

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin IV

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H.-U. Häring

**Metabolische und Genotypische Charakteristika bei
Frauen
mit polyzystischem Ovar Syndrom**

Inaugural -Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Franziska Schnuck

aus

Suhl

2006

Dekan: Professor Dr. C.D. Claussen

1.Berichterstatter: Privatdozent Dr. A. Fritsche

2.Berichterstatter: Professor Dr. P. Licht

**Widmung
Für meine Familie**

Inhaltsverzeichnis

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	V
1. Einleitung	1
1.1 Allgemein	1
1.2 Geschichte des PCOS.....	1
1.3 Diagnostische Kriterien des PCO-Syndroms.....	3
1.4 Ätiologie und Pathogenese der häufigsten Symptome	5
1.4.1 Hyperandrogenämie	5
1.4.2 LH/FSH Quotient, Zyklusstörungen und Sterilität	6
1.4.3 Sonographischer Befund.....	9
1.4.4 Metabolische Charakteristika.....	11
1.5 Kandidatengene des PCOS	14
1.5.1 Adiponektin-Gen (T45G Polymorphismus)	14
1.5.2 Calpain 10	15
1.5.3 Helix/Forkhead Transcriptionsfaktor Gen FOXC2.....	16
1.5.4 IRS-1 (Gly972Arg Polymorphismus).....	16
1.5.5 IRS-2 (Gly1057Asp Polymorphismus)	17
1.5.6 PPAR Gamma	18
2. Material und Methoden	20
2.1 Studienaufbau.....	20
2.2 Probandinnen	20
2.2.1 Teilnahmevoraussetzung	20
2.2.2 Teilnehmer	21
2.3 Versuchsablauf.....	22
2.3.1 Vorbereitung	22
2.3.2 Testdurchführung	23
2.3.3 Geräteaufbau	24
2.3.4 Anamnestiche Daten	24
2.4 Analytik	25
2.4.1 Aufbereitung der Blutproben	25
2.4.2 Verfahren zur Bestimmung der einzelnen Parameter.....	25
2.4.3 Gen-Typisierung	26
2.5 Berechnungen	26
2.5.1 Orale Glukosetoleranztest (oGTT).....	26
2.5.2 Insulinsensitivität	26
2.5.3 Statistische Analysen.....	27

3. Ergebnisse	28
3.1 Anthropometrische, metabolische und hormonelle Parameter ...	28
3.1.1 Allgemein.....	28
3.1.2 Anthropometrische Daten.....	28
3.1.3 Metabolische Parameter.....	29
3.1.4 Hormonstatus und Ultraschallbefund.....	32
3.2 Verteilung der Genotypen.....	33
3.3 Auswirkungen der Genotypen auf die Phänotypen des PCOS	36
3.3.1 Adiponektin T45G Polymorphismus (Tab 7,8)	37
3.3.2 Gly972Arg- in IRS-1 und Gly1057Asp-Polymorphismus in IRS-2 (Tab 7,8)..	37
4. Diskussion	41
4.1 Allgemein	41
4.2 Metabolische Charakteristika und Betrachtung des Hormonhaushaltes einschließlich der Adiponektinserumspiegel ..	41
4.2.1 Anthropometrische Parameter.....	41
4.2.2 Metabolische Parameter.....	42
4.2.3 Verhalten des Adiponektinserumspiegels.....	44
4.2.4 Besonderheiten des Hormonhaushaltes im Bezug auf Insulin.....	45
4.3 Genotypische Charakteristika	47
4.3.1 Allgemein.....	47
4.3.2 Adiponektinen (T45G Polymorphismus)	48
4.3.3 Gly972Arg- in IRS-1 und Gly1057Asp-Polymorphismus in IRS-2	49
4.4 Schlussfolgerung	50
5. Zusammenfassung	51
6. Anhang	53
6.1 Abkürzungsverzeichnis	53
6.2 Literaturverzeichnis	56
6.3 Danksagung	64
6.4 Lebenslauf	65

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1 :	Yen-Theorie.....	7
Abbildung 2:	Vaginaler Ultraschallbefund polyzystischer Ovarien.....	10
Abbildung 3:	Pathogenese	13
Abbildung 4:	BMI versus Insulinsensitivität.....	30
Tabelle 1:	Anthropometrische Daten.....	29
Tabelle 2:	Metabolische Parameter.....	31
Tabelle 3:	Hormonstatus PCOS	32
Tabelle 4:	Ultraschallbefund der Frauenklinik Tübingen	33
Tabelle 5:	Aufschlüsselung aller Genotypen nach Allelen in PCOS-G und K-G	34
Tabelle 6:	Tabelle 5 ohne FHD (family history of diabetes).....	35
Tabelle 7:	Beeinflussende Auswirkungen der Genotypen und An- oder Abwesenheit des PCOS anhand metabolischer Parameter	39
Tabelle 8:	Anthropometrische und metabolische Merkmale als eine Funktion der Genotypen Adiponektin [T45G] und IRS-1 [Gly972Arg]	40

1. Einleitung

1.1 Allgemein

Das 1935 erstmals durch Stein und Leventhal beschriebene Syndrom der polyzystischen Ovarien ist eine sehr komplexe endokrinologische Störung. Die Prävalenz liegt bei ca. 5-10 % aller Frauen im reproduktiven Alter.

Das PCO-Syndrom ist der Hauptgrund für anovulatorische Zyklen mit konsekutiver Sterilität. Bisher waren Veränderungen des Androgenhaushalts mit deren Symptomatik im Fokus der Wissenschaft, nun rücken zunehmend metabolische Störungen als Ansatz für eine gezielte Therapie in den Vordergrund.

Viele an PCOS erkrankte Frauen leiden an Fettstoffwechseleränderungen und werden adipös. Überdurchschnittlich häufig treten Hyperinsulinämien und periphere Insulinresistenz auf. Diese Symptomatik findet sich sowohl bei adipösen als auch bei normalgewichtigen Frauen [54].

Diese Stoffwechseleränderungen führen zu einem erhöhten Risiko, einen Diabetes mellitus Typ 2 (T2 DM) zu entwickeln. Dem Diabetes mellitus Typ 2 liegt eine multifaktorielle Genese zu Grunde, dies beinhaltet genetische und so genannte Lifestyle-Faktoren (Ernährungsgewohnheiten, sportliche Aktivität etc.). Ähnliche Zusammenhänge werden beim PCOS diskutiert. Der Schwerpunkt dieser Arbeit wird sich auf die genotypischen Charakteristika dieses Kollektivs und deren Interaktion mit metabolischen Parametern konzentrieren.

1.2 Geschichte des PCOS

Die Geschichte der polyzystischen Ovarien reicht bis in das Jahr 1935 zurück. Erstmals beschrieben unter dem Namen Stein-Leventhal-Syndrom, war es gekennzeichnet durch das Vorhandensein pathologischer Ovarien und der klinischen Trias Amenorrhoe, Hirsutismus und Fettleibigkeit [54].

Erst 30 Jahre später, Anfang der 70iger Jahre, rückten mit Erschließung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse endokrinologische Kriterien wie Luteinisierungshormon (LH) und Follikelstimulierendes Hormon (FSH) in den Vordergrund.

Mit der technischen Errungenschaft des abdominalen und später auch vaginalen Ultraschalls (1970-1980) erhielt das PCOS seinen heutigen Namen [78,55].

Angesichts der Komplexität dieser endokrinologischen Störung haben einige Spezialisten eine andere Bezeichnung vorgeschlagen.

Denn nicht immer lassen sich im sonographischen Befund polyzystische Ovarien nachweisen, sie sind daher weder beweisend, noch sind sie Ausschlusskriterium für diese Erkrankung [54].

Inzwischen haben mehrere alternative Bezeichnungen in die Literatur Eingang gefunden: HAIR-Syndrom (Hyperandrogenämie(HA)-Insulinresistenz(IR) (Barbieri et al., 1988), Polycystic-appearing ovaries (Lobo et al., 1995), Polyfollikuläres Ovar (PFO) und funktionelle ovarielle Hyperandrogenämie (FOHA) (Geisthövel et al., 1997/2000), Hyperthekosis (Leidenberger et al., 1997), um nur einige beim Namen zu nennen [33].

Im Oktober 2003 wurde im Rahmen des Rotterdam Konsensus Workshops empfohlen, die Diagnose des PCOS nicht allein auf einzelne diagnostische Parameter wie Hyperandrogenämie oder polyzystische Ovarien zu stützen. Die klinische Manifestation des PCOS sollte Menstruationsstörungen, Anzeichen für Hyperandrogenämie, erhöhte LH-Spiegel, Fettleibigkeit und Insulinresistenz beinhalten. Zudem stellten die Workshop-Teilnehmer fest, dass PCOS mit einem erhöhten Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskulären Erkrankungen einhergeht [80].

1.3 Diagnostische Kriterien des PCO-Syndroms

Die meisten Frauen stellen sich aufgrund sehr vielfältiger Symptome, wie unerfüllter Kinderwunsch, auffällig rascher Gewichtszunahme oder vermehrter Körperbehaarung, in der gynäkologischen Sprechstunde vor. Zusätzlich treten Störungen des Fett- und Glukosestoffwechsels auf.

Daher sind die diagnostischen Kriterien des PCO-Syndroms längst nicht mehr klar und einfach zu benennen. Die Vielzahl an Symptomen und Dysfunktionen weist eine hohe Komplexität auf und stellt für die Fachabteilungen eine interdisziplinäre Herausforderung dar.

Mittlerweile existieren mehrere Empfehlungen, nach denen diese Erkrankung zu diagnostizieren ist. Fest steht, der sonographische Befund polyzystischer Ovarien ist allein kein sicheres Kriterium [49].

Verschiedene diagnostische Vorgehensweisen werden im Folgenden vorgestellt.

Das PCOS wird bei Knochenhauer et al. (1998) folgendermaßen definiert:

1. Vorliegen einer ovariellen Dysfunktion
2. Klinischer Nachweis von Hyperandrogenismus (Hirsutismus, Akne, androgenisierende Alopezie) und/oder Hyperandrogenämie
3. Ausschluss anderer Störungen, wie Hyperprolaktinämie, Schilddrüsenerkrankungen, Non classical adrenal hyperplasia (NCAH).

Liegen weniger als acht Menstruationszyklen pro Jahr vor, wird von einer ovariellen Dysfunktion ausgegangen.

Hyperandrogenämie gilt als nachgewiesen bei erhöhten Parametern für Gesamt- und/oder freiem Testosteron, Androstenion und/oder DHEAS [49].

Die Diagnoseempfehlungen werden kontrovers diskutiert.

Prof. Geithövel et al. distanzieren sich von der Bezeichnung PCOS und beschreiben diese Erkrankung als funktionelle ovarielle Hyperandrogenämie (FOHA).

Die Vielzahl individueller Reaktionen und Ausprägungsformen ergeben eine breite Palette an klinischen Kombinationsmöglichkeiten. Sie definieren verschiedene Subgruppen, mit so genannten Leit-Dysfunktionen der jeweils betroffenen Organe unter klinischen Gesichtspunkten.

Danach ist die Diagnose eine Beschreibung des Ist-Zustandes, während die eigentliche Ursache der Erkrankung nicht immer zu finden ist. Die funktionelle ovarielle Hyperandrogenämie (FOHA) wird in vier Haupt-Diagnosegruppen unterteilt. Die vier Leit-Organen Haut, Hypothalamus/Hypophyse, Ovar und Fettgewebe werden bestimmten Dysfunktionen und Symptomen zugeordnet. Jedes Symptom kann primär oder sekundär entstanden sein. Bei Störungen des Fettgewebes kommt es zur stärksten Symptomausprägung: der androgenen Form der Adipositas mit sekundärer deutlicher FOHA und PFO 3 (PFO 3 entspricht polyfollikulären Ovarien in ihrer typischen Morphologie). Zusätzlich ist diese Form charakterisiert durch sekundäre Hyper-LH-ämie, sekundäre Hyperinsulinämie, Hyperdyslipidämie, Risiko für Metabolisches Syndrom, Oligo-Amenorrhoe, kutane androgenisierende Symptomatik Grad 1-3 (KAS 1-3) und Infertilität [33].

Im Oktober 2003 einigten sich im Rahmen des Rotterdam Konsensus Workshops anerkannte Wissenschaftler aus den USA, Kanada, Großbritannien, Frankreich, Italien, Spanien, den Niederlanden, Schweden, Island und China auf folgende diagnostische Kriterien [80]:

1. Persistierende Oligo/-Amenorrhoe oder nachgewiesene Anovulation
2. Polyzystische Ovarien, identifiziert durch transvaginale Ultraschall
3. Erhöhte Testosteronwerte (freies und Gesamttestosteron) und/oder erhöhte Dehydroepiandrosteronesulfat (DHEAS) und/oder Androstendionwerte.

Zur Diagnosestellung sind daher eine gezielte Anamneseerhebung, eine exakte Ganzkörperuntersuchung, die Vaginalsonographie des inneren Genitales - insbesondere der Ovarien - und eine angemessene Labordiagnostik erforderlich [33].

1.4 Ätiologie und Pathogenese der häufigsten Symptome

1.4.1 Hyperandrogenämie

Eines der häufigsten Symptome, die Hyperandrogenämie, ist gekennzeichnet durch erhöhte Serum Testosteron- und Dehydroepiandrosteronsulfatspiegel (DHEAS).

Dies erklärt sich unter anderem durch erniedrigte Serumwerte des Sexual-Hormon-Binding-Globulin (SHBG) [81].

Das in der Leber synthetisierte Glykoprotein SHBG kontrolliert durch Bindung von Androgenen Transport und Regulation der Androgenwirkung. Die stark wirksamen Androgene Dihydrotestosteron (DHT) und Testosteron werden mit höherer Spezifität als die schwach wirksamen DHEAS und Androstendion vom SHBG gebunden. Dadurch wird die zirkulatorische Androgenität besonders im weiblichen Organismus stark reduziert.

Eine Senkung der SHBG-Sekretion ("Hypo-SHBG-ämie") führt zur Erhöhung und Potenzierung der Androgenität.

Es gibt verschiedene Ursachen der Hypo-SHBG-ämie, wie z.B. Akromegalie und Hyperprolaktinämie [33].

Bei an PCOS erkrankten Frauen wurde eine negative Korrelation zwischen Adipositas, BMI- und SHBG-Spiegel gefunden. Adipöse PCOS-Frauen haben gegenüber Normalgewichtigen zwar ähnliche Gesamttestosteron-, aber erhöhte Werte an freiem Testosteron, aufgrund erniedrigter SHBG-Spiegel.

Eine Gewichtsreduktion führt zum Anstieg des SHBG-Spiegels und zur Reduktion der Serum Insulinwerte [73,7].

Sowohl eine Hyperinsulinämie als auch eine Insulinresistenz scheinen einen Effekt auf das SHBG, nicht aber auf die Sexualhormone selbst zu haben [64].

Preziosi et al. konnten eine Korrelation zwischen Insulin und SHBG bei gesunden Frauen nachweisen, jedoch unabhängig vom BMI [77].

Nach Sherif et al. hat neben allen schon genannten Markern die Insulinresistenz den stärksten Einfluss auf das SHBG [82]. Möglicherweise hat Insulin auch einen direkten Effekt auf die hepatozelluläre SHBG-Freisetzung [7,75].

Zudem ist ein niedriger SHBG-Spiegel Risikofaktor für den Typ2 DM und korreliert mit niedrigem HDL, wobei wahrscheinlich die meist zugrunde liegende Hy-

perinsulinämie der ursächliche Faktor für die Suppression beider Parameter ist. SHBG hat keinen ausreichenden prädiktiven Wert für eine KHK oder den koronaren Herztod [37].

Das klinische Erscheinungsbild der Hyperandrogenämie reicht von vermehrtem Haarwuchs, insbesondere vom androgenen Typ, über starke Akne bis hin zum Ausbleiben der Menstruation. Dies stellt für die Betroffenen ein hohes kosmetisches und vielmehr noch psychisches Problem dar.

Zusammenfassend ist anzunehmen, dass sowohl Adipositas, als auch Hyperinsulinämie einen entscheidenden Einfluss auf das SHBG haben und somit die Hyperandrogenämie der an PCOS erkrankten Frauen triggern und möglicherweise als Ursache in Betracht kommen.

1.4.2 LH/FSH Quotient, Zyklusstörungen und Sterilität

Die in der Hypophyse synthetisierten Gonadotropine Luteinisierungshormon (LH) und Follikelstimulierungshormon (FSH) bewirken eine zeitlich und quantitativ fein abgestimmte Regulation von Follikelreifung, Ovulation und Corpusluteum-Bildung [81].

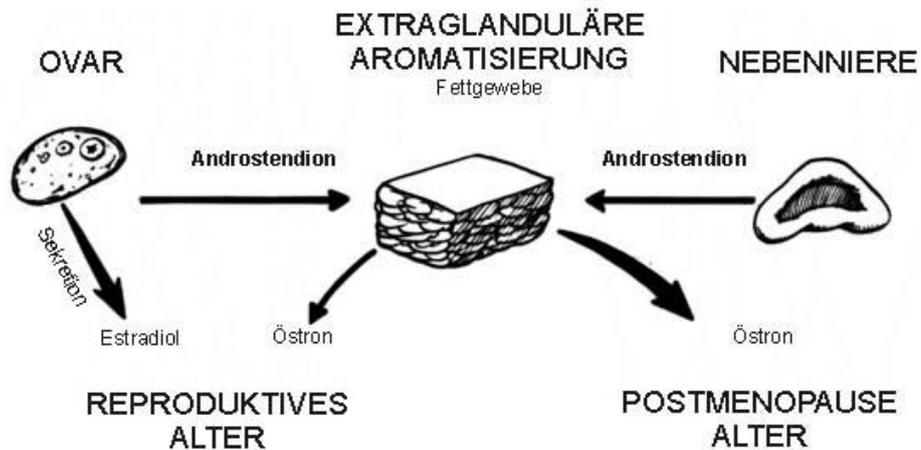
Eine Erhöhung der Einzelparameter LH und FSH ist dabei allein nicht entscheidend. Vielmehr ist ein erhöhter Quotient von LH zu FSH größer 2, richtungsweisend auf eine hyperandrogenämische Ovarialinsuffizienz, wie sie beim PCOS vorliegen kann [85].

Diese oft beobachtete chronische, azyklische Erhöhung des LH/FSH Quotienten (zu Beginn und Mitte der Follikelphase >2 , pathologisch [85]) führt zu anovulatorischen Zyklusstörungen von Oligomenorrhoe bis hin zu Amenorrhoe. Daraus resultieren die hohe Sterilitätsrate und der unerfüllte Kinderwunsch vieler Frauen. Nicht immer müssen anovulatorische Zyklen vorliegen, denn da es in 10-20 % der Fälle spontan zur Ovulation kommen kann, sind Remissionen und damit auch Schwangerschaften ohne spezifische Therapie möglich [81]. Selbst im umgekehrten Fall können Frauen mit normalen Menstruationszyklen in bis zu 21 % der Fälle anovulatorisch sein [12].

Verschiedene Hypothesen versuchen die veränderte LH-Pulsatilität zu erklären.

Eine davon ist die Yen-Theorie: Hauptverantwortlich ist dabei eine adrenale Hypersekretion von C¹⁹-Steroiden, welche im Fettgewebe zu Östrogenen konvertiert werden.

Abbildung 1 : Yen-Theorie



Quelle: Yen-Theorie, aus Geithövel et al.

Der daraus resultierende chronisch azyklische Östrogentonus stimuliert wiederum die hypothalamo-hypophysäre Achse zur azyklischen, exagierten Sekretion von LH [108].

Das vermehrte LH regt seinerseits wiederum die Theka-Zelle des Ovars an, die mit einer übermäßigen de-novo-Synthese von C¹⁹-Steroiden reagiert.

Gleichzeitig ist die in der Granulosa-Zelle ablaufende Aromatisierung der C¹⁹- zu den C¹⁸-Steroiden durch einen relativen Mangel an FSH reduziert. Die ovariellen Androgene werden ebenfalls im Fettgewebe zu Östron aromatisiert, so dass ein perpetuierender circulus vitiosus aufgebaut wird [108].

Die gestörte Funktionsdynamik der LH -Pulsatilität kann aber auch primär durch eine Störung im zentralen Dopaminstoffwechsel hervorgerufen werden. Als signifikantes Kandidatengen könnte ein polymorphes Allel des Dopamin-D2-Rezeptors (DRD2) (Lokalisation 11q23.1) mit LH assoziiert sein [8].

Hinweise dafür bestätigen Studien, die im zentralen Nervensystem von PCOS-Frauen Dopamin-Abbau-Metaboliten, wie Homovanillinsäure und Dihydroxyphenylethylsäure in niedriger Konzentration fanden.

Des Weiteren wurde ein D₃-Rezeptor-Polymorphismus in höherer Frequenz bei anovulatorischen Patienten mit Hyperandrogenämie nachgewiesen [33].

Zusätzlich scheinen die Insulinresistenz und die Hyperinsulinämie mit Veränderungen der LH-Pulsatilität beim PCOS assoziiert zu sein.

Dale et al. bestätigen in einem norwegischen Patientengut die Annahme, dass Insulinresistenz einen bedeutenden Faktor im Hinblick auf unerfüllten Kinderwunsch darstellen kann. Sie untersuchten 46 infertile PCOS-Patientinnen hinsichtlich Insulinresistenz und der Möglichkeit, innerhalb eines Jahres schwanger zu werden. Von 28 als insulinresistent klassifizierten Frauen konnten nur 18% mit Hilfe von IVF (in vitro Fertilisation) schwanger werden, entgegen 50% von den 36 als nicht-insulinresistent klassifizierten Frauen [17].

Viele Studien untersuchten den Einfluss von Medikamenten mit unterschiedlichen pharmakologischen Angriffspunkten auf eine Verbesserung des PCOS. Zwei Gruppen stehen dabei besonders im Fokus. Zum einen sind dies Pharmaka, die in den Glukosestoffwechsel eingreifen, zum anderen handelt es sich um Präparate, die in den weiblichen Hormonstoffwechsel eingreifen.

Dazu gehören Metformin, Flutamid und Clomifen. Metformin, ein zu den Biguanid-Derivaten gehörendes Antidiabetikum, senkt den Blutzuckerspiegel durch Hemmung der Glykogenolyse und der Glukoneogenese in der Leber sowie durch bessere Glukoseverwertung in den peripheren Geweben. Metformin erniedrigt zudem die Plasmaspiegel von Triglyceriden, LDL und VLDL-Cholesterin und wirkt einer Gewichtszunahme entgegen [61]. Flutamid ist ein reines Antandrogen und hebt die Wirkung von Testosteron durch kompetitiven Antagonismus an Androgenrezeptoren auf [61]. Clomifen ist ein Antiestrogen und führt zu einer vermehrten Freisetzung von Gonadoliberin und damit zu einer erhöhten Gonadotropinausschüttung. Bei Frauen mit anovulatorischen Zyklen kann somit eine Ovulation ausgelöst werden, vorausgesetzt, die Hypothalamo-Hypophysäre-Achse ist intakt [61].

Eine Metformintherapie konnte in einer Studie an türkischen und indischen Frauen mit PCOS die Insulinsensitivität deutlich verbessern und zusätzlich die Serumandrogenspiegel senken. Die Fertilität konnte durch die Therapie signifikant beeinflusst werden [6].

Insgesamt ist die Veränderung der LH- und FSH-Parameter von entscheidender Bedeutung für die regelrechte Funktion des Ovars.

1.4.3 Sonographischer Befund

Früher wurde die Diagnose des PCO-Syndroms häufig über das Vorhandensein polyzystischer Ovarien im sonographischem Befund gestellt, die ursprünglich der Erkrankung ihren Namen gaben. Aber, wie schon zuvor erwähnt, werden polyzystische Ovarien auch bei gesunden Frauen ohne endokrinologische Störungen gefunden und sind daher nicht beweisend oder Ausschlusskriterium für ein PCO-Syndrom [54].

Auch andere Erkrankungen können das sonographische Bild von polyzystischen Ovarien aufweisen. Dazu gehört z.B. das konnatale oder „late-onset“-adrenogenitale Syndrom (AGS).

Ähnlich ist es bei Frauen mit Hyperprolaktinämie, wobei die Affinität des Prolaktins zur Nebennierenrinde mit vermehrter Ausschüttung von Androgenen als kausaler Faktor anzusehen ist.

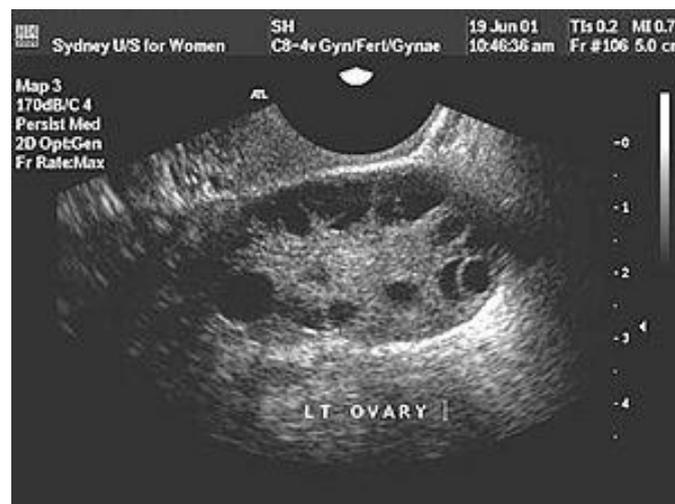
Weitere Erkrankungen, die typischerweise zur Ausbildung polyzystischer Ovarien führen können, aber nicht mit dem PCOS im Zusammenhang stehen, sind: androgenbildende Tumoren z.B. des Ovars oder der Nebennierenrinde, paraneoplastische Syndrome mit vermehrter Androgenproduktion (z.B. bei Mammakarzinom, Pankreaskarzinom, Magenkarzinom, Lungenkarzinom) [97].

All diese Diagnosen müssen ausgeschlossen werden, um ein PCOS zu diagnostizieren.

Folgender sonographischer Befund ist richtungsweisend bei Verdacht auf PCOS.

Als pathognomonisch ist die Vergrößerung der Ovarien auf das 2- bis 5-fache der normalen Größe anzusehen. Die Ovarien sind prall-elastisch und weisen keine Follikelsprungnarben auf, da die Kapsel aufgrund der erhöhten Testosteronspiegel stark fibrotisiert ist. Trotzdem finden sich meist zahlreiche kleine Follikelzysten, deren Durchmesser 1,5 cm jedoch nicht überschreitet [81].

Abbildung 2: Vaginaler Ultraschallbefund polyzystischer Ovarien



Quelle: www.nufw.com [66]

1.4.4 Metabolische Charakteristika

Das PCOS ist ein multifaktorielles Syndrom, das in seiner Komplexität immer noch nicht vollständig verstanden ist. In den vergangenen Jahren ist der metabolische Beitrag näher untersucht worden. Daraus haben sich auch neue Therapieoptionen entwickelt.

So werden mittlerweile viele Frauen bei Verdacht auf ein PCOS in der endokrinologischen Ambulanz vorgestellt. Neben den klassischen Parametern kann hier durch einen oralen Glukosetoleranztest eine Hyperinsulinämie und/oder Insulinresistenz diagnostiziert werden.

Dies ist aus zweierlei Gründen von besonderer Bedeutung.

Erstens: liegt eine gestörte Glukosetoleranz vor, kann sie Ursache des unerfüllten Kinderwunsches sein und ein Therapieversuch mit Metformin zur Senkung erhöhter Androgenspiegel führen. Dies wird durch Senkung der Aktivität des P450-Zytochroms im Ovar postuliert [97].

Zweitens: mit einer gestörten Glukosetoleranz geht ein erhöhtes Risiko einher, einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln. Dieser kann mit für die Patienten oftmals sehr schwerwiegenden Komplikationen in Form von kardiovaskulären Erkrankungen (Herzinfarkt; Schlaganfall; pAVK;) und Polyneuropathien einhergehen. Die chronische Zerstörung von Nerven und Gefäßen kann letztendlich zu Erblindung oder gar Teilamputationen von Gliedmaßen führen.

Folgendermaßen ist der klinische Zusammenhang des Metabolischen Syndroms (Adipositas, Hyperlipidämie, Hyperinsulinämie, Insulinresistenz) und des PCOS zu verstehen:

Viele der bisherigen Studien haben gezeigt, dass Adipositas, Hyperinsulinämie und Insulinresistenz in der Pathogenese des PCOS eng miteinander verknüpft sind [22,103,9]. Jedoch ist bisher ungeklärt, ob Adipositas und Insulinresistenz Auslöser des PCOS sind oder das PCOS beide Faktoren begünstigt.

Nach dem aktuellen Stand der Forschung ist Insulin ein wachstumsförderndes, anaboles Hormon. Seine Funktion besteht in der Aufnahme von Glukose in die Zellen von Skelettmuskel und Fettgewebe durch insulinabhängige Glukosetransporter vom Typ Glut 4. Zudem hemmt Insulin in der Leber die Lipolyse und

wirkt somit der Fettmobilisierung und dem Fettabbau entgegen, verstärkt somit die Adipositas [60].

Angenommen, es besteht eine genetisch prädisponierte Insulinresistenz, so führt der ansteigende Blutglukosespiegel am Anfang zu einem kompensatorischen Anstieg der Insulinproduktion und- sekretion der Bauchspeicheldrüse. Diese Hyperinsulinämie hat extreme Auswirkungen auf die Symptomatik des PCOS. Zudem ist eine genetisch bedingte pankreatische Insulin-Übersekretion von Interesse; diese Form der Hyperinsulinämie könnte für schlanke Patientinnen mit PCOS von ätiologischer Bedeutung sein [33].

Insulin potenziert die schon bestehende Androgenisierung durch seinen Eingriff in folgende Stoffwechselfvorgänge:

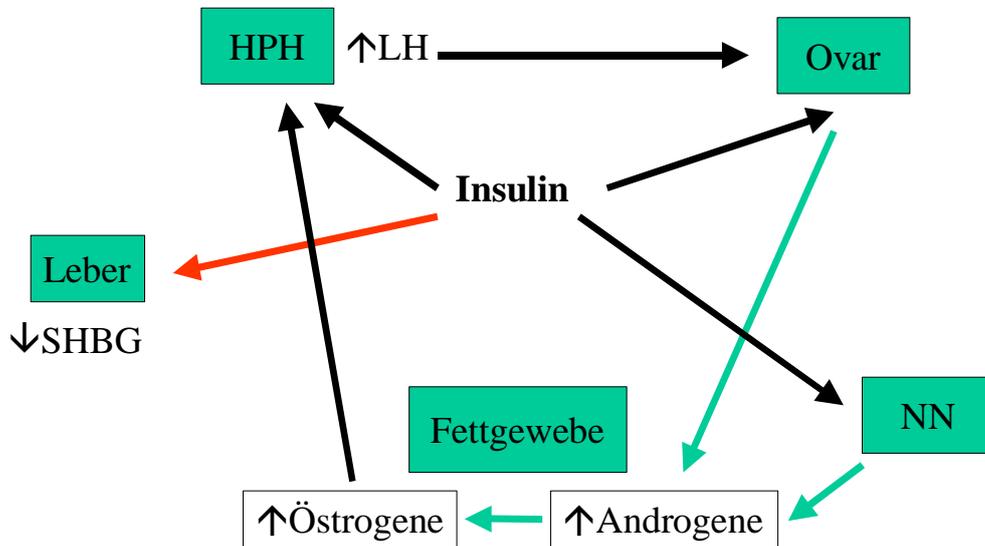
1. Hemmung der hepatozellulären SHBG-Freisetzung
 2. Stimulierung der Nebenniere zur vermehrten Bildung von Androgenen
 3. Anregung des Ovars zur vermehrten Synthese von Androgenen
 4. im Fettgewebe werden diese Androgene in Östrogene umgewandelt
 5. diese Östrogene stimulieren zusammen mit dem Insulin die azyklische Pulsation von LH aus der Hypophyse
 6. LH stimuliert wiederum das Ovar zur Androgenproduktion
- [siehe Abbildung 3].

Damit schließt sich der verhängnisvolle Circulus vitiosus [7,75,101].

Die Insulinresistenz scheint beim PCOS selektiv nur das Fettgewebe und den Skelettmuskel bzw. den Glukosetransport und die Glykolyse zu betreffen [74]. Diese selektiven Unterschiede könnten eine Erklärung darstellen, warum die Hyperinsulinämie trotz der zugrunde liegenden Insulinresistenz dennoch Störungen auf ovarieller (Androgensekretion) und hepatischer (SHBG-Sekretion) Ebene induzieren kann [33].

Abbildung 3: Pathogenese

Pathogenese des PCOS



HPH = Hypophyse

NN = Nebenniere

LH = Luteinisierungshormon

SHBG = Sexual Hormon Bindingglobulin

→ Stimulation

→ Synthese

→ Inhibition

1.5 Kandidatengene des PCOS

Die Ursache und Entstehung vieler Erkrankungen kann häufig nicht nur durch so genannte Umweltfaktoren oder bestimmten Lebensgewohnheiten vollständig geklärt werden.

Oftmals ist aber gerade die Ursachenklärung wichtig, um eine sinnvolle Therapie entwickeln und einsetzen zu können.

Daher liegt eine große Erwartung und Hoffnung auf der Untersuchung des menschlichen Genoms. Dabei wird so genannten Kandidatengen eine große Rolle zuteil.

Dies sind Gene, die aufgrund ihrer Genprodukte eine ursächliche Rolle in der Pathogenese einer Krankheit spielen könnten.

Grundsätzlich können 2 verschiedene Gruppen von Kandidatengen für das PCOS unterschieden werden:

1. Gene, die im Stoffwechsel der weiblichen Sexualhormone eine Rolle spielen
2. Gene, die im Insulin- und Glukosestoffwechsel eine Rolle spielen.

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf den Effekt von Genen aus der zweiten Gruppe auf den Phänotyp des PCO-Syndroms.

1.5.1 Adiponektin-Gen (T45G Polymorphismus)

Das in den Fettzellen synthetisierte Hormon Adiponektin scheint vor Insulinresistenz zu schützen [91]. Mehrere Studien konnten belegen, dass Adipositas, welche unter anderem als Auslöser der Insulinresistenz diskutiert wird, mit signifikant erniedrigten Adiponektinplasmaspiegeln einhergeht [102,93]. Durch Gewichtsreduktion kann es zum Anstieg der Adiponektinproduktion kommen [106]. Hohe Adiponektinplasmaspiegel steigern die Insulinsensitivität und reduzieren somit das Risiko, an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken [95]. Ein häufiger Polymorphismus im Exon 2 des Adiponektingens (T45G) ist in einer Studie bei 371 deutschen, nicht-diabetischen Individuen mit einem signifikant erhöhten BMI und einer erniedrigten Insulinsensitivität verknüpft. [91].

Eine Studie an 219 japanischen Probanden konnte weder einen Zusammenhang mit Adiponektinserumspiegeln, noch mit Adipositas bei diesem Poly-

morphismus nachweisen [93]. Bei 245 taiwanesischen Probanden war jedoch das G Allel bei Probanden mit höherem BMI weniger vertreten [107].

Der T45G Polymorphismus des Adiponektingenes könnte tatsächlich eine Rolle in der Ätiologie der Adipositas und so auch möglicherweise des PCOS spielen. Dazu existieren bisher wenige Veröffentlichungen, die keinen kausalen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des Adiponektingenes und dem PCO-Syndrom herstellen konnten [72,105].

1.5.2 Calpain 10

Calpain 10 ist ein Mitglied der calpain-like cystein Proteasenfamilie.

Verschiedene Studien haben demonstriert, dass Calpain 10 in der Ätiologie des Diabetes mellitus Typ 2 und des PCOS von Bedeutung sein könnte [96,36,43]. Dabei könnten verschiedene Polymorphismen des Calpain 10 wie z.B. USCNP-43, 44, 19 und 63 eine Schlüsselposition einnehmen.

Für das C Allel des Polymorphismus USCNP 44 (Intron 3) findet sich eine Assoziation mit Diabetes mellitus Typ 2 [27].

In einer spanischen Studie mit PCO-Frauen fand sich die C-Allel-Variante des USCNP 44 (PCOS: C 23% / T 77%; Kontrolle: C 11% / T 89%) und des USCNP 19 Polymorphismus (PCOS: C 47%; Kontrolle: C 34%) im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne PCOS signifikant häufiger als der Wild-Type T [36]. Dies legt den Verdacht nahe, dass es in der Pathogenese des Diabetes mellitus und des PCO-Syndroms gemeinsame genetische Faktoren geben könnte.

Haddad et al. konnten in ihren Analysen der 4 USCNP Polymorphismen an 185 Frauen amerikanisch-mexikanischer Abstammung jedoch keine der oben genannten Vermutungen bestätigen [38]. Ehrmann et al. konnten an 212 amerikanischen PCOS-Frauen auch keine Verbindung zu den 3 DNA Polymorphismen USCNP-43, 19 und 63 darstellen [24].

Zum momentanen Zeitpunkt bleibt offen, ob CAPN 10 eine Schnittstelle zwischen PCOS und Typ2 DM sein könnte.

1.5.3 Helix/Forkhead Transkriptionsfaktor Gen FOXC2

Verschiedene Experimente an Nagetieren führten zu der Erkenntnis, dass das FOXC2 Gen an der Entstehung von Adipositas, Hypertriglycerinämie, Insulinresistenz und damit des Typs 2 Diabetes beteiligt sein könnte [50,70].

In einer Studie an Pima Indianern sequenzierte man zwei Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNP) C-512T und G-350T der putativen Promotorregion (638 bp der 5´Region). Beide SNP´s konnten nicht mit dem Diabetes mellitus Typ 2 in Verbindung gebracht werden, da sie weder mit einem Defekt in der Insulinsekretion noch mit Insulinresistenz assoziiert waren. Jedoch hatten -512T (T/T) homozygote Probanden einen niedrigeren BMI, als heterozygote (C/T) und homozygote Probanden C-512 (C/C) [50].

In einer japanischen Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied dieser SNP´s zwischen diabetischen und nicht-diabetischen Probanden festgestellt werden [70]. Lediglich eine schwedische Kohorte ließ darauf schließen, dass eine erhöhte Expression des homozygoten -512T (T/T) SNP des FOXC2 Gens vor Insulinresistenz schützen könnte. Das T Allel war mit erhöhter Insulinsensitivität und erniedrigten Plasma-Triglycerin-Werten assoziiert.

Ob das FOXC2 Gen auch beim PCOS von Bedeutung sein könnte, ist bisher nur unzureichend geprüft worden [79].

1.5.4 IRS-1 (Gly972Arg Polymorphismus)

Das Insulin-Rezeptor-Substrat-1 Gen (IRS-1) kodiert Schlüsselproteine der Insulinsignaltransduktion. Aus diesem Grund wird vermutet, dass u.a. Mutationen im IRS-1-Gen für das Auftreten von Insulinresistenz verantwortlich sind. Bisher wurde in verschiedenen Studien kein Anhalt auf vermehrte Mutationen in IRS-1 Genen bei PCOS -Patientinnen gefunden [96,25]. El Mkaem et al. verglichen unter PCOS-Frauen die Wildtypvariante G/G des Gly972Arg Polymorphismus von IRS-1 mit der Heterozygoten Form G/C, und es zeigten sich signifikante Unterschiede der Insulinkonzentrationen und Insulinresistenz [26].

1.5.5 IRS-2 (Gly1057Asp Polymorphismus)

Insulin-rezeptor-substrate 2 scheint eine bedeutende Rolle in der Signalübertragungskette des Insulins zu spielen. Liegt beispielsweise eine Störung des IRS-2 bei Mäusen vor, so erkranken diese an Diabetes mellitus Typ 2 [104]. Mehrere Studien an verschiedenen ethnischen Populationen kamen bei der Untersuchung des Gly1057Asp Polymorphismus des IRS-2-Genes zu kontroversen Ergebnissen bezüglich der Ätiologie des Diabetes mellitus Typ 2 und dem Polyzystischem Ovarien Syndrom.

Pima-Indianer mit einem homozygoten Allel für Asp1057 (Asp/Asp) erkranken häufiger an Diabetes mellitus Typ 2 als Heterozygote (Gly/Asp) und Homozygote für Gly1057 (Gly/Gly) [86].

In einer italienischen Population scheint dieser Effekt vom BMI abhängig zu sein. Während das Risiko, an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken, bei schlanken Individuen mit dem Asp1057 Allel verringert ist, scheinen Adipöse ein erhöhtes Risiko zu tragen [18]. Glukosetolerante dänische Männer, die das Asp1057 Allel tragen, hatten während eines oGTT's erniedrigte Seruminsulin- und C-Peptid-Spiegel [4].

Sowohl bei Finnen und Chinesen als auch bei Schweden und Deutschen konnte keine Assoziation dieses Polymorphismus mit dem Typ2 DM bestätigt werden [101, 4., 29]. Erst wenige Studien untersuchten diesen Polymorphismus bezüglich des PCO-Syndroms.

El Mkaem et al. assoziierten das Asp1057 Allel bei Frauen mit PCOS mit erniedrigter Insulinsensitivität und einer gestörten Glukosetoleranz [26].

Im Gegensatz dazu postulierten Ehrmann et al., dass das Gly1057 Allel mit höheren 2h-Plasmaglukose Konzentrationen während eines oGTT's und damit mit einer gestörten Glukosetoleranz einhergeht.

Es bedarf weiterer Untersuchungen zur Klärung, ob Gly1057Asp Polymorphismus die Insulinsensitivität bei Frauen mit PCOS beeinflussen kann.

1.5.6 PPAR Gamma

Die Peroxisome Proliferator-Activated Rezeptoren (PPAR's) sind ein Mitglied der Nuclear-Hormon-Subfamilie und regulieren die Transkription verschiedener Gene. Inzwischen sind drei Subtypen PPAR-alpha, -delta und -gamma identifiziert worden.

PPAR gamma, ein Protein von 60 kD, wird in drei Isoformen PPAR gamma 1, 2 und 3 anhand seiner 5'Primer Enden unterteilt [68].

Aus verschiedenen Studien geht hervor, dass PPAR gamma die Insulinsensitivität aber auch die Androgenbiosynthese im Ovar und die ovarielle Funktion beeinflussen kann [56]. Zusätzlich ist PPAR gamma in die Differenzierung der Adipozyten und die Expression adipozytenspezifischer Gene involviert [68,19]. Alle zuvor genannten Faktoren nehmen in der Pathogenese des PCOS und der Glukoseintoleranz eine Schlüsselposition ein.

Der Pro12Ala Polymorphismus im PPAR gamma2 Gen ist inzwischen als wichtiger mit Diabetes mellitus Typ 2 und Insulinresistenz assoziierter Polymorphismus erkannt worden. Das Risikoallel ist hierbei das häufiger vorkommende Pro Allel. [90]

Manami et al. untersuchten 218 an PCOS erkrankte Frauen mit Hilfe des oralen Glukose Toleranz Tests (OGTT). Zusätzlich wurde der Pro 12 Ala Polymorphismus typisiert. Die Probandinnen mit dem Ala Allel waren insulinempfindlicher. Die gemessenen Androgenspiegel (Gesamt- und freies Testosteron) waren bei Frauen mit dem Ala Allel erniedrigt, wenn auch nicht statistisch signifikant. Daraus wurde geschlossen, dass der Pro 12 Ala Polymorphismus des PPAR gamma Gens die Insulinresistenz auch bei Frauen mit PCOS modifizieren könnte [56].

1.6 Fragestellung

Ziel der folgenden Arbeit ist es, eine Gruppe von Frauen mit nachgewiesenem PCO-Syndrom metabolisch zu charakterisieren und mit einer Kontrollpopulation von Frauen ohne PCO Syndrom zu vergleichen. Weiterhin soll untersucht werden, ob Polymorphismen in Kandidatengenen für Diabetes mellitus Typ 2 auch bei Frauen mit PCOS häufiger vorkommen. Außerdem sollte geprüft werden, ob diese Polymorphismen auch mit Insulinresistenz und anderen zu Diabetes führenden metabolischen Charakteristika bei Frauen mit PCOS zusammenhängen.

2. Material und Methoden

2.1 Studienaufbau

Im Rahmen der „Tübinger Familienstudie für Diabetes mellitus Typ 2“ (TÜFF) wurden uns Probandinnen von der Tübinger Universitäts-Frauenklinik zugewiesen, bei denen zuvor die Verdachtsdiagnose PCO-Syndrom gestellt wurde. Ziel war, die metabolischen Auswirkungen und genotypischen Zusammenhänge näher zu beleuchten.

Alle Probandinnen wurden im Vorfeld der Untersuchung mündlich und schriftlich über deren Durchführung und Ziele sowie deren möglichen Risiken unterrichtet (einschließlich: Anamnese, körperliche Untersuchung, Medikamente, Routineblutuntersuchungen und oraler Glukosetoleranztest).

Ein Votum der Ethikkommission (Pr. Nr. 422 2002 165/98) lag vor.

Zusätzlich wurden alle Probandinnen über mögliche genetische Untersuchungen aufgeklärt und eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

Die Teilnehmerinnen hatten zu jedem Zeitpunkt die Möglichkeit, ihr schriftlich erteiltes Einverständnis vollständig oder teilweise zurückzuziehen und die Untersuchung abzubrechen.

2.2 Probandinnen

2.2.1 Teilnahmevoraussetzung

Vorraussetzung für die Teilnahme an dieser Studie war die Erkrankung an einem diagnostisch gesicherten PCO-Syndrom.

Alle Probandinnen wurden aus der Kinderwunschsprechstunde der Tübinger Universitäts-Frauenklinik an uns weitervermittelt, sofern dort der Verdacht auf das PCO-Syndrom gestellt wurde.

Vorstellig in der Frauenklinik waren die Probandinnen aufgrund folgender Symptomatik:

1. unerfüllter Kinderwunsch über einem Jahr
2. Zyklusstörungen
3. vermehrter Haarwuchs, Akne und Alopezie
4. rasche Gewichtszunahme.

Bestand der Verdacht auf ein PCO-Syndrom, wurden sie zur weiteren Charakterisierung sowohl metabolisch als auch genetisch im Rahmen der gemeinsam angelegten Studie weiter untersucht.

Wir überprüften die Diagnose Polyzystisches Ovarien Syndrom anhand der Kriterien des Rotterdam Konsensus Workshops 2003 [80].

Folgende Parameter sollten erfüllt sein:

1. Persistierende Oligo/-Amenorrhoe oder nachgewiesene Anovulation
2. Polyzystische Ovarien, identifiziert durch transvaginale Ultrasonographie
3. Erhöhte Testosteronwerte (freies und Gesamttestosteron) und/oder erhöhte Dehydroepiandrosteronesulfat (DHEAS) und/oder Androstendionwerte.

Durch andere Kriterien diagnostizierte PCOS-Phänotypen wurden nicht eingeschlossen.

Besondere Aufmerksamkeit wurde im Vorfeld des oralen Glukosetoleranztests auf folgende Ausschlusskriterien gelegt:

- diagnostizierter Diabetes mellitus Typ2 oder andere Stoffwechselstörungen
- Einnahme von Medikamenten, welche bekanntermaßen die Blutzuckerregulation beeinflussen können (z.B Metformin, Sulfonylharnstoffe, Glitazone, Glukokortikoide)
- Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes, welche eine Malabsorption zur Folge hätten (z.B. Morbus Crohn, Collitis ulzerosa, Zöliaki, Malabsorptionssyndrom)
- Schwangerschaft und Stillzeit
- zur Testzeit bestehender Infekt.

2.2.2 Teilnehmer

Von ursprünglich 83 Frauen, die initial auf PCOS untersucht wurden, erfüllten 25 die oben genannten Kriterien nicht und wurden von den Analysen ausgeschlossen. Die verbleibenden 58 Frauen unterzogen sich dem Oralen Glucose Toleranz Test (oGTT).

Die Kontrollgruppe bestand aus gesunden, nicht diabetischen Frauen. Diese wurde zusammengestellt als Teil einer fortlaufenden Studie, die sich mit der Charakterisierung von prädiabetischen Phänotypen befasst [94]. Nur Frauen mit regulärem Menstruationszyklus und ohne Zeichen einer Hyperandrogenämie wurden berücksichtigt.

Beide Gruppen bestanden aus nicht-verwandten Personen.

Nicht in die Studie einbezogen wurden jene, die an einem manifesten Diabetes mellitus Typ 2 erkrankt waren. Daher wurden Frauen mit einem 2 Stunden Blutzucker > 11.1 mmol/l ausgeschlossen (nach WHO-Kriterien: > 11.1 mmol/l = Diabetes mellitus [42]). In der PCOS-Gruppe eine Person ($n = 1$) und in der Kontrollgruppe 33 ($n = 33$).

Der Hormonstatus der PCOS-Gruppe ist in Tabelle 3, die anthropometrischen und metabolischen Parameter beider Gruppen sind in Tabelle 1 und 2 gegenübergestellt (Kapitel 3.1.2-4).

2.3 Versuchsablauf

2.3.1 Vorbereitung

Alle Teilnehmerinnen wurden einige Tage vor der Untersuchung nach telefonischer Anmeldung über den Testablauf am Untersuchungstag schriftlich informiert.

Dies beinhaltete Folgendes:

Grundsätzlich sollte in den letzten Wochen vor der Untersuchung keine grundlegende Umstellung der Lebensweise (z.B. Ernährungsgewohnheit; sportliche Aktivität, Medikamentenumstellung) stattgefunden haben.

Vor Beginn des oGTT sollten alle Probandinnen eine Nahrungskarenz von 10 Stunden einhalten, dies beinhaltete auch Medikamenteneinnahmen (ausgenommen orale Kontrazeptiva).

Der Test fand jeweils morgens im Zeitraum von 8.30 Uhr bis 12.00 Uhr statt. Nahrungsaufnahme, Rauchen und körperliche Anstrengungen waren im Rahmen der Untersuchung den Probandinnen in diesem Zeitraum nicht gestattet.

Im Vorfeld des oGTT's erfolgte eine Blutentnahme aus einer Venenverweilkanüle (Vasofix Braunüle B. Braun Melsungen AG) zur Bestimmung der basalen Plasmakonzentration von Glukose, Insulin, C-Peptid und Glukagon.

In unserem Zentrallabor wurden folgende Routineparameter bestimmt: Blutbild, HDL- und LDL-Cholesterine, Lipoprotein a, Triglyceride, HB-A-1C, Elektrolyte, Kreatinin, Harnsäure, Leberenzyme sowie das CRP als Entzündungsparameter. Zusätzlich wurden alle Blutproben hinsichtlich Testosteron und Adiponektinserumspiegel im Zentrallabor untersucht.

2.3.2 Testdurchführung

Mit der Gabe von 75 g Glukose in 300ml Wasser (Dextro O.G-T.; F. Hoffmann-La Roche AG, Mannheim) wurde der oGTT gestartet.

Es folgten alle 30 Minuten bis zu einer Gesamtdauer von 120 Minuten weitere venöse Blutentnahmen zur Bestimmung der Plasmakonzentration von Glukose, Insulin, C-Peptid und Glukagon.

Nach dem oGTT wurden weitere Messungen durchgeführt:

- Anthropometrische Parameter wie Messung von Körpergewicht (in kg) und Körpergröße (in m) zur Ermittlung des Body-Mass-Index (BMI) [Gewicht in kg dividiert durch Körpergröße in Metern zum Quadrat]
- Messung von Taillenumfang in Höhe des Bauchnabels und Hüftumfang in Höhe der Spina iliaca anterior superior im Stehen mit einem Maßband zur Errechnung der Waste-Hip-Ratio (WHR) [Taillen- dividiert durch Hüftumfang]
- Bestimmung des Körperfettgehaltes mit der Bioelektrischen- Impedanz-Analyse und Errechnung des Lean-Body-mass (LBM) mit Hilfe eines Softwareprogramms
- Blutdruckmessung im Liegen unter Ruhebedingungen
- Überprüfung der Kardio-Pulmonalen Fitness durch die computerisierte Fahrradspiroergometrie (CPX)

2.3.3 Geräteaufbau

- Bioelektrischen- Impedanz- Analyse
BIA- 101, RJL Systems, Detroit, USA
- Softwareprogramm zur Errechnung des LBM
Body Composition Weight Management Program, Body Composition through Impedance Technology, Beta Test Version 0,9, Copyright RJL Systems 1989, RJL Systems 9930 Whithier, Detroit M/ 48224, USA
- computergesteuertes Fahrradergometer
ergometrics 800 S, Ergoline, Bitz, Germany
- Spiroergometriesystem
MedGraphics System Breeze Ex 3.02 A, USA) bestehend aus: Pneumotachograph (Flußmesser), O₂ Analysator, CO₂ Analysator, Rechneinheit, Drucker (BJC 250, Canon, Germany)

2.3.4 Anamnestische Daten

Zur genaueren Erfassung der Lebensumstände und Gewohnheiten sowie familiärer Erkrankungen der jeweiligen Probanden mussten diese während des Tests einen Fragebogen auszufüllen.

Der standardisierte Fragebogen umfasste folgende Punkte:

1. persönliche Daten zum Familienstand und Werdegang
2. Arbeitsplatzsituation, Freizeitverhalten, sportliche Betätigung
3. Vorerkrankungen der eigenen Person und der Familie
4. Medikamenteneinnahme
5. derzeitiges subjektives Befinden
6. Rauchen, Alkoholkonsum, spezielle Diäten, Ernährungsgewohnheiten, Gewichtsveränderungen (über einen Zeitraum)
7. Schwangerschaften.

2.4 Analytik

2.4.1 Aufbereitung der Blutproben

Zur Bestimmung der Blutparameter Glukose, Insulin, C-Peptid und Glukagon wird EDTA-Blut verwendet. Nur die Plasmaglukose wird sofort nach der jeweiligen Abnahme gemessen. Alle anderen Parameter werden später bestimmt, deshalb auf Eis gelagert und nach Testende bei 4°C und 4000 upm 7 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand pipetiert und bei –20°C eingefroren.

2.4.2 Verfahren zur Bestimmung der einzelnen Parameter

Für folgende Parameter im Plasma wurden unten aufgeführte Testverfahren verwendet:

<i>Glukose:</i>	Gerät:	YSI 2300 STAT plus
	Hersteller:	Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, USA
	Testprinzip:	Enzymatisches Testverfahren (Glukose-Oxidase)

<i>Insulin:</i>	Hersteller:	Abbott Laboratories, Tokio, Japan
	Testprinzip:	Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA)

<i>Glukagon:</i>	Hersteller:	Linco Research, St. Charles, USA
	Testprinzip:	Radioimmunoassay (RIA)

<i>C-Peptid:</i>	Hersteller:	Byk-Sangtec, Dietzenbach, Germany
	Testprinzip:	Radioimmunoassay (RIA)

Die Bestimmung von Adiponektin, Testosteron und den Routineparametern erfolgte im Zentrallabor. Die Hormonwerte der jeweiligen PCOS-Probandinnen wurden anamnestisch aus den Unterlagen der Frauenklinik übernommen.

2.4.3 Gen-Typisierung

Die PCR-Produkte wurden bidirektionell unter Verwendung eines "Dye terminator cycle sequencing ready reaction kit" sequenziert (ABI PRISM 310; Applied Biosystems, Foster City, CA). Die verschiedenen Nukleotidsubstitutionen wurden unter Verwendung von bereits beschriebenen Primern für IRS -1 Gly972Arg [92,89] und IRS-2 Gly1057Asp [29] CAPN10 SNP 43, SNP 44, SNP 45 [88] PPAR γ_2 Pro12Ala [90], FOXC2 C-512T [28] und Adiponektin T45G analysiert [91]. Alle genotypischen Ergebnisse wurden auf die Hardy-Weinberg-Verteilung überprüft. Alle Polymorphismen entsprachen der Hardy-Weinberg-Verteilung bis auf den Adiponektin T45G Polymorphismus.

Sequenzierung: Testname: ABI PRISM 310
 Hersteller: Applied Biosystems, Foster City, CA, USA
 Testprinzip: Dye terminator cycle sequencing ready kit

2.5 Berechnungen

2.5.1 Oraler Glukosetoleranztest (oGTT)

Folgende Werte wurden aus den Proben des oGTT bestimmt: Glukose und Insulin zu den Zeiten 0, 30, 60, 90, 120 min. Damit wurden einerseits die Glukosetoleranz und andererseits die Insulinsensitivität bestimmt.

Die pathologische Glukosetoleranz (IGT) ist definiert als ein 2 Stunden Blutzuckerwert im oGTT zwischen 140 und 200 mg/dl.

2 Stunden Blutzuckerwerte im oGTT über 200 mg/dl führen zur Diagnose Diabetes mellitus.

2.5.2 Insulinsensitivität

Der Insulinsensitivitätsindex wurde nach Matsuda et al. folgendermaßen berechnet: [58]

10,000 / Wurzel aus [Nüchtern Glucose x Nüchtern Insulin] x [gemittelte Glukosewerte x gemittelte Insulinwerte während des oGTTs]

2.5.3 Statistische Analysen

Alle verwendeten Daten werden - sofern nicht anders angegeben - als Mittelwert \pm SEM (standard error of the mean) dargestellt. Die Überprüfung auf Normalverteilung wurde mittels des Shapiro-Wilk W Tests durchgeführt. Nicht normalverteilte Parameter wurden logarithmisch transformiert, um vor der statistischen Auswertung eine Normalverteilung zu erlangen.

Um den Einfluss von Kovariaten auszugleichen und unabhängige Zusammenhänge zu finden, haben wir multiple lineare Regressionsanalysen durchgeführt und dabei Alter und Prozent Körperfettgehalt in das Modell aufgenommen.

Ein P-Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant gewertet. Genotypische Verteilungen wurden mit dem Chi-Quadrat Test verglichen und statistisch geprüft, dafür wurde das statistische Software-Paket JMP (SAS Institute, Cary, NC) verwendet. In der aktuellen Studie wurden die statistischen Tests nicht für multiple Vergleiche korrigiert. Acht verschiedene Polymorphismen aus sechs Genen wurden auf die Assoziation zum PCOS geprüft. Die Auswahl der einzelnen Polymorphismen basierte auf bereits existierenden Hypothesen.

3. Ergebnisse

3.1 Anthropometrische, metabolische und hormonelle Parameter

3.1.1 Allgemein

Wir untersuchten im Rahmen der Tübinger Familienstudie (TÜFF) 57 am PCO-Syndrom erkrankte Probandinnen aus dem süddeutschen Raum (Einzugsgebiet Tübingen).

Unsere Kontrollgruppe (KG) bestand aus 563 gesunden Frauen, als Teil einer fortlaufenden Studie, die sich mit der Charakterisierung von prädiabetischen Phänotypen befasst. Die Kontrollgruppe wurde nach folgenden Kriterien ausgewählt: weibliches Geschlecht, Alter zwischen 18 und 65 Jahren, Ausschluss einer Stoffwechsel- oder Hormonerkrankung.

3.1.2 Anthropometrische Daten

Bezüglich der anthropometrischen Daten stellten wir folgende Unterschiede fest: Die PCOS-Frauen waren im Schnitt 10 Jahre jünger als die Kontrollfrauen. Zudem waren die PCOS-Frauen deutlich adipöser als ihre Kontrollgruppe, dies ergab sich aus den erhöhten Werten für BMI, LBM und prozentualem Körperfettgehalt. Daher wurden die metabolischen Ergebnisse hinsichtlich Alter und Körperfett mit Hilfe einer multiplen linearen Regressionsanalyse korrigiert (siehe Tabelle 2 [p] Alter, % Körperfett).

Die WHR als Marker der Körperfettverteilung zeigte keinerlei Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Tabelle 1: Anthropometrische Daten

	PCOS-Gruppe	Kontroll-Gruppe	[p]
N	57	563	
Alter (in Jahren)	27.4 ± 1	38.9 ± 1	0.0001
BMI (kg/m²)	29.1 ± 0.9	26.1 ± 0.3	0.0003
WHR	0.83 ± 0.009	0.83 ± 0.003	0.58
LBM (kg)	49.9 ± 1.1	48.2 ± 0.25	0.05
% Körperfett	35.5 ± 1.1	31.5 ± 0.4	0.001

3.1.3 Metabolische Parameter

Die metabolischen Parameter, die während des oGTT erfasst wurden, sind in Tabelle 2 dargestellt. In beiden Gruppen gab es einen etwa gleich großen Anteil an Probanden mit normaler und bereits beeinträchtigter Glukosetoleranz (NGT/IGT: PCOS: 45/12 vs. KG 486/77; $p=0.16$). In der PCOS-Gruppe gab es einen signifikant geringeren Anteil derer mit Verwandten 1. Grades (FDR), die an einem T2 DM erkrankt sind (kein FDR / mindestens 1 FDR: PCOS: 44/13 vs. KG: 260/303; $p<0.0001$).

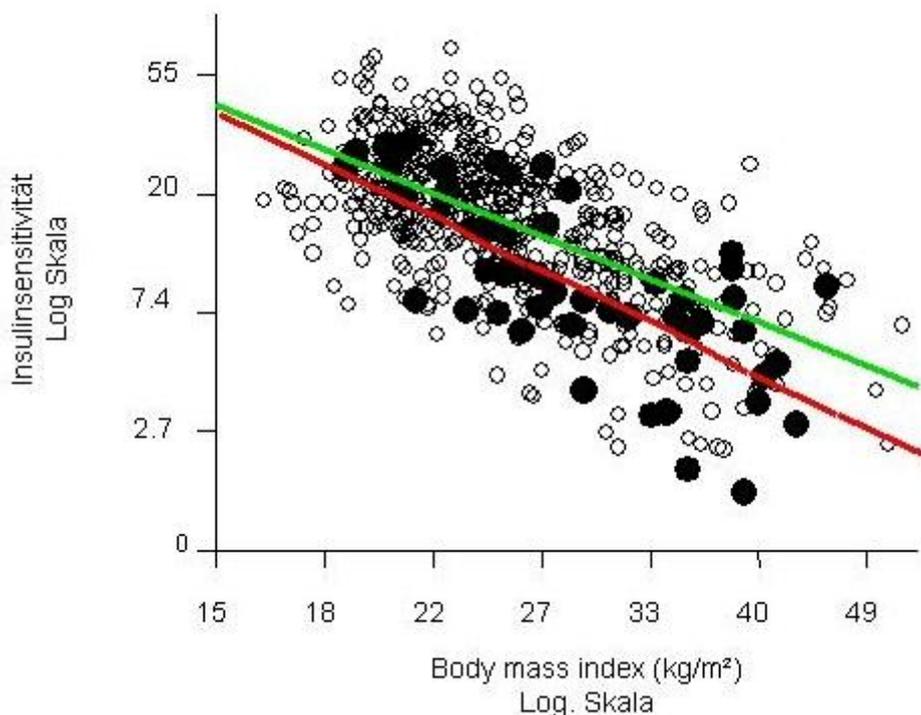
Beide Gruppen hatten einen annähernd gleichen Nüchternblutzucker (PCOS 4.97 ± 0.07 vs. KG 4.98 ± 0.02 ; $p=0.18$), der für den Test entscheidende 2 Stunden Blutzucker war dagegen bei den Probandinnen mit PCOS signifikant erhöht (PCOS 6.46 ± 0.2 vs. KG 6.00 ± 0.06 ; $p=0.03$).

Während die Nüchterninsulinspiegel (PCOS 79.0 ± 7.1 vs. KG 53.4 ± 1.8 , $p=0.02$) um 25% erhöht waren, zeigten die 2 Stunden Insulinspiegel sogar eine Erhöhung auf mehr als das Doppelte, im Vergleich zur Kontrollgruppe (PCOS 802 ± 137 vs. KG 341 ± 12 ; $p=0.0001$).

Die Frauen der PCOS-Gruppe waren deutlich weniger insulin sensitiv als die der Kontrollgruppe, was sich in der Insulinsensitivität widerspiegelt (PCOS 12.4 ± 1.1 vs. KG 19.1 ± 0.5 ; $p=0.0001$). Vergleicht man zudem beide Gruppen hin-

sichtlich ihrer Insulinsensitivität bezogen auf den BMI, so wird deutlich, dass eine PCO-Frau mit einem BMI von beispielsweise 33 noch zusätzlich insulinresistenter ist, als eine gleich adipöse gesunde Frau aus der Kontrollgruppe (Abb.4)

Abbildung 4: BMI versus Insulinsensitivität



○ Kontrollgruppe
● PCO-Gruppe

An PCOS erkrankte Frauen waren signifikant häufiger adipös. Diesen Fakt spiegelte einerseits ein höherer Body-Mass-Index (PCOS: 29.1 ± 0.9 vs. KG: 26.1 ± 0.3 ; $p=0.0003$), andererseits auch ein prozentual erhöhter Körperfettgehalt (PCOS: 35.5 ± 1.1 vs. KG: 31.5 ± 0.4 ; $p=0.001$) wider.

Außerdem fanden sich in der PCOS-Gruppe signifikant höhere Triglycerid-Werte (PCOS: 138 ± 11 vs. KG: 105 ± 3 ; $p=0.003$) und ein erniedrigtes HDL-Cholesterin (PCOS: 50 ± 2 vs. KG: 60 ± 1 ; $p=0.0001$). Die anderen Lipidparameter, wie das Gesamtcholesterin und das LDL-Cholesterin, waren in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Zwischen den Adiponektinserumspiegeln beider Gruppen konnten keine relevanten Unterschiede notiert werden (PCOS: 11.7±0.9 vs. KG: 13.3±0.3; p=0.32).

Tabelle 2: Metabolische Parameter

	PCOs	Weibliche Kontrollgruppe	[p]	[p] ****
N	57	563		
NGT / IGT	45/12	486/77	0.16	
Kein FDR / mindestens 1 FDR	44/13	260/303	<0.0001	
nüchtern Glukose (mmol/L)	4.97 ± 0.07	4.98 ± 0.02	0.89	0.18
**2-h Glukose (mol/L)	6.46 ± 0.2	6.00 ± 0.06	0.03	0.03
nüchtern Insulin (pmol/L)	79.0 ± 7.1	53.4 ± 1.8	0.0001	0.02
**2-h Insulin (pmol/L)	802 ± 137	341 ± 12	0.0001	0.0001
Nüchtern freie Fettsäuren	584 ± 27	554 ± 10	0.35	0.12
**2-h freie Fettsäuren (µmol/L)	82 ± 5	66 ± 2	0.008	0.01
Triglyceride (mg/dl)	138 ± 11	105 ± 3	0.001	0.003
Gesamtcholesterol (mg/dl)	181 ± 5	193 ± 2	0.02	0.33
HDL Cholesterol (mg/dl)	50 ± 2	61 ± 1	0.0001	0.0001
LDL Cholesterol (mg/dl)	111 ± 4	116 ± 2	0.30	0.80
***Insulin Sensitivität (OGTT)	12.4 ± 1.1	19.1 ± 0.5	0.0001	0.0001
Serum Adiponektin (µg/L)	11.7 ± 0.9	13.3 ± 0.3	0.09	0.32
*Testosteron (ng/dl)	62 ± 5	*41 ± 2	0.0001	0.01

* Testosteron in der Kontrollgruppe nur bei 214 Frauen gemessen.

** 2-h-Wert aus dem oGTT

*** berechnet nach der Formel von Matsuda et al.

**** adjustiert für Alter und Körperfettanteil in Prozent

Die Daten sind als Mittelwert ±SEM dargestellt.

3.1.4 Hormonstatus und Ultraschallbefund

Der Hormonstatus und der Ultraschallbefund der PCOS- Gruppe wurden durch die Universitäts-Frauenklinik erhoben und verhielten sich folgendermaßen:

Tabelle 3: Hormonstatus PCOS

Hormon	Serumwert	Referenzwert
FSH (mU/ml)	5.04±0.23	2.0-10.0
LH (mU/ml)	12.7±1.4	2.0-10.0
LH/FSH	2.5	>2.0
Androstendion (ng/ml)	3.0±0.7	<3.0
Estradiol (pg/ml)	61±6	40-120
Progesteron (ng/ml)	3.5±1.8	0.2-1.0
Prolaktin (mU/L)	302±23	100-500
SHBG (nmol/L)	47±7	30-90
DHEA-Sulfat (ng/ml)	2100±192	1300-3200
Testosteron (ng/dl)	62 ± 5	<30

Die LH-Spiegel der PCOS-Frauen lagen leicht oberhalb des Normbereiches. Der LH/FSH-Quotient zeigte im Absolutwert eine Erhöhung um 0.5. Wir betrachteten die Werte zudem im Einzelnen, dabei zeigte sich folgendes: bei 43 von 54 Frauen betrug der LH/FSH-Quotient > 2, dies entspricht 79% der PCOS-Frauen. Bei 3 von 57 Frauen konnte der Quotient wegen fehlender LH oder FSH-Werte nicht bestimmt werden.

Testosteron wies bei den PCOS-Frauen gegenüber der Kontrollgruppe erhöhte Werte auf (PCOS: 62 ± 5 vs. KG: 41 ± 2; p=0.01, Tab.2).

Alle anderen Werte, bis auf Progesteron, lagen im Normbereich.

Der sonographische Befund der PCOS-Frauen wurde als positiv bewertet, wenn sich ein- oder beidseitig mehrere Zysten darstellen ließen (Abb.2).

Insgesamt entsprechen sowohl die Hormonwerte als auch der Ultraschallbefund unserer PCOS-Probandinnen den Empfehlungen des Rotterdam Konsensus Workshops [80].

Da die Frauen der Kontrollgruppe Teil einer Langzeitstudie sind, in der hormonelle Störungen nicht im Vordergrund stehen, wurde zum Zeitpunkt der Untersuchung kein vollständiger Hormonstatus erhoben. Alle Frauen wiesen jedoch keine Menstruationsstörungen oder Anzeichen einer Hyperandrogenämie auf.

Tabelle 4: Ultraschallbefund der Frauenklinik Tübingen

PCOS - Probandinnen	Negativer Ultra- schallbefund	Einseitig positiver Ultraschallbefund	Beidseitig positiver Ultraschallbefund
57	5	47	5

3.2 Verteilung der Genotypen

Bei am PCO-Syndrom erkrankten Frauen fanden wir eine signifikant höhere Anzahl an homozygoten Trägern des G-Allels des T45G Polymorphismus des Adiponektins verglichen mit dem T-Allel als in der Kontrollgruppe (PCOS: G/G 13.2% vs KG: G/G 2.6%; $p=0.008$) (Tabelle 5).

Da bei den Frauen mit PCOS und bei der Kontrollgruppe die Häufigkeit der Probanden mit erstgradigen Verwandten mit Diabetes Typ 2 unterschiedlich war, wiederholten wir die Analyse nur mit Probanden ohne positive Familienanamnese auf Diabetes mellitus Typ 2. Das initial signifikante Ergebnis konnte auch in der zweiten Auswertung bestätigt werden (PCOS: G/G 15% vs. KG: G/G 1.7%; $P=0.002$) (Tabelle 6).

Alle anderen getesteten Polymorphismen (IRS-1 Gly972Arg, IRS-2 Gly1057Asp, CAPN10 SNP 43,44 und 45, PPAR Gamma 2 Pro12Ala and FOXC2 C-512T) zeigten keine signifikante Assoziation zum PCOS (alle $p>0.5$), (Tabelle 5 und 6).

Tabelle 5: Aufschlüsselung aller Genotypen nach Allelen in PCOS-G und K-G

	<i>PCO-Syndrom</i>			<i>Weibliche Kontrollen</i>			<i>*p χ^2</i>
IRS 1 [Gly972Arg]	¹ G/G ² 50 ³ 89.29	G/A 6 10.71	A/A 0 0	¹ G/G ² 272 ³ 86.08	G/A 44 13.92	A/A 0 0	0.539
IRS 2 [Gly1057Asp]	G/G 21 41.18	G/A 21 41.18	A/A 9 17.65	G/G 226 42.16	G/A 241 44.96	A/A 69 12.87	0.639
CAPN 10 [SNP 43, Pos. 22762]	G/G 27 50.94	G/A 19 35.85	A/A 7 13.21	G/G 281 52.72	G/A 220 41.28	A/A 32 6.00	0.183
CAPN 10 [SNP 44, Pos. 22751]	C/C 1 1.89	C/T 12 22.64	T/T 40 75.47	C/C 14 2.63	C/T 142 26.64	T/T 377 70.73	0.752
CAPN 10 [SNP 45, Pos. 22705]	A/A 46 86.79	A/C 7 13.21	C/C 0 0	A/A 465 87.24	A/C 63 11.82	C/C 5 0.94	0.599
PPAR γ [Pro12Ala]	P/P 43 81.13	P/A 9 16.98	A/A 1 1.89	P/P 407 74.54	P/A 133 24.36	A/A 6 1.10	0.425
FOXC2 [T512]	C/C 6 13.64	C/T 22 50.00	T/T 16 36.36	C/C 81 16.53	C/T 246 50.20	T/T 163 33.27	0.847
Adiponektin \S [T45G]	T/T 38 71.70	G/T 8 15.09	G/G 7 13.21	T/T 414 76.38	G/T 112 20.66	G/G 16 2.59	0.008

p χ^2 -Test 3 Gruppen,

¹ Polymorphismus

² N

³ %

\S nicht in Hardy-Weinberg Anpassung

Tabelle 6: Tabelle 5 ohne Probanden mit positiver Diabetes-Familienanamnese

	<i>PCO-Syndrom</i>			<i>Weibliche Kontrollgruppe</i>			<i>*pχ^2</i>
IRS 1 [Gly972Arg]	¹ G/G ² 37 ³ 86.05	G/A 6 13.95	A/A 0 0	¹ G/G ² 112 ³ 83.58	G/A 19 14.18	A/A 0 0	0.428
IRS 2 [Gly1057Asp]	G/G 16 42.11	G/A 16 42.11	A/A 6 15.79	G/G 92 38.66	G/A 107 44.96	A/A 39 16.39	0.920
CAPN 10 [SNP 43, Pos. 22762]	G/G 22 55	G/A 13 32.5	A/A 5 12.5	G/G 116 42.18	G/A 98 35.64	A/A 21 7.64	0.498
CAPN 10 [SNP 44, Pos. 22751]	C/C 0 0	C/T 10 25	T/T 30 75	C/C 7 2.98	C/T 58 24.68	T/T 170 72.34	0.327
CAPN 10 [SNP 45, Pos. 22705]	A/A 33 82.5	A/C 7 17.5	C/C 0 0	A/A 207 88.09	A/C 25 10.64	C/C 3 1.28	0.317
PPAR γ [Pro12Ala]	P/P 34 85.0	P/A 5 12.5	A/A 1 2.5	P/P 176 72.73	P/A 64 26.45	A/A 2 0.83	0.990
FOXC2 [T512]	C/C 3 9.09	C/T 17 51.52	T/T 13 39.39	C/C 41 18.47	C/T 111 50.0	T/T 70 31.53	0.324
Adiponektin [T45G]	T/T 28 70	G/T 6 15	G/G 6 15	T/T 185 76,45	G/T 53 21.9	G/G 4 1.65	0.002

p χ^2 -Test 3 Gruppen, ohne FHD

¹Polimorphismus, ² N , ³ %

3.3 Auswirkungen der Genotypen auf die Phänotypen des PCOS

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, zu überprüfen, ob Frauen mit PCO-Syndrom einen durch diese Polymorphismen beeinflussten unterschiedlichen Phänotyp bezüglich Insulinsensitivität, Glukose- und Fettstoffwechsel zeigen als Frauen ohne PCO-Syndrom. Aus den in dieser Arbeit bisher gefundenen Ergebnissen und aus der Literatur geht hervor, dass Frauen mit PCO-Syndrom beispielsweise insulinresistenter sind als Frauen ohne PCO-Syndrom. Ebenfalls ist zu den in dieser Arbeit geprüften Polymorphismen bekannt, dass sie mit Diabetes mellitus und Insulinresistenz assoziiert sein können. Um den spezifischen Beitrag dieser Polymorphismen zur Entstehung des insulinresistenten Phänotyps beim PCO-Syndrom zu testen, ist die Hypothese zu prüfen, ob diese Polymorphismen bei Frauen mit PCO-Syndrom einen anderen (z.B. „insulinresistenteren“) Phänotyp erzeugen als bei Frauen ohne PCO-Syndrom.

Um dies zu testen, verwendeten wir multiple lineare Regressionsanalysen unter Einbeziehung der jeweiligen Polymorphismen, der Variablen PCO ja/nein sowie Alter und Körperfettzusammensetzung. Für die Variablen PCO ja/nein und das Vorliegen des jeweiligen Polymorphismus (ja/nein) wurde ein Interaktions-Term gebildet.

Die getesteten metabolischen Variablen sind in Tabelle 7 aufgeführt. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Ein signifikantes p beispielsweise für den IRS1 Polymorphismus im 2 Stunden Insulinwert in Tabelle 7 bedeutet, dass Frauen mit PCOS eine signifikant andere Veränderung des Insulinspiegels durch den IRS1-Polymorphismus haben als Frauen ohne PCOS.

Es zeigt sich, dass bei Frauen mit PCOS nur für den IRS1 Gly972Arg Polymorphismus, den IRS2 Gly1057Asp Polymorphismus und den Adiponektin T94G Polymorphismus ein Unterschied gegenüber der Kontrollpopulation bezüglich der getesteten metabolischen Parameter gefunden wird.

Um die Auswirkungen zu quantifizieren, wurden für den IRS1 Gly972Arg, den IRS2 Gly1057Asp Polymorphismus und den Adiponektin T94G Polymorphismus die Auswirkungen auf die jeweiligen Metabolismusparameter quantifiziert (siehe Tabelle 8).

3.3.1 Adiponektin T45G Polymorphismus (Tab 7,8)

Es wurde eine statistisch signifikante beeinflussende Auswirkung des Adiponektin T45G Polymorphismus auf die Nüchtern-Insulinspiegel bei Frauen mit und ohne PCOS gefunden ($p=0.03$; Tabelle 7).

Die Trägerinnen des G-Allels zeigten niedrigere nüchtern Insulinspiegel, verglichen mit den homozygoten Trägerinnen des T-Allels (PCOS GT+GG 61 ± 9 vs. PCOS TT 88 ± 10 pmol/l; $p=0.02$, Tabelle 8), während sich in der Kontrollgruppe kein Unterschied zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen dieses Polymorphismus zeigte. Eine tendenziell höhere Insulinsensitivität - kalkuliert aus dem oGTT - konnte ebenfalls bei Trägerinnen des G-Allels mit PCOS entdeckt werden (PCOS: GT+GG 14.4 ± 2.3 vs. TT 11.2 ± 1.2 ; $p=0.1$, Tabelle 8), nicht dagegen jedoch bei der Kontrollgruppe.

Insgesamt zeigt sich, dass das Vorliegen des mit Insulinresistenz und Diabetes mellitus verknüpften Risikoallels bei Frauen mit PCOS mit einem eher insulin-sensibleren Phänotyp verbunden ist. Somit ist unwahrscheinlich, dass dieser Polymorphismus für die Insulinresistenz speziell bei PCOS verantwortlich ist.

3.3.2 Gly972Arg- in IRS-1 und Gly1057Asp-Polymorphismus in IRS-2 (Tab 7,8)

Bei PCOS-Frauen wurde ein beeinflussender Effekt von Gly972Arg im IRS-1 und Gly1057Asp im IRS-2 auf die 2 Stunden Insulinspiegel (jeweils $p=0.004$ und 0.04) und zusätzlich bei Gly972Arg im IRS-1 Auswirkungen auf den Insulinsensitivitätsindex und die 2 Stunden Blutglukosewerte (jeweils $p=0.07$ und 0.05 , Tabelle 7) gefunden. Bei an PCOS erkrankten Frauen zeigten die Trägerinnen des Arg-Allels niedrigere 2 Stunden Insulinspiegel verglichen mit den homozygoten Trägerinnen des Gly-Allels (Arg: 291 ± 124 vs. Gly: 862 ± 153 pmol/l, $p=0.002$), ebenso eine höhere Insulinsensitivität (Arg: 20.9 ± 4.4 vs. Gly: 11.5 ± 1.1 U, $p=0.03$). Zudem zeigten diese Trägerinnen des Arg-Allels auch verminderte postprandiale Blutzuckerwerte (Arg: 5.1 ± 0.5 vs. Gly: 6.6 ± 0.2 mmol/l, $p=0.009$).

Frauen mit PCOS, die das seltene Asp-Allel des IRS-2 GLy/Asp-Polymorphismus tragen, zeigten tendenziell niedrigere 2 Stunden Insulinspiegel als die homozygoten Trägerinnen des Gly-Allels (676 ± 218 vs. 891 ± 205 pmol/l, $p=0.12$). In der Kontrollgruppe dagegen verhielt sich dieser Zusammenhang genau entgegengesetzt (359 ± 20 vs. 328 ± 16 pmol/l, $p=0.13$).

Insgesamt zeigt sich auch bei diesen Polymorphismen, dass das Vorliegen des mit Insulinresistenz und Diabetes mellitus verknüpften Risikoallels in den IRS-proteinen bei Frauen mit PCOS mit einem eher insulinsensibleren Phänotyp verbunden ist. Somit ist unwahrscheinlich, dass diese Polymorphismen für die Insulinresistenz speziell bei PCOS verantwortlich sind.

Alle anderen überprüften Polymorphismen zeigten keine signifikanten Unterschiede in metabolischen Parametern bei Trägerinnen oder Nichtträgerinnen gleich welcher Gruppen (Daten sind nicht dargestellt).

Tabelle 7: Beeinflussende Auswirkungen der Genotypen und An- oder Abwesenheit des PCOS anhand metabolischer Parameter

Genotypen: Wildtyp vs. gemischt Hetero- und Homozygoten Mutationsträger)

In den multivariaten Regressionsanalysen wurden alle Modelle nach den Kovariaten Alter und % Körperfett mathematisch korrigiert.

<i>Kovarianten:</i> Alter / % Körperfett	<i>IRS 1</i> [Gly972Arg]	<i>IRS 2</i> [Gly1057Asp]	<i>CAPN10</i> SNP43	<u>CAPN10</u> SNP44	<i>CAPN10</i> SNP45	<i>PPAR γ2</i> [Pro12Ala]	<i>FOX-Promotor</i> [T512]	<u>Adiponek-</u> <u>tin</u> [T45G]
nüchtern Glucose (mmol/L)	0.27	0.16	0.72	0.28	0.51	0.53	0.86	0.68
2-Hr Glucose (mmol/L)	0.05	0.10	0.52	0.66	0.11	0.59	0.73	0.94
nüchtern Insulin (pmol/L)	0.24	0.26	0.36	0.65	0.57	0.72	0.57	0.03
2-Hr Insulin (pmol/L)	0.004	0.04	0.78	0.65	0.33	0.36	0.55	0.43
Insulinsensitivität (OGTT)	0.07	0.11	0.69	0.97	0.13	0.51	0.33	0.22
Nüchtern FFA (μ mol/L)	0.48	0.13	0.71	0.88	0.04	0.56	0.75	0.81
FFA 120 (μ mol/L)	0.93	0.79	0.86	0.51	0.34	0.19	0.43	0.24
Triglyceride (mg/dl)	0.84	0.07	0.94	0.95	0.14	0.32	0.91	0.14
Gesamtcholesterol (mg/dl)	0.30	0.50	0.77	0.56	0.14	0.74	0.88	0.06

Tabelle 8: Anthropometrische und metabolische Merkmale als eine Funktion der Genotypen Adiponektin [T45G] und IRS-1 [Gly972Arg] Patientinnen mit PCOS verglichen zu den Kontrollfrauen. Die Daten sind gemittelt ± SEM.

	<u>PCOS</u>	<u>PCOS</u>	<u>P</u>	<u>KONTROL- LEN</u>	<u>KONTROLLEN</u>	<u>P KON- TROLLEN</u>	<u>P</u> Interaktion
			<u>PCOS</u>				
Adiponektin [T45G]	TT	GT + GG		TT	TG + GG		
Alter (in Jahren)	28 ± 1	26 ± 2	0.49	39 ± 1	38 ± 1	0.11	
BMI (kg/m ²) (angepasst Alter)	29.7 ± 1.2	27.9 ± 1.9	0.99	25.8 ± 0.7	26.7 ± 0.5	0.36	0.16
PFAT (%) (angepasst Alter)	35.8 ± 1.4	34.6 ± 1.7	0.73	31.1 ± 0.5	33.0 ± 1.7	0.01	0.35
nüchtern Glucose (mmol/L)	5.01 ± 0.09	4.99 ± 0.09	0.92	4.98 ± 0.03	4.98 ± 0.06	0.87	0.68
2-Hr Glucose (mmol/L)	6.55 ± 0.28	6.27 ± 0.25	0.71	4.99 ± 0.08	4.99 ± 0.12	0.83	0.94
nüchtern Insulin (pmol/L)	88 ± 10	61 ± 9	0.02	53 ± 2	54 ± 3	0.89	0.03
2-Hr Insulin (pmol/L)	914 ± 196	601 ± 130	0.25	343 ± 15	334 ± 23	0.31	0.43
Insulinsensitivität (OGTT)	11.2 ± 1.2	14.4 ± 2.3	0.10	19.3 ± 0.5	18.4 ± 0.9	0.30	0.22
nüchtern FFA (µmol/L)	591 ± 34	566 ± 53	0.71	557 ± 12	541 ± 22	0.29	0.81
FFA 120 (µmol/L)	88 ± 6	70 ± 9	0.26	66 ± 3	66 ± 4	0.69	0.24
Triglyceride (mg/dl)	146 ± 13	128 ± 27	0.23	105 ± 4	104 ± 5	0.97	0.14
Gesamtcholesterol (mg/dl)	187 ± 5	167 ± 9	0.12	193 ± 2	194 ± 3	0.66	0.06
IRS-1 [Gly972Arg]	Gly/Gly	Gly/Arg+Arg/Arg		Gly/Gly	Gly/Arg+Arg/Arg		
Alter (in Jahren)	27 ± 1	27 ± 3	0.71	37 ± 1	37 ± 1	0.95	
BMI (kg/m ²) (angepasst Alter)	29.1 ± 0.9	26.7 ± 2.9	0.39	26.3 ± 0.4	25.7 ± 0.7	0.71	0.46
PFAT (%) (angepasst Alter)	35.5 ± 1.1	34.7 ± 4.0	0.75	31.4 ± 0.6	31.5 ± 1.2	0.75	0.25
nüchtern Glucose (mmol/L)	5.00 ± 0.07	4.71 ± 0.24	0.19	4.91 ± 0.04	4.91 ± 0.08	0.89	0.27
2-Hr Glucose (mmol/L)	6.6 ± 0.2	5.1 ± 0.5	0.009	5.8 ± 0.1	5.7 ± 0.2	0.37	0.05
Nüchtern Insulin (pmol/L)	80 ± 8	63 ± 25	0.11	54 ± 3	48 ± 5	0.26	0.24
2-Hr Insulin (pmol/L)	862 ± 153	291 ± 124	0.002	323 ± 17	295 ± 37	0.08	0.004
Insulinsensitivität (OGTT)	11.5 ± 1.1	20.9 ± 4.4	0.03	19.5 ± 0.7	22.3 ± 2.1	0.17	0.07
Nüchtern FFA (µmol/L)	573 ± 29	615 ± 86	0.64	531 ± 15	521 ± 38	0.47	0.48
FFA 120 (µmol/L)	81 ± 5	82 ± 9	0.47	62 ± 3	72 ± 9	0.42	0.93
Triglyceride (mg/dl)	131 ± 11	162 ± 52	0.52	98 ± 4	122 ± 20	0.31	0.84
Gesamtcholesterol (mg/dl)	178 ± 5	198 ± 17	0.21	192 ± 2	194 ± 5	0.64	0.30

4. Diskussion

4.1 Allgemein

Das polyzystische Ovar Syndrom ist eine komplexe Erkrankung multifaktorieller Genese mit vielen Gesichtspunkten. In den letzten Jahren sind neben den vielschichtigen Störungen des Hormonhaushaltes vor allem Veränderungen des Insulinstoffwechsels in den Vordergrund getreten. Einerseits spielt Insulin im Rahmen von metabolischen Störungen eine bedeutende Rolle, andererseits könnte Insulin einen möglichen Störfaktor im Hormonkreislauf des PCOS darstellen. Außerdem stehen genetische Dispositionen als Trigger zum Ausbrechen der metabolischen Störungen im Fokus der Diskussion. Diese Arbeit stellt sich zur Aufgabe, sowohl die verschiedenen Auswirkungen der metabolischen Charakteristika (anthropometrische Parameter, Insulinsensitivität, Adipositas, Adiponektin, Besonderheiten des Androgenhaushaltes), als auch insbesondere Auswirkungen ausgewählter Typ 2-Diabetes-Kandidatengene (IRS-1, IRS-2, CAPN 10, PPAR, FOX-C2, Adiponektingen) im Bezug auf das PCOS näher zu beleuchten.

4.2 Metabolische Charakteristika und Betrachtung des Hormonhaushaltes einschließlich der Adiponektinserumspiegel

4.2.1 Anthropometrische Parameter

Das PCO-Syndrom ist ein komplexes endokrinologisches Krankheitsbild, welches vorwiegend in jungen Jahren diagnostiziert wird. Im Rahmen der Entwicklung des weiblichen Organismus (Pubertät) treten die Störungen des Hormonstoffwechsels frühzeitig in den Vordergrund. Damit ist zu erklären, warum in der vorliegenden Studie die Gruppe der PCOS-Probandinnen deutlich jünger als die Gruppe der Kontrollfrauen ist. Betrachten wir die Parameter zur Beurteilung der Adipositas, so ergeben sich deutlich erhöhte Werte für den BMI und den prozentualen Körperfettgehalt in der PCOS-Gruppe. Damit bestätigt sich die Beobachtung vorhergehender Studien, dass das PCO-Syndrom bei vielen Patientinnen mit Adipositas einhergeht [13,39]. Betrachtet man davon differenziert die WHR, die Aufschluss über die Fettverteilung des Körpers gibt, so ergeben sich keinerlei Unterschiede zwischen beiden Gruppen. In beiden Gruppen ergibt sich

ein Wert kleiner 0,85, dies entspricht einer gynoiden Fettverteilung (sogenannte „Birnenform“). Dies legt nahe, dass Patientinnen mit PCOS zwar deutlich adipöser als gesunde Frauen sind, aber nicht durch eine z.B. vorwiegend androide Form der Fettverteilung (Stammfettsucht, sogenannte „Apfelform“), die mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen einhergeht, zusätzlich gefährdet sind [100,45,11].

4.2.2 Metabolische Parameter

Mit Hilfe des oGTT erfassten wir die metabolische Stoffwechsellage unserer Probandinnen. Dabei wurden deutliche Unterschiede der Glukose- und Insulinspiegel beider Gruppen verzeichnet. Sowohl der 2h-Blutglukosespiegel, als auch die Nüchtern- und 2h-Insulinspiegel waren bei den PCOS-Frauen deutlich erhöht. Weiterhin waren Probandinnen der PCOS-Gruppe signifikant weniger insulin sensitiv, als die der Kontrollgruppe. Dahingehend stimmen unsere Aussagen mit denen vorheriger Studien überein [22,103,9,20,13,47].

Es wird vermutet, dass die Insulinsensitivität im Alter deutlich abnimmt, da man im Alter weniger Bewegung hat und zunehmend übergewichtig wird [30]. Die Insulinsensitivität wird stark durch Adipositas beeinflusst. Daher wurden alle Ergebnisse des oGTT´s vor Prüfung auf Signifikanz nochmals hinsichtlich Alter und prozentualen Körperfettgehalt mathematisch korrigiert.

Dabei bestätigte sich, dass auch nach Anpassung an Alter und prozentualen Körperfettgehalt die an PCOS erkrankten Frauen an Hyperinsulinämie leiden. Da unsere Ergebnisse im Bezug auf die gestörte Insulinsensitivität mit vielen vorherigen Studien vergleichbar sind, legt dies den Schluss nahe, dass bei Patientinnen mit PCOS sehr wohl ein deutlich gestörter Glukose- und Insulinstoffwechsel vorliegt.

Zusätzlich wollen wir den gestörten Glukose- und Insulinstoffwechsel hinsichtlich des Auftretens von Adipositas im PCOS näher beleuchten. Viele der bisherigen Studien konnten belegen, dass an PCOS erkrankte Frauen überdurchschnittlich häufig an Adipositas leiden und eine diabetische Stoffwechsellage aufweisen.

Dabei zeigte sich, dass Adipositas, Hyperinsulinämie und Insulinresistenz in der Pathogenese des PCOS eng miteinander verknüpft sind [22,103,9]. Verschiedene Studien bekräftigen, dass Patientinnen mit PCO-Syndrom in italienischen [13], amerikanischen [20] und mexikanischen [47] Populationen deutlich adipöser, insulinresistenter und weniger insulinsensitiv sind als nicht-erkrankte Frauen.

Carmina et al. stellten in einer Gruppe von über 250 PCOS-Patientinnen ein 80%iges Auftreten von Insulinresistenz fest. Betrachteten sie dabei nur die adipösen Frauen, so betrug ihr Auftreten sogar 95 % [13].

Unklar bleibt, inwiefern diese drei Faktoren sich gegenseitig bedingen und möglicherweise auf die Pathogenese des PCO-Syndroms Einfluss nehmen.

Unsere PCOS-Probandinnen waren deutlich adipöser als Frauen der Kontrollgruppe. Dies spiegelte sich sowohl in einem erhöhten BMI und einem erhöhten Körperfettgehalt als auch in einer Dyslipidämie in Form von erhöhten Triglyceridwerten und deutlich reduziertem Anteil an HDL-Cholesterinen wider.

Wie zuvor erwähnt, konnten wir deutliche Hinweise für einen gestörten Glukosestoffwechsel verzeichnen. Es ist anzunehmen, dass Hyperinsulinämie und Adipositas sich ähnlich wie bei gesunden Menschen gegenseitig potenzieren. Dabei scheinen die Insulinwerte adipöser PCOS-Patientinnen eher mit denen nicht an PCOS erkrankter adipöser Frauen als mit denen schlanker PCOS-Frauen zu korrelieren [1].

Daher können wir keine Aussage treffen, welcher der beiden Faktoren beim PCOS eine ursächliche Position einnimmt. Hierzu sollten weitere Studien herangezogen werden, in denen adipöse (BMI > 25) differenziert von schlanken (BMI < 25) PCOS-Patientinnen mit Hyperinsulinämie betrachtet werden.

Aktuell befassen sich wenige Studien mit der Beobachtung, dass auch schlanke an PCOS erkrankte Frauen insulinresistent werden [76].

Die Insulinspiegel schlanker bzw. normalgewichtiger PCOS-Patientinnen scheinen dabei viel mehr mit denen nicht erkrankter schlanker Frauen als mit denen adipöser PCO-Patientinnen zu korrelieren [1].

Dravecka et al. untersuchten in einem slowenischen Patientengut Unterschiede der Insulinspiegel zwischen adipösen und schlanken PCOS-Patientinnen. Die adipösen wiesen gegenüber den schlanken Patientinnen signifikant erhöhte 2h Insulinwerte auf [21].

Gennarelli et al. stellten keinerlei Unterschiede in Insulinsekretion und Insulinsensitivität zwischen normalgewichtigen Frauen mit PCOS und einer entsprechend normalgewichtigen Kontrollgruppe fest [34].

Sie schlossen folgende beeinflussende Faktoren aus: Unterschiede in Körperbeschaffenheit, Ethnizität, Ernährungszusammensetzung und Diabetes mellitus Typ 2 in der Familiengeschichte. Sie machen die deutlich differenten diagnostischen Kriterien des PCOS in bisherigen Studien für die diskrepanten Ergebnisse verantwortlich [34].

Hyperinsulinämie tangiert den gesamten Hormonhaushalt der PCOS-Patientinnen, wie in Abschnitt 1.4.1 erläutert. Aus diesem Grunde muss ein weiterer Zusammenhang existieren, der die Insulinresistenz mit konsekutiver Hyperinsulinämie bei Patientinnen mit PCO-Syndrom begründet. Offen bleibt die Frage, warum einige der Patientinnen rasant schnell adipös werden, andere jedoch nicht.

4.2.3 Verhalten des Adiponektinserumspiegels

Adiponektin ist ein von Adipozyten des Fettgewebes sezerniertes Protein, welches einen Insulin - sensitivierenden Effekt bei Tieren und Menschen zeigt [14]. Hohe Adiponektinspiegel scheinen vor dem Auftreten von Diabetes mellitus Typ 2 zu schützen [53,83], indem sie die Insulinsensitivität steigern [95]. Durch Gewichtsreduktion kann es zum Anstieg der Adiponektinproduktion kommen [106]. Sowohl wir als auch andere Studien [69,72,71] fanden keine Unterschiede in den Adiponektinserumspiegeln zwischen der PCOS- und ihrer Kontrollgruppe, was gegen Adiponektin als wichtigen Faktor in der Pathogenese der Insulinresistenz bei PCOS spricht. Vielmehr scheinen die Adiponektinserumspiegel eng an den Körperfettgehalt (BMI, WHR) gekoppelt zu sein, da übergewichtige

Frauen mit und ohne PCOS signifikant geringere Adiponektinserumspiegel aufweisen können [84].

4.2.4 Besonderheiten des Hormonhaushaltes im Bezug auf Insulin

In unseren Untersuchungen legten wir den Schwerpunkt auf die Besonderheiten von Insulinsensitivität und Adipositas zwischen PCOS- und Kontrollgruppe. Dennoch möchten wir kurz Insulin als Triggerpunkt im Androgenstoffwechsel näher beleuchten, obwohl uns der komplette Hormonstatus in der Kontrollgruppe zur besseren Vergleichbarkeit nicht zur Verfügung stand.

Insulin hat in den letzten Jahren nicht nur als wichtiger Botenstoff in Glukose- und Fettstoffwechsel an Bedeutung gewonnen [60]. Im Hinblick auf das PCO-Syndrom wird Insulin als Trigger des gestörten Androgenhaushaltes angesehen. Sowohl die Stimulierung der hypophysären LH-Synthese und der ovariellen und adrenergen Androgensynthese [108] als auch die Hemmung der hepatischen SHBG-Synthese [7,75] stehen dabei im Fokus der Diskussion.

Wie eingangs berichtet, kann eine periphere Insulinresistenz und eine damit einhergehende Hyperinsulinämie mit vermindertem Eisprung und damit Sterilität assoziiert sein [17]. Auch Tierexperimente an Ratten gaben Hinweise darauf, dass Hyperinsulinämie und Hyperandrogenämie die Sekretion von Gonadotropinen und die Morphologie von Ovarien verändern [3].

Der erhöhte LH/FSH-Quotient sowie die leicht erhöhten Parameter für LH belegen den veränderten Hormonhaushalt in der PCOS-Gruppe. Zudem wiesen wie in vorhergehenden Studien die PCOS-Probandinnen verglichen mit ihrer Kontrollgruppe eine verminderte Insulinsensitivität und Hyperinsulinämie auf [13,47,67,15,23,51].

Eine positive Korrelation beider Parameter wäre zu vermuten. Ist beispielsweise der LH/FSH-Quotient umso höher, je stärker ausgeprägt die Hyperinsulinämie ist?

Die Kontroversität dieses Punktes zeigt eine Studie in einer italienischen Population. Fulghesu et al. fanden keine Korrelation zwischen LH-Spiegel, BMI und Insulinkonzentrationen [31]. Weitere Untersuchungen hinsichtlich dieser Vermu-

tung sind von großer Bedeutung. Metformin beispielsweise kann die Seruminsulinspiegel mit Hilfe Aktivitätsminderung des Cytochroms P450c17 α im Ovar reduzieren. Dadurch wird die Hyperandrogenämie durch Senkung von Testosteron und die Hormonachse durch Senkung von LH positiv beeinflusst [63].

Gleichzeitig überprüften wir das Auftreten von Hyperandrogenämie bei Frauen mit PCO-Syndrom und dessen möglichen Zusammenhang mit Veränderungen des Glukosestoffwechsels. Hyperandrogenämie ist vor allem durch erhöhte Testosteronwerte gekennzeichnet. Dies erklärt man sich unter anderem durch erniedrigte Serumwerte des Sexual-Hormon-Binding-Globulin (SHBG) [81]. SHBG kontrolliert durch Bindung von freiem Testosteron Transport, Verminderung und Regulation der Androgenwirkung. Die Senkung der SHBG-Sekretion ("Hypo-SHBG-ämie") führt zu einer Erhöhung und Potenzierung der Androgenität. Hyperinsulinämie und Insulinresistenz scheinen einen Effekt auf das SHBG zu haben [64,65]. Sherif et al. schreiben der Insulinresistenz den stärksten Einfluss auf das SHBG zu [82]. Möglichweise hat Insulin auch einen direkten Effekt auf die hepatozelluläre SHBG-Freisetzung [7,75].

Unsere Einschlusskriterien für die PCOS-Probandinnen setzten erhöhte Testosteronwerte voraus. Verglichen mit ihrer Kontrollgruppe waren diese Werte an freiem Testosteron um 33.8% erhöht. Wie zuvor erwähnt, wiesen die PCOS-Frauen eine Hyperinsulinämie in den 2h Werten des oGTT's, als auch eine verminderte Insulinsensitivität auf. Beide Faktoren geben Anhalt zur Annahme, dass Veränderungen des Glukosestoffwechsels sehr wohl zur Potenzierung der Hyperandrogenämie beitragen könnten.

Dabei ist zu beachten, dass die Werte des SHBG (PCOS: 47 \pm 7) bei den PCOS-Probandinnen im Normbereich (30-90 nmol/l) lagen. SHBG-Werte in der Kontrollgruppe liegen nicht vor. Die Normwertigkeit des SHBG spricht wiederum gegen SHBG als Vermittler von Hyperandrogenämie und Insulinresistenz. Möglicherweise können Androgene selbst eine milde Insulinresistenz hervorrufen, oder - genau entgegengesetzt - kann eine Hyperinsulinämie die Hyperandrogenämie verursachen [22]. Weitere Untersuchungen sollten an diesem Punkt ansetzen, um eventuell einen bisher nicht bekannten Faktor zwischen beiden Re-

gelkreisen zu finden. Möglicherweise wird Insulin in seiner Rolle als Potenzierer der Hyperandrogenämie überschätzt.

4.3 Genotypische Charakteristika

4.3.1 Allgemein

In der aktuellen Studie untersuchten wir die Hypothese, dass Polymorphismen in Kandidatengenen für Diabetes mellitus Typ 2 auch bei Frauen mit PCOS häufiger vorkommen.

Der T45G Polymorphismus des Adiponektins trat mit einer höheren Frequenz bei PCOS-Frauen, verglichen mit ihrer Kontrollgruppe auf.

Es wurden keine Assoziationen zum PCO-Syndrom bei folgenden Polymorphismen gefunden: IRS 1 [Gly972Arg], IRS 2 [Gly1057Asp], CAPN 10 [SNP 43, 44, 45], PPAR Gamma [Pro12Ala] und FOX-C2 [T512].

Die fehlende Assoziation dieser in unserer Studie geprüften Polymorphismen in Typ 2 Diabetes Kandidatengenen stehen in Kontrast zu vorherigen Studien, welche eine höhere Prävalenz von IRS 1 [Gly972Arg] und IRS 2 [Gly1057Asp] Polymorphismen als auch CAPN 10 SNP 43 Polymorphismus bei an PCO-Syndrom erkrankten Frauen fanden [26,25]. Dabei ist zu beachten, dass wir in unserer PCOS-Gruppe ein signifikant geringeres Vorkommen Verwandter 1.Grades mit Diabetes mellitus Typ 2 – Patienten beobachten konnten als in der Kontrollgruppe. Dies könnte eine mögliche Erklärung darstellen, warum Patientinnen mit PCO-Syndrom in vorangehenden Studien eine Assoziation zu diesen Polymorphismen mit dem PCOS zeigen. Sie zeigten ein höheres Auftreten einer diabetischen Familienanamnese auf als die Patientinnen der aktuellen Studie. Eine weitere Verdeutlichung dieser verschiedenen Resultate liegt darin begründet, dass vorherige Studien eine ähnliche Anzahl PCOS-Frauen wie in unserer Studie einbezogen, aber dieser eine kleinere Kontrollgruppe gegenüberstellten. Eine kleine Kontrollgruppe kann einen systematischen Fehler in der Auswahl hervorbringen, welcher den Grund für ein falsch positives Ergebnis darstellen kann.

4.3.2 Adiponektingen (T45G Polymorphismus)

Das Adiponektingen besteht aus drei Exons und zwei Introns und ist auf Chromosom 3q27 lokalisiert. Auf diesem Genlocus wurde auch eine diabetische Prädisposition entdeckt [48,99].

Nach Angaben mehrerer Studien ist der T45G Polymorphismus des Adiponektingen-Gens mit einem erhöhten Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 bei Japanern [40] und Franzosen [32] assoziiert. Diejenigen Probanden der japanischen und französischen Population mit dem G/G Genotyp an Position 45 hatten gegenüber denjenigen mit dem T/T Genotyp ein signifikant erhöhtes Risiko, einen Diabetes Typ 2 zu entwickeln [40]. Nach 3 Jahren hatten die G/G Genotypenträger sogar einen größeren BMI- und WHR-Anstieg zu verzeichnen [32].

Dennoch konnte diese Beobachtung in anderen Populationen nicht bestätigt werden [98]. Darüber hinaus wurde der T45G Polymorphismus sowohl mit erhöhten Insulin- und Triglyceridspiegeln in Verbindung gebracht [32] als auch im Zusammenhang mit dem Auftreten von Adipositas und Insulinresistenz bei Probanden ohne positive Familienanamnese bzgl. Diabetes mellitus Typ 2 beobachtet [91].

Es gibt bisher sehr wenige Informationen über das Auftreten des T45G Polymorphismus im Zusammenhang mit dem PCO-Syndrom.

In unserer Studie wurde ein erhöhtes Vorkommen homozygoter Trägerinnen des G-Allels in der PCOS-Gruppe gegenüber ihrer Kontrollgruppe gefunden. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit dem kürzlich erschienenen Paper von Panidis et al., welche die Assoziation dieses Polymorphismus mit PCOS demonstrieren konnten [72]. Diese Assoziation war nur nach Kombination von heterozygoten und homozygoten Trägern des G-Allels signifikant [72]. Es wird vermutet, dass weibliche Trägerinnen dieses Polymorphismus ein erhöhtes Risiko für das PCOS haben und dass Homozygotität für das G-Allel des T45G Polymorphismus des Adiponektingens der Grund für die insulinresistenten Phänotypen bei Frauen mit PCOS ist. Folglich testeten wir, ob die An- oder Abwesenheit dieses Polymorphismus in verschiedenen Phänotypen (z.B. Insulinresistenz) in der PCOS- verglichen mit der Kontrollgruppe resultiert. Überraschenderweise zeigten homozygote Trägerinnen dieser Mutation in der PCOS-

Gruppe eine bessere Insulinsensitivität verglichen mit Nicht-Trägerinnen. Dieses Erkenntnis spricht gegen die Hypothese, die Mutation sei Anhalt zur Entwicklung von Insulinresistenz bei PCOS-Frauen (Tabelle 8).

4.3.3 Gly972Arg- in IRS-1 und Gly1057Asp-Polymorphismus in IRS-2

Obwohl die Polymorphismen in IRS-1 und 2 nicht mit dem PCO-Syndrom assoziiert waren, zeigten sie eine signifikante Interaktion mit dem Vorliegen/Nichtvorliegen des PCO-Syndroms und dem Einfluss auf Insulinresistenzparameter.

Im Speziellen zeigte sich ein signifikanter Interaktionseffekt für Insulinsensitivität, 2-Stunden Insulin- und Glukosespiegel im oGTT (Tabelle 7). Dennoch zeigten Trägerinnen des IRS-1 Polymorphismus (Arg-Allel) der PCOS-Gruppe sowohl niedrigere 2-Stunden Insulin- und Glukosespiegel als auch einen höheren Insulinsensitivitäts-Index nach Matsuda. Dies weist nochmals darauf hin, dass der insulinresistente Phänotyp der PCOS-Frauen nicht durch in dieser Studie eingeschlossene Polymorphismen bekannter Kandidatengene für Insulinaktivität vermittelt wird.

4.4 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Studie bestätigte sich die Beobachtung vorheriger Studien, dass Patientinnen mit dem polyzystischen Ovar Syndrom neben ihrem deutlich veränderten Hormonstoffwechsel zusätzlich beachtliche metabolische Störungen aufweisen. Die PCOS-Probandinnen waren deutlich adipöser und insulinresistenter als die Probandinnen ihrer Kontrollgruppe. Die Beobachtung, dass auch normalgewichtige Frauen mit PCO-Syndrom deutlich insulinresistenter sein können und deshalb die Insulinresistenz nicht zwingend mit Adipositas einhergehen muss, konnten wir nicht belegen.

Wir fanden keine Unterschiede in den Adiponektinserumspiegeln zwischen der PCOS- und ihrer Kontrollgruppe, was gegen Adiponektin als wichtigen Faktor in der Pathogenese der Insulinresistenz bei PCOS spricht.

Bezüglich der genotypischen Charakteristika fanden wir ein höheres Vorkommen des T45G Polymorphismus des Adiponektinogenes beim PCO-Syndrom, verglichen mit einer nicht-diabetischen Kontrollkohorte. Dennoch hat eine am PCO-Syndrom erkrankte homozygote Trägerin dieses Polymorphismus keinen insulinresistenteren Phänotyp zur Folge als eine Nicht-Trägerin dieses Polymorphismus. Da andere häufig frequentierte Polymorphismen der zur Insulinresistenz bei Typ 2 Diabetes verwandten Gene in unserer Kohorte keine Assoziation zum PCO-Syndrom zeigten, konnten wir keinen gemeinsamen genetischen Hintergrund von Insulinresistenz in Typ 2 Diabetes und PCO-Syndrom demonstrieren.

5. Zusammenfassung

Das Syndrom der polyzystischen Ovarien ist eine sehr komplexe endokrinologische Erkrankung multifaktorieller Genese. Neben dem Vorhandensein pathologischer Ovarien, persistierender Oligo-/Amenorrhöen, sowie Diskrepanzen des Androgenstoffwechsels rücken zunehmend metabolische Störungen in den Fokus der Wissenschaft. Sowohl die Pathogenese des PCO-Syndroms, als auch des Typ 2 Diabetes mellitus ist mit der Insulinresistenz und der mit ihr einhergehenden hormonellen und metabolischen Störungen assoziiert. Beim Typ 2 Diabetes scheinen mehrere Polymorphismen in verschiedenen Kandidatengenomen in der Pathogenese beteiligt zu sein. Über diese Polymorphismen gibt es nur wenige Informationen bezüglich einer Assoziation mit dem PCO-Syndrom. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf der phäno- und genotypischen Charakterisierung von Frauen mit PCO-Syndrom und der Interaktion des gefundenen Genotyps mit metabolischen Parametern.

57 nicht-diabetische Frauen mit PCO-Syndrom und eine Kontrollgruppe bestehend aus 567 gesunden nicht-diabetischen Frauen ohne PCO-Syndrom unterzogen sich einem oralen Glukosetoleranztest (oGTT). Weitere Laborentnahmen gaben Aufschluss über Routineparameter (Blutbild, Fettwerte etc.), sowie die Adiponektin- und Testosteronserumspiegel. Zusätzlich wurden beide Gruppen hinsichtlich der Polymorphismen Gly972Arg im IRS-1 Gen, Gly1057Asp im IRS-2 Gen, SNP 43, 44 und 45 im CAPN10 Gen, Pro12Ala im PPAR α 2 Gen, C-512T im FOXC2 Gen und T45G im Adiponektin genotypisiert.

Eine deutliche metabolische Störung der PCOS-Probandinnen ließ sich nachweisen. Die PCOS-Frauen waren adipöser als Frauen ihrer Kontrollgruppe (BMI: 29.1 ± 0.9 vs 26.1 ± 0.03 , $p < 0.01$). Die PCO-Gruppe hatte im Gegensatz zur Kontrollgruppe höhere 2 h Blutglukosespiegel (6.5 ± 0.2 vs 6.0 ± 0.06 mmol/l, $p = 0.03$), höhere Nüchterninsulinspiegel (79 ± 7 vs 53 ± 2 pmol/l, $p = 0.02$) und eine niedrigere Insulinsensitivität (12.4 ± 1.1 vs 19.1 ± 0.5 U, $p = 0.0001$, errechnet aus dem oGTT). Während bei Frauen mit PCO-Syndrom die Testosteronwerte erhöht waren, zeigten sie im Vergleich zur Kontrollgruppe keine veränderten Adiponektinwerte.

Unter den Frauen der PCO-Gruppe fanden sich im Vergleich zur Kontrollgruppe mehr homozygote Trägerinnen des G-Allels für den T45G Polymorphismus des Adiponektingens (13.2% vs. 2.6%, $p=0.008$). Die Trägerinnen des G-Allel der PCO-Frauen hatten jedoch einen niedrigeren Nüchterninsulinspiegel als homozygote Trägerinnen des T-Allels (61 ± 9 vs 88 ± 10 , $p=0.02$) verglichen zur Kontrollgruppe ($p=0.03$ für Interaktion Genotyp \times PCOS). Alle übrigen getesteten Polymorphismen zeigten keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen (alle $p>0.5$).

Wir konnten bestätigen, dass Frauen mit PCO-Syndrom höhere postprandiale Blutzuckerwerte zeigen und insulinresistenter sind als gesunde Frauen. Sie haben somit möglicherweise ein höheres Risiko, im Laufe ihres Lebens einen Typ 2 Diabetes zu entwickeln. Wir fanden ein erhöhtes Vorkommen des T45G Polymorphismus des Adiponektingenes bei Frauen mit PCO-Syndrom im Vergleich zu den Frauen in der Kontrollgruppe. Dieser war jedoch nicht mit einem insulinresistenteren Phänotyp assoziiert. Andere in Beziehung zur Insulinresistenz und dem Typ 2 Diabetes stehende häufige Polymorphismen zeigten keine Assoziation zum PCO-Syndrom.

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

A

AGS	Adrenogenitales Syndrom
ALA	Alanin
ARG	Arginin
Asp	Aspartan

B

BMI	Body-Mass-Index
Bp	Basenpaare

C

CAPN	Calpain
CRP	C-reaktives Protein
C-Peptid	connecting Peptid
CPX	computerisierte Fahrradspiroergometrie
C	Cystin

D

DHEAS	Dehydroepiandrosteronsulfat
DHT	Dihydrotestosteron
DRD2	Dopamin-D2-Rezeptor

E

EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid
Endo	Endokrinologie
et al.	et alii (und andere)

F

FDR	First degree relative, Verwandter 1. Grades mit T2 DM
FFA	freie Fettsäuren
FOHA	funktionelle ovarielle Hyperandrogenämie
FOXC2	Helix/Forkhead Transcriptionsfaktor
FSH	Follikelstimulierendes Hormon

G

G	Guanin
---	--------

Glut	Glukosetransporter
Gly	Glycin
Gyn	Gynäkologie
H	
HB-A-1C	adultes Glykohämoglobin der Fraktion 1C
HDL	High density Lipoprotein
HOMA	homeostasin model assessment index
HPA	habitual physical activity
HPH	Hypophyse
Hr	Hour
IJ	
IGT	impaired glucose tolerance, beeinträchtigte Glukosetoleranz
IRS	Insulinrezeptorsubstrat
IVF	In Vitro Fertilisation, künstliche Befruchtung
K	
KAS	kutane androgenisierende Symptomatik Grad 1-3
kD	Kilodalton
KG	Kontrollgruppe
KHK	koronare Herzkrankheit
L	
LBM	Lean-Body-mass
LDL	Low density lipoproteine
LH	Luteinisierungshormon
M	
MEIA	Microparticle Enzyme Immunoassay
N	
N	Anzahl
NCAH	Non classical adrenal hyperplasia
NGT	normale Glukosetoleranz
NIDDM	Non-insulin dependent diabetes mellitus
NN	Nebenniere
O	

OGTT	oraler Glukosetoleranztest
P	
P	Probability = Wahrscheinlichkeit
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCR	polymerase chain reaktion
Pro	Prolin
PAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCO	polyzystische Ovarien
PCOS	Polyzystisches Ovarien Syndrom
PFO	Polyfollikuläres Ovar
PPAR	peroxisome proliferator-activetd Rezetoren
PRO	Aminosäure Prolin
R	
RIA	Radioimmunoassay
S	
SEM	Standard error of the mean
SHBG	Sexual-Hormon-Binding-Globulin
SNP	Singel-Nucleotid-Polymorphismen
T	
T	Thymidin
Tri	Triglycerin
TRO	Troglitazon
TÜFF	Tübinger Familienstudie
TZD	Thiazolidinedion
T2 DM	Diabetes mellitus Typ 2
UVW	
vs	Versus, im Vergleich zu
WHO	World Health Organisation
WHR	Waste-Hip-Ratio

6.2 Literaturverzeichnis

- [1] Acien P, Quereda F, Matallin P, Villarroya E, Lopez-Fernandez JA, Acien M, Mauri M, Alfayate R. ; (1999) Insulin, androgens, and obesity in women with and without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders. *Fertil Steril*. Jul;72(1):32-40
- [2] Al-Fozan H, Al-Futaisi A, Morris D, Tulandi T. (2005) Insulin responses to the oral glucose tolerance test in women of different ethnicity with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Can*. Jan;27(1):33-7
- [3] Allon MA, Leach RE, Dunbar J, Diamond MP. (2005) Effects of chronic hyperandrogenism and/or administered central nervous system insulin on ovarian manifestation and gonadotropin and steroid secretion. *Fertil Steril*. Apr;83 Suppl 1:1319-26
- [4] Almid K, Frederiksen SK, Bernal D, Hansen T, Ambye L, Urhamme S, Ekstrom CT, Berglund L, Reneland R, Lithell H, White MF, Van Obberghen E, Pedersen O. (1999) Search for variants of gene-promoter and the potential phosphotyrosine encoding sequence of the insulin receptor substrate-2 gene: evaluation of their relation with alteration in insulin secretion and insulin sensitivity. *Diabetologia*. Oct;42(10):1244-9
- [5] Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lingren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, Bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES. (2000) The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat genet*. 2000 Sep;26(1):76-80.
- [6] Aruna J, Mittal S, Kumar S, Misra R, Dadhwal V, Vimala N. (2004) Metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Int J Gynaecol Obstet*. Dec;87(3):237-41
- [7] Botwood N, Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Robinson S, Franks S. (1995) Sex hormone-binding globulin and female reproductive function. *J Steroid Biochem Mol Biol* 53:529-531
- [8] Bouchard C, (1991) Is weight fluctuation a risk factor? *N Eng J Med* 324:1887-1889 [comment on: *N Engl J Med* 1991 324:1839-1844]
- [9] Bülent O, Yildiz, Hakan Yarali, Hvva Oguz, and Miyase Bayraktar. (2003) Glucose Intolerance, Insulin Resistance, and Hyperandrogenemia in First Degree relatives of Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 88(5);2031-2036
- [10] Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. (1980). Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 50:113–116
- [11] Carey DG, Jenkins AB, Campbell LV, Freund J, Chisholm DJ. (1996) Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: Direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. *Diabetes*. May;45(5):633-8
- [12] Carmina E, Lobo RA. (1999) Do hyperandrogenic women with normal menses have polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril*. 1999;71:319-22 Pubmed
- [13] Carmina E, Lobo RA. Department of Clinical Medicine, University of Palermo, Palermo, Italy. (2004). Use of fasting blood to assess the prevalence

of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. Sep;82(3):661-5.

[14] Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, and Henry RR (2003) Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care*, 26, 2442-2450.

[15] Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. (1983). Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 57:356–359

[16] Cole SA, Mitchell BD, Hsueh WC, Pineda P, Beamer BA, Shuldiner AR, Comuzzie AG, Blangero J, Hixson JE. (2000) The Pro12Ala variant of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPAR-gamma2) is associated with measures of obesity in Mexican americans. *Int J Obes relat Metab Disord*. 2000 Apr;24(4):522-4

[17] Dale PO, Tanbo T, Ertzeid G, Bjercke S, Oldereid N, Fedorcsak P, Abyholm T (2004) The impact of insulin resistance on the outcome of laparoscopic ovarian electrocautery in infertile women with the polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. Oct;19(4):182-9

[18] Dálfonso R, Marini MA, Frittittas L, Sorge R, Frontoni S, Porzio O, Mariani LM, Lauro D, Gambardella S, Trischitta V, Federici M, Lauro R and Sesti G. (2003) Polymorphisms of the Insulin Receptor Substrate-2 in Patient with Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 88:317-322

[19] Deeb SS, Fajas L, nemoto M, Philajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W, Auwerx j. A. (1998) Pro 12 Ala substitution in PPARgamma2 assoziated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity *Nat Genet*. 1998 Nov;20(3):284-7

[20] Deugarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. (2005). Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment.. *Fertil Steril*. May;83(5):1454-60

[21] Dravecka I, Lazurova I, Kraus V, Petrovicova J, Palko M. (2002) Hyperinsulinemia and disorders of the menstrual cycle; *Vnitr Lek*. Mar;48(3):192-6.

[22] Dunaif A (1997) Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome; mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 18:744-800

[23] Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. (1989). Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*. 38:1165–1174

[24] Ehrmann DA, Schwarz PE, Hara M; Tang X, Horikawa Y, Imperial J, Bell GI, Cox NJ. (2002) Relationship of Calpain-10 Genotype to Phenotypic Features of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1669-1673

[25] Ehrmann DA, Tang X, Yoshiuchi I, Cox NJ and Bell GI. (2002) Relationship of Insulin Receptor Substrate-1 and -2 Genotypes of Phenotypic Features of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4297-4300

[26] El Mkaem SA, Lautier C, Macari F, Molinari N, Lefévre P, Renard E, Gris JC, Cros G, Daurés JP, Bringer J, White MF and Grigorescu F. (2001) Role of Allelic Variants Gly972Arg of IRS-1 and Gly1057Asp of IRS-2 in Moderate-to-Serve Insulin Resistance of Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes* 50:2164-2168

[27] Evans JC, Frayling TM, Cassell PG, Saker PJ, Hitman GA, Walker M, Levy JC, O’Rahilly S, Rao PV, Bennett AJ, Jones EC, Menzel S, Prestwich P, Sime-

cek N, Wishart M, Dhillon R, Fletcher C, Millward A, Demaine A, Wilkin T, Hori-kawa Y, Cox NJ, Bell GI, Ellard S, McBarthy MI, Hattersley AT (2001) Studies of association between the gene for calpain 10 and type 2 diabetes mellitus in the United Kingdom. *AM J Hum Genet* 69:544-552

[28] Fritsche A, Machicao F, Staiger H, Haring HU, and Stumvoll M (2004) Lack of association between metabolic traits and the -512 polymorphism in FOXC2 in German people with normal glucose tolerance. *Diabetologia*. Apr;47(4):756-7.

[29] Fritsche A, Madaus A, Renn W, Tschritter O, Teigeler A, Weisser M, Maerker E, Machicao F, Häring H, Stumvoll M (2001) The prevalent Gly1057Asp polymorphism in the insulin receptor substrate-2 gene is not associated with impaired insulin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4822-4825

[30] Fritsche A, Madaus A, Stefan N, Tschritter O, Maerker E, Teigeler A, Haring H, Stumvoll M. (2002) Relationships among age, proinsulin conversion, and beta-cell function in nondiabetic humans. *Diabetes*. 2002 Feb;51 Suppl 1:S234-9.

[31] Fulghesu AM, Cucinelli F, Pavone V, Murgia F, Guido M, Caruso A, Mancuso S, Lanzone A. (1999). Changes in luteinizing hormone and insulin secretion in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod*. Mar;14(3):611-7

[32] Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, Betoulle D, Pean F, Hadjadj S, Tichet J, Wilpart E, Chesnier MC, Balkau B et al (2004) Adiponectin Gene Polymorphisms and Adiponectin Levels Are Independently Associated With the Development of Hyperglycemia During a 3-Year Period: The Epidemiologic Data on the Insulin Resistance Syndrome Prospective Study. *Diabetes*, 53, 1150-1157

[33] Geisthövel et al. (2000): <http://www.gyn-endo-handbuch.de/foha.htm>

[34] Gennarelli G, Rovei V, Novi RF, Holte J, Bongioanni F, Revelli A, Pacini G, Cavallo-Perin P, Massobrio M. (2005) Preserved insulin sensitivity and beta-cell activity, but decreased glucose effectiveness in normal-weight women with the polycystic ovary syndrome *J Clin Endocrinol Metab*. Jun;90(6):3381-6

[35] Girard J. (2001) Mechanism of action of thiatolidinediones, *Diabetes Metab*. 2001 Apr;27(2 Pt 2):271-8

[36] Gonzalez A, Abril E, Roca A, Arago'n MJ, Figueroa MJ, Velarde P, Royo JL, Real LM, Ruiz A. (2002) CAPN 10 Alleles Are Associated with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3971-3976, 2002

[37] Goodman-Gruen D, Barrett-Connor E.(1996) A prospective study of sex hormone-binding globulin and fatal cardiovascular disease in Rancho Bernardo men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Aug;81(8):2999-3003

[38] Haddad L, Evans JC, Gharni N, Robertson C, Rush K, Wiltshire S, Frayling TM, Wilkin TJ, Demaine A, Millward A, Hattersley AT, Conway G, Cox NJ, Bell GI, Franks S, McCarthy MI. (2002) Variation within the Type 2 Diabetes susceptibility Gene Calpain-10 and Polycystic Ovary Syndrome. *J clin Endocrinol Metab* 87(6):2606-2610

[39] Hahn S, Tan S, Eisenbruch S, Quadbeck B, Herrmann BL, Mann K, Jansen OE. (2005). Clinical and biochemical characterization of women with polycystic ovary syndrome in North Rhine-Westphalia. *Horm Metab Res*.Jul;37(7):438-44

- [40] Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K et al (2002) Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*, 51, 536-540.
- [41] Hara K, Okada T, Tobe K, Yasuda K, Mori y, Kadowaki H, Hagura r, Akanuma Y, Kimura S, ito C, Kadowaki T.(2000) The Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma2 may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Apr 29;271(1):212-6
- [42] Herold G, *Innere Medizin* 2003, S. 695
- [43] Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Ortho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colla S, Polonsky KS, Wie S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baiser LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI (2000) Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 26:163-175
- [44] Jacob S, Stummvoll M, Becker R, Koch M, Nielsen M, Loblein K, Maerker E, Volk A, Renn W, Balletshofer B, Machicao F, Rett K, Häring H (2000) the PPAR gamma2 Polymorphism Pro 12 Ala is associated with better insulin sensitivity in the offspring of type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 32,413-416
- [45] Janjic D. (1996). Android-type obesity and gynecoid-type obesity. *Schweiz Rundsch Med Prax*. Dec 3;85(49):1578-83
- [46] Kadowaki T, Hara K, Kubota N, Tobe K, Terauchi Y, Yamauchi T, Eto K, Kadowaki H, Noda M, Hagura R, Akanuma Y.(2002) The role of PPARgamma in high-fat diet-induced obesity and insulin resistance. *J Diabetes Complications*. 2002 Jan-Feb;16(1):41-5
- [47] Kauffman RP, Baker VM, Dimarino P, Gimpel T, Castracane VD. (2002) Polycystic ovarian syndrome and insulin resistance in white and Mexican American women: a comparison of two distinct populations. *Am J Obstet Gynecol*.Nov;187(5):1362-9.
- [48] Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG. (2000). Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 :14478 –14483
- [49] Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. (1998) Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3078-3082
- [50] Kovacs P, Lehn-Stefan A, Stummvoll M, Bogardus C and Baier LJ. (2003) Genetic Variation in the Human Winged Helix/Forkhead Transcription Factor Gene FOXC2 in Pima Indians. *Diabetes* 52:1292-1295
- [51] Legro RS, Finegood D, Dunaif A. (1998). A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. Aug;83(8):2694-8
- [52] Lei HH, Chen MH, Yang WS, Chiu MC, Chen MC, Tai TY, Chuang LM. (2000) Peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 Pro12Ala gene variant is strongly associated with larger body mass in the Taiwanese. *Metabolism*. 2000 Oct;49(10):1267-70

- [53] Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J. (2002): Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet*. Jul 6;360(9326):57-8
- [54] Lobo RA, Carmina E. (2000) The importance of Diagnosing the Polycystic Ovary Syndrome. *Ann Intern Med*. 2000 Jun 20;132(12):989-93
- [55] Lobo RA, Ketzky OA, Campeau JD, diZerega GS.(1983) Elevated bioactive luteinizing hormone in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1983;39:674-8
- [56] Manami Hara, Sergio Y. Alcoser, Arshia Qadir, Kristina K. Beiswenger, Nancy J.Cox, and David A. Ehrmann (2002) Insulin Resistance Is Attenuated in women with Polycystic Ovary Syndrome with the Pro 12 Ala polymorphism in the PPAR gamma Gene; *J Clin Endocrinol Metab* 87:772-775,2002
- [57] Mancini FP, Vaccaro O, Sabtino L, Tufano A, Rivellese AA, Ricardi G, Colantuoni V. (1999) Pro12Ala substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 is not associated with type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999 Jul;48(7):1466-8
- [58] Matsuda M and DeFronzo RA (1999) Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*, 22, 1462-1470.
- [59] Meirhaeghe A, Fajas L, Helbecque N, Cottel D, Auwerx J, Deeb SS, Amouyel P. (2000) Impact of the Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma2 Pro12Ala polymorphism on adiposity, lipids and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Obes metab Disord*. 2000 Feb;24(2):195-9
- [60] Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK und Schäfer-Korting M. (2001) *Mutschler Arzneimittelwirkungen Aufl.8*, S.400-401
- [61] Mutschler E, Geisslinger G,Kroemer HK, Schäfer-Korting M. (2001) *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie: Mutschler Arzneimittelwirkungen. Auflage 8*, S.414, 436, 452
- [62] Mu YM, Yanase T, Nishi Y, Waseda N, Oda T, Tanaka A, Takayanagi R, Nawata H. (2000) Insulin sensitizer, troglitazone, directly inhibits aromatase activity in human ovarian granulosa cells. *Biochem Biophys res Commun*. 2000 May 19;271(3):710-3
- [63] Nestler JE, Jakubowicz DJ. (1996) Decrease of ovarian cytochrome P45017 α activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 335:617–623
- [64] Nestler JE, Powers LP, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Rittmaster RS, Clore JN, Blackard WG. (1991) A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 72:83-89
- [65] Nestler JE, Straus JF 3rd Insulin as an effector of human ovarian and adrenal steroid metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. (1991) Dec; 20(4):807-23
- [66] Newcastle Ultrasound for women, <http://www.nufw.com.au/bleeding.htm>
- [67] Ohnaka K, Takayanagi R. (2005) Polycystic ovary syndrome, *Nippon Rinsho*. Apr;63(4):681-6
- [68] OMIN-Online Mendelian Inheritance in Man * 601487 Peroxisome Proliferator-Activated receptor-Gamma

- [69] Orio F, Jr., Palomba S, Cascella T, Milan G, Mioni R, Pagano C, Zullo F, Colao A, Lombardi G, and Vettor R (2003) Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 2619-2623.
- [70] Osawa H, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Nishimiya T, Kato K, Shimizu I, Fujii Y, Ohashi J and Makino H. (2003) Systematic Search for Single Nucleotide Polymorphisms in the FOXC2 Gene: The Absence of Evidence for the Association of Three Frequent Single Nucleotide Polymorphisms and Four Common Haplotypes With Japanese Type 2 Diabetes. *Diabetes* 52:562-567
- [71] Panidis D, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D, and Koliakos G (2003) Serum adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*, 18, 1790-1796
- [72] Panidis D, Kourtis A, Kukuivitis A, Farmakiotis D, Xita N, Georgiou I, and Tsatsoulis A (2004) Association of the T45G polymorphism in exon 2 of the adiponectin gene with polycystic ovary syndrome: role of Δ^4 -androstenedione. *Hum Reprod* Aug;19(8):1728-33
- [73] Pasquali R, Vicennati V, Bertazzo D, Casimirri F, Pascal G, Tortelli O, Labate AM. (1997) Determinants of sex hormone-binding globulin blood concentrations in premenopausal and postmenopausal women with different estrogen status *Metabolism* 46:5-9
- [74] Peiris AN, Aiman EJ, Drucker AW, Kissebah AH. (1989) The relative contribution of hepatic and peripheral tissue to insulin resistance in hyperandrogenic women. *J Clin Endocrinol Metab* 68:715-720.
- [75] Plymate SR, Matej LA, Jones RE, Friedl KE. (1988) Inhibition of sex hormone-binding globulin production in the human hepatoma (Hep G2) cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 67:460-464
- [76] Prelevic GM. (1997) Insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Curr Opin Obstet Gynecol*. Jun;9(3):193-201
- [77] Preziosi P, Barrett-Connor E, Papoz L, Roger M, Saint-Paul M, Nahoul K, Simon D. (1993) Interrelation between plasma sex hormone-binding globulin and plasma insulin in healthy adult women: the Telecom Study. *J Clin Endocrinol Metab* 76:283-287
- [78] Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. (1976) Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovarian syndrome *J Clin Invest* 1976;57:1320-9.
- [79] Ridderstale M, Carlsson E, Klannemark M, Cederberg A, Kösters C, Tornquist H, Storgaard H, Vaag A, Enerbäck S and Groop L. (2002) FOXC2 mRNA Expression and a 5' Untranslated Region Polymorphism of the Gene Are Associated With Insulin Resistance. *Diabetes* 51:3554-3560
- [80] The 2003 Rotterdam consensus workshop (2004) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 81, 19-25.
- [81] Schmidt-Matthiesen, Hepp. (1997) *Gynäkologie und Geburtshilfe*, 9. Auflage Schattauer Verlag 1997 S.65
- [82] Sherif K, Kushner H, Falkner BE. (1998) Sex hormone-binding globulin and insulin resistance in African-American women. *Metabolism* 47:70-74
- [83] Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. (2003): Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. Jan 18;361(9353):226-8

- [84]** Spranger J, Mohlig M, Wegewitz U, Ristow M, Pfeiffer AF, Schillt T, Schloesser HW, Brabant G, Schofl C. (2005): Adiponectin Is Independently Associated With Insulin Sensitivity in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol Surv.* 2005 Apr; 60(4): 237-239
- [85]** Stauber M, Weyerstahl T. (2001), *Gynäkologie und Geburtshilfe*, MLP Duale Reihe S.84+247, Thiemeverlag
- [86]** Stefan N, Kovacs P, Stumvoll M, Hanson RL, Lehn-Stefan A, Permana PA, Baier LJ, Tataranni A, Silver K and Bogardus C. (2003) Metabolic Effects of the Gly1057Asp Polymorphism in IRS-2 and Interactions with obesity. *Diabetes* 52:1544-1550
- [87]** Stumvoll M, Fritsche A, Madaus A, Stefan N, Weisser M, Machicao F, Häring H. (2001) Functional Significance of the UCSNP-43 Polymorphism in the CAPN10 gene for Proinsulin Processing and Insulin Secretion in Nondiabetic Germans. *Diabetes* 50:2161-2163
- [88]** Stumvoll M, Fritsche A, Madaus A, Stefan N, Weisser M, Machicao F, and Häring H (2001a) Functional significance of the UCSNP-43 polymorphism in the CAPN10 gene for proinsulin processing and insulin secretion in nondiabetic Germans. *Diabetes*, 50, 2161-2163
- [89]** Stumvoll M, Fritsche A, Volk A, Stefan N, Madaus A, Maerker E, Teigeler A, Koch M, Machicao F, and Häring H (2001b) The Gly972Arg polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene contributes to the variation in insulin secretion in normal glucose-tolerant humans. *Diabetes*, 50, 882-885.
- [90]** Stumvoll M and Häring H (2002) The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes*, 51, 2341-2347.
- [91]** Stumvoll M, Tschritter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F and Häring H. (2002) Association of the T-G Polymorphism in Adiponectin (Exon 2) With Obesity and Insulin Sensitivity; Interaction With Family History of Type 2 Diabetes. *Diabetes* 51:37-41, 2002
- [92]** Stumvoll M, Wahl HG, Machicao F, and Häring H (2002) Insulin sensitivity of glucose disposal and lipolysis: no influence of common genetic variants in IRS-1 and CAPN10. *Diabetologia*, 45, 651-656.
- [93]** Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y: (2000) Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24:861-868
- [94]** Thamer C, Stumvoll M, Niess A, Tschritter O, Haap M, Becker R, Shirkavand F, Bachmann O, Rett K, Volk A et al (2003) Reduced skeletal muscle oxygen uptake and reduced β -cell function. Two early abnormalities in normal glucose tolerant offspring of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 26, 2126-2132.
- [95]** Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Häring H and Stumvoll M. (2003) Plasma Adiponectin Concentrations Predict Insulin Sensitivity of Both Glucose and Lipid Metabolism. *Diabetes* 52:239-243, 2003
- [96]** Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, Strauss JF, Spielman RS, Dunaif A. (1999) Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: Strongest evidence for linkage is with follistatin *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* Vol.96,pp.8573-8578, July Genetics

- [97]** Urdl W: (2002) Die Behandlung Polyzystischer Anomalien bei Frauen mit Polyzystischem Ovar-Syndrom *J. Fertil.Reprod.* 1/2002 S.2
- [98]** Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, Boutin P, Vaxillaire M, Lepretre F, Dupont S et al (2002) Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet*, 11, 2607-2614
- [99]** Vionnet N, Hani EH, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, De Matos F, Durand E, Leprêtre F, Lecoœur C, Gallina P, Zekiri L, Dina C, Froguel P. (2000) : Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21–q24. *Am J Hum Genet* 67 :1470 –1480
- [100]** Voller H, Schmailzl KJ, Bjarnason-Wehrens B. (2004) Obesity and cardiovascular diseases-theoretical background and therapeutic consequences. *Z Kardiol.* Jul;93(7):503-13.
- [101]** Wang H, Rissanen J, Miettinen R, Kärkkäinen P, Kekäläinen P, Kuusisto J, Mykkänen L, Karhapää P and Laakso M. (2001) New Amino Acid Substitutions in the IRS-2 Gene in Finnish and Chinese Subjects With Late-Onset Type 2 Diabetes. *Diabetes* 50:1949-1951
- [102]** Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tartaranni PA: (2001) Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1930-1935
- [103]** Wild RA (2002) Long-term health consequences of PCOS. *Hum Reprod Update* 8;231-241
- [104]** Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman GI, Bonner-Weir S, White MF: (1998) Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 391:900-904
- [105]** Xita N, Georgiou I, Chatzikyriakidou A, Vounatsou M, Papassotiriou GP, Papassotiriou I, Tsatsoulis A. (2005) Effect of adiponectin gene polymorphisms on circulating adiponectin and insulin resistance indexes in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem.* Feb;51(2):416-23. Epub 2004 Dec 8
- [106]** Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. (2001) Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3815-3819, 2001
- [107]** Yang WS, Tsou PL, Lee WJ, Tseng DL, Chen CL, Peng CC, Lee KC, Chen MJ, Huang CJ, Tai TY, Chuang LM. (2003) Allele specific differential expression of a common adiponectin gene polymorphism related to obesity. *J Mol Med.* 2003 Jul;81(7):428-34
- [108]** Yen SS. (1991) Chronic anovulation caused by peripheral endocrine disorders. In Yen SSC, Jaffe RB (eds). *Reproductive Endoogy*, 3rd edition. Saunders Co, Philadelphia, p. 576-630.

6.3 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Dr. med. A. Fritsche danke ich für das Zustandekommen und Engagement bei der Betreuung dieser Arbeit.

Meinem Betreuer Herrn Dr. med. M. Haap danke ich für die außerordentliche Hilfsbereitschaft und die Erinnerung daran „nicht den roten Faden zu verlieren“.

Bei Frau Heike Lutz möchte ich mich für die freundliche Einarbeitung und tatkräftige Unterstützung in der Betreuung der Probanden im Rahmen der TÜFF-Studie bedanken.

Bei Frau Mercker für die Unterstützung in allen „labor-typischen“ Belangen.

Bei Herrn Dr. med R. Emig und den Mitarbeitern der IVF der Universitäts-Frauenklinik Tübingen für die Weiterleitung der PCO-Patientinnen, sowie die zur Verfügungsstellung der Patientenakten.

Bei Frau Sandra Lichtenfeld bedanke ich mich für die Hilfe bei der Formatierung dieser Arbeit.

Bei Herrn Gundolf Walaschewski für die schnelle Korrektur hinsichtlich Rechtschreibung/Grammatik und Ausdruck.

Meinen lieben Eltern danke ich für ihre moralische Unterstützung, denn sie haben dies unter ganz anderen Bedingungen geschafft.

Besonderen Dank gilt Bettina und meinem Lieblingsemenschen Thorsten, die immer für mich da waren.

6.4 Lebenslauf

Name: Franziska Schnuck

Geb. am: 05. Februar 1981 in Suhl

Familienstand: ledig

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schule:

1987 – 1992	Grundschule Juri Gagarin, Grabowhöfe
1992 – 1999	Gymnasium Richard Wossidlo, Waren (Müritz)
05 / 1999	Abitur

Studium:

1999 – 2001	Grundstudium Medizin, Universität Leipzig
August 2001	Physikum
2001 – 2005	Hauptstudium Medizin, Universität Tübingen
08 / 2002	Erstes Staatsexamen
09 / 2004	Zweites Staatsexamen
10 – 12 / 2004	PJ-Tertial Chirurgie am Hopital General de Douala, Kamerun
22.11.2005	Drittes Staatsexamen, Approbation
seit 12 / 2005	Assistenzärztin, Innere Medizin am Marienhospital Stuttgart

Nebenberufliche Tätigkeiten:

April 2003 – Oktober 2004: 1.Assistenz Knieendoprothetik, Winghofer Medicum Rottenburg

Veröffentlichung: Haap M, Machicao F, Stefan N, Thamer C, Tschritter O, Schnuck F, Wallwiener D, Stumvoll M, Haring HU, Fritsche A. 2005 Genetic determinants of insulin action in polycystic ovary syndrome. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2005 May;113(5):275-81