ohne ovulatorische Dysfunktion ebenso als betroffen von PCOS wie Frauen mit 1.) polyzystischen Ovarien und 2.) ovulatorischer Dysfunktion, jedoch ohne klinischen oder biochemischen Hinweis auf Hyperandrogenämie. (vgl. Tabelle 2) [14]

TABLE 1																
All possible phenotypes based on the presence or absence of oligo anovulation, hyperandrogenemia, hirsutism, and polycystic ovary syndrome (PCOS).																
Features	Potential Phenotypes															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
Hyperandrogenemia	+	+	+	+	–	–	+	–	+	–	+	–	–	–	+	–
Hirsutism	+	+	–	–	+	+	+	+	–	–	+	–	–	+	–	–
Oligo-anovulation	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–
Polycystic ovaries	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	–	–	–	–
NIH 1990 criteria	✓	✓	✓	✓	✓	✓										
Rotterdam 2003 criteria	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓						
AE-PCOS 2006 criteria	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
<i>Azziz. AE-PCOS Society report on PCOS phenotype. Fertil Steril 2008.</i>																

Tabelle 2: PCOS-Phänotypen [15]

Mehrere Studien konnten anschließend zeigen, dass im Vergleich zwischen den Phänotypen einer der beiden neu eingeschlossenen, nämlich derjenige ohne Hinweis auf Hyperandrogenämie, die am wenigsten ausgeprägten Symptome hat. Frauen, die also polyzystische Ovarien und ovulatorische Dysfunktion ohne Zeichen von Hyperandrogenämie aufweisen, dürften unter einer eher milden Form dieser Erkrankung leiden. Im Gegensatz dazu scheint es, dass Frauen, auf die die Kriterien der NIH von 1990 zutreffen, mit den schwersten klinischen Ausprägungen zu rechnen haben. [16–18] Diese Daten schreiben somit dem Hyperandrogenismus eine entscheidende Rolle in der Definition zu, weshalb 2006 von der „Androgen Excess and PCOS Society“ neue Kriterien eingeführt wurden. Hier müssen zur Diagnose nach Ausschluss anderer Ursachen folgende Merkmale vorhanden sein: 1.) Hyperandrogenismus (klinisch und/oder biochemisch) und 2.) ovarielle Dysfunktion (Oligo-Anovulation und/oder polyzystische Ovarien). [15] Wie in Tabelle 2 ersichtlich, werden durch diese Definition also Frauen mit polyzystischen Ovarien und Oligo-Anovulation ohne Hyperandrogenismus (wie oben erwähnt ein wahrscheinlich milder Phänotyp), aus der Diagnose ausgeschlossen.

NIH 1990¹⁰

To include all of the following:

- (i) Clinical hyperandrogenism and/or hyperandrogenemia
- (ii) Oligo-ovulation
- (iii) Exclusion of related disorders

ESHRE/ASRM (Rotterdam) 2003^{11,12}

To include 2 of the following, in addition to exclusion of related disorders:

- (i) Hyperandrogenism and/or hyperandrogenemia
- (ii) Chronic anovulation
- (iii) Exclusion of related disorders

AES 2006 criteria¹³

To include all of the following:

- (i) Hyperandrogenism (hirsutism and/or hyperandrogenemia)
- (ii) Ovarian dysfunction (oligo-anovulation and/or polycystic ovaries)
- (iii) Exclusion of related disorders

Tabelle 3: verschiedene Diagnosekriterien für PCOS [19]

Auch in Zukunft wird sich die Definition dieser komplexen Erkrankung noch ändern, vor allem um einerseits Patientinnen mit einem Leiden, das klinisch geringere Ausprägungen hat, eine Diagnose zu ermöglichen und andererseits zu vermeiden, dass Frauen ohne Leidensdruck eine Diagnose aufgedrängt wird, die eine lebenslange Therapie nach sich zieht. Im Moment sollten jedenfalls die vorhandenen Kriterien sinnvoll angewendet werden, so eignet sich die Definition der NIH von 1990 vor allem um genetische Hintergründe zu erforschen, da sie für eine maximale Homogenität der Population sorgt, wohingegen die Kriterien aus dem Jahr 2006 der AE-PCOS Society vor allem für Langzeitstudien, die metabolische oder kardiovaskuläre Morbidität der Patientinnen betreffend, geeignet ist. Wenn hingegen zum Beispiel das Risiko für eine Hyperstimulation während einer Therapie zur Ovulationsinduktion untersucht werden soll, scheinen breitere Kriterien wie diejenigen aus Rotterdam 2003 am sinnvollsten. [15]

1.2.2 Diagnose

Da es sich beim PCOS, wie der Name schon sagt um ein Syndrom handelt, ist die Diagnose nicht nur durch einen einzigen Test belegbar, sondern erfordert mehrere Überprüfungen und den Ausschluss von anderen Ursachen. Die drei Hauptmerkmale, die in der Diagnosestellung zu dieser Erkrankung abgeklärt werden müssen sind Hyperandrogenismus, chronische Anovulation und morphologisch polyzystische Ovarien. Um für den klinischen Alltag eine schnelle Entscheidungshilfe bereitzustellen, wurde ein Fragebogen zusammengestellt, der die Hauptmerkmale dieser Erkrankung abfragt und somit eine erste Orientierung ermöglicht, ob Patientinnen möglicherweise an PCOS leiden oder nicht. (siehe Anhang Fragebogen) Zur endgültigen Diagnosestellung müssen jedoch natürlich einige weitere Tests durchgeführt werden.

1.2.2.1 Hyperandrogenismus

Dieser Komponente wird vor allem, wie bereits erwähnt, in den Kriterien der AE-PCOS Society von 2006 ein hoher Stellenwert zugeschrieben, jedoch ist seine Feststellung mitunter recht diffizil. Hyperandrogenismus kann demnach sowohl klinisch als auch biochemisch festgestellt werden.

1.2.2.1.1 Klinisch

Hierunter versteht man vorwiegend die Feststellung von kutanen Manifestationen der Androgenwirkung. Dies beinhaltet Akne (vor allen bei jungen Frauen), Alopezie (vor allem bei älteren Frauen) und Hirsutismus, was mit einer Verbreitung von ca. 60% das häufigste Symptom bei Patientinnen mit PCOS darstellt. Das Ausmaß des Hirsutismus hängt jedoch vom ethnischen Hintergrund der jeweiligen Person ab. [20] Zur Messung kann eine visuelle Skala nach Ferriman und Gallwey benutzt werden, bei der neun verschiedene Körperareale untersucht werden und das Ausmaß der Terminalbehaarung mit 0, was für keine Terminalbehaarung steht, und 4, was für ausgeprägte Terminalbehaarung steht, beurteilt wird. Anschließend werden die Zahlen addiert. Bei einem Ergebnis zwischen 6 und 8 und darüber gilt die Patientin als hirsut. Vgl. FGS im Anhang [19]

1.2.2.1.2 Biochemisch

Die meist verbreitete Methode hierbei ist die Messung von Serum Gesamt-Testosteron (T) und Sex Hormon Binding Protein (SHBG), woraus sich der Anteil des freien Testosterons als Free Androgen Index oder FAI ($FAI = T / SHBG \times 100$) berechnen lässt. Weiters gibt es auch die Möglichkeit, mit speziellen Radioimmunoassays das freie Testosteron direkt zu messen. Auch andere Androgene, wie Androstendion oder Dihydroepiandrosteron (DHEAS) können aus dem Serum bestimmt werden, jedoch sind diese in ihrer Aussagekraft eher von geringerem Stellenwert. Zusätzlich zu technischen Schwierigkeiten dürfen auch bei den biochemischen Methoden zur Bestimmung des Hyperandrogenismus ethnische Hintergründe nicht außer Acht gelassen werden. Aufgrund der lokalen Gegebenheiten ist es wichtig, dass jedes Labor neben einer standardisierten Qualitätssicherung mit Ringversuchen eigene Normbereiche für Androgene festlegt. [19, 20]

1.2.2.2 Chronische Anovulation

Klinisch kann dies durch eine Blutungsanamnese verifiziert werden, wobei Oligo- oder Amenorrhö auf chronische Anovulation hinweisen. Als Oligomenorrhö werden weniger als acht Perioden pro Jahr, oder Zyklen, die länger als 35 Tage dauern, bezeichnet. Unter Amenorrhö versteht man das Ausbleiben der Regel für mehr als drei Monate ohne das Vorliegen einer Schwangerschaft. Aber auch eine regelmäßige Monatsblutung schließt eine chronische Anovulation nicht aus. Bei Patientinnen, bei denen trotz einer regelmäßigen Blutungsanamnese der Verdacht auf chronische Anovulation besteht, kann in den Tagen 20 und 24 des Zyklus, also in der Lutealphase, das Progesteron im Serum gemessen werden. Liegen die Werte dieser Messungen höher als 3 bis 4 ng/ml, kann davon ausgegangen werden, dass eine Ovulation auch wirklich stattgefunden hat. [19, 20]

1.2.2.3 Polyzystische Ovarien

Der Nachweis soll hier mittels transvaginalen Ultraschalls erfolgen. Als „polyzystisch“ gelten Ovarien dann, wenn in der Follikelphase, ohne das Vorliegen von Follikeln größer als 10 mm im Durchmesser, in mindestens einem Ovar 12 oder mehr Follikel, von 2 bis 9 mm Durchmesser zu finden sind, und/oder das ovarielle Volumen auf mehr als 10 ml vergrößert ist. [19, 20]

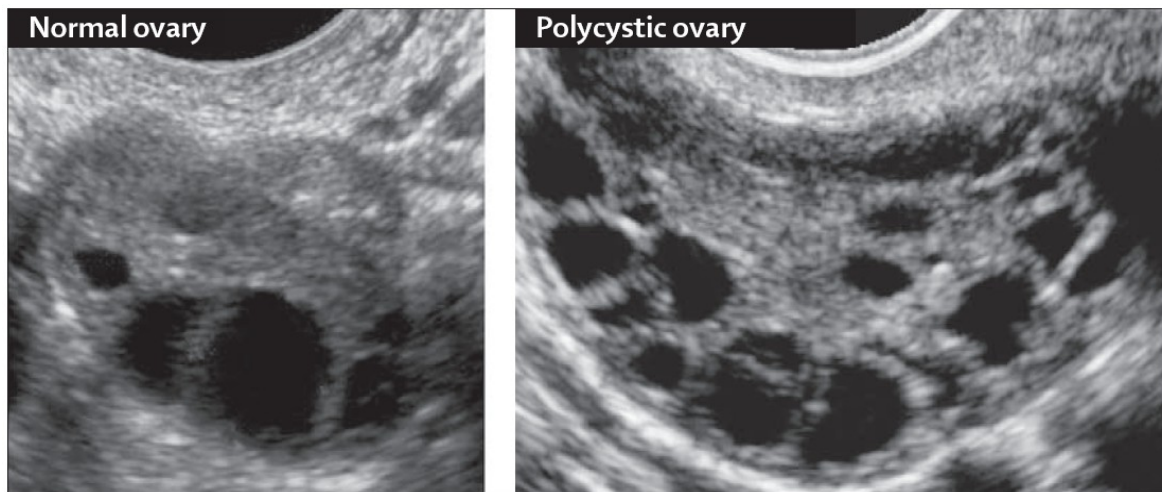


Abbildung 4: Sonographie normale vs. polyzystische Ovarien [20]

1.2.2.4 Andere Merkmale

Auch wenn sie nicht in die Definition des PCOS aufgenommen wurden, gibt es noch andere Merkmale, die bei einem Großteil der Patientinnen mit PCOS auftreten. Hierzu zählen zum Beispiel Veränderungen in der pulsatilen Sekretion von LH. Die erhöhte Sekretion von LH führt demnach zu einem erhöhten LH/FSH-Quotienten während der Follikelphase. Außerdem wird Insulinresistenz, Hyperinsulinämie, Dyslipidämie und das metabolische Syndrom vermehrt bei PCOS-Patientinnen beobachtet. [15]

1.2.3 Differentialdiagnosen

Wie bereits angeführt, kann die Diagnose des PCOS erst gestellt werden, wenn zuvor andere Erkrankungen, die ähnliche Symptome verursachen können, ausgeschlossen wurden.

1.2.3.1 Störungen der Schilddrüse

Sowohl eine Über- als auch eine Unterfunktion der Schilddrüse können Störungen der Menstruation auslösen. Die Häufigkeit von Störungen der Schilddrüse bei Frauen mit menstruellen Problemen ist jedoch relativ gering, das heißt, es sollte vor allem auf schilddrüsentypische Symptome geachtet werden. Aufgrund der Tatsache, dass Serumtests für die Schilddrüse zum klinischen Alltag gehören und nicht sehr kostspielig sind, sollte die Evaluation der Schilddrüsenfunktion bei PCOS-Patientinnen nach Möglichkeit durchgeführt werden. [15]

1.2.3.2 Hyperprolaktinämie

Ein Anstieg des Prolaktins im Blut kann sowohl durch Tumore, die Prolaktin sezernieren, als auch durch eine Vielzahl an funktionellen Ursachen, wie Stress oder Medikamente bedingt sein. Forschungsergebnisse zeigen, dass Hyperprolaktinämie mit einer vermehrten Produktion von Androgenen in der Nebenniere assoziiert ist, was wiederum zu Hyperandrogenismus und somit zu den Symptomen führen kann, die klinisch mit denen des PCOS verwechselt werden können. [15]

1.2.3.3 Adrenogenitales Syndrom

Die Mechanismen, die bei dieser Erkrankung zu Hyperandrogenismus und zu ähnlichen Symptomen wie beim PCOS führen können, wurden bereits unter 1.1.3.1.5 beschrieben. Aufgrund der Tatsache, dass unter der Vielzahl an möglichen Mutationen der Defekt der 21-Hydroxylase am häufigsten ist, sollte dies bei der Diagnostik des PCOS durch die basale Messung von 17-Hydroxyprogesteron ausgeschlossen werden. [15]

1.2.3.4 Cushing-Syndrom

Hierbei handelt es sich um eine Erkrankung, bei der das Cortisol im Blut aufgrund unterschiedlicher Ursachen ansteigt. Einerseits kann es durch vermehrte Stimulation der Nebenniere durch ACTH entstehen, andererseits unabhängig von ACTH zum Beispiel bei Tumoren, die direkt Cortisol sezernieren. Die Symptome können wiederum ähnlich wie beim PCOS Zyklusstörungen, Hirsutismus oder auch Akne beinhalten. Des Weiteren konnte in verschiedenen Studien auch gezeigt werden, dass sogar die Ovarien betroffener Frauen polyzystisch imponieren können. Der Ausschluss dieses Syndroms ist nicht immer ganz einfach und kann zum Beispiel mit einem Dexamethason-Suppressions-Test oder mit der Messung des freien Cortisols im 24-Stunden-Harn erfolgen. [15]

1.2.3.5 Androgensezernierende Tumore

Diese können vor allem in der Niere oder im Ovar auftreten und Hyperandrogenismus und menstruelle Dysfunktion verursachen. Bei Patientinnen mit Verdacht auf PCOS sollte das Screening im Bezug auf solche Tumore vor allem klinisch erfolgen. So kann rasch einsetzender Hyperandrogenismus, vor allem in der Postmenopause, einhergehend mit Vermehrung der Muskelmasse, einer Abnahme der Brustgröße, dem Verlust der weiblichen Körperkontur, einer verstärkten Libido und Hypertrophie der Klitoris auf solch eine Ursache hinweisen. Die weitere Abklärung bei unklarem Befund sollte vor allem radiologisch erfolgen. [15]

1.2.3.6 Insulinresistenz-Syndrome

Hierunter versteht man Syndrome, die aufgrund unterschiedlicher Ursachen zu einer Insulinresistenz mit unterschiedlichen Folgen und Begleiterscheinungen führen. Die Unterteilung erfolgt hier in Typ A, Typ B und Typ C. Von Typ A sind vor allem dünne Frauen betroffen und es entsteht durch einen Defekt des Insulinrezeptors. Typ B resultiert aus einem autoimmunologischen Prozess, der ebenso den Insulinrezeptor betrifft und Typ C ist gekennzeichnet durch das Vorhandensein von Akanthosis nigricans, Hyperandrogenismus, Insulinresistenz, Adipositas und das Fehlen eines Defekts im Insulinrezeptor. Eine andere Bezeichnung für den Typ C ist das HAIR-AN-Syndrom, was für „hyperandrogenic-insulin resistant-acanthosis nigricans-syndrome“ steht. Die Abgrenzung zum PCOS ist mitunter schwierig und wird noch klinisch diskutiert. Außerdem weisen Frauen die von diesen Syndromen betroffen sind oft eine ovarielle Hyperthecosis auf. Dies ist charakterisiert durch mehrere Inseln von hyperplastischen Theka-Zellen im Stroma der Ovarien und das Vorhandensein von relativ wenigen, kleinen atretischen Follikeln. Durch das stark erhöhte Testosteron führt das negative Feedback auf die Hypophyse jedoch zu normalen bis niedrigen Spiegeln an LH und FSH. Da die Insulinresistenz bei diesen Patientinnen ziemlich ausgeprägt ist, entstehen erhebliche Folgen wie Diabetes mellitus Typ 2, Hypertension, Dyslipidämie und in weiterer Folge oft kardiovaskuläre Probleme. Die Diagnose wird hier durch die extrem erhöhten Spiegel an Insulin gestellt. [15]

1.2.3.7 Idiopathischer Hirsutismus

Dies ist ebenso eine Ausschlussdiagnose wie das PCOS selbst. Es sollten hierbei vor allem die Androgenspiegel der Betroffenen evaluiert werden. Beim idiopathischen Hirsutismus kommt es nämlich bei normalen Androgenspiegeln zu einem vermehrten Haarwuchs aufgrund einer erhöhten Aktivität der 5- α -Reduktase der Haarfollikel. Zur Diagnosesicherung müssen also normale Androgenspiegel, eine normale Morphologie der Ovarien und ein normaler Langzeit-Ovulationsverlauf vorliegen. [15]

Bei Patientinnen, die im Verdacht stehen, unter PCOS zu leiden, sollten also primär eine ausführliche Anamnese sowie eine physikalische Untersuchung durchgeführt werden, bei der unter anderem auch der Grad des Hirsutismus mit Hilfe des Scores nach Ferriman und Gallwey erhoben wird und auf klinische Hinweise für einen androgensezernierenden Tumor geachtet wird. Anschließend sollte eine gezielte Labordiagnostik erfolgen, die neben Androgenanalysen (Gesamt-, ev. freies Testosteron und DHEAS) unter anderem die Messung von 17-Hydroxyprogesteron, TSH und Prolaktin enthält, um wie oben erwähnt ein Adrenogenitales Syndrom, Störungen der Schilddrüse und Hyperprolaktinämie auszuschließen. Außerdem muss durch eine transvaginale Ultraschalluntersuchung beziehungsweise durch ein MR in weiterer Folge die Morphologie der Ovarien festgestellt werden. Schlussendlich soll auch die metabolische Situation dieser Patientinnen untersucht werden, was zumindest ein Lipidprofil und einen oralen Glukose-Toleranz-Test beinhalten sollte. [19]

1.2.4 Betroffene Organsysteme

Ist die Diagnose des Polycystischen Ovar-Syndroms einmal gestellt, sollten die Betroffenen nach genauer Evaluierung der individuellen Risikofaktoren über die möglichen weitreichenden Konsequenzen dieser Erkrankung aufgeklärt werden. Die Auswirkungen beschränken sich immerhin keineswegs auf eine veränderte Morphologie der Ovarien, vermehrten Haarwuchs und Hautveränderungen, sondern haben auch Einfluss auf die verschiedensten Organsysteme. Sie können sowohl Veränderungen im kardiovaskulären System als auch u.a. psychische Probleme verursachen.

1.2.4.1 Haut

Die dermatologischen Auswirkungen dieses Syndroms können von den betroffenen Frauen aufgrund der Tatsache, dass diese Symptome von außen leicht erkennbar sind, mitunter als sehr störend und belastend empfunden werden. Die möglichen Ausprägungen sind Hirsutismus, Akne, Alopezie, Seborrhö, Acanthosis nigricans und

seltener auch Virilisierung und Klitorishypertrophie. Die Ursache für alle diese Veränderungen liegt im Hyperandrogenismus.

Als **Hirsutismus**, welches das häufigste dermatologische Symptom beim PCOS darstellt, wird wie schon oben angeführt das vermehrte Wachstum von Terminalhaar, also von kräftigen und vollständig pigmentierten Haaren, in einem Muster, das dem des männlichen Behaarungstyps entspricht, bezeichnet. Hierfür spricht vor allem Behaarung zwischen den Brüsten, im Bereich des Bauchnabels oder der Schulterblätter. Untersuchungen konnten zeigen, dass die Ursache hierfür in der vermehrten Aktivität eines Enzyms in den Haarfollikeln liegt. Dieses Enzym wird als 5 α -Reduktase bezeichnet und wandelt Testosteron zu Dihydrotestosteron um, das hauptsächlich für den vermehrten Haarwuchs verantwortlich gemacht wird. [21] In der Diagnostik muss der Hirsutismus von einer Hypertrichose abgegrenzt werden. Hierunter versteht man einen vermehrten Haarwuchs, der jedoch nicht von Androgenen abhängig ist und sich vom Hirsutismus insofern unterscheidet, als man hier den vermehrten Wuchs von nicht-terminalem Haar ohne männliches Behaarungsmuster beobachten kann. Therapeutisch gibt es viele, aber häufig für die Patientinnen nicht befriedigende Wege, um gegen Hirsutismus vorzugehen. Es stehen sowohl pharmakologische (Androgenblocker, Insulinsensitizer usw.) als auch nicht-pharmakologische Möglichkeiten (Gewichtsreduktion, Laserepilation usw.) zur Verfügung.

Akne als weiteres mögliches Symptom ist eine selbst-limitierende entzündliche Erkrankung der Haut, die ebenso von Androgenen abhängig ist und bei fast 80% aller Adoleszenten vorkommt. Die exakte Prävalenz unter Patientinnen mit PCOS ist noch nicht geklärt, wird aber auch mit ungefähr 83% angegeben. Die genaue Entstehung ist jedoch sehr komplex und noch nicht in allen Details geklärt. Die Therapieoptionen reichen hier von einer oralen Hormontherapie bis zur systemischen Gabe von Antibiotika und Retinoiden.

Alopezie ist der Verlust der Kopfbehaarung, was gelegentlich durch die Gabe von oralen Kontrazeptiva therapiert werden kann. Als komplexes Symptom ist aber auch hier häufig nur eine Mitigierung oder Stabilisierung der Symptomatik für die Patientinnen zu erreichen. Unter **Seborrhö** versteht man die vermehrte Produktion von Hautfetten durch die Talgdrüsen und Acanthosis nigricans ist eine Verdickung der Oberhaut, die vor allem in den Achselhöhlen und den Gelenkbeugen zu braunen bis grauen Hautveränderungen führen kann. **Virilisierung** und **Klitorishypertrophie** sind, wie oben erwähnt, seltener zu beobachten, wobei unter Virilisierung die allgemein Vermännlichung, mit einem Tieferwerden der Stimme und dem Verlust der weiblichen Körperkontur, verstanden wird. In Summe können die dermatologischen Auswirkungen des PCOS also beträchtlich sein und sollten nicht unterschätzt werden, da sie den Betroffenen in verschiedenen Lebenslagen Schwierigkeiten bereiten können. [22]

1.2.4.2 Metabolisches System

Die Veränderungen in diesem System bei Frauen mit PCOS sind weitreichend und nach derzeitigem Stand des Wissens noch nicht genau geklärt. So weiß man zum Beispiel, dass der Prozentsatz an adipösen Frauen unter den Betroffenen, je nach ethnischer Herkunft bei bis zu 30% liegt. Außerdem weisen viele Patientinnen zusätzlich noch eine gestörte Insulinwirkung mit sowohl Insulinresistenz als auch einer β -Zell-Dysfunktion und eine positive Familienanamnese hinsichtlich Diabetes mellitus Typ 2 auf. Alle oben genannten Kriterien stellen Risikofaktoren für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 dar, sodass Betroffene eine 3-7-fach höhere Wahrscheinlichkeit haben diese Form des Diabetes zu entwickeln. [14] Es konnte weiters auch ein Defekt im Insulinsignalweg in den Adipozyten und der Skelettmuskulatur, den primären Zielgeweben des Insulins, dieser Frauen festgestellt werden. Somit leiden 40% dieser Frauen an gestörter Glukose-Toleranz und 10% entwickeln einen frühen Diabetes mellitus Typ 2 bis zur 4. Lebensdekade. [23] Weitere Untersuchungen konnten zeigen, dass dieses erhöhte Risiko unabhängig von Gewicht und Alter der Patientinnen ist, was jedoch nicht ganz unumstritten scheint. [24] Aber nicht nur Insulinresistenz, auch ein Anstieg der zentralen

Fettmasse, Dyslipidämie und eine Blutdruckerhöhung konnte vermehrt nachgewiesen werden. Alle diese Faktoren gehören zum metabolischen Syndrom, was wiederum ein maßgeblicher Risikofaktor für die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen ist. Studien haben gezeigt, dass das metabolische Syndrom bei PCOS-Patientinnen mit einer Häufigkeit von 43-47% vorkommt. 91% der untersuchten Frauen in dieser Studie hatten zumindest einen pathologisch veränderten metabolischen Parameter. Am häufigsten war dies ein verringerter Spiegel an HDL-Cholesterin, was bei 68% festgestellt werden konnte, gefolgt von Adipositas bei 45% der untersuchten Frauen. Als größter Prädiktor für das Vorhandensein eines metabolischen Syndroms wurde in dieser Studie erhöhtes freies Testosteron bzw. ein verminderter Spiegel von SHBG gefunden. [25] Dieses Ergebnis stimmt mit anderen Untersuchungen überein, in denen man herausgefunden hat, dass erhöhte Androgenwerte per se auch ohne das Vorhandensein von Adipositas und Insulinresistenz ein Risikofaktor für die Entstehung des metabolischen Syndroms sind. Was jedoch noch nicht zur Gänze geklärt ist, ist die Frage, ob das metabolische Syndrom nun als Charakteristikum des PCOS angesehen werden kann, oder ob es vielmehr durch andere Faktoren, wie einer konkomitanten Adipositas, verursacht wird. [20] Umgekehrt wird das Polycystische Ovar-Syndrom von vielen wiederum nur als geschlechtsspezifische Variante des metabolischen Syndroms angesehen, wofür deshalb auch der Name „Syndrom XX“ vorgeschlagen wurde. [23] Diese Diskussion ist ähnlich der Frage, wer zuerst da war, die Henne oder das Ei, und wird wohl noch für einige Zeit ungeklärt bleiben.

1.2.4.3 Kardiovaskuläres System

Studien hierzu geben Hinweise darauf, dass das PCOS mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert ist. Sowohl die beobachtete Insulinresistenz, als auch Adipositas und Dyslipidämie bei betroffenen Frauen tragen unter anderem dazu bei, dass sie früh unter endothelialer Dysfunktion und Arteriosklerose der Karotiden und der Koronarien leiden. Welche Rolle hierbei der vorliegende Hyperandrogenismus spielt, ist jedoch noch unklar. Mögliche Wege, die zur Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen bei diesen Frauen führen können sind in Abbildung 5 dargestellt. [26] Hypertonie tritt bei manchen Betroffenen noch im reproduktiven Alter auf, meist jedoch später. [23] Ohne Zweifel besteht bei diesen Patientinnen auf Grund vermehrter Risikofaktoren also eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen. Bis Dato fehlen jedoch Langzeitstudien, die die Morbidität und Mortalität in dieser Hinsicht genau evaluieren. [22]

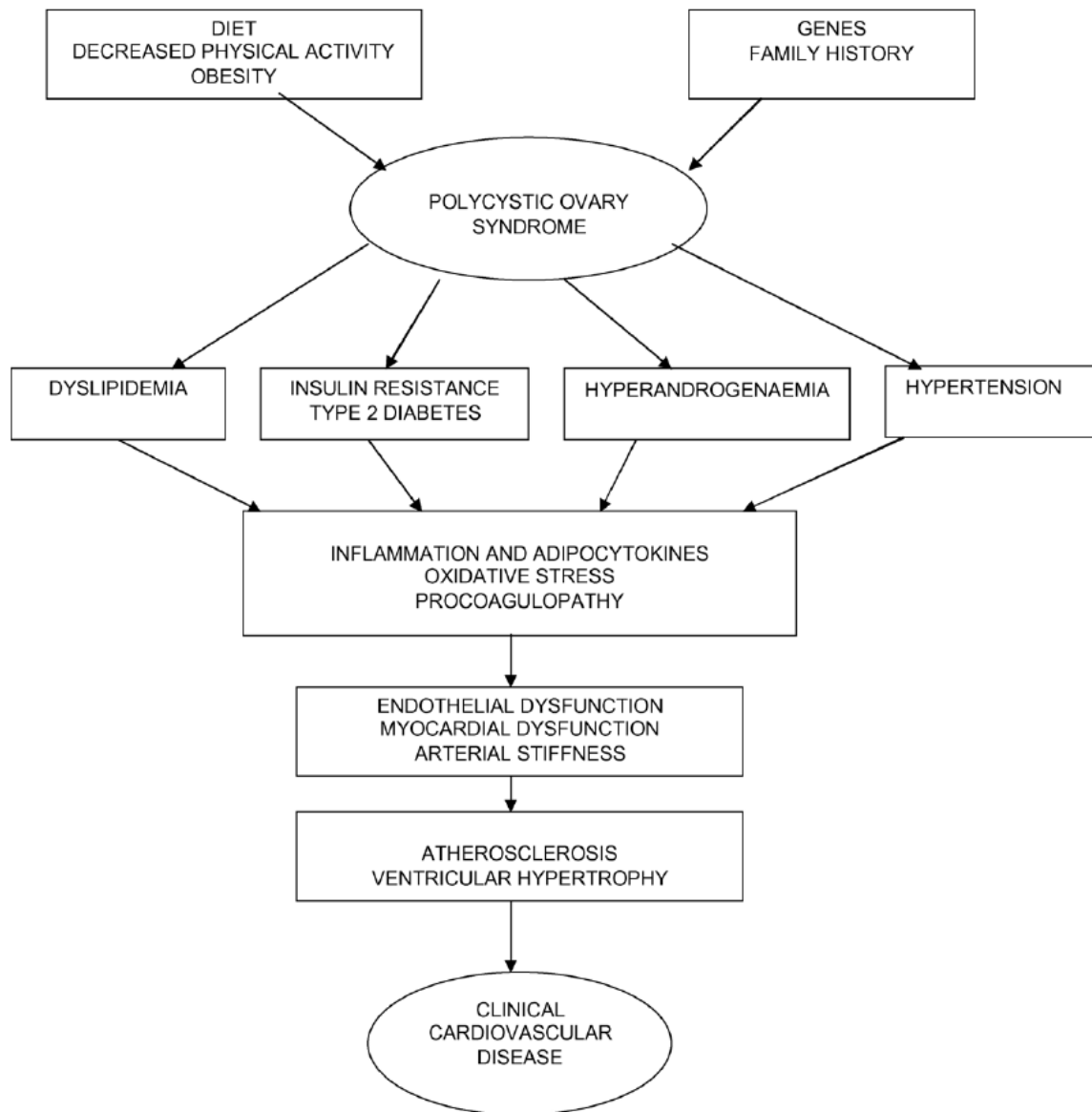


Abbildung 5: Mögliche Wege zur kardiovaskulären Erkrankungen beim PCOS [26]

1.2.4.4 Reproduktives System

Auch das reproduktive System ist von den Veränderungen im Zuge des PCOS betroffen. So haben Betroffene ein erhöhtes Risiko für Komplikationen während der Schwangerschaft, wie Gestationsdiabetes, Präeklampsie und Schwangerschaftshypertonie, bis hin zu einer erhöhten Fehlgeburtenrate. [27] Außerdem sollte bei einer Fertilitätsbehandlung darauf geachtet werden, dass diese Frauen auch vermehrt zur ovariellen Hyperstimulation, einem ernsthaften Krankheitsbild, das in manchen Fällen bis zu Aszites und Durchblutungsstörungen der Nieren führen kann, und multiplen Schwangerschaften neigen. [28] Aber nicht nur für Mütter, auch für Kinder bestehen erhöhte Risiken zum Beispiel für eine Frühgeburt oder andere neonatale Komplikationen, sodass diese Babys während der Geburt und auch schon während der Schwangerschaft ausreichend monitorisiert werden müssen. [27] Außerdem haben epigenetische Untersuchungen gezeigt, dass die metabolischen und reproduktiven Auswirkungen bei Müttern auch langfristige Folgen für deren Kinder haben können. Das ungünstige Milieu in dem sich das Kind in utero befindet, kann nämlich dazu führen, dass dieses im späteren Leben wie seine Mutter unter metabolischen und reproduktiven Störungen leidet und mitunter selbst ein PCOS entwickelt. [28] Ebenso wie beim metabolischen Syndrom ist auch in diesem Fall nicht ganz klar, ob diese Störungen Teil des PCOS selbst sind, oder wiederum durch andere Merkmale dieses Syndroms, wie Adipositas verursacht werden. In jedem Fall sollte jedoch vor einer künstlichen Befruchtung ein Risikoprofil bezüglich vorbestehender Hypertonie, Glukoseintoleranz, Adipositas und der Familienanamnese für Diabetes erstellt werden. Außerdem sollte der Lebensstil der Frauen angepasst werden, um eine möglicherweise nötige Optimierung des BMI vor Eintreten einer Schwangerschaft zu erreichen. In medikamentöser Hinsicht stellen Insulinsensitizer wie Metformin eine Möglichkeit zur Reduktion von Komplikationen in der Schwangerschaft bei diesen Patientinnen dar.

Treten bei diesen Patientinnen Komplikationen in der Schwangerschaft auf, so kann dies außerdem als Hinweis für die spätere Entwicklung von vaskulären und metabolischen Erkrankungen gesehen werden, was zur Sensibilisierung der Betroffenen für dieses Thema beitragen sollte. [27]

1.2.4.5 Andere Auswirkungen

Des Weiteren wurden auch noch andere Veränderungen vermehrt bei Patientinnen mit PCOS beobachtet. So ist die Häufigkeit, mit der Betroffene unter endometrialer Hyperplasie und in weiterer Folge an einem Endometriumkarzinom leiden können, erhöht. Der Grund hierfür wird in der andauernden Stimulation des Endometriums durch Östrogene ohne die Progesteron-induzierte Hemmung der Proliferation, wie sie normalerweise nach der Ovulation stattfindet, gesehen. Die Assoziation des PCOS mit Brustkrebs und Karzinomen der Ovarien ist allerdings nicht gesichert. Außerdem weisen jüngste Studien auch darauf hin, dass die Patientinnen mit PCOS vermehrt an obstruktiver Schlafapnoe leiden. [23]

In Summe lässt sich festhalten, dass Frauen, bei denen ein Polycystisches Ovar-Syndrom diagnostiziert wurde, mit Auswirkungen in einer Vielzahl von Bereichen rechnen müssen. Die Therapie ist hier meist eine lebenslange und sollte neben einer medikamentöser Intervention vor allem auch die dauerhafte Umstellung des Lebensstils, vor allem bei Betroffenen mit Übergewicht, beinhalten.

1.2.5 Ursachen

Die genauen Ursachen für die Entstehung dieser Erkrankung sind seit mehreren Jahren Gegenstand umfangreicher Forschung, bisher konnten jedoch nicht alle Aspekte in dieser Hinsicht geklärt werden. Einigkeit herrscht jedoch darüber, dass es sich um eine komplexe Entstehung, wie zum Beispiel bei Diabetes mellitus Typ 2 handelt. Dies bedeutet, dass sowohl Umweltfaktoren, als auch genetischer Einfluss an der Entstehung des PCOS beteiligt sind. Hierauf deutet einerseits hin, dass in Familienstudien zwar eine familiäre Häufung, jedoch kein klares Vererbungsmuster nach Mendel'schen Regeln identifiziert werden konnte und andererseits, dass eine hohe Variabilität der Phänotypen besteht, was möglicherweise auf epigenetische Faktoren zurückgeführt werden kann. [29] Eine Vielzahl von Studien wurde auch schon zur Suche von Kandidatengenen, die aus den unterschiedlichen betroffenen Signalwegen stammen, durchgeführt, jedoch wurde „DAS“ Kandidatengen für PCOS noch nicht gefunden. Vielversprechend scheinen jedoch Veränderungen in der Lokalisation 19p13.2, die in mehreren Studien mit dem Auftreten von PCOS assoziiert waren. [28] Als Schlüsselement in der Pathophysiologie konnte bisher ein Überschuss an Androgenen identifiziert werden, da dieser maßgeblich an der unterschiedlichen Entwicklung der Phänotypen beteiligt ist und für die Entstehung der typischen Symptome wie Hirsutismus, Akne, Alopezie und ovarielle Dysfunktion verantwortlich ist. [30] Wie dieser Hyperandrogenismus entsteht, ist bisher jedoch nicht ganz geklärt. Störungen in der Androgenproduktion und der Follikulogenese der Ovarien könnten hierfür verantwortlich sein, wobei dieser Defekt möglicherweise schon in der Fetalentwicklung beziehungsweise in früher Kindheit entsteht und sich erst ab der Pubertät klinisch manifestiert. [31] Eine weitere wichtige Rolle in der Entstehung dieser Erkrankung scheint die Insulinresistenz zu spielen.

Genetische Studien konnten nämlich zeigen, dass Defekte im Rezeptor sowohl für Androgene als auch für Insulin möglicherweise zur Krankheitsentwicklung beitragen. [32] Ob jedoch diese Hyperinsulinämie den Hyperandrogenismus bedingt, oder vielleicht sogar umgekehrt, bleibt noch zu klären und könnte ebenfalls eine Aporie sein. [28] Eine Möglichkeit besteht darin, dass die Entwicklung des PCOS-Phänotyps nicht immer auf die selbe Ursache zurückgeführt werden kann, sondern dass bei verschiedenen Frauen unterschiedliche Defekte, zum Beispiel am Insulinrezeptor oder auch am Androgenrezeptor, auf unterschiedlichen Wegen zur Entstehung eines Hyperandrogenismus und in weiterer Folge des PCOS führen. Verschiedene Ätiologien könnten somit das gleiche Krankheitsbild auslösen. [32] In zeitlicher Hinsicht wäre außerdem ein Zwei-Stufen-Phänomen möglich. Somit würde, bei Vorliegen einer bestimmten genetischen Prädisposition, der Überschuss an Androgenen in utero den Grundstein legen, und in weiterer Folge würden hormonelle Veränderungen in der Pubertät und Lebensstil die Entwicklung und das Ausmaß der Erkrankung beeinflussen. [28] Mit anderen Worten, die Epigenetik scheint neben der Genetik eine wesentliche Rolle zu spielen und wird in Zukunft vermehrt Gegenstand der PCOS-Forschung auf dem Gebiet der Ursachensuche sein.

1.2.6 Entstehung

Wie zuvor erwähnt, scheint das zentrale Element der PCOS-Entstehung die **Hyperandrogenämie** zu sein. Bei Frau-zu-Mann-Transsexuellen konnte nämlich beobachtet werden, dass die externe Zufuhr von hohen Dosen an Androgenen zur Entstehung eines PCOS-ähnlichen Phänotyps führt. Androgene werden für die Rekrutierung und das frühe Wachstum von Follikeln, mit einem folgenden Arrest bei einem Durchmesser von 3 bis 5 mm verantwortlich gemacht. Die anhaltend hohen intrafollikulären Konzentrationen von Androgenen sind weiters dafür zuständig, dass die Follikel anschließend atretisch werden, was in Summe zu einer polyzystischen Morphologie der Ovarien dieser Patientinnen beiträgt.

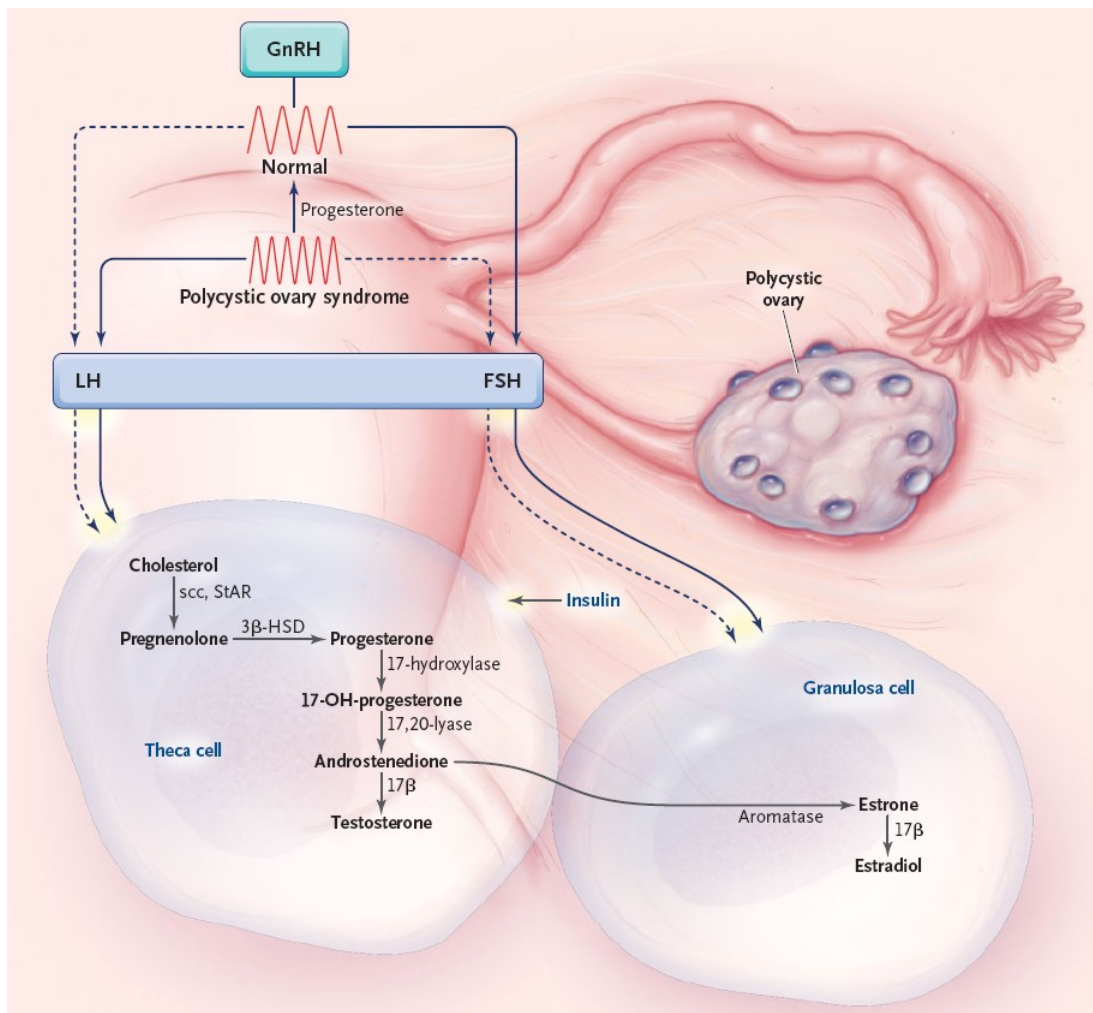


Abbildung 6: Entstehung des PCOS [23]

1.2.6.1 Entstehungskreislauf

Außerdem stören die männlichen Sexualhormone die Progesteron-bedingte Hemmung der GnRH-Ausschüttung des Hypothalamus. Die Folge ist eine erhöhte Pulsfrequenz der GnRH-Ausschüttung mit einer Steigerung der Sekretion von LH und einer Reduktion der Sekretion von FSH. Durch die hohen LH-Spiegel werden die Theka-Zellen der Follikel im Ovar dazu angeregt mehr Androgene zu produzieren. Die Aktivität der Aromatase, die unter dem Einfluss von FSH aus den Androgenen in den Granulosazellen des Ovars Östrogene herstellen sollte, ist durch die verminderte Konzentration von FSH jedoch verringert, was in einen Kreislauf mit steigenden Testosteronkonzentrationen mündet. [32]

1.2.6.2 Ursprung

Wo der oben beschriebene und in Abbildung 6 dargestellte Kreislauf jedoch seinen Anfang nimmt, ist bisher noch nicht ganz geklärt. Eine primäre Störung in der LH-Ausschüttung, wie lange Zeit vermutet, scheint nach den jüngsten Ergebnissen jedoch eher ausgeschlossen. Die erhöhte Sekretion scheint also vielmehr eine Folge von peripheren Geschehnissen zu sein, die zu einem Anstieg des Androgenspiegels führen. [33] Diese Geschehnisse werden offenbar, wie schon oben erwähnt, sowohl durch Genetik, als auch durch Lebensstil beeinflusst.

1.2.6.3 Ernährung und Insulinresistenz

Seit längerem ist bekannt, dass die Ernährung eine Rolle im Metabolismus von Sexualhormonen spielt. Studien konnten zeigen, dass hohe Fett- und geringe Ballaststoffaufnahme zu einer Erhöhung des Testosteronspiegels beitragen. Dies konnte in einigen Studien auch für Patientinnen mit PCOS nachgewiesen werden. [29] Die oben erwähnte Fehlernährung kann in Kombination mit weiteren Faktoren außerdem zu Insulinresistenz und Hyperinsulinämie führen. Vor allem in industrialisierten Ländern mit einem Nahrungsüberangebot ist dies vermehrt auch bei Frauen mit PCOS ein Problem. Insulin stimuliert nämlich zusätzlich zu LH die Androgensekretion der Theka-Zellen in den Ovarien und verringert die Spiegel von SHBG. Beides sind Mechanismen, die zu einer erhöhten Konzentration von freiem,

biologisch aktivem Testosteron beitragen. Lebensstilmodifikationen, Diät und Insulinsensitizer können bei diesen Frauen also einen wesentlichen Beitrag in der Therapie des PCOS leisten. Außerdem ist ein Zusammenhang zwischen Androgenen und Insulin feststellbar. Die abdominelle Fettverteilung scheint hierbei eine große Rolle zu spielen. Androgene tragen nämlich zu einer vermehrten abdominellen Fetteinlagerung bei, was wiederum die Steigerung einer Insulinresistenz fördert. Auch dies wurde bei Frau-zu-Mann Transsexuellen durch Androgenapplikation beobachtet. [32] Allerdings gibt es unter den PCOS-Patientinnen einen nicht vernachlässigbaren Anteil an Betroffenen, der nicht an Adipositas und Hyperinsulinämie leidet. Die Insulinresistenz sollte also weniger als Schlüsselement der Krankheitsentstehung, als vielmehr als mögliche Ursache und verstärkender Faktor für die Hyperandrogenämie bei einem Teil der Frauen mit PCOS gesehen werden. [34]

1.2.6.4 Zwei-Stufen-Phänomen

Auf das postulierte Zwei-Stufen-Phänomen in der Entstehung des PCOS wurde zuvor schon eingegangen. Hierbei wird, wie zuvor beschrieben, vermutet, dass die pränatale Exposition gegenüber hohen Dosen von Androgenen zur Entwicklung von Merkmalen für PCOS beiträgt. Diese Schlüsse konnten aus Tierversuchen an Rhesusaffen und Schafen gezogen werden. [31]

In Summe ist das PCOS also eine Erkrankung, die auf Hyperandrogenismus aufgrund variabler genetischer und epigenetischer Ursachen beruht, der in Kombination mit einer möglichen Insulinresistenz zu unterschiedlich schweren Krankheitsbildern führen kann.

1.3 Genetik

Die Genetik an sich ist eine ziemlich junge Wissenschaft und hat sich erst im 20. Jahrhundert zu etablieren begonnen. Die Grundlage hierfür wurde jedoch schon bedeutend früher im 19. Jahrhundert durch den Darwinismus und Georg Mendel, dessen Vererbungsregeln bis heute Bestand haben, gelegt. Das Ziel war es, den Bauplan des Menschen zu entschlüsseln. Damit wollte man die Frage beantworten, woher jede einzelne Zelle weiß, wie sie sich zu verhalten hat, um in einem großen gemeinsamen Organismus zu funktionieren. So wurde in den 1940er Jahren die DNA oder Desoxyribonucleinsäure als Träger dieser Erbinformation entschlüsselt. Ein weiterer wichtiger Schritt gelang 1953 James Watson und Francis Crick mit der Aufklärung der DNA-Struktur.

1.3.1 Struktur und Funktion der DNA

Die DNA beinhaltet also zahlreiche Gene und somit einen Großteil des Bauplans für die Entwicklung eines Organismus. Umso erstaunlicher ist die Tatsache, dass sie chemisch gesehen ein recht einfaches Molekül darstellt. Im Grunde handelt es sich um ein Polymer, das nur aus vier verschiedenen Untereinheiten zusammengesetzt ist. Die Information ist in einer Reihe verschiedener Basen enthalten, die jeweils über einen Zucker und ein Phosphat miteinander verbunden sind und somit eine so genannte Polynucleotidkette bilden. Zwei komplementäre Nucleotidketten verbinden sich über Wasserstoffbrücken zwischen den Basen zu einer doppelsträngigen DNA, die sich im Raum zu einer Doppelhelix verdrillt. Die Basen sind Adenin, Cytosin, Guanin oder Thymin, wobei sich beim Zusammenschluss zweier Nucleotidketten zu einem Doppelstrang immer nur Adenin mit Thymin und Guanin mit Cytosin verbinden kann, wobei die einzelnen Basen dieser Paare jeweils als komplementär bezeichnet werden. [35]

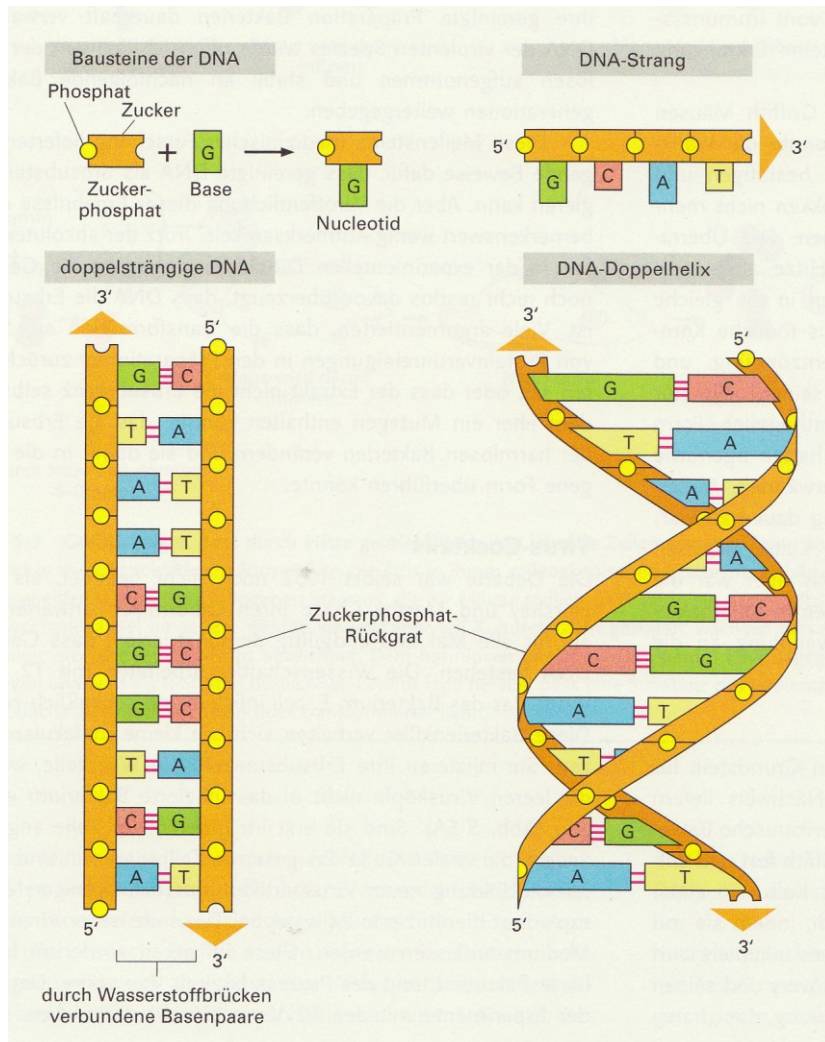


Abbildung 7: DNA-Aufbau [35]

Die unterschiedliche Abfolge der vier oben genannten Basen trägt also die gesamte Information für den Bauplan eines so komplexen Organismus, wie der Mensch einer ist. Dieser Code muss in weiterer Folge verarbeitet werden, um einen Effekt an einer Zelle zu erzielen. Dies passiert über die beiden Schritte der Transkription und Translation. Bei der Transkription wird von einem gewissen Abschnitt der DNA eine Kopie in Form von RNA oder Ribonukleinsäure, erstellt, die, ebenso wie DNA, aus der Abfolge von vier verschiedenen Basen besteht. Diese RNA kann den Zellkern, indem die DNA sich befindet, verlassen und ins Zytoplasma wandern, wo der Prozess der Translation stattfindet. Hierbei wird aus der Information, die in der RNA enthalten ist, ein Protein erstellt.

Die Abfolge der Basen der RNA wird bei diesem Vorgang immer in Dreierschritten gelesen. Drei Basen zusammen werden als Codon bezeichnet und stehen im genetischen Code für genau eine der 20 Aminosäuren, die zur Proteinsynthese verwendet werden. Somit kann aus der Abfolge von nur vier verschiedenen Bausteinen ein komplexes Protein erstellt werden, das in weiterer Folge seine Wirkung in der Zelle entfalten kann. [35] Veränderungen im genetischen Code führen so zu Veränderungen am Aufbau der Proteine, was zu einer Fehlfunktion dieser Proteine und weiters zur Entwicklung von Erkrankungen führen kann.

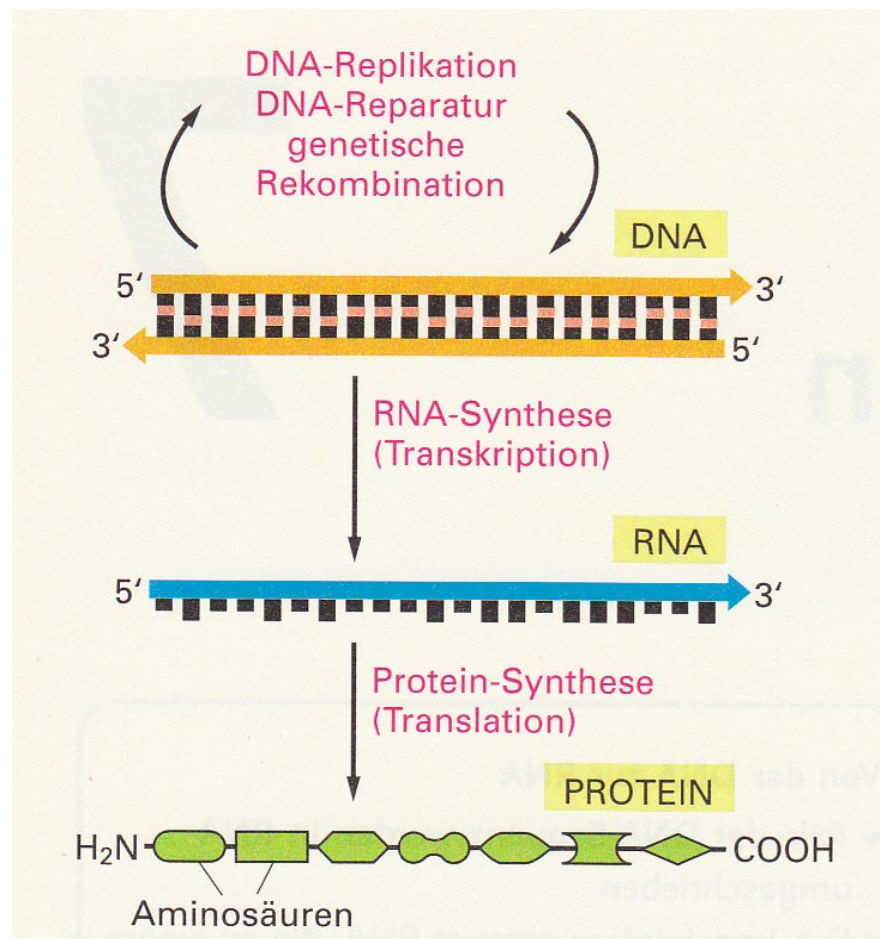


Abbildung 8: Transkription und Translation [35]

1.3.2 PCOS und Genetik

Aus verschiedenen Studien zur Entstehung von PCOS geht hervor, dass eine genetische Komponente hierbei eine Rolle spielt. Einerseits konnte in Zwillings- und Familienstudien eine familiäre Häufung nachgewiesen werden [36–38] und andererseits wurde mittlerweile bei Brüdern von Frauen mit PCOS sogar ein männlicher Phänotyp mit metabolischen Störungen wie Dyslipidämie und Insulinresistenz gefunden. [39] Ein klarer Vererbungsmodus nach Mendelschen Regeln wurde bisher jedoch noch nicht entdeckt und so wird eine polygenetische Entstehung postuliert. [40] Auf der Suche nach relevanten Genen wurden bisher bereits weit mehr als 100 Kandidatengene untersucht, jedoch gibt es für kein Gen eine universelle Übereinstimmung mit der Ätiologie des PCOS. Die Gene, welche untersucht wurden, stammen aus verschiedensten Bereichen. [41] Unter anderem wurden Assoziationen mit Veränderungen im Androgenrezeptor-Gen gefunden [42], aber auch Gene aus dem Steroidmetabolismus, wie das CYP11A-Gen [43], und aus dem Insulinsignalweg, wie das Gen, welches für den Insulinrezeptor codiert [44], scheinen einen gewissen Einfluss zu haben. Diese erwähnten Gene stammen vorwiegend aus pathophysiologischen Überlegungen, bei denen logische Kandidatengene gesucht wurden. Mittlerweile wurden aber auch genetische Veränderungen untersucht, bei denen es bis dato keine Erklärung für deren Zusammenhang mit dem Auftreten von PCOS gibt.

Eine Serie von Familienstudien, die in den USA durchgeführt wurde, konnte zum Beispiel einen starken Zusammenhang zwischen einem Dinucleotid-Marker D19S884 in der Region 19p13.2 nachweisen. [45–48] Welches Gen oder genetische Element an dieser Stelle jedoch für diese Veränderungen verantwortlich ist, konnte bisher nicht entschlüsselt werden. [49] Eine Übersicht über Gene, für die bisher eine Assoziation mit PCOS nachgewiesen werden konnte, bieten Tabelle 4 und Tabelle 5.

Signalweg der Geschlechtshormone					
<i>Gen</i>	<i>Locus</i>	<i>Name des Proteins</i>	<i>Varianten</i>	<i>dbSNP ID</i>	<i>Studie</i>
AR	Xq11.2-q12	Androgenrezeptor	CAG repeat	Rs5902610	Hickey et al 2002
FSHB	11p13	Follikel-stimulierendes Hormon β	1376T/C	Rs6169	Tong et al 2000
FST	5q11.2	Follistatin	C/A	Rs3797297	Jones et al 2007
Steroidmetabolismus und -biosynthese					
<i>Gen</i>	<i>Locus</i>	<i>Name des Proteins</i>	<i>Varianten</i>	<i>dbSNP ID</i>	<i>Studie</i>
CYP 11A1	15q23-q24	Cytochrom P450 11A	TTTTA VNTR		Diamanti et al 2000; Gaasenb. et al 2004; Wang et al 2006; Gharani et al 1997
SRD5A1	5p15	5 α Reduktase Isoform 1	A/T	Rs3797179	Goodarzi et al 2006
SRD5A2	2p23	5 α Reduktase Isoform 2	C/G	Rs523349	Goodarzi et al 2006

Tabelle 4: Kandidatengene I

Insulinsignalweg					
Gen	Locus	Name des Proteins	Varianten	Db SNP ID	Studie
INSR	19p13.3-p13.2	Insulinrezeptor	T/C	Rs1799817	Chen et al 2004; Siegel et al 2002; Lee et al 2007;
Akt2	19q13.1-13.2	Protein Kinase B	T/G	Rs8100018	Goodarzi et al 2008
Andere Gene					
Gen	Locus	Name des Proteins	Varianten	Db SNP ID	Studie
FEM1A	19p13.3	Fem1a-Protein	T/G	Rs8111933	Goodarzi et al 2008
IL1A	2q14	Interleukin-1 α	C/T	Rs1800587	Kolbus et al 2007

Tabelle 5: Kandidatengene II

1.3.3 5 α -Reduktase

Die 5 α -Reduktase ist ein Enzym, das in zwei Isoformen im menschlichen Körper vorkommt und unter anderem dafür verantwortlich ist, dass Testosteron zu Dihydrotestosteron überführt wird. Dihydrotestosteron ist in seiner Wirkung in den verschiedenen Zielgeweben jedoch potenter als Testosteron, was bei Frauen mit einer erhöhten Aktivität dieses Enzyms und somit höheren Spiegeln an Dihydrotestosteron zu Androgenisierungserscheinungen führt. [50]

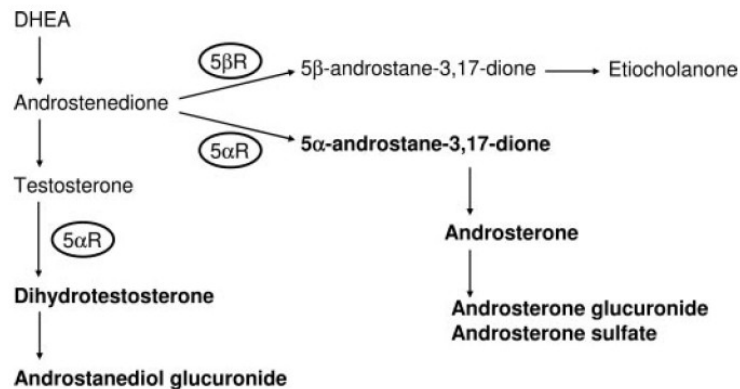


Abbildung 9: Androgenmetabolismus [50]

Genau diese erhöhte Aktivität der 5 α -Reduktase konnte bereits in einigen Studien bei Frauen, die unter PCOS leiden, nachgewiesen werden. So hat man unter anderem gefunden, dass dieses Enzym in den Follikeln der Ovarien von betroffenen Frauen um das 4-fache aktiver ist als in den Follikeln von Kontrollprobandinnen, was wahrscheinlich auch zum Follikelarrest und weiters zum polycystischen Erscheinungsbild der Ovarien dieser Frauen führt. [51] Weiters wurden erhöhte Spiegel von Dihydrotestosteron, Serum Androstandiol-Glucuronid und weiteren Metaboliten, die durch die 5 α -Reduktase entstehen, bei Frauen mit PCOS gefunden, die auch auf eine erhöhte Aktivität dieses Enzyms im gesamten Körper schließen lassen. [52]

Ursachen für diese erhöhte Aktivität könnten in genetischen Veränderungen liegen. Wie in Tabelle 4 angeführt, wurden die beiden Gene, die für die beiden Isoformen kodieren, in einem kleinen Kollektiv in den USA bereits mit viel versprechenden Ergebnissen untersucht. [50] Das Ziel der vorliegenden Studie war es, diese Resultate in einem größeren Kollektiv mit anderem ethnischen Hintergrund nachzuprüfen.

2 METHODEN

2.1 Studiendesign

Es wurde eine Fall-Kontroll-Studie, welche 294 Probandinnen mit PCOS und 233 gesunde Kontrollprobandinnen beinhaltete, durchgeführt. Von jeder Probandin wurden von der Isoform 1 der 5 α -Reduktase die beiden SNPs rs39848 und rs3797179, und von der Isoform 2 der SNP rs523349, mittels eines 5'-Exonuclease-Assays (TaqMan MGB; Applied Biosystems) untersucht. Außerdem wurden eine Blutabnahme, eine klinische Untersuchung und eine Befragung mittels Fragebogen durchgeführt. Eine Bewilligung durch die Ethikkommission der MUG liegt vor.

2.1.1 Probandinnen mit PCOS

Frauen mit dem Verdacht auf PCOS wurden aus den Ambulanzen der Endokrinologie, Gynäkologie und Dermatologie rekrutiert. Es erfolgte eine Aufklärung über die Studie, sowie über die Erkrankung und eine Einverständniserklärung wurde von allen Patientinnen unterschrieben (siehe Anhang Einverständniserklärung).

2.1.1.1 Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden prämenopausale Frauen, die mindestens 18 Jahre alt waren. Zur Diagnosestellung wurden die Rotterdam-Kriterien aus dem Jahre 2003 herangezogen, wonach zwei der drei folgenden Merkmale vorhanden sein müssen:

- 1.) Oligo- oder Anovulation
- 2.) polyzystische Ovarien
- 3.) klinisch und/oder biochemisch Hyperandrogenismus

Zyklusstörungen wurden anamnestisch erfasst und polyzystische Ovarien wurden mittels Sonographie in der Ambulanz für Gynäkologie bzw. beim niedergelassenen Facharzt/ärztin für Gynäkologie diagnostiziert. Hirsutismus, Akne oder AGA (androgenetische Alopezie) wurden als klinischer Hyperandrogenismus angesehen, biochemisch wurden in dieser Hinsicht Gesamt-Testosteron, freies Testosteron, Androstendion und DHEAS bestimmt.

2.1.1.2 Ausschlusskriterien

Frauen, die nicht mindestens zwei der drei Rotterdam-Kriterien erfüllten wurden ausgeschlossen, wie auch jene Probandinnen, bei denen der Hyperandrogenismus durch andere Ursachen, wie zum Beispiel das Adrenogenitale Syndrom, Cushing-Syndrom oder Tumoren der Nebenniere und anderes verursacht wurde. Das Fehlen oder das Zurückziehen der Einverständniserklärung führte ebenso zum Ausschluss.

2.1.2 Kontrollprobandinnen

Das Kontrollkollektiv stammt aus der an der Abteilung bestehenden anonymisierten DNA-Datenbank. Es wurden Proben von 233 altersgematchten, nicht hirsuten Frauen zur Analyse verwendet.

2.2 Ausgewählte SNPs

Die Abkürzung SNP steht für „Single Nucleotide Polymorphism“ und beschreibt eine Änderung in der Abfolge der Basenpaare der DNA. Im konkreten Fall wird damit ein Austausch genau einer Base an einer bestimmten Stelle im Genom, von zum Beispiel Cytosin zu Thymin, beschrieben. Wie unter 1.3.1 bereits beschrieben, kann dies zu Veränderungen auf der Ebene der Proteine führen, was wiederum für die Entstehung von verschiedenen Erkrankungen von Bedeutung sein kann. Im vorliegenden Fall wird vermutet, dass durch die untersuchten genetischen Varianten Veränderungen in der Aktivität des Enzyms der 5 α -Reduktase entstehen, welche in der Entwicklung des Polyzystischen Ovar-Syndroms möglicherweise eine Rolle spielen.

2.2.1 SRD5A1

Exon: 1 2 3 4 5

rs472402 rs2677933 rs248805 rs3822430 Pro103Pro rs10060745 rs3797179 rs39848

Block 1 (22 kb) Block 2 (2 kb)

1 2 3 4 5 6 7

94 97 97 26 83 82 87 35 60

99 98 12 60

Die dunkelgrauen Felder bedeuten $D'=1$

2.2.2 SRD5A2

Für die Isoform 2 liegt das kodierende Gen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 2 (2p23) und die Struktur besteht aus drei Blöcken, wie aus Abbildung 11 ersichtlich. Der Block C besteht hier aus einem einzigen SNP, nämlich rs523349, welcher möglicherweise ebenso in der Ätiologie des PCOS eine Rolle spielt. Für diesen SNP ist nämlich bekannt, dass der Wechsel von Cytosin an dieser Stelle zu Guanin im Weiteren zu einer veränderten Aminosäuresequenz des gebildeten Proteins führt, Valin wird bei Vorliegen des G-Allels nämlich durch Leucin ersetzt. Diese Variante scheint weiters eine verminderte Aktivität des gebildeten Enzyms zur Folge zu haben, da bei Frauen mit diesem Allel PCOS weniger häufig assoziiert war. [50]

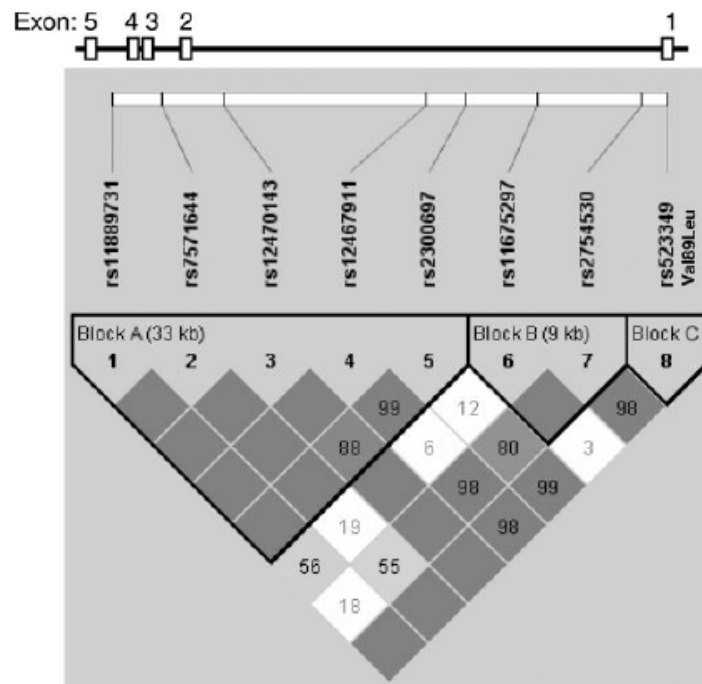


Abbildung 11: Genstruktur und Linkage-Disequilibrium-Plot für SRD5A2 [50]

Die dunkelgrauen Felder bedeuten $D'=1$

2.3 Klinische Untersuchung und Anamnese

Mit Hilfe der klinischen Untersuchung und der Anamnese wurde eine umfangreiche Charakterisierung der in die Studie eingeschlossenen Frauen vorgenommen. Es wurden Größe, Gewicht und auch die Fettverteilung, welche mittels Lipometermessung an zuvor festgelegten Punkten (siehe Anhang Lipometermessung) bestimmt wurde, erfasst.

Das Vorliegen eines Hirsutismus wurde mit Hilfe des Ferriman-Gallwey-Scores verifiziert. Hierbei wurden sowohl von der betroffenen Frau, als auch von den jeweiligen den UntersucherInnen die neun vorgeschriebenen Körperregionen, einem Wert von 0 (keine übermäßige Körperbehaarung) bis 4 (extrem starke Behaarung) zugeordnet. Ein Summenwert von größer gleich acht wurde als Hirsutismus eingestuft. (siehe Anhang Ferriman-Gallwey-Score)

Weiters wurden anamnestisch und auch bei der klinischen Untersuchung das Vorliegen von Akne, fettiger Haut, Acanthosis nigricans und androgenetischer Alopezie abgeklärt.

Im Rahmen der Schwangerschaftsanamnese wurden ein unerfüllter Kinderwunsch, unkomplizierte bzw. komplizierte Schwangerschaften, Fehlgeburten und ein eventueller Gestationsdiabetes erfragt.

Außerdem wurden Begleiterkrankungen wie Diabetes mellitus, Schilddrüsenerkrankungen, Hypertonie und Hyperlipidämie anamnestisch erfragt und überprüft (Labor, Schilddrüsenultraschall, Blutdruckmessung).

Schlussendlich wurde auch eine Familienanamnese bezüglich Diabetes mellitus, Adipositas, PCOS, unerfülltem Kinderwunsch, Hirsutismus und androgenetischer Alopezie erhoben.

2.4 Laboruntersuchung

Eine umfassende Laboruntersuchung der eingeschlossenen Frauen wurde durchgeführt. Dies enthielt vor allem einen gesamten Hormonstatus, wie auch die Bestimmung des Lipidprofils, des Zuckerstoffwechsels und weiterer Parameter von Leber, Niere, Herz, Elektrolyte, Blutbild und CRP.

2.4.1 Hormonstatus

Hormonparameter wurden aus organisatorischen Gründen zum Teil vom Labor für Endokrinologie und Stoffwechsel, teils vom Labor der Univ. Klinik für Gynäkologie analysiert.

2.4.1.1 Labor für Endokrinologie und Stoffwechsel

Hier wurden die in Tabelle 6 dargestellten Hormone und Antikörper gemessen. Ebenfalls aus der Tabelle zu entnehmen sind Normwerte, die jeweilige Bestimmungsmethode und die Herstellerfirma. Die angeführten Normwerte sind Referenzwerte des ausführenden Labors, da Angaben in der Literatur hierzu variieren. Die Blutentnahme wurde morgens nüchtern, nach dem Legen eines venösen Zugangs durchgeführt, Ausnahmen hiervon sind die stimulierten Werte aus dem oGTT (siehe 2.4.2.1) bzw. dem LHRH-Test.

Beim LHRH-Test werden jeweils 30 und 60 Minuten nach der intravenösen Applikation von 25µg Buserelin die Spiegel für FSH und LH bestimmt. Einen Hinweis auf das Vorliegen des PCOS gibt hierbei der übermäßige Anstieg von LH gegenüber FSH.

Da das Gesamttestosteron oft wenig aussagekräftig ist, wurde auch das freie Testosteron bestimmt, um das Diagnosekriterium des biochemischen Hyperandrogenismus weiter abzuklären.

Zusätzlich werden erniedrigte SHBG-Spiegel als typisch für das PCOS angesehen und wurden aus diesem Grund bestimmt.

Differentialdiagnostisch wichtige Erkrankungen mit ähnlicher Symptomatik, wie Hyperprolaktinämie oder Cushing-Syndrom wurden mit Hilfe eines basalen Hypophysenvorderlappenstatus, bestehend aus ACTH, HGH, IGF-1, Cortisol, Prolaktin, Testosteron, fT3, fT4 und TSH ausgeschlossen.

Mögliche Schilddrüsenfunktionsstörungen wurden durch die Bestimmung von TSH, fT3, fT4 und der relevanten Antikörper (TPOAK, TRAK, TGAK) ausgeschlossen, da diese Ursache für Zyklusstörungen sein können.

Die metabolische Komponente des PCOS wurde durch die Bestimmung von Insulin und C-Peptid basal, sowie nach Glukosestimulation (oGTT), abgeklärt.

Die Laborparameter wurden mit folgenden Methoden bestimmt:

- Radioimmunoassay (RIA)
- Enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA)
- Luminiscence immunoassay (LIA)

Der RIA ermöglicht die quantitative Bestimmung antigener Substanzen durch eine Immunreaktion. Die Bindung des Analyten (Antigens) an spezifische Antikörper wird durch ein gleichartiges, radioaktiv markiertes Antigen (Tracer) kompetitiv gehemmt. Die Radioaktivität in der antikörpergebundenen Fraktion ist umgekehrt proportional zur Antigenkonzentration. [53]

ELISA ist eine immunologische Methode, bei der spezifische Antikörper (oder Antigene) gegen das zu bestimmende Antigen (oder Antikörper) an einen Träger gebunden sind. Nach der Antigen-Antikörper-Reaktion werden die Immunkomplexe durch einen weiteren Antikörper detektiert. Dieser ist mit einem Enzym gekoppelt und wird nach der Reaktion mit einem chromogenen Substrat photometrisch bestimmt. ELISA ist eine nicht-radioaktive Weiterentwicklung des RIA.

Der LIA ist eine Variante des Immunoassays, bei der zur Markierung von Antigen oder Antikörper chemi- oder bioluminiszierende Substanzen eingesetzt werden. [53]

Laborparameter	Normwert	Einheit	Methode	Firma
TSH basal	0,1-4,0	µU/ml	LIA	Bayer
TRAK	0-15	U/l	ELISA	IASON
TPOAK	0-50	U/ml	ELISA	IASON
TGAK	0-50	U/ml	ELISA	IASON
fT3	3,0-6,3	pmol/ml	LIA	Bayer
fT4	9,5-24,0	pmol/ml	LIA	Bayer
Testosteron	0,14-0,77	ng/ml	LIA	Bayer
Freies Testosteron	0,29-3,18	pg/ml	RIA	DSL
SHBG	19-117	nmol/ml	LIA	Roche
Insulin	2,0-25,0	µU/ml	ELISA	DRG
C-Peptid	0,5-3,2	ng/ml	ELISA	DRG
Cortisol basal	43,0-220,0	ng/ml	LIA	DPC
ACTH basal	10,1-51,0	pg/ml	LIA	DPC
Prolaktin basal	2,8-29,2	ng/ml	LIA	Bayer
HGH basal	0,0-7,0	ng/ml	LIA	DPC
IGF-1	200-400	ng/ml	LIA	Bayer

Tabelle 6: Laborparameter aus dem Labor für Endokrinologie und Stoffwechsel

2.4.1.2 Labor der Univ. Klinik für Gynäkologie

Die folgende Tabelle gibt die Hormone, welche im Labor der Universitätsklinik für Gynäkologie bestimmt wurden wieder. Zyklusbedingte Schwankungen erfordern hier die Angabe mehrerer Normwerte für Progesteron, Östradiol, FSH und LH.

Hormon	Zyklusphase	Normwert	Einheit	Methode
LH	<i>Follikelphase</i>	1,8-13,4	mIE/ml	LIA
	<i>Lutealphase</i>	0,7-19,4	mIE/ml	
	<i>präovulatorisch</i>	15,6-78,9	mIE/ml	
	<i>Postmenopause</i>	10,8-61,4	mIE/ml	
FSH	<i>Follikelphase</i>	3,0-12,0	mIE/ml	LIA
	<i>Lutealphase</i>	2,0-12,0	mIE/ml	
	<i>präovulatorisch</i>	8,0-22,0	mIE/ml	
	<i>Postmenopause</i>	35,0-151,0	mIE/ml	
Östradiol	<i>Follikelphase</i>	30-120	pg/ml	ELISA
	<i>Präovulatorischer</i>	90-330	pg/ml	
	<i>Lutealphase</i>	65-180	pg/ml	
	<i>Postmenopause</i>	10-50	pg/ml	
Progesteron	<i>Follikelphase</i>	0,1-1,1	ng/ml	ELISA
	<i>Lutealphase</i>	1,0-5,2	ng/ml	
17αOH-Progesteron	<i>Follikelphase</i>	0,1-1,1	ng/ml	ELISA
	<i>Lutealphase</i>	1,0-5,0	ng/ml	
Androstendion		0,2-3,5	ng/ml	ELISA
DHEAS		195-507	µg/dl	RIA

Tabelle 7: Laborparameter aus dem Labor der Univ.-Klinik f. Gynäkologie

2.4.2 Weitere Laborparameter

Die hier angeführten Parameter wurden im Klinischen Institut für medizinisch-chemische Labordiagnostik des LKH-Universitätsklinikums (KIMCL)

In den einzelnen Teilbereichen wurden folgende Werte bestimmt:

- Lipidprofil: Cholesterin, HDL, LDL, Triglyzeride
- Glukosestoffwechsel: Glukose, HbA1c
- Leber-, Nieren-, Herzparameter
- Elektrolyte, Blutbild, CRP
- Serumproteine

2.4.2.1 Oraler Glukosetoleranztest

Außerdem wurde zur Abklärung einer gestörten Glukosetoleranz bzw. eines Diabetes mellitus ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt. Hier wurde zuerst nüchtern Blut abgenommen, um den Nüchtern-Blutzucker (NBZ) zu bestimmen, und anschließend wurde den Probandinnen 75g Glukose, in Wasser gelöst, oral verabreicht. Anschließend wurde zur Bestimmung der stimulierten Glukosewerte nach (30), 60 und nach 120 Minuten erneut Blut abgenommen. Die Normwerte hierfür sind in Tabelle 8 angeführt.

	physiologisch	gestörte Glukosetoleranz	Diabetes mellitus
nüchtern	<110mg/dl	110-125mg/dl	>125mg/dl
Nach 60 Minuten	<160mg/dl		
Nach 120 Minuten	<140mg/dl	140-199mg/dl	>199mg/dl

Tabelle 8: Normwerte des oGTT

2.4.2.2 HOMA-Index

Um eine mögliche Insulinresistenz, welche häufig beim PCOS vorkommt, genauer abzuklären, gibt es verschiedene Möglichkeiten. Den Goldstandard stellt hier die euglykämische-hyperinsulinämische Glukose-Clamp-Untersuchung dar. Da dieser Test jedoch sehr zeit- und auch kostenintensiv ist, wird er eher selten durchgeführt und so haben auch wir uns anstelle dieses Verfahrens für die Berechnung des sogenannten HOMA-Index entschieden. HOMA steht für „Homeostasis Model Assessment“ und erfordert nur eine einmalige Nüchternblutentnahme, aus der Glukosespiegel und Insulin bestimmt werden.

Die Berechnung des HOMA-Index kann auf zwei Wegen erfolgen:

- $\text{HOMA-Index} = \text{Nüchterninsulin } [\mu\text{U/ml}] \times \text{Nüchternblutzucker } [\text{mg/dl}] / 405$
- $\text{HOMA-Index} = \text{Nüchterninsulin } [\mu\text{U/ml}] \times \text{Nüchternblutzucker } [\text{mmol/l}] / 22,5$

Als physiologisch wird der HOMA-Index angesehen, wenn er kleiner bzw. gleich eins ist. Ein Hinweis auf einen Insulinresistenz liegt vor, wenn der Index größer als zwei ist, sehr wahrscheinlich wird die Insulinresistenz ab einem Wert von 2,5 und Werte größer als fünf werden bei Diabetes mellitus Typ 2 beobachtet.

2.5 Molekulargenetische Methoden

Zur genetischen Untersuchung wurde aus dem Blut der Probandinnen genomische DNA isoliert, in der weiters mit Hilfe einer Real-Time-quantitative-PCR die unter 2.2 beschriebenen SNPs untersucht wurden.

2.5.1 DNA-Isolierung

Dies wurde mit der NucleoSpin® Blood-Kit Methode durchgeführt. Hierbei wurde das Vollblut zu Beginn mit einer Lösung inkubiert, die chaotrope Ionen und Proteinkinase K enthält. Dies bewirkt eine Lyse der Zellen.

- 25µl Proteinkinase K, 200µl Blut und 200µl Lysepuffer B3 in ein Röhrchen pipettieren und vortexen;
- für 10-15 Minuten bei 70°C inkubieren

Die DNA wird nun an die Silica-Membran des NucleoSpin®-Säulchens gebunden, was nur durch die vorherige Zugabe von Ethanol möglich ist.

- 210µl Ethanol (96-100%) zur Probe hinzugeben; vortexen
- NucleoSpin®-Säulchen in ein Sammelröhrchen geben; Probe hinzufügen;
- 1 Minute bei 11,000 x g zentrifugieren; Durchfluss verwerfen

Die Bindung der Nukleinsäuren an der Silica-Membran ist spezifisch und reversibel, jedoch müssen Kontaminationen durch Waschvorgänge entfernt werden.

- 1. Waschvorgang: Säulchen in ein neues Sammelröhrchen geben; 500µl Puffer BW hinzufügen; 1Minute bei 11,000 x g zentrifugieren; Durchfluss verwerfen
- 2. Waschvorgang: Säulchen wieder in ein neues Sammelröhrchen geben; 600µl Puffer B5 hinzugeben; 1 Minute bei 11,000 x g zentrifugieren; Durchfluss verwerfen

- Trocknen: Säulchen wieder in das Sammelröhrchen geben; 1 Minute bei 11,000 x g zentrifugieren (restliches Ethanol wird entfernt)

Abschließend wird die DNA durch die Zugabe von leicht alkalischem Puffer eluiert.

- Säulchen in ein neues Gefäß geben; 100µl Elutionspuffer BE direkt auf die Silica-Membran auftragen; bei Raumtemperatur 1 Minute inkubieren; bei 11,000 x g 1 Minute zentrifugieren. [54]

2.5.2 Aufbewahrung

Hier wurden die abzentrifugierten Pellets aus dem EDTA-Blut für einen kurzen Zeitraum von einigen Monaten bei 4°C gelagert, für die Langzeitaufbewahrung wurden sie auf eine Temperatur von -20°C eingefroren. Die bereits isolierte DNA wurde bei 4°C gespeichert.

2.5.3 Real-Time-quantitative-PCR

PCR steht für Polymerase-Kettenreaktion, ein Verfahren, welches in den 1980er Jahre erfunden wurde. Es dient vor allem dazu, vorgegebene Nucleotidsequenzen aus einer beliebigen DNA-Probe selektiv und schnell in großen Mengen zu replizieren. [35]

2.5.3.1 Prinzip

Hierbei werden DNA-Polymerasen verwendet, die dazu im Stande sind, eine DNA-Matrize in wiederholten Replikationsrunden zu kopieren. So genannte Primer, welche aus kurzen Oligonucleotiden bestehen, markieren Anfang und Ende der zu kopierenden Gen-Sequenz, indem sie an den entsprechenden Stellen hybridisieren, und leiten so die DNA-Polymerase zur richtigen Stelle.

Diese Primer müssen zuvor jedoch chemisch synthetisiert werden und somit können nur DNA-Sequenzen repliziert werden, deren Anfangs- und Endsequenzen bekannt sind. Die DNA-Polymerase kopiert somit genau den DNA-Abschnitt, der zwischen den beiden zuvor hybridisierten Primern liegt. Durch die mehrmalige Wiederholung dieser Arbeitsschritte wird es möglich einen Genabschnitt unzählige Male zu kopieren, um ihn so leichter detektierbar zu machen.

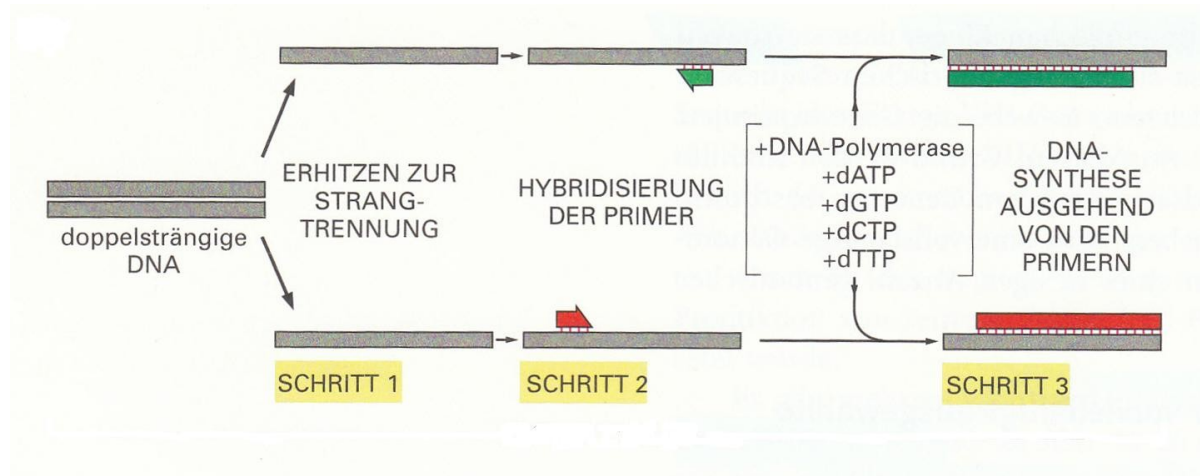


Abbildung 12: Prinzip der PCR [35]

Die real-time-quantitative-PCR (rtPCR) ist eine spezielle Form der PCR, die zusätzlich eine Quantifizierung ermöglicht. Diese kann während oder nach einem PCR-Zyklus durch Fluoreszenzmessung erfolgen. Das Fluoreszenzsignal kommt bei der TaqMan-Methode durch die Verwendung einer so genannten TaqMan-Sonde zustande. Dies ist ein Oligonukleotid, das genau komplementär zur zu untersuchenden Mutation der DNA ist und außerdem mit einem so genannten Reporter und einem so genannten Quencher versehen wurde. Die TaqMan-Sonde hybridisiert, sofern die gesuchte Mutation vorliegt, während der PCR an die DNA zwischen den beiden verwendeten Primern. Nun beginnt die TaqMan-DNA-Polymerase, welche auch eine 5'-Nuklease-Aktivität besitzt, am Primer die DNA komplementär zum vorliegenden Strang zu synthetisieren. Hat nun zuvor die TaqMan-Sonde an der gesuchten Mutation hybridisiert, so trifft die TaqMan-DNA-Polymerase auf eben diese und wird die Sonde mit seiner 5'-Nuklease-Aktivität spalten.

Bei ausreichender räumlicher Nähe wird das Fluoreszenzsignal des Reporters durch den Quencher unterdrückt. Durch die Spaltung der TaqMan-Sonde ist diese räumliche Nähe jedoch nicht mehr gegeben und so wird das Fluoreszenzsignal des Reporters detektierbar. Liegt die gesuchte Mutation jedoch nicht vor, so kann die Hybridisierung der TaqMan-Sonde an die DNA nicht stattfinden, die Sonde wird somit auch nicht gespalten und es wird auch kein Signal detektierbar.[55]

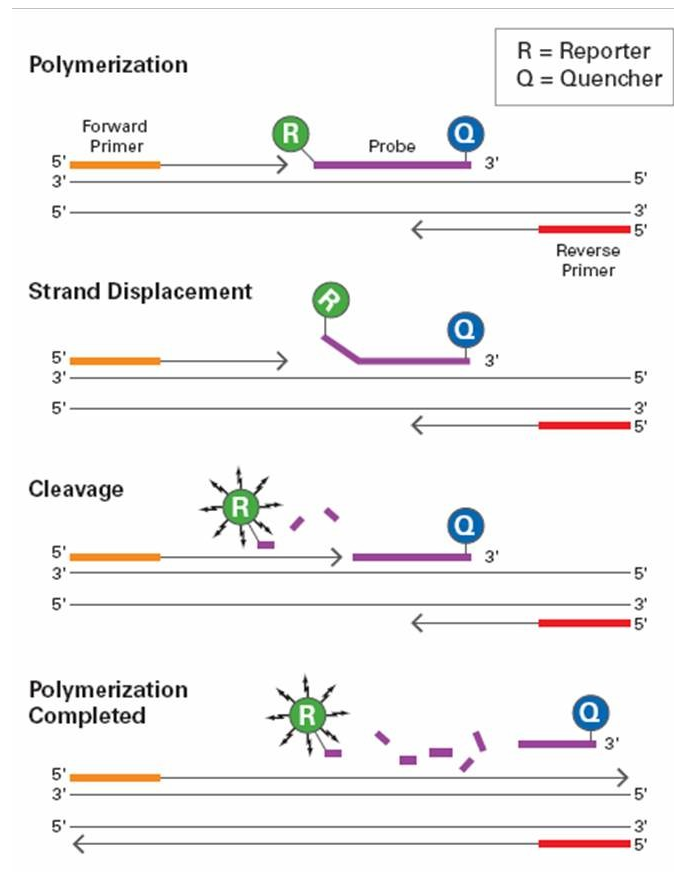


Abbildung 13: TaqMan-Methode [56]

2.5.3.2 Durchführung

Die so genannten Thermocycler werden für die Durchführung der PCR verwendet. Dies sind speziell hierfür entwickelte Geräte, die aus einer Kammer bestehen, in welche die PCR-Gefäße platziert werden können, und die auf die nötigen Temperaturen erhitzt werden kann. Im vorliegenden Fall wurde ein Thermocycler der Firma Eppendorf verwendet. Das PCR-Programm bestand aus 40 Zyklen, die sich jeweils aus der Denaturierung und dem Annealing bzw. der DNA-Synthese zusammensetzten. Bei der Denaturierung wurde die Kammer für 15 Sekunden auf 95°C erhitzt, was bewirkt, dass die doppelsträngige DNA sich trennt und anschließend in Einzelsträngen vorliegt. Für das anschließende Annealing und die DNA-Synthese wurde die Kammer für eine Minute auf 60°C abgekühlt. Annealing bedeutet hierbei, dass sich die Primer und die beiden TaqMan-Sonden an ihre komplementäre Zielsequenz auf der nun einsträngigen DNA anlagern. Bei der anschließenden Synthese synthetisiert die DNA-Polymerase beginnend an den Primern die zu kopierenden Sequenzen. Voraussetzung hierfür ist natürlich, dass die vier Desoxynukleotide dATP, dTTP, dGTP und dCTP in ausreichender Menge vorliegen. Durch die mehrfache Wiederholung dieser Schritte ergibt sich eine millionenfache Amplifizierung der gesuchten DNA-Sequenzen. Zuvor wurden die PCR-Gefäße mit den nötigen Reaktionskomponenten versehen. Dies beinhaltet einen Assay Mix, der unter anderem die beiden spezifischen TaqMan-Sonden enthält, die die möglichen Mutationen widerspiegeln, einen Mastermix, der alle restlichen notwendigen Komponenten für die PCR enthält, und die zu untersuchende DNA. Die Mengenangaben variieren für die jeweiligen SNPs und werden unten angeführt. Abschließend wurden die Komponenten noch mit 15µl PCR-Öl überschichtet.

2.5.3.2.1 rs39848

Verwendete Reaktionskomponenten:

- 2,5 µl TaqMan Universal PCR Mastermix
- 0,25 µl 40X Assay Mix
- 0,25 µl Aqua dest.
- 2,25 µl DNA gelöst in Aqua dest.

Sequenzen der Primer:

- Forward Primer: CATCGAAACATTCTTTCATCATATTTCTGTT
- Reverse Primer: AAGGAAATCTCCTTTCCAAATCACTGT

Sequenzen der Sonden:

- VIC-Sonde: TTCAACTTCTTCTGTTTAC
- FAM-Sonde: TTCAACTTCCTCTGTTTAC

2.5.3.2.2 rs3797179

Verwendete Reaktionskomponenten:

- 2,5 µl TaqMan Gene Expression PCR Mastermix
- 0,25 µl 40X Assay Mix
- 3,25 µl Aqua dest.
- 1,0 µl DNA gelöst in Aqua dest.

Sequenzen der Primer:

- Forward Primer: GGAGCCCAGCCTTGCT
- Reverse Primer: CAGGACTGCCGCAGGAT

Sequenzen der Sonden:

- VIC-Sonde: CCGAGAAAACGCGCC
- FAM-Sonde: CCGAGAAAATGCGCC

2.5.3.2.3 rs523349

Verwendete Reaktionskomponenten:

- 2,5 µl TaqMan Universal PCR Mastermix
- 0,25 µl 40X Assay Mix
- 0,25 µl Aqua dest.
- 2,25 µl DNA gelöst in Aqua dest.

Sequenzen der Primer:

- Forward Primer: CACCTGGGACGGTACTTCTG
- Reverse Primer: GGGAAAAACGCTACCTGTGGAA

Sequenzen der Sonden:

- VIC-Sonde: CCTCTTCTGCGTACATT
- FAM-Sonde: CCTCTTCTGCCTACATT

2.5.3.3 Auswertung

Die Auswertung wurde mittels Fluoreszenzmessung nach der PCR vorgenommen. Hierzu diente das Fluorometer „Fluoroskan Ascent“ der Firma Thermo Labsystems in Kombination mit seiner speziellen Software. Die beiden TaqMan-Sonden, die die möglichen Mutationen repräsentieren sind mit unterschiedlichen Farbstoffen, einmal VIC und einmal FAM, markiert. Ist die zu untersuchende DNA genau komplementär zur jeweiligen Sonde, kann diese an die DNA binden und das Fluoreszenzsignal des Reporters wird somit, wie oben beschrieben, detektierbar. Die beiden Farbstoffe VIC und FAM haben unterschiedliche Wellenlängen, VIC (520/590) und FAM (485/520). Hat eine Sonde während der PCR an die DNA gebunden, wird also in der Fluoreszenzmessung die Wellenlänge der jeweiligen Markierung dieser Sonde erkannt und dies kann anschließend wiederum einer bestimmten Mutation zugewiesen werden.

Liegt nur die Wellenlänge von VIC oder von FAM vor, so ist die Probe homozygot für das jeweilige Allel, werden beide Wellenlängen detektiert, ist die Probe heterozygot. Als Referenz wurden alle Proben gegen zwei Leerkontrollen, bestehend aus destilliertem Wasser, vermessen. Mit Hilfe der speziellen Software war auch die graphische Darstellung der Messergebnisse in verschiedenen Clustern, wie unten abgebildet, möglich.

2.5.3.3.1 rs39848

Rot dargestellt ist das Signal der VIC-markierten Sonde, was hier für das G-Allel an der gesuchten Stelle steht, grün das der FAM-markierten Sonde, was das Vorhandensein des A-Allels bedeutet. Der Cluster im rechten unteren Bereich bedeutet somit homozygot für das A-Allel, der Cluster im linken oberen Bereich homozygot für das G-Allel, der Cluster im mittleren Bereich bedeutet heterozygot und die beiden Markierungen im linken unteren Bereich stehen für die Leerkontrollen.

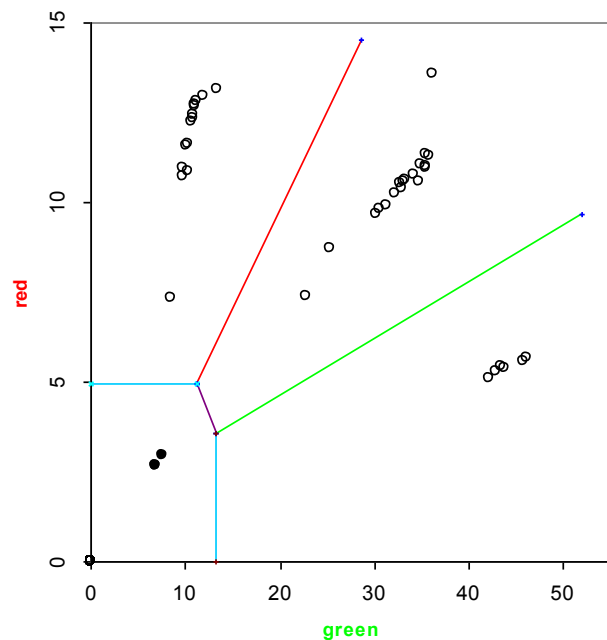


Abbildung 14: Genotypenverteilung für rs39848

2.5.3.3.2 rs3797179

Rot dargestellt ist das Signal der VIC-markierten Sonde, was hier für das T-Allel an der gesuchten Stelle steht, grün das der FAM-markierten Sonde, was das Vorhandensein des C-Allels bedeutet. Der Cluster im rechten unteren Bereich bedeutet somit homozygot für das C-Allel, der Cluster im linken oberen Bereich homozygot für das T-Allel, der Cluster im mittleren Bereich bedeutet heterozygot und die beiden Markierungen im linken unteren Bereich stehen für die Leerkontrollen.

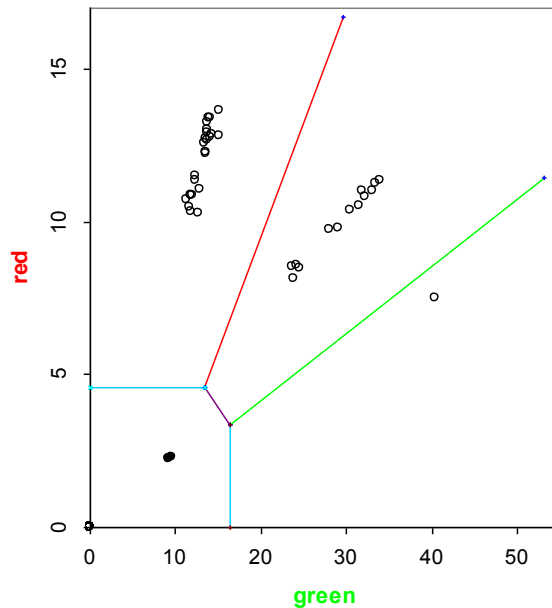


Abbildung 15: Genotypenverteilung für rs3797179

2.5.3.3.3 rs523349

Rot dargestellt ist das Signal der VIC-markierten Sonde, was hier für das G-Allel an der gesuchten Stelle steht, grün das der FAM-markierten Sonde, was das Vorhandensein des C-Allels bedeutet. Der Cluster im rechten unteren Bereich bedeutet somit homozygot für das C-Allel, der Cluster im linken oberen Bereich homozygot für das G-Allel, der Cluster im mittleren Bereich bedeutet heterozygot und die beiden Markierungen im linken unteren Bereich stehen für die Leerkontrollen.

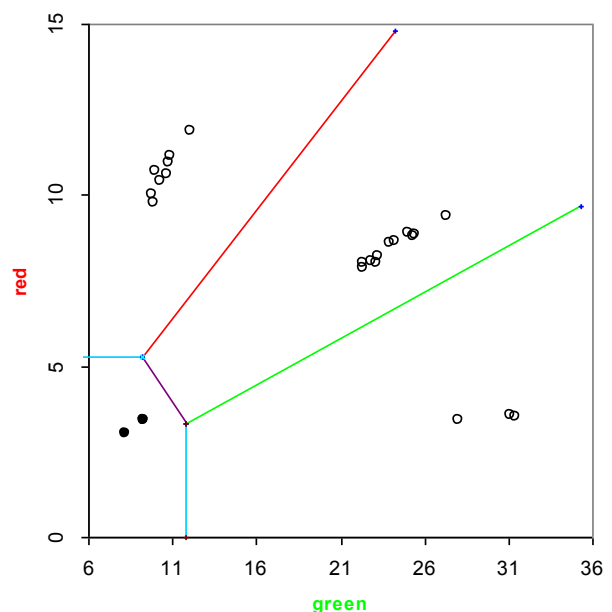


Abbildung 16: Genotypenverteilung für rs523349

2.6 Statistik

Um die klinischen Charakteristika zwischen Probandinnen mit und ohne PCOS zu vergleichen, wurde der t-Test für unabhängige Stichproben, beziehungsweise bei nominalen Daten der Chi²-Test und bei ordinalen Daten der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Für die primären Analysen wurde mit Hilfe der logistischen Regression ein Zusammenhang zwischen den beschriebenen Haplotypen und dem Auftreten des PCOS überprüft. Im Zuge der sekundären Analysen wurden die vorliegenden Daten mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests zuerst auf Normalverteilung getestet. Bei vorliegender Normalverteilung wurde ein t-Test für unverbundene Stichproben verwendet, andernfalls ein Mann-Whitney-U-Test bei ordinalen beziehungsweise ein Chi²-Test bei nominalen Daten.

3 ERGEBNISSE

3.1 Anthropometrische Daten

Eine Übersicht über die erhobenen Daten der Probandinnen mit PCOS stellt Tabelle 9 dar. Sie waren im Mittel 28 Jahre alt. Der BMI lag bei 44.2% der Probandinnen (130 Frauen) über der Norm, wobei der mittlere BMI der untersuchten PCOS-Probandinnen mit 26,5 ebenfalls aus dem Normbereich fiel. Auch der mittlere Bauchumfang lag mit 89,4cm über der Norm (<88 cm). Die Werte der Nüchternglukose und des Nüchterninsulins lagen im Mittel noch im Normbereich.

Merkmal [Normbereich]	Mittelwert $\pm$ SD	Minimum - Maximum
Alter [Jahre]	28 $\pm$ 7	16 - 52
BMI [18-25 kg/m ²]	26,5 $\pm$ 7,0	16,6 - 51,4
Bauchumfang [<88 cm]	89,4 $\pm$ 18,7	62 - 150
Hüftumfang [cm]	106,7 $\pm$ 13,7	76 - 155
W/H-Ratio [<0,85]	0,83 $\pm$ 0,1	0,66 - 1,26
Nüchternglukose [<110 mg/dl]	84,7 $\pm$ 12,0	67 - 184
Nüchterninsulin [2,0-25,0 μ U/ml]	8,8 $\pm$ 8,8	0,1 - 57,0
Ferriman-Gallwey-Score [<8]	6,8 $\pm$ 5,3	0 - 25
Testosteron [0,14-0,77 ng/ml]	0,63 $\pm$ 0,27	0,1 - 1,8
Freies Testosteron [0,29-3,18 pg/ml]	2,76 $\pm$ 1,14	0,46 - 8,33
Androstendion [0,2-3,5 ng/ml]	2,58 $\pm$ 1,14	0,2 - 6,9
DHEAS [195-507 μ g/dl]	254,5 $\pm$ 136,3	34,0 - 800,0
SHBG [19-117 nmol/ml]	58,2 $\pm$ 43,4	5,0 - 200,0

Tabelle 9: Charakteristika der PCOS-Probandinnen

3.1.1 Vergleich PCOS- zu Kontroll-Probandinne

Im Vergleich der erhobenen Daten zwischen Probandinnen mit und ohne PCOS zeigte sich, dass jene mit PCOS mit $26,5 \text{ kg/m}^2$ im Mittel einen statistisch signifikant höheren BMI aufwiesen als die Kontrollprobandinnen mit einem BMI von $23,8 \text{ kg/m}^2$. Für die Parameter aus dem Fettstoffwechsel ergab sich jedoch, dass die Probandinnen ohne PCOS sogar im Mittel statistisch signifikant höhere Werte aufwiesen, mit Ausnahme des HDL, als die untersuchten Frauen mit PCOS. (erhobene Werte aus Tabelle 10 ersichtlich; Angaben als Mittelwert und Standardabweichung)

Merkmal [Normbereich]	PCOS- Probandinnen	Kontroll- Probandinnen	p-value
Alter [Jahre]	28 ± 7	35 ± 8	$<0,001$
BMI [$<25 \text{ kg/m}^2$]	$26,5 \pm 7,0$	$23,8 \pm 5,3$	$<0,001$
Cholesterin [$<200 \text{ mg/dl}$]	184 ± 32	208 ± 31	$<0,001$
Triglyzeride [$<150 \text{ mg/dl}$]	98 ± 54	112 ± 64	$0,001$
HDL [$>40 \text{ mg/dl}$]	66 ± 14	66 ± 17	$0,872$
LDL [$<160 \text{ mg/dl}$]	99 ± 29	120 ± 27	$<0,001$

Tabelle 10: Vergleich PCOS- zu Kontroll-Probandinne

3.1.2 Vergleich adipöse zu normalgewichtigen PCOS-Probandinne

Unter den Probandinnen mit PCOS wurden die anthropometrischen Daten im Bezug auf den BMI genauer untersucht. Hierbei zeigte sich, dass adipöse PCOS-Probandinne bei den, in Tabelle 11 angeführten, Parametern durchwegs statistisch signifikant schlechtere Werte aufwiesen als Normalgewichtige. So lag der Ferriman-Gallwey-Score bei den untersuchten adipösen Frauen mit $8,4$ im Mittel schon im hirsuten Bereich im Vergleich zu $5,5$ im Mittel bei normalgewichtigen Frauen.

Außerdem wies ein HOMA-Index von 3,0 im Mittel bei den adipösen PCOS-Probandinnen auf eine erhöhte Insulinresistenz im Vergleich zu den normalgewichtigen PCOS-Probandinnen mit einem HOMA-Index von 1,1 im Mittel, hin. Ein pathologischer oraler Glukosetoleranztest wurde auch bei 30,3% der übergewichtigen Frauen mit PCOS im Vergleich zu 8,7% bei normalgewichtigen Frauen mit PCOS beobachtet. (erhobene Werte aus Tabelle 11 ersichtlich; Angaben als Mittelwert und Standardabweichung)

Merkmal [Normbereich]	PCOS-Probandinnen		p-value
	BMI < 25 kg/m ²	BMI ≥ 25 kg/m ²	
syst. Blutdruck [<140 mmHg]	110 ± 13	127 ± 20	<0,001
diast. Blutdruck [<90 mmHg]	73 ± 10	84 ± 15	<0,001
Ferriman-Gallwey-Score [<8]	5,5 ± 4,9	8,4 ± 5,5	<0,001
Freies Testosteron [0,29-3,18 pg/ml]	2,49 ± 0,93	3,10 ± 1,29	<0,001
SHBG [19-117 nmol/ml]	66 ± 40	48 ± 44	<0,001
LH basal [1,8-13,4 mIE/ml]	6,9 ± 6,3	5,6 ± 6,4	0,018
HDL [>40 mg/dl]	73 ± 15	57 ± 15	<0,001
LDL [<160 mg/dl]	94 ± 29	106 ± 29	0,001
Triglyzeride [<150 mg/dl]	75 ± 32	118 ± 63	<0,001
Vitamin D [20-40 ng/ml]	28,3 ± 10,6	23,4 ± 9,5	<0,001
HOMA-Index [≤1]	1,1 ± 0,9	3,0 ± 2,8	<0,001
pathologischer oGTT	8,7% (13)	30,3% (37)	<0,001

Tabelle 11: Vergleich adipöse zu normalgewichtige PCOS-Probandinnen

Die untersuchten Glukose- und Insulinwerte aus dem oralen Glukosetoleranztest lagen auch bei Probandinnen mit einem BMI von unter 25 kg/m² durchwegs statistisch signifikant unter den Vergleichswerten der Probandinnen mit einem erhöhten BMI. (siehe Abbildungen 17 und 18)

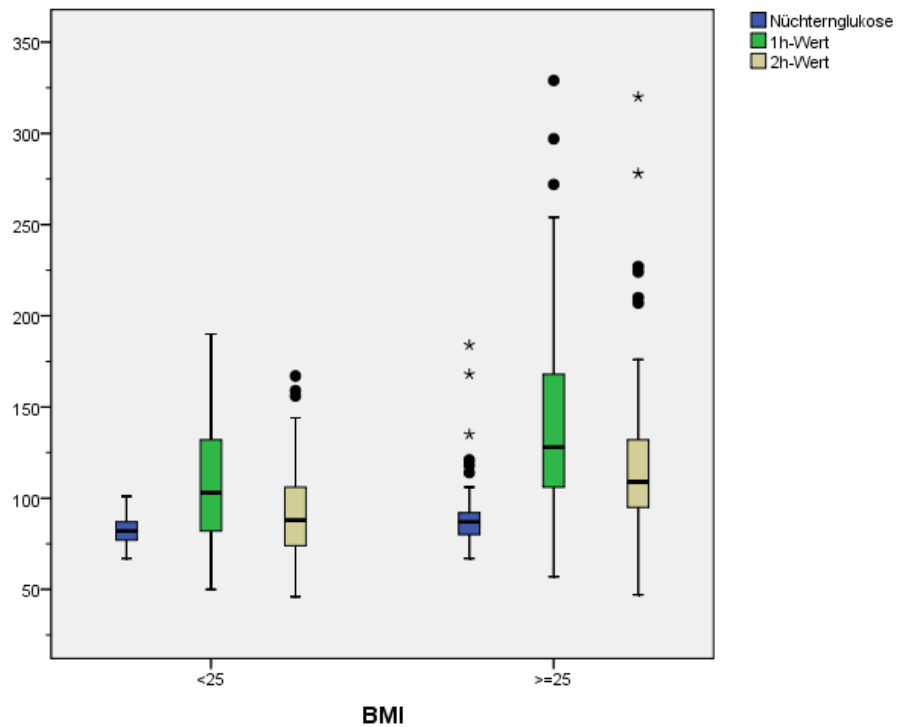


Abbildung 17: oGTT Glukosewerte nach BMI

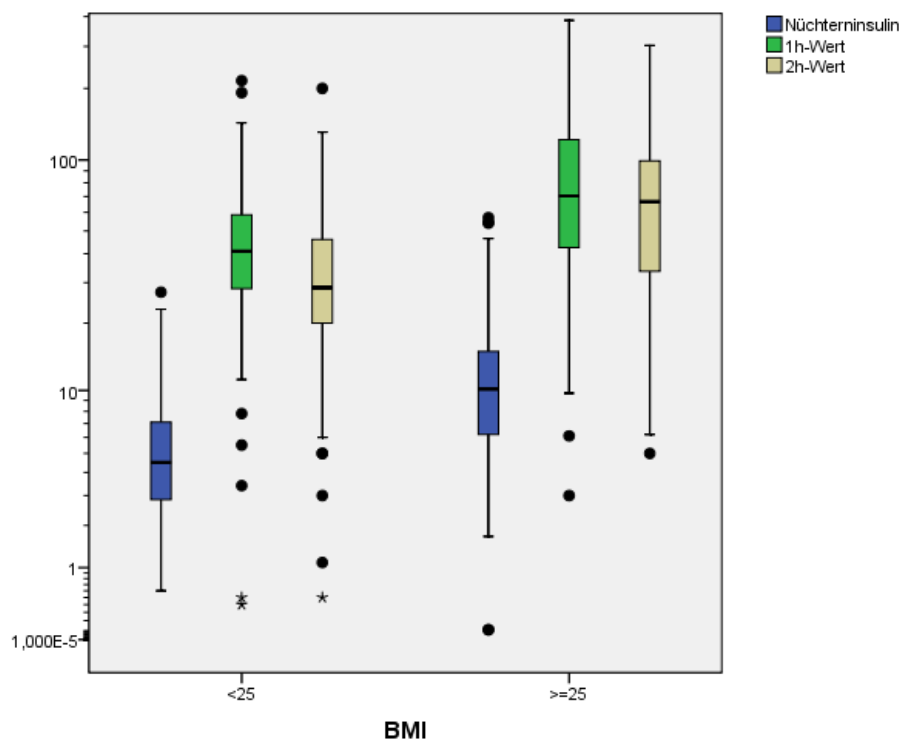


Abbildung 18: oGTT Insulinwerte nach BMI

3.2 SRD5A1

3.2.1 Primäre Analyse

Der hier untersuchte Haplotyp bestand aus den beiden SNPs rs3797179 und rs39848, wie unter 2.2.1 beschrieben. Die möglichen Ausprägungen hierbei waren CA, CG oder TA. Es wurde jeweils der bereits beschriebene Haplotyp TA zum kombinierten Haplotyp CA und CG verglichen. Die gefundene Verteilung dieser Haplotypen im untersuchten Kollektiv ist in Tabelle 12 dargestellt.

Haplotyp	Häufigkeit im Gesamtkollektiv	Probandinnen mit PCOS		Kontrollprobandinnen	
		Anzahl	Häufigkeit	Anzahl	Häufigkeit
CA, CG	75,5%	212	72,1%	186	79,8%
TA	24,5%	82	27,9%	47	20,2%

Tabelle 12: Verteilung der Haplotypen für SRD5A1

Unter normalgewichtigen Probandinnen ($n=324$, $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) war der Haplotyp TA mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von PCOS assoziiert ($OR=1.792$). Die Frequenz dieses Haplotyps unter den Normalgewichtigen lag bei Frauen mit PCOS bei 32.1% (50 Probandinnen), bei Frauen ohne PCOS bei 20.8% (35 Probandinnen) ($\chi^2=5.26$, $p=0.022$).

Haplotyp	Häufigkeit		Odds Ratio (95%CI)	p-value
	PCOS	Kontrollen		
TA	32,1%	20,8%	1,792 (1,085-2,96)	0,022

Tabelle 13: Haplotyp TA aus SRD5A1 bei Normalgewichtigen

Bei nicht normalgewichtigen Probandinnen ($n=188$, $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) zeigte sich keine Assoziation mit der Frequenz des PCOS ($\chi^2=1.66$, $p=0.248$). Hier hatten 23.8% der Frauen (31 Probandinnen) mit PCOS den Haplotyp TA im Vergleich zu 15.5% der Frauen (9 Probandinnen) ohne PCOS. Weitere Analysen wurden wegen der geringen Fallzahl in dieser Gruppe im Vergleich zur Gruppe der Probandinnen mit normalem BMI nicht durchgeführt.

3.2.2 Sekundäre Analyse

Im Rahmen der sekundären Analyse wurde untersucht, ob der Haplotyp TA, welcher in der primären Analyse eine Assoziation bei normalgewichtigen Frauen mit dem Auftreten von PCOS zeigte, einen Einfluss auf die erhobenen klinischen Merkmale und Laborparameter hat.

3.2.2.1 Ferriman-Gallwey-Score

Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied unter den normalgewichtigen Probandinnen mit PCOS. Frauen, welche den oben beschriebenen Haplotyp TA aufwiesen hatten im Mittel einen Ferriman-Gallwey-Score von 6,89 im Vergleich zu Frauen ohne diesen Haplotyp mit einem Score von 4,86 ($p=0,016$).

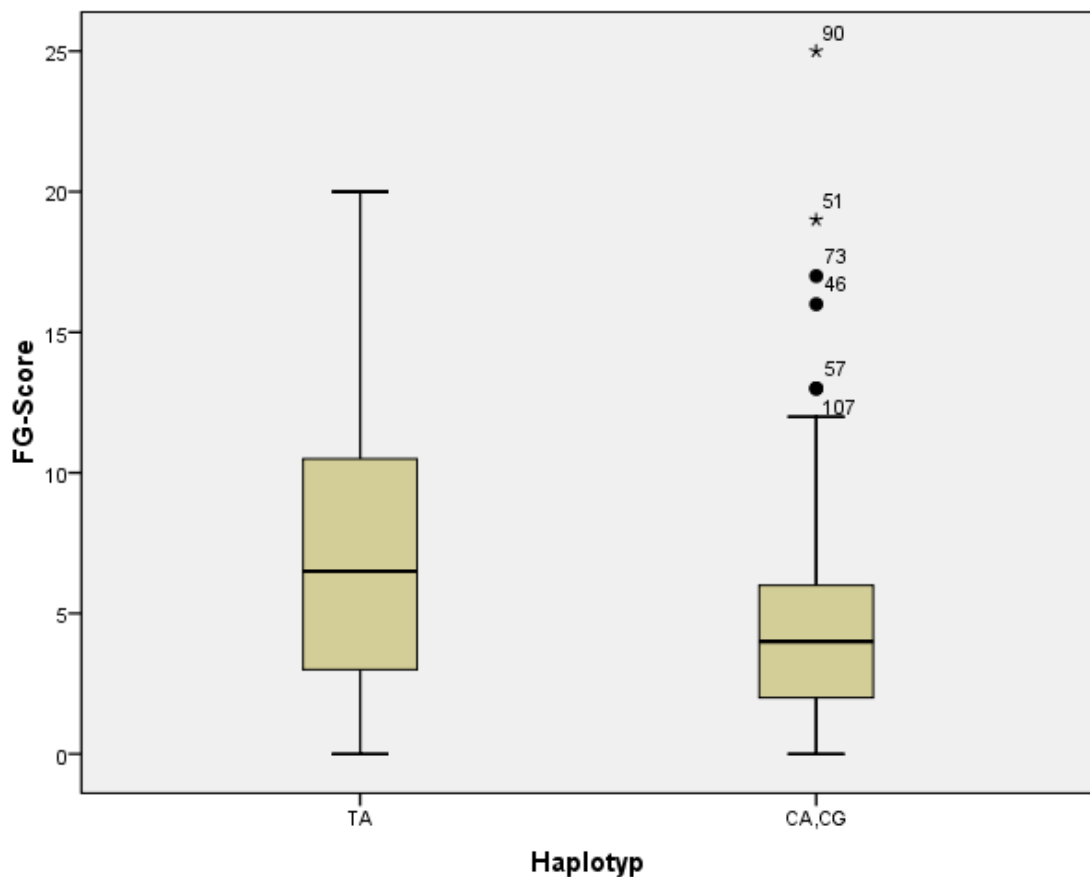


Abbildung 19: FG-Score bei Haplotypen von SRD5A1

3.2.2.2 Körperfettverteilung

Die Körperfettverteilung war im untersuchten Kollektiv bei normalgewichtigen Frauen mit PCOS im Bezug auf die untersuchten Haplotypen der Isoform 1 der 5 α -Reduktase nicht signifikant unterschiedlich. Sowohl bei der Ganzkörperfettmessung als auch bei der Messung der einzelnen unter 2.3 angegebenen Punkte konnte kein signifikanter Unterschied in der Dicke der Fettschicht beobachtet werden. Die erhobenen Verteilungen sind aus Tabelle 14 ersichtlich (Angaben als Mittelwert und Standardabweichung in Millimeter).

	Haplotyp		p-value
	TA	CA, CG	
<i>GKF</i>	23,2 $\pm$ 4,1	23,2 $\pm$ 5,6	0,992
<i>Nacken</i>	3,5 $\pm$ 1,6	3,9 $\pm$ 2,1	0,405
<i>Trizeps</i>	11,7 $\pm$ 2,6	10,8 $\pm$ 3,2	0,148
<i>Bizeps</i>	6,7 $\pm$ 3,7	6,1 $\pm$ 3,2	0,402
<i>Rücken oben</i>	5,1 $\pm$ 2,2	5,2 $\pm$ 2,3	0,87
<i>Brust seitlich</i>	6,9 $\pm$ 3,6	6,9 $\pm$ 4,7	0,976
<i>Brust vorne</i>	5,8 $\pm$ 2,8	6,5 $\pm$ 4,2	0,355
<i>Bauch oben</i>	9,2 $\pm$ 4,1	10,0 $\pm$ 5,8	0,477
<i>Bauch unten</i>	10,5 $\pm$ 3,4	10,8 $\pm$ 4,7	0,743
<i>Hüfte</i>	13,2 $\pm$ 3,6	12,9 $\pm$ 5,1	0,784
<i>Oberschenkel vorne</i>	9,2 $\pm$ 2,1	8,9 $\pm$ 2,0	0,398
<i>Oberschenkel seitlich</i>	7,9 $\pm$ 2,3	7,9 $\pm$ 2,4	0,980
<i>Oberschenkel hinten</i>	7,6 $\pm$ 2,3	6,9 $\pm$ 1,8	0,075
<i>Oberschenkel innen</i>	10,0 $\pm$ 2,5	10,4 $\pm$ 3,1	0,558
<i>Wade</i>	5,5 $\pm$ 2,2	5,2 $\pm$ 1,8	0,398

Tabelle 14: Körperfettverteilung SRD5A1

Auch im Bezug auf den Bauch- und Hüftumfang bzw. auf die daraus errechnete Waist-to-Hip-Ratio konnte kein Unterschied zwischen den untersuchten Haplotypen bei normalgewichtigen Frauen mit PCOS festgestellt werden. (erhobene Werte aus Tabelle 15 ersichtlich; Angaben als Mittelwert und Standardabweichung in cm)

	Haplotyp		p-value
	TA	CA, CG	
<i>Bauchumfang</i>	75,5 ± 7,2	77,8 ± 7,4	0,101
<i>Hüftumfang</i>	97,4 ± 7,3	97,8 ± 7,0	0,74
<i>W/H</i>	0,78 ± 0,07	0,80 ± 0,08	0,154

Tabelle 15: W/H-Ratio SRD5A1

3.2.2.3 Glukosehaushalt

Im Glukosehaushalt konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Haplotypen errechnet werden, dies gilt für die Werte der Nüchternglukose, des Nüchterninsulins, des HOMA-Index und auch für die Glukosewerte eine und zwei Stunden nach oraler Verabreichung einer Zuckerlösung.

	Haplotyp		p-value
	TA	CA, CG	
<i>Nüchternglukose</i>	82,4 ± 7,3	81,6 ± 7,0	0,567
<i>1-Stunden-Wert</i>	109,4 ± 33,4	107,6 ± 30,7	0,704
<i>2-Stunden-Wert</i>	89,5 ± 22,3	91,0 ± 24,0	0,726
<i>Nüchterninsulin</i>	5,3 ± 3,3	5,5 ± 4,6	0,513
<i>HOMA-Index</i>	1,09 ± 0,69	1,1 ± 1,0	0,579

Tabelle 16: Glukosehaushalt SRD5A1

3.2.2.4 Androgenhaushalt

Hierbei zeigte sich, dass der Spiegel für DHEAS bei Trägerinnen des Haplotyp TA mit 275,7 µg/dl im Mittel höher war als bei Trägerinnen der Haplotypen CA und CG mit 232,4 µg/dl im Mittel. Statistische Signifikanz erreichte dieses Ergebnis gleich wie bei den anderen erhobenen Parametern aus dem Androgenhaushalt nicht.

	Haplotyp		p-value
	TA	CA, CG	
<i>Freies Testosteron</i>	2,6 ± 0,9	2,5 ± 1,0	0,573
<i>Testosteron</i>	0,67 ± 0,3	0,61 ± 0,25	0,227
<i>DHEAS</i>	275,7 ± 127,6	232,4 ± 125,8	0,057
<i>Androstendion</i>	2,7 ± 1,2	2,6 ± 1,1	0,475
<i>SHBG</i>	62,4 ± 34,5	67,3 ± 42,6	0,483

Tabelle 17: Androgenhaushalt SRD5A1

3.3 SRD5A2

3.3.1 Primäre Analyse

Wie unter 2.2.2 beschrieben, wurde bei der Isoform 2 der SNP rs523349 untersucht. Die möglichen Ausprägungen hier sind G und C, wobei die Verteilung im gesamten untersuchten Kollektiv in Tabelle 18 dargestellt ist.

Genotyp	Häufigkeit im Gesamtkollektiv	Probandinnen mit PCOS		Kontrollprobandinnen	
		Anzahl	Häufigkeit	Anzahl	Häufigkeit
CC	44,0%	142	48,3%	90	38,6%
CG	44,6%	123	41,8%	112	48,1%
GG	11,4%	29	9,9%	31	11,4%

Tabelle 18: Verteilung der Genotypen für SRD5A2

Das G-Allel, welches einen Aminosäurenaustausch von Valin zu Leucin bedingt, war hier bei normalgewichtigen Frauen (n=324, BMI<25kg/m²) mit einem verminderten Risiko für die Entstehung von PCOS assoziiert (OR=0.615). Dieses Allel konnte unter den normalgewichtigen Frauen bei 48.7% der PCOS-Patientinnen (76 Probandinnen) und bei 60.7% der Kontroll-Probandinnen (102 Frauen) festgestellt werden (Chi²=4.702, p=0.03).

Allel	Häufigkeit		Odds Ratio (95%CI)	p-value
	PCOS	Kontrollen		
G Val89Leu	48,7%	60,7%	0,615 (0,396-0,955)	0,03

Tabelle 19: G-Allel in SRD5A2 bei Normalgewichtigen

Bei nicht normalgewichtigen Probandinnen (n=188, BMI≥25kg/m²) zeigte sich keine Assoziation mit der Frequenz des PCOS (Chi²=0.576, p=0.523). Hier waren 56.2% der Frauen (73 Probandinnen) mit PCOS Trägerinnen des G-Allels im Vergleich zu 62.1% der Frauen (36 Probandinnen) ohne PCOS. Weitere Analysen wurden wegen der geringen Fallzahl in dieser Gruppe im Vergleich zur Gruppe der Probandinnen mit normalem BMI nicht durchgeführt.

3.3.2 Sekundäre Analyse

Hierbei wurde der Einfluss des G-Allels im SNP rs523349, welches in seiner primären Analyse mit einer verringerten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von PCOS bei normalgewichtigen Frauen assoziiert war, auf Laborparameter und klinische Merkmale untersucht.

3.3.2.1 Ferriman-Gallwey-Score

Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied unter den normalgewichtigen Probandinnen mit PCOS. Frauen, welche Trägerinnen des G-Allels waren, wiesen im Mittel mit 6,17 sogar einen höheren Score auf als Frauen ohne das G-Allel mit einem Score von 4,83 im Mittel ($p=0,272$).

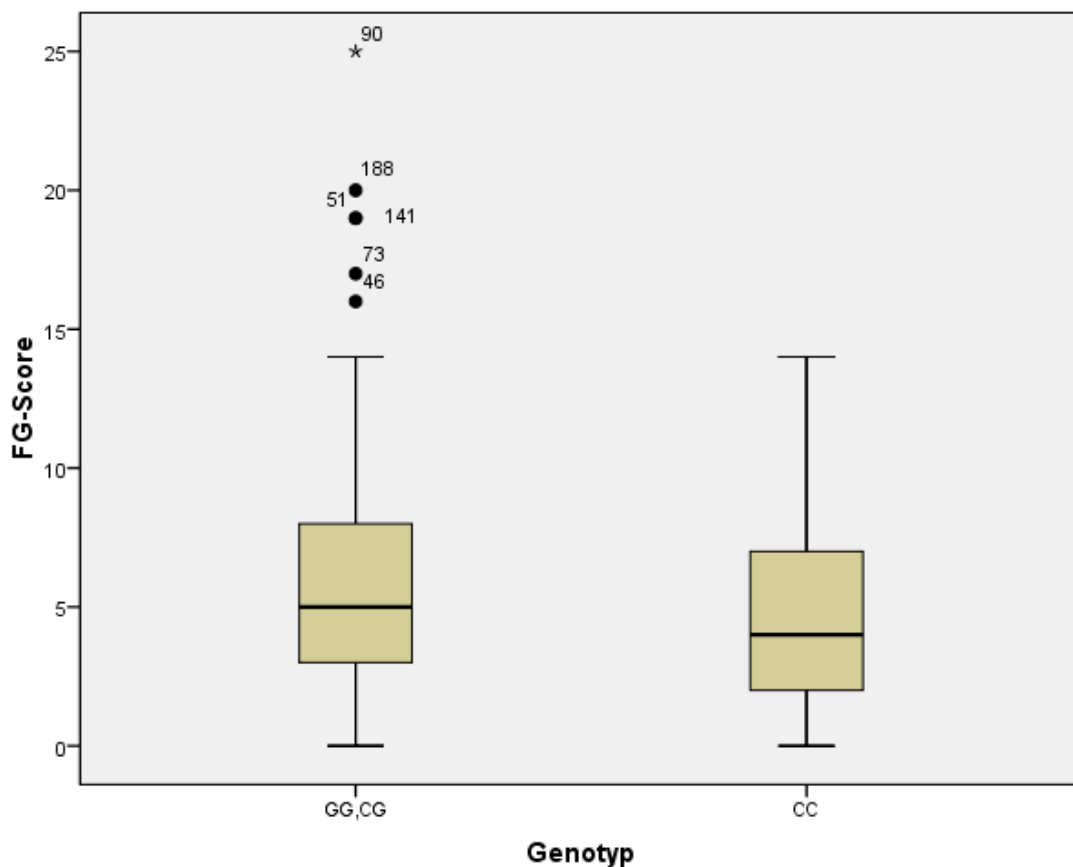


Abbildung 20: FG-Score bei Genotypen von SRD5A2

3.3.2.2 Körperfettverteilung

Die Körperfettverteilung war im untersuchten Kollektiv bei normalgewichtigen Frauen mit PCOS im Bezug auf die untersuchten Genotypen der Isoform 2 der 5 α -Reduktase nicht signifikant unterschiedlich. Sowohl bei der Ganzkörperfettmessung als auch bei der Messung der einzelnen unter 2.3 angegebenen Punkte konnte kein signifikanter Unterschied in der Dicke der Fettschicht beobachtet werden. Die erhobenen Verteilungen sind aus Tabelle 20 ersichtlich (Angaben als Mittelwert und Standardabweichung in Millimeter).

	Genotyp		p-value
	CG, GG	CC	
<i>GKF</i>	22,9 $\pm$ 4,9	23,4 $\pm$ 5,3	0,634
<i>Nacken</i>	3,5 $\pm$ 1,7	4,0 $\pm$ 2,2	0,291
<i>Trizeps</i>	11,3 $\pm$ 2,8	10,9 $\pm$ 3,3	0,506
<i>Bizeps</i>	6,3 $\pm$ 3,8	6,4 $\pm$ 3,0	0,883
<i>Rücken oben</i>	4,8 $\pm$ 2,2	5,5 $\pm$ 2,3	0,124
<i>Brust seitlich</i>	6,8 $\pm$ 4,3	7,1 $\pm$ 4,3	0,729
<i>Brust vorne</i>	6,1 $\pm$ 3,7	6,4 $\pm$ 3,8	0,692
<i>Bauch oben</i>	9,5 $\pm$ 5,1	10,0 $\pm$ 5,4	0,602
<i>Bauch unten</i>	10,6 $\pm$ 4,0	10,8 $\pm$ 4,6	0,854
<i>Hüfte</i>	13,0 $\pm$ 4,1	13,0 $\pm$ 5,1	0,949
<i>Oberschenkel vorne</i>	8,8 $\pm$ 2,1	9,0 $\pm$ 2,0	0,637
<i>Oberschenkel seitlich</i>	7,9 $\pm$ 2,1	7,9 $\pm$ 2,6	0,971
<i>Oberschenkel hinten</i>	7,2 $\pm$ 2,0	7,1 $\pm$ 2,1	0,917
<i>Oberschenkel innen</i>	10,4 $\pm$ 2,6	10,2 $\pm$ 3,1	0,734
<i>Wade</i>	5,4 $\pm$ 1,8	5,2 $\pm$ 2,0	0,551

Tabelle 20: Körperfettverteilung SRD5A2

Auch im Bezug auf den Bauch- und Hüftumfang bzw. auf die daraus errechnete Waist-to-Hip-Ratio konnte kein Unterschied zwischen den untersuchten Genotypen bei normalgewichtigen Frauen mit PCOS festgestellt werden. (erhobene Werte aus Tabelle 21 ersichtlich; Angaben als Mittelwert und Standardabweichung in cm)

	Genotyp		p-value
	GG, CG	CC	
<i>Bauchumfang</i>	76,9 ± 7,7	77,2 ± 7,1	0,836
<i>Hüftumfang</i>	97,2 ± 6,2	98,2 ± 7,8	0,406
<i>W/H</i>	0,79 ± 0,09	0,79 ± 0,06	0,671

Tabelle 21: W/H-Ratio SRD5A2

3.3.2.3 Glukosehaushalt

Im Glukosehaushalt konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Genotypen errechnet werden, dies gilt für die Werte der Nüchternglukose, des Nüchterninsulins, des HOMA-Index und auch für die Glukosewerte eine und zwei Stunden nach oraler Verabreichung einer Zuckerlösung.

	Genotyp		p-value
	GG, CG	CC	
<i>Nüchternglukose</i>	82,7 ± 7,4	81,6 ± 7,0	0,166
<i>1-Stunden-Wert</i>	106,0 ± 31,7	110,3 ± 31,3	0,401
<i>2-Stunden-Wert</i>	89,7 ± 24,7	91,3 ± 22,4	0,678
<i>Nüchterninsulin</i>	5,6 ± 4,7	5,3 ± 3,7	0,969
<i>HOMA-Index</i>	1,18 ± 1,07	1,06 ± 0,75	0,714

Tabelle 22: Glukosehaushalt SRD5A2

3.3.2.4 Androgenhaushalt

Hierbei zeigte sich, dass der Spiegel für SHBG bei Trägerinnen des G-Allels mit 74,0 nmol/ml im Mittel signifikant höher war als bei Frauen ohne das G-Allel mit 58,0 nmol/ml im Mittel. Für die anderen erhobenen Parameter aus dem Androgenhaushalt wurde keine statistische Signifikanz nachgewiesen.

	Genotyp		p-value
	GG, CG	CC	
<i>Freies Testosteron</i>	2,5 ± 0,9	2,5 ± 0,9	0,683
<i>Testosteron</i>	0,65 ± 0,3	0,62 ± 0,24	0,467
<i>DHEAS</i>	257,0 ± 142,1	235,7 ± 111,7	0,319
<i>Androstendion</i>	2,6 ± 1,2	2,6 ± 1,1	0,679
<i>SHBG</i>	74,0 ± 45,5	58,0 ± 33,0	0,032

Tabelle 23: Androgenhaushalt SRD5A2

4 DISKUSSION

4.1 Primäre Analysen

Bei den hier untersuchten Veränderungen in den Genen der beiden Isoformen der 5 α -Reduktase zeigte sich, dass bei normalgewichtigen Probandinnen der Haplotyp TA, bestehend aus den SNPs rs3797179 und rs39848, in der Isoform 1 mit einer erhöhten Frequenz für das Auftreten des Polyzystischen Ovar-Syndroms assoziiert war. Bei der Isoform 2 hingegen war das G-Allel im SNP rs523349 mit einer verringerten Häufigkeit von PCOS bei normalgewichtigen Probandinnen assoziiert. Bis dato ist dies die zweite Studie, in der genetische Veränderungen in den Genen der 5 α -Reduktase in Hinblick auf das Auftreten des PCO-Syndroms analysiert wurden. Die erste Untersuchung hierzu wurde in Amerika an 287 Frauen mit PCOS und 187 gesunden Frauen, in Summe also mit einer etwas niedrigeren Fallzahl als in der vorliegenden Studie, durchgeführt. [50] Die Ergebnisse dieser beiden Arbeiten sind jedoch, trotz unterschiedlichem ethnischen Hintergrundes und einer nur gering höheren Fallzahl, weitgehend ident. Das weist darauf hin, dass dieses Enzym in der Pathophysiologie des untersuchten Syndroms eine bestimmte Rolle spielt. Einige Studien, die die Aktivität dieses Enzyms bei PCOS-Probandinnen untersucht haben, bieten weitere Evidenz hierfür. So wurden erhöhte Spiegel von Dihydrotestosteron und weiteren Metaboliten, die durch 5 α -Reduktion entstehen, bei Frauen mit PCOS im Vergleich zu Frauen ohne PCOS gefunden, was vor allem durch eine erhöhte Aktivität dieses Enzyms erklärbar wäre. [51, 57, 52, 58, 59] Außerdem ist bekannt, dass die 5 α -Reduktase nicht nur Testosteron zu Dihydrotestosteron umwandelt, sondern auch in der Leber Cortisol zu Dihydrocortisol metabolisiert. Eine Erhöhung der Aktivität würde somit einen Abfall des Cortisols bewirken, wobei eine Steigerung der ACTH-Ausschüttung zum Zweck der Normalisierung des Cortisolspiegels auch eine vermehrte Androgenproduktion bewirken würde und somit zur Entstehung des PCOS beitragen könnte. [60] Auch auf zellulärer Ebene konnte gezeigt werden, dass in den verschiedenen Zellen der Ovarien von Probandinnen mit PCOS die Aktivität

der 5 α -Reduktase, vor allem der Isoform 1, erhöht war. Aus pathophysiologischer Sicht könnte der erhöhte Spiegel an Metaboliten aus der 5 α -Reduktion zu einer Hemmung der Aromatase und somit zu einer verminderten intrafollikulären Östrogenbildung mit konsekutivem follikulären Arrest führen. [51, 61]

In weiterer Folge würde das bedeuten, dass die gefundenen genetischen Veränderungen für funktionelle Varianten der 5 α -Reduktase, die in Zusammenhang mit deren Aktivität stehen, kodieren. Hierzu liegen Daten vor allem im Bezug auf die Isoform 2 aus verschiedenen Studien vor. Es konnte sowohl in vitro, als auch in vivo gezeigt werden, dass das G-Allel, welches wie oben beschrieben einen Aminosäureaustausch von Valin zu Leucin bewirkt, mit einer Reduktion der Aktivität der 5 α -Reduktase von 10-40 % verbunden war. [62–64] Hieraus würde somit, wie aus unseren Daten auch hervorgeht, ein Schutz vor der Entwicklung des PCOS entstehen. Entsprechende Ergebnisse für den gefundenen Haplotyp der Isoform 1 stehen jedoch noch aus.

Im Gegensatz dazu wurde jedoch die oben beschriebene erhöhte Aktivität der 5 α -Reduktase auch bei alleiniger Adipositas ohne PCOS beschrieben. [65] Eine erhöhte Enzymaktivität durch die metabolische Komponente des PCOS ohne genetischen Hintergrund wäre also theoretisch denkbar. Durch die unterschiedlichen Ausprägungen dieses Syndroms und eine mögliche fehlende Adipositas bei Betroffenen kann diese These jedoch nicht für alle Frauen mit PCOS gelten. Vor Kurzem konnte außerdem auch gezeigt werden, dass die 5 α -Reduktase-Aktivität bei PCOS-Probandinnen sowohl bei adipösen, als auch bei normalgewichtigen Frauen erhöht ist. [66] Dieser Aspekt spiegelt sich vor allem in der vorliegenden Studie dadurch wider, dass die gefundenen genetischen Veränderungen Assoziationen mit PCOS unter den normalgewichtigen Probandinnen zeigen. Goodarzi et al. haben in ihrer Studie eine Assoziation mit PCOS derselben genetischen Varianten unabhängig vom BMI gefunden. [50] Dies könnte auf die unterschiedlichen Ernährungs- und Bewegungsgewohnheiten der europäischen im Vergleich zur amerikanischen Bevölkerung zurückgeführt werden. So war der BMI im untersuchten amerikanischen Kollektiv sowohl bei den Probandinnen mit PCOS als auch bei den Kontroll-

Probandinnen höher als in unserem Kollektiv. Bei gleicher genetischer Konstellation würde der unterschiedliche Lebensstil somit zu einer Erhöhung des BMI und in weiterer Folge zu einem anderen Ergebnis führen.

Wie zuvor beschrieben, scheint die erhöhte Aktivität der 5 α -Reduktase eine wichtige Rolle bei der Entstehung des PCOS zu spielen. Dies führt in weiterer Folge zum Hyperandrogenismus, welcher als zentrales Element in der Pathophysiologie dieses Syndroms angesehen wird. Die Erhöhung der 5 α -Reduktase-Aktivität scheint bei den unterschiedlichen Ausprägungen dieses Syndroms entweder durch Adipositas oder durch genetische Faktoren zu Stande zu kommen, was im Einklang mit den postulierten unterschiedlichen pathogenetischen Wegen zur Entstehung des PCOS steht.

4.2 Sekundäre Analysen

4.2.1 Ferriman-Gallwey-Score

Hier zeigte sich, dass genetische Veränderungen der Isoform 1 eine Rolle bei der Entstehung des Hirsutismus spielen. Der untersuchte Haplotyp TA war mit einem höheren Ferriman-Gallwey-Score assoziiert. Die Isoform 2 jedoch scheint hierauf keinen Einfluss zu haben. Dies konnten auch Goodarzi et al an einem amerikanischen Kollektiv zeigen. [50] Vorhergehende Studien konnten auch schon belegen, dass vor allem die mRNA der Isoform 1 der 5 α -Reduktase in Haarfollikeln exprimiert wird, was darauf schließen lässt, dass diese Isoform eine wichtige Rolle im vermehrten Wachstum von Haaren spielt. [67, 68] Außerdem konnte in vitro gezeigt werden, dass selektive Inhibitoren der Isoform 1, nicht jedoch selektive Inhibitoren der Isoform 2 einen Einfluss auf das Haarwachstum haben. [69]

4.2.2 Körperfettverteilung

Im Bezug auf die Körperfettverteilung konnten keine Unterschiede zwischen den untersuchten genetischen Varianten festgestellt werden. Da jedoch aus organisatorischen Gründen nur Probandinnen mit PCOS und keine Kontrollen mittels Lipometer vermessen werden konnten, bestand auch keine Vergleichsmöglichkeit mit einem gesunden Kollektiv. Bekannt ist jedoch, dass Frauen, die unter PCOS leiden eine androide stammbetonte Fettverteilung aufweisen [70], welche mit einem erhöhten Risiko für Insulinresistenz und einem ungünstigen Lipidprofil assoziiert sind. [71]

4.2.3 Glukosehaushalt

Bei den von uns untersuchten genetischen Veränderungen zeigte sich keine Assoziation mit den erhobenen Parametern aus dem Bereich des Glukosehaushalts. Bis dato wurde auch in der Literatur dem Enzym der 5 α -Reduktase keine Rolle im Glukosehaushalt zugeschrieben. Eine Assoziation des PCOS mit gestörter Glukosetoleranz und Insulinresistenz bis hin zum manifesten Diabetes mellitus Typ 2 ist jedoch hinlänglich bekannt und die Notwendigkeit eines Screenings mittels oGTT steht außer Frage. Die primäre Therapie der Lebensstilintervention beziehungsweise der Gewichtsreduktion bei adipösen Patientinnen und der Einsatz von Insulinsensitizern wie Methformin bei bereits gestörter Glukosetoleranz stellen eine grundlegende Maßnahme dar, um Spätfolgen dieses Syndroms hintan zu halten. [72]

4.2.4 Androgenhaushalt

Im untersuchten Haplotyp TA der Isoform 1 der 5 α -Reduktase, welcher mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von PCOS assoziiert war, zeigte sich ein insgesamt ungünstigeres Androgenprofil im Vergleich zu den anderen Haplotypen. Auch wenn keine statistische Signifikanz erreicht wurde, waren die Spiegel für Testosteron, freies Testosteron, DHEAS und Androstendion höher und der Spiegel für SHBG niedriger als bei PCOS-Probandinnen ohne den Haplotyp TA. Dies könnte in Zusammenhang mit dem zuvor beschriebenen, höheren Ferriman-Gallwey-Score bei diesen Probandinnen stehen.

Bei der Isoform 2 konnte ein signifikant höherer SHBG-Spiegel bei PCOS-Probandinnen, welche Trägerinnen des G-Allels waren, festgestellt werden. Wichtig hierbei ist, dass es einen präzisen Zusammenhang zwischen SHBG und Insulin zu geben scheint, wobei verringerte SHBG-Spiegel als Indikator für Insulinresistenz angesehen werden können. [73] Frauen mit diesem Allel wären somit nicht nur seltener von PCOS betroffen, sondern hätten möglicherweise auch bei einer allfälligen Entwicklung dieses Syndroms mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit für die Entstehung einer Insulinresistenz zu rechnen. Die Ergebnisse für die Parameter aus dem Glukosehaushalt geben hierfür jedoch leider keinen Hinweis.

4.3 Limitationen

Eine wichtige Limitation dieser vorliegenden Studie ist das Kontrollkollektiv, welches nicht so ausführlich wie das Kollektiv der PCOS-Probandinnen charakterisiert wurde. Ein genauer Hormonstatus, sowie eine Lipometermessung, ein oGTT und auch eine klinische Untersuchung wären für Kontroll-Probandinnen wünschenswert, um die erhobenen Daten der Frauen mit PCOS besser interpretieren zu können. Weiters wären größere Fallzahlen wichtig, um in Zukunft vor allem die einzelnen Phänotypen des PCOS genauer untersuchen zu können und mögliche geringe Veränderungen in den verschiedenen betroffenen Bereichen detektierbar zu machen.

4.4 Schlussfolgerung

Viele Studien haben bisher einen Zusammenhang zwischen gewissen genetischen Veränderungen und dem Auftreten des PCOS beschrieben. Bis Dato war es aber nur sehr selten möglich ein positives Ergebnis in weiterer Folge in einem anderen Untersuchungskollektiv zu replizieren. Dies ist mit der vorliegenden Arbeit jedoch weitgehend gelungen. Es konnte bestätigt werden, dass ein Haplotyp der Isoform 1 der 5 α -Reduktase bei normalgewichtigen Probandinnen mit einer erhöhten Frequenz für das Auftreten von PCOS und einem erhöhten Ferriman-Gallwey-Score assoziiert ist. Für die Isoform 2 konnte ebenfalls eine Assoziation zwischen einem bestimmten Allel und dem Auftreten des PCOS bei normalgewichtigen Probandinnen repliziert werden. Dies unterstreicht die verbreitete These, dass die Aktivität der 5 α -Reduktase bei Frauen, die unter PCOS leiden, erhöht ist. Möglicherweise spielt das eine wichtige Rolle in der Entstehung der Hyperandrogenämie, die als zentrales Element der Pathophysiologie dieses Syndroms angesehen wird. Die Ursache dieser erhöhten Enzym-Aktivität scheint jedoch unterschiedlich zu sein, wobei bei normalgewichtigen Frauen der genetische Hintergrund wahrscheinlich Einfluss hat und bei übergewichtigen Frauen die Adipositas selbst möglicherweise der Grund hierfür ist. Die Theorie, wonach verschiedene Ursachen zur Entwicklung des PCOS führen, wird dadurch abermals gestärkt. Eine Verifizierung dieser Ergebnisse mittels einer Analyse der Genexpression in Granulosazellen von Betroffenen wurde bereits angedacht. Außerdem ist eine Bestimmung der Spiegel von Dihydrotestosteron und Dihydrocortisol geplant. Zur weiteren Abklärung des genetischen Hintergrundes dieser komplexen Erkrankung sind in Zukunft die Bestätigung weiterer vorliegender positiver Ergebnisse aus genetischen Studien, vor allem in Untersuchungskollektiven mit größeren Fallzahlen, nötig. Außerdem stellt die genomweite Analyse einen viel versprechenden Ansatz zur Entdeckung von Kandidatengen dar.

5 LITERATURVERZEICHNIS

1. Klinke R, Pape H, Silbernagl S, Bauer C. Physiologie. 5., komplett überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2005.
2. Horn F. Biochemie des Menschen. 3., grundlegend überarb. u. erw. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2005.
3. Stauber M, Weyerstahl T. Gynäkologie und Geburtshilfe. 3., aktual. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2007. (Duale Reihe).
4. Silbernagl S, Lang F. Taschenatlas der Pathophysiologie. 2. korr. Aufl. Stuttgart u.a.: Thieme; 2005.
5. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Current evaluation of amenorrhea. Fertil Steril 2008; 90(5 Suppl):S219-25.
6. Kallmann-Syndrom [cited 2010 Jan 21]. Available from: URL:<http://www.medizinische-genetik.de/index.php?id=2286>.
7. Stein IF LML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol 1935; 29:181–91.
8. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83(9):3078–82.
9. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG et al. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84(11):4006–11.

10. Michelmores KF, Balen AH, Dunger DB, Vessey MP. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 51(6):779–86.
11. Asuncion M, Calvo RM, San Millan JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(7):2434–8.
12. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2745–9.
13. Dunaif A. Polycystic ovary syndrome. *Curr Ther Endocrinol Metab* 1994; 5:222–9.
14. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(1):19–25.
15. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(11):4237–45.
16. Kauffman RP, Baker TE, Baker VM, DiMarino P, Castracane VD. Endocrine and metabolic differences among phenotypic expressions of polycystic ovary syndrome according to the 2003 Rotterdam consensus criteria. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198(6):670.e1-7; discussion 670.e7-10.
17. Hsu M, Liou T, Chou S, Chang C, Hsu C. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome in Taiwanese Chinese women: comparison between Rotterdam 2003 and NIH 1990. *Fertil Steril* 2007; 88(3):727–9.

18. Diamanti-Kandarakis E, Panidis D. Unravelling the phenotypic map of polycystic ovary syndrome (PCOS): a prospective study of 634 women with PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67(5):735–42.
19. Trivax B, Azziz R. Diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 50(1):168–77.
20. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007; 370(9588):685–97.
21. Archer JS, Chang RJ. Hirsutism and acne in polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18(5):737–54.
22. Mason H, Colao A, Blume-Peytavi U, Rice S, Qureshi A, Pellatt L et al. Polycystic ovary syndrome (PCOS) trilogy: a translational and clinical review. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 69(6):831–44.
23. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005; 352(12):1223–36.
24. Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(1):165–9.
25. Essah PA, Nestler JE. Metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006; 86 Suppl 1:S18-9.
26. Cussons AJ, Stuckey BGA, Watts GF. Cardiovascular disease in the polycystic ovary syndrome: new insights and perspectives. *Atherosclerosis* 2006; 185(2):227–39.
27. Boomsma CM, Fauser BCJM, Macklon NS. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med* 2008; 26(1):72–84.

28. Padmanabhan V. Polycystic ovary syndrome--"A riddle wrapped in a mystery inside an enigma". *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(6):1883–5.
29. Dasgupta S, Reddy BM. Present status of understanding on the genetic etiology of polycystic ovary syndrome. *J Postgrad Med* 2008 Apr-Jun; 54(2):115–25.
30. Azziz R. Androgen excess is the key element in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 80(2):252–4.
31. Franks S, McCarthy MI, Hardy K. Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. *Int J Androl* 2006; 29(1):278–85; discussion 286–90.
32. Schuring AN, Schulte N, Sonntag B, Kiesel L. Androgens and insulin--two key players in polycystic ovary syndrome. Recent concepts in the pathophysiology and genetics of polycystic ovary syndrome. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 2008; 48(1):9–15.
33. Doi SAR. Neuroendocrine dysfunction in PCOS: a critique of recent reviews. *Clin Med Res* 2008; 6(2):47–53.
34. Balen A, Homburg R, Franks S. Defining polycystic ovary syndrome. *BMJ* 2009; 338:a2968.
35. Alberts B. *Lehrbuch der molekularen Zellbiologie: [der "kleine" Alberts]*. 3. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH Verl.; 2005.
36. Jahanfar S, Eden JA. Genetic and non-genetic theories on the etiology of polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 1996; 10(5):357–64.
37. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C. Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth. *Hum Reprod Update* 2005 Nov-Dec; 11(6):631–43.

38. Fratantonio E, Vicari E, Pafumi C, Calogero AE. Genetics of polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online* 2005; 10(6):713–20.
39. Sam S, Coviello AD, Sung Y, Legro RS, Dunaif A. Metabolic phenotype in the brothers of women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 2008; 31(6):1237–41.
40. Hughes C, Elgasim M, Layfield R, Atiomo W. Genomic and post-genomic approaches to polycystic ovary syndrome--progress so far: Mini Review. *Hum Reprod* 2006; 21(11):2766–75.
41. Goodarzi MO. Looking for polycystic ovary syndrome genes: rational and best strategy. *Semin Reprod Med* 2008; 26(1):5–13.
42. Hickey T, Chandy A, Norman RJ. The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(1):161–5.
43. Gharani N, Waterworth DM, Batty S, White D, Gilling-Smith C, Conway GS et al. Association of the steroid synthesis gene CYP11a with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. *Hum Mol Genet* 1997; 6(3):397–402.
44. Chen Z, Shi Y, Zhao Y, Li Y, Tang R, Zhao L et al. [Correlation between single nucleotide polymorphism of insulin receptor gene with polycystic ovary syndrome]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2004; 39(9):582–5.
45. Urbanek M, Wu X, Vickery KR, Kao LC, Christenson LK, Schneyer A et al. Allelic variants of the follistatin gene in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(12):4455–61.
46. Urbanek M, Woodroffe A, Ewens KG, Diamanti-Kandarakis E, Legro RS, Strauss JF et al. Candidate gene region for polycystic ovary syndrome on chromosome 19p13.2. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(12):6623–9.

47. Stewart DR, Dombroski BA, Urbanek M, Ankener W, Ewens KG, Wood JR et al. Fine mapping of genetic susceptibility to polycystic ovary syndrome on chromosome 19p13.2 and tests for regulatory activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10):4112–7.
48. Urbanek M, Du Y, Silander K, Collins FS, Steppan CM, Strauss JF et al. Variation in resistin gene promoter not associated with polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 2003; 52(1):214–7.
49. Urbanek M, Sam S, Legro RS, Dunaif A. Identification of a polycystic ovary syndrome susceptibility variant in fibrillin-3 and association with a metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(11):4191–8.
50. Goodarzi MO, Shah NA, Antoine HJ, Pall M, Guo X, Azziz R. Variants in the 5alpha-reductase type 1 and type 2 genes are associated with polycystic ovary syndrome and the severity of hirsutism in affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10):4085–91.
51. Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Magoffin DA. 5alpha-reductase activity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(7):2414–8.
52. Fassnacht M, Schlenz N, Schneider SB, Wudy SA, Allolio B, Arlt W. Beyond adrenal and ovarian androgen generation: Increased peripheral 5 alpha-reductase activity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6):2760–6.
53. Pschyrembel W. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. 259., neu bearb. Aufl., mit CD-ROM Version 2002. Berlin u.a.: de Gruyter; 2002.
54. Clontech: Home [cited 2010 Jan 21]. Available from: URL:<http://www.clontech.com/>.
55. Applied Biosystems [cited 2010 Jan 21]. Available from: URL:http://www3.appliedbiosystems.com/AB_Home/index.htm.

56. 31.12.2009. 2009 Dec 31 [cited 2010 Jan 21]. Available from: URL:<http://www.asuragen.com/images/TaqMan%20GX%20cartoon.jpg>.
57. Tsilchorozidou T, Honour JW, Conway GS. Altered cortisol metabolism in polycystic ovary syndrome: insulin enhances 5alpha-reduction but not the elevated adrenal steroid production rates. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(12):5907–13.
58. Chin D, Shackleton C, Prasad VK, Kohn B, David R, Imperato-McGinley J et al. Increased 5alpha-reductase and normal 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase metabolism of C19 and C21 steroids in a young population with polycystic ovarian syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13(3):253–9.
59. Rodin A, Thakkar H, Taylor N, Clayton R. Hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. Evidence of dysregulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *N Engl J Med* 1994; 330(7):460–5.
60. Stewart PM, Shackleton CH, Beastall GH, Edwards CR. 5 alpha-reductase activity in polycystic ovary syndrome. *Lancet* 1990; 335(8687):431–3.
61. Haning RV, Tantravahi U, Zhao Q, Hackett RJ, Canick JA. 5alpha-reductase 1 and 2 expression and activity in human ovarian follicles, stroma and corpus luteum as compared to neonatal foreskin. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 59(2):199–204.
62. Allen NE, Forrest MS, Key TJ. The association between polymorphisms in the CYP17 and 5alpha-reductase (SRD5A2) genes and serum androgen concentrations in men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(3):185–9.
63. Hsing AW, Chen C, Chokkalingam AP, Gao YT, Dightman DA, Nguyen HT et al. Polymorphic markers in the SRD5A2 gene and prostate cancer risk: a population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(10):1077–82.

64. Makridakis NM, Di Salle E, Reichardt JK. Biochemical and pharmacogenetic dissection of human steroid 5 alpha-reductase type II. *Pharmacogenetics* 2000; 10(5):407–13.
65. Andrew R, Phillips DI, Walker BR. Obesity and gender influence cortisol secretion and metabolism in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(5):1806–9.
66. Vassiliadi DA, Barber TM, Hughes BA, McCarthy MI, Wass JAH, Franks S et al. Increased 5 alpha-reductase activity and adrenocortical drive in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(9):3558–66.
67. Oliveira IO, Lhullier C, Brum IS, Spritzer PM. The 5alpha-reductase type 1, but not type 2, gene is expressed in anagen hairs plucked from the vertex area of the scalp of hirsute women and normal individuals. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36(10):1447–54.
68. Courchay G, Boyera N, Bernard BA, Mahe Y. Messenger RNA expression of steroidogenesis enzyme subtypes in the human pilosebaceous unit. *Skin Pharmacol* 1996; 9(3):169–76.
69. Gerst C, Dalko M, Pichaud P, Galey JB, Buan B, Bernard BA. Type-1 steroid 5 alpha-reductase is functionally active in the hair follicle as evidenced by new selective inhibitors of either type-1 or type-2 human steroid 5 alpha-reductase. *Exp Dermatol* 2002; 11(1):52–8.
70. Tafeit E, Muller R, Rackl S, Giuliani A, Urdl W, Freytag U et al. Subcutaneous adipose tissue pattern in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228(6):710–6.
71. Wehr E, Muller R, Horejsi R, Giuliani A, Kopera D, Schweighofer N et al. Subcutaneous adipose tissue topography and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Wien Klin Wochenschr* 2009; 121(7-8):262–9.

72. Salley KES, Wickham EP, Cheang KI, Essah PA, Karjane NW, Nestler JE. Glucose intolerance in polycystic ovary syndrome--a position statement of the Androgen Excess Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(12):4546–56.
73. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Evans WS, Pasquali R. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene-induced ovulation in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338(26):1876–80.

ANHANG Einverständniserklärungen

Patientinneninformation und Einwilligungserklärung

für die Teilnahme an der klinischen Studie
zur Untersuchung der Ursache und Behandlungsmöglichkeit bei Frauen mit übermäßigem
Haarwuchs (Hirsutismus = männl. Behaarungstypus bei Frauen)

Sehr geehrte Frau

Name

Geburtsdatum

Zweck dieser klinischen Studie ist es, Ursache und mögliche medizinische Zusammenhänge des unerwünschten Haarwachstums (Hirsutismus) bei Frauen herauszufinden.

Es ist bekannt, dass Hirsutismus möglicherweise Vorbote einer späteren diabetischen Stoffwechsellaage (Zuckerkrankheit), (ungewollter) Fettleibigkeit und/oder des polyzystischen Ovar-Syndroms (PCO=zystisch veränderte Eierstöcke) sein kann. Herauszufinden, ob dies möglicherweise ererbte Ursachen hat, ist ebenfalls Ziel dieser Untersuchung.

Geplante Maßnahmen: Durch das Ausfüllen eines speziell dafür entworfenen Fragebogens und die Durchführung einiger medizinischer Tests (Body-Mass-Index=BMI, Hormonstatus, DNA-Analyse (separate Einverständniserklärung), LHRH-Test, oraler Glucosetoleranztest, Ultraschall Untersuchung) können wichtige Rückschlüsse auf die Entstehung und zukünftige Entwicklung von Hirsutismus, Fettleibigkeit und PCO-Syndrom gezogen werden. Möglicherweise ergeben sich aus den so gewonnenen Erkenntnissen auch neue Behandlungsmaßnahmen bzw. Vorbeugestrategien gegen unerwünschtes Haarwachstum, Fettleibigkeit und zystisch veränderte Eierstöcke. Die dazu erforderlichen Untersuchungen werden nach Terminvereinbarung (ohne Wartezeit) in der Endokrinologischen Ambulanz der Universitätsklinik für Innere Medizin durchgeführt. Dafür erforderlich ist von allen Teilnehmerinnen die Bereitschaft zu einer Blutabnahme. Kontrollen nach 6 und 12 Monaten sind vorgesehen.

Die erarbeiteten Daten werden streng vertraulich und nur zu wissenschaftlichen Zwecken verwendet. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Frau Prof. Obermayer-Pietsch (Tel. 0316-385-80253) oder Frau Prof.Kopera (Tel.0316-385-81817).

Die Teilnahme an dieser klinischen Studie ist freiwillig und ohne anfallende Kosten für Sie.

Einverständniserklärung

Ich habe die Patienteninformation zur geplanten klinischen Studie zur Untersuchung der Ursache und Behandlungsmöglichkeit bei Frauen mit übermäßigem Haarwuchs im Gesicht (Hirsutismus = männlichem Behaarungstypus bei Frauen) verstanden und bin mit den Untersuchungen zu den geplanten Bedingungen einverstanden. Ich wurde von Prof. Obermayer-Pietsch/Prof.Kopera und MitarbeiterInnen mündlich darüber informiert. Meine Teilnahme ist freiwillig.

Datum:.....

Unterschrift:

.....
Name der aufklärenden Facharztes

.....
Unterschrift des Facharztes

Information für Genetische Untersuchungen im Rahmen der Studie „PCO-Syndrom – klinische Bedeutung einer genetischen Prädisposition“

(=Untersuchung der Ursache und Behandlungsmöglichkeit bei Frauen mit übermäßigem Haarwuchs (Hirsutismus=männl. Behaarungstypus bei Frauen))

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Hormonerkrankungen lassen vermuten, dass Träger bestimmter Veränderungen des Erbmaterials rascher oder schwerer erkranken können. Um Risikopersonen erkennen zu können, möchten wir Sie einladen, an einer Untersuchung zur genetischen Disposition des Polycystischen Ovar-Syndroms (PCOS) teilzunehmen. Diese wissenschaftliche Studie soll erbliche Faktoren untersuchen, die zum Ausbruch und zum Schweregrad eines PCOS beitragen können, wie z.B. Polymorphismen des 11 β OHase-Gens oder der 5alpha-Reduktase-Gene, die in der hormonellen Regulation der Geschlechtshormone wichtig sind.

Hierfür ist eine einmalige Blutabnahme von etwa 2 ml Vollblut erforderlich, aus dessen Blutkörperchen dann das Erbmaterial in kleinsten Mengen gewonnen und mittels einer PCR-Analyse auf polymorphe Genveränderungen untersucht wird. Die Ergebnisse werden ausschließlich wissenschaftlich und anonymisiert untersucht, eine Übermittlung der Gesamtergebnisse ist gerne möglich, individuelle Ergebnisse können nur in Ausnahmefällen mitgeteilt werden.

Untersucht werden insgesamt etwa 500 Personen, die

- ☐ selbst ein klinisches PCOS aufweisen oder in der Familie haben oder
- ☐ bei denen ein PCOS weitgehend ausgeschlossen ist.

Alle Analysen werden an der Medizinischen Universitätsklinik, Klin.Abt. Endokrinologie/ Nuklearmedizin, Labor, Einrichtung für Genanalysen §68 GTG (Laborleiterin: aoUniv.Prof. Dr. Barbara Obermayer-Pietsch) durchgeführt und entsprechen dem österr. Gentechnikgesetz.

Die Proben werden für 20 Jahre an der Medizinischen Universitätsklinik unter der Verantwortlichkeit der Laborleiterin aufbewahrt und danach vernichtet. Sollten Sie mit der Aufbewahrung von Material nicht einverstanden sein, wird das Material nach Durchführung der in diesem Projekt geplanten Untersuchungen unter Kontrolle der Projektleiterin vernichtet. Der Schutz vor dem Zugriff Unbefugter ist nach dem österr. Gentechnikgesetz sichergestellt. Es erfolgt eine Anonymisierung und Kodierung der Proben mit Verschlüsselung der personenbezogenen Daten. Der Schlüsselcode liegt bei der Studienleiterin für die kommenden 20 Jahre auf.

Die Ergebnisse, die wir in dieser Studie erheben, können in Zukunft für Sie bzw. für Mitglieder Ihrer Familie nützlich sein. Im Falle der Entdeckung wichtiger Erbmerkmale kann es sein, daß wir Sie einladen werden, Ihre Familie näher untersuchen zu lassen. Selbstverständlich ist auch die Teilnahme daran freiwillig und es entstehen Ihnen keinerlei Nachteile, wenn Sie dies ablehnen.

Einverständniserklärung I

Ich habe die umseitige Patienteninformation gelesen und verstanden und bestätige mit meiner Unterschrift meine Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme an der genetischen Untersuchung. Diese kann ich jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne dass mir daraus Nachteile erwachsen, zurückziehen.

.....	
Name, Geburtsdatum des Patienten	Unterschrift des Patienten

Einverständniserklärung II

Mit einer zusätzlichen Verwendung der anonymisierten Proben für Forschung und Lehre, die sich auch auf andere als das o.g. PCOS bezieht, bin ich einverstanden. Ich kann jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne dass mir daraus Nachteile erwachsen, diese Einwilligung zurückziehen.

.....	
Ort und Datum	Unterschrift des Patienten

.....	
Name des aufklärenden Facharztes	Unterschrift des aufklärenden Facharztes

ANHANG Protokoll der Lipometermessung

Datum:

SF-Top Protokoll

LIPoware

Name:
Geschlecht:
Alter:
Größe:
Gewicht:

gemessen vom
LIPOMETER V.3.0
von

MOELLER MESSTECHNIK

Subkutane

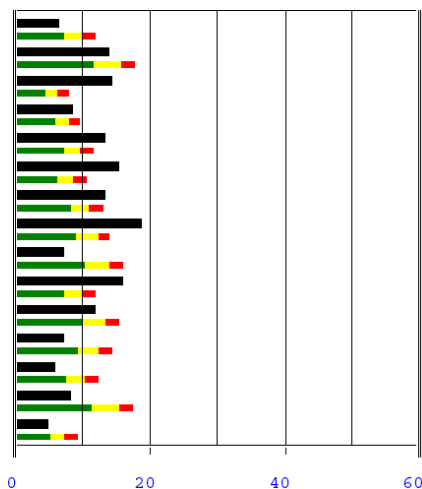
Fett

Topographie

MESSPUNKTE

FETTSCHICHTEN (in mm)

1-Nacken	6.4	mm
2-Triceps	13.8	mm
3-Biceps	14.4	mm
4-Rücken oben	8.5	mm
5-Brust vorne	13.1	mm
6-Brust seidl.	15.3	mm
7-Bauch oben	13.1	mm
8-Bauch unten	18.6	mm
9-Rücken unten	7.3	mm
10-Hüfte	15.9	mm
11-O.Schenkel v	11.9	mm
12-O.Schenkel s	7.0	mm
13-O.Schenkel h	5.7	mm
14-O.Schenkel i	8.2	mm
15-Wade	4.6	mm



GesamtKörperFett 28.1 %

22.5 kg Fettmasse

57.5 kg Magermasse

sehr gut bis zu	23.8 %	=	3.4 kg Fett zuviel
gut bis zu	27.1 %	=	0.8 kg Fett zuviel
mittel bis zu	30.4 %	=	--- kg Fett zuviel
mäßig bis zu	33.8 %	=	--- kg Fett zuviel
schlecht ab	33.8 %	=	---

SF-Top: zonale Bewertung

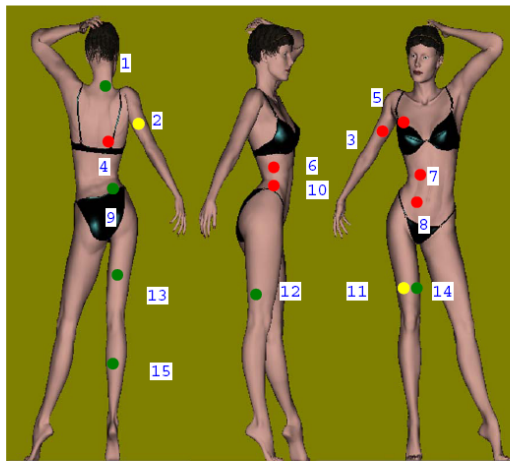
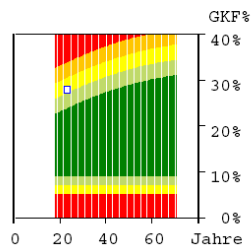
Subcutaneous Adipose Tissue

SATmass **18.9 kg**

Visceral Adipose Tissue

VATmass **3.6 kg**

GKF% - Alter



ANHANG Fragebogen

QUESTION	CRITERIA TO ATTAIN SCORE VALUE	SCORE VALUE
Please answer this question, NOT INCLUDING any time spent pregnant, receiving birth control pills or injections, after menopause, or after having both ovaries or the uterus surgically removed: Between the ages of 16 and 40, about how long was your average menstrual cycle (time from first day of one period to the first day of the next period)? (select ONE only) • <25 d • 25-34 d • 35-60 d • More than 60 d • Totally variable	Patient indicates any one of • 35-60 d • more than 60 d • totally variable	1
During your menstruating years (not including during pregnancy), did you have a tendency to grow dark, coarse hair on your (circle ALL that apply) • upper lip? • chin? • breasts? • chest between the breasts? • back? • belly? • upper arms? • upper thighs?	Patient indicates 3 or more sites	1
Were you ever obese or overweight between the ages of 16 and 40? (circle ONE) • Yes • No	Patient indicates Yes	1
Between the ages of 16 and 40, have you ever noticed a milky discharge from your nipples (not including during pregnancy or recent childbirth)? (circle ONE) • Yes • No	Patient indicates Yes Patient indicates No	1 -1 0
TOTAL		If ≥ 2, consistent with diagnosis of PCOS If <2, not consistent with diagnosis of PCOS
PCOS—polycystic ovary syndrome.		

ANHANG Ferriman-Gallwey-Score

