

**Aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. E. Herting**

**Vervollständigung und Auswertung einer Datenbank zu seltenen genetisch bedingten
Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung (DSD)**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von
Jacqueline Esther Köhler, geb. IJntema
aus Lüneburg

Lübeck 2017

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Olaf Hiort

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Jens Cordes

Tag der mündlichen Prüfung: 06.11.2017

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 06.11.2017

Promotionskommission der Sektion Medizin

I. INHALTSVERZEICHNIS

I. Inhaltsverzeichnis	3
II. Abkürzungsverzeichnis	6
III. Einleitung	8
III.1. Übersicht	8
III.2. Die typische Geschlechtsentwicklung vom Mutterleib bis zur Geschlechtsreife	10
III.3. Darstellung einiger relevanter Faktoren der männlichen Geschlechtsentwicklung	11
III.3.1. Steroidogenic factor 1 (SF 1)	12
III.3.2. Sex determinating region Y (SRY)	12
III.3.3. 17-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ III (17beta-HSD)	13
III.3.4. 5-alpha-Reduktase Typ 2 (5alpha-Reduktase)	14
III.3.5. Androgenrezeptor (AR)	14
III.4. Klinisches Bild	17
III.5. Die Datenbank	18
III.6. Fragestellung	19
IV. Material und Methoden	20
IV.1. Material	20
IV.1.1. Erfasste Variablen	20
IV.1.1.1. Anamnese	21
IV.1.1.2. Klinische Befunde	21
IV.1.1.3. Laboruntersuchungen und Befunde	21
IV.1.1.4. Ergebnisse der genetischen Untersuchung	21
IV.2. Methoden	22

IV.2.1.	Statistische Auswertung	22
IV.2.2.	Untersuchung der Blutproben	23
V.	Ergebnisse	24
V.1.	Einführung in den Ergebnisteil	24
V.2.	Das Untersuchungskollektiv	25
V.3.	Darstellung der Fälle mit chromosomalen Veränderungen	27
V.4.	Klinisches Bild	29
V.4.1.	Äußeres Genitale	29
V.4.2.	Inneres Genitale	30
V.5.	Mutationen	32
V.5.1.	Androgenrezeptor	37
V.5.1.1.	Mutationshäufungen	39
V.5.2.	5-alpha-Reduktase Typ II	41
V.5.2.1.	Mutationshäufungen	43
V.5.3.	17-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ III	44
V.5.3.1.	Mutationshäufungen	45
V.5.4.	SRY	46
V.5.5.	SF1	47
VI.	Diskussion	48
VII.	Zusammenfassung	61
VIII.	Literaturverzeichnis	62
IX.	Anhang	68
IX.1.	Tabellarium	68
IX.1.1.	Tabellarium zu Kapitel V.2 Das Untersuchungskollektiv	68
IX.1.2.	Tabellarium zu Kapitel V.4 Phänotypen	74

IX.1.3.	Tabellarium zu Kapitel V.5 Mutationen	78
IX.2.	Der aktuelle Fragebogen	82
IX.3.	Die Dateneingabefelder	83
IX.4.	Danksagung	87
IX.5.	Lebenslauf	88

II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

17beta-HSD	17-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 3
5alpha-Reduktase	5-alpha-Reduktase Typ 2
A	Adenin
AGS	Adrenogenitales Syndrom
Ala	Alanin
AIS	androgen insensitivity syndrome (Androgeninsensitivitätssyndrom)
AMH	Anti-Müller-Hormon
AR	Androgenrezeptor
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
C	Cytosin
CAIS	Complete androgen insensitivity syndrome (komplettes Androgeninsensitivitätssyndrom)
CXOrf6	Chromosome X Open reading frame 6
Cys	Cystein
DAX-1	DSS-AHC critical region on the X chromosome 1, gene 1
DHH	Desert hedgehog
DHT	Dihydrotestosteron
DMRT 1	Double-sex and MAB3 related transcription factor 1
DNA	Desoxyribonucleid acid (Desoxyribonukleinsäure)
DSD	Disorder of sex development (Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung)
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
G	Guanin
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glyzin
His	Histidin
Ile	Isoleuzin

IUGR	intrauterine growth retardation (intrauterine Wachstumsverzögerung)
Leu	Leuzin
Lys	Lysin
LH	Luteinisierendes Hormon
MAIS	Minimal androgen insensitivity syndrome (minimales Androgeninsensitivitätssyndrom)
Met	Methionin
NAMSE	Nationales Aktionsbündnis für Menschen mit seltenen Erkrankungen
PAIS	Partial androgen insensitivity syndrome (partiellles Androgeninsensitivitätssyndrom)
Phe	Phenylalanin
Pro	Prolin
Ser	Serin
SF-1	Steroidogenic factor 1
SGA	Small for gestational age (zu klein für das Gestationsalter)
SOX 9	SRY-related HMG-box gene 9
SRY	Sex determining region Y
T	Thymin
Thr	Threonin
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
Val	Valin
WNT-4	Wingless type MMTV integration site family, member 4
WT-1	Wilms tumor 1 gene

III. EINLEITUNG

III.1. Übersicht

Schon immer nehmen seltene Erkrankungen in der Medizin einen besonderen Stellenwert ein. In Europa ist eine Erkrankung als selten definiert, wenn sie weniger als 5 von 10.000 Personen betrifft (Europäische Kommission, Bereich Gesundheitswesen). Eine solche Erkrankung stellt für alle Beteiligten eine besondere Herausforderung dar. Zunächst ist der Patient mit seiner Familie betroffen. Meist ist die Diagnose schwer zu stellen und nicht selten haben die Patienten eine wahre Ärzte-Odyssee hinter sich gebracht, bis die korrekte Diagnose gefunden wird. Dies stellt eine enorme Belastung dar. Für die behandelnden Ärzte ist eine solche Erkrankung ebenfalls eine Herausforderung. Der Haus- oder Kinderarzt, der den direktesten Kontakt zum Patienten hat, wird in seiner gesamten Laufbahn höchstens ein oder zwei Patienten mit einer solchen Erkrankung treffen. Auch in kleineren Krankenhäusern der Grund- und Regelversorgung ist die Anzahl an Patienten mit einer solchen Erkrankung nicht sehr viel höher. Das erschwert zunächst die Diagnosefindung und dann auch die weitere ärztliche Versorgung.

In Deutschland und auch europaweit nimmt die Verbesserung der Versorgung von Patienten mit seltenen Erkrankungen einen zunehmend wichtigen Stellenwert ein. Hierfür spielen insbesondere auch Datenbanken eine wichtige Rolle. Diese bilden die Grundlage für eine gute, wohl überlegte und sinnvolle Charakterisierung und Betreuung von Patienten mit seltenen Erkrankungen. Sie erlauben, Gemeinsamkeiten herauszustellen, Behandlungs- und Diagnosepfade zu finden, zu überprüfen und zu verbessern (Taruscio et al., 2014). Aus diesem Grund gibt es zunehmend mehr Datenbanken für seltene Erkrankungen. Insbesondere gibt es das Ziel, nicht nur regional, sondern auch überregional und europaweit Datenbanken anzulegen (Vitozzi et al., 2013). Die EU fördert dies, z.B. mit dem Projekt EPIRARE, einer europäischen Plattform für Datenbanken zu seltenen Erkrankungen.

Ebenso erfolgte in den letzten Jahren die Gründung von Zentren für seltene Erkrankungen. Hier sollen die Patienten zentral versorgt werden, um dadurch auch das gebündelte Wissen über die Erkrankungen zur Verfügung zu haben. Das Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck, hat seit Ende 2013 ein solches Zentrum für seltene

Erkrankungen. Doch schon sehr viel länger beschäftigen sich die einzelnen Kliniken des UKSH mit diesen Erkrankungen. So erstellte die Klinik für Kinder- und Jugendmedizin bereits 1991 eine Datenbank für Kinder mit einem Androgeninsensivitätssyndrom, kurz AIS. Aus dieser Datenbank hat sich in den vergangenen Jahren eine Datenbank für Kinder und Erwachsene mit den unterschiedlichsten Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung - auf Englisch Disorders of Sex Development, kurz DSD - entwickelt.

Als Störung oder Besonderheit der Geschlechtsentwicklung bezeichnet man Abweichungen von der normalen männlichen oder weiblichen Entwicklung des inneren oder äußeren Genitale (Holterhus 2008). In Deutschland werden jährlich 2 von 10.000 Neugeborenen mit einem uneindeutigen Genitale geboren (Thyen et al., 2006). Damit fallen die DSD unter die Definition einer seltenen Erkrankung. Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung bei Kindern sind für die Betroffenen und ihre Familien eine besondere Belastung. In welcher Form hängt meist direkt von der Art der Entwicklungsstörung ab, das Spektrum hierbei ist sehr breit. Zum einen gibt es Kinder, die bereits bei Geburt durch ein intersexuelles Genitale auffallen. Andere Kinder fallen in der Pubertät durch ausbleibende Pubertätsentwicklung oder zunehmende Virilisierung auf. Wieder andere Betroffene werden erst im Erwachsenenalter auffällig, hier spielt das Thema der Infertilität eine wichtige Rolle (Gallitzinopoulou et al., 2003).

Nicht nur in der Frage des zeitlichen Auftretens, auch in ihrer Art und ihrem Ausmaß sind diese Entwicklungsstörungen sehr heterogen. Als Grund für die Entwicklungsstörung kommen diverse Ursachen in Betracht. Hierzu zählen externe Faktoren, die die Entwicklung im Mutterleib beeinflussen, zum Beispiel der Einfluss einer Hormoneinnahme der Mutter während der Schwangerschaft. Es gibt jedoch auch interne Faktoren. Dazu zählen genetische Mutationen in für die Sexualentwicklung relevanten Bereichen, die zum Teil vererbt sind, zum Teil jedoch auch spontan entstehen. Zudem sind numerische Veränderungen der Geschlechtschromosomen ein möglicher Grund für sexuelle Entwicklungsstörungen. Weitere Faktoren wie zum Beispiel ein Zusammenhang mit syndromalen Fehlbildungen oder Wachstumsretardierung der Feten während der Schwangerschaft (Wennerström et al., 2015) stehen in Diskussion.

III.2. Die typische Geschlechtsentwicklung vom Mutterleib bis zur Geschlechtsreife

Die geschlechtliche Determinierung findet bereits zum Zeitpunkt der Befruchtung statt. Die Eizelle besitzt den haploiden Chromosomensatz 23,X, der männliche Samen den haploiden Chromosomensatz 23,X oder 23,Y. Der Chromosomensatz 46,XY determiniert im Regelfall für eine männliche Geschlechtsentwicklung. Beim Chromosomensatz 46, XX ist der Embryo meist als weiblich determiniert. Beim 4 Wochen alten Embryo erfolgt aus dem Mesoderm die Entwicklung der sogenannten Genitalleisten, der zukünftigen Keimdrüsen, gesteuert durch die Expression verschiedener Gene [siehe Abbildung 1] (Shimamura et al., 1997; Wilson und Davies, 2007; Miyamoto et al., 2008). Die Genitalleisten sind bipotent und können sich sowohl zu männlichen als auch zu weiblichen Geschlechtsorganen entwickeln.

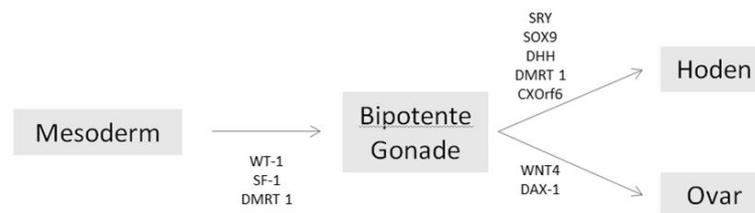


Abbildung 1: Embryonale Entwicklung, geschlechtliche Differenzierung der Gonaden (modifiziert nach Holterhus 2008)

Liegt ein 46,XY Chromosomensatz vor und die Geschlechtsentwicklung wird nicht gestört, entwickelt sich aus der Genitalleiste der Hoden mit Leydig- und Sertolizellen. In diesen werden die Hormone Testosteron und Anti-Müller-Hormon gebildet, die dann die Differenzierung zum männlichen Geschlecht ermöglichen. Wie in Abbildung 2 zu erkennen, entwickeln sich aus den Wolff-Gängen die Samenbläschen mit Samenleiter und Nebenhoden, die Entwicklung von proximaler Vagina, Uterus und Eileiter aus den Müller-Gängen wird unterdrückt. Beim 46,XX Chromosomensatz fehlen die auf dem Y-Chromosom lokalisierten Gene, sodass sich anstelle der Hoden die Ovarien ausbilden. Fehlendes Testosteron und AMH sorgen für eine weibliche Differenzierung mit Ausbildung der oben genannten weiblichen Organe aus den Müller-Gängen (Holterhus 2010). Werden beim 46,XX Genotypen Androgene gebildet, wie z.B. beim AGS durch 21-Hydroxylase Mangel, liegt eine 46,XX DSD vor.

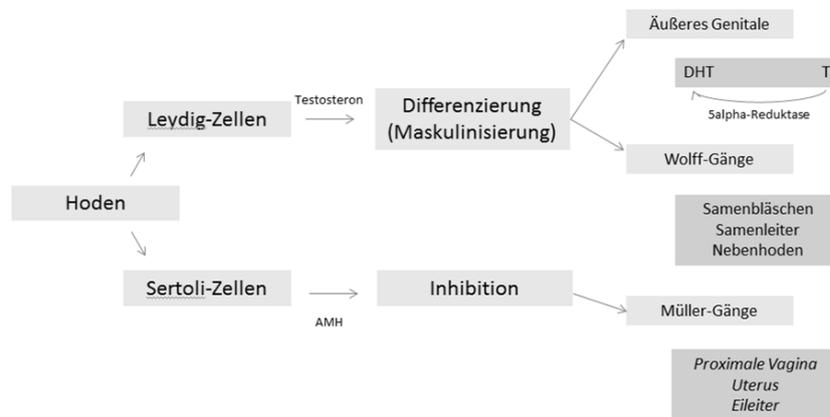


Abbildung 2: Männliche Geschlechtsentwicklung (modifiziert nach Holterhus 2008)

In den Abbildungen zeigen sich schon erste wichtige Differenzierungsmöglichkeiten der 46,XY DSD. Liegen Müller-Strukturen bei Karyotyp 46,XY vor, muss die Störung der Geschlechtsentwicklung vor der Entwicklung der Hoden liegen, z.B. bei SF1 oder SRY. Fehlende Müller-Strukturen sind sowohl bei Störungen der 17beta-HSD, 5alpha-Reduktase und AR charakteristisch. Je nach Ausprägung der Symptomatik variiert bei diesen Dreien das klinische Erscheinungsbild von äußerlich männlich bis weiblich. Durch den Anstieg des Testosterons in der Pubertät zeigen Patienten mit Mutationen sowohl der 17beta-HSD als auch der 5alpha-Reduktase dann häufig eine Virilisierung des äußeren Genitale.

III.3. Darstellung einiger relevanter Faktoren der männlichen Geschlechtsentwicklung

In der genetischen Sequenz vieler Rezeptoren und Enzyme wurden im Laufe der letzten Jahre und Jahrzehnte Mutationen entdeckt, die zu einer Fehl- oder Minderfunktion der kodierten Proteine führen – und damit zu einer nicht regelhaften Entwicklung des männlichen Genitale.

Es gibt vier Varianten der Mutationen (Brinkmann et al., 2001): 1. Punktmutationen, die zu Aminosäureveränderungen oder Stopcodons führen. 2. Insertionen oder Deletionen von Basen, hierdurch wird entweder eine Aminosäure hinzugefügt oder fehlt, häufiger jedoch verschiebt sich das Leseraster und es kommt zu einem vorzeitigen Stopcodon. 3. Deletio-

nen einzelner Exons oder des gesamten Gens. 4. Mutationen im Bereich der Introns, die zu Fehlern beim Splicen oder Ablesen der DNA führen.

Verschiedene Vererbungswege sind bekannt. Die Mutationen in den genetischen Sequenzen der hier folgenden Proteine werden rezessiv vererbt. Es gibt die X-chromosomal rezessive Vererbung, mit gesunden Konduktorinnen, deren Kinder zu 50% ebenfalls gesunde Konduktorinnen bzw. im Falle eines 46,XY-Chromosomensatzes erkrankte Söhne sind. Bei der autosomal rezessiven Vererbung müssen für eine Erkrankung zwei betroffene Chromosomen vorliegen, also je eines von beiden Elternteilen. Homozygot tritt dies gehäuft bei konsanguinen Elternteilen auf (Maimun et al., 2011, Akcay et al., 2014). Es gibt jedoch auch compound heterozygote Mutationen, dann liegen zwei unterschiedliche Mutationen vor, wodurch ebenfalls keine funktionierenden Proteine kodiert werden können.

Im Folgenden werden einige Rezeptoren und Enzyme der männlichen Geschlechtsentwicklung näher betrachtet.

III.3.1. Steroidogenic factor 1 (SF 1)

In Abbildung 1 ist sichtbar, dass SF1 bereits zu Beginn der geschlechtlichen Entwicklung eine wichtige Rolle spielt. Es ist ein wichtiger Transkriptionsfaktor in den Gonaden und der Nebennierenentwicklung. Zudem spielt er auch eine wichtige Rolle in der Steroidgenese. Liegen hier Mutationen vor, kann durch Nebennierenhypoplasie eine Nebennierenrindeninsuffizienz in Kombination mit einer genitalen Virilisierungsstörung auftreten (Achermann et al., 1999). Es liegen oftmals Streakgonaden (funktionslose Gonaden in Form von fibrinösen Strängen) und Müller-Strukturen vor, der Phänotyp ist dann weiblich. Bei unvollständigem Ausfall des SF1-Gens kann auch eine nicht vollständige Störung der Entwicklung des äußeren männlichen Genitale ohne Nebennierenrindeninsuffizienz auftreten (Köhler et al., 2010). SF1 ist auf dem 9. Chromosom lokalisiert und wird autosomal rezessiv vererbt (Genort 9q33.3).

III.3.2. Sex determining region Y (SRY)

Die Sex determining region Y liegt auf dem Y-Chromosom (Genort: Yp11.2) und ist, wie der Name bereits andeutet, der entscheidende Transkriptionsfaktor für die Entwicklung

der Hoden und damit der geschlechtlichen Differenzierung (siehe Abbildung 1). Liegt eine komplette Dysgenese vor, zeigt sich ein weiblicher Phänotyp mit ausgebildeten Müller-Strukturen und Streakgonaden. Eine leichte Virilisierung des äußeren Geschlechts, z.B. eine Klitorishypertrophie, kann vorliegen (Holterhus 2010). Meist fallen betroffene Mädchen im Pubertätsalter durch ausbleibende Pubertätsentwicklung und fehlende Menarche auf (Han et al., 2011) Die dysgenetischen Gonaden haben ein erhöhtes Entartungsrisiko, eine Gonadektomie wird hier empfohlen (Ben Temime et al., 2008). Eine reine Gonadendysgenese wird auch als Swyer-Syndrom bezeichnet.

III.3.3. 17-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ III (17beta-HSD)

Wie in Abbildung 2 zu erkennen, ist Testosteron die Basis für die Maskulinisierung. Die 17-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ III (im Folgenden 17beta-HSD genannt) ist ein wichtiges Enzym für die Testosteron-Biosynthese. Sie katalysiert die Bildung von Testosteron aus dem Vorläufermolekül Androstendion (Mendonca et al., 2017). Androstendion wird im Kindesalter in der Zona reticularis der Nebennierenrinde und zum kleinen Teil auch in den Gonaden produziert. Beim Mann ist der Produktionsort fast ausschließlich der Hoden, bei der Frau etwa zu gleichen Teilen das Ovar und weiterhin die Nebennierenrinde. Androstendion hat nur eine sehr schwache androgene Wirkung (Hong 2003).

Auf Chromosom 9 liegt die codierende Region für die 17beta-HSD (Genort: 9q22.32), es liegt ein autosomal rezessiver Erbgang vor.

Die Fehlfunktion oder auch Minderfunktion der 17beta-HSD führt in der Regel zur deutlich verminderten Virilisierung des äußeren Genitale. Wolff-Derivate sind meist angelegt. Betroffene sind bei Geburt phänotypisch meist komplett oder überwiegend weiblich. Die Hoden sind vorhanden (Grimbly et al., 2016). In der Pubertät kommt es unter anderem zum Anstieg der Androstendion-Produktion und folglich auch zum Anstieg des Testosterons zum Teil bis in physiologische Bereiche. Dies führt zu einer deutlichen Virilisierung der meist weiblichen Betroffenen. Es kommt zu einem teils starken Phalluswachstum, die Körperform wird männlich, die Stimme tiefer. Diese starke Veränderung in der Pubertät bringt mit sich, dass die Geschlechterrolle teilweise gewechselt wird (Mendonca et al., 2017). Bei der Frage der Geschlechtszuweisung ist das zu bedenken.

III.3.4. 5-alpha-Reduktase Typ 2 (5alpha-Reduktase)

Die 5alpha-Reduktase Typ II (nachfolgend 5alpha-Reduktase) ist als Enzym für die Umwandlung von Testosteron in Dihydrotestosteron (DHT) verantwortlich, bei Mutationen ist daher diese Umwandlung beeinträchtigt (Wilson et al., 1993). DHT hat eine zwei- bis dreifach erhöhte Affinität zum AR, es dissoziiert etwa vier- bis fünfmal langsamer und ist in seiner Wirkung etwa 10fach potenter als Testosteron (Delsypere 1992, Zhou 1995, Hsiao 2000, Liu 2003).

Die codierende Region für die 5alpha-Reduktase liegt auf Chromosom 2 (Genort: 2p23.1). Es liegt ein autosomal rezessiver Erbgang vor, sowohl Vater als auch Mutter können Konkurrenten für eine Mutation dieses Enzyms sein (Akçay et al., 2014). Liegt eine homozygote oder compound heterozygote Mutation vor, kommt es zu einer relevanten Funktionsstörung des Enzyms. Diese kann sehr variabel ausgeprägt sein (Cheng et al., 2015).

Die Umwandlung von Testosteron in DHT findet im äußeren Genitale statt, da die 5alpha-Reduktase hier exprimiert wird. So entsteht das aktivere DHT direkt an seinem Wirkungs-ort, denn es ist besonders für die Virilisierung des äußeren Genitale relevant (Akçay et al., 2014), siehe auch Abbildung 2. Die Entwicklung des inneren männlichen Genitale wird direkt durch Testosteron induziert und ist damit von einem Mangel an DHT nicht betroffen. Ein Mangel an 5alpha-Reduktase kann die ganze Bandbreite der Phänotypen zur Folge haben (Akçay et al., 2014). Auch genitale Fehlbildungen bei Jungen, wie z.B. eine Hypospadie, können auf einen 5alpha-Reduktase-Mangel hinweisen (Maimun et al., 2011). Die Hoden können inguinal oder labioskrotal liegen. Mit dem Anstieg des Testosteronspiegels in der Pubertät kommt es häufig auch zu einem relativen Anstieg an DHT. So kommt es auch bei diesem Krankheitsbild zu einer Virilisierung in der Pubertät, was wieder zu Problemen bei der Geschlechtszuweisung der Kinder nach der Geburt führt. Die Geschlechtsidentität der Jugendlichen wechselt möglicherweise (Maimun et al., 2011).

III.3.5. Androgenrezeptor (AR)

Das durch die 17betaHSD entstandene Testosteron und auch das durch die 5alpha-Reduktase entstandene DHT können nicht an jeder Zelle wirken, die Zelle benötigt dafür einen speziellen Rezeptor. Diesem Androgenrezeptor kommt so in der Entwicklung der

männlichen Geschlechtsorgane eine wichtige Rolle zu. Ist er nicht funktionstüchtig, kann trotz vorhandener Hoden und Testosteronproduktion, sowie ausreichend vorhandenem DHT die Entwicklung des äußeren und inneren männlichen Genitale nicht stattfinden.

Der für den Androgenrezeptor kodierende Bereich liegt auf dem X-Chromosom (Genort: Xq12) und wird X-chromosomal rezessiv vererbt. 70% der Betroffenen erhalten die Mutation auf diesem Wege, bei 30% gibt es de novo Mutationen (Hiort et al., 1998, Köhler et al., 2005). Zudem können auch Mosaik Grund für eine eingeschränkte Funktion des AR sein. Es gilt, je mehr Zellen den mutierten Rezeptor tragen, desto ausgeprägter ist die Symptomatik (Holterhus et al., 1997). Die noch vorhandene Restfunktionalität des AR variiert stark und führt zu einem heterogenen Krankheitsbild (Tadokoro et al., 2009; Mongan et al., 2015)

Ist die Funktion des Androgenrezeptors vollständig gestört, führt dies zu einem weiblichen äußeren Genitale. Wolff-Derivate als Zeichen einer Entwicklung des inneren männlichen Genitale liegen, im Unterschied zu den oben genannten Störungen, nicht vor. Das klinische Bild einer kompletten Androgenresistenz wird als „complete androgen insensitivity syndrome“, kurz CAIS bezeichnet. Diagnostiziert wird ein CAIS teilweise im Rahmen der U1- oder U2-Untersuchung, da die angelegten Hoden in den Labien oder im Leistenkanal zu tasten sein können. Häufiger jedoch werden die Mädchen im Teenageralter vorstellig. Das in den Hoden produzierte Testosteron wird in der Pubertät vermehrt in Östradiol umgewandelt, was zu Brustentwicklung und Entwicklung weiblicher Körperformen führt. Die fehlenden weiblichen Geschlechtsorgane bedingen jedoch primäre Amenorrhoe, das Fehlen der Androgenrezeptorfunktion eine fehlende Körperbehaarung (Hughes et al., 2012).

Liegt eine Restfunktionalität des Androgenrezeptors vor, spricht man vom sogenannten „partial androgen insensitivity syndrome“, kurz PAIS. Ein PAIS kann in beinahe jedem Altersabschnitt auffällig werden. Säuglinge fallen z.B. durch intersexuelle Genitale auf. Dies kann von phänotypisch untermilisierten Jungen bis zu virilisierten Mädchen mit z.B. einer Klitorishypertrophie reichen. Ist der Patient phänotypisch (nahezu) unauffällig männlich, kann es im Rahmen der Pubertät zur Gynäkomastie kommen (Lee et al., 2015). Diese wird durch die erhöhte Umwandlung von Testosteron in Östradiol verursacht. Im Erwachsenenalter kann sich eine leichte Androgenresistenz durch eine ungeklärte Infertilität oder leichte Gynäkomastie bei ansonsten unauffälligem männlichen Phänotyp bemerkbar ma-

chen. Dieser klinisch unauffälligste Typ des AIS wird auch als „minimal/mild androgene insensitivity syndrome“, kurz MAIS bezeichnet (Brinkmann, 2001). Häufig sind diese Variationen des MAIS so unauffällig, dass sie lange unentdeckt bleiben (Galli-Tsinopoulou et al., 2003).

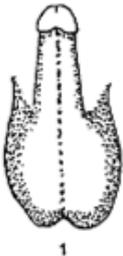
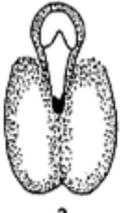
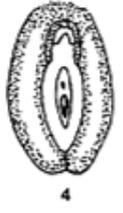
Typ	Phänotyp	Form	Phänotyp und Funktion
 1	Männlich	MAIS	Gestörte Spermatogenese und/oder gestörte Virilisierung in der Pubertät
 2	Vorwiegend männlich	PAIS	Isolierte Hypospadie und/oder Mikropenis und höhergradige Hypospadie, Skrotum bipartum
 3	ambivalent	PAIS	Klitorisähnlicher Mikrophallus, labien-ähnliches Skrotum bipartum, perineoskrotale Hypospadie oder auch Sinus urogenitalis mit kurzer, blind endender Vagina
 4	Vorwiegend weiblich	PAIS	Klitorishypertrophie und labiale Fusion, Sinus urogenitalis mit kurzer, blind endender Vagina oder leichte Virilisierungszeichen
 5	weiblich	CAIS	Keine Virilisierungszeichen, in der Pubertät Brustentwicklung, keine Entwicklung Androgen-abhängiger Strukturen (keine Scham/Achselbehaarung)

Tabelle 1: Klassifikation des AIS nach Sinnecker 1997

III.4. Klinisches Bild

Der Phänotyp kann bei den Mutationen in den verschiedenen Genen recht ähnlich sein und ist nicht unbedingt ein Unterscheidungsmerkmal für den Grund der Veränderung, sodass eine genetische Untersuchung auch bei genauer Kenntnis des klinischen Bildes notwendig ist.

Eine strukturierte Darstellung des klinischen Bildes ist für eine Datenbank sehr wichtig, um das klinische Bild mit allen wichtigen Merkmalen zu dokumentieren und einzuteilen. Hierfür gibt es verschiedene Möglichkeiten. Die Lübecker Datenbank beinhaltet Daten seit 1993 und war initial als Datenbank für Patienten mit AIS gedacht. So wurde die von Sinnecker 1997 gewählte Einteilung für das äußere Genitale als Grundlage gewählt. Dieser Auszug aus der Datenbank stellt die Einteilung nochmals kurz dar.

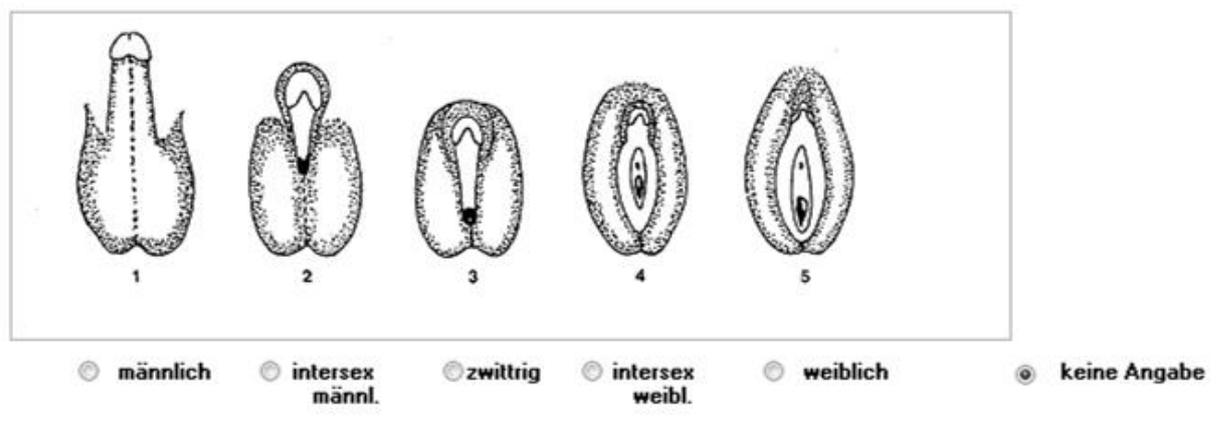


Abbildung 3: Auszug aus dem Eingabebereich der Datenbank, angelehnt an die Klassifikation der Phänotypen nach Sinnecker 1997

Entsprechend dieser Grafik werden die Phänotypen als klinischer Typ 1 bis 5 bezeichnet, um das klinische Bild gleichermaßen für alle Patienten, ob mit oder ohne Mutation zu beschreiben.

Zudem ist phänotypisch auch eine Hypospadie relevant, da viele Patienten aus diesem Grund vorgestellt werden. Eine Hypospadie entsteht durch den fehlenden Verschluss der Urethralfalte und der Harnröhre in der Entwicklung des Feten. Es zeigt sich eine Spaltbil-

dung mit Fehlanlage des Meatus urethrae externus. Eine Gradeinteilung erfolgt nach Lage des Meatus, hier ein Auszug aus der Datenbank der die Gradeinteilung zeigt.

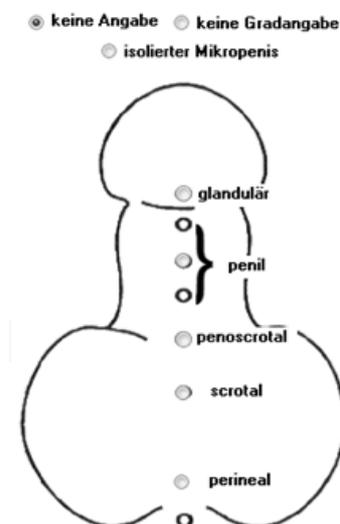


Abbildung 4: Auszug aus dem Eingabebereich der Datenbank, Klassifikation der Hypospadie wie auch verwendet von Smith (1938), Duckett (1996), Hadidi (2004), und Boisen (2005).

III.5. Die Datenbank

Die Datenerfassung unterlag seit 1993 selbstverständlich einigen Veränderungen. Initial waren lediglich Patienten mit AIS in die Datensammlung integriert, deren Unterlagen in Papierform gesammelt wurden. Erst 2003 erfolgte die Erstellung der hier zu Grunde liegenden, digitalen Datenbank. Innerhalb der Jahre ändert sich das Verständnis einer solch komplexen Entwicklungsstörung. Es folgten nach und nach weitere untersuchte Gene. Heute sind durch NGS die Untersuchungsmöglichkeiten noch sehr viel größer. Auch der Fragebogen, der Informationen zu den Patienten gibt, hat sich ebenfalls im Laufe der Jahre geändert. Damit hat die 2003 erstellte Datenbank teilweise nicht die Möglichkeiten, alle wichtigen Informationen aufzunehmen, die mittlerweile bekannt sind. Nachträglich eingefügte Items in der Datenbank helfen hier, doch natürlich fehlen von den zurückliegenden Patienten diese Informationen.

III.6. Fragestellung

Das UKSH, Campus Lübeck hat ein Zentrum für seltene Erkrankungen. Unter anderem werden hier Patienten mit Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung (DSD) untersucht und betreut. Seit 1991 werden die Daten und Untersuchungsergebnisse dieser Patienten (und teilweise ihrer Angehörigen) in einer Datenbank erfasst. Aufgenommen werden in die Datenbank unter anderem Daten zum klinischen Erscheinungsbild, die Namensgebung/Geschlechtszuordnung, das Datum der Untersuchungen und die Ergebnisse molekulargenetischer Untersuchungen. Die Datenbank wurde erst 2013 im Rahmen dieser Arbeit vollständig digitalisiert, sie enthielt zu diesem Zeitpunkt 2056 Datensätze, die bisher noch keiner statistischen Auswertung unterzogen wurden.

Die Auswertung dieser Daten soll zunächst einmal die Bandbreite der klinischen Befunde, mit welchen die Patienten vorstellig werden, darstellen. Wie genau verteilen sich die Daten? Treten bestimmte klinische Befunde besonders häufig auf? Gibt es molekulargenetische Befunde, die vermehrt auftreten oder vielleicht mit einem bestimmten Phänotyp assoziiert sind?

Im Rahmen der Behandlung von Patienten mit seltenen Erkrankungen ist die Arbeit mit Datenbanken essentiell, aber auch schwierig. Zu häufig gibt es Datenlücken, z.B. dadurch, dass nur unvollständige Datensätze vorliegen. Manche Lücken sind auch eine Folge des sich verändernden Wissens über eine seltene Erkrankung. Wie vollständig ist die Lübecker DSD-Datenbank? Und welche Daten werden seit 22 Jahren schon erfasst, welche fehlen in der Erfassung? Lassen sich Empfehlungen zur Verbesserung der Datenerfassung ableiten?

IV. MATERIAL UND METHODEN

Die dieser Arbeit zu Grunde liegende Datenbank wurde 2003 als Datenbank in Microsoft Access erstellt. Grundlage für die eingehenden Items war ein Fragebogen der Klinik für Kinder und Jugendmedizin des UKSH, Campus Lübeck.

Dieser Fragebogen wurde von Ärzten für Patienten ausgefüllt, bei denen eine DSD-Diagnose mit dem Verdacht auf ein AIS bestand. Anschließend wurde er gemeinsam mit einer Blutprobe zur genetischen Untersuchung eingesandt. Die Fragebögen liegen jedoch nicht bei allen Einsendungen von Blutproben vor. Teilweise wurden Arztbriefe und Untersuchungsbefunde mitgesandt, die die entsprechenden Informationen häufig enthielten. Oft liegen jedoch auch nur spärliche Informationen zu den Patienten, deren Blut untersucht wurde, vor. Insgesamt liegen zu 45,4 % der eingesandten Blutproben Fragebögen vor (Tabellarium 1), dies schließt jedoch auch jene Fragebögen ein, die kaum oder nur unzureichend ausgefüllt wurden. Exemplarisch findet sich im Anhang der aktuellste Fragebogen.

Es erfolgte im Rahmen dieser Arbeit die Digitalisierung der Daten rückwirkend bis zum aktuellen Stand im Juni 2013. Aus dem Zeitraum von 1991 bis 2013 liegen von 2056 Patienten Blutproben vor. Die Blutproben sind sowohl von Patienten selbst, als auch von deren Angehörigen.

Die Datenerfassung und Auswertung wurde durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck geprüft, ein positives Ethikvotum liegt vor (Ethikvotum 081/08).

IV.1. Material

IV.1.1. Erfasste Variablen

Es wird hier auf die in der Datenbank erfassten Informationen eingegangen, die im Laufe der Jahre auch Veränderungen unterworfen waren. Zum besseren Verständnis finden sich im Anhang Screenshots der Datenbank-Eingabebereiche.

IV.1.1.1. Anamnese

An anamnestischen Angaben finden sich mehrere Variablen. Dies sind die Familienanamnese betreffend die Frage nach ebenfalls betroffenen Verwandten, sowie nach Konsanguinität der Eltern. Bezüglich der eigenen Anamnese ist das Geburtsdatum, das Datum der ersten Vorstellung, sowie das Datum bzw. Alter diverser Blutentnahmen gefragt. Aus der Differenz zwischen Geburtsdatum und Datum der Vorstellung wurde für die Auswertung der Daten das Alter bei Vorstellung berechnet. Die Datenbank selbst bietet keine Möglichkeit der Angabe einer Geschlechtszuordnung männlich/weiblich. Jedoch ist der Vorname ein Teil der Datenerfassung. Für die Geschlechtszuweisung ist im Folgenden ein weiblicher Vorname mit einer weiblichen Geschlechtszuordnung, ein männlicher Vorname mit einer männlichen Geschlechtszuordnung gleichgesetzt. Namen, die nicht eindeutig sind, oder Kinder die noch keine Geschlechtszuordnung haben, da sie pränatal oder bei der Geburt auffällig wurden, sind als unklar in der Datenbank erfasst.

IV.1.1.2. Klinische Befunde

Hier ist der Phänotyp in 5 klinische Gruppen unterteilt, die auf den initial von Sinnecker beschriebenen Typen des AIS basieren (Sinnecker et al., 1997). Sie werden bezeichnet als klinischer Typ 1 bis 5. Zudem erfasst ist die Frage nach Hypospadien oder Mikropenis, Lokalisation und ggf. Histologie der Gonaden und Vorhandensein eines Uterus.

IV.1.1.3. Laboruntersuchungen und Befunde

Grundsätzlich ist hier besonders wichtig, den Karyotyp des Patienten anzugeben. Liegen bereits erste genetische Untersuchungsergebnisse vor, werden auch diese angegeben. Zudem werden die Laborwerte für LH, FSH, Testosteron, Androstendion und Dihydrotestosteron basal und stimuliert abgefragt; das Alter bei der Abnahme ist wichtig, daher ist das Datum der Abnahme mit anzugeben.

IV.1.1.4. Ergebnisse der genetischen Untersuchung

In der Datenbank werden zudem die Ergebnisse der genetischen Untersuchungen eingegeben. Dies erfolgt auf zwei Arten. Zum einen gibt es den Bereich Status, hier wird angegeben, ob ein Gen überhaupt untersucht wurde, ob eine Mutation vorliegt oder nicht. Des

Weiteren gibt es einen Freitextbereich, in dem die Mutationen festgehalten werden. Bis Juni 2013 sind Mutationen alle einheitlich auf die jeweils mit angegebenen Referenzgene bezogen. Auch die Proteinveränderung findet Eingang in eine Freitextzeile.

IV.2. Methoden

IV.2.1. Statistische Auswertung

Die Daten wurden in eine Datenbank des Programms Microsoft Access eingegeben. Es erfolgte die Umwandlung in eine Tabelle des Programmes Microsoft Excel und die Zuweisung von Wertelabels um eine Auswertung mit dem Programm SPSS 21 bzw. 22 möglich zu machen. Nach Übertrag in SPSS erfolgte die statistische Auswertung und Erstellung von Tabellen und Diagrammen über dieses Programm sowie über Microsoft Excel.

Die Analyse der kategorialen Variablen erfolgte unter Anwendung des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,01$ gewählt, da mehrere Chi-Quadrat-Tests mit derselben Grundgesamtheit durchgeführt wurden. Bei Berechnungen in Untergruppen liegt das Signifikanzniveau bei $p < 0,05$. Es ist zu erwähnen, dass auf Grund der teilweise sehr geringen Fallzahlen, die in vielen Zellen Werte unter 5 ergaben, der Chi-Quadrat-Test in mehreren Fällen nur begrenzte Aussagekraft besitzt. Dies wird, sofern zutreffend, im Ergebnisteil bei den jeweiligen Tests angegeben.

Das Alter der Personen wurde mittels Signifikanztest auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk mit einem Signifikanzniveau $p < 0,5$ überprüft. Da das Alter hiernach nicht normalverteilt ist, inhomogene Varianzen (Test nach Levene) und verschieden große Stichproben vorlagen, wurde zum Vergleich der Mittelwerte der Least significant difference Test herangezogen. Das Signifikanzniveau lag hier bei $p < 0,05$ und das Konfidenzintervall bei 95%.

Initial erfolgte eine biometrische Beratung durch das Institut für medizinische Biometrie und Statistik, um die grundsätzlichen Möglichkeiten der Auswertung zu besprechen. Nach Abschluss der Datenbearbeitung erfolgte erneut eine Beratung.

IV.2.2. Untersuchung der Blutproben

1991 wurden die eingesandten Blutproben mittels SSCP (sog. single-strand conformation polymorphism) auf Mutationen in den einzelnen Genen untersucht. Hierbei handelt es sich um eine gelelektrophoretische Screeningmethode für die Erkennung genetischer Varianten in definierten Genabschnitten, auffällige Genabschnitte werden dann direkt sequenziert (Hiort et al., 1993). Aktuell erfolgt die Untersuchung der Gene mittels kompletter direkter Sequenzierung der kodierenden Genabschnitte nach Sanger.

Es erfolgte initial lediglich die Untersuchung auf Mutationen im Bereich des Androgenrezeptors, anschließend folgten in der genannten Reihenfolge 5alpha-Reduktase, 17beta-HSD, SRY und SF1. Es wurden nicht alle Blutproben auf alle Gene hin untersucht, was zum einen historische Gründe hat (die Untersuchung der Gene wurde erst im Laufe der Jahre im Labor eingeführt), zum anderen mit den Anforderungen und Angaben des einsendenden Arztes zusammenhängt.

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die jeweiligen Referenzgene.

Rezeptor	Referenzgen
Androgenrezeptor	NM_000044.3 NG_00914.1
5alpha-Reduktase	NM_000348.3
17betaHSD	NM_000197.1
SRY	NM_03140.1
SF1	NM_004959.4
CYP11A1	NM_000781.2

Tabelle 2: Referenzgene

V. ERGEBNISSE

V.1. Einführung in den Ergebnisteil

Zum leichteren Verständnis der Ergebnisdarstellung folgt zunächst ein kurzer Überblick über die Aufteilung der Ergebnispräsentation.

Im Folgenden beginnt die Ergebnispräsentation mit einer Aufschlüsselung und grafischen Darstellungen des Untersuchungskollektives. Dies soll zunächst einen Überblick über die untersuchte Gruppe geben und so eine leichtere Einordnung der Ergebnisse ermöglichen.

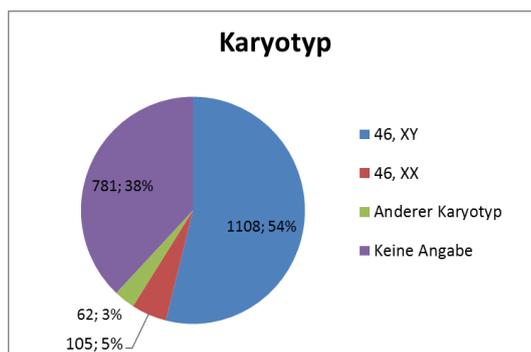
Für die weitere Einteilung wurde eine Aufsplitterung der Ergebnisse in zwei große Abschnitte vorgenommen. Zunächst erfolgt die Darstellung der vorliegenden klinischen Bilder. Dies ist in vielen Fällen der Grund für die ärztliche Vorstellung und so auch chronologisch gesehen der erste Aspekt der Diagnosefindung.

Chronologisch gesehen wäre der nächste Schritt nun die Auseinandersetzung mit den laborchemischen Parametern. So kann ein weiterer Schritt zur Diagnosefindung erfolgen. Die Datensätze sind sehr inhomogen bezüglich der Altersangaben beim Zeitpunkt der Blutentnahme und recht unvollständig. Eine sinnvolle statistische Untersuchung ist auf Grund der zu kleinen Gruppen, die sich so ergeben, nicht möglich.

Daher befasst sich das anschließende Kapitel mit der näheren Betrachtung der gefundenen genetischen Veränderungen. Nach einem Überblick über die gefundenen Mutationen folgen die detailliertere Betrachtung der einzelnen Gene, sowie eine Betrachtung der Genloci mit den häufigsten Mutationen. Im Gegensatz zur chronologischen Reihenfolge des Auftretens in der männlichen Geschlechtsentwicklung, die in der Einleitung gewählt wurde, ist die Reihenfolge in den folgenden Kapiteln eher historisch zu sehen. Es beginnt mit der Betrachtung der Mutationen des Androgenrezeptors, deren Bedeutung für die Geschlechtsentwicklung schon sehr lange bekannt ist, und die in der Lübecker Datenbank dadurch auch den größten Anteil einnehmen. Es folgen die Mutationen in den genetischen Sequenzen für die 5alpha-Reduktase, die 17betaHSD, SRY und anschließend für das Protein, welches erst seit wenigen Jahren näher in Hinblick auf DSD untersucht wird, SF1.

V.2. Das Untersuchungskollektiv

Insgesamt liegen 2056 Datensätze vor. Hiervon haben 1108 Patienten den Karyotyp 46,XY, 105 Patienten haben den Karyotyp 46,XX, bei 62 Patienten wurde ein anderer Karyotyp festgestellt. Insgesamt fehlen damit die Angaben zum Karyotyp von 781 Patienten. (Tabellarium 2)



Grafik 1: Verteilung der Karyotypen im Gesamtkollektiv

Es liegen also von insgesamt 38% der Personen keine Angaben zum Karyotyp vor. Dies kann verschiedene Ursachen haben, die nicht aus der Datenbank hervorgehen. Einerseits kann eine mangelnde Kommunikation vorliegen, das heißt, der Karyotyp ist zwar bekannt, wurde aber nicht mitgeteilt. Andererseits kann es auch bedeuten, dass die Untersuchung des Karyotyps gar nicht erst stattgefunden hat und die Untersucher direkt zum nächsten diagnostischen Schritt, der Untersuchung der einzelnen Gensequenzen, übergegangen sind. Bei 709 Patienten wird ein weiblicher Vorname angegeben, 1075 Vornamen sind männlich, die übrigen Vornamen entweder nicht bekannt oder unklar. (Tabellarium 3).



Grafik 2: Geschlechtszuweisung Gesamtkollektiv

Bei nur 5,1% der Patienten liegt der Karyotyp 46,XX vor, 34,5% haben jedoch eine weibliche Geschlechtszuweisung, welches die Grundproblematik der Patienten in der Datenbank widerspiegelt. Dass über 50% der Patienten eine männliche Geschlechtszuweisung haben, zeigt jedoch, dass nicht ein CAIS den Hauptanteil der Patienten ausmacht, obwohl das AIS und insbesondere CAIS initial der Grund zur Entstehung der Datenbank waren.

Die Altersstruktur unterscheidet sich abhängig vom Karyotyp, für die Fälle mit gültigen Werten ($n=1338$) ist sie nicht normalverteilt (Signifikanztest auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk mit Signifikanzniveau $p<0,5$), ebenso die Altersverteilung in den einzelnen Gruppen der Karyotypen 46,XY und andere Karyotypen (Tabellarium 6). Es zeigt sich mit im Mittel 5 Jahren und 7 Monaten das jüngste Untersuchungsalter für Patienten mit anderem Karyotyp, gefolgt von 46,XY-Karyotypen mit im Mittel einem Alter von 7 Jahren, und einem deutlich höheren Altersdurchschnitt beim Karyotyp 46,XX. Hier liegt der Mittelwert bei 25 Jahren und 11,4 Monaten. Patienten ohne Angabe des Karyotyps wurden von der Berechnung ausgeschlossen.

Der Vergleich der Mittelwerte erfolgte mittels Least significant difference Test und zeigte mit $p=0,385$ keinen signifikanten Altersunterschied zwischen Patienten mit 46,XY-Karyotypen und anderen Karyotypen. Es gibt also keinen statistisch relevanten Unterschied beim Alter der Erstvorstellung zwischen Patienten mit einer chromosomalen Veränderung und Patienten mit einer isolierten DSD. In der Tabelle zeigt sich natürlich ein signifikanter Altersunterschied zu den Patienten mit einem 46,XX-Karyotyp. Dies liegt an der Tatsache, dass hier vor allem die Mütter im Rahmen von Familienuntersuchungen untersucht wurden. Ein Vergleich der Mittelwerte aller 46,XY-Patienten mit gefundenen Mutationen, aufgesplittet nach den betroffenen Genen, zeigte keine signifikanten Altersunterschiede, hier zeigt sich $p_{\min}=0,234$.

Innerhalb der Datenbank wurden 166 Familienuntersuchungen durchgeführt, die Größe der Familien lag zwischen zwei und einundzwanzig Personen. Insgesamt waren die Familien mit 578 Personen vertreten, somit wurden die Blutproben von 1478 Einzelpersonen untersucht. Betroffene Familienmitglieder gab es bei insgesamt 442 Personen (21,5%), bei jedoch nur 1043 gültigen Werten. Ein Verwandtschaftsverhältnis der Eltern lag bei 82 Personen (4%) vor.

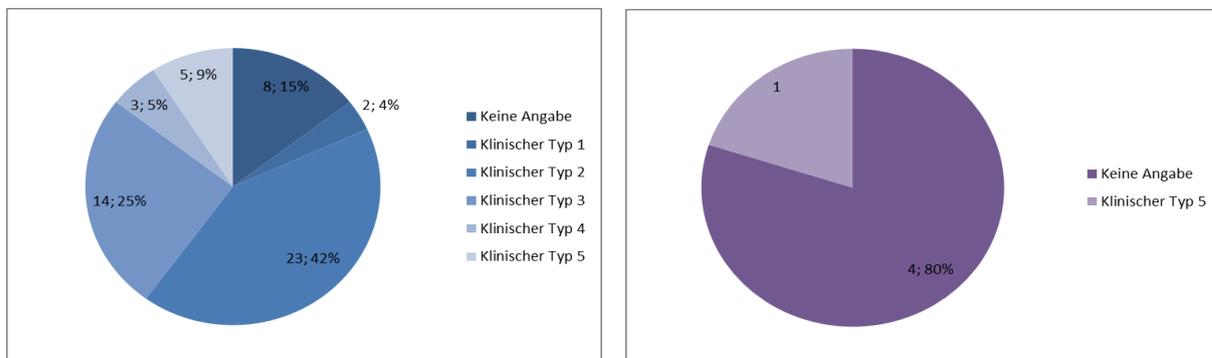
V.3. Darstellung der Fälle mit chromosomalen Veränderungen

Unter dem Label „anderer Karyotyp“ werden 62 Patienten zusammengefasst, die einen anderen Karyotyp als 46,XY oder 46,XX aufweisen. Nachfolgend ist aufgelistet, welche Karyotypen hier zu finden sind.

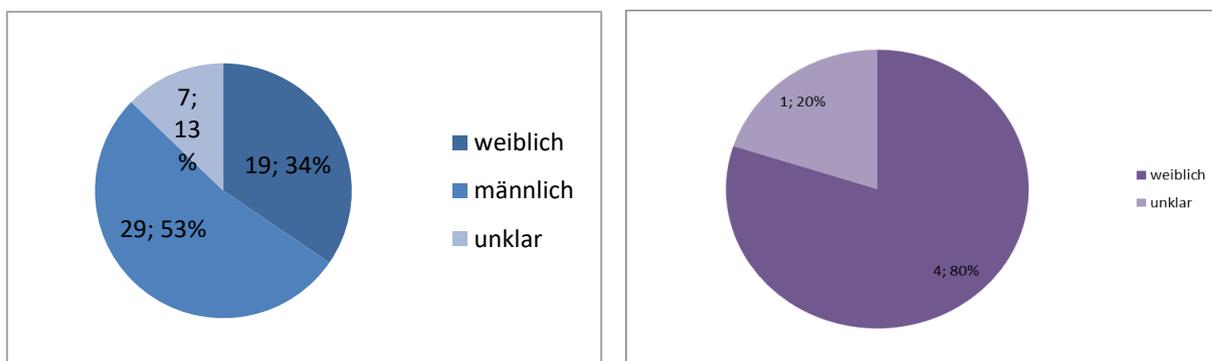
Karyotyp	Häufigkeit	Karyotyp	Häufigkeit
45 X0	4	46XY, Translokation 2p, 12q	1
45X0, aberrantes Y (10% Leuko)	1	46XY,9 qh+	1
45X/46/46XrY/47XrYrY	1	46XY,t(1;3)(36.1;p21)	1
45XY,Robertson-Translok. 13/14	1	46XY; 14pst	1
45XY(f13;15)	1	46XY(t3;8)	1
45XO/46XY	25	46XY/47XY(mar+)	1
45, XO/46Xr(y)	1	47 XY + 21	4
46 XX/46 XY/ 47 XXY	1	47, XXY	1
46 Y , der(X).ish	1	47, XYY	1
46,XY inv(3) (p11q12)	1	48 XXXY	1
46,XY,del2	1	49,XXXXY	1
46,XYvar(Y)(q12,QFQ)	1	Mosaik 46XX/46XY	2
46X,inv(Y) (p11q11)	1	Mosaik: 65,1 % XYY	1
46X,t(X;20)(q22.1;..	1	Turner-Mosaik	1
46Xp+Y,dup8x)(p22)	1	Fehlende Angabe	2
Gesamtsumme 62			

Tabelle 3: Übersicht andere Karyotypen

Die klinischen Typen und Geschlechtszuordnung sind anhand der nachfolgenden Diagramme zu erkennen.



Grafik 3a/b: Phänotyp "anderer Karyotyp mit/ohne Y-Chromosom"



Grafik 4a/b: Geschlechtszuweisung "anderer Karyotyp mit/ohne Y-Chromosom"

Bei dreien dieser Patienten wurde eine Mutation gefunden, eine ist nicht genauer beschrieben, die beiden anderen haben eine Mutation im Gen für die 5alpha-Reduktase Typ II, einmal homozygot, einmal heterozygot.

Kreuztabelle Karyotyp*Mutation

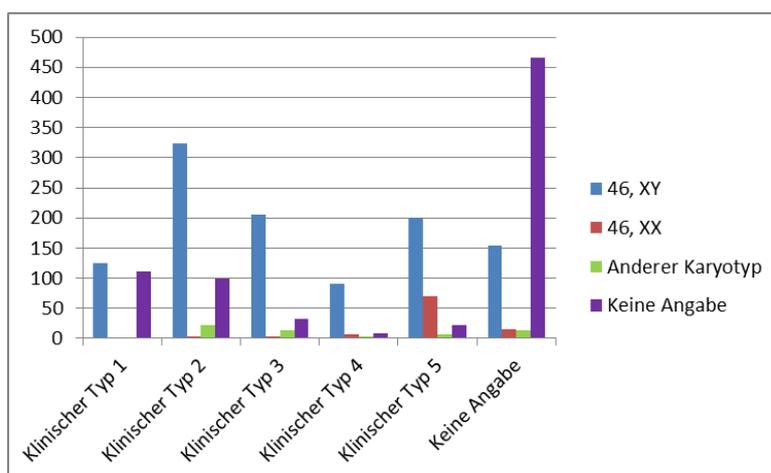
	Mutation			Gesamtsumme
	Keine Angabe	c. 596T>A p.Ile199Asn homozygot	c.695A>G p.His232Arg heterozygot	
Karyotyp <u>46XY/46XX(84/16)</u> Anzahl	1	0	0	1
<u>47, XYY</u> Anzahl	0	0	1	1
<u>Mosaik 47 XY + 21</u> Anzahl	0	1	0	1
Gesamtsumme Anzahl	1	1	1	3

Tabelle 3: Mutationen bei Patienten mit anderem Karyotyp

V.4. Klinisches Bild

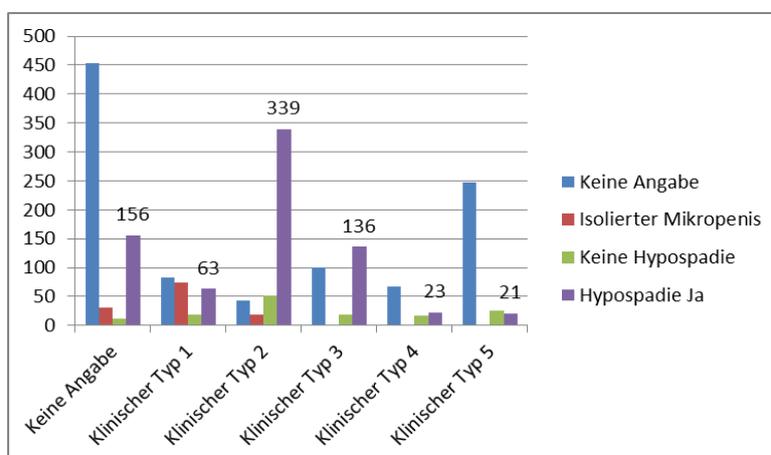
V.4.1. Äußeres Genitale

Der Phänotyp wird als klinischer Typ 1 bis 5 klassifiziert, dabei entspricht Typ 1 einem gänzlich männlichem Genitale, Typ 5 einem gänzlich weiblichen Genitale. Es zeigt sich im Gesamtkollektiv folgende Verteilung von Phänotypen in Abhängigkeit vom Karyotyp:



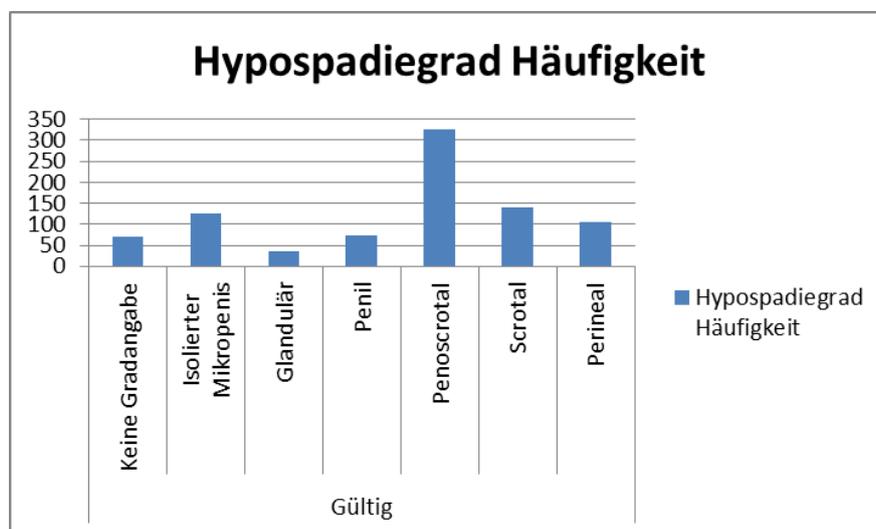
Grafik 5: Klinisches Bild in Abhängigkeit von Karyotyp

Zudem weisen viele Patienten eine Hypospadie auf, die isoliert oder beim intersexuellen Genitale auftreten kann und die ebenfalls Anlass zur genetischen Untersuchung sein kann. Bei immerhin 874 Patienten ist eine Hypospadie angegeben.



Grafik 6: Hypospadie in Abhängigkeit Phänotyp

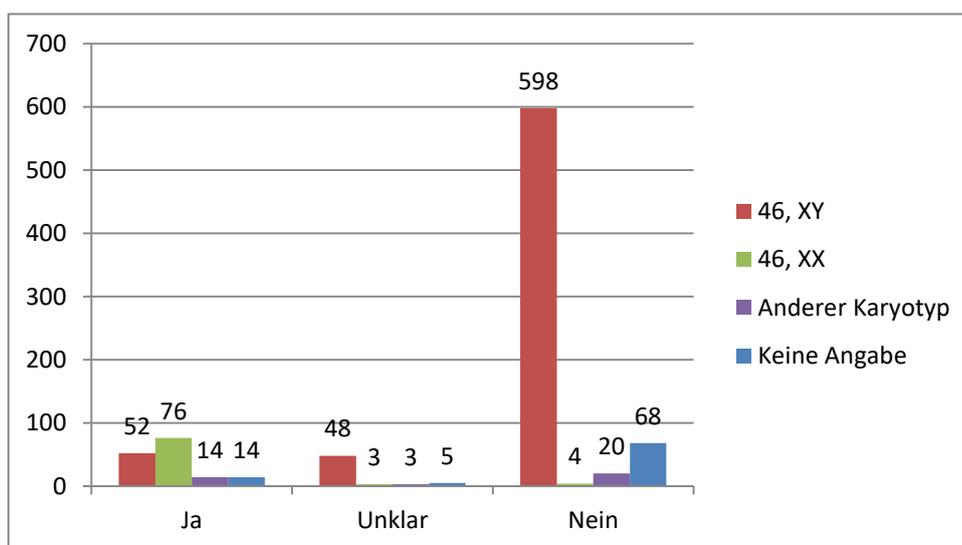
Die genaue Verteilung der Hypospadiegrade zeigt sich wie folgt:



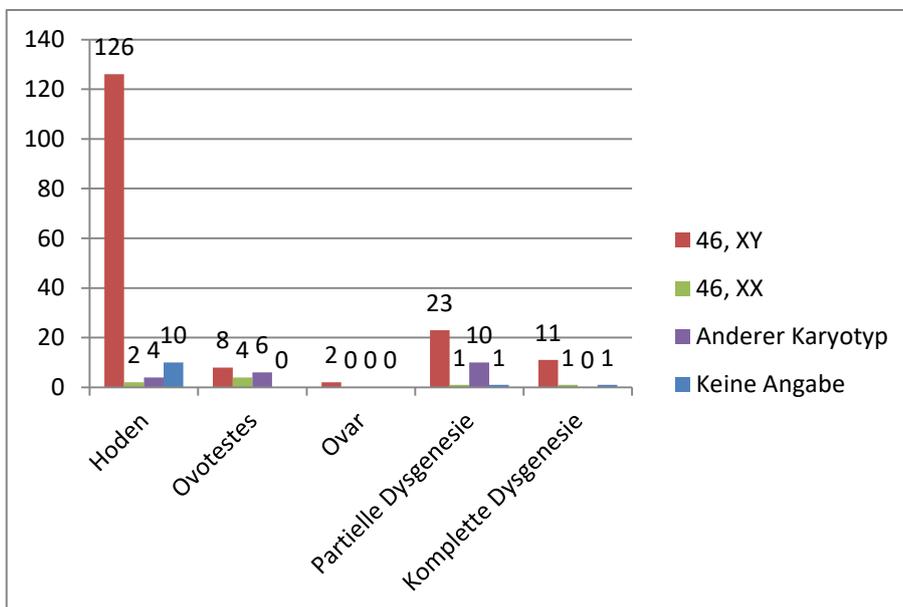
Grafik 7: Häufigkeit Hypospadiegrade

V.4.2. Inneres Genitale

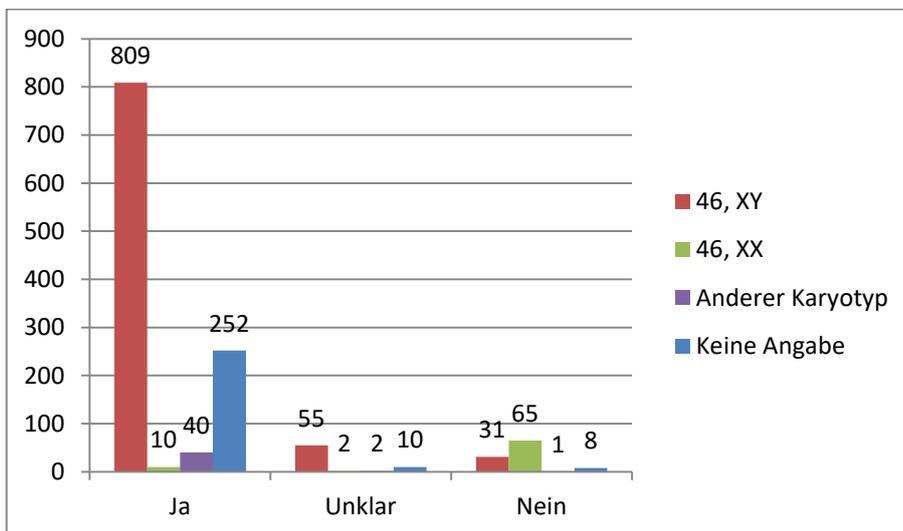
Insgesamt liegen hier bei vielen Patienten keine Angaben vor. Im Folgenden werden die Daten zum inneren Genitale dargestellt. Es gibt diverse Fragen, zum Beispiel zum Vorhandensein eines Uterus, der Lage der Gonaden und, falls untersucht, auch zu ihrer Histologie.



Grafik 8: Uterus vorhanden (nur gültige Angaben)



Grafik 9: Gonadenhistologie (nur gültige Angaben)

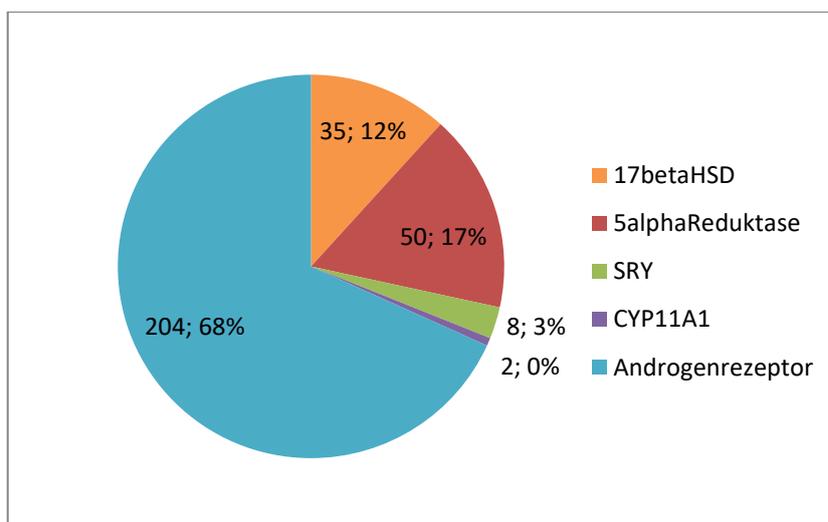


Grafik 10: Hoden vorhanden? (Nur gültige Angaben)

V.5. Mutationen

Es wurden fünf Gene auf Mutationen untersucht, zudem liegt für zwei Patienten die Untersuchung auf eine Mutation im CYP11A1-Gen vor. Die 561 gefundenen Mutationen im Gesamtkollektiv verteilen sich zu 59,5% auf den Androgenrezeptor, 28,0% 5alpha-Reduktase, 8,7% 17betaHSD, 2,0% SF1,1,4 % SRY und 0,4% CYP11A1. (Tabellarium 19).

Das folgende Diagramm zur Häufigkeit der Mutationen umfasst nur Betroffene, also hemizygoten bzw. homozygoten bzw. compound heterozygoten Mutationen, um Konduktoren/-innen auszuschließen. Innerhalb dieser Gruppe liegen 154 Fragebögen vor, dies entspricht 51,5%



Grafik 11: Verteilung Mutationen bei Betroffenen

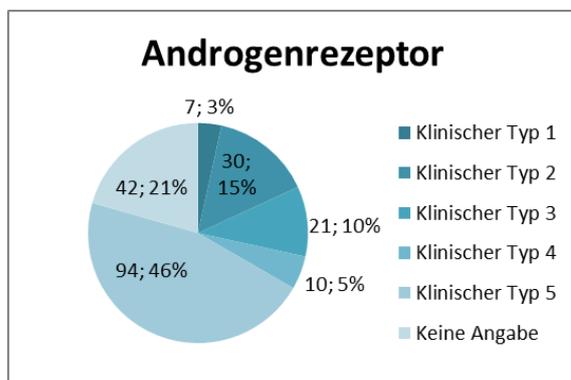
Stellt man die Phänotypen ins Verhältnis zum betroffenen Gen, ergibt sich nachfolgende Kreuztabelle (als Basis ist oben aufgeschlüsselte Untergruppe der Betroffenen verwendet worden):

		Betroffenes Gen * Äußeres Genitale Kreuztabelle						Gesamt
		Äußeres Genitale						
		Keine Angabe	Klinischer Typ 1	Klinischer Typ 2	Klinischer Typ 3	Klinischer Typ 4	Klinischer Typ 5	
17betaHSD	Anzahl	7	0	1	2	13	12	35
	% *	20,0%	0,0%	2,9%	5,7%	37,1%	34,3%	100,0%
5alphaReduktase	Anzahl	9	2	5	17	7	10	50
	% *	18,0%	4,0%	10,0%	34,0%	14,0%	20,0%	100,0%
SRY	Anzahl	2	0	0	0	2	4	8
	% *	25,0%	0,0%	0,0%	0,0%	25,0%	50,0%	100,0%
CYP11A1	Anzahl	0	0	0	0	2	0	2
	% *	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
Androgenrezeptor	Anzahl	42	7	30	21	10	94	204
	% *	20,6%	3,4%	14,7%	10,3%	4,9%	46,1%	100,0%
Gesamt	Anzahl	60	9	36	40	34	120	299
	% *	20,1%	3,0%	12,0%	13,4%	11,4%	40,1%	100,0%

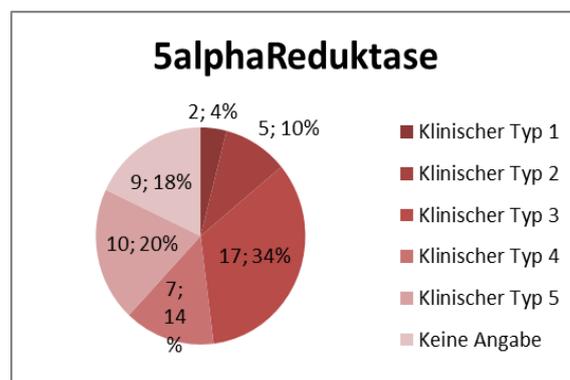
Tabelle 4: Phänotyp bei Betroffenen nach Mutationsort

* innerhalb der Mutationen

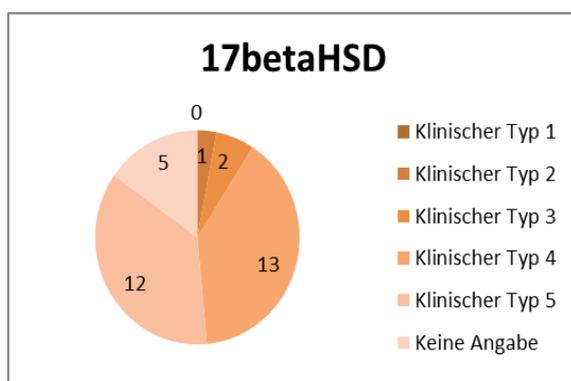
Aufgeschlüsselt nach Ort der Mutation stellen sich die Phänotypen folgendermaßen graphisch dar:



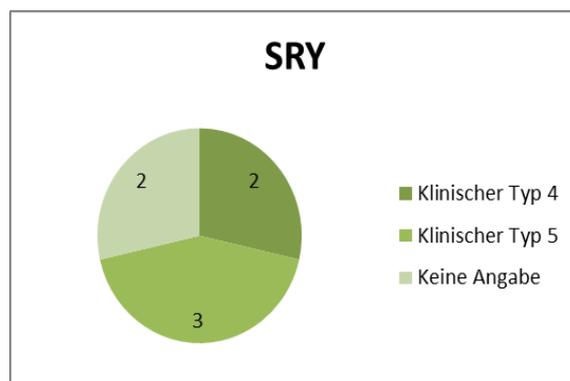
Grafik 13: Phänotyp Betroffene Androgenrezeptor-mutation (n=204)



Grafik 12: Phänotyp Betroffene Mutation 5alphaReduktase (n=50)



Grafik 15: Phänotyp Betroffene Mutation 17betaHSD (n=35)



Grafik 14: Phänotyp Betroffene Mutation SRY(n=8)

Der Chi-Quadrat-Test zeigt, dass die Hypothese H_0 : *Wo eine Mutation vorliegt, steht nicht im Zusammenhang mit dem gefundenen Phänotyp.* abgelehnt werden muss ($p < 0,01$). Einschränkung ist jedoch hier aufzuführen, dass auf Grund der Tatsache, dass über 60% der Felder einen erwarteten Wert unter 5 haben, der Chi-Quadrat-Test nur eine eingeschränkte Aussagekraft hat.

Wie bereits oben beschrieben, liegt im Kollektiv bei 874 Patienten eine Hypospadie vor. Betrachtet man nun die Gruppe der Betroffenen (s.o.), sind bei insgesamt 83 Patienten Hypospadien bekannt. Dies bedeutet, dass bei 9,5% der Patienten mit einer Hypospadie eine Mutation in einem der untersuchten Gene gefunden wurde. Unten stehende Tabelle zeigt die Verteilung auf die Mutationen.

	Häufigkeit Hypospadie	Anzahl Mutationen gesamt	Prozentualer Anteil	
Gültig	Androgenrezeptor	58	204	28,4%
	5alpha-Reduktase	12	50	24,0%
	17beta-HSD	13	35	37,1%
	SRY	0	8	0,0%
Gesamtsumme		83	297	28,0%

Tabelle 5: Hypospadie bei Betroffenen, Häufigkeiten und proz. Anteile

Stellt man die Phänotypen ins Verhältnis zu der Frage, ob überhaupt eine Mutation gefunden wurde ergibt sich nachfolgende Kreuztabelle (als Basis wird nun die gesamte Datenbank verwendet):

			Mutation		Gesamtsumme
			Ja	Nein	
Äußeres Genitale	Keine Angabe	Anzahl	170	481	651
		% in Äußeres Genitale	26,1%	73,9%	100,0%
Klinischer Typ 1		Anzahl	45	197	242
		% in Äußeres Genitale	18,6%	81,4%	100,0%
Klinischer Typ 2		Anzahl	65	387	452
		% in Äußeres Genitale	14,4%	85,6%	100,0%
Klinischer Typ 3		Anzahl	61	196	257
		% in Äußeres Genitale	23,7%	76,3%	100,0%
Klinischer Typ 4		Anzahl	44	66	110
		% in Äußeres Genitale	40,0%	60,0%	100,0%
Klinischer Typ 5		Anzahl	178	120	298
		% in Äußeres Genitale	59,7%	40,3%	100,0%
Gesamtsumme		Anzahl	563	1447	2010
		% in Äußeres Genitale	28,0%	72,0%	100,0%

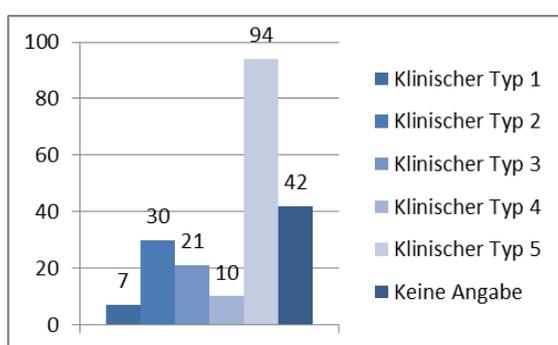
Tabelle 6: Kreuztabelle Phänotyp*Mutation ja/nein

Hier wurde ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt, der mit $p < 0,01$ nachgewiesen hat, dass der Phänotyp und die Frage ob grundsätzlich eine Mutation vorliegt in Zusammenhang stehen. Die Tabelle wurde auch getrennt für die Karyotypen 46,XX und 46,XY berechnet. Hier zeigt sich ebenfalls $p < 0,01$.

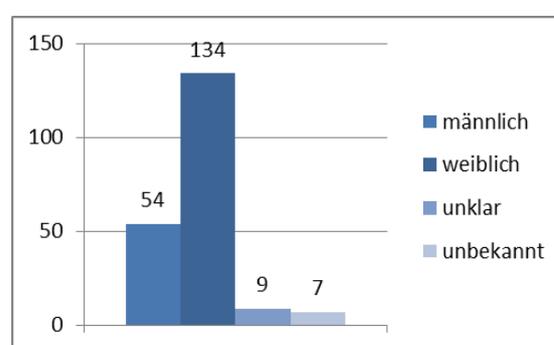
V.5.1. Androgenrezeptor

Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_000044.3. Bei 334 Patienten wurde eine Mutation im Androgenrezeptor gefunden. 193 Mal findet sich der Karyotyp 46,XY, 37 Mal der Karyotyp 46,XX und 104 Datensätze sind ohne Angabe. Die Mutationen liegen bei 197 hemizygot und bei 79 Patienten heterozygot vor. Bei insgesamt sieben Patienten liegt eine Deletion eines Exons oder des gesamten Gens vor, hierbei sind fünf hemizygoten Mutationen beschrieben. Die übrigen Mutationen verteilen sich auf Mosaik, Patienten mit zwei Mutationen (zwei davon Karyotyp 46,XY), Polymorphismen und weitere Fälle mit fehlenden Angaben zur genauen Art der Mutation. Zusammengenommen ergibt sich so eine Summe von 204 Patienten mit einer Mutation im Androgenrezeptor, die relevant ist. Von diesen 204 Patienten haben insgesamt 121 Patienten betroffene Verwandte, die bekannt sind, das entspricht 59,3% innerhalb der Gruppe. Umgelegt auf die 412 Patienten mit betroffenen Angehörigen der gesamten Datenbank entspricht die Zahl von 121 Patienten 29,36%. Es verbleiben 83 Patienten, die eine Mutation im Androgenrezeptor haben, ohne, dass wir von einem betroffenen Verwandten wüssten. Bei 1644 Patienten wissen wir nicht von betroffenen Angehörigen. Legt man die 83 Patienten auf diese 1644 um, sind nur bei 5,04% der Patienten ohne betroffene Familienangehörige Mutationen in der genetischen Codierung des Androgenrezeptors der Grund für die DSD. Demnach besteht eine 5,8fach erhöhte Wahrscheinlichkeit bei Patienten mit betroffenen Angehörigen.

Die folgenden Diagramme zeigen bei den Patienten mit 46,XY-Karyotyp die Verteilung des klinischen Bildes und der Geschlechtszuweisung.



Grafik 16: Phänotyp Betroffene Androgenrezeptormutation



Grafik 17: Geschlechtszuweisung Betroffene Androgenrezeptormutation

Es zeigt sich, dass im Falle einer Mutation im Androgenrezeptor zumeist Personen mit weiblicher Geschlechtszuordnung und 46,XY Karyotyp betroffen sind. Das Alter bei Erstvorstellung liegt insgesamt im Durchschnitt bei der gesamten Gruppe bei 16,3 Jahren, nimmt man den 46,XY-Karyotyp liegt er bei 10,1 Jahren, bei 46,XX-Karyotyp bei 39,8 Jahren. Dies bestätigt die Annahme, dass hier die Mütter der Patienten untersucht wurden.

Betrachtet man das Alter bei den Betroffenen, so ergibt sich bei insgesamt 132 gültigen Werten folgende Verteilung:

Bericht

Äußeres Genitale	Mittelwert in Jahr/Monat	Mittelwert exakt	Häufigkeit	Standardabweichung
Klinischer Typ 1	6J / 7,5M	6,6333	5	9,60443
Klinischer Typ 2	10J / 1M	10,0685	28	10,90588
Klinischer Typ 3	4J / 1M	4,0833	13	6,33470
Klinischer Typ 4	2J / 3M	2,2619	7	5,40114
Klinischer Typ 5	10J / 6,5M	10,5463	54	9,66499
Keine Angabe	10J / 6,6M	17,5533	25	12,30331
Gesamtsumme		10,5480	132	10,75561

Tabelle 7: Alter nach Phänotyp bei Betroffenen mit AR-Mutationen

Vergleicht man diese Werte mit dem LSD (least-significance difference) ergibt sich bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ für die folgenden Gruppen ein signifikanter Altersunterschied bei der Erstvorstellung:

Klinischer Typ 3 zu Klinischer Typ 5 mit $p = 0.040$

Klinischer Typ 4 zu Klinischer Typ 5 mit $p = 0.043$

Das bedeutet, Patienten mit einem vollkommen weiblichen Phänotyp stellen sich signifikant später als Patienten mit intersexuellem bis vorwiegend weiblichem Phänotyp vor.

Alle Phänotypen unterscheiden sich signifikant von den Patienten, bei welchen keine Angabe zum Phänotyp vorliegt.

V.5.1.1. Mutationshäufungen

Insgesamt finden sich 138 verschiedene Mutationen, zumeist nur ein bis drei Mal, teilweise bis fünf Mal vorliegend. Maximal kommt eine Mutation 14 Mal vor, die Mutationen, die häufiger als sechs Mal vorliegen werden im Folgenden näher betrachtet. Das Referenzgen ist NM_000044.3.

Mutation I: c.1789G>A, p.Ala597Thr

Diese Mutation wurde bei 13 Untersuchungen gefunden. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier zwei Einzelpersonen, sowie eine Familie mit zwei Genträgern, zwei Familien mit drei Genträgern, und eine Familie mit vier Genträgern vorliegen. Insgesamt daher sechs betroffene Familien. N=5 Patienten haben den Karyotyp 46,XY. Der Phänotyp ist bei vier Patienten bekannt, drei Patienten haben den klinischen Typ 3, ein Patient den klinischen Typ 2 angegeben.

Mutation II: c. 1823G>A, p.Arg608Gln

Diese Mutation ergab sich bei sieben Untersuchungen. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier zwei Einzelpersonen, sowie eine Familie mit zwei Genträgern und eine Familie mit drei Genträgern vorliegen. Insgesamt daher vier betroffene Familien. N=3 Patienten haben den Karyotyp 46,XY angegeben, alle haben einen intersexuellen Phänotyp (Klinischer Typ 3). Auch Bouvattier et al berichten 2002 über einen Patienten mit dieser Mutation und einem intersexuellen Phänotyp.

Mutation III: c. 1847G>A, p.Arg616His

14fach konnten wir diese Mutation finden. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier zwei Einzelpersonen, sowie drei Familien mit je zwei Genträgern und eine Familie mit sechs Genträgern vorliegen. Insgesamt sind es daher sechs betroffene Familien. Von den Patienten mit dem Karyotyp 46,XY (n=9) liegen bei sieben Patienten Angaben zum Phänotyp vor. Alle haben mit dem klinischen Typ 5 einen komplett weiblichen Phänotyp angegeben.

Mutation IV: c.2301del, p.Asp768Ilefs*21

Die Untersuchung der Blutproben ergab acht Mal die obige Mutation. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier eine Einzelperson, sowie zwei Familien mit je zwei Genträgern

gern und eine Familie mit drei Genträgern vorliegen. Insgesamt daher vier betroffene Familien. Einen 46,XY-Karyotyp haben n=4 Patienten, alle mit einem weiblichen Phänotyp (Klinischer Typ 5).

Mutation V: c.2324G>A, p.Arg775His

Insgesamt tritt diese Mutation bei sieben Patienten auf. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier zwei Einzelpersonen, sowie eine Familie mit zwei Genträgern und eine Familie mit drei Genträgern vorliegen. Insgesamt daher vier betroffene Familien. Es sind n=3 Patienten mit einem Karyotyp 46,XY betroffen, einmal liegt ein weiblicher Phänotyp vor, bei den beiden weiteren fehlen die Angaben zum Phänotyp.

Mutation VI: c. 2402C>T, p.Thr801Ile

Diese Mutation ergab sich bei 13 Untersuchungen. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier eine Einzelperson, sowie eine Familie mit zwölf Genträgern vorliegen. Insgesamt daher zwei betroffene Familien. Betroffen sind hier n=2 Patienten mit einem Karyotyp 46,XY (möglicherweise fehlen bei einigen Patienten die Angaben zum Karyotyp), sodass eine Einschätzung des Phänotyps bei Vorliegen dieser Mutation nicht sinnvoll ist.

Mutation VII: c.2522G>A, p.Arg841His

Diese Mutation wurde bei elf Untersuchungen gefunden. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier eine Einzelperson, sowie fünf Familien mit je zwei Genträgern vorliegen. Insgesamt daher sechs betroffene Familien. Betrachtet man die hier betroffenen 46,XY-Patienten (n=5), liegt der Phänotyp recht weit gefächert zwischen den klinischen Typen 2 bis 5.

Mutation VIII: c.2567G>A, p.Arg856His

Insgesamt tritt diese Mutation zwölf Mal in der Datenbank auf. Bei Betrachtung der Patienten zeigt sich, dass hier zwei Einzelpersonen, sowie zwei Familien mit je zwei Genträgern und eine Familie mit vier Genträgern vorliegen. Insgesamt daher fünf betroffene Familien. Betrachtet man die hier betroffenen 46,XY-Patienten (n=9), liegt der Phänotyp recht weit gefächert zwischen den klinischen Typen 2 bis 5.

Deletionen

Insgesamt haben fünf Patienten mit 46,XY-Karyotyp eine Deletion eines Exons (2x Exon 1, je 1x Exon 2, 3 und 4). Alle Patienten mit Deletionen haben einen komplett weiblichen Phänotyp.

Diese Betrachtung der familiären Verhältnisse bestätigt, dass die Mutationen maximal sechs Mal in der Lübecker Datenbank auftreten, sofern die Personen nicht miteinander verwandt sind. Dies zeigt eine sehr große Bandbreite von Mutationen. Sieht man sich den Phänotyp der 46,XY-Patienten an, so zeigt sich eine klare Tendenz zum weiblichen Phänotyp. Die meisten Mutationen treten in der Datenbank zu selten auf um von der Mutation auf einen Phänotyp zu schließen, einige jedoch sind häufiger und wurden oben genauer betrachtet. Manche Mutationen scheinen einen speziellen Phänotyp zu verursachen (z.B. Mutation IV), sodass man von der Mutation auf diesen schließen kann. Einige andere (z.B. Mutation VIII) können die ganze Breite der Phänotypen hervorrufen. Auch andere Untersuchungen zeigen ähnliche Ergebnisse.

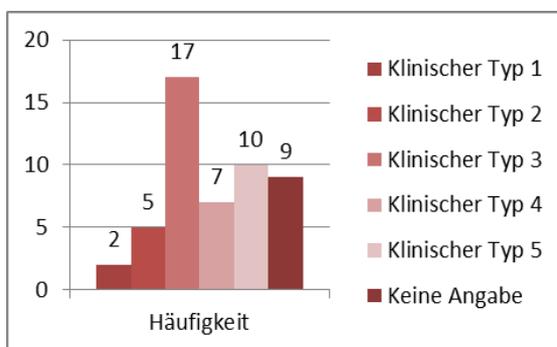
V.5.2. 5-alpha-Reduktase Typ II

Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_000348.3. Bei 158 Patienten wurde eine Mutation im Gen für die 5alpha-Reduktase Typ II gefunden. Hiervon liegt 88 Mal der Karyotyp 46,XY, elf Mal der Karyotyp 46,XX sowie bei zwei Patienten ein anderer Karyotyp vor (siehe Kapitel V.3), bei 57 Patienten fehlt die Angabe. Die Mutationen liegen bei 35 Patienten homozygot und bei acht Patienten compound heterozygot vor. 59 heterozygote Mutationen wurden gefunden, bei 48 Patienten gab es Polymorphismen. Die übrigen Mutationen verteilen sich auf weitere Fälle mit fehlenden Angaben zur genauen Art der Mutation.

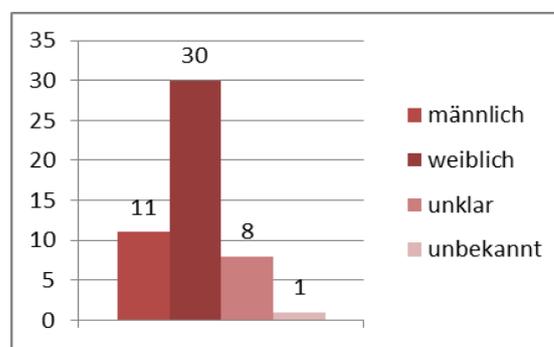
Insgesamt ergibt sich eine Summe von 50 Patienten mit einer relevanten Mutation der 5-alpha-Reduktase. Von diesen 50 Patienten haben insgesamt 29 Patienten betroffene Verwandte, die bekannt sind, das entspricht 58% innerhalb der Gruppe, umgelegt auf die 412 Patienten der Gesamtdatenbank mit betroffenen Angehörigen sind dies 7,04%. Es verbleiben 21 Patienten, die eine Mutation haben, ohne dass wir von einem betroffenen Verwandten wüssten. Legt man diese 21 Patienten auf die insgesamt 1644 verbleibenden Patienten

der Gesamtdatenbank um, liegt lediglich bei 1,27% der von einer DSD betroffenen Patienten ohne betroffene Verwandte eine Mutation der 5-alpha-Reduktase zu Grunde. Die Wahrscheinlichkeit für eine Mutation ist also 5,5fach höher bei Patienten mit betroffenen Angehörigen. Die Frage, ob es weitere Betroffene in der eigenen Familie gibt, ist somit auch hier diagnostisch sehr wertvoll. Bei 63% der Patienten mit 46,XY-Karyotyp fehlt die Angabe, ob die Eltern konsanguin sind, bei 11,4% liegt eine Konsanguinität der Eltern vor.

Die folgenden Diagramme zeigen bei den betroffenen Patienten (homozygot, compound heterozygot) die Verteilung des klinischen Bildes und die Geschlechtszuweisung.



Grafik 18: Phänotyp bei Betroffenen mit einer Mutation der 5alphaReduktase



Grafik 19: Geschlechtszuweisung bei Betroffenen mit einer Mutation der 5alphaReduktase

Im Vergleich zu Mutationen im Androgenrezeptor zeigt sich ein breiteres Bild mit Verlagerung des Phänotyps deutlich zum männlicheren Bild. Das Alter bei Erstvorstellung liegt insgesamt im Durchschnitt bei der gesamten Gruppe bei 16,2 Jahren, nimmt man den 46,XY-Karyotyp liegt er bei 7,7 Jahren, bei 46,XX-Karyotyp bei 36 Jahren. Allerdings liegen nur bei 62 Patienten Angaben zum Alter vor.

Der Mittelwert für das Alter bei Erstvorstellung der Betroffenen liegt bei 7,4 Jahren (21/50 gültige Angaben bei Patienten mit relevanten Mutationen).

V.5.2.1. Mutationshäufungen

Insgesamt wurden 29 verschiedene Mutationen gefunden. Die Mutationen liegen meist bis vier Mal vor. Die Mutationen, die sieben Mal und häufiger vorkommen, werden im Folgenden näher beleuchtet. Der Polymorphismus c.265C>G, p.Leu89Val kommt insgesamt 44 Mal vor, er wird nicht weiter aufgeschlüsselt, der Polymorphismus 145G>A, p.Ala49Thr wurde insgesamt 19 Mal gefunden, auch er wird nicht weiter aufgeschlüsselt. Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_000348.3.

Mutation I: c.377A>G, p.Gln126Arg

Diese Mutation wurde bei sieben Untersuchungen gefunden. Es zeigen sich insgesamt drei Familien, zwei mit je zwei Genträgern, eine mit drei Genträgern. Bei der Familie mit drei Genträgern handelt es sich um einen betroffenen Patienten, seine Schwester und den Vater. Daher sind sie als eine Familie zu behandeln. Bei n=3 betroffenen 46,XY-Patienten liegt eine Angabe zum Phänotyp vor, er ist breit gefächert, je 1x klinischer Typ 2, 4 und 5.

Mutation II: c.468-470del, p.Met157del

Die Untersuchung der Blutproben ergab acht Mal die obige Mutation. Es zeigt sich eine Familie mit zwei Genträgern, sowie zwei Familien mit drei Genträgern. Diese beiden Familien bestehen jeweils aus einem betroffenen Patienten und den Eltern. Bei einer der beiden Familien ist bekannt, dass die Eltern konsanguin sind. Daher zählt diese Familie weiter als eine Familie. Die zweite Familie hat keine Angabe darüber gemacht, von einer Konsanguinität ist daher nicht auszugehen. Da beide Eltern die gleiche Mutation vorweisen und vermutlich aus zwei nicht verwandten Familien stammen, sind also insgesamt nicht drei sondern vier Familien betroffen. Insgesamt sind Angaben von n=3 betroffenen 46,XY-Patienten zum Phänotyp vorliegend. Sie haben 2x klinischen Typ 4 und 1x klinischen Typ 5 als Phänotyp angegeben.

Mutation III: c.586G>A, p.Gly196Ser

13mal findet sich diese Mutation in der Datenbank. Vier Einzelpersonen sind betroffen, drei Familien mit je zwei Genträgern und eine Familie mit drei Genträgern, bestehend aus einem Kind und konsanguinen Eltern. Daher sind insgesamt acht Familien betroffen. Es

sind insgesamt n=8 betroffene 46,XY-Patienten in der Datenbank, phänotypisch zeigt sich 1x klinischer Typ 1, 4x klinischer Typ 2 und 3x klinischer Typ 3.

Mutation IV: c.680G>A, p.Arg227Gln

Insgesamt sind elf Personen betroffen. Hiervon drei Einzelpersonen, eine Familie mit zwei Genträgern und eine Familie mit sechs Genträgern. Hier sind die Eltern des betroffenen Patienten nicht miteinander verwandt, daher zwei Familien. Über die übrigen Familienmitglieder ist nichts bekannt, die Mutationen liegen hier heterozygot vor, es ist davon auszugehen, dass sie derselben Familie angehören. Insgesamt zählen somit am ehesten sechs betroffene Familien. Phänotypisch sind die 46,XY-Patienten, von welchen Angaben vorliegen (n=4), intersexuell (1x klinischer Typ 2, 2x klinischer Typ 3 und 1x klinischer Typ 4)

Mutation V: c.692A>G, p.His231Arg

Diese Mutation wurde bei 13 Untersuchungen gefunden. Elf Einzelpersonen sind betroffen, eine Familie mit zwei Genträgern und eine Familie mit drei Genträgern, Eltern und ein Kind, keine Angabe über Konsanguinität der Eltern, daher als nicht verwandt zu bewerten. Insgesamt sind damit 14 Familien betroffen. Klinisch zeigen die 46,XY-Patienten, die nicht als Vater einer Familie angehören und somit nur Träger des Gens sind, ein intersexuelles bis weibliches Erscheinungsbild (5x klinischer Typ 3, 1x klinischer Typ 4 und 3x klinischer Typ 5).

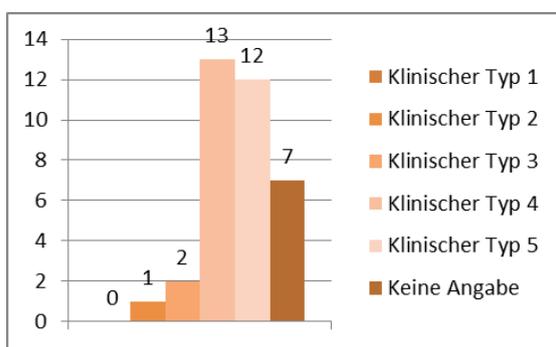
Diese Betrachtung zeigt, dass die Mutationen teilweise bis zu elf Mal auftreten. Es treten im Vergleich zum AR mehr Mutationen häufig auf. Betrachtet man nun auch hier die Phänotypen bei 46,XY-Patienten, so zeigt sich ein gemischtes Bild, mit jedoch insgesamt einer vermehrten Zahl von Patienten mit intersexuellem oder auch männlichem Genitale, im Vergleich zum Defekt am Androgenrezeptor.

V.5.3. 17-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ III

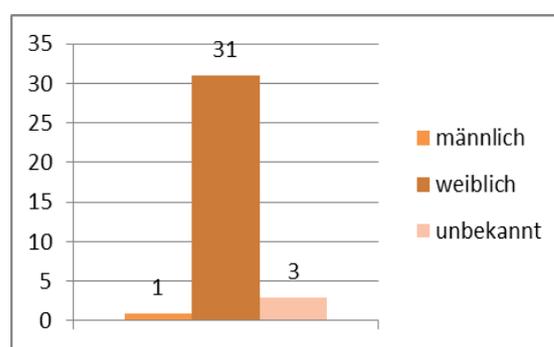
Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_000197.1. Bei 49 Patienten wurde eine Mutation der 17betaHSD gefunden. Hiervon ist bei 36 Patienten der Karyotyp 46,XY angegeben, bei Vieren der Karyotyp 46,XX und bei Neun wurde kein Karyotyp angegeben. Die Mutationen liegen bei 18 Patienten homozygot und bei zwölf

Patienten compound heterozygot vor. 13 heterozygote Mutationen wurden gefunden. Die übrigen sechs gefundenen Mutationen bestehen aus weiteren Fällen mit fehlenden Angaben zur genauen Art der Mutation und einem Polymorphismus. Bei drei Patienten ist eine Verwandtschaft der Eltern bekannt.

Die folgenden Diagramme zeigen bei den Patienten mit 46,XY-Karyotyp die Verteilung der Phänotypen und die Geschlechtszuweisung



Grafik 20: Phänotyp bei Betroffenen mit einer Mutation der 17betaHSD



Grafik 21: Geschlechtszuweisung bei Betroffenen mit einer Mutation der 17betaHSD

Die Mutationen in diesem Gen zeigen einen klaren Trend zum weiblicheren Erscheinungsbild und dementsprechend zur Zuordnung in das weibliche Geschlecht.

Das Alter bei Vorstellung liegt im Mittel bei 15,6 Jahren, beim 46,XY-Karyotyp erfolgt die Vorstellung mit im Mittel 11,4 Jahren. Insgesamt liegen für 21 von 49 Patienten Altersangaben vor, beim Karyotyp 46,XX fehlen die Angaben gänzlich.

V.5.3.1. Mutationshäufungen

Insgesamt kommen 16 verschiedene Mutationen vor, besonders häufig auftretende Mutationen werden im Folgenden näher betrachtet. Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_000197.1.

Mutation I: c.277+4A>T, Splice Site Mutation

Diese Mutation wurde bei 25 Untersuchungen gefunden. Die Mutationen verteilen sich auf eine Familie mit drei Mitgliedern (ein Kind mit konsanguinen Eltern), zwei Familien mit zwei Mitgliedern und 19 Einzelpersonen. Sie liegt daher bei 22 Familien vor und ist eine der häufigsten Mutationen. Phänotypisch sind bei n=17 Betroffenen, die eine Angabe zum Phänotyp und zum Karyotyp haben, 1x klinischer Typ 3, 6x klinischer Typ 4 und 10x klinischer Typ 5 vorliegend. Hierbei scheint es, dass die Mutation homozygot vorliegend ein intersexuelles bis weibliches Erscheinungsbild verursacht (1x klinischer Typ 3, 6x klinischer Typ 4 und 4x klinischer Typ 5) und compound heterozygot eher ein weibliches Erscheinungsbild (1x klinischer Typ 4 und 5x klinischer Typ 5). Ein Chi-Quadrat-Test zeigt jedoch, dass dieser Eindruck nicht signifikant ist (bei eingeschränkter Bewertbarkeit des Chi-Quadrat-Testes auf Grund der niedrigen Fallzahlen).

Mutation II: c.239G>A, p.Arg80Gln

Bei neun der untersuchten Proben wurde diese Mutation gefunden. Vier dieser neun Patienten haben zusätzlich auch die bereits oben aufgeschlüsselte Splice-Site-Mutation, unter anderen zwei Zwillingsschwestern. Zudem ist eine Familie mit Mutter und zwei Kindern betroffen, weiterhin vier Einzelpersonen. Insgesamt sind daher sechs Familien von dieser Mutation betroffen. Es sind von n=6 Betroffenen mit dem uns bekannten Karyotyp 46,XY alle compound heterozygot. Phänotypisch zeigt sich je einmal der klinische Typ 3 und 4 (Geschwister, einmal männliche, einmal weibliche Geschlechtszuordnung) und 4x der klinische Typ 5. Es fällt auf, dass die 4 Patienten mit dem klinischen Typ 5 alle eine compound heterozygote Mutation bestehend aus den beiden hier aufgeschlüsselten Mutationen I und II vorweisen.

V.5.4. SRY

Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_003140.1. Es liegen insgesamt acht Mutationen des SRY-Gens vor, hiervon sind fünf komplette Deletionen des Gens. Bei nur drei Patienten liegen Altersangaben vor, im Durchschnitt liegt das Alter hier bei 5,8 Jahren. Karyotypisch liegt 4x der Karyotyp 46,XY vor. Der Vorname aller acht Patienten ist weiblich, phänotypisch sind vier der Patienten weiblich, zwei haben den klinischen Typ 4 angegeben, 2x ohne Angabe des Phänotyps.

V.5.5. SF1

Das Referenzgen, auf welches sich die Mutationen beziehen ist NM_004959.4. Insgesamt liegen elf Mutationen im Bereich des SF1 vor. Hiervon neun Patienten mit Karyotyp 46,XY, einmal liegt 46,XX vor, einmal ohne Angabe. Altersangaben liegen von fünf Patienten mit Karyotyp 46,XY vor, das Durchschnittsalter liegt bei 6,2 Jahren. Der Phänotyp ist weit gestreut, es liegen 3x klinischer Typ 2, 1x klinischer Typ 3, 2x klinischer Typ 4 und 1x klinischer Typ 5 vor. Die Geschlechtszuordnung der 46,XY-Patienten ist 6x weiblich, 3x männlich.

VI. DISKUSSION

Die Fragestellung zur Lübecker Datenbank für DSD teilte sich in verschiedene Bereiche. Zum einen ist eine Auswertung der Daten hinsichtlich Verteilung und Häufigkeiten, ggf. bestehenden Gemeinsamkeiten und Unterschieden erfolgt, hier soll nun eine genauere Betrachtung der Ergebnisse folgen. Zudem stellte sich die Frage hinsichtlich der Güte der Datenbank und Möglichkeiten der Verbesserung. Auf dies wird bei der Betrachtung der Daten und Diskussion der Ergebnisse im Verlauf regelmäßig Bezug genommen.

Betrachtet man die Verteilung der Phänotypen der gesamten Datenbank, ohne die Zuordnung zu einem bestimmten Karyotyp, fällt zunächst auf, dass bei 32,4% der Personen keine Angabe zum Phänotyp, also dem klinischen Bild vorliegt. Das äußere Erscheinungsbild ist zum einen häufig der Grund für die Vorstellung des Patienten und zum anderen essentiell bei der Suche nach dem Grund der abweichenden sexuellen Entwicklung. Hier zeigt sich (ebenso wie bei der gleichermaßen grundsätzlichen Frage nach dem Karyotyp mit 38,0% fehlenden Angaben) die große Lücke in der Datenerfassung ganz besonders. Abgesehen davon fällt jedoch auch hier, wie schon bei der Frage der Vornamen, sprich der geschlechtlichen Zuordnung, eine Verteilung hin zu den männlichen Erscheinungsbildern auf. Die Patienten mit klinischem Typ 1 und 2 machen insgesamt 34,4% des Kollektivs aus, wohingegen die klinischen Typen 4 und 5 nur 20,3% ausmachen. 52,3% der Patienten leben mit einer männlichen Geschlechtszuweisung, was darauf schließen lässt, dass in der Gruppe der Patienten mit fehlenden Angaben auch ein Ungleichgewicht zu den eher männlichen Phänotypen zu bestehen scheint. Dies ist so nicht erwartet worden, ist die Datenbank ja ursprünglich für Patienten mit einem AIS angelegt worden, die häufig einen eher weiblichen Phänotyp aufweisen. Es zeigt sich bei der genaueren Betrachtung der Phänotypen auch, welche Gruppe hier noch einen recht großen Anteil ausmacht. Betrachtet man die Frage nach einer vorliegenden Hypospadie, so zeigt sich bei 42,5% der Patienten eine Hypospadie oder ein isolierter Mikropenis. Sieht man isoliert den klinischen Typ 1, ist der isolierte Mikropenis mit 31,3% und die Hypospadie mit 26,3% häufig vertreten. Bei den Phänotypen 2 und 3 verschiebt sich die Verteilung zur Hypospadie mit insgesamt 67,0%, ein isolierter Mikropenis liegt bei nur 3% vor, was der initial getroffenen Einteilung, die sich an der Beschreibung von Sinnecker 1997 orientiert, entspricht. Es zeigt sich also ins-

gesamt betrachtet, dass nicht primär nur Patienten mit CAIS und somit vollständiger Verweiblichung bei 46,XY-Karyotypen zur Abklärung einer DSD vorgestellt wird, sondern sich ein sogar noch größerer Teil der Patienten mit weitestgehend männlichem bis intersexuellem Äußeren mit der Auffälligkeit einer Hypospadie oder eines Mikropenis zur Abklärung vorstellt. Die Hypospadie selbst stellt mit einer Häufigkeit von 1:3000 bis 1:1000 bei neugeborenen Jungen ein häufiges Krankheitsbild dar. Sie kann isoliert auftreten, wird aber auch bei verschiedenen Syndromen beobachtet. Zudem scheint es Zusammenhänge zwischen Hypospadien und SGA zu geben (Chen et al., 2014). Gatti et al. beschreiben für Kinder mit SGA auf einer Neugeborenen-Intensivstation ein zehnfach erhöhtes Risiko für eine Hypospadie (Gatti et al., 2001). In der Lübecker Datenbank wurde bei 9,5% der Patienten mit Hypospadie eine Mutation gefunden, von den Betroffenen insgesamt liegt bei 28% eine Hypospadie als primäres klinisches Merkmal vor. Eine isolierte Hypospadie ist nicht unbedingt mit nachweisbaren Veränderungen in den untersuchten Genen verbunden. Ratan et al. berichten in einer Arbeit von 2012 von unterschiedlichen Hormonprofilen bei Patienten mit einer isolierten Hypospadie und Patienten, die assoziierte Fehlbildungen haben (Ratan et al., 2012), dies zeigt ebenfalls, dass eine isolierte Hypospadie ein eigenes Krankheitsbild darstellen kann. Auch haben viele Patienten mit Hypospadien Kinder, sodass auch hier eine Mutation des AR im Sinne eines MAIS nicht zu erwarten ist. Insgesamt wäre in einer solchen Datenbank zu erwarten, dass erwachsene Männer mit Fertilitätsstörungen unter den vorgestellten Patienten sind (ebenfalls im Sinne eines MAIS), diese Frage wird jedoch nicht erfasst, sodass hier eine weitere Lücke in der Datenerfassung auffällt.

Die Arbeit von Ratan et al 2012 zeigt, dass Hormonprofile durchaus eine wichtige Rolle spielen. Dennoch erfolgte in dieser Arbeit keine Auswertung der Laborwerte. Es gibt in der Datenbank die Möglichkeit die Hormonwerte der Patienten anzugeben, dies kann allerdings nur zu einem Zeitpunkt erfolgen, Verläufe werden nicht erfasst. Auch kann man stimulierte Werte erfassen, doch diese Werte unterscheiden sich altersabhängig stark, sodass nur Vergleiche innerhalb einer Altersgruppe sinnvoll sind. Insgesamt sind die Laborwerte bei nur wenigen Patienten mit angegeben, durch die Verteilung auf verschiedene Altersgruppen ergibt sich keine sinnvolle Gruppengröße, sodass keine Vergleiche erfolgen konnten. Andere Datenbanken (z.B. I-DSD) erfassen die Laborwerte der Patienten gar nicht erst. Kulle et al geben in ihrer Arbeit von 2017 einen kurzen Überblick über die Untersu-

chung von Hormonwerten bei Patienten mit DSD. Eine Untersuchung des Hormonprofils wird empfohlen, auch wenn bei manchen Mutationen das Hormonprofil nicht zwingend eine Differenzialdiagnostik erlaubt. Akcay et al. vergleichen beispielsweise 2014 in ihrer Arbeit die Laborwerte von Patienten mit Mutationen im AR und in der 5alpha-Reduktase. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied. Die Laborwerte können also Hinweise geben, sind allerdings für die Differenzialdiagnostik nicht entscheidend, hierfür nimmt die molekulargenetische Untersuchung einen immer wichtigeren Stellenwert ein. Entscheidend sind die Hormonwerte jedoch auf jeden Fall für die Therapie, schließlich soll den Betroffenen Patienten ein möglichst normales Wachstum, eine dem natürlichen Vorbild angepasste Pubertät und Geschlechtsentwicklung ermöglicht werden (Kulle et al., 2017). Schwierigkeiten bereitet jedoch hier vor allem auch die Vergleichbarkeit der Laborwerte mit Normalwerten, denn diese sind nicht so einfach zu erfassen. Kulle et al. plädieren daher für überregionale Zusammenarbeit um hier bessere Daten zu erhalten. Dies betont erneut die Wichtigkeit der überregionalen Zusammenarbeit im Blick auf seltene Erkrankungen wie die DSD.

Im Rahmen der Auswertung der gefundenen Auffälligkeiten in den untersuchten Genen wurde, um ein gutes und sinnvolles Abbild zu erhalten, eine Untergruppe gebildet, die nur klinisch Betroffene einschließt. Sie beinhaltet, je nach betroffenem Gen, hemizygot, homozygot und compound heterozygot Mutationsträger. Konduktorinnen und Konduktoren, die in vielen Fällen mit untersucht wurden, sind so nicht mit in die Betrachtung eingegangen.

Die meisten Mutationen wurden im Bereich des Androgenrezeptors gefunden. Hier liegen häufig Mutationen vor, die eine klinische Auswirkung haben. Die absolute Zahl ist jedoch auch beeinflusst von der Tatsache, dass der größte Teil der Patienten (82,6%) auf eine Mutation in diesem Gen hin getestet wurden. Es folgt in der Häufigkeit die 5alpha-Reduktase, hier wurden 58% der Patienten auf eine Mutation hin untersucht. Anschließend folgen 17betaHSD mit 5,5% und SRY mit 5,3%, das Schlusslicht bildet SF-1 mit bisher nur 1,6% untersuchten Patienten.

Stellt man nun die gefundenen Mutationen den zuordenbaren Phänotypen gegenüber zeigt sich nach dem Chi-Quadrat-Test ein Zusammenhang des Phänotyp mit dem Mutations-

locus, leider jedoch mit der Einschränkung einer zu kleinen Gruppe um die Aussage wirklich zu verifizieren. Der Trend ist jedoch erkennbar.

Anhand der Grafiken in Kapitel V.4 ist ersichtlich, dass Patienten mit einer Mutation im Bereich des Androgenrezeptors zu 51% ein weibliches (n=94/204; 46%) oder vorwiegend weibliches (klinischer Typ 4, n=10/204; 5%) äußeres Erscheinungsbild aufweisen und mit einer weiblichen Geschlechtszuordnung leben. Bouvattier et al berichten 2002 von einer Gruppe mit 15 Patienten mit gefundenen Veränderungen im Androgenrezeptor, hier liegt bei 10/15 Patienten ein CAIS und bei 5/15 ein PAIS (mit männlicher Geschlechtszuweisung) vor. Andere Datenbanken wie z.B. die von Ahmed et al 2000 ausgewertete Datenbank zeigen eine andere Verteilung (CAIS mit n=105 und PAIS mit n=173). Im Ergebnisteil werden einige Mutationshäufungen aufgeführt. Die Mutation c.1789G>A, p.Ala597Thr zeigt im Gegensatz zu oben genannter meist weiblicher Geschlechtszuordnung eine eher intersexuell-männliche Zuordnung mit den klinischen Typen 2 und 3. In der Literatur findet sich hier ebenfalls eine Beschreibung eines Patienten mit einem PAIS und männlicher Geschlechtszuordnung in einer Auswertung der McGill database von Deep et al., 2005. Ebenfalls eher mit einem intersexuellen Phänotyp einhergehend scheint die Mutation c.1823G>A, p.Arg608Gln zu sein. Sowohl in unserer Auswertung, als auch von Bouvattier et al. 2002 werden Patienten mit intersexuellem Phänotyp bei dieser Mutation beschrieben. Ein komplett weibliches Genitale und damit ein Abbild der häufigsten klinischen Ausprägung einer Mutation im Androgenrezeptor zeigen die Mutationen c.1847G>A, p.Arg616His und c.2301del, p.Asp768fs*21. Ebenfalls ein komplett weibliches Bild weisen alle Patienten aus der Gruppe mit einer Deletion eines Exon auf. Die Mutation c.2324G>A, p.Arg775His, die ebenfalls gehäuft auftritt lässt sich aus unserer Datenbank heraus nicht genau beschreiben, da von drei Betroffenen nur eine Angabe zum Phänotyp vorliegt, dieser ist weiblich. Im Zusammenhang mit CAIS wird jedoch auch von Ahmed et al. 2000 ebendiese Mutation bei 3 Patientinnen beschrieben, eine Tendenz zum weiblichen Erscheinungsbild ist also auch hier anzunehmen.

Die Mutationen c.2522G>A, p.Arg841His und c.2567G>A, p.Arg856His kommen ebenfalls häufig vor und sind auch in der Literatur schon mehrfach beschrieben. Auffällig ist, dass die klinischen Typen hier breit gefächert sind, für p.Arg841His liegen die klinischen Typen 2 bis 5 vor, Bouvattier et al 2002 berichten über eine Patientin mit CAIS, also klini-

scher Typ 5. Die Mutation p.Arg856His ist ebenfalls in der Lübecker Datenbank bei Patienten mit klinischem Typ 2 bis 5 vertreten, in der McGill-Datenbank findet sich ein Patient mit PAIS und männlicher Geschlechtszuordnung (Deep et al., 2005), Bevan et al. berichteten ebenfalls über 2 Brüder (weitestgehend männlicher Phänotyp, Kryptorchismus, perinealer Hypospadie und Mikropenis). Bouvattier et al beschreiben hingegen 2002 eine Patientin mit CAIS, die diese Mutation aufweist.

Es lässt sich also zusammenfassend sagen, dass im Bereich des Androgenrezeptors einige Mutationen eine vorsichtige Vorhersage über die klinische Ausprägung zulassen. Eine klare Zuweisung des Phänotyps zu einer Mutation ist jedoch mit den hier erfassten Informationen nicht möglich.

Bei der 5alpha-Reduktase liegt der Schwerpunkt des klinischen Bildes auf einem eher intersexuellen Erscheinungsbild (klinischer Typ 2 bis 4) mit summa summarum 58% (n=29/50). Cheng et al berichten 2015 von einer Kohorte mit insgesamt 45 chinesischen Patienten mit nachgewiesener Mutation im Bereich der 5alphaReduktase. Hier zeigte sich bei 35,6% ein isolierter Mikropenis, bei 55,6% eine Kombination mit einer Hypospadie. Lediglich 8,9% der Patienten weist ein weibliches Erscheinungsbild mit Klitorishypertrophie auf. Die 5-alpha-Reduktase Typ II ist in der männlichen Geschlechtsentwicklung für die Umwandlung von Testosteron in das aktivere Dihydrotestosteron zuständig. Die Testosteronwirkung an sich ist also nicht eingeschränkt, wohl aber die Virilisierung des äußeren Genitale, die von DHT abhängig ist. Das Ausmaß der Funktionseinschränkung des Enzyms bestimmt daher den Phänotyp. Durch die vorhandene Wirkung von Testosteron ist jedoch zumindest eine leichte Virilisierung häufig. Die codierende Region für die 5-alpha-Reduktase liegt auf dem Chromosom 2 und ist autosomal rezessiv vererbbar. Homozygote Mutationen liegen gehäuft in Familien mit konsanguinen Eltern vor, dies ist bei 11,4% der Betroffenen der Fall. Auch gibt es vermehrt familiäre Häufungen. Wie bereits beschrieben, sind bei 58% der Patienten auch Familienangehörige betroffen. Bei 42% der Patienten mit relevanten Mutationen liegt keine uns bekannte familiäre Häufung vor. Bei Betrachtung der Mutationshäufungen bestätigt sich der Eindruck, den man bereits beim Überblick über die Phänotypen der Patienten mit relevanten Mutationen bekommt. Keine der Mutationen hat ein einheitlich geprägtes Bild mit z.B. nur weiblichen oder beinahe weiblichen Patienten, meist ist das Bild der einzelnen Mutationshäufungen klinisch weit gefächert. Auch in

der Literatur bestätigt sich dieses Bild. Beispielsweise haben Patientin mit der Mutation c.692A>G, p.His231Arg hier einen klinischen Typ zwischen 3 und 5; in der Literatur finden sich ebenfalls Beispiele mit eher weiblichem Phänotyp, z.B. beschreiben Berra et al. eine Patientin mit weiblichem Phänotyp und leichter Klitorishypertrophie in der Pubertät, sowie je eine Patientin mit den klinischen Typen 5 und 4 (hier mit weiteren urogenitalen Fehlbildungen) (Berra et al., 2011). In einer Studie von Chan et al. 2013 finden sich gleich 8 Patienten mit der Mutation c.680G>A, p.Arg227Gln, je 4x homozygot und compound heterozygot, alle sind als männlich beschrieben, 7 Patienten gaben einen Mikropenis an, einmal zudem einen einseitigen Hodenhochstand, 1 Patient hatte eine Hypospadie (Chan et al., 2013). Im Vergleich dazu liegen die Patienten in dieser Datenbank mit dieser Mutation zwischen klinischem Typ 2 und 4.

Abschließend ist noch zu erwähnen, dass 58% der Patienten nicht auf eine Mutation der 5-alpha-Reduktase untersucht wurden.

Es liegen bei insgesamt 35 Patienten relevante Mutationen im Bereich der 17-beta-HSD vor, 13 der Betroffenen haben ebenfalls betroffene Verwandte, drei konsanguine Eltern. Die Betroffenen haben mit auffälligen 71% (n=25/35) einen klinischen Typ 4 oder 5 und sind daher vorwiegend weiblich, 89% haben einen weiblichen Vornamen. Auch Lee et al beschreiben in ihrer Arbeit von 2007 eine Gruppe von Patienten mit dem Karyotypen 46,XY und nachgewiesenen Mutation im Bereich der 17betaHSD, die alle mit einer weiblichen Geschlechtszuweisung aufwuchsen, die Beschreibung des klinischen Bildes entspricht bei allen 14 Patientinnen dem klinischen Typ 4 oder 5. Die weibliche Tendenz im Erscheinungsbild ist der Funktion der 17-beta-HSD zuzuschreiben, ohne welche die Testosteronbildung unzureichend ist. Eine besondere Auffälligkeit ist bei Mutationen im Bereich der 17-beta-HSD die oft deutliche Virilisierung im Pubertätsalter mit häufig auch Problemen bei der geschlechtlichen Identitätsfindung der Jugendlichen. Durch den doch hohen Anteil an weiblicher Geschlechtszuordnung ist ein Wechsel der Geschlechterrolle nicht unüblich. In den unterschiedlichen Kulturen wird sehr unterschiedlich mit einem solchen Wechsel der Geschlechterrolle oder einer eventuellen Transsexualität umgegangen (Kuhnle et al., 2002). Einige unserer Patienten aus dem arabischen Raum erlebten diesen Wechsel, oder den Wunsch danach, als sehr schwer, er führte für manche zum Bruch mit

ihren Familien und war eine große psychische Belastung, wie sich aus den Arztbriefen der Lübecker Patienten erkennen lässt.

Drei der Betroffenen in dieser Gruppe haben konsanguine Eltern. Verschiedene Studien zeigen, dass die Konsanguinität der Eltern tatsächlich eine wichtige Rolle spielt: während in den Niederlanden von einer Inzidenz von 1:147.000 Geburten (Boehmer et al., 1999) berichtet wird, liegt die höchste Inzidenz im Gazastreifen mit 1:150 Geburten (Rosler et al., 1996).

Es ist abschließend noch zu erwähnen, dass insgesamt nur 5,5% der Patienten auf eine Mutation in der 17betaHSD untersucht wurden.

Die Mutationen im Bereich der sex determining region auf dem Y-Chromosom sind insgesamt 8-mal vertreten, 5-mal liegt eine komplette Deletion des Gens vor. Insgesamt sind jedoch nur 5,3% der Patienten auf Mutationen im SRY-Gen untersucht worden, sodass nicht zwingend von einer Vollständigkeit dieser Zahlen auszugehen ist.

Es sind insgesamt 9 betroffene Patienten mit einer Mutation im codierenden Bereich des SF1 zum Zeitpunkt der Datensammlung bekannt. Es ist jedoch zu betonen, dass die Untersuchungen auf Mutationen in diesem Bereich zum Zeitpunkt des Abschlusses der Datensammlung für diese Arbeit noch nicht abgeschlossen waren, und insgesamt bisher lediglich 1,6 % der Patienten auf Mutationen in diesem Bereich untersucht wurden. Hier ist jedoch eine deutliche Zunahme der gefunden Mutationen zu erwarten.

Die Bildung von Datenbanken ist die Grundlage zur Arbeit mit seltenen Erkrankungen, die auch von der NAMSE (Nationales Aktionsbündnis für Menschen mit seltenen Erkrankungen) für die Anerkennung als Referenzzentrum für seltene Erkrankungen gefordert wird. Ohne eine sinnvolle und möglichst vollständige, am besten weit überregionale Datenbank ist eine gute Erforschung seltener Erkrankungen nicht möglich, da es zu wenige Fälle gibt. Die Versorgung von Patienten mit diesen Erkrankungen ist in ihrer Qualität und Güte auch von der Qualität und Güte der existierenden Datenbanken abhängig. In Deutschland werden jährlich 2/10.000 Kindern mit uneindeutigem Genitale geboren (Thyen et. al, 2006). Genaue Angaben zur Prävalenz der DSD gibt es noch nicht. Wie diese Datenbank mit immerhin 2054 erfassten Personen zeigt, ist das Bild dieser seltenen Erkrankungen sehr in-

homogen. Vom Phänotyp über den Genotyp, vom Zeitpunkt der ersten Auffälligkeiten bis hin zu den diversen möglichen Auffälligkeiten ist keinerlei Homogenität zu erkennen. Bei nur 299 Betroffenen wurde eine Mutation festgestellt, die die DSD erklärt. Bei den übrigen Betroffenen kann keines der untersuchten Gene als Grund für die Besonderheiten benannt werden. Selbst ein und dieselbe Mutation führt nicht zwingend zum gleichen Bild. Ohne Diagnose ist es fast unmöglich eine adäquate Prognose über den weiteren Verlauf und das mögliche Ansprechen von Hormonen bei einer späteren Behandlung in der Pubertät zu treffen. Die Auswertung dieser Datenbank jedoch zeigt beispielhaft, dass selbst das Wissen über die Diagnose noch keine einfache und direkte Zuordnung zu einem Therapiekonzept erlaubt. Je größer eine Datenbank ist, desto mehr Fälle ähneln sich und desto eher kann man aus den Fällen auf eine sinnvolle und gute Therapie schließen. Diese wird bei den Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung in den meisten Fällen sehr individuell sein. Eine Verbesserung der Datenarbeit kann jedoch eine gute Basis legen.

Eine Verbesserung der Datenarbeit muss verschiedene Schwerpunkte haben. Einerseits sollte die Anzahl der erfassten Personen möglichst erhöht werden. Hier ist natürlich auch zu beachten, dass die Lübecker Datenbank mit 2056 Datensätzen ja nicht nur Betroffene, sondern auch Familienmitglieder erfasst, insgesamt sind etwa $\frac{3}{4}$ der Fälle Einzelfalluntersuchungen, die übrigen Untersuchungen erfolgten im Rahmen von Familienuntersuchungen. Eine Möglichkeit die Anzahl der Fälle in Datenbanken zu erhöhen, ist die Schaffung von größeren, überregionalen Datenbanken. Hier gibt es z.B. I-DSD, eine europaweite Datenbank zur Erfassung von Patienten mit Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung (www.I-DSD.eu). Das Problem ist hierbei, dass die Datenbank sich nicht einfach mit den regionalen Datenbanken verlinken lässt, denn die erfassten Parameter, Laborwerte, etc. unterscheiden sich natürlich. So sehen auch Vitozzi et al. die wichtigste Aufgabe der Datenbankarbeit europaweit in der Standardisierung von Daten und Prozeduren, der Schaffung neuer Datenbanken und der Integration der bereits existierenden kleineren Datenbanken (Vitozzi et al., 2013). Aktuell werden die Datenbanken teilweise doppelt geführt, zum einen regional, und dann zusätzlich überregional. Das führt zu Lücken (die erhöhte Bürokratie beim doppelten Erfassen der Patienten im normalen Alltag eines Kliniklers unterzubringen, ist eine zusätzliche Belastung im ohnehin engen Zeitmanagement) sowie dazu,

dass natürlich die älteren Fälle (die Datenbank reicht bis 1991 zurück) nicht oder nur spärlich in den internationalen Datenbanken erfasst sind.

Taruscio et al. beschreiben 2013, dass eine koordiniertere, einheitlichere und qualitativ höhere Datenarbeit in Europa notwendig ist (Taruscio et al., 2013). Es muss sinnvollerweise eine einheitliche Struktur zur Erfassung der Daten erreicht werden (Vitozzi et al., 2013), das heißt im Fall der DSD, Phänotypen müssen einheitlich definiert werden, Laborwerte in Einheit und Alter der Blutentnahme standardisiert sein, die Angabe der Mutationen muss einheitlich dargestellt sein, und das alles am besten auf internationaler Ebene. Nur so hat man die Möglichkeiten, eine Datenbank sinnvoll auszuwerten. Zudem muss im Rahmen der Qualitätsverbesserung der Daten insbesondere die Vollständigkeit der Datensätze verbessert werden. In der Lübecker Datenbank zeigt sich das Problem sehr anschaulich bei der im Rahmen der gegebenen Fragestellung sehr wichtigen Information über den vorliegenden Karyotyp, welche bei 38% nicht vorliegt. Bei über der Hälfte der Datensätze liegt kein ausgefüllter Fragebogen vor, die 45% mit einem ausgefüllten Fragebogen bedeuten jedoch nicht im Umkehrschluss, dass hier vollständige Informationen vorliegen, sondern lediglich, dass einige der Angaben gemacht wurden.

Ein weiteres Problem im Rahmen der Qualität der Daten ist die Frage, welche Daten erfasst werden. Welche Punkte sind denn wichtig oder relevant? Können wir jetzt schon absehen, welche Werte wir in einigen Jahren eventuell als sehr wichtig erkennen? Im Folgenden sind einige Punkte aufgeführt, die früher nicht bzw. heute nicht mehr bzw. überhaupt nicht erfasst wurden/werden.

I) Small for gestational age / Geburtsgewicht

Die Definition für SGA – small for gestational age – besagt, dass diese Neugeborenen ein/e Geburtsgewicht/-größe unterhalb der 3. Perzentile haben. Untersuchungen haben gezeigt, dass bei diesen Kindern häufiger als bei Kindern mit einem normalen, dem Gestationsalter entsprechenden Geburtsgewicht eine Fehlbildung vorliegt (Wennerström et al., 2015). Im Bereich der Fehlbildung der Geschlechtsorgane ist hier im speziellen die Hypospadie zu nennen. Chen et al. zeigen, dass SGA ein Risikofaktor für das Auftreten einer Hypospadie darstellt (Chen et al., 2014). Dies zeigt, dass das perzentilengewichtete Geburtsgewicht ein Faktor für das Vorliegen geschlechtsbezogener Fehlbildungen, wie z.B.

der Hypospadie ist und daher Eingang in eine Datenbank für geschlechtsbezogene Fehlbildungen und –entwicklungen finden sollte.

II) Schwangerschaftswoche/Frühgeburtlichkeit

Ob ein Kind zum errechneten Termin oder deutlich früher geboren wird, ist für das Kind von großer Bedeutung. Frühchen, d.h. vor der 37. Schwangerschaftswoche geborene Kinder, haben häufig Anpassungsstörungen und einen schwierigen Start ins Leben. Fehlbildungen sind jedoch bei Frühchen an sich nicht häufiger zu finden, die Embryo- und Fetogenese ist zum Geburtszeitpunkt bei lebensfähigen Frühgeborenen bereits abgeschlossen. Eine Studie von Chen et al 2014 zeigt, dass es zwar einen Zusammenhang zwischen SGA und Hypospadien gibt, einen Zusammenhang mit Frühgeburtlichkeit ließ sich in dieser Studie jedoch nicht nachweisen.

Die erreichte Schwangerschaftswoche sollte dennoch Eingang in die Datenbank finden. Ein Zusammenhang ließ sich bisher nicht darstellen ist aber möglich und nur mit einer vollständigen Erfassung von Daten kann hier eine genauere Untersuchung eventueller Zusammenhänge erfolgen.

III) Sonstige Fehlbildungen/Syndrome

In der Datenbank liegen 2056 Datensätze vor. Bei 69 Patienten ist eine chromosomale Abweichung beschrieben, sodass sich für unsere Population eine Prävalenz von $P=0,034$ ergibt. Eine Untersuchung bei lebend geborenen Neugeborenen ergab bei 0,6% eine numerische oder strukturelle Chromosomenaberration (Sitzmann et al., 2007). Es liegt also im Vergleich zur Normalbevölkerung eine um 5,67fach höhere Prävalenz in unserer Datenbank vor.

Liegt nun, trotz vieler fehlender Angaben, eine höhere Prävalenz an numerischen und strukturellen Chromosomenaberrationen in der Lübecker Datenbank vor, kann man vermuten, dass auch die Prävalenz anderer Fehlbildungssyndrome, welchen nicht zwingend eine numerische oder strukturelle Chromosomenaberration zu Grunde liegt, erhöht ist. Einige dieser Syndrome gehen auch gehäuft mit Fehlbildungen im genitalen Bereich einher, lassen sich aber in dieser Datenbank nicht widerspiegeln. Beispielsweise geht das Noonan-Syndrom bei Jungen häufig mit Hypogonadismus und Unfruchtbarkeit einher. Auch bei anderen eher selteneren Syndromen wie dem Kallmann-Syndrom, dem Prader-Willi-

Syndrom oder dem Bardet-Biedl-Syndrom ist ein Hypogonadismus beschrieben. Bei keinem der Krankheitsbilder liegt eine chromosomale Auffälligkeit vor, das heißt, in der Datenbank können sie nicht erfasst werden. Diese Lücke in der Datenerfassung gilt es zu schließen. In diesem Zusammenhang könnten dann auch Mutationen erfasst werden, die ggf. bei Untersuchungen anderer Genloci gefunden werden, die durchgeführt wurden, nachdem unsere Untersuchungen ohne Ergebnis blieben.

IV) Nebenhoden ja/nein

Diese Frage wird im aktuellen Fragebogen erfasst und erlaubt eine noch genauere Beschreibung der Gonaden und damit des Phänotyps. Die älteren Bögen erfassen dies jedoch nicht, folglich fehlt auch die entsprechende Möglichkeit der Eingabe in die Datenbank. Eine Auswertung ist daher nicht möglich.

V) Hormonwerte im Verlauf

In der Datenbank können Hormonwerte in Altersgruppen unterteilt angegeben werden, je Hormon allerdings nur einen einzigen Wert. Wichtig ist jedoch in vielen Fällen der Verlauf, da z.B. die pubertätstypischen Veränderungen ausbleiben, Werte zuvor aber teilweise noch normwertig sind. Bei einigen Patienten, die in Lübeck direkt angebunden sind, sind diese Werte natürlich nachvollziehbar. Doch sie können in der aktuellen Datenbank keine Verwendung finden, da es keine Möglichkeit gibt, sie zu erfassen.

VI) Tannerstadien

Die Tannerstadien zur einheitlichen Erfassung der Pubertät und ihres Fortgangs sind sehr relevant für die Klinik, schließlich ist eine ausbleibende Pubertätsentwicklung eines der klassischen Symptome der sexuellen Entwicklungsstörungen. Erfasst werden sie in der Datenbank nicht, fanden jedoch Eingang in den aktuellen Fragebogen.

VII) Letzte Regelblutung

Insbesondere beim AIS ist das Nicht-Auftreten der Regelblutung der häufigste Grund einer ärztlichen Vorstellung – in den älteren Fragebögen ist die Frage jedoch nicht integriert und hat daher auch keinen Eingang in die Datenbank gefunden. In den aktuellen Fragebögen ist diese Frage Teil des Bogens und hilft bei differentialdiagnostischen Betrachtungen.

VIII) Körpergröße und –gewicht

Die Größe und das Gewicht spielen eine wichtige Rolle, sie sollten mit Angabe der Perzentilen aufgenommen werden. Bei manchen Fehlbildungen geht z.B. ein nicht perzentilengerechtes Wachstum mit dem Krankheitsbild einher (z.B. Kleinwuchs bei Mädchen mit einem Turner-Syndrom). Solche Zusammenhänge mit weiteren Mutationen lassen sich nicht eruieren, wenn die Werte gar nicht erst mit aufgenommen werden. Auch diese Werte sind Bestandteil des aktuellen Fragebogens, ohne bisher Eingang in die Datenbank in Lübeck gefunden zu haben.

IX) Phalluslänge

Die Phalluslänge ist in den aktuellen Fragebögen gefragt, im älteren Bogen wird sie nur pauschal mit der Frage nach einem isolierten Mikropenis abgefragt. Eine Abstufung war daher nicht möglich, sie würde jedoch den Phänotypen noch besser beschreiben. Zudem ist eine genaue Definition eines Mikropenis nicht auf dem Fragebogen mit angegeben – es ist folglich eine subjektive Angabe und damit uneinheitlich.

X) Hypospadie

Die Hypospadie ist, wie in den vorhergehenden Kapiteln gezeigt, ein häufiger Grund für eine Vorstellung der Patienten im Säuglings- oder Kleinkindalter und geht noch dazu recht häufig mit Mutationen einher. Sie ist im aktuellen Fragebogen nicht mehr erfasst und schafft, was den Phänotypen angeht, eine große Lücke, da oft die Hypospadie phänotypisch die einzige Auffälligkeit darstellt. In Kapitel VI.1.2. wird auf die genaue Häufigkeit der Hypospadie nochmals im Detail eingegangen.

XI) Fertilität/Gynäkomastie

Wie bereits in der Einleitung erörtert, gibt es viele Patienten, die erst im Erwachsenenalter mit den Auswirkungen ihrer genetischen Veränderungen konfrontiert werden. Eine leichte Gynäkomastie oder eine Infertilität sind die einzigen klinischen Auffälligkeiten (Batch et al., 1992). Bei infertilen Männern kann in 2-3% der Fälle eine Mutation im AR-Gen festgestellt werden (Hiort et al., 2000; Ferlin et al., 2006). Es gibt in der Lübecker Datenbank keine Möglichkeit solche Auffälligkeiten mit aufzunehmen. Da durch die geringen Symptome viele Mutationen lange unentdeckt bleiben (Galli-Tsinopoulou et al., 2003), ist die Gesamtanzahl dieser Patienten, die Blut für eine genetische Untersuchung einsenden eher

gering, sodass es vielleicht nicht zwingend erforderlich ist eine feste Angabe hierfür zu fordern (im Sinne eines Feldes auf dem Fragebogen und einem eigenen Icon in der Datenbank). Dennoch sollte es die Möglichkeit geben, ggf. in einer Spalte mit „Weiteren Symptomen“ solche Auffälligkeiten zu beschreiben, damit diese Patienten nicht als „Symptomfrei“ in die Datenbank eingehen.

Zuletzt ist noch eine Schwierigkeit bei der Auswertung der Datenbank aufgefallen. Es ist nicht möglich, direkt alle Betroffenen herauszufiltern. Bei Betroffenen mit einer Mutation ist es indirekt möglich diese Gruppe darzustellen, indem beispielsweise (wie hier auch erfolgt) nur Patienten mit einer hemizygoten Mutation im AR dargestellt werden. Unter den Patienten ohne gefundene Mutationen geht dies natürlich nicht. Doch auch bei diesen sind teilweise Familienuntersuchungen erfolgt. Dies erschwert die Auswertung der Daten deutlich.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Im Zentrum für seltene Erkrankungen werden in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des UKSH, Campus Lübeck, unter anderem Patienten mit Besonderheiten der Geschlechtsentwicklung behandelt. Seit 1991 werden die Daten und Untersuchungsergebnisse dieser Patienten (und teilweise ihrer Angehörigen) in einer Datenbank erfasst. Diese wurde 2013 im Rahmen dieser Arbeit vollständig digitalisiert und enthält zum Zeitpunkt der Auswertung 2056 Datensätze. Erfasst werden der Karyotyp, die Namensgebung, das Datum der Untersuchung, das klinische Erscheinungsbild (kategorisiert in fünf klinische Typen), weitere klinische Merkmale und die Ergebnisse molekulargenetischer Untersuchungen. Untersucht wurde auf Mutationen in den genetischen Sequenzen von fünf unterschiedlichen, für die Geschlechtsentwicklung relevanten, Rezeptoren und Enzymen.

In der Auswertung zeigte sich bei 54% der Patienten ein 46,XY Karyotyp, sie ergab bei 52,3% der Betroffenen eine männliche, bei 35% eine weibliche Geschlechtszuweisung. Auch phänotypisch zeigen mit 34,4% mehr Patienten die klinischen Typen 1-2 (eher ♂), als den Typ 4-5 (eher ♀, 20,3%). Insgesamt zeigte sich eine große Zahl von Patienten mit Hypospadien (42,5%). Molekulargenetisch konnte bei insgesamt 361 Patienten eine Mutation in einer der untersuchten genetischen Sequenzen gefunden werden, hiervon 299 bei Betroffenen. Diese verteilen sich auf den Androgenrezeptor, die 5alpha-Reduktase, 17beta-HSD, SF1 und SRY in absteigender Häufigkeit, die größte Gruppe umfasst 200 Betroffene. Insbesondere in den beiden größeren Gruppen (AR, 5alpha-Reduktase) konnten auch einzelne Mutationshäufungen ausgemacht werden. Hier ist zum Teil, auch im Vergleich mit in der Literatur beschriebenen Fällen, eine vorsichtige Aussage über eine Korrelation von Mutation und Phänotyp möglich. Auffällig war in diesen Gruppen auch, dass die Frage, ob weitere Angehörige betroffenen sind, mit einer weit höheren Wahrscheinlichkeit, eine für die DSD verantwortliche Mutation zu finden, einhergeht.

Bei der Auswertung traten für die Arbeit mit Datenbanken typische Probleme auf: Die Datentlage ist teils lückenhaft, einige wichtige Informationen werden nicht erfasst und zudem erschwert der zeitliche Wandel die Aussage, welche Informationen wirklich wichtig sind. Durch diese Arbeit konnten wichtige Lücken aufgezeigt und Verbesserungsansätze vorgestellt werden.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Achermann JC, Ito M, Hindmarsh PC, Jameson JL: A mutation in the gene encoding steroidogenic factor-1 causes XY sex reversal and adrenal failure in humans. In: *Nat Genet.* 22(2), 125-6 (1999)

Ahmed SF, Cheng A, Dovey L, Hawkins JR, Martin H, Rowland J et al.: Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. In: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85 (2), 658–665. (2000)

Akcay T, Fernandez-Cancio M, Turan S, Güran T, Audi L, Bereket A: AR and SRD5A2 gene mutations in a series of 51 Turkish 46,XY DSD children with a clinical diagnosis of androgen insensitivity. In: *Andrology* 2(4):572-8 (2014)

Baskin LS: Hypospadias and urethral development. In: *J Urol* 163 Nr. 3, 951–6 (2000)

Batch JA, Williams DM, Davies HR, Brown BD, Evans BAJ, Hughes IA, Patterson MN: Androgen receptor gene mutations identified by SSCP in fourteen subjects with androgen insensitivity syndrome. In: *Hum Mol Genetics* 1, 497-503 (1992)

Ben Temime R, Chachial A, Attial L, Ghodbanel I, Makhloufi T, Koubaal A, Kourda N, Ben Jilani S, Dammak T, El May A, Rahal K: 46 XY pure gonadal dysgenesis with gonadoblastoma and dysgerminoma. In: *Tunis Med.* 86(7):710-3 (2008)

Berra M, Williams EL, Muroi B, Creighton SM, Honour JW, Rumsby G, Conway GS: Recognition of 5 α -reductase-2 deficiency in an adult female 46XY DSD clinic. In: *Eur. J. Endocrinol* 164 (6), 1019–1025 (2011)

Bevan CL, Brown BB, Davies HR, Evans BA, Hughes IA, Patterson MN: Functional analysis of six androgen receptor mutations identified in patients with partial androgen insensitivity syndrome. In: *Hum. Mol. Genet.* 5 (2), 265–273 (1996)

Boehmer AL, Brinkmann AO, Sandkuijl LA, Halley DJ, Niermeijer MF, Andersson S, de Jong FH, Kayserili H, de Vroede MA, Otten BJ, Rouwe CW, Mendonca BB, Rodrigues C, Bode HH, de Ruiter PE, Delemarre-van de Waal HA, Drop SL: 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and worldwide distribution of ancient and de novo mutations. In: *J Clin Endocrinol Metab* 84(12), 4713-21 (1999)

Boisen KA, Chellakooty M, Schmidt IM, Kai CM, Damgaard IN, Suomi AM, Toppari J, Skakkebaek NE, Main KM: Hypospadias in a cohort of 1072 Danish newborn boys: prevalence and relationship to placental weight, anthropometrical measurements at birth, and reproductive hormone levels at three months of age. In: *J Clin Endocrinol Metab* 90, 4041–4046 (2005)

- Bouvattier C, Carel JC, Lecointre C, David A, Sultan C, Bertrand AM et al.: Postnatal changes of T, LH, and FSH in 46,XY infants with mutations in the AR gene. In: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87 (1), 29–32 (2002)
- Brinkmann AO: Molecular basis of androgen insensitivity. In: *Mol Cell Endocrinol.* 179(1-2), 105-9 (2001)
- Chan AO, But BW, Lee CY et al.: Diagnosis of 5 α -Reductase 2 Deficiency: Is Measurement of Dihydrotestosterone Essential? In: *Clinical Chemistry, Endocrinology and Metabolism* 798–806 (2013)
- Chen MJ, Macias CG, Gunn SK, Dietrich JE, Roth DR, Schlomer BJ, Karaviti LP: Intrauterine growth restriction and hypospadias: is there a connection? In: *International Journal of Pediatric Endocrinology* (2014)
- Cheng J, Lin R, Zhang W, Liu G, Sheng H, Li X, Zhou Z, Mao X, Liu L: Phenotype and molecular characteristics in 45 Chinese children with 5 α -reductase type 2 deficiency from South China. In: *Clin Endocrinol (Oxf)* 83(4), 518-26 (2015)
- Deep A, Mason C, Lee YS, Hughes IA: Correlation between genotype, phenotype and sex of rearing in 111 patients with partial androgen insensitivity syndrome. In: *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 63 (1), S. 56–62 (2005)
- Deslypere JP, Young M, Wilson JD, McPhaul MJ: Testosterone and 5 α dihydrotestosterone interact differently with the androgen receptor to enhance transcription of the MMTV-CAT reporter gene. In: *Mol Cell Endocrinol* 88, 15-22 (1992)
- Duckett JW: Hypospadias. In: *Adult and Pediatric Urology*, 3rd edition, 2550–2565 (1996)
- EPIRARE – European platform for rare disease registries; www.epirare.eu
- Europäische Kommission, Bereich Gesundheitswesen; http://ec.europa.eu/health/rare_diseases/policy_de
- Ferlin A, Vinanzi C, Garolla A, Selice R, Zuccarello D, Cazzadore C, Foresta C: Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations. In: *Clin Endocrinol (Oxf)*. 65(5), 606-10 (2006)
- Galli-Tsinopoulou A, Hiort O, Schuster T, Messer G, Kuhnle U: A novel point mutation in the hormone binding domain of the androgen receptor associated with partial and minimal androgen insensitivity syndrome. In: *J Ped Endocrin Metab* 16, 149-154 (2003)
- Gatti JM, Kirsch AJ, Troyer WA, Perez-Brayfield MR, Smith EA, Scherz HC: Increased incidence of hypospadias in small-for-gestational age infants in a neonatal intensive-care unit. In: *BJU Int* 87, 548–550 (2001)

- Grimbly C, Caluseriu O, Metcalfe P, Jetha MM, Rosolowsky ET: 46,XY disorder of sex development due to 17-beta hydroxysteroid dehydrogenase type 3 deficiency: a plea for timely genetic testing. In: *Int J Pediatr Endocrinol.* (2016)
- Hadidi A: Classification of hypospadias. In: *Hypospadias Surgery.* Springer, 79–82 (2004)
- Han Y, Wang Y, Li Q, Dai S, He A, Wang E: Dysgerminoma in a case of 46, XY pure gonadal dysgenesis (Swyer syndrome): a case report. In: *Diagn Pathol.* 6, 84 (2011)
- Hiort O, Holterhus PM, Horter T, Schulze W, Kremke B, Bals-Pratsch M, Sinnecker GH, Kruse K: Significance of mutations in the androgen receptor gene in males with idiopathic infertility. In: *J Clin Endocrinol Metab.* 85(8), 2810-5 (2000)
- Hiort O, Sinnecker GH, Holterhus PM, Nitsche EM, Kruse K: Inherited and de novo androgen receptor gene mutations: investigation of single-case families. In: *J Pediatr* 132, 939-943 (1998)
- Hiort O, Huang Q, Sinnecker GH, Sadeghi-Nejad A, Kruse K, Wolfe HJ, Yandell DW: Single strand conformation polymorphism analysis of androgen receptor gene mutations in patients with androgen insensitivity syndromes: application for diagnosis, genetic counseling, and therapy. In: *J Clin Endocrinol Metab.* 77(1), 262-6 (1993)
- Holterhus PM: Störungen der Geschlechtsentwicklung. In: *Pädiatrische Endokrinologie und Diabetologie.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 392-409 (2010)
- Holterhus PM: Grundlagen und Klinik der Geschlechtsentwicklung. *Monatsschr Kinderheilkunde* 156, 217-225 (2008)
- Holterhus PM, Brüggewirth HT, Hiort O, Kleinkauf-Houcken A, Kruse K, Sinnecker GH, Brinkmann AO: Mosaicism due to a somatic mutation of the androgen receptor gene determines phenotype in androgen insensitivity syndrome. In: *J Clin Endocrinol Metab* 82, 3584-3549 (1997)
- Hong H, Fang H, Xie Q, Perkins R, Sheehan DM, Tong W: Comparative molecular field analysis (CoMFA) model using a large diverse set of natural, synthetic and environmental chemicals for binding to the androgen receptor. In: *SAR and QSAR in Environmental Research* 14(5-6), 373-388 (2003)
- Hsiao P, Thin TH, Lin D, Chang C: Differential regulation of testosterone vs. 5α dihydrotestosterone by selective androgen response elements. In: *Mol Cell Biochem* 206, 169 - 175 (2000)
- Hughes IA, Werner R, Bunch T, Hiort O.: Androgen insensitivity syndrome. In: *Semin Reprod Med.* 30(5), 432-42 (2012)

- Köhler B, Lumbroso S, Leger J, Audran F, Grau ES, Kurtz F, Pinto G, Salerno M, Semitcheva T, Czernichow P, Sultan C: Androgen insensitivity syndrome: somatic mosaicism of the androgen receptor in seven families and consequences for sex assignment and genetic counseling. In: *J Clin Endocrinol Metab* 90, 106-111 (2005)
- Köhler B, Achermann JC: Update – steroidogenic factor 1 (SF1, NR5A1). In: *Minerva Endocrinol.* 35(2), 73-86 (2010)
- Kuhnle U, Krahl W: The impact of culture on sex assignment and gender development in intersex patients. In: *Perspect Biol Med.* 45(1), 85-103 (2002)
- Kulle A, Krone N, Holterhus PM, Schuler G, Greaves RF, Juul A, de Rijke YB, Hartmann MF, Saba A, Hiort O and Wudy SA: Steroid Hormone Analysis in Diagnosis and Treatment of DSD. Position Paper of EU COST Action BM 1303 “DSDnet” (Accepted Preprint first posted on 10 February 2017 as Manuscript EJE-16-095)
- Lee SW, Kwak DS, Jung IS, Kwak JH, Park JH, Hong SM, Lee CB, Park YS, Kim DS, Choi WH, Ahn YH: Partial Androgen Insensitivity Syndrome Presenting with Gynecomastia. In: *Endocrinol Metab (Seoul)* 30(2), 226-30 (2015)
- Lee YS, Kirk JMW, Stanhope RG, Johnston DI, Harland S, Auchus RJ et al.: Phenotypic variability in 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency and diagnostic pitfalls. In: *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 67 (1), S. 20–28 (2007)
- Liu GZ, Wang H, Wang Z: Identification of a Highly Conserved Domain in the Androgen Receptor that suppresses the DNA-binding Domain-DNA Interactions. In: *J Biol Chem* 278(17), 14956-14960 (2003)
- Maimoun L, Philibert P, Cammas B, Audran F, Bouchard P, Fenichel P, Cartigny M, Pienkowski C, Polak M, Skordis N, Mazen I, Ocal G, Berberoglu M, Reynaud R, Baumann C, Cabrol S, Simon D, Kayemba-Kay's K, De Kerdanet M, Kurtz F, Leheup B, Heinrichs C, Tenoutasse S, Van Vliet G, Grüters A, Eunice M, Ammini AC, Hafez M, Hochberg Z, Einaudi S, Al Mawlawi H, Nuñez CJ, Servant N, Lumbroso S, Paris F, Sultan C: Phenotypic, biological, and molecular heterogeneity of 5 α -reductase deficiency: an extensive international experience of 55 patients. In: *J Clin Endocrinol Metab.* 96(2), 296-307 (2011)
- Mendonca BB, Gomes NL, Costa EM, Inacio M, Martin RM, Nishi MY, Carvalho FM, Tibor FD, Domenice S: 46,XY disorder of sex development (DSD) due to 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 deficiency. In: *J Steroid Biochem Mol Biol.* 165, 79-85 (2017)
- Mendonca BB, Batista RL, Domenice S, Costa EM, Arnhold IJ, Russell DW, Wilson JD: Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. In: *J Steroid Biochem Mol Biol.* 165, 95-100 (2017)
- Miyamoto Y, Taniguchi H, Hamel F, Silversides DW, Viger RS: A GATA4/WT1 cooperation regulates transcription of genes required for mammalian sex determination and differentiation. *BMC Mol Biol* 9, 44 (2008)

Mongan NP, Tadokoro-Cuccaro R, Bunch T, Hughes IA: Androgen insensitivity syndrome. In: Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 29(4), 569-80 (2015)

Mutalyzer Website, <https://mutalyzer.nl/>

NAMSE: Nationalen Aktionsbündnis für Menschen mit seltenen Erkrankungen, www.namse.de (Mai 2015)

Orphanet – Das Portal für seltene Erkrankungen und Orphan Drugs, www.orpha.net (November 2016)

Ratan SK, Aggarwal S, Mishra TK, Saxena A, Yadav S, Pandey R, Sharma A, Dhanwal D: Children with isolated hypospadias have different hormonal profile compared to those with associated anomalies. In: J Pediatr Endocrinol Metab 25, 111–119 (2012)

Rosler A, Silverstein S, Abeliovich D: A (R80Q) mutation in 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 3 gene among Arabs of Israel is associated with pseudohermaphroditism in males and normal asymptomatic females. In: J Clin Endocrinol Metab 81(5), 1827-31 (1996)

Shimamura R, Fraizer GC, Trapman J, Lau YfC, Saunders GF: The Wilms' tumor gene WT1 can regulate genes involved in sex determination and differentiation: SRY, Müllerian-inhibiting substance, and the androgen receptor. In: Clin Cancer Res 3, 2571-2580 (1997)

Sinnecker GH, Hiort O, Nitsche EM, Holterhus PM, Kruse K. Functional assessment and clinical classification of androgen sensitivity in patients with mutations of the androgen receptor gene. German Collaborative Intersex Study Group. In: Eur J Pediatr 156(1), 7-14 (1997)

Sitzmann FC: Thieme Verlag, Duale Reihe Pädiatrie, Kapitel 7.2.1, Seiten 135-136 (2007)

Smith C: Surgical procedures for correction of hypospadias. In: J Urol 40, 239–245 (1938)

Tadokoro R, Bunch T, Schwabe JW, Hughes IA, Murphy JC: Comparison of the molecular consequences of different mutations at residue 754 and 690 of the androgen receptor (AR) and androgen insensitivity syndrome (AIS) phenotype. In: Clin Endocrinol (Oxf). 71(2), 253-60 (2009)

Taruscio D, Gainotti S, Mollo E, Vittozzi L, Bianchi F, Ensini M, Posada M: The current situation and needs of rare disease registries in Europe. In: Public Health Genomics 16(6), 288-98 (2013)

Taruscio D, Mollo E, Gainotti S, Posada de la Paz M, Bianchi F, Vittozzi L: The EPIRARE proposal of a set of indicators and common data elements for the European platform for rare disease registration. In: Arch Public Health. 72(1), 35 (2014)

Thyen U, Lanz K, Holterhus PM, Hiort O: Epidemiology and initial management of ambiguous genitalia at birth in Germany. In: *Horm Research* 66(4): 204-205 (2006)

Vittozzi L, Gainotti S, Mollo E, Donati C, Taruscio D: A model for the European platform for rare disease registries. In: *Public Health Genomics* 16(6), 299-304 (2013)

Wennerström EC, Simonsen J, Melbye M: Long-Term Survival of Individuals Born Small and Large for Gestational Age. In: *PLoS One* 21;10(9):e0138594. doi: 10.1371/journal.pone.0138594. eCollection. (2015)

Wilson CA, Davies DC: The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. In: *Reproduction* 133, 331-359 (2007)

Wilson JD, Griffin JE, Russell DW: Steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency. In: *Endocr Rev* 14(5), 577-93 (1993)

Zhou ZX, Lane MV, Kempainen JA, French FS, Wilson EM: Specificity of ligand dependent androgen receptor stabilization: receptor domain interactions influence ligand dissociation and receptor stability. In: *Mol Endocrinol* 9(2), 208-218 (1995)

IX. ANHANG

IX.1. Tabellarium

IX.1.1. Tabellarium zu Kapitel V.2 Das Untersuchungskollektiv

Häufigkeit Fragebogen vorhanden

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozen- te	Kumulierte Pro- zente
Nein	1122	54,6	54,6	54,6
Gültig Ja	934	45,4	45,4	100,0
Gesamt	2056	100,0	100,0	

Tabellarium 1: Fragebogen vorhanden?

Häufigkeit Karyotypen

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozen- te	Kumulierte Pro- zente
Keine Angabe	749	36,4	37,0	37,0
46, XY	1108	53,9	54,7	91,7
Gültig 46, XX	105	5,1	5,2	96,9
Anderer Karyotyp	62	3,0	3,1	100,0
Gesamt	2024	98,4	100,0	
Fehlend System	32	1,6		
Gesamt	2056	100,0		

Tabellarium 2: Karyotyp

Häufigkeit Vorname ist...

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozen- te	Kumulierte Pro- zente
weiblich	709	34,5	34,6	34,6
männlich	1075	52,3	52,4	86,9
Gültig unklar	201	9,8	9,8	96,7
unbekannt	67	3,3	3,3	100,0
Gesamt	2052	99,8	100,0	
Fehlend System	4	,2		
Gesamt	2056	100,0		

Tabellarium 3: Vorname

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Alter	1338	-,50	71,92	10,7188	13,55772
Gültige Werte (Listenweise)	1338				

Tabellarium 4: Alter

Deskriptive Statistik

Karyotyp			Statistik	Standardfehler
Alter	Keine Angabe	Mittelwert	15,1394	,69470
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze 13,7746 Obergrenze 16,5043	
		5% getrimmtes Mittel	13,9385	
		Median	9,7083	
		Varianz	245,167	
		Standardabweichung	15,65781	

	Minimum		-,42	
	Maximum		71,92	
	Spannweite		72,33	
	Interquartilbereich		27,31	
	Schiefe		,920	,108
	Kurtosis		-,068	,216
46, XY	Mittelwert		6,9983	,36547
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	6,2808	
		Obergrenze	7,7158	
	5% getrimmtes Mittel		5,6592	
	Median		2,0000	
	Varianz		96,706	
	Standardabweichung		9,83391	
	Minimum		-,50	
	Maximum		64,17	
	Spannweite		64,67	
	Interquartilbereich		11,33	
	Schiefe		2,128	,091
	Kurtosis		5,548	,181
	Karyotyp		Statistik	Standardfehler
46, XX	Mittelwert		25,9537	2,73799
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	20,4357	
		Obergrenze	31,4718	
	5% getrimmtes Mittel		25,4748	
	Median		30,5833	
	Varianz		337,346	
	Standardabweichung		18,36697	

	Minimum		,00	
	Maximum		63,25	
	Spannweite		63,25	
	Interquartilbereich		31,67	
	Schiefe		,010	,354
	Kurtosis		-,962	,695
Anderer Karyotyp	Mittelwert		5,5799	1,02977
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	3,5082	
		Obergrenze	7,6515	
	5% getrimmtes Mittel		4,8029	
	Median		2,1250	
	Varianz		50,900	
	Standardabweichung		7,13445	
	Minimum		,00	
	Maximum		30,25	
	Spannweite		30,25	
	Interquartilbereich		9,83	
	Schiefe		1,545	,343
	Kurtosis		2,048	,674

Tabellarium 5: Alter nach Karyotypen

Tests auf Normalverteilung^b

		Kolmogorow-Smirnow ^a			Shapiro-Wilk		
Karyotyp		Statistik	Df	Sig.	Statistik	df	Sig.
Alter	Keine Angabe	,157	26	,098	,912	26	,029
	46, XY	,325	33	,000	,645	33	,000
	46, XX	,276	3	.	,942	3	,535

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

b. Es sind keine gültigen Fälle für Alter vorhanden, wenn Karyotyp = 3,000. Die Statistik kann für diese Ebene nicht berechnet werden. * Signifikanzniveau $p < 0,05$

Tabellarium 6: Tests auf Normalverteilung Alter nach Karyotyp

Karyotyp (Gesamtkollektiv)

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	Keine Angabe	781	38,0
	46, XY	1108	53,9
	46, XX	105	5,1
	Anderer Karyotyp	62	3,0
Gesamt		2056	100,0

Tabellarium 7: Daten zu Grafik 1

Vorname ist... Gesamtkollektiv

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	Weiblich	713	34,7
	Männlich	1075	52,3
	Unklar	201	9,8
	Unbekannt	67	3,3
Gesamt		2056	100,0

Tabellarium 8: Daten zu Grafik 2

Mehrfachvergleiche

Abhängige Variable: Alter

Least significant difference

(I) Karyotyp	(J) Karyotyp	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
46, XY	46, XX	-18,95543*	1,58971	,000	-22,0759	-15,8350
	Anderer Karyotyp	1,41841	1,54223	,358	-1,6088	4,4456
46, XX	46, XY	18,95543*	1,58971	,000	15,8350	22,0759
	Anderer Karyotyp	20,37384*	2,14707	,000	16,1594	24,5883
Anderer Karyotyp	46, XY	-1,41841	1,54223	,358	-4,4456	1,6088
	46, XX	-20,37384*	2,14707	,000	-24,5883	-16,1594

*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.01 signifikant.

Tabellarium 9: Mehrfachvergleiche: Alter bei Vorstellung bezogen auf Karyotyp

Phänotyp (anderer Karyotyp)		Häufigkeit mit Y	Häufigkeit ohne Y	Häufigkeit keine Angabe
Gültig	Keine Angabe	8	4	1
	Klinischer Typ 1	2	0	0
	Klinischer Typ 2	23	0	0
	Klinischer Typ 3	14	0	0
	Klinischer Typ 4	3	0	1
	Klinischer Typ 5	5	1	0
Gesamt		55	5	2

Tabellarium 10: : Daten zu Grafik 3a/b

Vorname ist... (anderer Karyotyp)		Häufigkeit mit Y	Häufigkeit ohne Y	Häufigkeit keine Angabe
Gültig	weiblich	19	4	1
	männlich	29	0	0
	unklar	7	1	1
Gesamt		55	5	2

Tabellarium 11: Daten zu Grafik 4a/b

IX.1.2. Tabellarium zu Kapitel V.4 Phänotypen

		Karyotyp * Äußeres Genitale Kreuztabelle						Gesamt
		Äußeres Genitale						
		Keine Angabe	Klinischer Typ 1	Klinischer Typ 2	Klinischer Typ 3	Klinischer Typ 4	Klinischer Typ 5	
Keine Angabe	Anzahl	466	111	100	33	8	22	740
	% *	63,0%	15,0%	13,5%	4,5%	1,1%	3,0%	100,0%
46, XY	Anzahl	154	125	323	205	91	200	1098
	% *	14,0%	11,4%	29,4%	18,7%	8,3%	18,2%	100,0%
46, XX	Anzahl	16	2	3	4	6	70	101
	% *	15,8%	2,0%	3,0%	4,0%	5,9%	69,3%	100,0%
Anderer Karyotyp	Anzahl	13	2	23	14	4	6	62
	% *	21,0%	3,2%	37,1%	22,6%	6,5%	9,7%	100,0%
Gesamt	Anzahl	649	240	449	256	109	298	2001
	% *	32,4%	12,0%	22,4%	12,8%	5,4%	14,9%	100,0%

Tabellarium 12: Daten zu Grafik 5

* innerhalb von Karyotyp

Hypospadie * Äußeres Genitale Kreuztabelle

			Äußeres Genitale					Gesamt	
			Keine Angabe	Klinischer Typ 1	Klinischer Typ 2	Klinischer Typ 3	Klinischer Typ 4		Klinischer Typ 5
Hypo- spadie	Keine An- gabe	Anzahl	453	83	43	100	68	248	995
		% *	45,5%	8,3%	4,3%	10,1%	6,8%	24,9%	100,0%
	Isolierter Mikropenis	Anzahl	30	75	19	2	0	0	136
		% *	23,8%	59,5%	15,1%	1,6%	0,0%	0,0%	100,0%
	Keine Hy- pospadie	Anzahl	12	19	51	19	17	25	143
		% *	8,4%	13,3%	35,7%	13,3%	11,9%	17,5%	100,0%
	Hypospadie Ja	Anzahl	156	63	339	136	23	21	738
		% *	21,1%	8,5%	45,9%	18,4%	3,1%	2,8%	100,0%
Gesamt		Anzahl	651	240	452	257	108	294	2002
		% *	32,5%	12,0%	22,6%	12,8%	5,4%	14,7%	100,0%

Tabellarium 13: Daten zu Grafik 6

* innerhalb von Hypospadie

Hypospadiegrad

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozen- te	Kumulierte Pro- zente
Gültig	Keine Gradangabe	71	8,1	8,1	8,1
	Isolierter Mikropenis	127	14,5	14,5	22,7
	Glandulär	35	4,0	4,0	26,7
	Penil	73	8,4	8,4	35,0
	Penoscrotal	325	37,2	37,2	72,2
	Scrotal	139	15,9	15,9	88,1
	Perineal	104	11,9	11,9	100,0
	Gesamt	874	100,0	100,0	

Tabellarium 14: Daten zu Grafik 7

Kreuztabelle Karyotyp*Uterus

	Uterus vorhanden					Gesamtsumme
	Keine Angabe	Widersprüchliche Angaben	Ja	Unklar	Nein	
Karyotyp Keine Angabe	659	0	14	5	68	746
46, XY	390	10	52	48	598	1098
46, XX	22	0	76	3	4	105
Anderer Karyotyp	24	1	14	3	20	62
Gesamtsumme	1095	11	156	59	690	2011

Tabellarium 15: Daten zu Grafik 8

Kreuztabelle Karyotyp*Gonadenhistologie

	Gonadenhistologie							Gesamtsumme
	Keine Angabe	Nicht bestimmt	Hoden	Ovotestes	Ovar	Partielle Dysgenese	Totale Dysgenese	
Karyotyp Keine Angabe	724	10	10	0	0	1	1	746
46, XY	830	89	126	8	2	23	11	1089
46, XX	96	0	2	4	0	1	1	104
Anderer Karyotyp	39	2	4	6	0	10	0	61
Gesamtsumme	1689	101	142	18	2	35	13	2000

Tabellarium 16: Daten zu Grafik 9

Kreuztabelle Karyotyp*Hoden vorhanden

		Hoden vorhanden?				Gesamtsumme
		Keine Angabe	Ja	Unklar	Nein	
Karyotyp	Keine Angabe	437	252	10	8	707
	46, XY	199	809	55	31	1094
	46, XX	27	10	2	65	104
	Anderer Karyotyp	18	40	2	1	61
Gesamtsumme		681	1111	69	105	1966

Tabellarium 17: Daten zu Grafik 10

Kreuztabelle Karyotyp*Lage Hoden rechts

		Hoden rechts					Gesamtsumme
		Kein	Nicht palpabel	Abdominell	Leistenkanal	Labioskrotal	
Karyotyp	Keine Angabe	179	12	9	40	112	352
	46, XY	138	39	46	202	346	771
	46, XX	10	1	0	0	3	14
	Anderer Karyotyp	12	1	0	13	16	42
Gesamtsumme		339	53	55	255	477	1179

Tabellarium 18: Lage des rechten Hoden nach Karyotyp

Kreuztabelle Karyotyp*Lage Hoden links

	Hoden links					Gesamtsumme
	Kein	Nicht palpa- bel	Abdominell	Leistenkanal	Labioskrotal	
Karyotyp Keine Angabe	176	11	7	40	119	353
46, XY	136	33	47	202	354	772
46, XX	10	1	1	0	3	15
Anderer Kary- otyp	14	3	0	8	16	41
Gesamtsumme	336	48	55	250	492	1181

Tabellarium 19: Lage des linken Hoden nach Karyotyp

IX.1.3. Tabellarium zu Kapitel V.5 Mutationen

Häufigkeit der Mutationen gesamt

	Häufigkeit	Prozent
SF-1	11	2,0
17betaHSD	49	8,7
5alphaReduktase	157	28,0
SRY	8	1,4
CYP11A1	2	0,4
Androgenrezeptor	334	59,5
Gesamt	561	100

Tabellarium 20: Häufigkeit Mutationen insgesamt

Häufigkeit der Mutationen bei Betroffenen

	Häufigkeit	Prozent
Gültig 17betaHSD	35	11,7
5alphaReduktase	50	16,7
SRY	8	2,7
CYP11A1	2	0,7
Androgenrezeptor	204	68,2
Gesamt	299	100

Tabellarium 21: Daten zu Grafik 11

		Äußeres Genitale					Gesamt	
		Keine Angabe	Klinischer Typ 1	Klinischer Typ 2	Klinischer Typ 3	Klinischer Typ 4		Klinischer Typ 5
17betaHSD	Anzahl	7	0	1	2	13	12	35
5alphaReduktase	Anzahl	9	2	5	17	7	10	50
SRY	Anzahl	2	0	0	0	2	3	8
CYP11A1	Anzahl	0	0	0	0	2	0	2
Androgenrezeptor	Anzahl	42	7	30	21	10	94	204
Gesamt	Anzahl	60	9	36	40	34	119	299
	% *	20,07%	3,01%	12,04%	13,38%	11,37%	39,80%	100,00%

Tabellarium 22: Daten zu Grafiken 12 bis 15

Äußeres Genitale AR

	Häufigkeit	Prozent
Gültig Keine Angabe	42	20,6
Klinischer Typ 1	7	3,4
Klinischer Typ 2	30	14,7
Klinischer Typ 3	21	10,3
Klinischer Typ 4	10	4,9
Klinischer Typ 5	94	46,1
Gesamtsumme	204	100,0

Tabellarium 23: Daten zu Grafik 16

Geschlechtszuordnung AR

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	weiblich	134	65,7
	männlich	54	26,5
	unklar	9	4,4
	unbekannt	7	3,4
	Gesamtsumme	204	100,0

Tabellarium 24: Daten zu Grafik 17

Äußeres Genitale 5alpha-Reduktase

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	Keine Angabe	9	18,0
	Klinischer Typ 1	2	4,0
	Klinischer Typ 2	5	10,0
	Klinischer Typ 3	17	34,0
	Klinischer Typ 4	7	14,0
	Klinischer Typ 5	10	20,0
Gesamtsumme		50	100,0

Tabellarium 25: Daten zu Grafik 18

Geschlechtszuordnung 5alpha-Reduktase

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	weiblich	30	60,0
	männlich	11	22,0
	unklar	8	16,0
	unbekannt	1	2,0
	Gesamtsumme	50	100

Tabellarium 26: Daten zu Grafik 19

Äußeres Genitale 17betaHSD

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	Keine Angabe	7	20,0
	Klinischer Typ 1	0	0,0
	Klinischer Typ 2	1	2,9
	Klinischer Typ 3	2	5,7
	Klinischer Typ 4	13	37,1
	Klinischer Typ 5	12	34,3
Gesamtsumme		36	100,0

Tabellarium 27: Daten zu Grafik 20

Geschlechtszuordnung 17betaHSD

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	Weiblich	31	88,6
	Männlich	1	2,9
	Unbekannt	3	8,6
	Gesamtsumme	35	100,0

Tabellarium 28: Daten zu Grafik 21

IX.2. Der aktuelle Fragebogen

Patientenangaben
(Name, Vorname, geb. am, Geschlecht, Adresse, Telefon, Krankenkategorie)

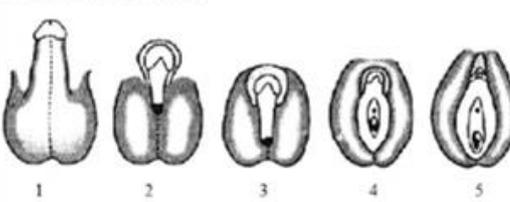
Hormonzentrum für Kinder und Jugendliche
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin / Bereich Molekulargenetik
Prof. Dr. O. Hirtl
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck,
Ratzeburger Allee 160, 23538 Lübeck
Tel. Labor +49 (0) 451 500 3747 / 2868, Büro -2191, Fax -6867
E-Mail: olaf.hirtl@uksh.de

**UK
SH**

Einsender

Abrechnung: Stationär (Klinikrechnung) ambulant (Überweisungsschein Muster 10) privat (bitte Rechnungsadresse angeben)

Molekulargenetische Untersuchung bei Störungen der Geschlechtsentwicklung (DSD)

Klinische Verdachtsdiagnose:		Karyotyp:		
Familienanamnese (bitte 3 Generationen aufzeichnen)				
Geburtsgewicht:		Alter bei erster Präsentation:		
Letzte Vorstellung – Datum:		Geschlechtszuweisung: männl. / weibl.		
Genitalbefund: (bitte ankreuzen)		Lokalisation der Gonaden:		
		Links	Rechts	
		Labioskrotal		
		Inguinal		
		Abdominal		
		Nicht darstellbar		
Phalluslänge (mm):		Uterus: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Unbekannt		
		Nebenhoden: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Unbekannt		
Größe:	Gewicht:	Weitere Fehlbildungen:		
Pubertätsstadien (Tanner):	Bereits durchgeführte Genanalysen:	Laborbefunde	Basal	
Brust (w) ① ② ③ ④ ⑤	Aufälligkeiten:	LH (IU/L) d	Stimuliert	Blutentnahme: Datum/Uhrzeit
Pubes: ① ② ③ ④ ⑤		FSH (IU/L)		
Genital (m) ① ② ③ ④ ⑤		Testosteron (µg/l)		Medikamente:
1. Tag der letzten Regel (w):		Androstendion (µg/l)		
		DHT (µg/l)		

Anforderungen Molekulargenetik *Einwilligungserklärung nach GenDG beifügen!* *Material: >5 ml EDTA-Vollblut o. isolierte DNA

Androgenrezeptor-Gen

SRD5A2-Gen (5α-Reduktase Typ 2 Mangel)

HSD17B3-Gen (17β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 3 Mangel)

SRY-Gen

NR5A1-Gen (Steroidogenic Factor 1)

NGS-Panel Untersuchung (auf wissenschaftlicher Basis)

Der Patient/die Patientin/die Sorgberechtigten haben einer genetischen Untersuchung und der Speicherung der Daten im I-DSD Consortium zugestimmt.

Unterschrift des aufklärenden Arztes

*Download über www.uksh.de/kinderhormonzentrum-luebeck

UK SH, Campus Lübeck, Hormonzentrum für Kinder und Jugendliche; Stand September 2014

Diesen Laboreinsendebogen sowie weitere Informationen zu Laboreinsendungen finden Sie unter www.uksh.de/kinderhormonzentrum-luebeck

IX.3. Die Dateneingabefelder

Hier finden sich Screenshots aus der Microsoft Access Datenbank. So werden die Daten in die Datenbank eingegeben.

Zunächst erfolgte die Eingabe der Stammdaten über diese Seite:

The screenshot shows a Microsoft Access data entry form. At the top, there is a toolbar with icons for opening a search form, displaying all records, editing the current record, and adding a new record. Below the toolbar, the form contains several fields:

- ARD-Nummer: [input field]
- Vorname ist: unbekannt
- LN: 520
- Geburtsdatum: [input field]
- Blutentnahmedatum: [input field]
- ARD-Studie: Nein
- Fragebogen vorhanden: Nein
- ES-Studie: Nein
- B-Nummer: [input field]
- Anmerkung: keine ARD-Nummer

 On the right side, there is a vertical panel titled 'Eingabe bei den gefilterten Personen' containing buttons for 'Fragebogen', 'SSCP', 'Verwandten', 'Lübecker 8 Diagnosen', and 'PIC'. At the bottom, there is a navigation bar with buttons for 'H', 'Datensatz 1', and 'von 2099'.

Im Anschluss können in 4 Schritten die klinischen Daten eingegeben werden:

The screenshot shows a clinical data entry form titled 'Fragebogen LN: 520'. At the top, there is a search bar for 'ARD' and fields for 'Vorname ist: unbekannt' and 'Geburtsdatum:'. Below this, there are four tabs: 'TEIL1', 'TEIL2', 'TEIL3', and 'TEIL4'. The 'TEIL1' tab is active and contains three sections:

- Eltern verwandt:** Radio buttons for 'keine Angabe', 'nein', 'ja', and 'unbekannt'. 'keine Angabe' is selected.
- Familienmitg. betroffen:** Radio buttons for 'keine Angabe', 'nein', 'ja', and 'unbekannt'. 'keine Angabe' is selected.
- Karyotyp:** Radio buttons for 'keine Angabe', '46 XY', '46 XX', and 'anderer Karyotyp:'. 'keine Angabe' is selected.

 Below these sections is a section titled 'Äußeres Genitale' which contains five anatomical diagrams of external genitalia, labeled 1 through 5. Below the diagrams are radio buttons for 'männlich', 'intersex männl.', 'Zwittlig', 'intersex weibl.', 'weiblich', and 'keine Angabe'. 'keine Angabe' is selected.

Fragebogen LN: 520 **ARD**

Vorname ist: Geburtsdatum:

TEIL1 | **TEIL2** | TEIL3 | TEIL4

Hypospadiegrad

keine Angabe keine Gradangabe
 isolierter Mikropenis

glandular
 penil
 penoscrotal
 scrotal
 perineal
 keine Hypospadias

Uterus vorhanden

keine Angabe
 nein
 ja
 unklar

Sonobefund

keine Angabe
 kein Uterus
 Uterus vorhanden
 unklar
 keine Sono

Genitographie

keine Angabe
 kein Uterus
 Uterus vorhanden
 unklar
 keine Genitographie

Hoden vorhanden?

keine Angabe
 nein
 ja
 unklar

Hoden links

kein
 abdominell
 Leistenkanal
 Scrotum/Labien
 nicht palpabel

Hoden rechts

kein
 abdominell
 Leistenkanal
 Scrotum/Labien
 nicht palpabel

Gonadektomie

keine Angabe
 einseitig
 beidseitig
 nur Biopsie
 nein

Gonadenhistologie

keine Angabe
 Hoden
 Ovar
 Ovotestes
 part. Dysgenese
 tot. Dysgenese
 nicht bestimmt

GHF-Biopsie

keine Angabe
 nein
 angefordert
 angelegt
 Kultur mißlungen

Zellkultur

keine Angabe
 nein
 ja, hier
 Schweikert
 andere

Teil 2

Fragebogen LN: 520 **ARD**

Vorname ist: Geburtsdatum:

TEIL1 | TEIL2 | **TEIL3** | TEIL4

SHBG Ergebnis

Tag0: MaxAbfall:
 Tag5: Tag5-%:
 Tag6: Tag6-%:
 Tag7: Tag7-%:
 Tag8: Tag8-%:

LH: Alter:
 FSH: Alter:
 O2: Alter: E2->SI
 T: Alter: T->SI
 DHT: Alter: DHT->SI
 17-OHP: Alter: 17OHP->SI
 DHEA: Alter: DHEA->SI
 DHEAS: Alter: DHEAS->SI
 AMH: Alter:
 InhB: Alter:
 A: Alter:

SI-Einheiten: FSH+LH: IU/L ; DHEAS: µmol/L ; E2: pmol/L
 T+DHT+Progesteron+DHEA+ Androstendion+11-DCC+17-OHP: nmol/L;

Teil 3

Fragebogen LN: 520 **ARD**

Vorname ist: unbekannt Geburtsdatum:

TEIL1 TEIL2 TEIL3 TEIL4

Zweiter HCG-Test? ja nein

Protokoll: Datum:

Teil 4

basal	hCG	stimuliert
T: <input type="text"/>	T: <input type="text"/>	T->SI <input type="text"/>
DHT: <input type="text"/>	DHT: <input type="text"/>	DHT->SI <input type="text"/>
D4Androstendion: <input type="text"/>	D4Androst: <input type="text"/>	D4A->SI <input type="text"/>
Östradiol: <input type="text"/>	Östradiol: <input type="text"/>	E2->SI <input type="text"/>
DHEA: <input type="text"/>	DHEA: <input type="text"/>	DHEA->SI <input type="text"/>
17-OHP: <input type="text"/>	17-OHP: <input type="text"/>	OHP17->SI <input type="text"/>
Progesteron: <input type="text"/>	Progesteron: <input type="text"/>	Prog->SI <input type="text"/>
11DOC: <input type="text"/>	11DOC: <input type="text"/>	11-DOC->SI <input type="text"/>

T:DHT ausrechnen A:T ausrechnen

T:DHT A:T

hMG

Protokoll: Datum:

Östradiol-basal: Östradiol-stim.: E2->SI

Anschließend wird hinterlegt, welche genetischen Untersuchungen erfolgten und ggf. gefundene Mutationen und Proteinveränderungen dokumentiert.

SSCP-Ergebnisse bearbeiten LN: 520 **ARD**

Vorname: unbekannt Geburtsdatum:

SRY	Androgenrezeptor	5alpha-Reduktase II	17B-Hydroxysteroid-Dehydrogenase III	SF1
Status <input checked="" type="radio"/> nicht untersucht <input type="radio"/> in Arbeit	Status <input checked="" type="radio"/> nicht untersucht <input type="radio"/> in Arbeit	Status <input checked="" type="radio"/> nicht untersucht <input type="radio"/> in Arbeit	Status <input checked="" type="radio"/> nicht untersucht <input type="radio"/> in Arbeit	Status <input checked="" type="radio"/> nicht untersucht <input type="radio"/> in Arbeit
Ergebnis <input type="radio"/> Mutation: NEIN <input type="radio"/> Mutation: JA	Ergebnis <input type="radio"/> Mutation: NEIN <input type="radio"/> Mutation: JA	Ergebnis <input type="radio"/> Mutation: NEIN <input type="radio"/> Mutation: JA	Ergebnis <input type="radio"/> Mutation: NEIN <input type="radio"/> Mutation: JA	Ergebnis <input type="radio"/> Mutation: NEIN <input type="radio"/> Mutation: JA
Art der Mutation <input type="radio"/> homozygote M. <input type="radio"/> heterozygote M. <input type="radio"/> hemizygot M. <input type="radio"/> Polymorphismus <input type="radio"/> compound heterozygot	Art der Mutation <input type="radio"/> homozygote M. <input type="radio"/> heterozygote M. <input type="radio"/> hemizygot M. <input type="radio"/> Polymorphismus <input type="radio"/> compound heteroz.	Art der Mutation <input type="radio"/> homozygote M. <input type="radio"/> heterozygote M. <input type="radio"/> hemizygot M. <input type="radio"/> Polymorphismus <input type="radio"/> compound heteroz.	Art der Mutation <input type="radio"/> homozygote M. <input type="radio"/> heterozygote M. <input type="radio"/> hemizygot M. <input type="radio"/> Polymorphismus <input type="radio"/> compound heteroz.	Art der Mutation <input type="radio"/> homozygote M. <input type="radio"/> heterozygote M. <input type="radio"/> hemizygot M. <input type="radio"/> Polymorphismus <input type="radio"/> compound heteroz.

Referenzgen:	Mutation:	Proteinveränderung:	Anmerkung:
1 <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2 <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3 <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4 <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Sequenz.Code: Sequenzierung? ja nein

abgeschlossen J. Köhler

Für den Fall, dass Verwandte ebenfalls in der Datenbank erfasst sind, kann ein Stammbaum angelegt werden.

ARD: keine ARD-Nummer

Vorname ist:

Geburtsdatum:

ARD Nummer des Verwandten eingeben:

Stammbaum

ohne Angabe Ehegatte

Anmerkungen

hat einen Verwandten mit der ARD Nummer _____ der ist _____ Geburtsdatum _____ Anmerkung _____

IX.4. Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Olaf Hiort für die Möglichkeit der Promotion bedanken. Insbesondere herzlichen Dank für die Geduld und die unermüdliche Unterstützung während der gesamten Zeit der Dissertation.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. rer. nat. Ralf Werner und Frau Dagmar Struve für die geduldige und immer freundliche Unterstützung bei der Einarbeitung in die Daten und bei der Datenerfassung.

Vielen Dank an Sim van Zijverden, der sich immer die Zeit genommen hat, mich in technischen Belangen zu unterstützen, sowie an Frau Sabine Brehm, die die verwendete Datenbank initial entworfen hat, für die Möglichkeit der Nutzung.

Zudem möchte ich allen Patienten danken, die Ihre Daten zur Verfügung gestellt und diese Arbeit damit ermöglicht haben.

Danke auch an alle, die diese Arbeit gelesen haben und mir damit eine große Hilfe waren.

Ganz besonderer Dank geht an meine Familie, insbesondere an meine Eltern, die mir das Medizinstudium ermöglicht haben und mich bis heute immer unterstützen.

Von ganzem Herzen danke ich auch meinem Mann Nils, der mir immer zur Seite steht.

IX.5. Lebenslauf

Jacqueline Köhler, geb. JIntema
geboren 1987 in Lüneburg



Hochschulstudium

Oktober 2007	Beginn des Medizinstudiums in Lübeck
März 2010	1. Staatsexamen
Februar 2013	Beginn des praktischen Jahres, Wahlfach Pädiatrie
April 2014	2. Staatsexamen, schriftlicher Teil
Mai 2014	2. Staatsexamen, mündlich - praktischer Teil

Promotion

Oktober 2012- Dezember 2013	Datenerfassung
Mai bis August 2015	Statistische Auswertung
August 2015 bis April 2017	Schreiben der Arbeit

Klinische Ausbildung

Juli 2014 bis Februar 2016	Assistenzärztin in der Abteilung für Allgemeine und Unfallchirurgie, Asklepios Klinik Bad Oldesloe
Seit März 2016	Assistenzärztin in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, UKSH, Campus Lübeck