

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**Untersuchungen zur Rolle von Dehydroepiandrosteron und seinem
Sulfatester Dehydroepiandrosteronsulfat in der Pathogenese des
Androgenexzesses beim Syndrom der polyzystischen Ovarien**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Diana Andrea Filko
aus Schweinfurt

Würzburg, August 2009

Referent: Herr Prof. Dr. B. Allolio

Korreferentin: Frau Prof. Dr. W. Arlt

Dekan: Herr Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.07.2010

Die Promovendin ist Ärztin.

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Hinführung zum Thema.....	1
1.2	Physiologie von DHEA/S.....	2
1.2.1	Herkunft, Biosynthese und Plasmakonzentration von DHEA/S.....	2
1.2.2	DHEA/S-Sekretion in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht.....	6
1.2.3	Stimulation und Regulation der adrenalen Androgensynthese	8
1.2.4	Interkonversion von DHEA/S	11
1.2.5	Downstream-Metabolismus zu Androgenen und Östrogenen, Intrakrinologie.....	14
1.2.6	Wirkmechanismen von DHEA.....	16
1.3	Das Syndrom der polyzystischen Ovarien (PCO-Syndrom; Stein- Leventhal- Syndrom).....	17
1.3.1	Prävalenz, Definition und Morphologie des PCO-Syndroms.....	17
1.3.2	Klinische Symptomatologie des PCO-Syndroms	20
1.3.3	PCO-Syndrom und Insulinresistenz.....	21
1.3.4	Lipidstoffwechsel bei Frauen mit PCO-Syndrom.....	23
1.3.5	Endokrine Auffälligkeiten beim PCO-Syndrom.....	24
1.3.6	Hyperandrogenämie als hormonelles Hauptcharakteristikum des PCO-Syndroms	25
2	Fragestellungen	28
3	Probandinnen und Methoden	29
3.1	Probandinnen.....	29
3.1.1	Patientinnen mit PCO-Syndrom.....	29
3.1.2	Kontrollkollektiv	29
3.2	Methoden	30
3.2.1	Prinzip des Radioimmunoassays.....	30
3.2.2	Steroidhormonbestimmungen im Serum.....	32
3.2.3	Allgemeine biochemische Messungen.....	33
3.2.4	Oraler Glukosetoleranztest	33
3.3	Statistik	34
4	Ergebnisse	35

4.1	Steroidhormonkonzentrationen des Gesamtkollektivs	35
4.1.1	Dehydroepiandrosteron (DHEA)	35
4.1.2	Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS)	36
4.1.3	Androstandiol-Glucuronid (ADG)	37
4.2	Korrelationsanalysen.....	38
4.2.1	DHEA/DHEAS-Korrelation des Kontrollkollektivs.....	38
4.2.2	DHEA/DHEAS-Korrelation des PCOS-Gesamtkollektivs	39
4.2.3	Subkohortenanalyse hinsichtlich der Steroidhormonserumkonzentrationen im PCOS-Gesamtkollektiv	40
4.2.3.1	Dehydroepiandrosteron (DHEA)	41
4.2.3.2	Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS)	42
4.2.3.3	DHEA/DHEAS-Quotient.....	44
4.2.3.4	Androstandiol-Glucuronid (ADG)-Konzentration im Serum...	46
4.3	Klinische und biochemische Subkohortenanalyse des PCOS- Gesamtkollektivs.....	46
4.3.1	Body Mass Index (BMI).....	46
4.3.2	Glukosekonzentration im Serum	47
4.3.3	Lipidkonzentration im Serum	49
5	Diskussion.....	51
6	Zusammenfassung.....	59
7	Literaturverzeichnis	61

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
ADG	Androstandiol-Glucuronid
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
BMI	Body Mass Index
BZ	Blutzucker
CAH	kongenitale adrenale Hyperplasie
CASH	Kortical Androgen Stimulating Hormone
CRH	Kortikotropin-Releasing-Hormon
d	Tag
dl	Deziliter
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEAS	Dehydroepiandrosteronsulfat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGF	Epidermal Growth Factor
et al	et altus
etc.	et cetera
FGF	Fibroblast Growth Factor
FSH	follikelstimulierendes Hormon
g	Gramm
GABA	Gammaaminobuttersäure
h	Stunde
HDL	high density lipoprotein
HSD	Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase
IDF	International Diabetes Federation
IGF-1	Insulin-Like Growth Faktor 1
IGF-2	Insulin-Like Growth Faktor 2
Il	Interleukin
kg	Kilogramm
L	Liter

LDL	low density lipoprotein
LH	luteinisierendes Hormon
m ²	Quadratmeter
MCR	Metabolische Clearance Rate
μg	Mikrogramm
μmol	Mikromol
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
n	Anzahl
ng	Nanogramm
nmol	Nanomol
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PAPS	Phosphoadenosinphosphosulfat
PCO	polyzystische Ovarien
PCOS	Syndrom der polyzystischen Ovarien
RIA	Radioimmunoassay
SD	Standardabweichung
SHBG	Sexualhormon-bindendes Globulin
STS	Steroidsulfatase
SULT2A1	Hydroxysteroid-Sulfotransferase
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
VIP	Vasoaktives Intestinales Peptid
VLDL	very low density lipoprotein

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Biosynthese der Steroidhormone in der Nebennierenrinde (145).....	3
Abbildung 2: Strukturformel von Dehydroepiandrosteron (DHEA).	4
Abbildung 3: Interkonversion von DHEA und DHEAS durch die Enzyme SULT2A1/DHEA-Sulfotransferase (A) und Steroidsulfatase (B).	11
Abbildung 4: Die Downstream-Konversion von DHEA zu Androgenen und Östrogenen findet in der Zona reticularis der Nebennieren, in den Gonaden und in peripheren androgenen und östrogenen Zielgeweben statt.	15
Abbildung 5: Transvaginalsonographische Darstellung eines polyzystischen Ovars: Das Ovar ist vergrößert und die subkapsulären Follikelzysten sind deutlich zu erkennen (Quelle: Universitäts-Frauenklinik Würzburg, 2004).	19
Abbildung 6: Acanthosis nigricans (Quelle: Ernst. G. Jung, I. Moll, Dermatologie, 5. Auflage, Thieme Verlag).	22
Abbildung 7: Funktionsprinzip des Radioimmunoassays. Eine variable Menge eines unmarkierten Antigens (Ag) und eine konstante Menge des markierten Antigens (Ag*) konkurrieren um eine begrenzte Anzahl von Bindungsplätzen des Antikörpers (Ak).....	31
Abbildung 8: mittlere DHEA-Serumkonzentration in nmol/l bei gesunden, 19- bis 45-jährigen Frauen (Gruppe 0, n=44) und 18- bis 44-jährigen PCOS-Patientinnen (Gruppe 1, n=89).....	35
Abbildung 9: Mittlere DHEAS-Serumkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei gesunden, 19- bis 45-jährigen Frauen (Gruppe 0, n=44) und 18- bis 44-jährigen PCOS-Patientinnen (Gruppe 1, n=89).....	36
Abbildung 10: Mittlere ADG-Serumkonzentration in nmol/l bei gesunden, 19- bis 45-jährigen Frauen (Gruppe 0, n=44) und 18- bis 44-jährigen PCOS-Patientinnen (Gruppe 1, n=89).....	37
Abbildung 11: Mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des 19- bis 45-jährigen Kontrollkollektivs (n=44).	38

Abbildung 12: Mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des 19- bis 45-jährigen Kontrollkollektivs (n=44).	39
Abbildung 13: Mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des 18- bis 44-jährigen PCOS-Gesamtkollektivs (n=89). Es zeigt sich eine rot markierte separate Gruppe (n=24) mit deutlich erhöhtem DHEA/DHEAS-Quotienten.	39
Abbildung 14: Subkohortenanalyse des PCOS-Gesamtkollektivs (n=89). Die neu identifizierte Subkohorte (n=25) stellt sich rot markiert dar, die verbleibende PCOS-Kohorte (n=64) stellt sich blau markiert dar.	40
Abbildung 15: Mittlere DHEA-Serumkonzentration des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64) in nmol/l. ...	41
Abbildung 16: Mittlere DHEAS-Serumkonzentration des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64) in μ mol/l. ...	43
Abbildung 17: Mittlerer DHEA/DHEAS-Quotient des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64).	44
Abbildung 18: Mittlerer ADG-Serumwert des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64) in nmol/l.	45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	vorgeschlagene Kriterien zur Diagnosestellung des Syndroms der polyzystischen Ovarien nach der Arbeitsgruppe der Androgen Excess Society (144).....	18
Tabelle 2:	Klinische Symptome, die häufig mit dem PCO-Syndrom einhergehen in Prozent (71,70,72).....	20
Tabelle 3:	Hirsutismus-Score nach Ferriman und Gallwey (137).....	20
Tabelle 4:	mittlere DHEA-Serumkonzentration in nmol/l beider Kollektive...	36
Tabelle 5:	Mittlere DHEAS-Serumkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ beider Kollektive.	37
Tabelle 6:	Mittlere ADG-Serumkonzentration in nmol/l beider Kollektive.	38
Tabelle 7:	Subgruppenanalyse der mittleren DHEA-Serumkonzentration in nmol/l. SD entspricht der Standardabweichung.	42
Tabelle 8:	Subgruppenanalyse der mittleren DHEAS-Serumkonzentration in $\mu\text{mol/l}$. SD entspricht der Standardabweichung.	43
Tabelle 9:	Subgruppenanalyse des mittleren DHEA/DHEAS-Quotienten. SD entspricht der Standardabweichung.	44
Tabelle 10:	Subgruppenanalyse der mittleren ADG-Serumkonzentration in nmol/l. SD entspricht der Standardabweichung.	46
Tabelle 11:	BMI in kg/m^2 und Taillenumfang in cm der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (n=25) und der verbleibenden PCOS-Kohorte (n=64). SD entspricht der Standardabweichung.....	47
Tabelle 12:	Durchschnittliche Nüchternglukosewerte und 2-h-Glukosewerte in mmol/l sowie Anzahl der Patientinnen mit abnormen Glukosekonzentrationen der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (n=25) und der verbleibenden PCOS-Kohorte (n=64) in %. SD entspricht der Standardabweichung.....	48
Tabelle 13:	Durchschnittliche Gesamtcholesterinwerte und Triglyceridwerte in mmol/l sowie Patientinnen mit erhöhten Lipidwerten der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (n=25) und der verbleibenden PCOS-Kohorte (n=64) in %. SD entspricht der Standardabweichung.....	50

1 Einleitung

1.1 Hinführung zum Thema

Das Syndrom der polyzystischen Ovarien (PCO-Syndrom) ist eine der häufigsten endokrinen Erkrankungen von Frauen im gebärfähigen Alter (1,2,3,4,5). Etwa 2-5% aller geschlechtsreifen Frauen leiden an dieser Erkrankung (6,7,8,9). Klinisch ist das PCO-Syndrom durch das Zusammentreffen von Regelstörungen, Sterilität, Hirsutismus, Adipositas und vergrößerten, polyzystischen Ovarien charakterisiert. Die häufigste biochemische Veränderung bei Patientinnen mit dem PCO-Syndrom ist eine Hyperandrogenämie, welche sowohl adrenalen als auch ovariellen Ursprungs sein kann (6,10,3,7,11,12).

Als Ausgangsprodukt beziehungsweise universeller Vorläufer für die Synthese von Androgenen dient beim Menschen in erster Linie das sogenannte „Muttersteroid“ Dehydroepiandrosteron (DHEA) (13,14,15).

DHEA kann durch das Enzym Hydroxysteroid-Sulfotransferase (SULT2A1), das unter anderem in den Nebennieren und in der Leber exprimiert wird, zu seinem Sulfatester Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) konjugiert werden. DHEAS ist das Steroid mit der höchsten Serumkonzentration und liegt in der Zirkulation in 500-1000fach höherer Konzentration als DHEA vor. Die Hydrolyse des hydrophilen DHEAS zu DHEA erfolgt durch die Steroidsulfatase (16,17,18).

Lediglich die desulfatierte, lipophile Form DHEA ist biologisch wirksam und kann im Folgenden intrazellulär zu Sexualsteroiden metabolisiert werden (17,13,14,18).

Kürzlich konnte in einer Studie von Hammer et. al gezeigt werden, dass zirkulierendes DHEAS und DHEA nicht frei und kontinuierlich ineinander überführt werden, wie man zuvor noch angenommen hatte (19,13,18).

DHEAS dient somit nicht als die im Blut zirkulierende Speicherform zur Regeneration von DHEA und ist somit auch kein verlässlicher Marker für die Sekretion und Bioverfügbarkeit von DHEA.

Die Konversion von DHEA zu DHEAS durch die SULT2A1 bildet den entscheidenden Schritt, der das Verhältnis zwischen biologisch aktivem DHEA und inaktivem DHEAS und somit die Bioverfügbarkeit von DHEA reguliert. Eingeschränkte Aktivität der SULT2A1 führt zur Erhöhung der DHEA-Serumspiegel und vermehrter Konversion zu Sexualsteroiden (19).

In dieser Arbeit soll die Frage, ob bei Patientinnen mit PCO-Syndrom eine veränderte Aktivität der SULT2A1 und somit ein veränderter DHEA/DHEAS-Quotient vorliegt, beantwortet werden.

1.2 Physiologie von DHEA/S

1.2.1 Herkunft, Biosynthese und Plasmakonzentration von DHEA/S

Das von A. Butenandt im Jahre 1934 erstmals beschriebene Steroidhormon Dehydroepiandrosteron (DHEA) und sein Sulfatester Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) gehören zur Gruppe der adrenalen Androgene. Diese werden bei beiden Geschlechtern vorwiegend in der Nebennierenrinde gebildet. Funktionell und anatomisch lässt sich die Nebennierenrinde in drei Abschnitte unterteilen: Die Zona glomerulosa, in der die Produktion von Aldosteron stattfindet, die Zona fasciculata, in der Cortisol gebildet wird und die Zona reticularis, in der hauptsächlich die DHEA-Biosynthese stattfindet. Die Gonaden tragen lediglich einen kleinen Anteil zur Sekretion von DHEA und DHEAS bei (16, 20, 18,21).

Das gemeinsame Ausgangsprodukt für die Synthese aller Steroidhormone ist Cholesterin (siehe Abbildung 1).

In einem ersten, geschwindigkeitsbestimmenden Schritt wird Cholesterin durch Abspaltung der Seitenkette in Pregnenolon, die letzte gemeinsame Vorstufe aller Steroidhormone, überführt.

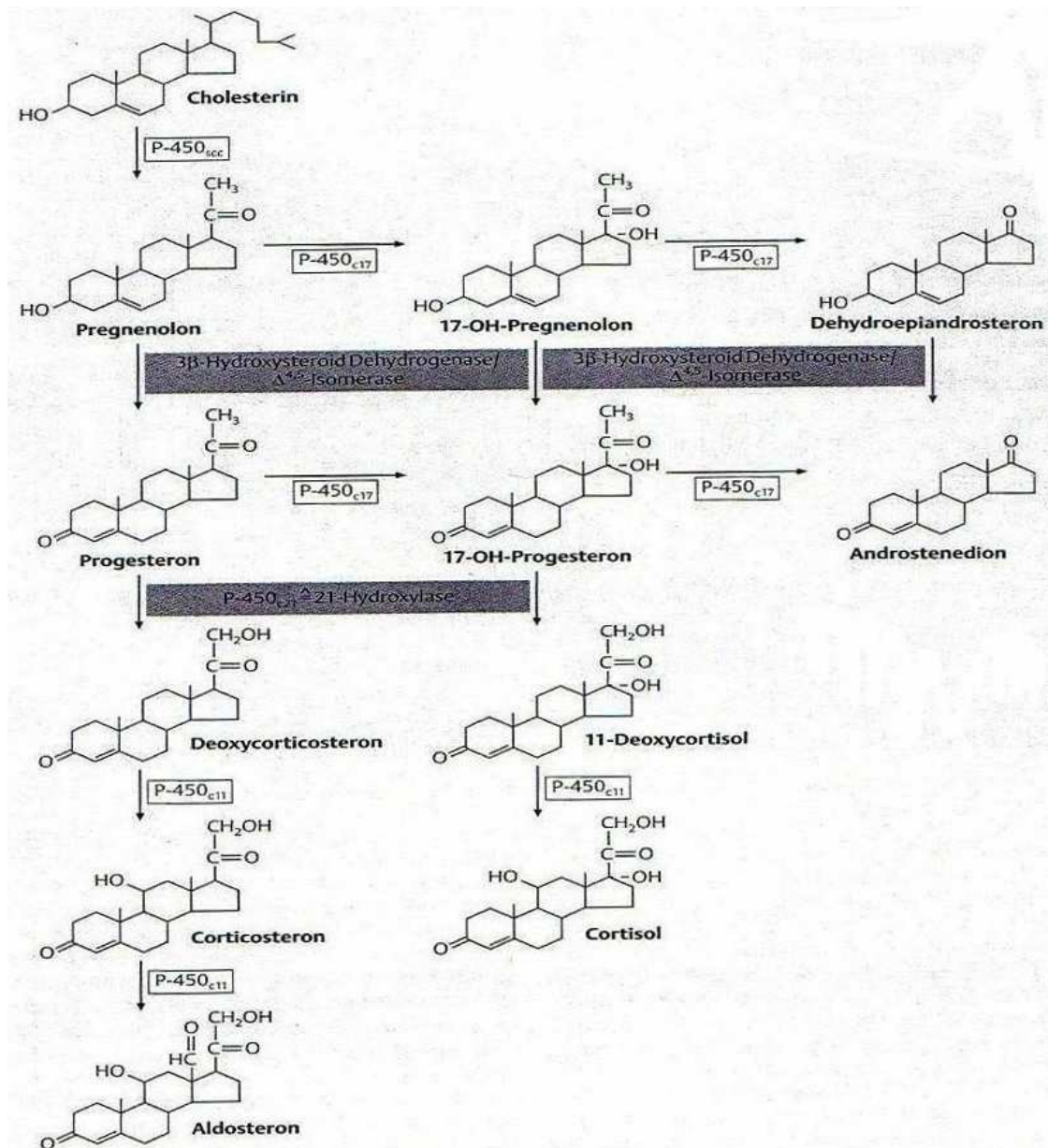


Abbildung 1: Die Biosynthese der Steroidhormone in der Nebennierenrinde (145).

Diese Reaktion erfolgt in den Mitochondrien durch das Enzym Cytochrom-P450_{scc}, ein Enzym aus der großen Familie der Cytochrom-P450-Mischoxygenasen, das durch hypophysäres adrenokortikotropes Hormon (ACTH) induziert wird (15). Im nächsten Schritt wird Pregnenolon durch die Aktivität der 17α-Hydroxylase des Enzyms Cytochrom-P450_{c17}, das in der Nebenniere und in den Gonaden exprimiert wird, hydroxyliert und es entsteht

17 α -Hydroxy-Pregnenolon. Die 17,20-Lyase-Aktivität des Cytochrom-P450c17 konvertiert 17 α -Hydroxy-Pregnenolon schließlich durch Abspaltung der aus C-20 und C-21 bestehenden Seitenkette zu DHEA (22).

DHEA ist ein C-19-Steroidhormon und besitzt wie alle Hormone aus der Gruppe der 17-Keto-Steroide an C-17 eine Ketogruppe. Der systematische Name von DHEA lautet 3 β -Hydroxy-5-Androsten-17-on (Abbildung 2).

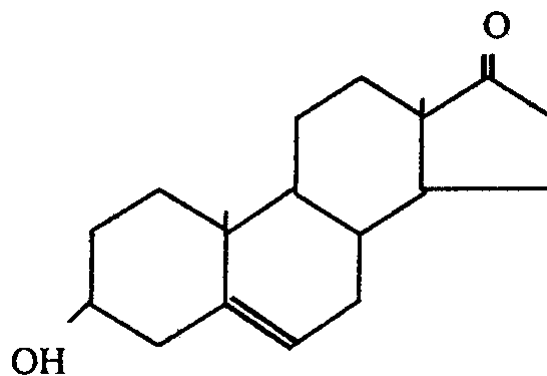


Abbildung 2: Strukturformel von Dehydroepiandrosteron (DHEA).

DHEAS entsteht durch Übertragung einer Sulfatgruppe an die 3 β -Hydroxy-Gruppe an Ring A des DHEA durch das Enzym Hydroxysteroid-Sulfotransferase (SULT2A1).

Freies DHEA und DHEAS können metabolisch ineinander überführt werden (16). Die an der Interkonversion beteiligten Hormone werden in vielen extraadrenalen Geweben, wie unter anderem der Leber, gefunden (16, 23). Von der täglichen Produktion an DHEAS werden 60-70% über Steroidsulfatasen zu DHEA hydrolisiert (17). DHEA wird jedoch lediglich zu 6% durch Sulfotransferasen zu DHEAS sulfatiert (17). Die Konversion von DHEA zu DHEAS zeigt einen signifikanten Geschlechterunterschied (24). Bei Frauen ist der DHEA/DHEAS- Quotient, vermutlich auf Grund einer gesteigerten Aktivität

der Steroidsulfatase, höher als bei Männern, es gibt keine Korrelation mit dem Alter (25, 26).

DHEA und sein Sulfatester stellen die quantitativ bedeutendsten Sekretionsprodukte der Nebennierenrinde dar (27). Das Steroidhormon mit der höchsten Konzentration in der Zirkulation des Menschen ist DHEAS (16, 28,29). Bei jungen Erwachsenen beträgt die Plasmakonzentration von DHEAS 2-6 $\mu\text{g/ml}$ (17,24). In dieser Altersklasse liegt sie somit 100-500mal höher als die von Testosteron und 1000-10.000mal höher als die von Östradiol (15). DHEAS wird bei beiden Geschlechtern zu über 90% in der Nebenniere gebildet, die Ovarien bzw. Hoden tragen einen wesentlich kleineren Anteil zur Synthese bei (18). Bei jungen Erwachsenen beträgt die Sekretionsrate der Nebenniere an DHEAS etwa 25 mg/d (16).

Die Metabolische Clearance Rate (MCR) von DHEAS ist mit ca. 5-20 L/d um einiges niedriger als die von DHEA und anderen unkonjugierten C-19-Steroiden (16), was zumindest teilweise an seiner relativ hohen Affinität zu Albumin liegt (17,24). Die Halbwertszeit von DHEAS ist mit 7-10 Stunden um einiges länger als die von DHEA, woraus sich unter anderem die hohe DHEAS-Plasmakonzentration ergibt (16).

Interessanterweise besteht zwischen gesunden gleichaltrigen Menschen in allen Altersklassen eine große interindividuelle Streubreite hinsichtlich der DHEAS-Serumkonzentration, wohingegen die intraindividuelle Variabilität der DHEAS-Konzentration relativ gering ausgeprägt ist (28, 21,30). Diese Tatsache brachte dem Sulfatester die Bezeichnung „individueller Marker“ ein (30).

Das quantitativ zweitbedeutendste adrenale Androgen ist die unkonjugierte Form DHEA. Mit einer Plasmakonzentration von 2-4 ng/ml liegt DHEA im Blut in 200fach niedrigerer Konzentration als DHEAS vor, seine Konzentration ist jedoch immer noch 3-30mal höher als die der Geschlechtshormone Testosteron und Östradiol (17,31).

Produziert wird DHEA ebenfalls hauptsächlich in der Nebennierenrinde, ein kleinerer Anteil stammt aus den Gonaden, ein weiterer Anteil entsteht durch Interkonversion aus DHEAS. Die Sekretionsrate der Nebennierenrinden an DHEA beträgt 4 mg/d (16).

Die DHEA-Clearance ist mit 2000 L/d wesentlich höher als die von DHEAS, die Halbwertszeit liegt wie die der meisten Steroidhormone bei 15-30 Minuten, was unter anderem die im Verhältnis zu DHEAS geringere Serumkonzentration von DHEA erklärt (17).

1.2.2 DHEA/S-Sekretion in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Die Sekretion von DHEA/S zeigt beim Menschen eine charakteristische altersbezogene Abhängigkeit (32). Die fetalen Nebennieren produzieren große Mengen an DHEA/S, die der Plazenta und der fetalen Leber als Vorläufer für die Östrogensynthese dienen (16). Aus diesem Grund lassen sich zum Zeitpunkt der Geburt hohe DHEA/S-Spiegel in der Zirkulation nachweisen. Mit der Geburt bildet sich die fetale Zone der Nebennieren zurück (16) und die Konzentration von DHEA/S im Serum fällt während des ersten Lebensjahres rapide auf nahezu unnachweisbare Werte ab (13,31). Die DHEA/S Serumkonzentration bleibt solange auf diesem Minimallevel bis bei beiden Geschlechtern zwischen dem 6. und 10. Lebensjahr die sogenannte „Adrenarche“ eintritt (16,31). Die Serumspiegel von DHEA und DHEAS steigen während der Adrenarche mit zunehmender Produktion der Zona reticularis der Nebenniere, bedingt durch einen Anstieg der Enzymaktivität des P450c17 (17 α -Hydroxylase, 17,20-Lyase), signifikant an (16,13,33). Zusätzlich steigen die DHEA/S-Serumwerte während der Pubertät beschleunigt an und erreichen ihr Maximum in der dritten Lebensdekade (16,31). Bei Frauen wird das Maximum der DHEAS-Serumkonzentration mit durchschnittlich 24 Jahren früher erreicht als bei Männern, bei denen die Spitzenkonzentration im Serum bei ca. 30 Jahren liegt (31).

Mit zunehmendem Alter nimmt, entsprechend einer Größenabnahme der Zona reticularis, die DHEA-Serumkonzentration um ca. 5,6%/Jahr ab. Die DHEAS-Serumkonzentration fällt im Mittel um ca. 2%/Jahr, wobei der altersabhängige Abfall der DHEAS-Konzentration im Serum eine große interindividuelle Variabilität zeigt (14,34,13).

In der 8.-9. Lebensdekade betragen die DHEA/S-Serumspiegel lediglich noch 10-20% der Maximalkonzentration junger Erwachsener (16). Diesen altersabhängigen Abfall der DHEA/S-Serumkonzentration bezeichnet man als „Adrenopause“, obwohl die Sekretion der Nebennieren an Glukokortikoiden und Mineralokortikoiden von der frühen Kindheit an bis in das hohe Alter relativ konstant bleibt und die Cortisolkonzentration im Serum mit fortschreitendem Alter sogar noch zunehmen kann (35,13,24). Die Adrenopause wird unter anderem durch die schon oben erwähnte Größenabnahme der Zona reticularis der Nebenniere erklärt (34).

Aufgrund des im Gegensatz zu anderen Hormonen beschriebenen Abfalls der DHEA/S-Sekretion im Alter hat DHEA in den letzten Jahren als mögliches „Jungbrunnen-Hormon“ Aufmerksamkeit erlangt (31), was zu seiner Vermarktung als „Anti-Aging-Medikament“ führte (13). Jedoch profitieren gesunde Personen, bei denen sich der Abfall der DHEA/S-Serumkonzentration innerhalb der physiologischen Bandbreite vollzieht, nicht von der Verabreichung dieses Hormons (13). Da gegenwärtig noch zu wenige Informationen über die erwünschten und unerwünschten Wirkungen von DHEA vorliegen, sollte man mit der Empfehlung dieses Hormons als Nahrungsergänzungsmittel zurückhaltend sein (13).

Beim Vergleich der Plasmakonzentrationen von DHEA und DHEAS zwischen Männern und Frauen finden sich deutliche Geschlechterunterschiede.

Zahlreiche Studien belegen übereinstimmend einen statistisch signifikant höheren DHEAS-Plasmaspiegel bei Männern gegenüber Frauen in allen Altersklassen, trotz der großen intraindividuellen und interindividuellen Variabilität der DHEAS-Konzentration im Blut in Querschnittstudien (32, 25, 14, 36,31). Zumoff et al. fanden beim Vergleich von Männern und Frauen unter 50 Jahren für die DHEAS-Konzentration keinen signifikanten Geschlechterunterschied. Beim Vergleich der Geschlechter über 50-jähriger waren die DHEAS-Konzentrationen der Frauen deutlich niedriger (26).

Ergebnisse von Studien über Orchiektomie deuten darauf hin, dass beim Mann die Hoden einen Beitrag von 15-20 % zur DHEAS-Plasmazirkulation leisten. Dies könnte die höheren DHEAS-Serumspiegel der Männer erklären (25).

Einen weiteren Erklärungsansatz könnte die bei Männern im Vergleich zu Frauen in vivo quantitativ geringere Konversion von DHEAS zu DHEA liefern (25). Die altersabhängige Abnahme der DHEAS-Sekretion zeigt ebenfalls einen Geschlechterunterschied. Mit fortschreitendem Alter kommt es bei Männern im Vergleich zu Frauen zu einem stärkeren Abfall der DHEAS-Konzentration im Blut (14).

Bezüglich der DHEA-Serumkonzentration findet man in verschiedenen Studien kontroverse Ergebnisse. Einige Studien erkennen keinen signifikanten Unterschied der DHEA-Spiegel zwischen Frauen und Männern (25). Andere Studien erzielen in fast allen Altersgruppen für Frauen höhere DHEA-Werte als für Männer, wobei signifikant höhere DHEA-Spiegel bei Frauen in den Altersgruppen 11-15, 36-40, 41-45 Jahren und bei Frauen über 51 Jahren gefunden werden (31). Weitere Studien ergeben für Frauen unter 50 Jahren eine beträchtlich höhere DHEA-Konzentration im Plasma als für Männer, wohingegen die Plasmakonzentration nach dem 50. Lebensjahr bei Frauen und Männern ungefähr gleich hoch liegt (26,14). Der altersabhängige Abfall von DHEA im Serum ist für beide Geschlechter gleich (14).

1.2.3 Stimulation und Regulation der adrenalen Androgensynthese

Rosenfeld et al. konnten nachweisen, dass DHEA im Tagesverlauf episodisch und synchron mit Cortisol, das unter der Regulation von ACTH steht, sezerniert wird (37, 21). Die höchsten Konzentrationen beider Hormone im Blut finden sich in den frühen Morgenstunden zwischen 5 - 10 Uhr, weitere Perioden gesteigerter Sekretionsaktivität bestehen zwischen 13 - 15 Uhr und 17 - 19 Uhr (21). DHEAS zeigt unter anderem aufgrund seines gewaltigen Plasmapools und seiner langen Halbwertszeit geringere tageszeitliche Schwankungen als das freie Steroid, weshalb es bislang auch in der klinischen Diagnostik bevorzugt wird (21).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Sekretionsperioden von DHEA und Cortisol mit denen des in den basophilen Zellen der Adenohypophyse

gebildeten Proteohormons ACTH, das seinerseits episodisch sezerniert wird, übereinstimmen (21).

Diese Erkenntnisse lassen auf die wichtige Rolle des ACTH bei der Stimulation der adrenalen Androgenproduktion und -sekretion schließen (38, 39). In der Tat verursachte die Verabreichung von ACTH in mehreren Studien einen deutlichen Anstieg der Plasmakonzentrationen von DHEA und DHEAS im Vergleich zu Kontrollwerten, so dass ein stimulierender Einfluss des ACTH auf die Bildung und Sekretion von DHEA/S inzwischen gesichert ist (40,41,36,38).

Allerdings sprechen einige Beobachtungen dafür, dass neben ACTH noch weitere Faktoren auf die Regulation der adrenalen Androgensynthese Einfluss nehmen (38).

Während die Plasmaspiegel von ACTH, Glukokortikoiden und Mineralokortikoiden zeitlebens weitgehend stabil bleiben, nimmt die DHEA/S-Serumkonzentration mit fortschreitendem Alter zunehmend ab (42). Auch die Stimulierbarkeit der adrenalen Androgene durch ACTH ist geringer als die von Cortisol und nimmt im Laufe des Lebens weiterhin ab (43, 44) In zahlreichen weiteren physiologischen (Fötus, Adrenarche, Pubertät, Alter) und pathologischen (Hirsutismus, Adipositas, Fasten und Anorexia nervosa, akuter krankheitsbedingter oder traumatischer Stress, sekundäre und tertiäre Nebenniereninsuffizienz, Morbus Cushing, u. a.) Situationen unterscheidet sich die Sekretion der Nebennierenrinde für Glukokortikoide und für Androgene (38). In einer Studie von Albertson et al. an hypophysenektomierten und gonadenektomierten Schimpansen stellte die Substitution von ACTH lediglich die Sekretion von Cortisol wieder her, jedoch nicht die von DHEA/S (45). Diese Erkenntnis führte dazu, ein hypophysäres, von ACTH verschiedenes, sogenanntes „Cortical Androgen Stimulating Hormone“ („CASH“) zu postulieren (38). Seine Existenz wurde durch die Versuche von Parker et al. erhärtet, dem die Isolation eines N-terminalen Fragmentes von Proopiomelanocortin mit einem Molekulargewicht von ungefähr 60,000 Dalton aus menschlichen Hypophysen gelang, das in vitro selektiv die adrenale Androgensekretion stimuliert und somit auf die Kortisolsekretion keinen Einfluss nimmt (46,47).

Als ein weiteres hypophysäres Hormon, das für die Regulation der DHEA/S-Sekretion verantwortlich ist, wird Prolaktin angesehen (42). Vermeulen fand im Plasma von Frauen, deren Prolaktinspiegel gesteigert waren, signifikant erhöhte DHEA- und DHEAS- Konzentrationen (42). Prolaktin stimuliert die Steroidsynthese der Nebennieren in Meerschweinchen (O' Connell et al. 1994) und im Menschen (Glasow et al. 1996) in vitro (42). Jedoch wurde in verschiedenen Altersgruppen keine Korrelation zwischen Prolaktin- und adrenalen Androgenkonzentrationen im Blut gefunden (38). Aus der Gruppe der hypophysären Hormone sollen auch das Wachstumshormon und einige Proopiomelanocortin-Derivate, wie β -Endorphin, β -Lipotropin und das sogenannte „joining peptide“ auf adrenale Androgene sekretionsfördernd wirken (38).

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass das Kortikotropin-Releasing-Hormon (CRH) aus dem Hypothalamus die DHEA Sekretion in fetalen menschlichen Zellen und bei jungen Männern stimuliert (38).

Weiterhin werden einige Wachstumsfaktoren, wie unter anderem der Epidermal Growth Factor (EGF), Fibroblast Growth Factor (FGF), Transforming Growth Factor (TGF), Insulin-Like Growth Faktor 1 (IGF-1), Insulin-Like Growth Faktor 2 (IGF-2), sowie Insulin, gonadale Androgene und Östrogene mit der adrenalen Androgenregulation in Verbindung gebracht, ohne dass jedoch ein Beweis für ihre regulative Rolle gesichert werden konnte (48, 49,38).

Neben systemischen Faktoren scheint die adrenale Androgensekretion durch ein intraadrenales neuroimmunes Netzwerk reguliert zu werden (38). Parker et al. berichteten über steroidproduzierende Zellen der Nebennierenrinde, die mit Nervenendigungen in Kontakt stehen (38). Zudem wurde nachgewiesen, dass das Neuropeptid Vasoaktives Intestinales Peptid (VIP), das in Nervenfasern und in chromaffinen Zellen der Nebennieren enthalten ist, die Freisetzung von DHEA und Androstendion stimuliert (38).

Kürzlich wurden direkte zelluläre Kontakte über Filopodien und gap junctions zwischen Lymphozyten und Zellen der Zona reticularis beschrieben (38). Weiterhin wurden in der Zona reticularis aktivierte Makrophagen, die Interleukin-1 (Il-1), Interleukin-6 (Il-6) und Tumornekrosefaktor (TNF)

produzieren, nachgewiesen. Dieses intraadrenale Immunsystem könnte ebenfalls eine Rolle bei der Regulation der adrenalen Androgensynthese spielen.

1.2.4 Interkonversion von DHEA/S

In Blut zirkuliert DHEA hauptsächlich an Albumin gebunden, wobei die Bindung an Albumin schwach ist und demzufolge den Metabolismus von DHEA kaum beeinflusst (17). Nur ein sehr kleiner Anteil von DHEA bindet schwach an Sexualhormon-bindendes Globulin (SHBG) und ein noch geringerer Teil liegt nicht proteingebunden vor (17,50). Hinsichtlich der Bindung von DHEA an Plasmaproteine bestehen keine Geschlechterunterschiede (27).

Die Bindung von DHEAS an Albumin ist stark genug, um zu der niedrigen metabolischen Clearance-Rate von DHEAS beitragen zu können (17). DHEAS scheint nicht an SHBG gebunden zu werden und nur ein kleiner Anteil liegt nicht proteingebunden vor (17,24).

Wie bereits erwähnt, können freies DHEA und DHEAS in der Leber und in den meisten anderen Organen des Körpers metabolisch ineinander überführt werden (Abbildung 3) (16,17).

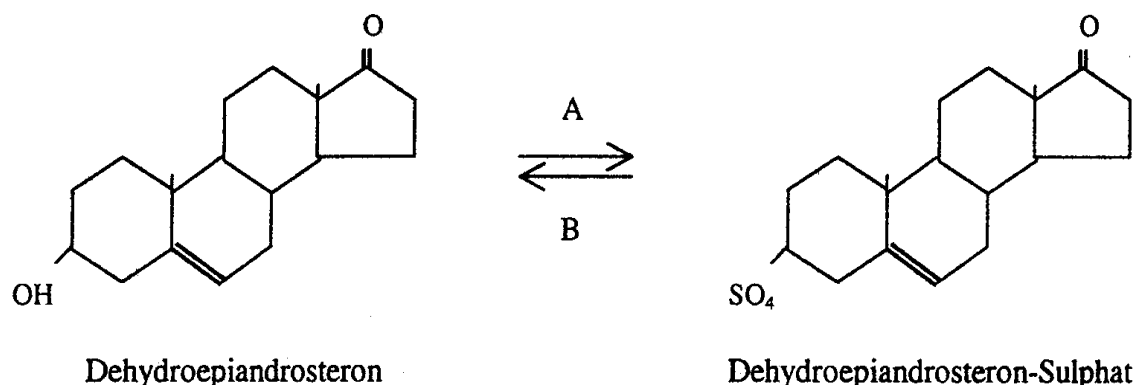


Abbildung 3: Interkonversion von DHEA und DHEAS durch die Enzyme SULT2A1/DHEA-Sulfotransferase (A) und Steroidsulfatase (B).

Die Konjugation von DHEA zu DHEAS erfolgt durch ein Enzym aus der großen Familie der Sulfotransferasen, die im menschlichen Organismus den Transfer einer Sulfonylgruppe von einem Donor (Co-Substrat, 3`-Phosphoadenosin-5`-phosphosulfat, PAPS) auf ein Akzeptormolekül katalysieren. Die Sulfotransferasen lassen sich in zwei Substanzklassen unterteilen: zum einen in die löslichen Sulfotransferasen, die unter anderem Hormone, Neurotransmitter, Medikamente und sonstige Fremdstoffe sulfonieren, zum anderen die membranassoziierten Sulfotransferasen, die vor allem an der Sulfonierung von Makromolekülen beteiligt sind. Bisher wurden über 44 verschiedene lösliche Sulfotransferasen identifiziert. Sie lassen sich in 5 Familien einteilen.

Die SULT1-Familie beinhaltet Sulfotransferasen, die phenolhaltige Medikamente, Katecholamine, Östrogene, Schilddrüsenhormone und Fremdstoffe sulfatieren. Die SULT2-Familie sulfoniert in erster Linie Steroide (SULT2A) und Sterole (SULT2B). Enzyme der SULT3-Familie katalysieren die Bildung von Sulfamaten, wohingegen die SULT4- und SULT5- Familien noch nicht ausreichend charakterisiert wurden (138).

Das Enzym SULT2A1 aus der SULT2-Familie katalysiert hauptsächlich die Konversion von DHEA zu DHEAS und wird dementsprechend auch als DHEA-Sulfotransferase bezeichnet (138, 140, 141). Neben DHEA katalysiert SULT2A1 die Sulfonierung von Testosteron, Androsteron, Pregnenolon, Östrogenen und Gallensäuren (138). Exprimiert wird dieses Enzym unter anderem in der Leber, in der Niere, in der Nebenniere, im Ovar, in der Prostata und im Gastrointestinaltrakt (17,18).

Für das für die Hydrolyse von DHEAS zu DHEA verantwortliche Enzym Steroidsulfatase wurde eine noch größere, praktisch ubiquitäre Gewebeverteilung beschrieben (17,18).

Nach bisher gültiger Lehrmeinung stellt das hydrophile DHEAS, das in 500-1000fach höherer Konzentration als DHEA in der Zirkulation vorliegt, die im Blutkreislauf zirkulierende inaktive Speicherform zur Regeneration von DHEA dar, während das in weitaus geringerer Serumkonzentration vorhandene hydrophobe DHEA als die biologisch aktive Form angesehen wird (17,14,18,13).

Demnach regelt das Enzym DHEA-Sulfotransferase/SULT2A1 durch den entscheidenden Schritt einer vorübergehenden Inaktivierung von DHEA zu DHEAS das Verhältnis zwischen biologisch aktivem DHEA und inaktivem DHEAS und somit die Bioverfügbarkeit von DHEA, die Steroidsulfatase verwandelt DHEAS in die aktive und lipophile Form DHEA, die im Folgenden intrazellulär zu Sexualsteroiden konvertiert wird (140,141). Diese Interkonversion kann kontinuierlich stattfinden und richtet sich nach den lokalen Bedürfnissen des Zielorgans (13,18).

In einer kürzlich durchgeführten Studie von Hammer et al. an gesunden jungen und älteren Männern kam es nach intravenöser Verabreichung von 25 mg DHEAS zu keinem signifikanten Anstieg der Serum-DHEA-Werte. Somit konnte nachgewiesen werden, dass ein erhöhter DHEAS-Spiegel keine Erhöhung des DHEA-Spiegels bedingt, bzw. dass es, entgegen der bisher gültigen Lehrmeinung, keine vom Serum-DHEAS-Spiegel abhängige, kontinuierliche Interkonversion von zirkulierendem DHEAS zu DHEA gibt (19).

Daraus kann man folgern, dass die bislang in der klinischen Routine bevorzugt gemessene DHEAS-Serumkonzentration möglicherweise nicht geeignet ist, in einer pathologischen Situation die im Kreislauf zirkulierende DHEA-Serumkonzentration zu reflektieren. Folglich ist DHEAS möglicherweise keinesfalls in jeder Situation ein verlässlicher Marker für die Sekretion und Bioverfügbarkeit von DHEA.

Darauf deutet auch eine kürzlich von Arlt et al. veröffentlichte Arbeit hin, in der bei Patienten in septischem Schock die Serumkonzentrationen von DHEA und DHEAS signifikant voneinander abwichen und die frühere Schlussfolgerung, septische Patienten hätten aufgrund nachgewiesener erniedrigter DHEAS-Serumkonzentrationen einen DHEA-Mangel, widerlegt werden konnte (143).

1.2.5 Downstream-Metabolismus zu Androgenen und Östrogenen, Intrakrinologie

Die Biosynthese sämtlicher Sexualsteroiden verläuft über das sogenannte „Muttersteroid“ DHEA, und nur dieses kann, im Gegensatz zu DHEAS, in peripheren Geweben als Vorläufer für potente Androgene und Östrogene dienen (13,14,15). Diese Tatsache brachte dem Vorläufersteroid DHEA, das an sich weder androgene noch östrogene intrinsische Aktivität und auch keine anderen klassischen Hormonwirkungen besitzt, auch die Bezeichnung „adrenales Androgen“ ein (16, 15,29,20).

Zunächst wird DHEA mittels der 3 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase (3 β -HSD) zu Androstendion, das seinerseits noch keine androgene Wirksamkeit besitzt, konvertiert (16,35,29). Durch die Enzyme 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase (17 β -HSD) und 5 α -Reduktase wird Androstendion auf Zielzebene zuerst in das potente Androgen Testosteron und schließlich in das nochmals stärker wirksame Androgen 5 α -Dihydrotestosteron überführt (35,29). Der weitere Metabolismus von 5 α -Dihydrotestosteron zu 3 α -Androstandiol-Glucuronid (ADG) findet ausschließlich in peripheren Zielzellen statt und reflektiert somit den peripheren Metabolismus. Daher eignet sich ADG hervorragend als ein verlässlicher Marker für die tatsächlich im Zielorgan erzielte Androgenwirkung (15).

Die Androgene Androstendion und Testosteron können weiterhin durch das Enzym P450-Aromatase, das unter anderem im Fettgewebe und im Gehirn in hoher Konzentration vorliegt, zu den Östrogenen Östron bzw. 17 β -Östradiol aromatisiert werden (Abbildung 4) (16).

In niederen Säugetieren liefern die Gonaden die einzige Androgen- und Östrogenquelle. Bei Menschen und einigen höherentwickelten Primaten werden die Sexualsteroiden jedoch größtenteils oder vollständig von DHEA ausgehend in unterschiedlichen androgenen und östrogenen Zielgeweben synthetisiert, welche die Bildung und den Metabolismus der Sexualsteroiden den lokalen Bedürfnissen anpassen (29).

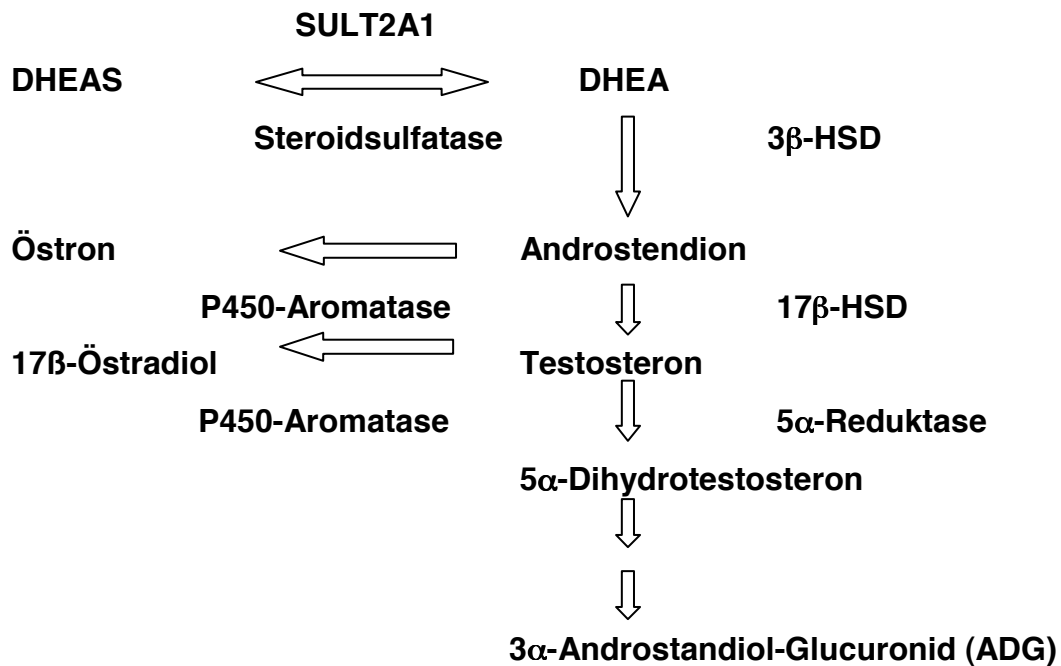


Abbildung 4: Die Downstream-Konversion von DHEA zu Androgenen und Östrogenen findet in der Zona reticularis der Nebennieren, in den Gonaden und in peripheren androgenen und östrogenen Zielgeweben statt.

Bereits die annähernd ubiquitäre Verteilung der am Steroidhormonstoffwechsel beteiligten Enzyme (3β-HSD, 17β-HSD, 5α-Reduktase und Aromatase) lässt auf eine weit verbreitete Konversion von DHEA zu Sexualsteroiden in peripheren Zielgeweben schließen (16,51, 29).

In der Tat findet die Downstream-Konversion von DHEA zu aktiven Sexualhormonen in den Gonaden und in peripheren Zielgeweben, die Androgen- und/oder Östrogenrezeptoren enthalten (unter anderem Leber, Fettgewebe, Knochen, Muskel, Brustgewebe, Prostata, Haut, Gehirn, etc.), statt (16,51,35).

Für dieses Phänomen, dass die Synthese, die Wirkung und die Verstoffwechslung eines aktiven Sexualsteroides innerhalb derselben peripheren Zielzelle stattfinden, ohne dass das Steroid in den Extrazellularraum und somit in die Zirkulation eintritt, prägen Labrie et al. im Jahre 1988 die

Bezeichnung „Intrakrinologie“ (15,29). Erst die inaktiven glucuronidierten oder sulfatierten Metabolite werden in das Blut entlassen und erlauben somit eine zuverlässige Beurteilung der am Zielorgan erreichten Hormonwirkung (15). Man geht davon aus, dass ein großer Anteil der Androgensynthese (30-50%) erwachsener Männer und die Mehrheit der Östrogensynthese bei Frauen (75% vor und annähernd 100% nach der Menopause) in peripheren Zielgeweben, ausgehend von inaktiven Vorläufersteroiden adrenalen Ursprungs, stattfindet (29,52,15). Lediglich der verbleibende Anteil an Androgenen und Östrogenen stammt aus den Gonaden (29).

1.2.6 Wirkmechanismen von DHEA

DHEA übt seine Wirkung in erster Linie indirekt durch Downstream-Konversion zu Sexualsteroiden in peripheren Zielgeweben aus (siehe oben) (53,35).

Neben diesem indirekten Wirkmechanismus wird DHEA eine neurosteroidale Wirkung zugeschrieben (54). Mehrere Studien haben die Expression von P450c17 und weiterer an der Steroidsynthese beteiligter Enzyme im Gehirn nachgewiesen (55, 56, 57, 58,59). Dies lässt auf eine de novo-Synthese von DHEA im Zentralnervensystem aus Cholesterol schließen. DHEA interagiert mit verschiedenen zentralen Neurotransmitterrezeptoren, darunter unter anderem an dem N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor, dem sigma-Rezeptor (σ -Rezeptor) und den Rezeptor für Gammaaminobuttersäure (GABA-A-Rezeptor) (58, 54, 60, 61).

Die exakte Rolle von DHEA/S als Neurosteroid im ZNS ist jedoch derzeit noch Gegenstand intensiver Forschung.

Obwohl es bislang nicht gelungen ist, einen spezifischen DHEA-Rezeptor beim Menschen nachzuweisen, geht man auch von einem direkten Wirkmechanismus für DHEA aus (62,58, 63). In T-Lymphozyten von Mäusen und von Menschen wurden hochaffine Bindungsstellen für DHEA gefunden, diese Bindungsstellen besitzen jedoch ebenfalls Affinität zu Dihydrotestosteron (64,65).

Kürzlich wurden hochaffine Bindungsstellen für DHEA in Endothelzellen von Rindern nachgewiesen (66). DHEA aktiviert in diesen Endothelzellen, vermutlich über einen G-Protein gekoppelten Membranrezeptor, die Nitritoxidsynthetase (66, 67). Diese Erkenntnisse lassen auf einen direkten Wirkmechanismus von DHEA über einen spezifischen Rezeptor schließen (59).

1.3 Das Syndrom der polyzystischen Ovarien (PCO-Syndrom; Stein- Leventhal- Syndrom)

1.3.1 Prävalenz, Definition und Morphologie des PCO-Syndroms

Im Jahre 1935 beschrieben die nordamerikanischen Gynäkologen Stein und Leventhal erstmals einen Symptomenkomplex, der klinisch durch das Zusammentreffen von Regelstörungen, Sterilität, Hirsutismus, Adipositas und vergrößerten, polyzystischen Ovarien bei den Patientinnen geprägt ist (1,2,68). Dieser Symptomenkomplex wurde darauf folgend als das Syndrom der polyzystischen Ovarien bekannt (2).

Heute weiß man, dass das PCO-Syndrom eine der häufigsten endokrinen Erkrankungen von Frauen im gebärfähigen Alter ist, unter der allein in Deutschland etwa 1 Million Frauen leiden (1,2,3,4,5). Etwa 2-5% aller Frauen im geschlechtsreifen Alter leiden an einem PCO-Syndrom (6, 7,8,9). Die Erkrankung manifestiert sich ausschließlich im fortpflanzungsfähigen Alter und beginnt meistens im 2.-3. Lebensjahrzehnt.

Die Rotterdam PCOS Consensus Workshop Group hat im Jahre 2003 eine allgemein anerkannte Definition des PCO-Syndroms festgelegt (69). Demnach wird die Diagnose des PCO-Syndroms bei Vorliegen von mindestens zwei klinischen Merkmalen der drei Hauptkriterien polyzystische Ovarien, Oligo- bzw. Amenorrhoe und klinische und/oder laborchemische Zeichen eines Hyperandrogenismus gestellt. Weiterhin müssen zur Diagnosestellung andere Ursachen einer Hyperandrogenämie, wie androgenbildende Tumoren, Cushing-

Syndrom, primäre Ovarialinsuffizienz, adrenogenitales Syndrom, Autoimmunthyreoiditis, Prolaktinom oder Anorexia nervosa ausgeschlossen worden sein (69).

Im Jahre 2006 hat eine Arbeitsgruppe der Androgen Excess Society eine aktualisierte evidenzbasierte Definition des PCO-Syndroms erarbeitet, die weitgehend mit der Definition der Rotterdam Arbeitsgruppe übereinstimmt (siehe Tabelle 1). Hier wird bei der Definition in erster Linie der Androgenexzess beziehungsweise die Hyperandrogenämie in den Vordergrund gestellt, obwohl eingeräumt wird, dass die Möglichkeit besteht, dass es Formen von PCO-Syndrom ohne Nachweis einer Hyperandrogenämie existieren könnten (144). Wie die Definition dieses Syndroms sich weiterentwickeln wird, bleibt abzuwarten.

Tabelle 1: vorgeschlagene Kriterien zur Diagnosestellung des Syndroms der polyzystischen Ovarien nach der Arbeitsgruppe der Androgen Excess Society (144).

Kriterien zur Diagnosestellung des PCO-Syndroms
1. <u>Hyperandrogenämie</u> : Hirsutismus und/oder Hyperandrogenämie und
2. <u>ovarielle Dysfunktion</u> : Oligo-Anovulation und/oder polyzystische Ovarien und
3. Ausschluss anderer definierter Ursachen für den Androgenexzess oder ähnlicher Störungen (zum Beispiel androgenbildende Tumoren, Morbus Cushing, Hyperprolaktinämie)

Trotz der bisher erarbeiteten Definitionen kann man das PCO-Syndrom nicht als ein einheitliches Krankheitsbild beschreiben. Es weist sowohl hinsichtlich der klinischen Symptomatologie als auch hinsichtlich der Morphologie Heterogenität auf (70,5).

Morphologisch ist das Syndrom gekennzeichnet durch 2- bis 5fach vergrößerte, graue Ovarien (sog. „Oyster-Ovaries“) mit einer verdickten Tunica albuginea und multiplen subkapsulär gelegenen und perlschnurartig angeordneten kleinzystischen Follikeln verschiedener Reifestadien. Auffällig ist weiterhin eine Hypertrophie der Theca interna („Hyperthecosis“), eine Verdichtung des Ovarialstromas („Stromatosis“) sowie das Fehlen von Corpus-luteum-Strukturen. Diese Merkmale sind charakteristisch, aber nicht obligat (1,2,70). Abbildung 5 zeigt die transvaginalsonographische Darstellung des Ovars einer Patientin mit PCO-Syndrom.

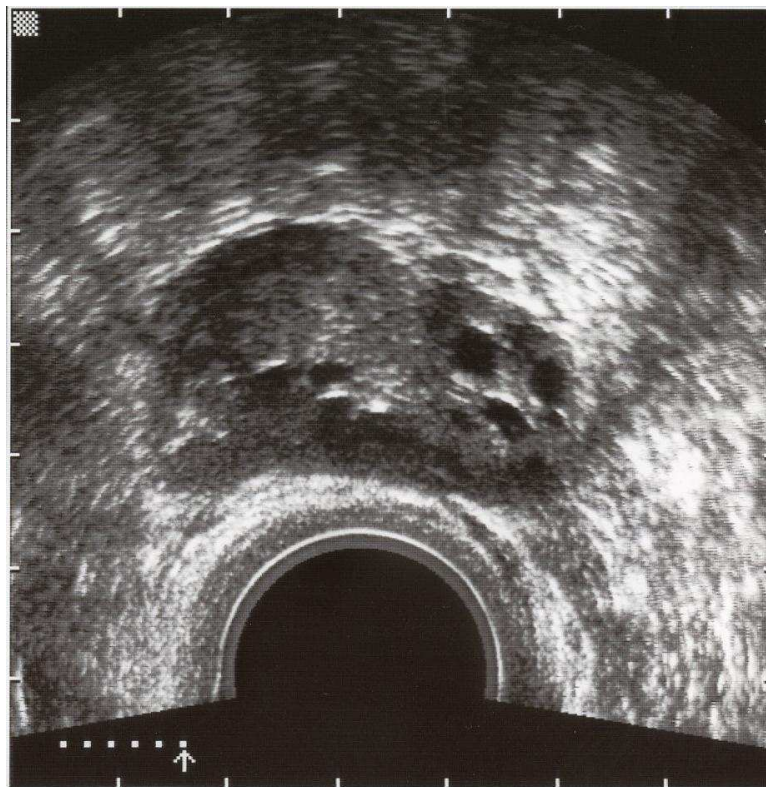


Abbildung 5: Transvaginalsonographische Darstellung eines polyzystischen Ovars: Das Ovar ist vergrößert und die subkapsulären Follikelzysten sind deutlich zu erkennen (Quelle: Universitäts-Frauenklinik Würzburg, 2004).

1.3.2 Klinische Symptomatologie des PCO-Syndroms

Neben den vergrößerten, polyzystischen Ovarien ist das PCO-Syndrom klinisch durch weitere häufig vorkommende Symptome gekennzeichnet, wie sie in der Tabelle 2 zusammengefasst sind.

Tabelle 2: Klinische Symptome, die häufig mit dem PCO-Syndrom einhergehen in Prozent (71,70,72).

Symptom	Häufigkeit in Prozent (%)
Sterilität	74
Hirsutismus	69
Oligo-/Amenorrhö	51
Adipositas	41
Dysfunktionelle Blutungen	29

Wie aus der Tabelle ersichtlich, stehen Sterilität, Hirsutismus, Zyklusunregelmäßigkeiten und Adipositas im Vordergrund des PCO-Syndroms. Unter Hirsutismus versteht man eine pathologisch vermehrte Körperbehaarung vom männlichen Verteilungstyp bei Frauen, insbesondere im Bereich von Oberlippe, Kinn, Brust und Linea alba. Nach Ferriman und Gallwey wird die Behaarung in neun verschiedenen Hautarealen je nach Ausmaß mit einem Score von Null bis vier bewertet (siehe Tabelle 3). Wenn die Summe in diesen neun Hautarealen größer als sieben ist, besteht ein manifester Hirsutismus.

Tabelle 3: Hirsutismus-Score nach Ferriman und Gallwey (137).

Hirsutismus-Score nach Ferriman und Gallwey (Areale ohne Haare erhalten einen Score von Null)
1. Oberlippe: 1) wenig Haare außen 2) kleiner Bart außen 3) Oberlippenbart fast bis Mittellinie 4) Bart bis Mittellinie
2. Kinn: 1) vereinzelt Haare 2) Haaransammlung 3) komplette Haardecke 4) dichte komplette Haardecke
3. Brust: 1) einzelne periareolär 2) Haare in der Mittellinie 3) $\frac{3}{4}$ bedeckt 4) komplett bedeckt

4. Rücken: 1) einzelne Haare 2) mehrere Haare 3) komplette Haardecke 4) dichte komplette Haardecke
5. Lenden: 1) sakrales Haarpolster 2) Polster mit lateraler Ausdehnung 3) $\frac{3}{4}$ bedeckt 4) komplette Haardecke
6. Oberbauch: 1) wenig Haare in der Mittellinie 2) mehr als 1) aber noch im Bereich der Mittellinie 3) halbe Haardecke 4) komplette Haardecke
7. Unterbauch: 1) einige Haare in der Mittellinie 2) Strich von Haaren in der Mittellinie 3) Band von Haaren 4) umgekehrtes V
8. Oberarm: 1) diskrete Behaarung 2) mehr, noch keine geschlossene Haardecke 3) halbe Haardecke 4) komplette Haardecke
9. Oberschenkel: 1) diskrete Behaarung 2) mehr, noch keine geschlossene Haardecke 3) halbe Haardecke 4) komplette Haardecke

Weitere, seltener vorkommende klinische Merkmale des PCO-Syndroms sind unter anderem Akne, Seborrhö, Galaktorrhö, androgenetische Alopezie und Acanthosis nigricans, auf die im Folgenden noch näher eingegangen wird.

Die Erkrankung ist weiterhin mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen sowie Ihre Risikofaktoren wie unter anderem arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2 und Dyslipidämie verbunden.

Man geht darüber hinaus davon aus, dass das Risiko für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms erhöht ist, da etwa 50% der betroffenen Frauen unter einer chronischen Oligo- bzw. Amenorrhoe mit oft weniger als 4 Regelblutungen pro Jahr, bedingt durch eine zu seltene oder ausbleibende Ovulation mit der Folge einer Endometriumhyperplasie, leiden (2, 8,73,74,75,69,76). Daher ist bei diesen Frauen therapeutisch wichtig, regelmäßig, mindestens jedoch alle 3 Monate eine Regelblutung zu induzieren, falls sie keine Spontanblutung entwickeln.

Von einem Stein-Leventhal-Syndrom im engeren Sinne als Sonderform des PCO-Syndroms spricht man lediglich bei Vorliegen der Trias aus den Symptomen Amenorrhö, Hirsutismus und Infertilität (70).

1.3.3 PCO-Syndrom und Insulinresistenz

Die zentrale Rolle in der Pathogenese der metabolischen Veränderungen, die das PCO-Syndrom charakterisieren, spielt die Insulinresistenz (77).

Etwa 50-70% der PCOS-Patientinnen leiden unter den verschiedenen Ausprägungen dieser Insulinresistenz (78, 79, 80, 81).

Die Insulinresistenz betrifft nicht nur adipöse, sondern auch dünne und normalgewichtige PCOS-Patientinnen, wobei Adipositas die Insulinresistenz zusätzlich verstärkt (78,82,83,84). Als klinisches Symptom für die Insulinresistenz gilt die des öfteren beobachtete Acanthosis nigricans (85). Hierunter versteht man Hautveränderungen, die durch eine flächige, graubraune symmetrisch verteilte Hyperpigmentierungen und Hyperkeratosen gekennzeichnet sind. Bevorzugte Lokalisationen sind unter anderem die Achselhöhlen, der Nacken, der Genitalbereich, die Ellenbeugen und die Kniekehlen (siehe Abbildung 6) (71,68,70).

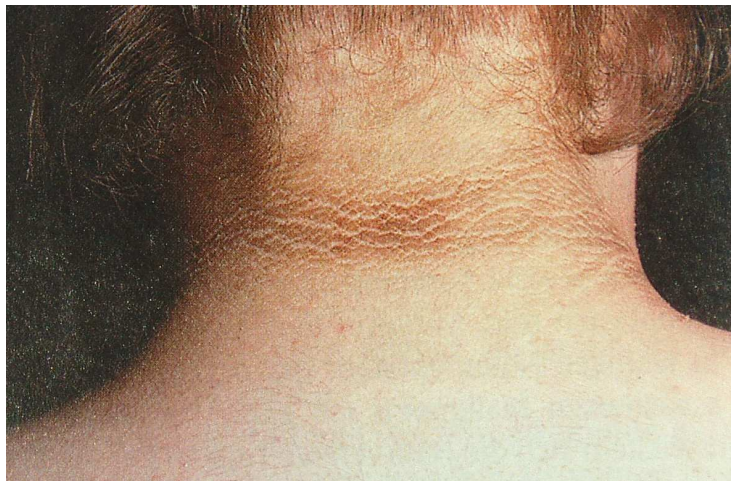


Abbildung 6: Acanthosis nigricans (Quelle: Ernst. G. Jung, I. Moll, Dermatologie, 5. Auflage, Thieme Verlag).

Die aus der Insulinresistenz resultierende Hyperinsulinämie scheint in der Pathogenese des PCO-Syndroms eine Rolle zu spielen (2, 86, 87). Einige Autoren gehen davon aus, dass die Hyperinsulinämie die für das PCOS

charakteristische Hyperandrogenämie verstärkt. Die genauen Mechanismen dieser Interaktion sind bisher noch nicht geklärt (2,8).

Die Insulinresistenz, vor allem in Kombination mit Adipositas, wird auch als Ursache für die erhöhte Inzidenz von Diabetes mellitus Typ 2 bei PCOS-Patientinnen angesehen. Das Risiko, einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln, ist bei Frauen mit PCOS um das 5- bis 10fache gegenüber der Normalbevölkerung erhöht (81).

Zudem wird bei PCOS-Patientinnen bereits in jungen Jahren signifikant häufiger das Auftreten des Metabolischen Syndroms beobachtet (77).

Das Metabolische Syndrom wird nach der International Diabetes Federation (IDF) bei Frauen definiert als das Vorliegen von:

- abdomineller Fettverteilung, definiert als Taillenumfang ≥ 80 cm

und dem Vorliegen von 2 der folgenden 4 Kriterien:

- Nüchtern-Blutzucker ≥ 100 mg/dl
- Blutdruck systolisch ≥ 130 mmHg oder diastolisch ≥ 85 mmHg
- HDL-Cholesterin < 40 mg/dl bei Männern, < 50 mg/dl bei Frauen
- Triglyceride ≥ 150 mg/dl.

Dementsprechend unterliegen die Patientinnen einem erhöhten Risiko für die Folgeerkrankungen des Metabolischen Syndroms wie koronare Herzkrankheit, Myokardinfarkt, Apoplex und periphere arterielle Verschlusskrankheit (88, 89).

1.3.4 Lipidstoffwechsel bei Frauen mit PCO-Syndrom

Die Konzentration der Plasmalipoproteine (Chylomikronen, very low density lipoprotein (VLDL) low density lipoprotein (LDL) und high density lipoprotein (HDL)) und der sich aus diesen zusammensetzenden Serumlipide (Cholesterin

und Triglyceride) ist bei Frauen, die unter dem PCOS leiden, gegenüber gesunden Frauen abweichend (90). Das Lipidmuster bei Frauen mit PCOS ist charakterisiert durch deutlich erhöhte Plasmakonzentrationen an Triglyceriden, höhere Gesamtcholesterinspiegel, erhöhtes LDL-Cholesterin, erniedrigtes HDL-Cholesterin sowie erhöhtes VLDL im Vergleich zu gesunden Frauen (91,79, 90). Diese Dyslipidämie scheint eher mit Adipositas als mit erhöhten Androgenspiegeln assoziiert zu sein (91,90). Bei normalgewichtigen Frauen mit PCOS konnten keine pathologischen Lipidmuster festgestellt werden (79, 92). Diese Dyslipidämie trägt zusätzlich zu dem bei PCOS erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen bei (88).

1.3.5 Endokrine Auffälligkeiten beim PCO-Syndrom

Auch in endokrinologischer Hinsicht ist das PCO-Syndrom heterogen (5,93). Es ist in erster Linie durch eine gestörte Sekretion von Gonadotropinen sowie durch eine Hyperandrogenämie charakterisiert (2, 68,5).

Aufgrund chronischer Anovulation und kontinuierlicher Östrogenwirkung an der Hypophyse findet man im Serum von PCO-Patientinnen stark erhöhte Konzentrationen von luteinisierendem Hormon (LH) mit beträchtlicher Fluktuation, wohingegen die Spiegel des follikelstimulierenden Hormons (FSH) im peripheren Blut im Vergleich zu gesunden Frauen normal bis niedrig sind (1,94, 2,95,68,70,96,97). Daraus ergibt sich der erhöhte LH-/FSH-Quotient von >2 bei 60-70% der Patientinnen (94, 11,68,70).

Bei etwa einem Drittel der Patientinnen finden sich erhöhte Prolaktinspiegel im Serum (70). Die kontinuierliche Sekretion von Östrogenen über den gesamten Zyklus hinweg führt zu konstant hohen Östrogenspiegeln im Plasma und somit zur chronischen Anovulation (1). Die Synthese von Sexualhormon-bindendem Globulin (SHBG), einem Transportprotein für Androgene im Blut, in der Leber ist vermindert. Dies führt zu einer Erhöhung des freien Anteils der Androgene im Blut und somit zu einer Zunahme der Wahrscheinlichkeit von Androgenisierungserscheinungen (95,98,99,5).

Als biochemisches Hauptcharakteristikum des PCO-Syndroms gilt jedoch die Hyperandrogenämie, welche sich bei 50-70% der Patientinnen nachweisen lässt und erhöhte Serumkonzentrationen von Testosteron, Androstendion, DHEA und DHEAS beinhaltet (6, 10,3,7,11,12).

1.3.6 Hyperandrogenämie als hormonelles Hauptcharakteristikum des PCO-Syndroms

Über den hauptsächlichen Herkunftsort der beim PCO-Syndrom exzessiv erhöhten Androgene wurde lange Zeit kontrovers diskutiert (100,101, 102).

Nach heutigem Wissensstand entstammen die Androgene drei verschiedenen Quellen. Zum einem dem Ovar als Hauptquelle für die gesteigerte Sekretion von Androstendion und Testosteron (71, 103, 100, 6, 94, 104, 105, 106,107, 97,99, 93, 8). Zum anderen der Nebenniere als vorwiegendem Herkunftsort der bei über der Hälfte der Patientinnen ebenfalls vermehrten Steroide DHEA und DHEAS (6,94,101,95,7,11, 12,104,105,108, 99,5,93, 8, 109).

Neben den Ovarien und den Nebennieren tragen auch die Leber und periphere Zielgewebe zu den erhöhten Androgenkonzentrationen im Serum von PCOS-Patientinnen bei. Dies konnte in einer Studie von Fassnacht et al., bei der eine gesteigerte Aktivität der peripheren 5 α -Reduktase bei PCOS-Patientinnen nachgewiesen wurde, gezeigt werden (110).

Hinsichtlich der Serumkonzentrationen der in dieser Studie untersuchten adrenalen Steroide DHEA und DHEAS bei Patientinnen mit PCO-Syndrom liegen die meisten Untersuchungen zur sulfatierten Form DHEAS vor, wobei die Mehrheit der Autoren bei den PCO-Patientinnen eine signifikante Erhöhung der DHEAS-Serumwerte im Vergleich zu den DHEAS-Serumwerten gesunder Frauen beobachtet (94, 10,108,111, 98,5,109,112,113,114,115).Die Prävalenz der erhöhten DHEAS-Serumkonzentrationen bei Patientinnen mit PCO-Syndrom liegt bei etwa 40-70% (6, 10,7,11,12,108, 8,116,117,118).

Zu der Serumkonzentration von DHEA beim PCO-Syndrom liegen in der Literatur bisher nur wenige Daten vor. Die meisten Untersucher finden bei Vorliegen eines PCO-Syndroms deutlich erhöhte DHEA-Basalwerte im Serum der Patientinnen (103, 94,10,110,95,102).

Zu der Ätiologie der bei Patientinnen mit PCO-Syndrom häufig beobachteten exzessiven Androgenproduktion existieren zahlreiche unterschiedliche Theorien (3,7,122). Die Hypothesen reichen von einer Störung der Gonadotropinsekretion in Hypothalamus und Hypophyse (4,96) über eine Störung der Androgenbiosynthese im Ovar durch eine Dysregulation des gonadalen CYP17-Enzymes (Cytochrom P-450c17 α) (71,123,93) oder einen Defekt des Enzyms Aromatase (103, 124,68), bis hin zu einer Störung auf adrenaler Ebene (125).

Auf adrenaler Ebene ist bei manchen Frauen die in der Pubertät einsetzende, abgeschwächte bzw. heterozygote Form der kongenitalen adrenalen Hyperplasie (CAH) als Ursache für den Androgenexzess anzusehen (101,8,126). Diese Erkrankung verursacht Defekte der an der adrenalen Steroidsynthese beteiligten Enzyme 21-Hydroxylase, 11 β -Hydroxylase und 3 β -HSD. Am häufigsten ist der partielle Defekt der 21-Hydroxylase, der etwa 1-2% aller an einer Hyperandrogenämie leidenden Frauen betrifft (101,102,127,128,129,8). Defekte der 11 β -Hydroxylase bzw. der 3 β -HSD, treten extrem selten auf (101, 7, 8,119, 130, 102,131,132,127, 128, 129).

Weiterhin wird eine Hyperaktivität des CYP 17-Enzymes, das die Aktivität der 17 α -Hydroxylase und 17,20-Lyase katalysiert, als eine mögliche Ursache für die Hyperandrogenämie adrenalen Ursprungs angesehen (71, 1,95,7,5).

Moran et al. führen den adrenalen Androgenexzess unter anderem auf eine Aktivitätssteigerung des Enzyms Sulfotransferase zurück (7). Die gesteigerte Aktivität dieses Enzyms bewirkt eine vermehrte Sulfatierung von DHEA zu DHEAS und führt somit zu erhöhten DHEAS-Konzentrationen in der Zirkulation (7).

Andere Autoren führen die adrenale Hyperandrogenämie eher auf eine Regulationsstörung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren Achse als auf spezifische Enzymdefekte zurück (6,8). Dieser Erklärungsansatz beruht auf der

Beobachtung, dass die Nebennieren von PCOS-Patientinnen auf Stimulation durch ACTH mit einer verstärkten Sekretion von Steroiden reagieren (1,6,101,12). Die ACTH-Spiegel im Blut der Patientinnen liegen im Normbereich, die DHEAS/ACTH-Ratio ist jedoch signifikant erhöht (12,111). Folglich ist bei einigen PCO-Patientinnen entweder die Sensitivität der Nebennieren auf ACTH gesteigert oder ein die Nebennieren stimulierender Faktor, wie er von Parker et al. beschrieben wurde (sog. CASH, siehe oben), ist für die gesteigerte Sekretion von Androgenen verantwortlich (1,6,10,119, 102,12,130,111).

Kürzlich wurde nachgewiesen, dass auch das aus dem Ovar stammende weibliche Geschlechtshormon Östrogen bei PCO-Patientinnen die verstärkte Antwort der adrenalen Androgene auf ACTH induzieren kann (10). Diese Beobachtung unterstützt die Vermutung, dass ovarielle Steroide in der Lage sind, die adrenale Androgensekretion zu stimulieren (1, 11,5).

2 Fragestellungen

Mit der kürzlich durchgeführten Interkonversionsstudie von Hammer et al. konnte nachgewiesen werden, dass zirkulierendes DHEAS und DHEA nicht frei und kontinuierlich ineinander überführt werden und somit DHEAS nicht prinzipiell als zirkulierende Speicherform zur Regeneration von DHEA dienen könnte, wie man zuvor noch angenommen hatte (19,13,18). Aufgrund dieses neuen Erkenntnis ist unsere Hypothese, dass lediglich eine Bestimmung der DHEAS-Serumkonzentration den im menschlichen Kreislauf zirkulierenden DHEA-Pool nicht korrekt wiedergeben kann. Dies gilt in erster Linie auch für eine pathologische Situation, wie sie bei Patientinnen mit dem Syndrom der polyzystischen Ovarien vorliegt.

Mit der vorliegenden Studie sollen daher im einzelnen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- Wie verhalten sich die basalen DHEA- bzw. DHEAS-Serumkonzentrationen bei Frauen mit PCO-Syndrom und wie ist das Verhältnis von biologisch aktivem DHEA zur inaktivem Form DHEAS?
- Inwieweit unterscheiden sich die basalen DHEA- bzw. DHEAS-Konzentrationen und damit die DHEA/DHEAS -Ratio zwischen Patientinnen mit PCO-Syndrom und gesunden Frauen?
- Unterscheiden sich diejenigen PCOS-Patientinnen mit veränderter DHEA/DHEAS -Ratio klinisch von den Patientinnen mit normaler DHEA/DHEAS -Ratio?
- Wie verhält es sich mit der Serumkonzentration von ADG, dem Marker für die Bildung von Androgenen in peripheren Zielgeweben, bei Patientinnen mit veränderter DHEA/DHEAS -Ratio?

3 Probandinnen und Methoden

3.1 Probandinnen

3.1.1 Patientinnen mit PCO-Syndrom

Die Serumproben von insgesamt 89 Patientinnen mit PCO-Syndrom im Alter von 18-44 Jahren wurden ausgewertet.

Die Diagnose des PCO-Syndroms wurde bei allen Patientinnen durch Erfüllung der Kriterien Oligo-/Amenorrhoe und/oder Hirsutismus und erhöhte Serumkonzentrationen von DHEAS, Androstendion und/oder Testosteron/SHBG gesichert. Die Rotterdam PCOS Consensus Kriterien von 2003 sowie die Kriterien der Androgen Excess Society von 2006 wurden somit bei allen Patientinnen in vollem Umfang erfüllt.

Im Einzelnen wurden folgende Kohorten eingeschlossen:

Eine Kohorte von 57 PCO-Patientinnen wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Christof Schöfl von der Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Medizinischen Hochschule Hannover in dem Zeitraum von 20.12.2000 bis 01.07.2003 rekrutiert.

Eine zweite Kohorte von 32 PCO-Patientinnen wurde unter der Leitung von Frau Prof. Dr. med. Wiebke Arlt von der Abteilung für Medical Sciences der Universitätsklinik Birmingham, Queen Elizabeth Hospital, Edgbaston, Birmingham in dem Zeitraum von 29.01.2003 bis 07.01.2004 rekrutiert.

3.1.2 Kontrollkollektiv

Die Serumproben von insgesamt 44 gesunden Frauen im Alter von 19 bis 45 Jahren wurden ausgewertet. Die Probandinnen hatten an einer von Clark et al. in der medizinischen Abteilung der Universitätsklinik Birmingham

durchgeführten und 1998 veröffentlichten Studie über die normale Cortisolantwort auf den kurzen Synacthen Test teilgenommen (133). Sämtliche Teilnehmerinnen litten zu dem Zeitpunkt der Studie weder an akuten noch an chronischen Krankheiten und nahmen keine Medikamente ein. Der Ausschluss der Diagnose des Syndroms der polyzystischen Ovarien erfolgte bei sämtlichen Patientinnen klinisch gemäß der Kriterien der Androgen Excess Society und Rotterdam Consensus Arbeitsgruppe (144).

3.2 Methoden

3.2.1 Prinzip des Radioimmunoassays

Die Methode des Radioimmunoassay (RIA) wurde durch Solomon A. Berson und Rosalyn S. Yalow entwickelt (134). Yalow erhielt dafür im Jahre 1977 den Nobelpreis für Medizin und Physiologie.

Es handelt sich dabei um eine klinisch bedeutsame und außerordentlich empfindliche Labormethode zur quantitativen Bestimmung kleinster Substanzmengen. Kleine Konzentrationen von Hormonen, Enzymen, Tumorantigenen, Infektionsantigenen, Arzneimitteln und DNA können mit dieser radioimmunologischen Methode spezifisch bestimmt werden.

Der RIA beruht auf dem Wettbewerbsprinzip. Das bedeutet, dass eine genau definierte Menge eines radioaktiv markierten Antigens (Tracer) mit einer unbekanntem Konzentration eines nicht markierten Antigens (zu bestimmendes Hormon) um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen hochspezifischer Antikörper konkurriert (siehe Abbildung 7).

Mit zunehmender Konzentration des zu bestimmenden Hormons steigt die Anzahl der nicht-markierten Antigen-Antikörper-Komplexe, die Anzahl der radioaktiv markierten Antigen-Antikörper-Komplexe nimmt dagegen ab. Der Anteil der radioaktivmarkierten Antigen-Antikörperkomplexe ist somit umgekehrt proportional zur Analytkonzentration der Probe. Zur Erstellung einer

Bezugskurve werden Standardlösungen mit bekannter Konzentration eingesetzt, die wie Patientenproben behandelt werden.

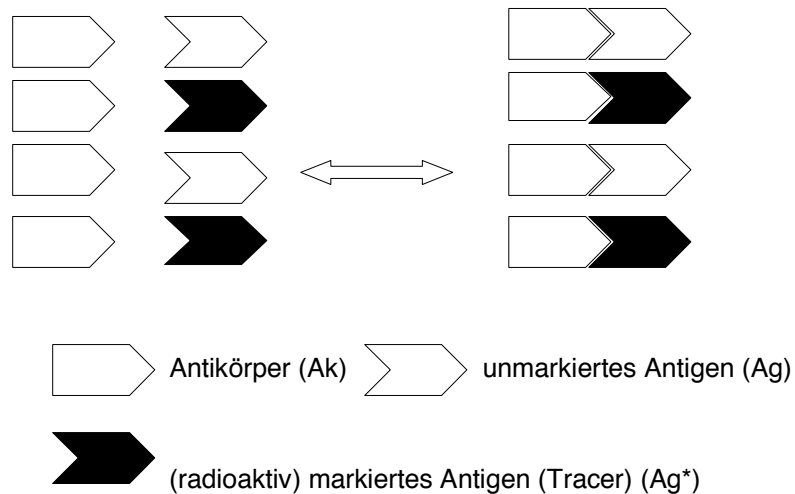
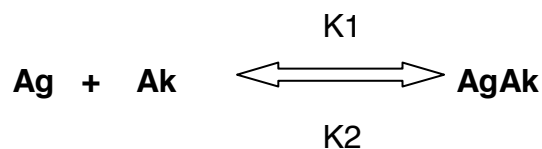


Abbildung 7: Funktionsprinzip des Radioimmunoassays. Eine variable Menge eines unmarkierten Antigens (Ag) und eine konstante Menge des markierten Antigens (Ag*) konkurrieren um eine begrenzte Anzahl von Bindungsplätzen des Antikörpers (Ak).

Nach einer genau festgelegten Inkubationszeit hat sich ein Gleichgewicht zwischen freien und gebundenen Antigenen entsprechend den Konzentrationsverhältnissen und der Reaktionskonstanten eingestellt (siehe Gleichung 1).



Gleichung 1: Die Bindung von Antigen (Ag) und Antikörper (Ak) ist eine reversible Reaktion mit den Konstanten für Hin- (K1) und Rückreaktion (K2).

Die an den Antikörper gebundenen Antigene (Antigen-Antikörper-Komplexe) müssen nun von den freien Antigenen getrennt werden. Dies kann neben Präzipitation mit Polyethylenglykol oder Adsorption an Aktivkohle auch durch ein antikörperbeschichtetes Plastikröhrchen oder Immunpräzipitation mit einem zweiten Antikörper geschehen.

Nach der Zentrifugation werden die Überstände dekantiert oder abgesaugt und die Radioaktivität der Präzipitate im Gammacounter gemessen (135). Durch den Vergleich der Radioaktivität der Standardproben mit bekannter Konzentration kann die unbekannte Menge des endogenen Hormons bestimmt werden.

3.2.2 Steroidhormonbestimmungen im Serum

Die Serumkonzentrationen der zu untersuchenden Steroidhormone wurden mittels handelsüblicher Radioimmunoassays bestimmt.

Die Steroidhormonbestimmungen erfolgten als Doppelbestimmung mittels spezifischem, direktem Radioimmunoassay im Endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg.

Folgende Diagnostikprodukte kamen zum Einsatz:

- DHEA: Diagnostic Systems Laboratories (Sinsheim, Deutschland)
Kreuzreaktivität: DHEAS 0,04 %.
- DHEAS: DPC Biermann (Bad Nauheim, Deutschland)
Kreuzreaktivität: DHEA 0,08 %.
- 5- α -Androstan-3- α , 17- β -diol-17-glucuronid (ADG):
Diagnostic Systems Laboratories (Sinsheim, Deutschland)
Kreuzreaktivität: keine.

Die Kreuzreaktivitäten zu anderen für diese Untersuchungen relevanten Steroidhormonen betragen $<0,01\%$.

Die Intra- bzw. Interassayvariationskoeffizienten betragen für DHEA und DHEAS $<8\%$ bzw. $<12\%$.

3.2.3 Allgemeine biochemische Messungen

Die Bestimmungen der Serumkonzentrationen von Glukose, Cholesterin und Triglyceriden erfolgten mittels Routinelaboruntersuchungen an der Medizinischen Hochschule Hannover und der Universitätsklinik Birmingham.

3.2.4 Oraler Glukosetoleranztest

Bei allen Patientinnen mit PCO-Syndrom wurde ein standardisierter oraler Glukosetoleranztest durchgeführt. Bei diesem Test, vor dessen Durchführung die Patienten für 10 Stunden nüchtern bleiben sollen, wird zunächst der Nüchternblutzucker bestimmt. Darauf trinkt der Patient eine Testlösung, die 75 g Glukose enthält. 120 Minuten nach der Zuckeraufnahme wird der Blutzucker erneut bestimmt. Als normal gilt ein Nüchtern-Plasma-Glukose-Wert $<110\text{mg/dl}$ ($<6,1\text{mmol/l}$) und ein 2h-Wert $<140\text{ mg/dl}$ ($<7,8\text{mmol/l}$). Von gestörter Glukosetoleranz spricht man bei einem Nüchternwert ≥ 110 und $<126\text{ mg/dl}$ ($\geq 6,1$ $<7\text{ mmol/l}$) und einem 2 h-Wert ≥ 140 und $<200\text{ mg/dl}$ ($\geq 7,8$ $<11,0\text{ mmol/l}$). Ein Diabetes liegt bei einem Nüchternwert $\geq 126\text{ mg/dl}$ ($\geq 7,0\text{ mmol/l}$) und einem 2h-Wert $\geq 200\text{ mg/dl}$ ($\geq 11,1\text{ mmol/l}$) vor (136).

3.3 Statistik

Für die statistische Analyse der gewonnenen Rohdaten wurde das Statistikprogramm SPSS statistical software package version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) verwendet.

Alle Daten werden als Mediane mit Interquartilsabstand (25. bis 75. Perzentile) angegeben.

Die Normalverteilung der Ergebnisse wurde mit dem „Kolmogorov-Smirnov-Liliefors Test“ überprüft.

Die Überprüfung der Homogenität der Varianzen erfolgte mittels Levene Statistik.

Zum Vergleich von Mittelwerten zwischen zwei normalverteilten Gruppen (PCOS-Gesamtkollektiv (n=89) versus gesundes Kontrollkollektiv (n=44) und neu identifizierte PCOS-Subkohorte (n=25) versus verbleibende PCOS-Kohorte (n=64)) wurde jeweils der t-Test für ungepaarte Proben nach Student angewandt.

Zum Vergleich von Mittelwerten zwischen drei normalverteilten Gruppen (gesundes Kontrollkollektiv (n=44), neu identifizierte PCOS-Subkohorte (n=25) und verbleibende PCOS-Kohorte (n=64)) wurde die Varianzanalyse mit einer abhängigen Variablen (ANOVA, one-way Analysis of Variance) herangezogen. Beim Vorliegen von vergleichbaren Varianzen in den Vergleichsgruppen erfolgte die Post-Hoc-Korrektur nach Bonferroni.

Lagen hingegen ungleiche Varianzen zwischen den Vergleichsgruppen vor, erfolgte die Post-Hoc-Korrektur nach dem Dunnett-T3-Test.

Das Signifikanzniveau wurde jeweils mit $P < 0,05$ definiert.

4 Ergebnisse

4.1 Steroidhormonkonzentrationen des Gesamtkollektivs

4.1.1 Dehydroepiandrosteron (DHEA)

Die mittlere DHEA-Serumkonzentration des untersuchten Kontrollkollektivs lag im oberen Normbereich (2,8-36,4 nmol/l) 16- bis 79-jähriger Frauen. Die mittlere DHEA-Serumkonzentration der untersuchten Patientinnen mit PCO-Syndrom lag nicht mehr in diesem Normbereich. Sie war gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant erhöht ($P < 0,001$). Abbildung 8 und Tabelle 4 zeigen den mittleren DHEA-Serumwert beider Kollektive.

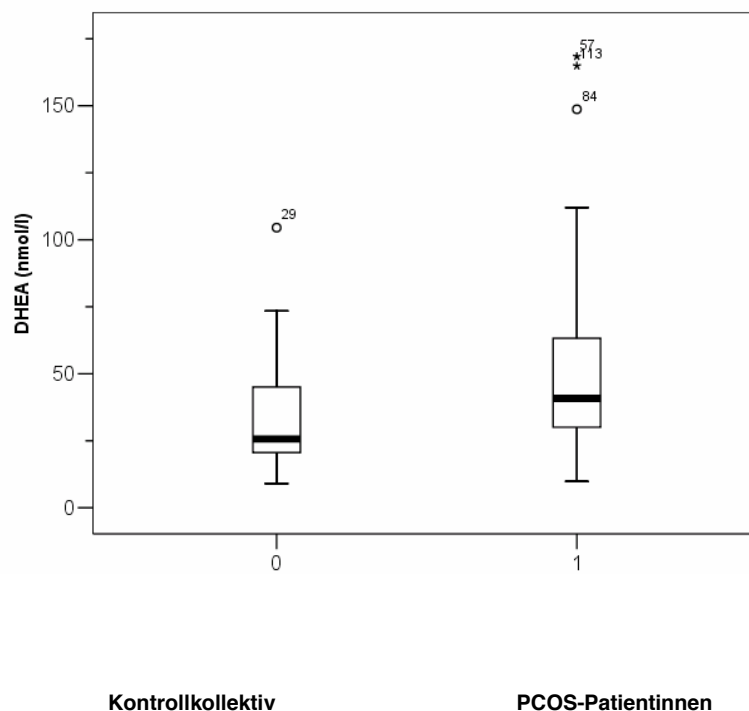


Abbildung 8: mittlere DHEA-Serumkonzentration in nmol/l bei gesunden, 19- bis 45-jährigen Frauen (Gruppe 0, n=44) und 18- bis 44-jährigen PCOS-Patientinnen (Gruppe 1, n=89).

Tabelle 4: mittlere DHEA-Serumkonzentration in nmol/l beider Kollektive.

DHEA (nmol/l)	gesunde Frauen (n=44)	PCOS-Patientinnen (n=89)
Mittelwert	33,2	50,3
Standardabweichung	19,0	30,7

4.1.2 Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS)

Die mittlere DHEAS-Serumkonzentration des untersuchten Kontrollkollektivs befand sich im mittleren Normbereich (1,0-11,7 $\mu\text{mol/l}$) 16- bis 79-jähriger Frauen. Der mittlere DHEAS-Serumwert der Patientinnen mit PCO-Syndrom lag ebenfalls im mittleren Normbereich. Er war bei den PCOS-Patientinnen gegenüber dem Kontrollkollektiv nicht signifikant erhöht ($P=0,058$). Abbildung 9 und Tabelle 5 zeigen den mittleren DHEAS-Serumspiegel beider Kollektive.

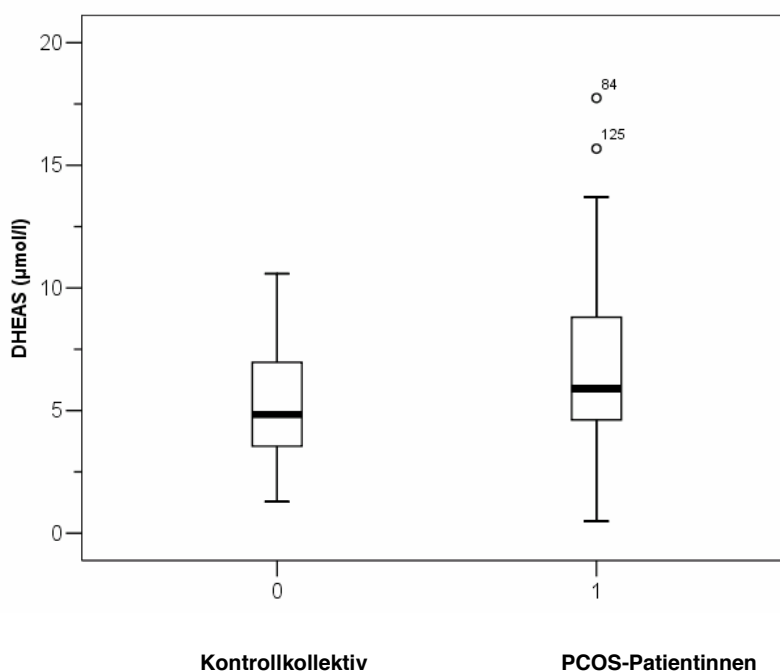


Abbildung 9: Mittlere DHEAS-Serumkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei gesunden, 19- bis 45-jährigen Frauen (Gruppe 0, n=44) und 18- bis 44-jährigen PCOS-Patientinnen (Gruppe 1, n=89).

Tabelle 5: Mittlere DHEAS-Serumkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ beider Kollektive.

DHEAS ($\mu\text{mol/l}$)	gesunde Frauen (n=44)	PCOS-Patientinnen (n=89)
Mittelwert	5,53	6,60
Standardabweichung	2,58	3,23

4.1.3 Androstandiol-Glucuronid (ADG)

Das Hormon Androstandiol-Glucuronid wurde als Reflexion der biologischen Aktivität von DHEA in der Zielzelle gemessen. Der mittlere ADG-Serumspiegel der untersuchten gesunden Frauen lag im mittleren Normbereich (1,1-11,5 nmol/l) prämenopausaler Frauen. Die mittlere ADG-Serumkonzentration der Patientinnen mit PCO-Syndrom befand sich ebenfalls in diesem Normbereich. Sie war bei den PCOS-Patientinnen gegenüber dem Kontrollkollektiv nicht signifikant erhöht ($P=0,153$). Abbildung 10 und Tabelle 6 zeigen den mittleren ADG-Serumwert beider Kollektive.

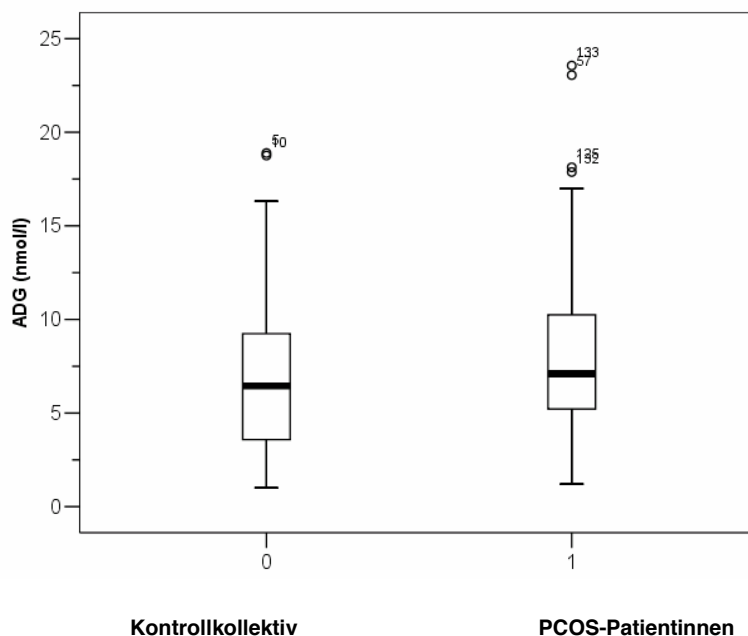


Abbildung 10: Mittlere ADG-Serumkonzentration in nmol/l bei gesunden, 19- bis 45-jährigen Frauen (Gruppe 0, n=44) und 18- bis 44-jährigen PCOS-Patientinnen (Gruppe 1, n=89).

Tabelle 6: Mittlere ADG-Serumkonzentration in nmol/l beider Kollektive.

ADG (nmol/l)	gesunde Frauen (n=44)	PCOS-Patientinnen (n=89)
Mittelwert	6,88	8,08
Standardabweichung	4,43	4,57

4.2 Korrelationsanalysen

4.2.1 DHEA/DHEAS-Korrelation des Kontrollkollektivs

Die mittleren DHEA-/DHEAS-Serumwerte des untersuchten Kontrollkollektivs (n=44) waren eng miteinander korreliert. Abbildung 11 zeigt die mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des Kontrollkollektivs.

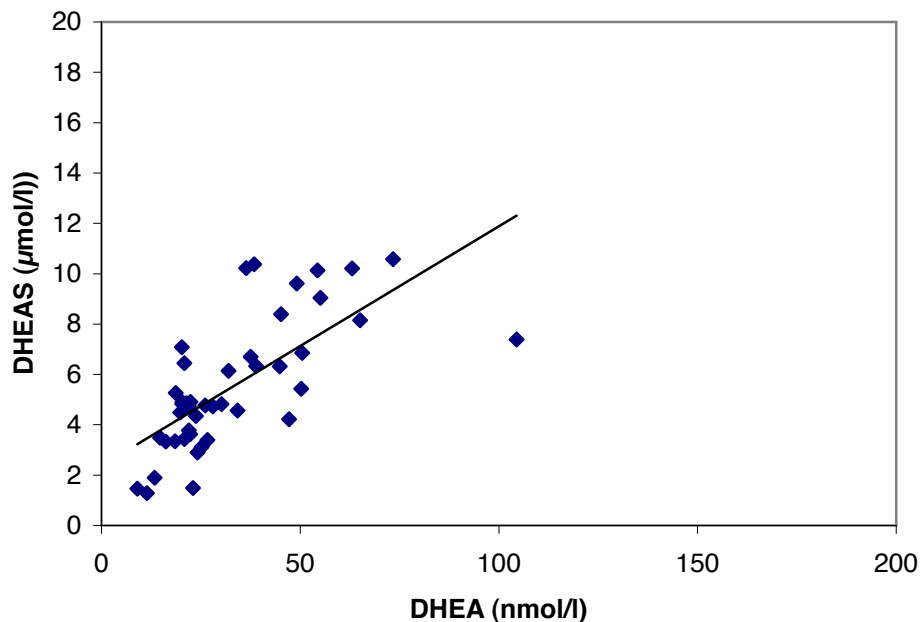


Abbildung 11: Mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des 19- bis 45-jährigen Kontrollkollektivs (n=44).

4.2.2 DHEA/DHEAS-Korrelation des PCOS-Gesamtkollektivs

Die mittleren DHEA-/DHEAS-Serumwerte waren bei der Mehrzahl der PCOS-Patientinnen (n=64) eng miteinander korreliert. Es konnte jedoch eine separate Gruppe (n=25) identifiziert werden, die 28% des PCO-Syndrom Gesamtkollektivs ausmachte, bei der die mittleren DHEA-/DHEAS-Serumwerte keine enge Korrelation zueinander aufweisen. Die PCOS-Patientinnen, die dieser Ausbrechergruppe angehören, hatten deutlich erhöhte DHEA-Serumkonzentrationen, die DHEAS-Serumwerte lagen im Normbereich. Folglich war der DHEA/DHEAS-Quotient bei diesen Patientinnen deutlich erhöht. Abbildung 12 und Abbildung 13 stellen das Kontrollkollektiv und das PCOS-Gesamtkollektiv im Vergleich dar. Die neu identifizierte PCOS-Subkohorte stellt sich in Abbildung 13 als rot markierte Symbole dar.

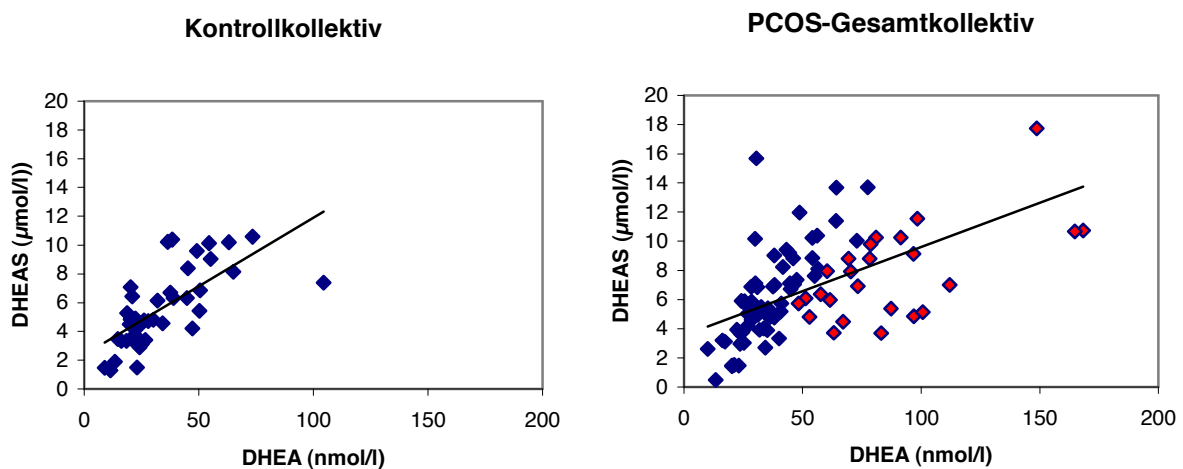


Abbildung 12: Mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des 19- bis 45-jährigen Kontrollkollektivs (n=44).

Abbildung 13: Mittlere DHEA-/DHEAS-Serumkonzentration des 18- bis 44-jährigen PCOS-Gesamtkollektivs (n=89). Es zeigt sich eine rot markierte separate Gruppe (n=24) mit deutlich erhöhtem DHEA/DHEAS-Quotienten.

4.2.3 Subkohortenanalyse hinsichtlich der Steroidhormonserumkonzentrationen im PCOS-Gesamtkollektiv

Die neu identifizierte PCOS-Subkohorte (n=25) wurde definiert durch eine im Normbereich gesunder 16- bis 79-jähriger Frauen liegende DHEAS-Serumkonzentration (1,0-11,7 $\mu\text{mol/l}$) und eine DHEA-Serumkonzentration >50 nmol/l und somit oberhalb der 90sten Perzentile des untersuchten Kontrollkollektivs und somit eine DHEA/DHEAS-Ratio >7.5 und oberhalb der 90sten Perzentile des Kontrollkollektivs.

Die verbleibende PCOS-Kohorte (n=64) wurde definiert durch im Normbereich liegende DHEAS-Serumkonzentration und eine DHEA-Serumkonzentration unterhalb bzw. innerhalb der 90sten Perzentile des Kontrollkollektivs.

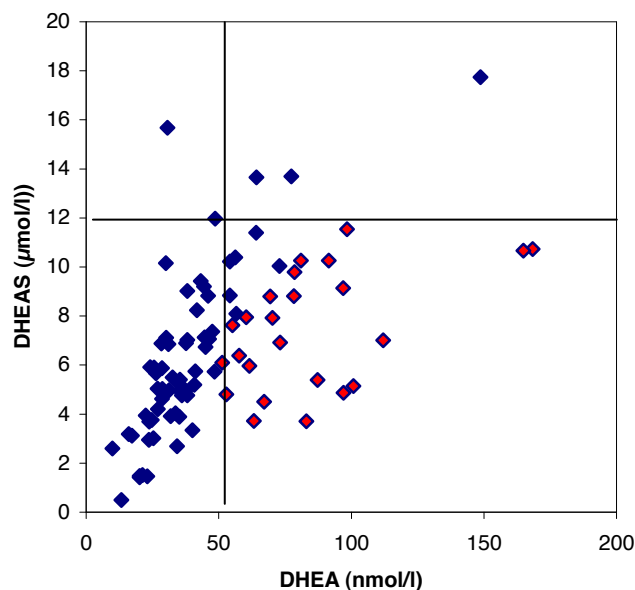


Abbildung 14: Subkohortenanalyse des PCOS-Gesamtkollektivs (n=89). Die neu identifizierte Subkohorte (n=25) stellt sich rot markiert dar, die verbleibende PCOS-Kohorte (n=64) stellt sich blau markiert dar.

4.2.3.1 Dehydroepiandrosteron (DHEA)

Die mittlere DHEA-Serumkonzentration der neu identifizierten PCOS-Subkohorte war signifikant höher als die der verbleibenden PCOS-Kohorte ($P < 0,001$) und die des Kontrollkollektivs ($P < 0,001$). Abbildung 13 und Tabelle 7 zeigen die mittleren DHEA-Serumkonzentrationen des Kontrollkollektivs, des PCOS-Gesamtkollektivs, der neu identifizierten PCOS-Subkohorte und der verbleibenden PCOS-Kohorte in nmol/l.

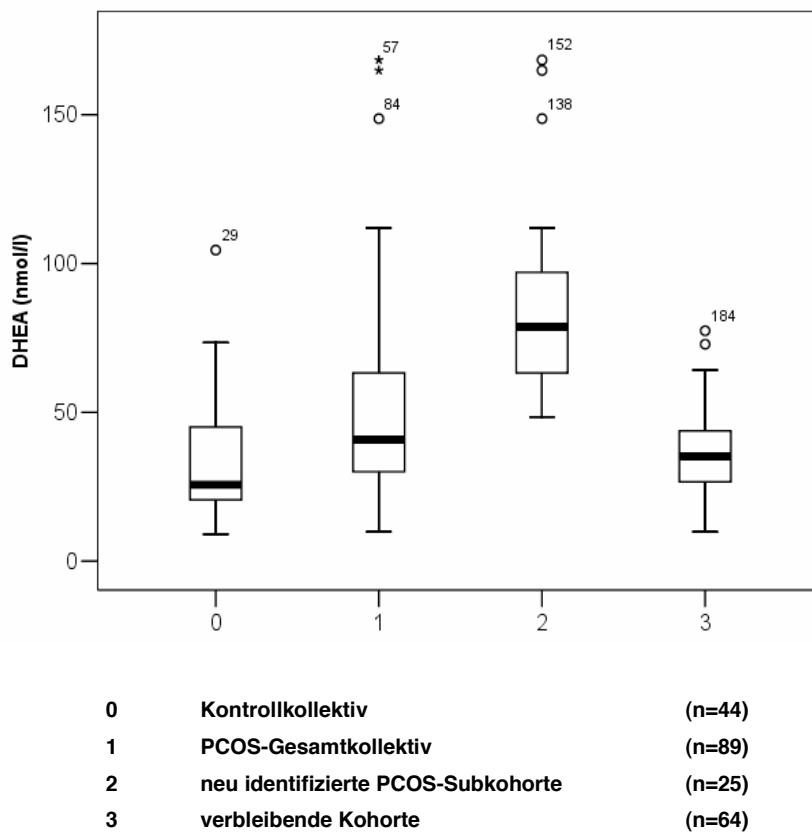


Abbildung 15: Mittlere DHEA-Serumkonzentration des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64) in nmol/l.

Tabelle 7: Subgruppenanalyse der mittleren DHEA-Serumkonzentration in nmol/l. SD entspricht der Standardabweichung.

DHEA (nmol/l)	Kontrollkollektiv (n=44)	PCOS- Gesamtkollektiv (n=89)	PCOS- Subkohorte (n=25)	Verbleibende PCOS- Kohorte (n=64)
Mittelwert	33,2	50,3	86,49	36,19
SD	19,0	30,7	32,75	13,74

4.2.3.2 Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS)

Die mittlere DHEAS-Serumkonzentration der neu identifizierten PCOS-Subkohorte war gegenüber der verbleibenden PCOS-Kohorte und des Kontrollkollektivs erhöht. Diese Erhöhung des Serumspiegels war jedoch nicht signifikant (P=0,010 Subkohorte versus Kontrollkollektiv und P=0,073 Subkohorte versus verbleibende Kohorte). Abbildung 14 und Tabelle 8 zeigen die mittleren DHEAS-Serumkonzentrationen der unterschiedlichen Kohorten in $\mu\text{mol/l}$.

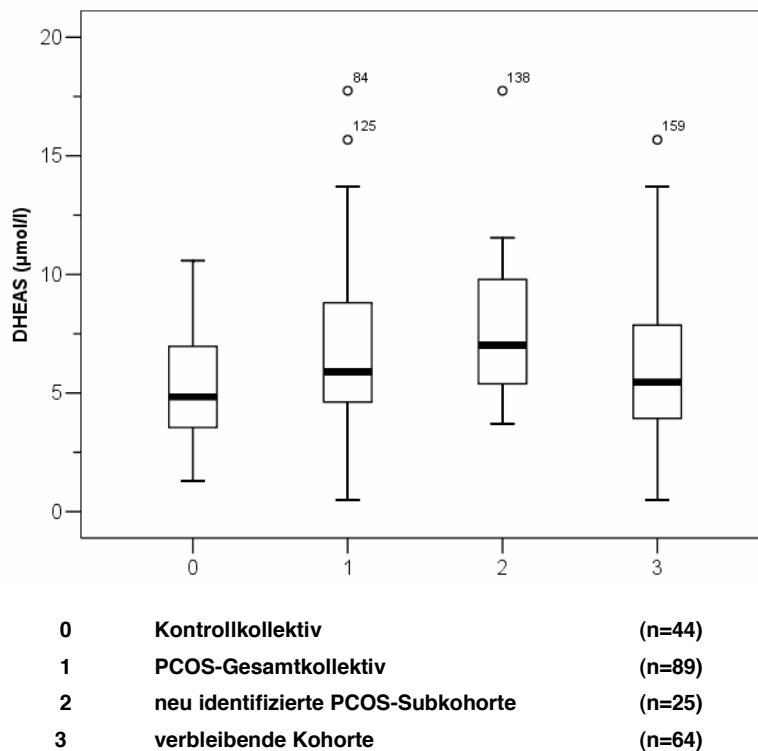


Abbildung 16: Mittlere DHEAS-Serumkonzentration des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64) in $\mu\text{mol/l}$.

Tabelle 8: Subgruppenanalyse der mittleren DHEAS-Serumkonzentration in $\mu\text{mol/l}$. SD entspricht der Standardabweichung.

DHEAS ($\mu\text{mol/l}$)	Kontrollkollektiv (n=44)	PCOS-Gesamtkollektiv (n=89)	PCOS-Subkohorte (n=25)	verbleibende PCOS-Kohorte (n=64)
Mittelwert	5,53	6,6	7,75	6,15
SD	2,58	3,2	3,15	3,18

4.2.3.3 DHEA/DHEAS-Quotient

Der DHEA/DHEAS-Quotient der neu identifizierten PCOS-Subkohorte war gegenüber der verbleibenden Kohorte ($P < 0,001$) und dem Kontrollkollektiv ($P < 0,001$) signifikant erhöht. Abbildung 15 und Tabelle 9 zeigen den mittleren DHEA/DHEAS-Quotienten der unterschiedlichen Kohorten.

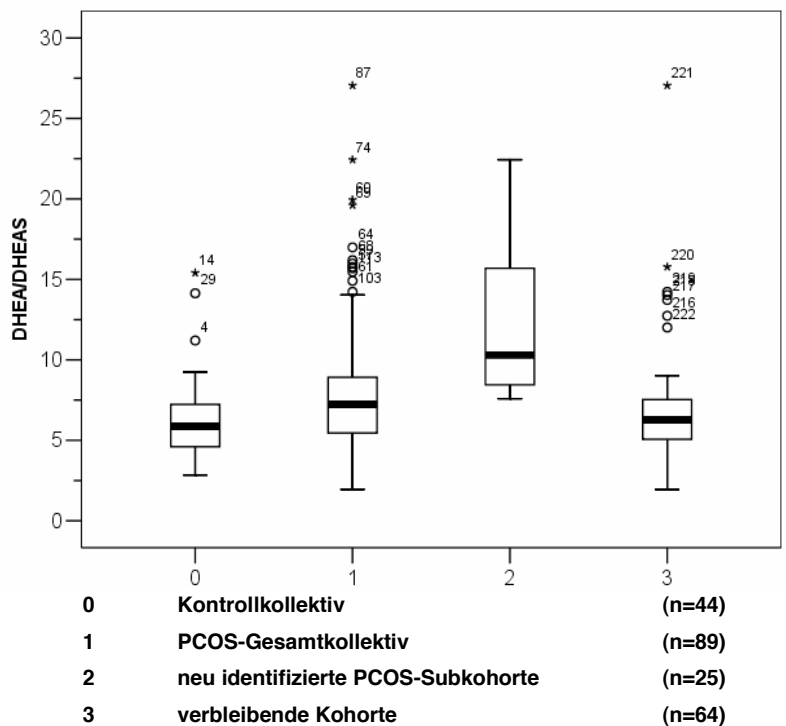


Abbildung 17: Mittlerer DHEA/DHEAS-Quotient des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, n=44), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, n=89), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, n=25) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, n=64).

Tabelle 9: Subgruppenanalyse des mittleren DHEA/DHEAS-Quotienten. SD entspricht der Standardabweichung.

DHEA/DHEAS-Quotient	Kontrollkollektiv (n=44)	PCOS-Gesamtkollektiv (n=89)	PCOS-Subkohorte (n=25)	verbleibende PCOS-Kohorte (n=64)
Mittelwert	6,31	8,42	12,02	7,01
SD	2,55	4,53	4,51	3,71

4.2.3.4 Androstandiol-Glucuronid (ADG)-Konzentration im Serum

Die Serumkonzentration von ADG, einem Marker für die in peripheren Zielzellen erzielte Androgenwirkung, in der neu identifizierten PCOS-Subkohorte war signifikant höher als die des Kontrollkollektivs ($P=0,040$) und nicht signifikant höher als die der verbleibenden PCOS-Kohorte ($P=0,110$). Abbildung 16 und Tabelle 10 zeigen die mittleren ADG-Serumkonzentrationen der unterschiedlichen Kohorten.

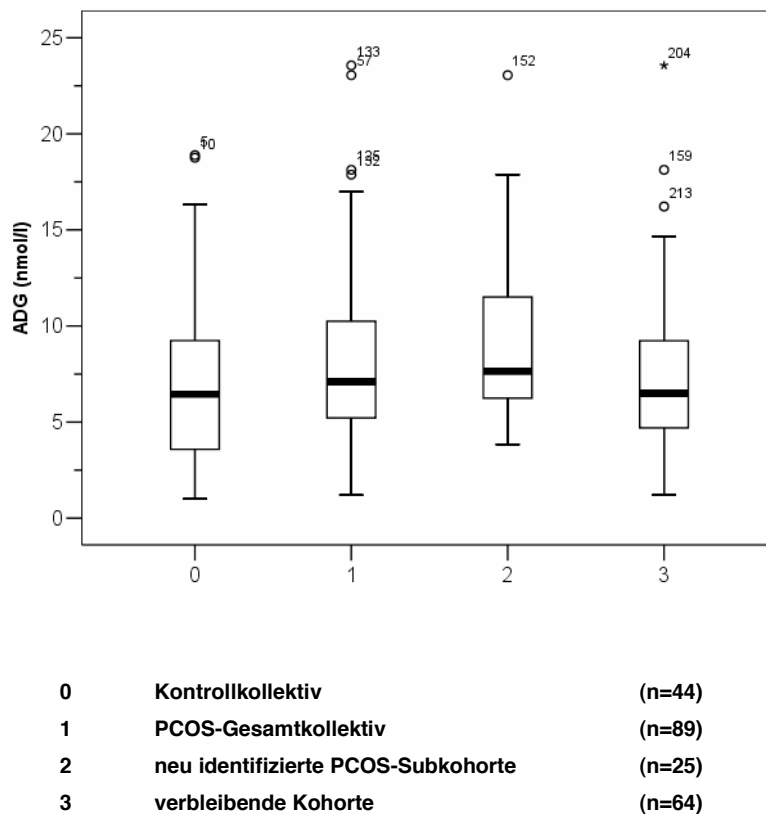


Abbildung 18: Mittlerer ADG-Serumwert des Kontrollkollektivs (Gruppe 0, $n=44$), des PCOS-Gesamtkollektivs (Gruppe 1, $n=89$), der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (Gruppe 2, $n=25$) sowie der verbleibenden PCOS-Kohorte (Gruppe 3, $n=64$) in nmol/l.

Tabelle 10: Subgruppenanalyse der mittleren ADG-Serumkonzentration in nmol/l. SD entspricht der Standardabweichung.

ADG (nmol/l)	Kontrollkollektiv (n=44)	PCOS-Gesamtkollektiv (n=89)	PCOS-Subkohorte (n=25)	verbleibende PCOS-Kohorte (n=64)
Mittelwert	6,88	8,08	9,68	7,45
SD	4,43	4,57	4,91	4,31

4.3 Klinische und biochemische Subkohortenanalyse des PCOS-Gesamtkollektivs

4.3.1 Body Mass Index (BMI)

Der mittlere Body Mass Index (BMI) der neu identifizierten PCOS-Subkohorte unterschied sich nicht signifikant ($P=0,474$) von dem der verbleibenden PCOS-Kohorte, war jedoch gegenüber dem Normalindex ($18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$) deutlich erhöht.

14 Patientinnen der verbleibenden PCOS-Kohorte (21,9 %) waren normalgewichtig ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$), 14 (21,9%) Patientinnen dieser Kohorte waren übergewichtig ($\text{BMI} 25-30 \text{ kg/m}^2$) und 36 (56,3) Patientinnen waren adipös ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$).

In der neu identifizierten PCOS-Subkohorte waren 8 Patientinnen (33,3%) normalgewichtig ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$), 6 Patientinnen (25%) waren übergewichtig ($\text{BMI} 25-30 \text{ kg/m}^2$) und 10 Patientinnen (41,7%) waren adipös ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$) und zu einer Patientin existierten keine BMI-Daten.

Der Taillenumfang der neuen PCOS-Subkohorte lag nicht signifikant ($P=0,253$) unter dem Umfang der verbleibenden PCOS-Kohorte. Tabelle 11 gibt den Body Mass Index und den Taillenumfang der beiden PCOS-Subkohorten wieder.

Tabelle 11: BMI in kg/m² und Taillenumfang in cm der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (n=25) und der verbleibenden PCOS-Kohorte (n=64). SD entspricht der Standardabweichung.

	PCOS-Subkohorte (n=25)	verbleibende PCOS Kohorte (n=64)
Body Mass Index		
Mittelwert in kg/m ² ± SD	29,7 ± 7,6	30,9 ± 6,4
Anteil normgewichtiger Patientinnen (BMI < 25 kg/m ²) in %	33,3 %	21,9 %
Anteil übergewichtiger Patientinnen (BMI 25-30 kg/m ²) in %	25 %	21,9 %
Anteil adipöser Patientinnen (BMI > 30 kg/m ²) in %	41,7 %	56,3 %
Taillenumfang		
Mittelwert in cm ± SD	89,1 ± 13,3	95,8 ± 14,1

4.3.2 Glukosekonzentration im Serum

Bei allen PCOS-Patientinnen wurde ein standardisierter oraler Glukosetoleranztest durchgeführt und die Nüchternglukosewerte sowie die Glukosewerte 2 Stunden nach Zuckeraufnahme zwischen beiden Kohorten der PCOS-Patientinnen verglichen.

Bei beiden Kohorten lagen die mittleren Nüchternglukosewerte und die mittleren Glukosewerte 2 Stunden nach der Zuckeraufnahme im Normbereich (Nüchtern-Plasma-Glukose < 6,1 mmol/l bzw. 2-h-Wert < 7,8 mmol/l) und waren zwischen den beiden PCOS-Kohorten nicht signifikant unterschiedlich (P=0,509 für Nüchternglukose bzw. P=0,897 für 2-h-Glukose).

In der verbleibenden Kohorte fand sich eine Patientin (1,6 %) mit gestörter Nüchternglukosehomöostase (BZ ≥ 6,1 < 7 mmol/l), bei 10 Patientinnen

(15,6%) lag nach 2 Stunden eine pathologische Glukosetoleranz (BZ $\geq 7,8 < 11$ mmol/l) vor und eine Patientin (1,6%) hatte einen manifesten Diabetes mellitus (BZ $\geq 11,1$ mmol/l). Die Glukosekonzentrationen der übrigen Patientinnen der verbleibenden Kohorte waren nicht erhöht.

In der neu identifizierten Kohorte hatten 2 Patientinnen (8%) eine pathologische Glukosetoleranz und 2 Patientinnen (8%) einen manifesten Diabetes mellitus.

Die Glukosekonzentrationen der übrigen Patientinnen der neu identifizierten Kohorte waren nicht erhöht.

Tabelle 12 zeigt die durchschnittlichen Nüchternglukosewerte, den 2-h-Glukosewert sowie die Anzahl der Patientinnen mit erhöhten Glukosekonzentrationen bei beiden PCOS-Subkohorten.

Tabelle 12: Durchschnittliche Nüchternglukosewerte und 2-h-Glukosewerte in mmol/l sowie Anzahl der Patientinnen mit abnormen Glukosekonzentrationen der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (n=25) und der verbleibenden PCOS-Kohorte (n=64) in %. SD entspricht der Standardabweichung.

	Referenzwert	PCOS-Subkohorte (n=25)	verbleibende PCOS-Kohorte (n=64)
Nüchternglukose	3,89-6,1		
Mittelwert in mmol/l \pm SD	mmol/l	4,4 \pm 0,5	4,5 \pm 0,7
Patientinnen mit erhöhter Nüchternglukose in %	$\geq 6,1 < 7$ mmol/l	0 %	1,6 %
2-h-Glukosewert	<7,8 mmol/l		
Mittelwert in mmol/l \pm SD		6,4 \pm 2,4	6,3 \pm 1,9
Patientinnen mit pathologischer Glukosetoleranz in %	$\geq 7,8 < 11$ mmol/l	8 %	15,6 %
Patientinnen mit Diabetes mellitus in %	$\geq 11,1$ mmol/l	8 %	1,6 %

4.3.3 Lipidkonzentration im Serum

Der mittlere Gesamtcholesterinspiegel des Birminghamkollektivs beider Kohorten lag im Referenzbereich und zeigte zwischen den beiden Kohorten keinen signifikanten Unterschied ($P=0,687$).

In der verbleibenden Kohorte war der Cholesteringesamtspiegel bei 9 Patientinnen (37,5%), in der neu identifizierten Kohorte desselben Kollektivs bei 2 Patientinnen (25 %) erhöht ($> 5,15$ mmol/l).

In dem hannoveranerschen Kollektiv wurden die HDL- und LDL-Spiegel zwischen beiden Kohorten verglichen.

Der mittlere HDL-Spiegel lag im Referenzbereich und unterschied sich zwischen den beiden Kohorten nicht signifikant ($P=0,680$).

In der verbleibenden Kohorte lag der HDL-Spiegel bei 10 Patientinnen (25%) unter dem Referenzwert (<40 mg/dl), in der neu identifizierten Kohorte hingegen bei 2 Patientinnen (11,8%).

Der mittlere LDL-Spiegel lag bei beiden Kohorten im Referenzbereich und unterschied sich nicht signifikant ($P=0,597$).

Der LDL-Spiegel lag in der verbleibenden Kohorte bei 4 Patientinnen (10%) über dem Referenzbereich (> 160 mg/dl), in der neu identifizierten Kohorte bei 3 Patientinnen (17,6%).

Auch hinsichtlich der Serumspiegel der Triglyceride konnte kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Kohorten festgestellt werden ($P=0,805$). Die mittleren Werte beider Kohorten lagen hier ebenfalls im Normbereich (0,83- $<1,7$ mmol/l). In der verbleibenden Kohorte waren die Triglyceridspiegel bei 11 Patientinnen (17%) erhöht (Serumtriglyceride $\geq 1,7$ mmol/l), wohingegen in der neu identifizierten Kohorte bei 4 Patientinnen (16 %) erhöhte Triglyceridwerte im Serum vorlagen.

Tabelle 13 zeigt die durchschnittlichen Gesamtcholesterinwerte und Triglyceridwerte in mmol/l sowie die Patientinnen mit erhöhten Lipidwerten beider Kohorten in %.

Tabelle 13: Durchschnittliche Gesamtcholesterinwerte und Triglyceridwerte in mmol/l sowie Patientinnen mit erhöhten Lipidwerten der neu identifizierten PCOS-Subkohorte (n=25) und der verbleibenden PCOS-Kohorte (n=64) in %. SD entspricht der Standardabweichung.

	Referenzwert	PCOS-Subkohorte	verbleibende PCOS- Kohorte
Gesamtcholesterin Mittelwert in mmol/l \pm SD Patientinnen mit erhöhten Gesamtcholesterin in %	<5,16 mmol/l \geq 5,16 mmol/l	4,7 \pm 1,2 25 %	4,9 \pm 1,0 37,5 %
HDL-Spiegel Mittelwert in mg/dl \pm SD Pat. mit erniedrigten HDL-Spiegeln in %	>40 mg/dl <40 mg/dl	54 \pm 14,1 11,8 %	51 \pm 14,6 25 %
LDL-Spiegel Mittelwert in mg/dl \pm SD Pat. mit erhöhten LDL-Spiegeln in %	<160 mg/dl >160 mg/dl	123 \pm 44,2 17,6 %	117 \pm 32,9 10 %
Triglyceride Mittelwert in mmol/l \pm SD Patientinnen mit erhöhten Triglycerid-spiegeln in %	0,83 -<1,7mmol/l \geq 1,7 mmol/l	1,1 \pm 0,8 16 %	1,3 \pm 0,8 17 %

5 Diskussion

Mit der Interkonversionsstudie von Hammer et al. konnte kürzlich nachgewiesen werden, dass eine freie und kontinuierliche Interkonversion von DHEA und DHEAS in der Zirkulation des Menschen nicht stattfindet. DHEAS kann somit nicht als Speicherpool für die Regeneration von aktivem DHEA dienen, wie man zuvor noch angenommen hatte. Bisher spielte in der Literatur bezüglich der Regulierung des Verhältnisses zwischen zirkulierendem DHEA und DHEAS das vor allem in der Leber exprimierte Enzym Steroidsulfatase, welches für die Hydrolyse von DHEAS zu DHEA verantwortlich ist, die zentrale Rolle.

DHEAS kann jedoch ausschließlich über den Zwischenschritt der Abspaltung seines Sulfatesters und somit über Konversion zu DHEA im Weiteren zu Androgenen verstoffwechselt werden. Lediglich das Enzym DHEA kann direkt in potente Androgene metabolisiert werden. Den entscheidenden geschwindigkeitsbestimmenden Schritt, der die Bioverfügbarkeit der biologisch aktiven Form DHEA reguliert, bildet somit das Enzym DHEA Sulfotransferase (SULT2A1), das die Konversion von DHEA zu DHEAS katalysiert (19). Eine verminderte Aktivität der SULT2A1 führt zu einer gesteigerten DHEA-Serumkonzentration und somit zu vermehrter Konversion zu Sexualsteroiden, wohingegen eine gesteigerte Aktivität der SULT2A1 zu einer verminderten DHEA-Serumkonzentration und somit zu einer verringerten Konversion zu Sexualsteroiden führt. Es ist wichtig, diesen Schritt besser zu verstehen, da hier möglicherweise die Lösung für die Beobachtung, dass die DHEA-Spiegel in bestimmten Situationen signifikant erhöht sind, liegt.

Aufgrund dieser neuen Erkenntnis erscheint auch lediglich eine Bestimmung der DHEAS-Serumkonzentration nicht geeignet, den zirkulierenden DHEA-Pool des Menschen exakt wiederzuspiegeln. Dies gilt in erster Linie auch für eine pathologische Situation, wie sie unter anderem bei dem Syndrom der polyzystischen Ovarien vorliegt, welches gemäß der Leitlinie der Androgen Excess Society von 2006 in erster Linie durch eine Hyperandrogenämie adrenalen und/oder ovariellen Ursprungs charakterisiert ist (144).

Die Mehrzahl der veröffentlichten Studien, die sich mit der DHEA/S-Sekretion in pathologischen Situationen, wie unter anderem bei dem Syndrom der polyzystischen Ovarien, beschäftigen, hat sich jedoch bislang hauptsächlich auf die Messung der DHEAS-Serumwerte beschränkt und somit größtenteils die Bestimmung der DHEA-Serumkonzentration außer Acht gelassen (19).

In einer Studie von Arlt et al. wurden kürzlich sowohl die DHEA- als auch DHEAS-Serumkonzentrationen bei 181 intensivmedizinischen Patienten mit septischem Schock näher untersucht. Entgegen der früheren Schlussfolgerung, septische Patienten hätten aufgrund der untersuchten niedrigen DHEAS-Serumkonzentrationen einen DHEA-Mangel, konnte mit dieser Studie gezeigt werden, dass die basalen DHEAS-Serumspiegel der septischen Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden zwar signifikant erniedrigt waren, jedoch die basalen Cortisol- und DHEA-Serumspiegel und folglich die DHEA/DHEAS-Ratio der septischen Patienten dennoch signifikant gesteigert waren. Die septischen Patienten hatten folglich keinen DHEA-Mangel (143).

Aufbauend auf diesen beiden Studien von Hammer et al. und Arlt et al. wurden mit der vorliegenden Studie die DHEA- und DHEAS-Serumkonzentrationen sowie das Verhältnis von biologisch aktivem DHEA zur inaktiven Form DHEAS bei Patientinnen mit PCO-Syndrom und einem bezüglich des Alters korrespondierenden Kontrollkollektiv genauer untersucht.

Dabei zeigte sich, dass bei den Patientinnen mit PCO-Syndrom die durchschnittliche basale DHEAS-Serumkonzentration im mittleren Normbereich 16 bis 79-jähriger, gesunder Frauen liegt. Der durchschnittliche DHEAS-Spiegel der PCOS-Patientinnen ist gegenüber dem untersuchten Kontrollkollektiv erhöht, diese Erhöhung ist jedoch nicht signifikant.

Im Gegensatz zu der DHEAS-Serumkonzentration ist die durchschnittliche basale DHEA-Serumkonzentration der PCOS-Patientinnen gegenüber dem Normbereich gesunder 16 bis 79-jähriger Frauen signifikant erhöht. Daraus ergibt sich der deutlich gesteigerte DHEA/DHEAS-Quotient bei PCOS-Patientinnen im Vergleich zu gesunden Frauen.

Die ADG-Serumkonzentration als Marker der biologischen Aktivität von DHEA in der peripheren Zielzelle ist bei PCOS-Patientinnen gegenüber gesunden Frauen nicht signifikant erhöht.

Hinsichtlich der Serumkonzentrationen der mit dieser Studie genauer untersuchten adrenalen Steroide DHEA und DHEAS liegen bei PCOS-Patientinnen bisher die meisten Untersuchungen zur sulfatierten Form DHEAS vor. Die Mehrheit der Autoren beobachtet bei den PCOS-Patientinnen, im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, eine signifikante Erhöhung der mittleren DHEAS-Serumwerte im Vergleich zu den DHEAS-Serumwerten gesunder Frauen, was unter anderem mit der Auswahl der PCOS-Patientinnen und der Heterogenität des Hintergrundes der PCOS-Patientinnen zusammenhängt (94,10,108,111,98,5,109,112,113,114,115). So sind die PCOS Patientinnen unserer Studie im Vergleich zu den Probandinnen des Vergleichskollektivs nicht gewichtsgematched.

Die Prävalenz der erhöhten DHEAS-Serumkonzentrationen bei Patientinnen mit PCO-Syndrom liegt bei etwa 40-70% und ist in verschiedenen ethnischen Gruppen ähnlich (6, 10,7,11,12,108, 8,116,117,118).

Einige andere Autoren, wie u.a. Fassnacht et al. und Turner et al., finden, in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen, bei Patientinnen mit PCO-Syndrom im Vergleich zu gesunden Frauen zwar einen Anstieg der DHEAS-Mittelwerte, der Unterschied der DHEAS-Serumkonzentration zwischen den Patientinnen und dem Vergleichskollektiv ist jedoch nicht signifikant (110,95,119,93,120).

Im Gegensatz zu der Serumkonzentration von DHEAS liegen zu der DHEA-Serumkonzentration beim PCO-Syndrom, wie bereits oben aufgeführt, in der Literatur bisher nur wenige Daten vor. Die meisten Untersucher wie u.a. Fassnacht et al. und Turner et al. finden, in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen, bei Vorliegen eines PCO-Syndroms deutlich erhöhte DHEA-Basalwerte im Serum der Patientinnen (103, 94,10,110,95,102).

Einige Autoren wie u.a. Lachelin et al. beobachteten bei Patientinnen mit PCO-Syndrom zwar erhöhte DHEA-Werte im Vergleich zu Gesunden, diese waren jedoch nicht signifikant gesteigert (99,121,114). Andere Untersucher erhalten

für die DHEA-Serumspiegel der PCO-Patientinnen ähnliche Ergebnisse wie für die von gesunden Frauen (97, 98).

Interessanterweise konnte bei der Analyse der Korrelation des DHEA/DHEAS-Quotienten des PCOS-Gesamtkollektivs eine neue, durch Referenzbereiche festgelegte Subkohorte an PCOS-Patientinnen identifiziert werden, die mit 28 Prozent knapp ein Drittel des PCOS-Gesamtkollektivs darstellt. Bei diesen Patientinnen liegt die DHEAS-Serumkonzentration wie bei dem untersuchten PCOS-Gesamtkollektiv im Normbereich gesunder 16 bis 79-jähriger Frauen, die DHEA-Serumspiegel sind mit einem Wert oberhalb der 90sten Perzentile des untersuchten Kontrollkollektivs jedoch exzessiv erhöht. Somit liegt auch der DHEA/DHEAS-Quotient dieser Subkohorte über der 90sten Perzentile des Kontrollkollektivs. Die mittlere ADG-Serumkonzentration der Subkohorte liegt signifikant über derjenigen der verbleibenden Kohorte.

Klinisch (untersucht wurden Body Mass Index, Taillenumfang, Nüchtern glukose, 2h-Glukosewerte bei oralem Glucosetoleranztest und Serumlipide) unterscheiden sich die Patientinnen der neu identifizierten Subkohorte nicht signifikant von denen der verbleibenden Kohorte.

Weder bei der Analyse des durchschnittlichen Body Mass Indexes noch bei dem Nüchtern glukosewerten und 2-h-Glukosewerten, noch bei den Cholesterin- und Triglyzeridspiegeln konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Kohorten festgestellt werden.

Auffallend war zum einen der nicht signifikant geringere Taillenumfang der Patientinnen der neu identifizierten PCOS-Subkohorte im Vergleich zu dem der verbleibenden PCOS-Kohorte. Dies könnte unter anderem auf den in diesem Kollektiv signifikant erhöhten DHEA-Pool zurückzuführen sein, wodurch es zu einer verstärkten Metabolisierung von DHEA zu Androgenen kommt. In der neuen PCOS-Subkohorte konnten im Vergleich zur verbleibenden Kohorte nicht signifikant erhöhte ADG-Konzentrationen nachgewiesen werden. Durch die erhöhten Androgenspiegel könnte es bei diesen Frauen zur Verschiebung des Verhältnisses zwischen Fett- und Muskelmasse zugunsten von Muskelmasse und somit zu einer Reduktion des Taillenumfanges kommen.

Zum anderen war der prozentuale Anteil der Patientinnen mit pathologischer Glucosetoleranz in der neu identifizierten PCOS-Subkohorte nicht signifikant geringer als in der verbleibenden PCOS-Kohorte, was unter anderem auf den geringeren Taillenumfang und somit auf das günstigere Verhältnis zwischen Fett- und Muskelmasse der neu identifizierten PCOS-Subkohorte zurückzuführen ist.

Für die bei diesem Subkollektiv der PCOS-Patientinnen beobachteten exzessiv gesteigerten DHEA-Serumspiegel kommt eine Hyperandrogenämie sowohl adrenalen als auch ovariellen Ursprungs in Frage.

Zum Ausschluss einer Hyperandrogenämie adrenalen Ursprungs wird in der klinischen Routine bisher jedoch lediglich die DHEAS-Serumkonzentration der Patientinnen bestimmt. Liegt die DHEAS-Serumkonzentration im Normbereich, spricht dies gegen die Nebenniere als Ursprung der Hyperandrogenämie. Da die DHEAS-Serumkonzentration in dieser Subkohorte im Normbereich liegt, würde man die in dieser Kohorte beobachtete Konstellation, erhöhte DHEA-Serumkonzentration bei normaler DHEAS-Serumkonzentration bisher als klassische Hyperandrogenämie ovariellen Ursprungs bezeichnen.

Neben der exzessiv gesteigerten DHEA-Serumkonzentration sprechen auch die deutlich erhöhten Spiegel der C19-Steroide bei diesen Patientinnen für das Ovar als Ursprung der Erkrankung. Andererseits fällt der Sekretionsanteil der Ovarien am im Kreislauf zirkulierenden DHEA-Pool mit <10% gering aus.

Gegen die Ovarien als Quelle der bei dem Syndrom der polyzystischen Ovarien beobachteten Hyperandrogenämie spricht auch eine Studie von Fassnacht et al. (110). In dieser Studie führte die Verabreichung von Dexamethason, einem synthetischen Glukokortikoid mit hemmendem Einfluss auf die Funktion der Nebennierenrinde, bei PCOS-Patientinnen und gesunden Frauen zu einem deutlichen Abfall der DHEA- und DHEAS-Serumkonzentration. Bei Vorliegen einer Hyperandrogenämie ovariellen Ursprungs würden sich die DHEA- und DHEAS-Spiegel nicht supprimieren lassen.

Bei den Patientinnen der in dieser Studie neu identifizierten Subkohorte scheint also eine Krankheitsursache, deren Ursprung nicht im Ovar zu suchen ist, vorzuliegen.

Einen Erklärungsansatz für die bei diesen Patientinnen beobachtete Serumkonstellation könnte ein Polymorphismus des CYP3A7-Genes liefern (139). CYP3A7 gehört zu der Familie der Cytochrom-P450-Enzyme und wird in der menschlichen Leber exprimiert. Es katalysiert die 16 α -Hydroxylierung von Östron und DHEA. Kurz nach der Geburt kommt die Expression von CYP3A7 in der Regel zum Stillstand. Bei einigen Individuen wird die Expression von CYP3A7 aufgrund einer Mutation im Promoterbereich jedoch bis in das Erwachsenenalter hinein fortgesetzt. Dieser Genotyp wird als CYP3A7*1C bezeichnet. Smit et al. haben die Auswirkungen des CYP3A7*1C-Polymorphismus auf die DHEAS-Serumkonzentration bei gesunden Personen älteren Alters untersucht (139). Dabei zeigte sich, dass heterozygote Träger des CYP3A7*1C-Polymorphismus im Vergleich zum Kontrollkollektiv um annähernd 50% erniedrigte DHEAS-Level aufweisen (139). Ein heterozygoten Trägertum des CYP3A7*1C-Polymorphismus könnte folglich die im Normbereich liegenden DHEAS-Serumspiegel bei stark erhöhten DHEA-Werten der PCOS-Subkohorte erklären.

Am wahrscheinlichsten kommt jedoch als Ursache für den Symptomenkomplex dieser Patientinnen eine Verminderung des Aktivitätsgrades der Hydroxysteroid-Sulfotransferase (SULT2A1), welche unter anderem in der Nebenniere und in der Leber exprimiert wird, in Frage. Die SULT2A1 katalysiert in erster Linie den entscheidenden Schritt der Konversion von DHEA zu DHEAS und somit die Bioverfügbarkeit von DHEA (140, 141).

Eine Mutation des SULT2A1 codierenden Genes würde entweder zu einer eingeschränkten Aktivität oder zu einer verminderten Serumkonzentration der Hydroxysteroid-Sulfotransferase führen (142).

Dies wiederum bewirkt eine reduzierte Konversion von DHEA zu DHEAS und erklärt somit die bei diesen Patientinnen beobachtete Konstellation aus exzessiv erhöhten DHEA- und normwertigen bis niedrigen DHEAS-Serumkonzentrationen.

Die durch eine eingeschränkte Aktivität der SULT2A1 bewirkte exzessive Erhöhung der DHEA-Serumspiegel führt ihrerseits zu einer vermehrten Downstream-Konversion zu Sexualsteroiden.

Dementsprechend ist die Serumkonzentration von Androstandiol-Glucuronid (ADG), dem Marker für die Bildung von Androgenen in peripheren Zielgeweben durch Downstream-Konversion aus DHEA, bei den Patientinnen der neu identifizierten PCOS-Subkohorte gegenüber der verbleibenden PCOS-Kohorte und dem Kontrollkollektiv deutlich erhöht.

Die signifikante Erhöhung der ADG-Serumkonzentration bei diesem PCOS-Kollektiv lässt sich folglich am ehesten auf eine vermehrte Downstream-Konversion aus dem exzessiv gesteigerten DHEA-Pool zurückführen.

Die Mehrzahl der veröffentlichten Studien, die sich mit der DHEA/S-Sekretion in physiologischen und pathologischen Situationen beschäftigen, haben, wie bereits oben aufgeführt, bisher lediglich die DHEAS-Serumkonzentration untersucht und somit die Bestimmung der DHEA-Serumspiegel außer Acht gelassen (19). Wir haben mit der vorliegenden Studie sowohl die DHEA- als auch die DHEAS-Serumkonzentrationen bei Patientinnen mit PCO-Syndrom genauer analysiert und dabei festgestellt, dass die DHEA- und DHEAS-Serumspiegel der PCOS-Patientinnen deutlich voneinander abweichen. Es könnte daher nützlich sein, bei Untersuchungen zum PCO-Syndrom zukünftig die Serumkonzentration beider Steroide zu messen sowie die DHEA/DHEAS-Ratio der Patientinnen zu bestimmen, um genauere Aussagen über Ursprung der charakteristischen Hyperandrogenämie und Ursache des Symptomenkomplexes treffen zu können (19).

Gemäß der aktuellen Definition der Androgen Excess Society von 2006 wird zum Hauptcharakteristikum des Syndroms der polyzystischen Ovarien der Androgenexcess (144).

Bisher wurden in der Literatur für das Enzym DHEAS vorwiegend die Nebennieren als Herkunftsort betrachtet, wohingegen die Ovarien als Quelle der Androstendionsynthese angesehen wurden.

Jedoch kann Androstendion auch in den Nebennieren über DHEA, wie oben bereits ausführlich ausgeführt, synthetisiert werden. Androstendion wird in den Nebennieren vermehrt gebildet bei einem mechanistischem Defekt der adrenalen Sulfotransferase.

Daher sollte zukünftig bei Untersuchungen zum Syndrom der Polyzystischen Ovarien die bisher gebräuchliche Differenzierung in einen adrenalen und/oder ovariellen Defekt unterlassen werden.

Wie schon der Name der Krankheitsentität PCO-Syndrom nahe legt, hat man bis heute medizinisch noch nicht exakt verstanden was als Ursache der Erkrankung anzunehmen ist, ob eventuell sogar mehrere unterschiedliche Ursachen für den im klinischen Erscheinungsbild sehr ähnlichen Symptomenkomplex der polyzystischen Ovarien in Frage kommen. Aufgrund der Ergebnisse unserer Studie ist davon auszugehen, dass innerhalb des Gesamtkollektivs der Patientinnen mit dem Syndrom der polyzystischen Ovarien bestimmte Patientinnen selektiert werden können, die zwar klinisch ein ähnliches Erscheinungsbild zeigen, welches, wie oben bereits ausführlich aufgeführt, u.a. durch Sterilität, Hirsutismus, Oligomenorrhoe und Adipositas charakterisiert ist, denen jedoch eine im Vergleich zum Gesamtkollektiv unterschiedliche Ursache Ihres Syndroms gemeinsam ist.

Die mit dieser Arbeit neu identifizierte Subkohorte, die 28% des PCO-Syndrom-Gesamtkollektivs darstellt und bei der die DHEA- und DHEAS-Serumspiegel aufgrund der exzessiv gesteigerten DHEA-Serumkonzentration über der 90. Perzentile des Kontrollkollektivs signifikant voneinander abweichen scheint als gemeinsame Ursache Ihres Syndroms eine Einschränkung der Aktivität der Sulfotransferase SULT2A1 zu teilen. Wodurch die Aktivität der SULT2A1 bei diesen Patientinnen beeinträchtigt ist, müssen zukünftige Studien zeigen. Möglicherweise kommt bei diesem Kollektiv an Patientinnen eine Mutation des Genes, welches die SULT2A1 codiert, als Ursache des PCO-Syndromes in Betracht. Dies wäre ein wichtiger Durchbruch im Verständnis der Pathophysiologie dieses Symptomenkomplexes und ein interessanter Ansatzpunkt für zukünftige Therapiestrategien.

Somit ist es uns mit der vorliegenden Studie gelungen, einen neuer Beitrag zum Verständnis der Pathophysiologie des Syndromes der polyzystischen Ovarien zu leisten.

6 Zusammenfassung

Eine der häufigsten endokrinen Erkrankungen geschlechtsreifer Frauen ist das Syndrom der polyzystischen Ovarien, welches in erster Linie durch eine Hyperandrogenämie adrenalen und/oder ovariellen Ursprungs gekennzeichnet ist. Als universelles Ausgangsprodukt für die menschliche Androgensynthese dient Dehydroepiandrosteron. DHEA kann durch das Enzym Hydroxysteroid-Sulfotransferase (SULT2A1) zu DHEAS konjugiert werden, jedoch kann ausschließlich DHEA zu Androgenen metabolisiert werden. Somit spielt das Enzym SULT2A1 die entscheidende Rolle in der Regulation des Verhältnisses zwischen biologisch aktivem DHEA und inaktivem DHEAS.

Mit dieser Arbeit sollte die Frage, inwiefern sich die Serumkonzentrationen von aktivem DHEA, inaktivem DHEAS und dem Marker für die in der Zielzelle erzielte androgene Wirkung Androstadiol-Glucuronid (ADG) bei gesunden Frauen und Patientinnen mit PCO-Syndrom unterscheiden, beantwortet werden.

Hierzu haben wir bei Patientinnen mit PCO-Syndrom (n=89, Altersverteilung 18-44 Jahre) und einem korrespondierenden gesunden Kontrollkollektiv (n=44, Altersverteilung 19-45 Jahre) die Serumkonzentrationen der adrenalen Steroide DHEA und DHEAS sowie von ADG bestimmt.

Die mittleren Serumkonzentrationen von DHEAS und ADG unterschieden sich zwischen den Patientinnen mit PCO-Syndrom und dem Kontrollkollektiv nicht signifikant, wohingegen die mittlere Serumkonzentration der aktiven Form DHEA und somit der DHEA/DHEAS-Quotient bei PCOS-Patientinnen gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant erhöht war.

Weiterhin konnte eine Subkohorte von PCOS-Patientinnen identifiziert werden, die 28% des Gesamtkollektives der PCOS-Patientinnen ausmacht. Die Patientinnen dieser Kohorte sind durch eine im Normbereich liegende DHEAS-Serumkonzentration und eine DHEA-Serumkonzentration und somit einen DHEA/DHEAS-Quotienten oberhalb der 90sten Perzentile des Kontrollkollektivs definiert. Die ADG-Serumkonzentration dieser Kohorte war gegenüber dem Kontrollkollektiv ebenfalls signifikant erhöht.

Klinisch (untersucht wurden Body Mass Index, Blutzucker, Serumlipide) unterschieden sich die Patientinnen der neu identifizierten Kohorte nicht signifikant von den übrigen PCOS-Patientinnen.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Patientinnen der neu identifizierten Kohorte als gemeinsame Krankheitsursache Ihres Syndromes einen Defekt im DHEA/DHEAS-Interkonversionssystem teilen. Ursächlich für den bei diesen Patientinnen beobachteten Symptomenkomplex liegt am ehesten eine verminderte Aktivität der in den Nebennieren und in der Leber exprimierten Hydroxysteroid-Sulfotransferase (SULT2A1) vor, was zu einer vermehrten Konversion von DHEA in Richtung aktive Androgene führen würde.

7 Literaturverzeichnis

1. Dunaif A. Adrenal disorders and polycystic ovary syndrome. *Horm Res* 1992; 37 Suppl 3:39-44.
2. Dunaif A, Thomas A. Current concepts in the polycystic ovary syndrome. *Annu Rev Med* 2001; 52:401-19.
3. Franks S, Gilling-Smith C, Gharani N, McCarthy M. Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: evidence for a genetically determined disorder of ovarian androgen production. *Hum Fertil (Camb)* 2000; 3:77-79.
4. Teran Davila J, Teppa-Garran AD. [Polycystic ovary syndrome of extra-ovarian origin. Review]. *Invest Clin* 2001; 42:51-78.
5. Bayoumy HA, Alothman, A. N.,. Adrenal contribution to the polycystic ovary syndrome. *Med Principles Pract* 2001; 2001:151-155.
6. Azziz R, Black V, Hines GA, Fox LM, Boots LR. Adrenal androgen excess in the polycystic ovary syndrome: sensitivity and responsivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2317-23.
7. Moran C, Reyna R, Boots LS, Azziz R. Adrenocortical hyperresponsiveness to corticotropin in polycystic ovary syndrome patients with adrenal androgen excess. *Fertil Steril* 2004; 81:126-31.
8. Azziz R. Adrenal androgen excess in the pco-syndrome. *The Endocrinologist* 2000; 10:245-254.

-
9. 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; 89:2745-9.
 10. Ditkoff EC, Fruzzetti F, Chang L, Stanczyk FZ, Lobo RA. The impact of estrogen on adrenal androgen sensitivity and secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:603-7.
 11. Gonzalez F, Hatala DA, Speroff L. Adrenal and ovarian steroid hormone responses to gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:535-45.
 12. Hoffman DI, Klove K, Lobo RA. The prevalence and significance of elevated dehydroepiandrosterone sulfate levels in anovulatory women. *Fertil Steril* 1984; 42:76-81.
 13. Allolio B, Arlt W. DHEA treatment: myth or reality? *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13:288-94.
 14. Nafziger AN, Bowlin SJ, Jenkins PL, Pearson TA. Longitudinal changes in dehydroepiandrosterone concentrations in men and women. *J Lab Clin Med* 1998; 131:316-23.
 15. Labrie F, Belanger A, Cusan L, Candas B. Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens and estrogens but of their metabolites: intracrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2403-9.
 16. Baulieu EE. Dehydroepiandrosterone (DHEA): a fountain of youth? *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3147-51.
 17. Longcope C. Dehydroepiandrosterone metabolism. *J Endocrinol* 1996; 150 Suppl:S125-7.

-
18. Arlt W, Allolio B. Dehydroepiandrosterone replacement therapy. *Current Opinion in Endocrinology and Diabetes* 2001; 8:130-139.
 19. Hammer F, Subtil S, Lux P, et al. No evidence for hepatic conversion of dehydroepiandrosterone (DHEA) sulfate to DHEA: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:3600-5.
 20. Endoh A, Kristiansen SB, Casson PR, Buster JE, Hornsby PJ. The zona reticularis is the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex resulting from its low expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3558-65.
 21. Rosenfeld RS, Rosenberg BJ, Fukushima DK, Hellman L. 24-Hour secretory pattern of dehydroisoandrosterone and dehydroisoandrosterone sulfate. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 40:850-5.
 22. Miller WL. Early steps in androgen biosynthesis: from cholesterol to DHEA. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1998; 12:67-81.
 23. Arlt W, Justl HG, Callies F, et al. Oral dehydroepiandrosterone for adrenal androgen replacement: pharmacokinetics and peripheral conversion to androgens and estrogens in young healthy females after dexamethasone suppression. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1928-34.
 24. Bird CE, Masters V, Clark AF. Dehydroepiandrosterone sulfate: kinetics of metabolism in normal young men and women. *Clin Invest Med* 1984; 7:119-22.

-
25. Carlström K, Brody S, Lunell N-O, Lagrelius A, Möllerström G. Dehydroepiandrosterone sulphate and dehydroepiandrosterone in serum: differences related to age and sex. *Maturitas* 1988; 10 (1988) 297-306.
 26. Zumoff B, Rosenfeld RS, Strain GW, Levin J, Fukushima DK. Sex differences in the twenty-four-hour mean plasma concentrations of dehydroisoandrosterone (DHA) and dehydroisoandrosterone sulfate (DHAS) and the DHA to DHAS ratio in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:330-3.
 27. Bird CE, Murphy J, Boroomand K, Finnis W, Dressel D, Clark AF. Dehydroepiandrosterone: kinetics of metabolism in normal men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47:818-22.
 28. Orentreich N, Brind JL, Vogelman JH, Andres R, Baldwin H. Long-term longitudinal measurements of plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:1002-4.
 29. Labrie F. Intracrinology. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 78:C113-8.
 30. Thomas G, Frenoy N, Legrain S, Sebag-Lanoë R, Baulieu EE, Debuire B. Serum dehydroepiandrosterone sulfate levels as an individual marker. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1273-6.
 31. Sulcova J, Hill M, Hampl R, Starka L. Age and sex related differences in serum levels of unconjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects. *J Endocrinol* 1997; 154:57-62.
 32. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelman JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59:551-5.

-
33. Gell JS, Carr BR, Sasano H, et al. Adrenarche results from development of a 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase-deficient adrenal reticularis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3695-701.
 34. Parker CR, Jr., Mixon RL, Brissie RM, Grizzle WE. Aging alters zonation in the adrenal cortex of men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:3898-901.
 35. Young J, Couzinet B, Nahoul K, et al. Panhypopituitarism as a model to study the metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2578-85.
 36. Yamaji T, Ibayashi H. Plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal and pathological conditions. *J Clin Endocrinol Metab* 1969; 29:273-8.
 37. Rosenfeld RS, Hellman L, Roffwarg H, Weitzman ED, Fukushima DK, Gallagher TF. Dehydroisoandrosterone is secreted episodically and synchronously with cortisol by normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:87-92.
 38. Alesci S, Koch CA, Bornstein SR, Pacak K. Adrenal androgens regulation and adrenopause. *Endocr Regul* 2001; 35:95-100.
 39. Yamaji T, Ishibashi M, Takaku F, Itabashi A, Katayama S, Ishii J. Serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations in secondary adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:448-51.
 40. Nieschlag E, Loriaux DL, Ruder HJ, Zucker IR, Kirschner MA, Lipsett MB. The secretion of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulphate in man. *J Endocrinol* 1973; 57:123-34.

-
41. Vaitukaitis JL, Dale SL, Melby JC. Role of ACTH in the secretion of free dehydroepiandrosterone and its sulfate ester in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1969; 29:1443-7.
 42. Vermeulen A, Suy E, Rubens R. Effect of prolactin on plasma DHEA (s) levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44:1222-5.
 43. Parker L, Gral T, Perrigo V, Skowksy R. Decreased adrenal androgen sensitivity to ACTH during aging. *Metabolism* 1981; 30:601-4.
 44. Vermeulen A, Deslypere JP, Schelfhout W, Verdonck L, Rubens R. Adrenocortical function in old age: response to acute adrenocorticotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:187-91.
 45. Albertson BD, Hobson WC, Burnett BS, et al. Dissociation of cortisol and adrenal androgen secretion in the hypophysectomized, adrenocorticotropin-replaced chimpanzee. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59:13-8.
 46. Haning RV, Jr., Hackett RJ, Boothroid RI, Canick JA. Steroid sulphatase activity in the human ovarian corpus luteum, stroma, and follicle: comparison to activity in other tissues and the placenta. *J Steroid Biochem* 1990; 36:175-9.
 47. Parker LN, Lifrak ET, Odell WD. A 60,000 molecular weight human pituitary glycopeptide stimulates adrenal androgen secretion. *Endocrinology* 1983; 113:2092-6.
 48. Mesiano S, Jaffe RB. Interaction of insulin-like growth factor-II and estradiol directs steroidogenesis in the human fetal adrenal toward dehydroepiandrosterone sulfate production. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:754-8.

-
49. Nestler JE, Usiskin KS, Barlascini CO, Welty DF, Clore JN, Blackard WG. Suppression of serum dehydroepiandrosterone sulfate levels by insulin: an evaluation of possible mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69:1040-6.
 50. Zumoff BV, Bradlow HL. Sex difference in the metabolism of dehydroisoandrosterone sulfate. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:334-6.
 51. Labrie F, Simard J, Luu-The V, et al. Structure and tissue-specific expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/5-ene-4-ene isomerase genes in human and rat classical and peripheral steroidogenic tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 41:421-35.
 52. Labrie F, Belanger A, Luu-The V, et al. DHEA and the intracrine formation of androgens and estrogens in peripheral target tissues: its role during aging. *Steroids* 1998; 63:322-8.
 53. Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Simard J. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. *Front Neuroendocrinol* 2001; 22:185-212.
 54. Bergeron R, de Montigny C, Debonnel G. Potentiation of neuronal NMDA response induced by dehydroepiandrosterone and its suppression by progesterone: effects mediated via sigma receptors. *J Neurosci* 1996; 16:1193-202.
 55. Corpechot C, Robel P, Axelson M, Sjoval J, Baulieu EE. Characterization and measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78:4704-7.

-
56. Compagnone NA, Bulfone A, Rubenstein JL, Mellon SH. Steroidogenic enzyme P450c17 is expressed in the embryonic central nervous system. *Endocrinology* 1995; 136:5212-23.
 57. Zwain IH, Yen SS. Dehydroepiandrosterone: biosynthesis and metabolism in the brain. *Endocrinology* 1999; 140:880-7.
 58. Compagnone NA, Mellon SH. Dehydroepiandrosterone: a potential signalling molecule for neocortical organization during development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:4678-83.
 59. Arlt W. Dehydroepiandrosterone and ageing. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 18(3):363-380.
 60. Majewska MD, Demirgoren S, Spivak CE, London ED. The neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate is an allosteric antagonist of the GABAA receptor. *Brain Res* 1990; 526:143-6.
 61. Demirgoren S, Majewska MD, Spivak CE, London ED. Receptor binding and electrophysiological effects of dehydroepiandrosterone sulfate, an antagonist of the GABAA receptor. *Neuroscience* 1991; 45:127-35.
 62. Schmidt M, Kreutz M, Loffler G, Scholmerich J, Straub RH. Conversion of dehydroepiandrosterone to downstream steroid hormones in macrophages. *J Endocrinol* 2000; 164:161-9.
 63. Arlt W, Allolio B. Dehydroepiandrosterone replacement therapy. *Current Opinion in Endocrinology and Diabetes* 2001; 8:130-139.
 64. Meikle AW, Dorchuck RW, Araneo BA, et al. The presence of a dehydroepiandrosterone-specific receptor binding complex in murine T cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 42:293-304.

-
65. Okabe T, Haji M, Takayanagi R, et al. Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:2993-6.
 66. Liu D, Dillon JS. Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3). *J Biol Chem* 2002 Jun14; 277(24):21379-88.
 67. Simoncini T, Manella P; Fornari L; Varone G; Caruso A; Genazzani AR. Dehydroepiandrosterone modulates endothelial nitric oxide synthesis via direct genomic and nongenomic mechanisms. *Endocrinology* 2003 Aug; 144(8):3449-55.
 68. Mahajan DK. Steroidogenesis in human polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17:751-69.
 69. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19:41-7.
 70. Young RL, Goldzieher JW. Clinical manifestations of polycystic ovarian disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17:621-35.
 71. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333:853-61.
 72. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary. I. Clinical and histologic features. *J Clin Endocrinol Metab* 1962; 22:325-38.
 73. Fogel RB, Malhotra A, Pillar G, Pittman SD, Dunaif A, White DP. Increased prevalence of obstructive sleep apnea syndrome in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1175-80.

-
74. Elting MW, Korsen TJ, Bezemer PD, Schoemaker J. Prevalence of diabetes mellitus, hypertension and cardiac complaints in a follow-up study of a Dutch PCOS population. *Hum Reprod* 2001; 16:556-60.
 75. Salmi DJ, Zisser HC, Jovanovic L. Screening for and treatment of polycystic ovary syndrome in teenagers. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004; 229:369-77.
 76. Coffey S, Mason H. The effect of polycystic ovary syndrome on health-related quality of life. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17:379-86.
 77. Ehrmann DA. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Curr Diab Rep* 2002; 2:71-6.
 78. Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruukonen A, Tapanainen JS. Insulin sensitivity, insulin secretion, and metabolic and hormonal parameters in healthy women and women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2000; 15:1266-74.
 79. Orio F, Jr., Palomba S, Spinelli L, et al. The cardiovascular risk of young women with polycystic ovary syndrome: an observational, analytical, prospective case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3696-701.
 80. Legro RS, Castracane VD, Kauffman RP. Detecting insulin resistance in polycystic ovary syndrome: purposes and pitfalls. *Obstet Gynecol Surv* 2004; 59:141-54.
 81. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002; 77:1095-105.

-
82. Bernard L, Christin-Maitre S, Basille C, Chabbert-Buffet N. [Insulin resistance and polycystic ovary syndrome]. *Gynecol Obstet Fertil* 2003; 31:109-16.
 83. Toprak S, Yonem A, Cakir B, et al. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Horm Res* 2001; 55:65-70.
 84. Park KH, Kim JY, Ahn CW, Song YD, Lim SK, Lee HC. Polycystic ovarian syndrome (PCOS) and insulin resistance. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 74:261-7.
 85. Pugeat M, Ducluzeau PH, Mallion-Donadieu M. Association of insulin resistance with hyperandrogenia in women. *Horm Res* 2000; 54:322-6.
 86. Soulez B, Dewailly, D., Rosenfield, RL. Polycystic ovary syndrome. *Endocrinologist* 1996; 6:19-29.
 87. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocr Rev* 1995; 16:322-53.
 88. Talbott EO, Zborowski JV, Rager JR, Boudreaux MY, Edmundowicz DA, Guzick DS. Evidence for an association between metabolic cardiovascular syndrome and coronary and aortic calcification among women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5454-61.
 89. Lefebvre P, Raingeard I, Renard E, Bringer J. [Long-term risks of polycystic ovaries syndrome]. *Gynecol Obstet Fertil* 2004; 32:193-8.
 90. Pirwany IR, Fleming R, Greer IA, Packard CJ, Sattar N. Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 54:447-53.

-
91. Maitra A, Pingle RR, Menon PS, Naik V, Gokral JS, Meherji PK. Dyslipidemia with particular regard to apolipoprotein profile in association with polycystic ovary syndrome: a study among Indian women. *Int J Fertil Womens Med* 2001; 46:271-7.
 92. Silfen ME, Denburg MR, Manibo AM, et al. Early endocrine, metabolic, and sonographic characteristics of polycystic ovary syndrome (PCOS): comparison between nonobese and obese adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4682-8.
 93. Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1158-65.
 94. Chang RJ, Laufer LR, Meldrum DR, et al. Steroid secretion in polycystic ovarian disease after ovarian suppression by a long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56:897-903.
 95. Turner EI, Watson MJ, Perry LA, White MC. Investigation of adrenal function in women with oligomenorrhoea and hirsutism (clinical PCOS) from the north-east of England using an adrenal stimulation test. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 36:389-97.
 96. de Ziegler D, Steingold K, Cedars M, et al. Recovery of hormone secretion after chronic gonadotropin-releasing hormone agonist administration in women with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68:1111-7.
 97. Lachelin GC, Judd HL, Swanson SC, Hauck ME, Parker DC, Yen SS. Long term effects of nightly dexamethasone administration in patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55:768-73.

-
98. Lobo RA, Goebelsmann U, Horton R. Evidence for the importance of peripheral tissue events in the development of hirsutism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:393-7.
 99. Lachelin GC, Barnett M, Hopper BR, Brink G, Yen SS. Adrenal function in normal women and women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49:892-8.
 100. Milewicz A, Silber D, Mielecki T. The origin of androgen synthesis in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1983; 62:601-4.
 101. Lucky AW, Rosenfield RL, McGuire J, Rudy S, Helke J. Adrenal androgen hyperresponsiveness to adrenocorticotropin in women with acne and/or hirsutism: adrenal enzyme defects and exaggerated adrenarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:840-8.
 102. Siegel SF, Finegold DN, Lanes R, Lee PA. ACTH stimulation tests and plasma dehydroepiandrosterone sulfate levels in women with hirsutism. *N Engl J Med* 1990; 323:849-54.
 103. Laatikainen TJ, Apter DL, Paavonen JA, Wahlstrom TR. Steroids in ovarian and peripheral venous blood in polycystic ovarian disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1980; 13:125-34.
 104. Cedars MI, Steingold KA, de Ziegler D, Lapolt PS, Chang RJ, Judd HL. Long-term administration of gonadotropin-releasing hormone agonist and dexamethasone: assessment of the adrenal role in ovarian dysfunction. *Fertil Steril* 1992; 57:495-500.

-
105. Steingold K, De Ziegler D, Cedars M, et al. Clinical and hormonal effects of chronic gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:773-8.
 106. Rittmaster RS. Differential suppression of testosterone and estradiol in hirsute women with the superactive gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:651-5.
 107. Rittmaster RS, Thompson DL. Effect of leuprolide and dexamethasone on hair growth and hormone levels in hirsute women: the relative importance of the ovary and the adrenal in the pathogenesis of hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:1096-102.
 108. Azziz R, Rafi A, Smith BR, Bradley EL, Jr., Zacur HA. On the origin of the elevated 17-hydroxyprogesterone levels after adrenal stimulation in hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:431-6.
 109. Erel CT, Senturk LM, Oral E, Colgar U, Ertungealp E. Adrenal androgenic response to 2-hour ACTH stimulation test in women with PCOS. *Gynecol Endocrinol* 1998; 12:223-9.
 110. 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; 88:2760-6.
 111. Chang RJ, Mandel FP, Wolfsen AR, Judd HL. Circulating levels of plasma adrenocorticotropin in polycystic ovary disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:1265-7.
 112. Holte J, Bergh T, Gennarelli G, Wide L. The independent effects of polycystic ovary syndrome and obesity on serum concentrations of

gonadotrophins and sex steroids in premenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 41:473-81.

113. Carmina E, Wong L, Chang L, et al. Endocrine abnormalities in ovulatory women with polycystic ovaries on ultrasound. *Hum Reprod* 1997; 12:905-9.
114. DeVane GW, Czekala NM, Judd HL, Yen SS. Circulating gonadotropins, estrogens, and androgens in polycystic ovarian disease. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 121:496-500.
115. Montalto J, Funder JW, Yong AB, Davies HE, Connelly JF. Serum 5-androstene-3 beta,17 beta-diol sulphate and 5 alpha-androstane-3 alpha,17 beta-diol sulphate in hirsute females with polycystic ovarian disease. *J Steroid Biochem* 1990; 36:67-74.
116. Carmina E, Gonzalez F, Chang L, Lobo RA. Reassessment of adrenal androgen secretion in women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1995; 85:971-6.
117. Carmina E, Rosato F, Janni A. Increased DHEAs levels in PCO syndrome: evidence for the existence of two subgroups of patients. *J Endocrinol Invest* 1986; 9:5-9.
118. Ghanaati Z, Peters H, Muller S, et al. Endocrinological and genetic studies in patients with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Neuroendocrinol Lett* 1999; 20:323-327.
119. Kandeel FR, London DR, Butt WR, et al. Adrenal function in subgroups of the PCO syndrome assessed by a long ACTH test. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1980; 13:601-12.

-
120. Robinson S, Rodin DA, Deacon A, Wheeler MJ, Clayton RN. Which hormone tests for the diagnosis of polycystic ovary syndrome? *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99:232-8.
 121. Farah-Eways L, Reyna R, Knochenhauer ES, Bartolucci AA, Azziz R. Glucose action and adrenocortical biosynthesis in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:120-5.
 122. Gonzalez F. Adrenal involvement in polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Endocrinol* 1997; 15:137-57.
 123. Rosenfield RL, Barnes RB, Cara JF, Lucky AW. Dysregulation of cytochrome P450c 17 alpha as the cause of polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 1990; 53:785-91.
 124. Mauvais-Jarvis P, Bricaire C. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem* 1989; 33:791-4.
 125. Hague WM, Honour JW, Adams J, Vecsei P, Jacobs HS. Steroid responses to ACTH in women with polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989; 30:355-65.
 126. New MI. Polycystic ovarian disease and congenital and late-onset adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17:637-48.
 127. Pang SY, Lerner AJ, Stoner E, et al. Late-onset adrenal steroid 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. I. A cause of hirsutism in pubertal and postpubertal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60:428-39.

-
128. Lobo RA, Goebelsmann U. Evidence for reduced 3 beta-ol-hydroxysteroid dehydrogenase activity in some hirsute women thought to have polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53:394-400.
129. Eldar-Geva T, Hurwitz A, Vecsei P, Palti Z, Milwidsky A, Rosler A. Secondary biosynthetic defects in women with late-onset congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med* 1990; 323:855-63.
130. Azziz R, Boots LR, Parker CR, Jr., Bradley E, Jr., Zacur HA. 11 beta-hydroxylase deficiency in hyperandrogenism. *Fertil Steril* 1991; 55:733-41.
131. Azziz R, Zacur HA. 21-Hydroxylase deficiency in female hyperandrogenism: screening and diagnosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69:577-84.
132. Chetkowski RJ, DeFazio J, Shamonki I, Judd HL, Chang RJ. The incidence of late-onset congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency among hirsute women. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58:595-8.
133. Clark PM, Neylon I, Raggatt PR, Sheppard MC, Stewart PM. Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: implications for the investigation of hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998; 49:287-92.
134. Goldsmith SJ. Radioimmunoassay: review of basic principles. *Semin Nucl Med* 1975; 5:125-52.
135. Diagnostic Systems Laboratories Deutschland GmbH. Dehydroepiandrosteron (DHEA) Radioimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Dehydroepiandrosteron in Serum und Plasma.

-
136. Herold, G und Mitarbeiter. Innere Medizin – Eine vorlesungsorientierte Darstellung. 2003.
137. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961; 21:1440-7.
138. Strott, C. Sulfonation and Molecular Action. *Endocrine Reviews* 2002; 23(5):703-732.
139. Smit P, van Schaik RH, van der Werf M et al. A common polymorphism in the CYP 3A7 gene is associated with a nearly 50% reduction in serum dehydroepiandrosterone sulfate levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(9): 5313-6.
140. Saner KJ, Suzuki T, Sasano H, et al. Steroid sulfotransferase 2A1 gene transcription is regulated by steroidogenic factor 1 and GATA-6 in the human adrenal. *Mol Endocrinol (United States)*, Jan 2005, 19(1) p184-97.
141. Fang HL, Strom SC, Cai H, et al. Regulation of human hepatic hydroxysteroid sulfotransferase gene expression by the peroxysome proliferator-activated receptor alpha transcription factor. *Mol Pharmacol* 2005; 67(4):1257-67.
142. Thomae BA, Eckloff BW, Freimuth RR, et al. Human sulfotransferase SULT2A1 pharmacogenetics: genotype-to-phenotyp studies. *Pharmacogenomics J (United States)*, 2002, 2(1) p48-56.
143. Arlt W, Hammer F, Sanning P, et al. Dissociation of Serum Dehydroepiandrosterone and Dehydroepiandrosterone Sulfate in Septic Shock. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(7): 2548-2554.

-
144. Azziz R, Carmina E, Dewailly D 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.
145. Spindler, K; *Vergleichende Endokrinologie: Regulation und Mechanismen*. Thieme Verlag 1997, Seite 154.

Danksagung

Zunächst bedanke ich mich ganz herzlich bei Frau Prof. Dr. med. W. Arlt und Herrn Prof. Dr. med. B. Allolio für die Auswahl und freundliche Überlassung des interessanten Themas, ihre zahlreichen wertvollen Anregungen, ihre Geduld und ihre stets engagierte und motivierende Unterstützung während der gesamten Dissertation, die entscheidend zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Meinem Betreuer Herrn Dr. med. F. Hammer danke ich für seine durch tatkräftige Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft hervorragende Betreuung während der gesamten Zeit der Dissertation.

Meinen Doktorandenkolleginnen Frau S. Subtil und Frau P. Sanning danke ich für die durchwegs gute und kollegiale Zusammenarbeit während der experimentellen und statistischen Phase der Arbeit.

Schließlich möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des endokrinologischen Labors der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Würzburg bedanken, die mir während der gesamten Zeit mit Rat und Tat zur Seite standen.