

Störungen der Geschlechtsdifferenzierung durch Defekte der Steroidbiosynthese

Olaf Hiort

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Universitätsklinikum Lübeck

Zusammenfassung

Die Sexualsteroidbiosynthese setzt eine intakte Entwicklung von Nebennieren und Gonaden voraus. Sowohl Störungen der Entwicklung dieser Organe als auch spezifische Defekte der Enzyme der Steroidbiosynthese können zu einer Beeinträchtigung der normalen Wirkungskaskade führen. Hierbei spielen für das phänotypische Geschlecht vor allem androgene Steroidhormone eine entscheidende Rolle, da diese zu einer Virilisierung des Genitale führen. Somit ist besonders bei einigen Formen des adrenogenitalen Syndroms bei weiblichem Kerngeschlecht eine deutliche Virilisierung bis hin zu einem männlichen Phänotyp durch vermehrte Synthese androgener Steroide möglich. Andererseits führen Beeinträchtigungen der Androgensynthese zu einer mangelhaften oder aber fehlenden Virilisierung bei männlichem Kerngeschlecht, so dass der Phänotyp komplett weiblich sein kann. Hierbei können sowohl isolierte Defekte der testikulären Sexualsteroidbiosynthese vorliegen als auch kombinierte Störungen der adrenalen und gonadalen Steroidsynthese, die in der Regel mit dem klinischen Bild eines adrenogenitalen Syndroms einhergehen. Für die Diagnosestellung ist eine differenzierte Hormonanalyse auch unter Einbeziehung von Stimulations-testungen unabdingbar. Die Grundlagen der enzymatischen Defekte sind aufgeklärt und eine molekulargenetische Charakterisierung der zu Grunde liegenden Gene ist zusätzlich möglich. Allerdings besteht in den meisten Fällen eine hohe phänotypische

Variabilität, die bisher nur unzureichend erklärt werden kann. Die Therapie besteht beim adrenogenitalen Syndrom in einer ordnungsgemäßen Supplementierung von Gluko- und Mineralokortikoiden. Eine Therapie mit androgenen Steroidhormonen bei schweren Virilisierungsstörungen ist bisher nicht etabliert. Genitale Fehlbildungen werden individuell operativ korrigiert.

Schlüsselwörter

Sexualsteroidbiosynthese, Geschlechtsdifferenzierung, Genetik, Intersexualität

Summary

The biosynthesis of sex steroids is dependent on a normal development of both adrenals and gonads. Both disorders of organ development as well as defects of specific enzyme action may hinder normal sexual development of an individual. Androgenic steroids determine development of the sexual phenotype, because they induce virilisation of the external genitalia. Mostly in some forms of congenital adrenal hyperplasia, excess androgen formation will lead to genital ambiguity up to a male phenotype in patients with female karyotype. On the other hand, diminished androgen action can be the cause for defective or absent virilisation in karyotypic males. This may be caused by combined adrenal and gonadal insufficient steroid synthesis with the clinical signs of congenital adrenal

Korrespondenzadresse:

PD Dr. med. Olaf Hiort
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Universitätsklinikum Lübeck
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck
Tel 0451/500-2191
Fax 0451/500-2184
hiort@paedia.ukl.mu-luebeck.de

hyperplasia or due to isolated defects of testicular androgen biosynthesis. For diagnosis, hormone analysis often with prior stimulatory tests has to be performed. The molecular basis for enzyme defects of sex steroid biosynthesis has been elucidated and direct molecular genetic analysis may be feasible in individual cases. However, the phenotype of these disorders is highly variable which cannot be explained in detail nowadays. Therapy includes supplementation of gluco- and mineralocorticoids in cases of congenital adrenal hyperplasia. The therapeutic use of androgenic steroids in cases of a severe virilisation deficit has not been implemented in general. Genital ambiguity is surgically corrected on an individual basis.

Keywords

Sex steroid biosynthesis, genetics, sexual differentiation, genital ambiguity

Abweichungen der normalen Geschlechtsentwicklung mit dem Bild der Intersexualität können durch eine Vielzahl von Störungen bedingt sein. Vor mehr als 40 Jahren wurde gezeigt, dass der Nachweis eines Y-Chromosoms normalerweise mit einer männlichen Entwicklung und dessen Fehlen mit einer weiblichen Entwicklung assoziiert ist. Heutzutage sind verschiedene Gene bekannt, die die Entwicklung der Gonaden und Nebennieren steuern und somit einen direkten Einfluss auf die Geschlechtsentwicklung haben. Defekte in diesen Entwick-

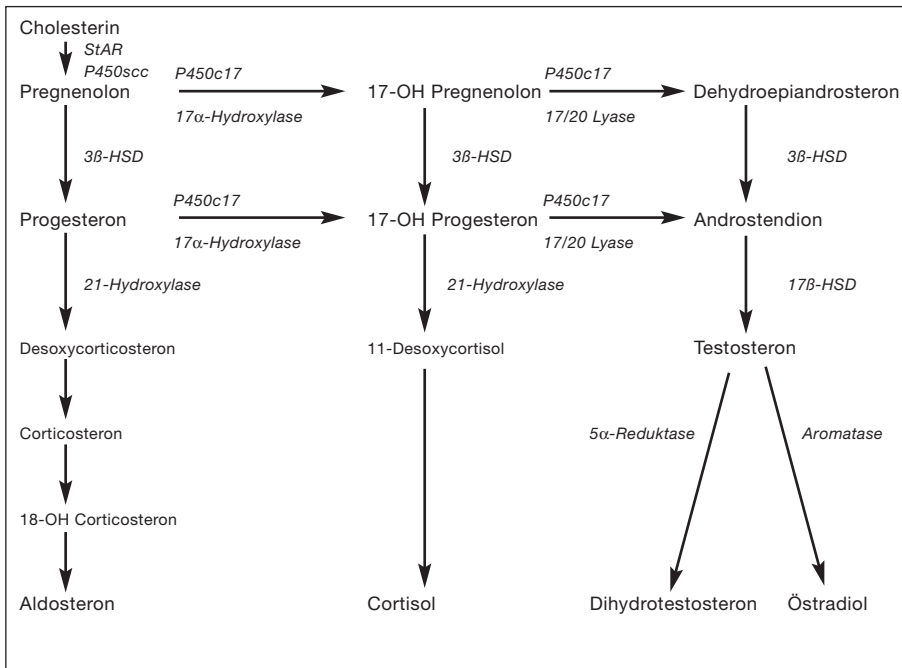


Abb 1
Die für die Geschlechtsentwicklung wichtigen Schritte der Steroidbiosynthese.

lungsgenen können zu einer Gonadendysgenese führen und damit global die Sexualsteroidsynthese beeinträchtigen. Gonadendysgenesen treten häufig zusammen mit anderen Organfehlbildungen, insbesondere des Urogenitalsystems, auf und führen auch zur Beeinträchtigung der Synthese anderer gonadaler Hormone, insbesondere des Anti-Müller Hormons aus den Sertoli-Zellen des Hodens. Deshalb sind bei Kindern mit männlichem Karyotyp und Gonadendysgenese z.T. Müller'sche Strukturen wie Uterus und Eileiter vorhanden. Dies ist bei den spezifischen Störungen der Steroidbiosynthese, auf deren Grundlage und Einfluß auf die Geschlechtsentwicklung im Folgenden eingegangen werden soll, nie der Fall. Bei diesen Störungen ist die Entwicklung des inneren Genitale nicht beeinträchtigt. Die Steroidbiosynthese ist zudem von einer intakten Cholesterinbiosynthese abhängig.

Störungen der Cholesterinsynthese (Smith-Lemli-Opitz Syndrom)

Das Smith-Lemli-Opitz Syndrom (SLOS) ist ein autosomal-rezessiv vererbtes Syndrom, das mit verschiedenen kongenitalen Fehlbildungen und mentaler Retardierung einhergeht. Neben Genitalfehlbildungen sind besonders Polydaktylie, Herzfehler und Wachstumsstörungen zu finden. Zu Grunde liegt ein Defekt in der 7-Dehydrocholesterol-Reduktase, so dass deutlich erhöhte Werte für den Cholesterin-Vorläufer 7-Dehydrocholesterin und erniedrigte Werte für Cholesterin selbst im Serum zu finden sind. Im 7-

Dehydrocholesterol-Reduktase-Gen konnten Mutationen bei Patienten mit biochemisch nachgewiesenem SLOS demonstriert werden. Somit konnte erstmals die wichtige Rolle von Cholesterinmetaboliten in der Embryogenese und auch die Bedeutung einer intakten Cholesterinsynthese für die Steroidbiosynthese aufgezeigt werden.

Störungen der frühen Steroidbiosynthese und adrenogenitales Syndrom

Die ersten Schritte der Steroidbiosynthese sind den Glukocortikoiden, Mineralocortikoiden und Sexualsteroiden gemeinsam. Somit werden Enzymdefekte zu einer Beeinträchtigung aller oder zumindest zweier dieser Steroidklassen führen (Abb.1). Steroidhormone werden aus Cholesterin in den Mitochondrien synthetisiert. Der Transport des Cholesterins von der äußeren über die innere Mitochondrienmembran wird durch das Steroidogenic Acute Regulatory (StAR-) Protein vermittelt. Es ist das einzige bekannte aktive Transportprotein in der Steroidbiosynthese. Mutationen im StAR-Gen führen zu einer deutlichen Verminderung der adrenalen und gonadalen Steroidbiosynthese. Mutationen des StAR-Gens werden ebenso wie alle Defekte der Steroidbiosynthese autosomal-rezessiv vererbt. Betroffene Kinder fallen durch eine schwere Nebenniereninsuffizienz mit Salzverlustkrise im Neugeborenenalter auf. Kinder mit 46,XY Karyotyp haben zudem einen komplett weiblichen Phänotyp oder selten geringe Virilisierungszeichen. Betroffene mit 46,XX Karyotyp sind phänotypisch normal und können sogar eine norma-

le ovarielle Steroidproduktion während der Pubertät aufweisen. Allerdings kommt es in den meisten Fällen auch zu einer fettigen Degeneration der Keimdrüsen, ebenso wie dies bei den Nebennieren der Fall ist und die verbliebene StAR-unabhängige Steroidbiosynthese wird ebenfalls herabgesetzt. Daher wurde das Krankheitsbild initial als Kongenitale adrenale Lipoidhyperplasie von Prader beschrieben.

Der erste enzymatische Schritt der Steroidbiosynthese ist die Umwandlung des Cholesterins in Pregnenolon durch das mitochondriale Cytochrom P450-Enzym, welches die Seitenkette des Cholesterins abspaltet (P450scc). Bisher sind keine Patienten mit Mutationen dieses Enzyms beschrieben worden. Man nimmt an, dass Defekte dieses Enzyms im Gegensatz zum StAR-Defekt auch die plazentare Hormonsynthese beeinträchtigen würden und betroffene Schwangerschaften nicht aufrecht erhalten werden können. Dieses Postulat gilt nicht für die anderen Enzyme der frühen Steroidbiosynthese. Das P450c17 Enzym ist ein qualitativer Regulator mit zwei spezifischen Funktionen. Während die 17α-Hydroxylase Aktivität für die Konversion des Pregnenolons zu 17α-Hydroxypregnenolon und des Progesterons zu 17α-Hydroxyprogesteron verantwortlich ist, ist die 17/20 Lyase Aktivität für die weitere Metabolisierung des 17α-Hydroxypregnenolons zu Dehydroepiandrosteron und des 17α-Hydroxyprogesterons zu Androstendion notwendig (Abb 1). P450c17 wird durch ein einziges Gen auf Chromosom 10q24.3 kodiert und Mutatio-

Tab 1 Enzyme der Steroidbiosynthese, chromosomale Lokalisation, von Genitalfehlbildungen betroffener Karyotyp. Defekte der frühen Steroidbiosynthese gehen mit einem adrenogenitalen Syndrom einher.

Enzyme oder Co-Faktor	Genlocus	Intersexuelles Genitale	Expressionsort
Steroidogenic Acute Regulatory Protein	8p11.2	46,XY	Nebennieren, Gonaden
Cytochrom P450scc	15p23-24	nicht bekannt beim Menschen	Gonaden, Nebennieren, Plazenta
Cytochrom P450c17	10p24	46,XY	Gonaden, Nebennieren
3 β -HSD-2	1p13.1	46,XY; ggfls auch in 46,XX	Gonaden, Nebennieren
17 β -HSD-3	9q22	46,XY	Hoden
5 α -Reduktase-2	2p13	46,XY	Genitalhaut, Prostata
Cytochrom P450 Aromatase	15q21	46,XX	Gonaden, Prostata, Fettgewebe
21-Hydroxylase	6p21.3	46,XX	Nebennieren

nen können entweder beide Funktionen des Komplexes beeinträchtigen oder nur selektiv die 17/20 Lyase Aktivität. Betroffene Kinder haben eine deutliche Beeinträchtigung der Androgenbiosynthese. Daher haben Patienten mit 46,XY Karyotyp einen vornehmlich weiblichen Phänotyp. Alle Betroffenen mit kombinierten P450 c17-Defekt weisen eine Nebenniereninsuffizienz auf, hingegen liegt beim isolierten 17/20 Lyase Defekt eine unbeeinträchtigte Nebennierenfunktion, eventuell sogar ein Hyperaldosteronismus mit arteriellem Hypertonus vor.

Das dritte wichtige Enzym der kombinierten Steroidbiosynthese, dessen Beeinträchtigung mit einer Form des adrenogenitalen Syndroms einhergeht und die Androgenbiosynthese herabsetzt, ist die 3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (3 β -HSD). Sie katalysiert die Bildung der D4-Steroide, darunter auch von Androstendion, das das wichtigste Substrat der Testosteronsynthese ist. Zwei Isoformen des Enzyms wurden isoliert, ihre Aminosäuresequenz stimmt zu etwa 90 % überein. Die 3 β -HSD II hat zwar eine niedrigere katalytische Aktivität, aber dieses Isoenzym wird in Nebennieren und Gonaden exprimiert und Mutationen im zu Grunde liegenden Gen auf Chromosom 1p13.1 wurden bei Patienten mit dem Bild eines 3 β -HSD-Mangels nachgewiesen. Betroffene Kinder mit männlichem Karyotyp weisen neben einer Nebennierenrindeninsuffizienz häufig Hypospadien als Ausdruck einer schweren Virilisierungsstörung auf. Hingegen haben betroffene Kinder mit 46,XX Karyotyp sogar einen Androgenexzess durch vermehrte Formation adrenaler Androgene, deshalb kann eine Virilisierung des weiblichen Genitale vorliegen.

Die klassische Form des adrenogenitalen Syndroms und die häufigste Ursache genitaler Fehlbildungen beim Mädchen ist der 21-Hydroxylase-Mangel, bei dem die Umwandlung von 17 α -Hydroxyprogesteron (17 α -OHP) zu 11-Deoxycortisol in der Glukocorti-

koidsynthese und teilweise auch die von Progesteron zu Deoxycorticosteron in der Mineralocortikoidsynthese beeinträchtigt ist. Patienten mit 46,XX Karyotyp und schwerem 21-Hydroxylasemangel werden pränatal hohen Spiegeln adrenaler Androgene ausgesetzt und haben daher eine z.T. deutliche Virilisierung des äußeren Genitale bei Geburt. Bei Kindern mit 46,XY Karyotyp ist das Genitale unauffällig. Die Kinder mit schwerem 21-Hydroxylase-Mangel, bei denen auch die Mineralocortikoidsynthese beeinträchtigt ist, fallen im Neugeborenenalter durch Salzverlustkrisen und mangelhaftes Gedeihen auf. Mittlerweile ist jedoch bekannt, dass der 21-Hydroxylase-Mangel ein breites phänotypisches Spektrum aufweisen kann. Das klinische Bild kann bei nicht-klassischem adrenogenitalem Syndrom bis hin zu einer alleinigen schweren Akne, einem Hirsutismus oder Oligomenorrhoe bei betroffenen Frauen reichen. Die 21-Hydroxylase ist ebenfalls ein mikrosomales Cytochrom P450 Enzym. Das kodierende Gen CYP21 und ein Pseudogen wurden in der HLA-Region auf Chromosom 6p21.3 lokalisiert. Eine direkte molekulargenetische Untersuchung ist beim 21-Hydroxylase-Mangel, ebenso wie bei den anderen Defekten der Steroidbiosynthese möglich und wird von verschiedenen Laboren durchgeführt. Sowohl Deletionen, Inversionen, als auch Punktmutationen wurden beschrieben und eine Genotyp-Phänotyp Korrelation ist eingeschränkt möglich.

Die Diagnose eines adrenogenitalen Syndroms erfolgt durch die Bestimmung der jeweils vor und nach dem Defekt lokalisierten Steroidmetabolite. Je nach Art des Defektes sollte eine Stimulation entweder mit ACTH und/oder mit humanem Choriongonadotropin (hCG) erfolgen. Die molekulargenetische Untersuchung gilt in den meisten Fällen der Bestätigung der endokrinologischen Diagnose. Nur für den 21-Hydroxylase-Mangel als Ursache des adrenogenitalen Syndroms werden pränatale Therapieansätze in

Verbindung mit molekulargenetischen Untersuchungen in betroffenen weiblichen Embryos studiert.

Isolierte Störungen der Androgenbiosynthese

Diese Störungen beeinträchtigen nicht die Glukocortikoid- oder Mineralocortikoidsynthese, sondern führen nur zu einer isolierten Verminderung der Androgensynthese.

Heutzutage sind 7 Isoenzyme der 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (17 β -HSD) bekannt, die in unterschiedlichen Geweben verschiedene Schritte der späten Sexualhormonsynthese katalysieren. In den Hoden konvertiert die 17 β -HSD-3 Androstendion zu Testosteron. Mutationen im kodierenden Gen auf Chromosom 9p22 dieses Enzyms sind mit schweren Virilisierungsstörungen bei chromosomal männlichen Patienten assoziiert. Die Kinder werden meist mit einem fast weiblichen Phänotyp geboren. Erst während der Pubertät kommt es zu einer deutlichen irreversiblen Virilisierung der Patienten. Es ist zu vermuten, dass zu diesem Zeitpunkt andere, extragonadale Isoenzyme der 17 β -HSD eine periphere Konversion von Androstendion zu Testosteron katalysieren. Entscheidende Rolle in der Diagnose dieses Defektes ist die Bestimmung von Androstendion und Testosteron nach Stimulation mit hCG. Ist der Quotient A/T deutlich > 1, so ist ein 17 β -HSD-Defekt zu vermuten und eine direkte molekulargenetische Analyse kann die Diagnose bestätigen.

Im Gegensatz zum 17 β -HSD Defekt erfolgt die weitere Konversion von Testosteron zu Dihydrotestosteron (DHT) im peripheren Zielgewebe der Androgene und nicht in den Gonaden. Die zwei Isoenzyme der 5 α -Reduktase werden in verschiedenen Geweben exprimiert, jedoch sind bisher nur Mutationen in der 5 α -Reduktase Typ 2 bei Patienten mit schwerer Virilisierungsstörung und männlichem Kerngeschlecht nachgewiesen worden. Das kodierende Gen wurde auf Chromo-

som 2p23 lokalisiert. Beim 5α -Reduktase-Defekt ist die DHT-Bildung erheblich eingeschränkt, während die Testosteron-Werte im Serum normal oder sogar erhöht sind. Deshalb ist der Testosteron/DHT Quotient vor allem nach hCG-Stimulation im Kindesalter für die Diagnose richtungsweisend. Da die Quotienten aber stark schwanken können und die DHT-Messung schwierig ist, wird heute vielfach direkt eine molekulargenetische Untersuchung des SRD5A2-Gens durchgeführt. Verschiedene Punktmutationen und auch kleinere und größere Gendelationen konnten als ursächlich für den 5α -Reduktase-Defekt nachgewiesen werden. Auch beim 5α -Reduktase-Defekt wird in der Pubertät eine starke, irreversible Virilisierung betroffener genetisch männlicher Patienten beobachtet. Bei Geburt hingegen ist der Phänotyp, je nach Art und Ort der Mutation im SRD5A2-Gen und der damit verbundenen Beeinträchtigung der enzymatischen Aktivität der 5α -Reduktase Typ 2, sehr variabel und kann von männlich mit isoliertem Mikropenis bis hin zu einem fast weiblichen Phänotyp mit nur geringen Virilisierungszeichen reichen.

Beeinträchtigungen der Androgensynthese durch Mutationen im LH-Rezeptor

Die testikuläre Testosteronsynthese wird während der Embryonalzeit durch das plazentare hCG und erst während der Fetalzeit durch hypophysäres LH des Feten kontrolliert. Sowohl hCG als auch LH stimulieren die Testosteronsynthese über den LH-Rezeptor. Der LH-Rezeptor gehört zur Familie der siebenfach membrangängigen G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Eine extrazelluläre Domäne ist für die Ligandenbindung verantwortlich. Das korrespondierende Gen wurde auf Chromosom 2p21 lokalisiert. Verschiedene Mutationen wurden beschrieben, dabei sind sowohl Mutationen mit Funktionsverlust des Rezeptors, als auch Mutationen mit einer Liganden-unabhängigen Funktionssteigerung des Rezeptors beschrieben worden. Während erstere meist mit einer schweren Virilisierungsstörung bei männlichem Kerngeschlecht bedingt durch eine Leydigzell-Hypoplasie einhergehen, sind die funktionssteigernden Mutationen mit

einer Pseudopubertas präcox assoziiert, die auch als Testotoxikose bezeichnet wird. Hierbei liegt dann eine Leydigzell-Hyperplasie der Hoden vor. Zur Diagnose eines LH-Rezeptor Defektes mit Beeinträchtigung der Testosteronsynthese sollte ebenfalls ein hCG-Test durchgeführt werden. Es kommt zu einem mangelhaften oder fehlerhaften Anstieg von Testosteron und auch seinen Vorstufen, insbesondere Androstendion, im Gegensatz zum 17β -HSD Defekt. Eine Abgrenzung zu den frühen Steroidbiosynthesedefekten kann durch eine Überprüfung der Nebennierenrindenfunktion erfolgen.

Aromatase-Mangel als Ursache der weiblichen Hyperandrogenisierung

Östradiol entsteht durch Aromatisierung aus Testosteron. Der Aromatase-Komplex gehört ebenfalls zu den Cytochrom P450 Enzymen und wird nicht nur in den Gonaden sondern auch in einer Vielzahl von anderen Geweben exprimiert. Bis heute ist nur ein Gen bekannt, das auf Chromosom 15q21 lokalisiert ist. Der Aromatase-Mangel als Ursache einer Virilisierung weiblicher Neugeborener ist extrem selten und nur wenige Fälle wurden berichtet. Auch die Mutter kann während der Schwangerschaft mit dem betroffenen Kind stark maskulinisieren. Die biochemischen Befunde sind richtungsweisend, wenn niedrige oder nicht nachweisbare Werte für Östron und Östradiol sowie erhöhte Werte für Testosteron und Androstendion im Serum des betroffenen Kindes vorliegen. Bei Männern führt der Aromatase-Defekt nicht zu einer genitalen Fehlbildung, sondern durch den Östrogenmangel zu einem fehlenden Verschluss der Epiphysenfugen und damit zu einer deutlichen Verzögerung der Skelettreife.

Schlussfolgerung

Bei einer genitalen Fehlbildung muss immer an einen Steroidbiosynthesedefekt gedacht werden. Sie sind abzugrenzen von den Sexualdeterminierungsstörungen, bei denen eine globale Beeinträchtigung der gonadalen Funktion besteht. Außer beim Smith-Lemli-Opitz Syndrom sind keine direkt assoziierten anderen Fehlbildungen zu

erwarten. Die Diagnose sollte nach Bestimmung des chromosomalen Geschlechts durch eine verlässliche und umfassende Bestimmung adrenaler und gonadaler Steroidhormone in einem spezialisierten Labor eingegrenzt werden. Oftmals sind im Kindesalter zur genauen Evaluation Stimulations-tests mit hypophysären Hormonen notwendig. Da die Variabilität der genitalen Fehlbildung groß ist und oftmals die Abgrenzung normaler von pathologischen Quotienten des veränderten Steroidprofils schwierig ist, kann eine direkte molekulargenetische Untersuchung angezeigt sein. Für alle beschriebenen Enzym-, Transporter- und Rezeptordefekte ist heute eine solche Untersuchung möglich.

Literatur

1. Hiort O, Holterhus PM (2000) The molecular basis of male sexual differentiation. *Eur J Endocrinol* 142: 101-110
2. White PC, Speiser PW (2000) Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 21: 245-291
3. Misrahi M, Beau I, Meduri G, Bouvattier C, Atger M, Loosfelt H, Ghinea N, Hai MV, Bougnères PF, Milgrom E (1998) Gonadotropin receptors and the control of gonadal steroidogenesis: Physiology and pathology. *Baill Clin Endocrinol Metab* 12: 35-66
4. Twستن W, Holterhus PM, Sippell WG, Morlot M, Schumacher H, Schenk B, Hiort O (2000): Clinical, endocrine, and molecular genetic findings in patients with 17β -hydroxy-steroiddehydrogenase deficiency. *Horm Res* 53: 26-31
5. Bose HS, Sugarawa T, Strauss JF III, Miller WL (1996) The pathophysiology and genetics of congenital lipoid adrenal hyperplasia. *N Engl J Med* 335: 1870-1878
6. Hiort O, Willenbring H, Albers N, Hecker W, Engert J, Dibbelt L, Sinnecker GHG (1996) Molecular genetic analysis and hCG stimulation tests in the diagnosis of prepubertal patients with partial 5α -reductase deficiency. *Eur J Pediatr* 155: 445-451
7. Yanase T, Simpson ER, Waterman MR (1991) 17α -hydroxylase/ $17,20$ -lyase deficiency: from clinical investigation to molecular definition. *Endocr Rev* 12: 91-108
8. Mullis PE, Yoshimura N, Kuhlmann B, Lippuner K, Jaeger P, Harada H (1997) Aromatase deficiency in a female who is compound heterozygote for two new point mutations in the P450arom gene: impact of estrogens on hypergonadotropic hypogonadism, multicystic ovaries, and bone densitometry in childhood. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 1739-1745
9. Kelley RI, Hennekam RCM (2000) The Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Med Genet* 37: 321-335.