

Aus der Arbeitsgruppe für Pädiatrische Endokrinologie

(Leiter Prof. Dr. med. R.P. Willig)

der Universitäts-Kinderklinik Eppendorf

(Direktor Prof. Dr. med. K. Ullrich)

Pubertätsgynäkomastie

Östrogen- und Progesteronrezeptorbestimmung bei
Pubertätsgynäkomastie- und Vergleichsgewebe:
Pathophysiologische Bedeutung, SHBG, Histologie

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Kersten Magdalena Mausch

geborene Gallowsky

aus Oldenburg in Holstein

Hamburg 1999

Angenommen von dem Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am : 25.08.1999

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Sprecher: Prof. Dr. H.-P. Leichtweiß

Referent: Prof. Dr. R.-P. Willig

Korreferent: Prof. Dr. K. Ullrich

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|---|-----------|
| 1 EINLEITUNG | 1 |
| 2 PATIENTEN, ANTIKÖRPER, METHODIK UND MATERIALIEN | 4 |
| 2.1 PATIENTEN | 4 |
| 2.1.1 Brustdrüsengewebe von Gynäkomastien in 36 Fällen | 4 |
| 2.1.2 Brustdrüsengewebe der Vergleichsgruppe | 6 |
| 2.2 ANTIKÖRPER | 7 |
| 2.2.1 Östrogen - Rezeptor - AK (ER - AK) | 7 |
| 2.2.2 Progesteron - Rezeptor - AK (PR - AK) | 7 |
| 2.3 METHODIK UND MATERIALIEN | 8 |
| 2.3.1 Immunhistologie | 8 |
| 2.3.2 Gewebematerial | 10 |
| 2.3.3 Immunchemische Vorgehensweise | 10 |
| 2.3.4 Reagenziennachweis und Rezepte | 13 |
| 2.3.5 Auswertung | 16 |
| 3 ERGEBNISSE | 17 |
| 3.1 EPIDEMIOLOGISCHE DATEN | 17 |
| 3.2 IMMUNHISTOCHEMIE | 17 |
| 3.2.1 Östrogen - und Progesteronrezeptorverteilung im Pubertätsgynäkomastiegewebe | 17 |
| 3.2.2 Östrogen - und Progesteronrezeptorverteilung an physiologischen Brustdrüsengeweben verschiedener Altersstufen beiderlei Geschlechtes | 26 |
| 3.3 HISTOLOGIE | 32 |
| 4 DISKUSSION | 35 |
| 5 ZUSAMMENFASSUNG | 65 |
| 6 LITERATURVERZEICHNIS | 67 |
| 7 DANKSAGUNG | 78 |
| 8 LEBENSLAUF | 79 |

1 EINLEITUNG

Das Wort **Gynäkomastie** ist aus dem Griechischen abgeleitet von „gyne „ = Frau und „ mastos „ = Mamma, Brustdrüse. Wird der reine Wortsinn betrachtet ist die Bezeichnung nicht zutreffend. Denn mit der Gynäkomastie ist das Auftreten oder Vorhandensein von Brustdrüsenvergrößerung bei Individuen **männlichen** Geschlechtes gemeint.

Die **Pubertätsgynäkomastie** bezeichnet das Wachstum der Brustdrüsenanlagen bei Jungen während der Pubertät. Einem häufig einseitigem Beginn des Brustdrüsenwachstums folgt in der Regel über den weiteren Verlauf auch das Wachstum der zweiten Brust. Phänotypisch imponiert das Erscheinungsbild wie eine weibliche Brustentwicklung.

Schon aus der Antike gibt es überlieferte Beweise für diese Art der Brustentwicklung an männlichen Individuen.



Photo 1: Tutanchamun, Titel: „Der König auf dem Panther“, Kairo, Ägyptisches Museum

Während die Darstellung des Tutanchamuns auf dem Photo eine glorifizierende Schönheit darstellt, bedeutet die Pubertätsgynäkomastie für die meisten Jugendlichen heutzutage eine erhebliche psychische Belastung.

Die Pubertätsgynäkomastie kann vorübergehend auftreten. Nicht selten kann sich die Gynäkomastie auch manifestieren und den Leidensdruck dadurch erheblich verstärken.

Bisher gibt es keine sichere konservative Therapie. Somit stellt die persistierende und/oder schmerzhaftige Pubertätsgynäkomastie häufig eine Operationsindikation dar.

Diese Dissertation soll zur Aufklärung der Ursachen der Pubertätsgynäkomastie beitragen. Wünschenswert sind neue Erkenntnisse über die Pathophysiologie der Brustentwicklung bei pubertierenden Knaben.

Es gibt umfangreiche Untersuchungen, die sich mit den Hormonparametern im Serum bei Gynäkomastie und auch bei Pubertätsgynäkomastie beschäftigt haben.

Zur weiteren Aufklärung der Gynäkomastie sind biochemische und immunhistochemische Nachweisverfahren für die Östrogen - und Progesteronrezeptoren durchgeführt worden.

Die Ergebnisse aus diesen Studien und deren Interpretation unter Berücksichtigung der Vor- und Nachteile der verwendeten Methoden werden im Rahmen dieser Dissertation diskutiert.

In den bisherigen Veröffentlichungen fand sich keine Studie, die sich mit dem immunhistochemischen Rezeptorstatus speziell an **Pubertätsgynäkomastiegeweben** von männlichen Jugendlichen und Adoleszenten beschäftigt.

Bisher wurde in keiner Studie zu einer gesunden Kontrollgruppe Bezug genommen.

Dies ist in der vorgelegten Studie geschehen.

Untersucht wurden 33 Fälle von **idiopathischer Pubertätsgynäkomastie**. An den Geweben dieser Patienten wurde eine immunhistochemische Bestimmung der Östrogen - und der Progesteronrezeptoren vorgenommen.

Im Vergleich dazu wurde Brustgewebe von gesunden Probanden unterschiedlicher Altersstufen und unterschiedlichen Geschlechtes auf Rezeptoren untersucht.

Zusätzlich wurden weitere 2 Jugendliche und ein Kind in die Studie mit aufgenommen, bei denen eine nachgewiesene Grunderkrankung zur Entwicklung der Brustdrüsenanlage geführt hat. Es handelt sich hierbei um eine Gynäkomastie bei Adipositas, bei Hermaphroditismus verus mit Ovotestis und bei einem Aromatase- bildenden Hodentumor.

2 PATIENTEN, ANTIKÖRPER, METHODIK UND MATERIALIEN

2.1 PATIENTEN

2.1.1 Brustdrüsengewebe von Gynäkomastien in 36 Fällen

Das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Material wurde von zwei Instituten für Pathologie zur Verfügung gestellt.

Aus dem Institut für Pathologie der Universität Hamburg standen aus den Jahren 1985 bis 1995 17 Fälle zur Verfügung .

Aus dem Pathologischen Institut des Marienkrankenhauses wurden 19 Fälle aus dem Zeitraum 1991 bis 1995 überliefert.

Die 36 Fälle beinhalten Brustdrüsenmaterialien von männlichen Patienten im Alter von 12 - 22 Jahren , bis auf einen Fall von nur 5 Jahren.

Alle Patienten haben sich einer Mastektomie - Operation unterzogen.

Zusätzliche Grunderkrankungen, Drogen - oder langfristige Medikamenteneinnahme oder maligne Geschehen konnten in diesen Fällen ausgeschlossen werden.

Folgende Versuchsreihen wurden dazu durchgeführt:

- 1** Erlernen und Optimierung einer Methodik zum immunhistochemischen Nachweis von Steroidrezeptoren mit monoclonalen Antikörper an Paraffingeweben

- 2** Östradiol - und Progesteronrezeptorbestimmungen an den Geweben von
 - 33 Pubertätsgynäkomastiefällen
 - 1 Adipositasgynäkomastiefall
 - 1 Fall von Gynäkomastie bei vorhandenem Aromatase - bildendem Hodentumor
 - 1 Fall von Hermaphroditismus verus mit Ovotestis

- 3** Östradiol - und Progesteronrezeptorbestimmungen zum Vergleich an physiologischen Brustdrüsengeweben verschiedener Altersstufen beiderlei Geschlechtes (Kontrollfälle).

4 histologische Beurteilung und Vergleich der Gewebe von Pubertätsgynäkomastien mit physiologischen männlichen Brustdrüsengeweben.

Die pathologische Beurteilung lautete in allen 36 Fällen : Gynäkomastie ohne Malignitätsgrad.

In einem Fall lag eine sogenannte Pseudogynäkomastie bei Adipositas vor. Der charakteristische histologische Aspekt einer Gynäkomastie fehlte hier, es lag vielmehr hyperplastisches Fettgewebe vor.

In einem Fall lautete die Vorabdiagnose Hermaphroditismus verus mit Ovotestis und die histologische Begutachtung ergab eine dazu passende Gynäkomastie.

Bei einem weiteren Fall der Gynäkomastien handelte es sich um einen 5-jährigen Jungen mit einem histologisch nachgewiesenen Hodentumor, der nachweislich Aromatase- bildend war.

Tabelle 1 : Altersverteilung des männlichen Brustdrüsengewebes

| Alter | Fallzahl |
|----------------|----------|
| 5 Jahre | 1 |
| 12 - 13 Jahre | 2 |
| 14 - 17 Jahre | 24 |
| 18 - 19 Jahre | 5 |
| 20 - 22 Jahre | 4 |
| Fälle gesamt : | 36 |

2.1.2 Brustdrüsengewebe der Vergleichsgruppe

Vom Institut der Rechtsmedizin der Universität Hamburg ist Vergleichsgewebe in 31 Fällen zur Verfügung gestellt worden.

Diese Vergleichsgruppe beinhaltet physiologisches Brustgewebe beiderlei Geschlechts in unterschiedlichen Altersgruppen (siehe Tabelle 2).

Um aussagekräftige und umfassendere Aussagen zu erzielen, sind alle Altersgruppen bis zum 40 - igsten Lebensjahr in der Vergleichsgruppe berücksichtigt worden.

Tabelle 2 : Altersverteilung und Fallzahl der Vergleichsgruppe

| Altersgruppen | männlich | weiblich |
|----------------------------------|----------|----------|
| infantile bis 2 Jahre | 4 | 3 |
| praepubertäre > 2 - 9 Jahre | 2 | 2 |
| pubertäre 10 - 18 Jahre | 1 | 3 |
| postpubertäre > 18 - 40 Jahre | 5 | 7 |
| Fälle gesamt : | 12 | 15 |

2.2 ANTIKÖRPER

Es wurden monoklonale Antikörper gegen das Rezeptorprotein des Hormons eingesetzt. Monoklonale Antikörper bieten den Vorteil, daß sie hochspezifisch auf nur ein Epitop des Immunogens ansprechen.

Tabelle 3: Monoklonale Antikörper, Hersteller und Verdünnung

| Antikörper | Bezugsquelle | Verdünnung | Herkunftsspezies |
|---------------------------|--------------|--------------------------------|---------------------|
| Estrogen Rezeptor - AK | Dako | 1: 50 + 1: 100 | Anti - Maus - Serum |
| Progesteron Rezeptor - AK | Immunotech | vorverdünnt 6 x vom Hersteller | Anti - Maus - Serum |

2.2.1 Östrogen - Rezeptor - AK (ER - AK)

Die Herstellung monoklonaler AK gegen das Östrogenrezeptorprotein (GREENE et al. 1980) ermöglichte die Entwicklung von ER - Tests, die nicht auf der Steroid - Bindungsaktivität, sondern auf der direkten Antigenerkennung beruhen. (JENSEN et al. 1982) Untersuchungen anhand der Steroidrezeptor - Bindungsmethode hatten nur einen geringen oder gar keinen Nachweis von Östrogen und Progesteronrezeptor an Gynäkomastiegewebe ergeben. (SKOVGAARD POULSEN et al. 1985, KOK-ONN LEE et al. 1989) Der in dieser Arbeit eingesetzte Antikörper ist kloniert aus einem B-Zell - Klon einer Maus und reagiert hochspezifisch mit der N - terminalen Domäne des Östrogenrezeptors (KUMAR et al 1987) .

2.2.2 Progesteron - Rezeptor - AK (PR - AK)

Dieser Antikörper reagiert mit der C- terminalen Domäne des Progesteron - Rezeptors . Die Antikörperlösung ist vorverdünnt in TRIS - Puffer und vom Hersteller gebrauchsfertig geliefert. Eine Weiterverdünnung um mind. 1:5 ist für Gefrier - und Paraffinschnitte möglich. In dieser Arbeit ist keine Verdünnung des Progesteronrezeptor - Antikörpers vorgenommen worden.

2.3 METHODIK UND MATERIALIEN

2.3.1 Immunhistologie

Immunhistologische Verfahren basieren auf dem Prinzip des Nachweises von Stoffen mittels Antikörpern (Gewebsantigen / Antikörperkomplexe) und deren Sichtbarmachung durch Farbstoffe (Fluorchrome) und Enzyme (Peroxidase , Phosphatase) .

In diesem angewendeten Verfahren geht es speziell um den Nachweis von Progesteron (PR)- und Östrogenrezeptoren (ER). Dies sind intrazelluläre Proteine, die Östrogene, bzw. Progesteron mit hoher Affinität und Spezifität binden.

1960 wurden von Jensen und Jacobson erstmals ER im Östrogen - Zielgewebe nachgewiesen. Seitdem gilt das Vorhandensein von ER allgemein als unabdingbare Voraussetzung für östrogenvermittelte zelluläre Wirkung . (JENSEN , GREENE 1982)

Der klinischen ER - Bestimmung ist große Bedeutung hinsichtlich der Therapiemöglichkeit bei Mammacarcinom - Patientinnen zuteil geworden. (McGUIRE W L , CARBONE P P 1975 , KNIGHT W A , LIVINGSTON R B 1977 , FISHER B , REDMOND C 1983)

Monoklonale Antikörper sind Glykoproteine von Immunglobulinstruktur der Klasse IgG , die von einem Klon Plasmazellen produziert werden (OSBORN 1984) . Sie sind homogen und monospezifisch und somit gegen eine spezifische Determinante des Antigens gerichtet. Diese Spezifität ist einerseits die hervorragende Eigenschaft der monoklonalen Antikörper, andererseits werden hierdurch unerwünschte Kreuzreaktionen begünstigt , da bereits ein einziges auf mehreren Antigenen vorkommendes Epitop zu falsch - positiven Ergebnissen führen kann . Ferner kann sich die immunhistologische Reaktion als negativ erweisen , weil das einzelne Epitop denaturiert wurde. Somit können sich ganze Strukturen dem immunhistologischen Nachweis entziehen.

2.3.1.1 Kontrollen

Um das Nachweisverfahren auf Fehlerhaftigkeit zu kontrollieren, sind in jeder Versuchsreihe Positiv - Kontrollen aus sicher positiven Mamma - CA - Gewebe angefertigt worden. Die Negativkontrollen sind mit Chromogranin der Maus durchgeführt worden.

Die Reproduzierbarkeit innerhalb der Methode wurde durch folgende Testreihennachgewiesen :

- 1) innerhalb einer Inkubation 2 gleiche Gewebsschnitte bearbeiten
- 2) gleiche Inkubation mit 2 gleichen Schnitten an 2 verschiedenen Tagen bearbeiten
- 3) innerhalb einer Inkubation 2 gleiche Schnitte von 2 verschiedenen Gewebsentnahmestellen eines Probanden inkubieren.

Die Versuchsschritte 1) - 3) sind jeweils an einer mittelgradig und stark positiv ausgefallenen Versuchsreihe nachzuvollziehen .

2.3.1.2 Individuelle Spezifizierung

Die hier vorgestellten Versuche an formalinfixierten, paraffinierten Gewebeschnitte wurden grundsätzlich nach konventionellen Vorschriften durchgeführt, wie sie im Standardprotokoll für die Immunhistochemie zu finden sind.

Wichtige Neuerungen zur Spezifizierung des Vorganges wurden jedoch aufgrund gewonnener Erkenntnisse vorangegangener Versuchsreihen eingeführt..

Dies betraf hauptsächlich das Ersetzen von Tris - Puffer durch DAKO - Puffer, welcher die Hintergrundfärbung herausfilterte und noch exaktere Färbesignale der Zellkerne setzte.

Das Inkubieren der Gewebeschnitte mit dem primären Antikörper über Nacht bei 4 Grad Celsius wurde von einer 30 Minuten dauernden Inkubation bei Umgebungstemperatur abgelöst.

Dies machte eine vollständige Versuchsreihe von der Entparaffinierung bis hin zur Eindeckung der komplett überschichteten Objektträger an nur einem Tag möglich und ergab hinzu die genauesten Kernanfärbungen.

2.3.2 Gewebematerial

Das Gewebematerial wurde nach der Formalinfixierung in Paraffin eingelegt (Beschreibung unter Kapitel 2.3.4)

Es lagen bezüglich der Gynäkomastiefälle schon archivierte Paraffinblöcke in den Instituten der Pathologie der Universität Hamburg Eppendorf und des Marienkrankenhauses vor .

Es wurden 4,5 µm dicke Schnitte angefertigt. Diese wurden dann in einem 35 - 40 Grad Celsius erhitztem Wasserbad (das 10 g/L Leim enthielt) aufgeschwemmt und im folgenden auf Objektträger aufgezogen und über Nacht bei 37 Grad Celsius im Wärmeofen luftgetrocknet.

Zur histologischen Übersicht wurde jeweils ein Schnitt mit Hämatoxylin - Eosin angefärbt. Dies wurde entsprechend den üblichen in histochemischen Laboratorien bestehenden Richtlinien im Routineverfahren durchgeführt.

2.3.3 Immunchemische Vorgehensweise

1. Zuerst erfolgt die **Entparaffinierung** in absteigender Alkoholreihe bis zum Aqua dest. nach bewährter Methodik : in 2 aufeinanderfolgende Xylolbäder für jeweils 5 Minuten. unmittelbar anschließend Spülen der Schnitte anhand 3-maligem Schwenken in 100 % Methanol , 96 % Methanol und in 80 % Methanol .
2. **Rehydrierung** durch 2- malige Spülung der Objektträger in Aqua dest. in 2 aufeinanderfolgenden Bädern.
3. Nach vorangegangenem 1 - maligem Spülen mit DAKO - Puffer werden die Gewebsschnitte in der **Mikrowelle** bei 750 Watt für 30 Min. in Citratpuffer ph 6 gekocht.

Dieser Vorgang gewährleistet das Auflösen von vernetzenden inter - und intrazellulären Gitterstrukturen , die während der Formalinfixierung entstanden sind.

Eine eventuelle Maskierung des Antigenepitops wird damit aufgehoben und eine verbesserte Bindung des primären Antikörpers erreicht .

Während dieser Phase wurde darauf geachtet, dass genügend Pufferlösung die Schnitte bedeckte.

Jedes Aufgießen von frischer Pufferlösung sollte von mehrmaligem Umrühren an einer Seite des Gefäßes begleitet sein. Es verhindert zuviel Blasenbildung während des Kochens und somit ein Ablösen der Gewebsschnitte vom Objektträger .

Nach Beendigung des Kochvorganges folgt ein 20 - minütiges **Abkühlen** bei normaler Umgebungstemperatur in dem Citratpuffer.

4. 2- maliges **Spülen** in DAKO - Puffer. Nach dem letzten Durchgang wird die überschüssige Lösung um die Schnitte herum abgezogen und in eine Feuchtkammer überführt. (CAVE : Schnitte dürfen niemals zwischen einzelnen Versuchsschritten trocken fallen)
5. Umgehend **Vorinkubation** der Schnitte für 20 Min. mit **Normalserum der Ziege** (im Fall der auf Östrogenrec. zu überschichteten Objektträgern) , bzw. mit **Schweineserum** (im Fall der auf Progesteronrez.. zu überschichteten Objektträgern) in 1 : 50 Verhältnis in PBS. Dieser Schritt erfolgt zur Blockierung unspezifischer Bindungen.
6. Überschüssige Lösung um die Schnitte herum abziehen und anschließende **Inkubation mit dem primären Antikörper** in 1 : 50 - Verdünnung für den ER - Antikörper in BSA 1 % und der vorgegebenen Konzentration für den PR - Antikörper für 60 Min. bei Raumtemperatur.
7. Die Schnitte werden einzeln 3- malig mit **DAKO - Puffer gespült**. Der Vorgang des Spülens wird mit einer Spritzpistole, die auf eine genaue Spritzmenge eingestellt werden kann, durchgeführt.
8. Es folgt das Überschichten mit dem **Brückenantikörper** a-mouse IgG Z 259 im Verhältnis 1: 100 in PBS bei 37 Grad Celsius im Wärmeofen für 20 Minuten.

9. Die Schnitte werden einzeln 3 - malig mit **DAKO - Puffer** gespült.
10. Aufbringen des **APAAP - Komplexes** mouse D 651 1:50 in PBS für 20 Min. bei 37 Grad Celsius im Wärmeofen für 20 Minuten.
11. **Schritt 7 bis Schritt 10 wird 2x wiederholt** wobei jedoch die Schnitte jeweils nur 10 Min. bei 37 Grad Celsius inkubiert werden.
12. Die Schnitte werden jetzt 3 x in Aqua dest gespült.
13. Es folgt die **Entwicklung in der Substratreaktion** (mittels Neufuchsin - Lsg. siehe Kapitel 2.3.4) in den folgenden 35 Minuten unter ständig leichter Bewegung in lichtgeschützter Umgebung.
14. Daran schließt sich ein **Spülvorgang mit Leitungswasser** an, gefolgt von 2 - maligem **Spülen mit Aqua dest.** und einem 15 Minuten dauernden **Bad in 1 % - iger Salzsäure** zur Fixierung. Das anschließende Abspülen erfolgt in Aqua dest.
15. Zur Kontrastierung des Farbeffektes wird eine **Gegenfärbung mit Hämalaun** durchgeführt (für nur 20 sec.) mit direkt anschließender Bläuung im Wasserbad (für nur 10 sec.)
16. Die Präparate können nun mittels erwärmter Glyceringelatine eingedeckt werden.

2.3.4 Reagenziennachweis und Rezepte

primäre Antikörper :

Anti - Östrogen - Rezeptor : monoklonaler Mäuse - Antikörper 1D5

(Fa. DAKO , Hamburg , Artikelnummer : M 7047 Lot 013

Konzentration der Stammlösung : 145 xg / ml .

Anti- Progesteron - Rezeptor : monoklonaler Mäuse - Antikörper 10A9

(Fa. Immunotech , Hamburg , Artikelnummer : 1408

Konzentration der Stammlösung : vorverdünnte AK - Lösung in Tris - Puffer

(0.05 M Tris-HCL , 0.15 M NaCl pH 7.2) , stabilisiert mit BSA .

secundäre Antikörper :

Kaninchen - Anti - Maus - Antikörper (Rabbit - Anti - Mouse)

(Fa. DAKO , Hamburg , Artikelnummer : Z 259)

Konzentration der Stammlösung : 3,1 g IgG / l

APAAP - Komplex

Kälber - intestinale - alkalische Phosphatase + Mäuse - monoklonale -

anti - alkalische Phosphatase

(Fa. DAKO , Hamburg , Artikelnummer D 561)

Konzentration der Stammlösung : 0.09 g IgG / l

Additiva :

Schweinenormalserum

(Fa. DAKO , Hamburg , Artikelnummer : X 0901

Konzentration der Stammlösung 20 g / l

Ziegennormalserum

(Fa. DAKO , Hamburg , Artikelnr.: 0907 Lot 035)

Konzentration der Stammlösung

weitere Reagenzien:

Citratpuffer

10 mM Zitronensäure - Monohydrat (Fa. Merck , Darmstadt, Artikelnr.: 244)
entsprechend 2,1 g auf 1 Liter Aqua dest., auf pH6 gepuffert mit 2 n NaOH
(Fa. Merck, Darmstadt, Artikelnummer : 1.06498)

Tris - Puffer (Tris-Buffered-Saline , TBS =TRIS), pH 7,6 oder 8,24:

0.05 M Tris (hydroxy-methyl)- aminomethan entsprechend 6,057 g /l Aqua dest (Fa. Merck
Darmstadt , Artikelnummer : 1.08382) und
0.15 M NaCl entsprechend 8,8 g / 1 Aqua dest (Fa. Merck , Darmstadt , Artikelnummer :
1.06404) auf pH 7,6 bzw. pH8,24 . Gepuffert mit 1 M Salzsäure (Fa. Merck , Artikelnummer:
1.09057)

DAKO - Puffer 2 und 3

(Fa. DAKO , Hamburg , Artikelnummer : K 5006)

pH - Wert des Puffers 2 : 7,5

Genaue Zusammensetzung des Puffers ist vom Hersteller zu erfragen.

PBS - Puffer pH : 7,4

214 ml 1/15 M KH_2PO_4

536 ml 1/15 M Na_2HPO_4

45 g NaCl

ad. 4250 ml Aqua dest. ; ca. 5ml 1N NaOH zum pH-Wert einstellen.

Salzsäure 1%

hergestellt aus 25 % - iger Salzsäure (FA. Merck , Artikelnummer : 316)

im Verhältnis 8ml 25 % HCl : 200 ml Aqua dest.

Rezepte :

Neufuchsin - Substrat

Lösung A :

0.3 ml 5 % ige Neufuchsin - Lösung (Fa. Aldrich - Chemie ,
Artikelnummer : 22931 - 8)

Lösung B :

7.5 ml 4 % ige NaNO₂ - Lösung (Fa. Merck, Darmstadt , Artikelnummer : 6544)

Lösung C :

150 ml TRIS - HCl pH 8.24

Lösung D :

20 mg Naphthol - AS - BI - Phosphat (Fa. Fluka Chemie , Artikelnummer : 70482) in
0,75 ml N,N-Dimethylformamid (Fa. Merck, Darmstadt , Artikelnummer : 3053)

Ansatz :

- Lösung A zu B
- Lösung D herstellen
- nach genau 1 Minute Lösung A/B zu Lösung C
- Lösung A/B/C zu Lösung D
- gut mischen

Hämalaun

1 Teil Hämalaun ,1 Teil Aqua dest : 1:1

- 5g Hämatoxylin (Fa. Merck , Artikelnummer : 4302)
- 1g NaJO₃ (Fa. Merck , Artikelnummer : 6525)
- 250 g Kalialaun (Fa. Merck , Artikelnummer : 1042 , 1047)
- 250 g Chloralhydrat (Fa. Riedel-de-Haen , Artikelnummer : 15307)
- 5 g Zitronensäure aufgelöst in 3,5 Liter Aqua dest. (Fa. Merck , Artikelnummer : 244)

Mikrowellen - Kochvorgang :

siehe unter Kapitel 2.3.3

Glyceringelatine (Fa. Merck , Artikelnummer : 9242)

Objektträger

Super frost plus (Fa.Menzel-Gläser , Artikelnr.: 041300)

Leim beim Schneiden im Wasserbad

(Elmers Glu - all) 10g Leim / l

2.3.5 Auswertung

Die immunhistologischen Präparate wurden semiquantitativ analysiert , wobei Aussagen anhand folgender Kriterien getroffen wurden :

1. Generelle Positivität des Brustgewebsschnittes für den jeweiligen Antigennachweis .
2. Qualitative Abschätzung der Intensität des Nachweises auf dem Präparat.
Die Färbeintensität wurde in 3 Grade eingeteilt
 - 1 = schwach
 - 2 = mäßig
 - 3 = stark
3. Analyse des intranucleären und intracytoplasmatischen Verteilungsmuster der Markersubstanz
4. Semiquantitative Bewertung der Menge der dargestellten Strukturen pro 10 Gesichtsfelder.
Es erfolgte eine Einteilung in folgende 3 Klassen:
 - < 10 % pos. Zellen = 1
 - 10 % - 50 % pos. Zellen = 2
 - > 50 % pos. Zellen = 3

Die zwei Werte aus Quantität und Qualität wurden multipliziert um daraus die semiquantitative Schätzung der Immunreaktion in einen Score von 1 - 9 einzuteilen.

3 ERGEBNISSE

3.1 EPIDEMIOLOGISCHE DATEN

Die Altersverteilung der archivierten Pubertätsgynäkomastiefälle aus dieser Versuchsreihe sind in Diagramm 1 dargestellt. Das Durchschnittsalter beträgt hier 16,06 Jahre.

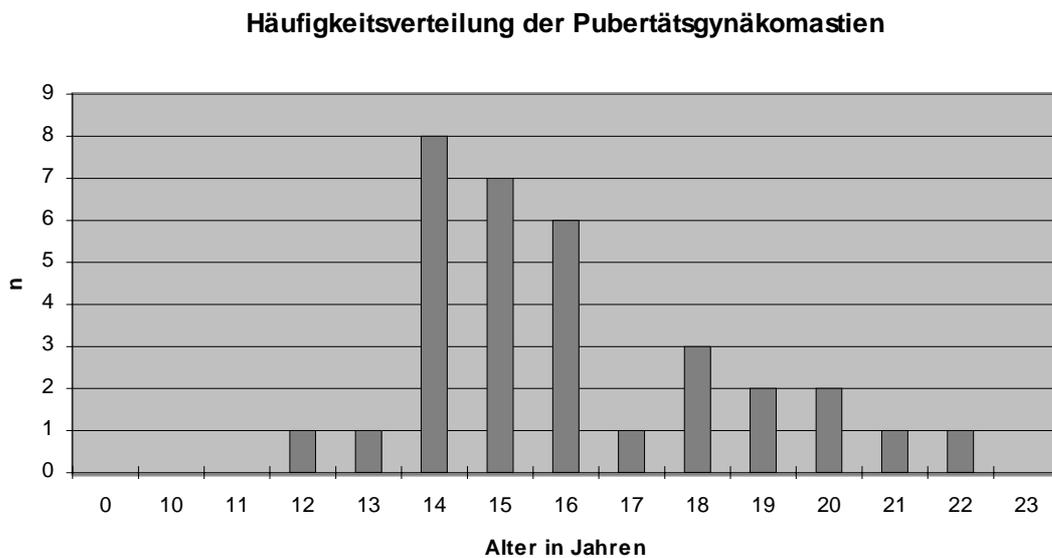


Diagramm 1

3.2 IMMUNHISTOCHEMIE

3.2.1 Östrogen - und Progesteronrezeptorverteilung im Pubertätsgynäkomastiegewebe

Die immunzytochemischen Rezeptorbestimmungen fielen in allen Gynäkomastiefällen deutlich positiv aus.

Mit dem speziellen angewandten Verfahren ergaben sich gleichmäßig homogene Anfärbungen ohne Probleme mit Hintergrundfärbungen.

Von allen 33 Pubertätsgynäkomastien rangierten die ER - Anfärbungen zwischen : 30 - 60 %
die PR - Anfärbungen zwischen : 40 - 90 %.

Östrogen- und Progesteronrezepterverteilung der Pubertätsgynäkomastien

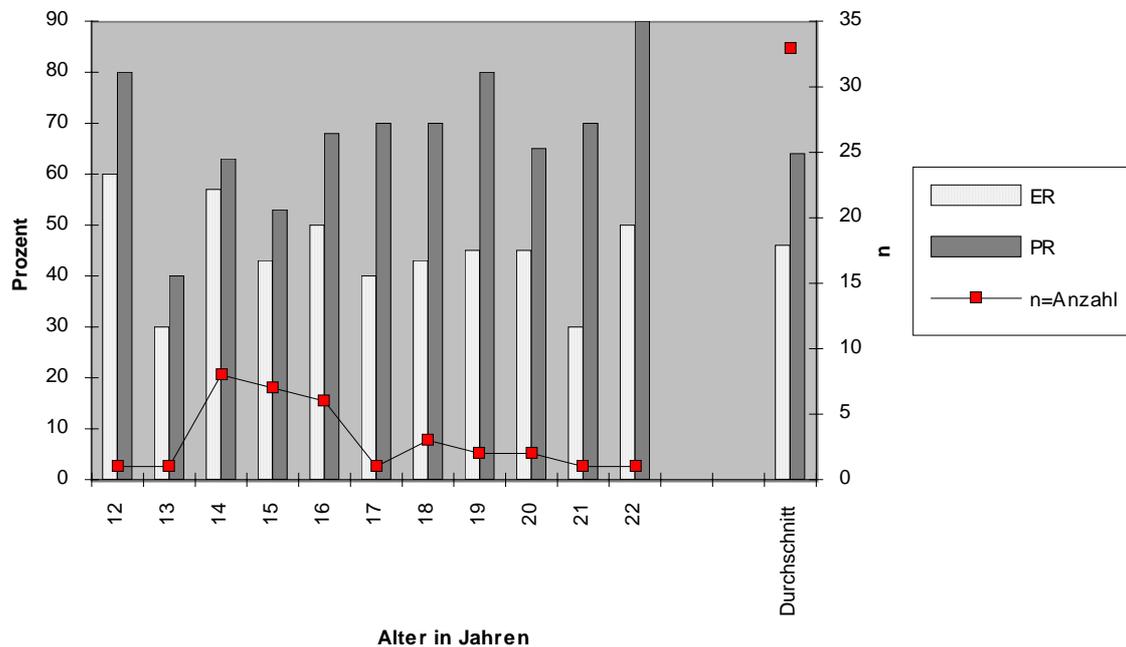


Diagramm 2

- Die absolut ermittelten Durchschnittswerte aller 33 Pubertätsgynäkomastiefälle betrug für
- den ER (Östrogenrezeptor) : 45,5 %
- den PR (Progesteronrezeptor) : 64,4 % (Diagramm 2)

- den 14 - jährigen Jungen mit Hermaphroditismus verus = ER : 30 % PR : 70 %
- den 5 - jährigen Jungen mit dem Aromatase - bildenden Tumor = ER : 40 % PR : 70 %
- den 15 - jährigen Jungen mit der Adipositasgynäkomastie = ER : 50 % PR : 50 %

29 von 33 Pubertätsgynäkomastien wiesen eine höhere Anfärbung für den Progesteronrezeptor als für den Östrogenrezeptor auf. Von den übrigen 4 Fällen ließen 2 eine gleiche Anfärbung für beide Rezeptoren erkennen, während 2 Fälle niedrigere PR - Anfärbungen und damit höhere ER - Anfärbungen zeigten.

Beide zuletzt genannten Fälle wiesen histologisch auffällig viel ausgelöstes Fettgewebe auf. Ein weiterer Fall, der in der histologischen Beurteilung auf viel Fettgewebe hindeutete, zeigte für die PR - Auswertung auch nur 40%.

Nicht nur die Quantität, auch die Qualität der Anfärbung unterschied sich in diesen 3 Fällen von den übrigen 30 Pubertätsgynäkomastien. Sie fiel nur schwach gefärbt aus, während sich alle anderen Färbungen mäßig bis stark darstellten.

Sowohl histologisch als auch immunzytochemisch zeigen diese 3 Fälle auffallend vergleichbare Ergebnisse mit der Auswertung des vorhandenen gesicherten Falles einer Adipositasgynäkomastie.

Werden diese 3 Fälle aus den idiopathischen Pubertätsgynäkomastien herausgerechnet, verändern sich die Rezeptorbestimmungen im Durchschnitt wie folgt (n= 30):

- für den Östrogenrezeptor : von 45,5 % auf 46 %
- für den Progesteronrezeptor : von 64,4% auf 68 %

Werden die 3 wahrscheinlichen Fälle zu dem gesicherten Fall von Adipositasgynäkomastie hinzugerechnet, ergeben sich folgende Durchschnittswerte für die Rezeptoren (n= 4):

- für den Östrogenrezeptor : 42,5 %
 - für den Progesteronrezeptor : 35 %
- (siehe Diagramm 3 auf der folgenden Seite)

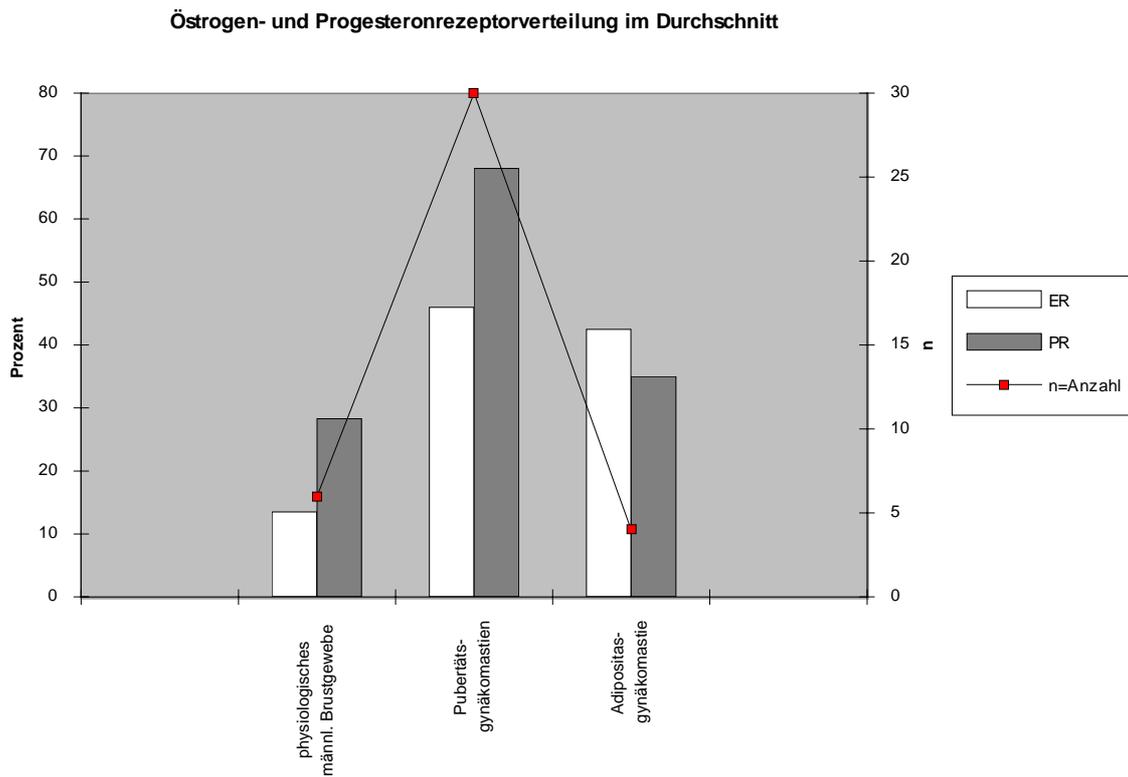


Diagramm 3

Die semiquantitative Schätzung nach dem immunoreactive score, der die Quantität und die Qualität der Immunreaktion berücksichtigt, verdeutlicht noch einmal das homogene Ergebnis der Östrogenrezeptorbestimmung mit dem stärkeren Nachweis für die Progesteronrezeptoren bei den Pubertätsgynäkomastien (Diagramm 4 + 5, siehe Seite 21).

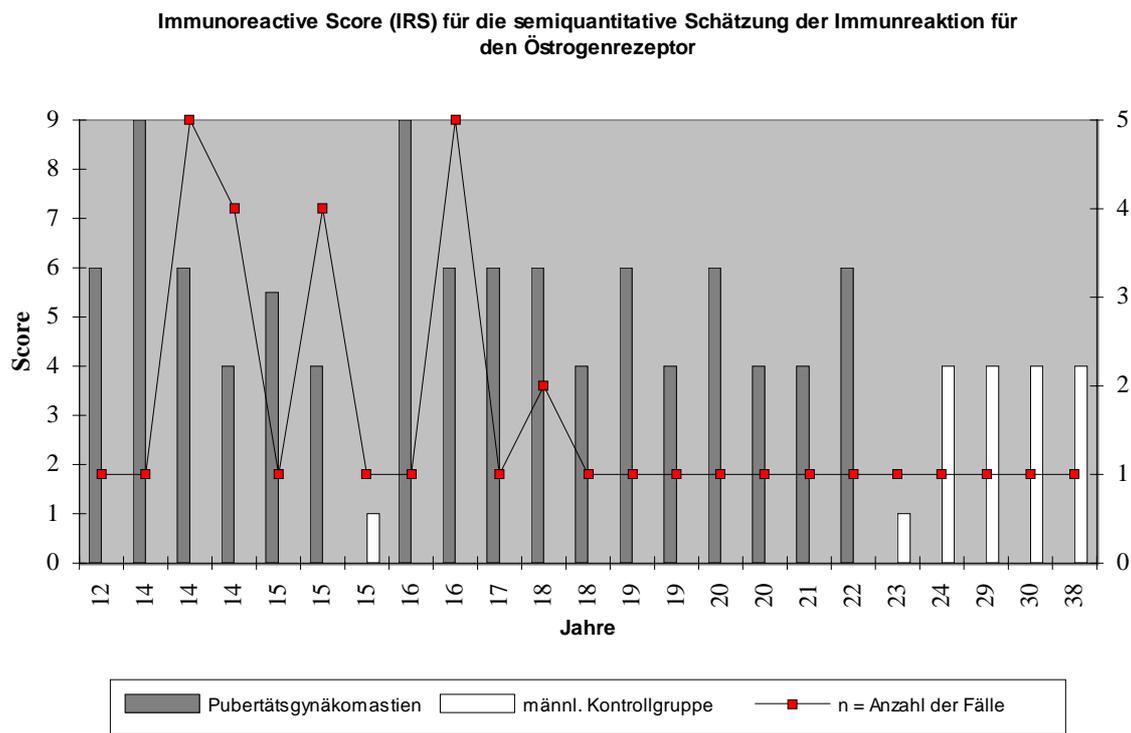


Diagramm 4

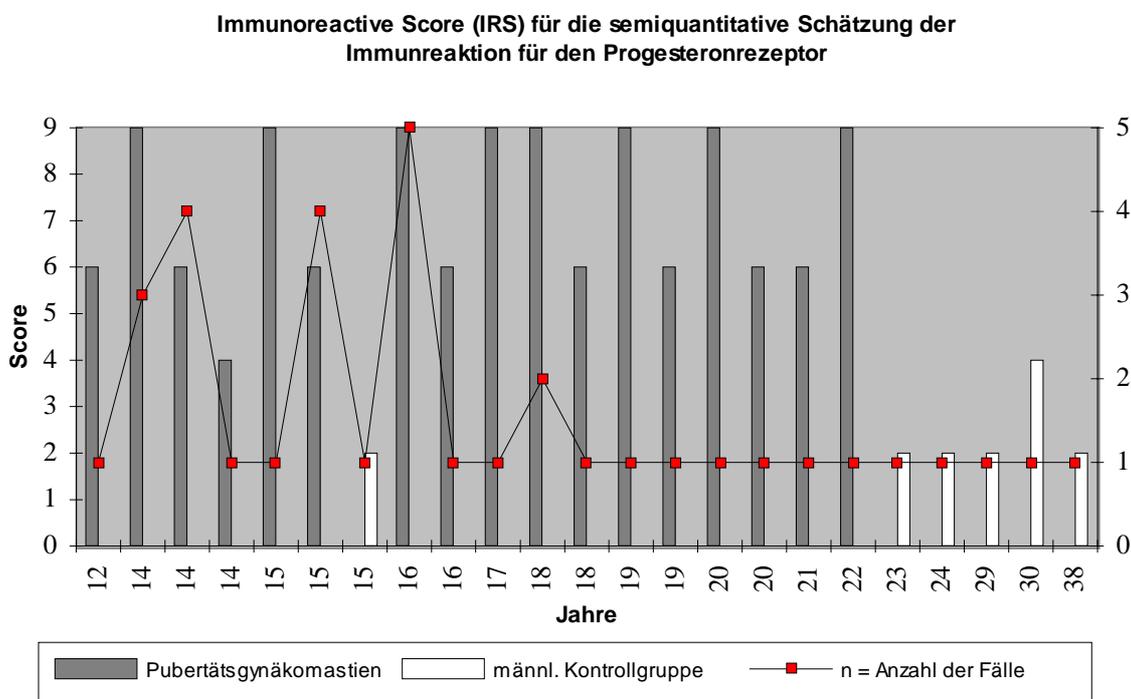


Diagramm 5

Die Anfärbungen ergaben sich für die Östrogenrezeptoren ausschließlich im Kern des Brustdrüsenepithels, während die Anfärbungen für den PR sowohl am Kern, aber auch in hohem Maße zusätzlich zytoplasmatisch vorkamen.

Die Art der Anfärbung war für beide Rezeptorarten in der Pubertätsgynäkomastiegruppe immer eine gut erkennbare. In der Errechnung der semiquantitativen Immunreaktion wurde die Farbeintensität meistens als eine starke, in einigen Fällen als eine mäßige Anfärbung bewertet. Eine schwache Anfärbung ist bei den Pubertätsgynäkomastien nicht vorgekommen.

Die Östrogenrezeptoranfärbung imponierte als eine gleichmäßige Globalanfärbung des Kerns. Die Anfärbung für den Progesteronrezeptor fiel deutlich diffuser aus, sowohl die Kernanfärbung als auch die zytoplasmatische Anfärbung.

Die Östrogenrezeptoren zeigten häufig auffällige Anfärbungen in der intermediären Epithelreihe, wie es auf den Photographien 2 und 3 in den Milchbrustgangepithelien zu erkennen ist.

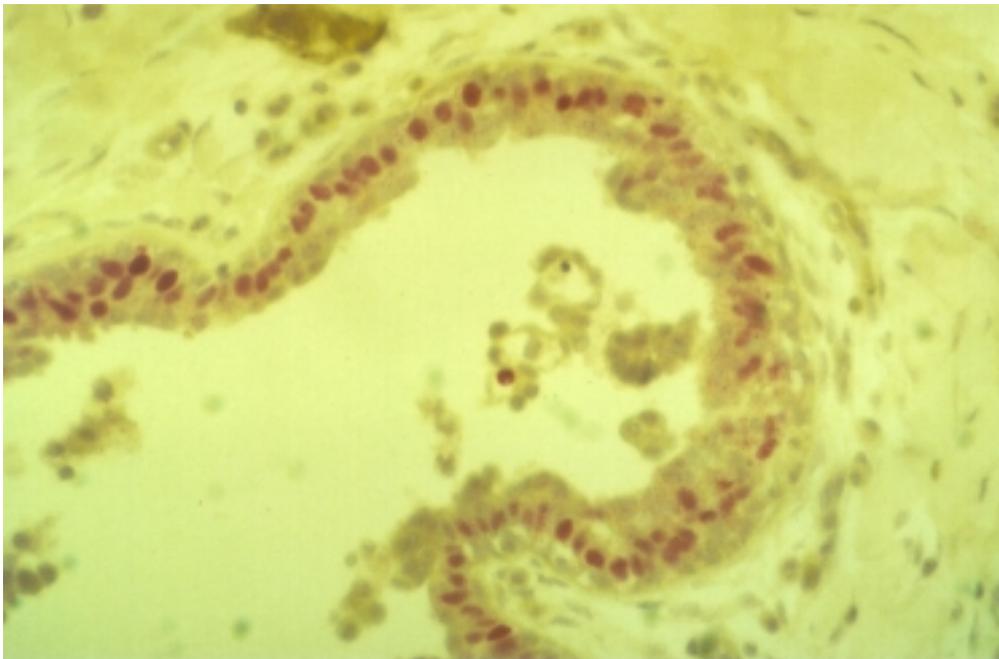


Photo 2 : Östrogenrezeptoranfärbung eines Pubertätsgynäkomastiefalles

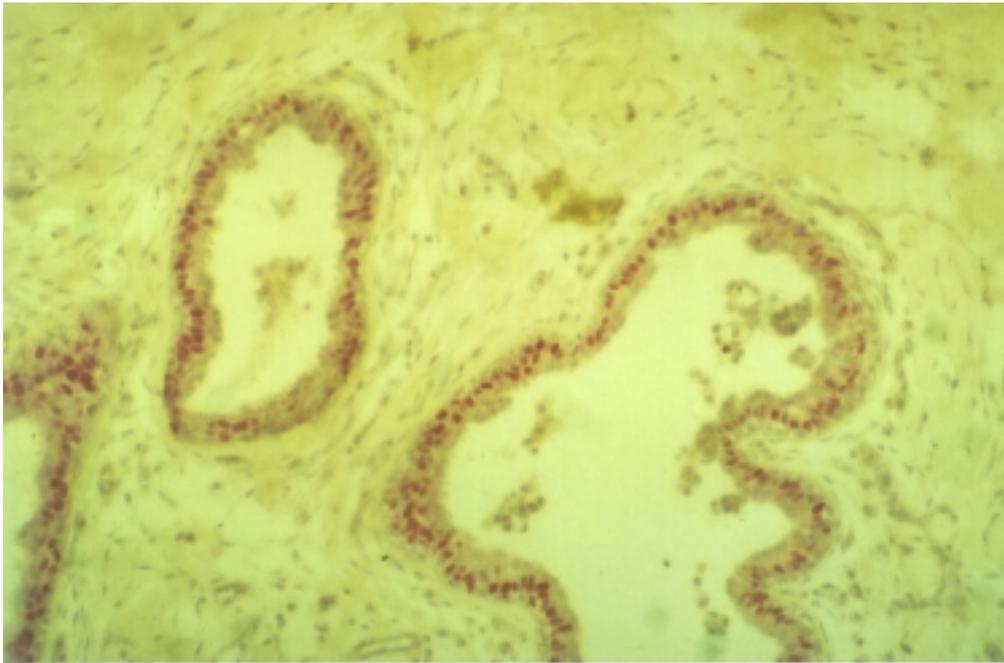


Photo 3 : Östrogenrezeptoranfärbung eines Pubertätsgynäkomastiefalles

Zu jedem Fall sind mehrere Gewebeschnitte überschichtet worden. Es wurden Gewebeschnitte von verschiedenen Schnittstellen derselben Seite als auch die von der kontralateralen Brusthälfte auf beide Rezeptoren überschichtet.

Vergleiche beider Rezeptorüberschichtungen an ungefähr identischen Schnittstellen zeigten ein gleiches Anfärbungsmuster der Epithelzellen für den Östrogen- und den Progesteronrezeptor, während für den Progesteronrezeptor darüber hinaus weitere einzeln angefarbte Epithelzellen zur Darstellung kamen. Dieser Vergleich ist auf den folgenden Photographien 4a +4b, 5a +5b (siehe Seite 24,25) dargestellt.



Photo 4a : Anfärbung für den Östrogenrezeptor bei Pubertätsgynäkomastie

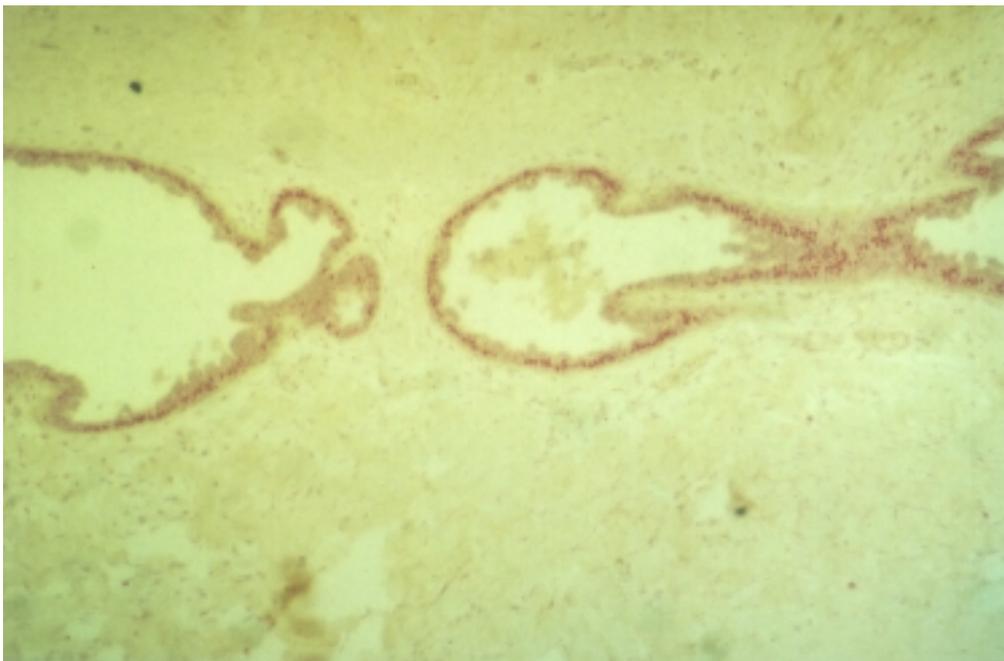


Photo 4b : Anfärbung desselben Pubertätsgynäkomastiefalles an gleicher Schnittstelle für den Progesteronrezeptor.



Photo 5 a : Anfärbung für den Östrogenrezeptor eines Pubertätsgynäkomastiefalles.

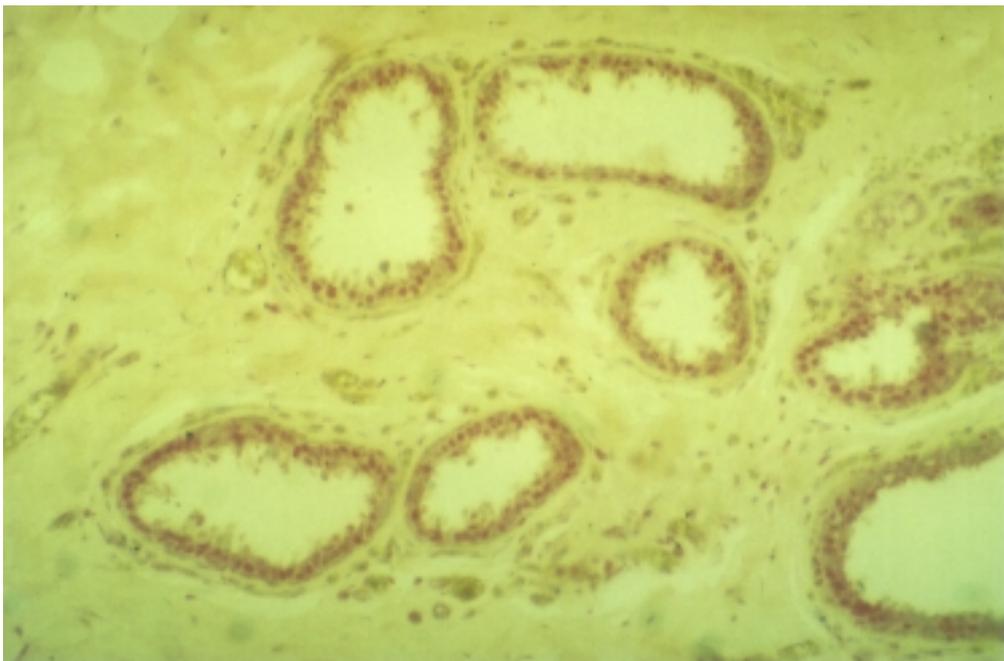


Photo 5b : Anfärbung desselben Pubertätsgynäkomastiefalles an gleicher Schnittstelle für den Progesteronrezeptor.

3.2.2 Östrogen - und Progesteronrezeptorverteilung an physiologischen Brustdrüsengeweben verschiedener Altersstufen beiderlei Geschlechtes

In den folgenden Diagrammen (6 - 8) sind die Rezeptorbestimmungen in den verschiedenen Altersgruppen beiderlei Geschlechtes graphisch dargestellt.

Von den ursprünglich 31 gesammelten Rechtsmedizinfällen schieden in der Auswertung 5 Fälle komplett aus, da sie nicht genügend oder gar kein Brustdrüsenepithel erkennen ließen.

Von der Auswahl der Fälle waren von vorneherein die ausgenommen, in denen ein Drogenmißbrauch , Alkoholabusus, Medikamenteneinnahme oder eine Grunderkrankungen des Verstorbenen nicht ausgeschlossen werden konnten.

Einige Fälle schieden aus, weil sie nicht genügend Brustgewebe in den Proben enthielten, so daß für die Auswertung nicht genügend (mind. 50) Brustepithelzellen vorhanden waren.

In der **infantilen** Gruppe (0 - 2 Jahre) ließen alle ausgewerteten 7 Fälle einen homogenen hohen Progesteronrezeptornachweis erkennen. Die Epithelzellen ließen sich zwischen 80 - 100 % anfärben. (siehe Diagramm 6)

Die Östrogenrezeptoranfärbung fiel in dieser infantilen Gruppe deutlich niedriger aus. Die Anfärbung der Östrogenrezeptoren rangierte zwischen 15 und 40 %.

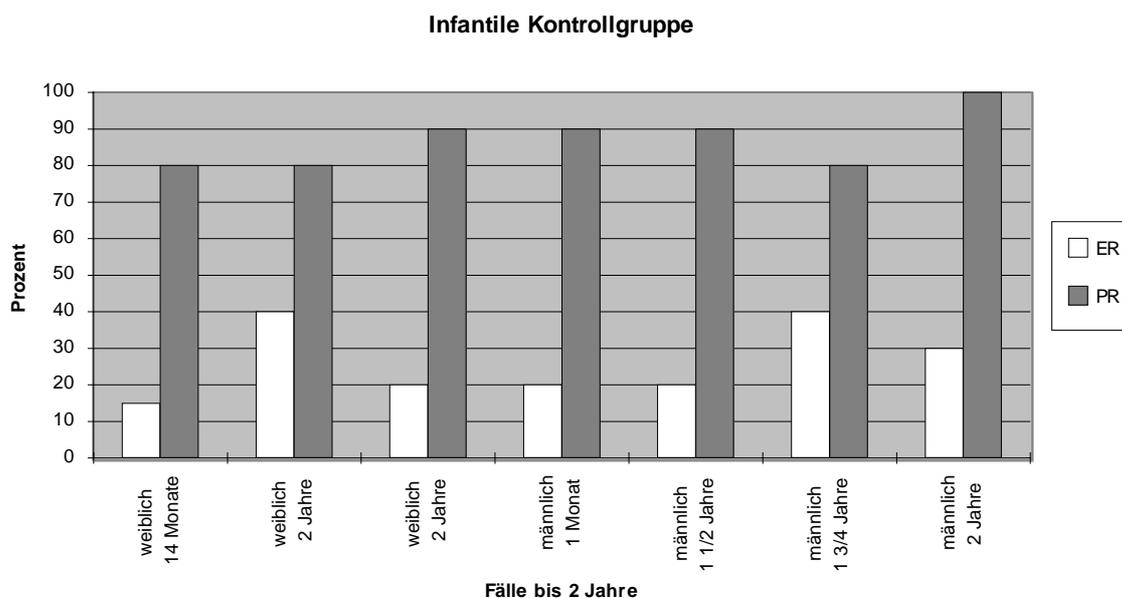


Diagramm 6

Die **präpubertäre** Kontrollgruppe (2 - 9 Jahre) beinhaltet 4 auswertbare Fälle, davon 2 weibliche und 2 männliche Fälle. Der Progesteronrezeptornachweis (PR - Nachweis) liegt auch hier mit 30 - 90 % deutlich über dem Östrogenrezeptornachweis (ER - Nachweis) mit 2 bis 30% (Diagramm 7).

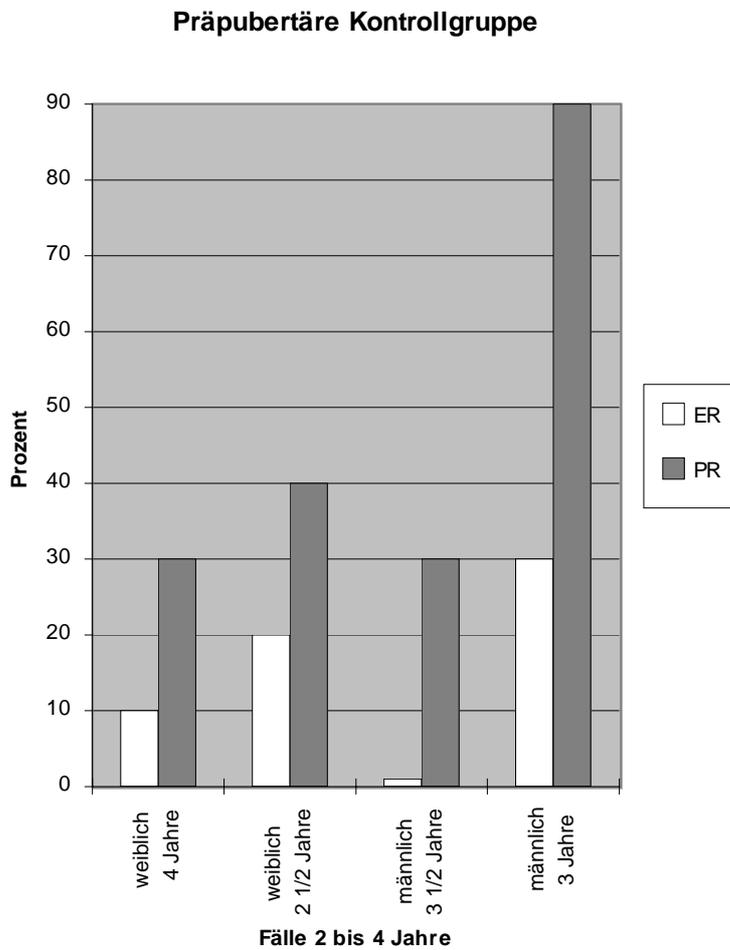


Diagramm 7

Die Auswertungen von 9 physiologischen **weiblichen** Brustgewebefällen aus der **Pubertäts- und postpubertären Kontrollgruppe** (10 - 40 Jahre) weisen auffällige variable Werte für den Östrogenrezeptor auf.

Die Ergebnisse rangieren hier sehr variabel von gar keiner Anfärbung, niedrigen Werten zwischen 2 - 5 % ER bis zu 50 % ER - Anfärbung.

Die PR - Anfärbungen liegen deutlich über dem ER - Nachweis mit 50 - 80 %, in einem Fall bei nur 30% (Diagramm 8).

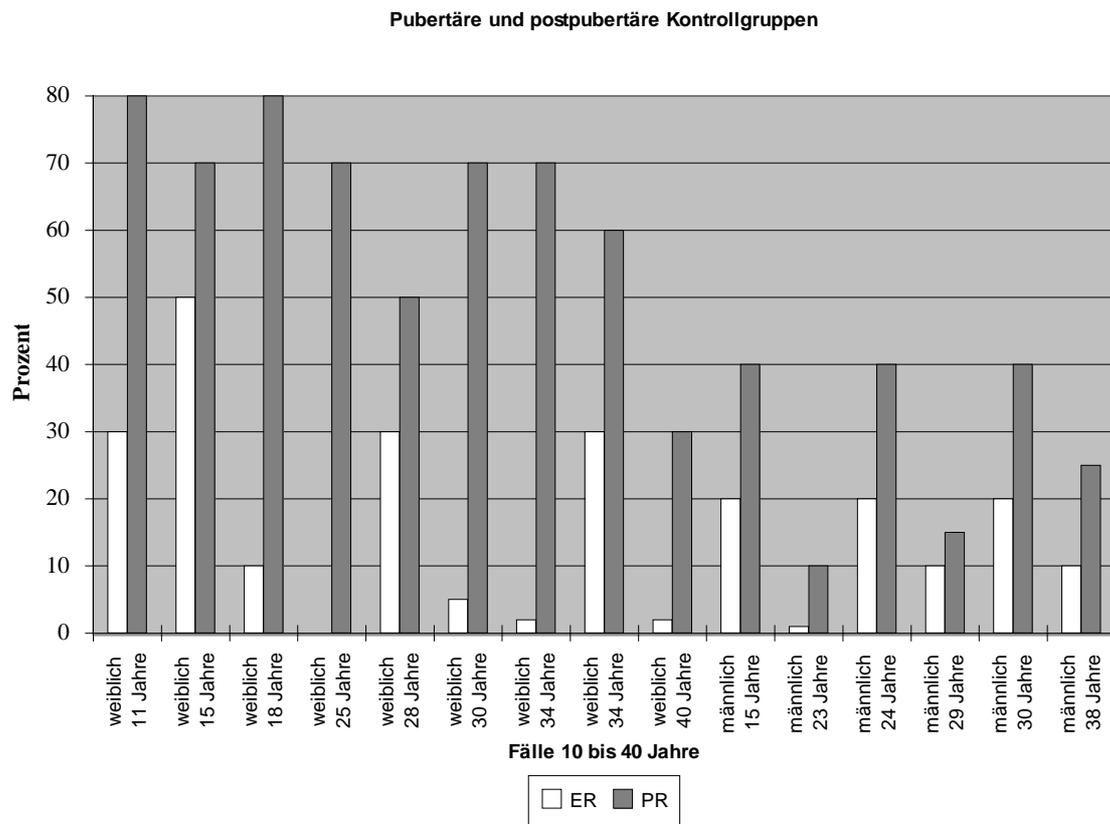


Diagramm 8

Die **männlichen** 6 Brustdrüsengewebefälle aus dieser Kontrollgruppe lassen sich wie folgt anfärben:

Die Östrogenrezeptoranfärbungen rangieren hier nur zwischen 1 - 20 % und für den Progesteronrezeptor von nur 10 - 40 %, (Diagramm 8).

Die männliche Kontrollgruppe im Alter zwischen 15 - 38 Jahren zeigt hiermit eine deutlich geringere Anfärbung für beide Rezeptoren als bei den Pubertätsgynäkomastien (Vergleich Diagramm 8 mit 2, siehe Seite 28 und 18).

Werden die Ergebnisse der männlichen Kontrollgruppe den Patienten mit der Pubertätsgynäkomastie gegenübergestellt, sieht es wie folgt aus:

| | männliche Kontrollgruppe (15 - 38 Jahre) | Pubertätsgynäkomastiegruppe (12 - 22 Jahre) |
|----------------------------------|---|--|
| Östrogenrezeptor- nachweis | 1 - 20 % | 30 - 60 % |
| Progesteronrezeptor- nachweis | 10 - 40 % | 40 - 90 % |

Graphisch ist dieser Unterschied in Diagramm 3 auf Seite 20 dargestellt. Hier werden die durchschnittlichen Östrogen - und Progesteronrezeptornachweise der Pubertätsgynäkomastien denen der männlichen Vergleichsgruppe und den Adipositasgynäkomastien gegenübergestellt.

Wird die Qualität der Anfärbung durch die Errechnung des Immuno - reactive scores zwischen diesen beiden Gruppen zusätzlich betrachtet, wird der Unterschied der Ergebnisse noch deutlicher (siehe Diagramm 4 + 5 auf Seite 21).

Die Intensität der Färbungen in der männlichen Kontrollgruppe (15 - 38 Jahre) fiel in allen Fällen nur schwach bis mäßig aus. Überwiegend zeigten sich nur einzelne Kerngranulabestandteile in den Epithelzellen angefärbt (siehe Photo 6 und 7 auf Seite 30).

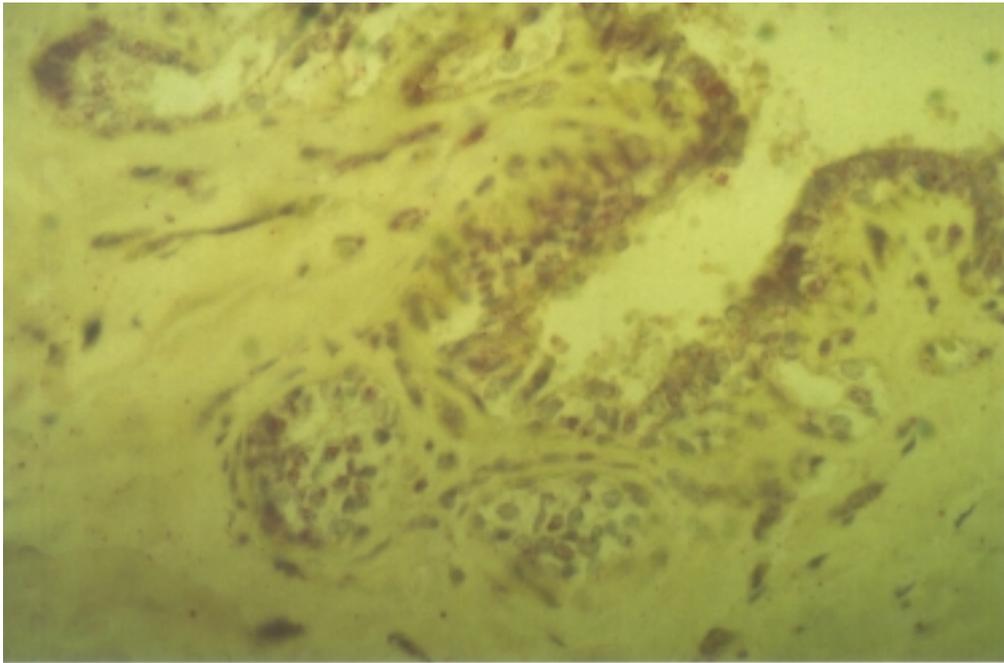


Photo 6 : Östrogenrezeptoranfärbung eines 15 - jährigen aus der Kontrollgruppe.

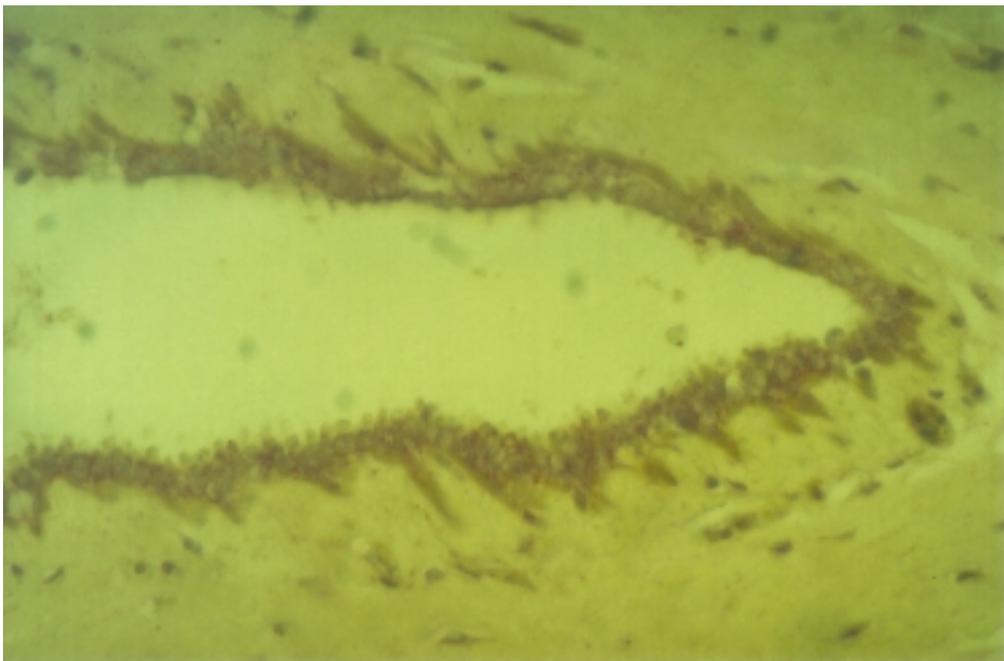


Photo 7 : Progesteronrezeptoranfärbung eines 38 - jährigen aus der Kontrollgruppe.

Unter Einbeziehung der Qualität der Anfärbung wird die schwächere Immunreaktion in der Kontrollgruppe gegenüber der Pubertätsgynäkomastie für beide Rezeptoren sehr deutlich. Die semiquantitative Errechnung des Immuno - reactive - score ist graphisch in den Diagrammen 4 und 5 (siehe Seite 21) dargestellt und zeigt einen deutlichen Unterschied zwischen der männlichen Kontrollgruppe und der Gruppe der Pubertätsgynäkomastien. Innerhalb der männlichen Kontrollgruppe unterliegt dann sogar der Progesteronrezeptornachweis dem Östrogenrezeptornachweis.

3.3 HISTOLOGIE

Es wurde eine histologische Beurteilung und ein Vergleich der Pubertätsgynäkomastien mit den physiologischen männlichen Brustdrüsengeweben durchgeführt.

Fast alle Fälle der Pubertätsgynäkomastien weisen deutliche Epithelknospungen in das Milchganglumen auf. Lediglich 3 Fälle lassen diese Besonderheit vermissen.

Die Milchbrustgänge sind zur Hälfte der Fälle erweitert (52 %) und korrelieren sehr häufig mit gleichfalls sichtbarer Gangepithelproliferation.

Das Brustdrüsenstroma fiel unterschiedlich aus.

In 14 Fällen (42 %) ließ sich eine Fibrosierung mit kompakter Kollagenisierung erkennen.

Hingegen stellt sich das Stroma der anderen 19 Fälle (58 %) wesentlich zellreicher und lockerer dar, zum Teil noch mit Fettgewebsanteilen durchsetzt.

Es fiel auf, daß die histologischen Erscheinungsbilder mit deutlicher Gangproliferation häufig zusammen mit einem lockeren Drüsenstroma auftraten (Photo Nr. 8)

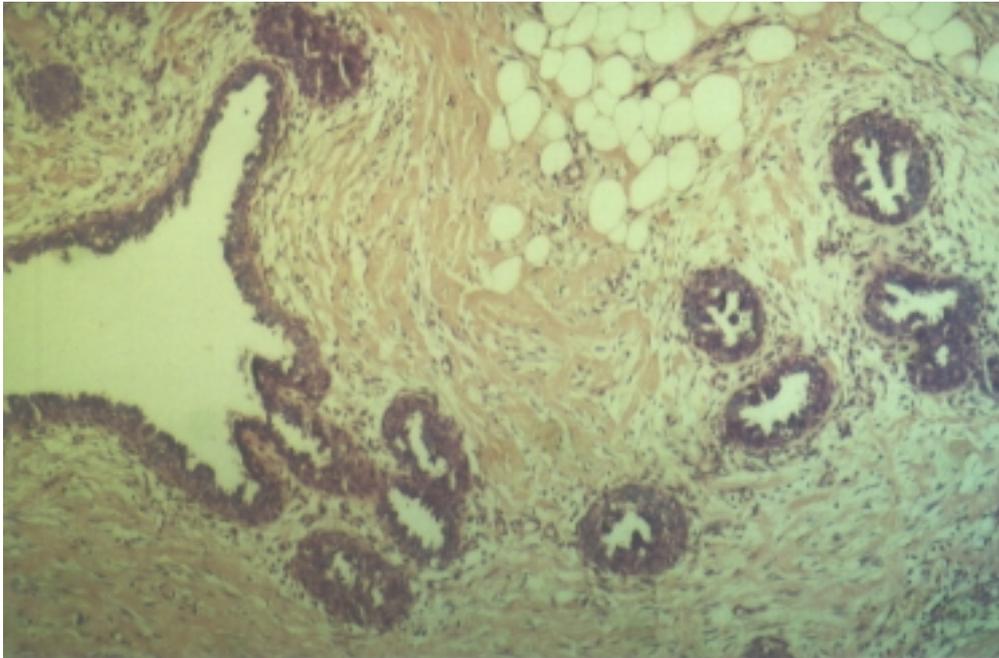


Photo 8 : HE - Färbung eines Pubertätsgynäkomatiefalles.

Hingegen korrelierte fibrosiertes Brustdrüsenparenchym häufiger mit nicht erweiterten und weniger proliferativ erscheinenden Milchbrustgängen.(Photo Nr. 9)



Photo 9 : HE - Färbung eines Pubertätsgynäkomastiefalles.

Die männliche Vergleichsgruppe aus der Rechtsmedizin in den Altersstufen von 15 - 38 Jahren ließen hingegen keine Gang - oder Drüsenproliferation erkennen. Das Drüsenparenchym war in allen Fällen kollagenisiert aber trotzdem zellreich. Eine Epithelknospung trat nicht auf.

Der Fall der Adipositasgynäkomastie wies in der histologischen Beurteilung viel Fettgewebsstrukturen auf. Es lag eine deutliche Gangepithelproliferation und Epithelknospung vor.

Es ließen sich drei weitere Fälle mit einem ähnlichen histologischen Bild und der Auffälligkeit von viel Fettgewebe herausfiltern. Diese drei Fälle glichen bereits in der immunhistochemischen Auswertung dem Fall der Adipositasgynäkomastie.

Das histologische Bild des Hermaphroditismus verus ließ ein fibroisiertes Bindegewebe und in das Ganglumen als Auffälligkeit ein deutliches Sekretphänomen erkennen.

Das Schnittpräparat des Patienten mit dem aromatase bildenden Hodentumor zeigte eine deutliche Gangepithelproliferation mit Epithelknospung, kombiniert mit einem lockeren Drüsenstroma.

4 DISKUSSION

Die Gynäkomastie, d. h. die Entwicklung von Brustdrüsengewebe beim männlichen Geschlecht tritt in 3 Altersgipfeln auf . Die Inzidenz ist während der Neonatalperiode , der Pubertät und im Senium, hauptsächlich in der 7. Lebensdekade , am höchsten (BANNAYAN und HAJDU 1972, HANDS und GREENALL 1991).

Werden alle Ergebnisse von bisherigen Studien zusammengefasst , erreicht die Prävalenz einer Pubertätsgynäkomastie 20 bis 65 Prozent (LEE 1975 ,NYDICK; BUSTOS 1961 NIZZOLI , DEL CORNO 1986 ,KNORR und BIDLINGMAIER 1975).

Den schwankenden Angaben über die Häufigkeit des Auftretens einer Gynäkomastie stehen uneinheitliche Beurteilungen darüber gegenüber, ab welchem Grad der Mastopathie diese als Gynäkomastie angesehen wird.

In einer 1994 veröffentlichten Studie wurde unter 954 jungen Männern eine Inzidenzrate von 40.5 % festgestellt , hier definiert ab 2cm im Durchmesser tastbarem Brustdrüsengewebe (GEORGIADIST , PAPANDREOU 1994) .

Dieses Ergebnis bestätigt annähernd eine 1990 an 536 Jungen durchgeführte prospektive Studie, in der über die Pubertät hinaus 6 monatliche Kontrolluntersuchungen an den Jugendlichen durchgeführt wurde. Die Prävalenz der Gynäkomastie betrug hier 48,5 % . (BIRO und LUCKY 1990)

Der festgestellte Median des Auftretens der Gynäkomastie stimmte mit 15 Jahren weitestgehend in den Studien überein (NYDICK and BUSTOS 1961) . Bezogen auf die Entwicklungsphase fiel der Beginn des Brustdrüsenwachstums zumeist in die Mitte der Pubertät , PHS : 3 - 4 (PHS =pubertal hair stage nach Tanner) (MOORE und SCHLAEPFER 1984 , LARGE und ANDERSON 1979,BIRO und LUCKY 1990).

Die Dauer der Gynäkomastie wurde oft mit 12 Monaten oder knapp darunter angegeben (MOORE und SCHLAEPFER 1984 , BIRO und LUCKY 1990).

Beschrieben werden jedoch auch schwere Fälle von Pubertätsgynäkomastie , die persistieren, schmerzen und morphologisch von erheblichem Ausmaß sind.

Übereinstimmend wurde die Brustentwicklung des Jungen zwar oft zu Beginn noch einseitig, doch über den weiteren Verlauf zumeist beidseitig beobachtet.

Bisher gibt es keine sichere konservative Therapie der Pubertätsgynäkomastie. Daher stellt die persistierende Brustdrüsenanlage bei Knaben häufig eine Operationsindikation dar.

Allein in dem Zeitraum von 1983 bis 1994 haben sich 111 Patienten mit einer Pubertätsgynäkomastie im Universitätskrankenhaus Eppendorf vorgestellt.

Gut ein Viertel dieser Jugendlichen sind von Professor Lambrecht in der Kinderchirurgie mastektomiert worden.

Diese Dissertation soll zur Aufklärung der Ursachen der Pubertätsgynäkomastie beitragen.

Wünschenswert sind neue Erkenntnisse über die Pathophysiologie der Brustentwicklung bei Knaben.

Viele Formen der Gynäkomastie lassen sich je nach Grundkrankheit scheinbar durch eine Erhöhung des Östradiolspiegels einerseits oder durch einen zu niedrigen Testosteronspiegel andererseits erklären.

Ersteres gilt für die neonatal auftretende Brustdrüsenanschwellung, für die das plazentar überführte Östrogen der Mutter verantwortlich ist. Postpartal werden die mütterlichen Steroide von der kindlichen Leber abgebaut und das Brustwachstum sistiert, oder ist rückläufig.

Die Gynäkomastie, die mit Adipositas einhergeht, erklärt sich durch ein hauptsächlich im Fettgewebe vorkommendes Enzym, die Aromatase, die adrenale und testikuläre Androgene in Östrogene konvertiert (HANDS GREENALL 1991). Diese Studie beinhaltet einen Fall der Adipositasgynäkomastie.

Entsprechend begründet sich die familiär auftretende Gynäkomastie, der eine X - chromosomal vererbte Erhöhung der extraglandulären Aromatisierung zugrunde liegt.

Es wurde sowohl eine vermehrte Konversion von Androstendion zu Östron, Östron zu Östradiol und von Testosteron zu Östradiol nachgewiesen (GERKOVITZ GUERAMI 1985).

Dieses Krankheitsbild ist möglicherweise vor 3500 Jahren in der Familie Tutanchamuns aufgetreten. Es wurde überliefert, daß Tutanchamun selbst, sein Bruder und sein Vater eine Brustentwicklung aufzeigten.

Neoplasien die zu einer erhöhten Östrogenproduktion führen, können mit einer Gynäkomastie einhergehen.

Zu nennen sind hier die testikulären Tumoren, die von den Leydig-Zellen ausgehend, vermehrt Östrogene bilden. Sie kommen zwar selten vor , sind aber zu 30% mit einer Gynäkomastie assoziiert (BABRILOVE , NICOLIS 1975).

Auch HCG (human chorion gonadotropin) - produzierende Tumoren, wie Chorion-Carcinome (zu 10 - 20 %) , Bronchial - CA , embryonale Tumoren (zu 4 %) oder Seminome (zu 1 %) können mit einer Brustdrüsenbildung einhergehen (HANDS GREENALL 1991). Der Weg von der erhöhten HCG - Produktion führt hier über die Stimulierung der Leydig-Zellen zu erhöhter Östrogenproduktion.

Es gibt auch seltene Tumoren der Hoden, die eine Gynäkomastie hervorrufen.

Es wurden präpubertäre Erscheinungen der Gynäkomastie bei Sertolizell - Hodentumoren und Aromatase- produzierenden Hodentumoren beschrieben (HERTL, WIEBEL, SCHÄFER, WILLIG; LAMBRECHT et al 1998). Diese Studie beinhaltet einen Fall von Gynäkomastie bei einem Aromatase produzierenden Tumor der Hoden.

Eine Gynäkomastie kann durch adrenale Tumoren auftreten. Sie ist durch die erhöhte Androstendionproduktion nachvollziehbar , die im peripheren Gewebe zu einer erhöhten Konversion zu Östrogenen führt (WILSON et al 1980) .

Der Mechanismus des Brustdrüsenwachstums, der bei primären Lebertumoren beobachtet wird, läßt sich durch eine erhöhte Aromataseaktivität des Tumorgewebes erklären (KEW, KIRSCHNER 1977).

Die Brustentwicklung sowohl bei der Leberzirrhose als auch bei der Hyperthyreose, läßt sich wie folgt erklären.

Bei der Leberzirrhose folgt aus dem ungenügendem Androgenabbau in der Leber eine relativ erhöhte Konversion zu den Östrogenen , während dies bei der Hyperthyreose sowohl durch die erhöhte Androgenproduktion als auch durch die gesteigerte Aromatisierung hervorgerufen sein kann (GORDON, OLIVO 1975 ; CHOPRA, TULCHINSKY 1974 ; SOUTHREN, A. OLIVO 1974).

Auf der anderen Seite tritt die Gynäkomastie auf , wenn das Testosteron im Serum erniedrigt ist, oder eine Androgenresistenz vorliegt. Letzteres ist der Fall bei der testikulären Feminisierung und dem Reifenstein - Syndrom . Eine Testosteron - Erniedrigung im Serum kommt bei Hypogonadismus - Formen , Anorchia congenitale und beim Klinefelter - Syndrom vor.

Somit imponieren auch diese Krankheitsbilder mehr oder weniger mit dem Bild der Gynäkomastie.

Auch die Altersgynäkomastie begründet sich durch relativ zu niedrige Testosteronspiegel. Unter anderem ist dies durch die einsetzende testikuläre Dysfunktion erklärbar. Einschränkung ist nicht nur allein ein erniedrigter Testosteronspiegel oder ein erhöhter Östradiolspiegel für die Gynäkomastie verantwortlich. Die hormonellen Verhältnisse der Steroide untereinander und zueinander scheinen viel komplexer zu sein, ganz zu schweigen vom Einfluß der Protein-Hormone Prolaktin, Wachstumshormon und Gonadotropine. So werden beim männlichen Hypogonadismus erhöhte Serumspiegel der Gonadotropine gefunden und eine dadurch relativ zum Testosteron erhöhte Östrogensekretion (WEINSTEIN KELCH 1974).

Die untersuchten Patienten mit Gynäkomastie beim Klinefelter - Syndrom wiesen in einigen Fällen normale Testosteronspiegel, aber erhöhte Spitzen des Östradiolspiegels auf (WANG BAKER 1975)

Bei der Altersgynäkomastie ist zusätzlich aufgefallen, daß die Konversion von Androstendion zu den Östrogenen erhöht ist und das SHBG simultan mit dem Abfall des freien Testosterons steigt (VERMUELEN et al. 1972 , STEARNS et al. 1974 , PIRKE et al. 1970 , SNYDER et al. 1976).

Das SHBG hat eine besonders hohe Affinität zu Testosteron , so daß eine Erhöhung dieses Globulins zusätzlich dazu beiträgt, den Serumspiegel für freies Testosteron zu senken. Ähnlich verhält es sich bei der Lebercirrhose und dem Hyperthyreoidismus. In beiden Fällen sind erhöhte SHBG - Werte gemessen worden (MORLEY , MELMED 1979).

Bei der kompletten und inkompletten testikulären Feminisierung und dem Reifensteinsyndrom (inkompletter Pseudohermaphroditismus masculinus) wurde herausgefunden , daß der Ausprägungsgrad der Feminisierung nicht von der Höhe des Östradiolspiegels, sondern vielmehr vom Grad der Androgenresistenz abhängt (WILSON AIMAN 1980).

Bei bestehender Adipositas gibt es Fälle, die obwohl eine erhöhte Aromataseaktivität im peripheren Gewebe gemessen wurde, keine Gynäkomastie aufwiesen (SCHNEIDER , KIRSCHNER 1979).

Zusammenfassend bedeutet dies, daß statt einzeln betrachteter Absolutwerte der Hormone im Serum viel entscheidender das Verhältnis der Hormone zueinander ist.

Wie komplex die Einflüsse auf die Hormonspiegel sind, lassen die Vielzahl von chronischen Erkrankungen, die mit Gynäkomastie einhergehen können, nur erahnen.

Beispielsweise wurde Brustdrüsenwachstum bei Hyperprolaktinämie, bei AIDS, dialysepflichtigen Patienten, bei Colitis ulcerosa, cystischer Fibrose, Leukämie oder Lymphomerkrankung beobachtet.

Nach und auch während chronischer Hungerphasen tritt nicht selten eine Gynäkomastie auf, welche zum Beispiel bei Kriegsgefangenen beschrieben wurde (JACOBS EC 1948).

Exogene Faktoren wie die Einnahme von Medikamenten , Genuß - oder Giftstoffen können eine Gynäkomastie entstehen lassen. Erwähnt seien hier Psychopharmaka wie Benzodiazepine, Antidepressiva, Antituberkulostatika, Spironolactone, cardiovascular wirkende Medikamente wie ACE - Hemmer, Digitalis, Calciumantagonisten oder Chemotherapeutika wie Methotrexat, um nur einige zu nennen.

Konsum von Drogen wie Marihuana, Heroin, Methadon, Amphetaminen oder Alkohol kann mit einem Brustdrüsenwachstum bei männlichen Individuen einhergehen.

Das Gleiche gilt für Giftstoffe wie Pflanzenöstrogene, Düngeröstrogene oder Fungizide.

Auf die Hormonsituation können demnach viele exogene und endogene Faktoren Einfluß nehmen. Weiterhin ist entscheidend wie sich diese Hormonverhältnisse im Serum dann tatsächlich auf die Zielzellen auswirken und welche morphologischen Konsequenzen sich für die Brustdrüsenanlage daraus ergeben.

Bei der Pubertätsgynäkomastie scheint es sich ebenso um komplexere hormonelle Zusammenspiele zu handeln.

Übereinstimmend wurde die Brustentwicklung des Jungen zwar oft zu Beginn noch einseitig, doch über den weiteren Verlauf zumeist beidseitig beobachtet.

Dies weist auf ein systemisches endokrines Geschehen hin.

Ein nur kurzzeitig erhöhter Östradiolspiegel zu Beginn des Auftretens der Brustentwicklung ist 1975 von LEE an 12 Gynäkomastiepatienten festgestellt worden, 6 Monate vorher waren die Östradiolspiegel entsprechend den Kontrollgruppen ausgefallen.

Ein erhöhtes Östradiol - Testosteron- Verhältnis ist an 11 von 16 Gynäkomastien von LA FRANCHI ET AL. 1975 gemessen worden.

Dies konnte von BIDLINGMAIER et al. 1975 nicht bestätigt werden, die bei 37 adoleszenten Gynäkomastie - Patienten keine Änderung im Verhältnis von Östrogenen zu Androgenen feststellten.

Ein angelegtes 24 - Std.- Hormonprofil von 8 pubertierenden Jungen ohne, und 11 mit Gynäkomastie, ergaben in der Gynäkomastiegruppe wiederum eine deutliche Fluktuation erhöhter Östradiole und Östrone bei gleichen Testosteron - und Androstendionspiegeln. Dieses zu Gunsten der Östrogene verschobene Verhältnis fiel nachmittags und während der abendlichen Messungen auf (LARGE, ANDERSON 1979).

Passend hierzu wurde 1990 von BIRO et al. an 39 Gynäkomastienprobanden zwar ein nur geringgradig erhöhter Östradiolspiegel gemessen, jedoch fand sich das Testosteron / Östradiol- Verhältnis signifikant erniedrigt im Vergleich zu den Kontrollgruppen.

Eine umfangreiche Studie über die hormonelle Änderung während der Pubertät, im Vergleich 30 Jungen mit Gynäkomastie und einer Kontrollgruppe, ergab keinen signifikanten Unterschied im Östradiol - Testosteron - Verhältnis. Vielmehr ließ sich eine über die gesamte Pubertät gemessene Erniedrigung von DHEA, DHEA-Sulfat und Androstendion im Verhältnis zu den Östrogenen (E1, E2) feststellen (MOORE, SCHLAEPFER 1984).

Bei einer großen Gruppe von Jugendlichen (116 Gynäkomastien und 116 Kontrollprobanden) wurden 1990 weder erniedrigte DHEA -S / Östradiol - Quotienten gemessen, noch erhöhte Östradiolspiegel oder abnorme Östradiol / Testosteron - Verhältnisse gefunden. Ein Vergleich der Hormonwerte vor und nach Auftreten der Gynäkomastie ergab bei diesen Probanden einen Anstieg für Östrogene, Testosteron und freies Testosteron, welcher in der Kontrollgruppe nicht zu beobachten war.

Eine Aufteilung in freies Testosteron gegenüber dem Gesamt-Testosteron wies jedoch deutlich niedrigere Werte für das freie Testosteron in der Gynäkomastiegruppe auf, sowohl in den Messungen vor und nach Beginn der Brustentwicklung. Zusätzlich wurden die SHBG - Werte in dieser Gynäkomastiegruppe erhöht nachgewiesen (BIRO LUCKY , 1990). Normalerweise nimmt die SHBG - Bindungskapazität im Laufe der Pubertät bei Knaben rapide ab, so daß zusätzlich zur vermehrten Testosteronbildung mehr freies, aktives Testosteron zirkuliert (Verstärkerfunktion) (HORST et al. 1977, BLANK 1978, LEE 1985, SINNECKER 1990).

Übereinstimmend waren in fast allen Studien die Gonadotropine FSH, LH und das Hormon Prolaktin mitgemessen und als der Norm entsprechend ausgewertet worden. Insbesondere sind die Prolaktinome in der Adoleszenz selten (WILLIG , BOSK 1991).

Zusammenfassend haben die Studien über die Hormonbestimmungen im Serum von Patienten mit Pubertätsgynäkomastie wenig zur Aufklärung der Brustentwicklung beigetragen. Die ermittelten Östradiol- , Testosteron- und DHEA-Serumparameter haben bei den Pubertätsgynäkomastiepatienten keine sicheren und vor allem keine einheitlichen pathologischen Veränderungen gezeigt.

Die Bestimmung von Steroidrezeptoren, wie sie in dieser Studie vorgenommen wurde, beschreibt einen spezifischeren Weg des Hormonnachweises.

Die “ Hormon - Rezeptor - Hypothese“ geht von der Vorstellung einer mehrphasigen Steroidhormonwirkung aus: Nach Aufnahme in die Targetzelle wird das Steroidhormon unter Bildung eines Steroidhormon-Rezeptorkomplexes an ein spezifisches zytoplasmatisches Rezeptorprotein gebunden.

Der zytoplasmatische Steroidhormon-Rezeptorkomplex penetriert unter Transformation zum nuklearen Steroidhormon - Rezeptorkomplex in den Zellkern und assoziiert dort mit dem Chromatin, dem Träger der Erbinformation (JENSEN et al. 1967, 1968, 1969, O'MALLEY 1969, 1971).

Eine genaue Hormonrezeptorbestimmung am Empfängerorgan könnte zur Aufklärung der Pathophysiologie von Pubertätsgynäkomastien beitragen.

Beispielsweise könnte ein erhöhter Östradiol-Rezeptorbesatz die Sensitivität des Brustdrüsengewebes heraufsetzen und trotz normaler Östradiolspiegel eine überschießende Östrogenwirkung am Gewebe auslösen.

Unter der Annahme, daß die nachweisbare Zahl der Steroidrezeptoren durch die auf sie einwirkenden Hormone beeinflusst wird, wäre dies ein indirekter Nachweis der tatsächlichen Hormonspiegel im Serum.

Die in den 70-er Jahren häufig durchgeführte biochemische Bestimmung der Steroidrezeptoren mit der Steroid - Bindungsmethode (dextran coated charcoal) ergab bei allen untersuchten Gynäkomastiepatienten die unterschiedlichsten Ergebnisse, ohne daß hieraus Schlüsse gezogen werden konnten.

Beispielsweise ergab eine nach dieser Methodik durchgeführte Rezeptorbestimmung an idiopathischen Gynäkomastiegeweben in 2 Fällen einen positiven Östrogen - Rezeptor - Nachweis von insgesamt 16 Fällen.

Der Progesteron-Rezeptornachweis war an 4 von insgesamt 16 Patienten positiv (SKOVGAARD , HERMANSEN 1985).

Eine weitere Untersuchung nach dieser Steroidbindungsmethode an Gewebe von 7 Pubertätsgynäkomastien ergab keinen Nachweis für den Östrogenrezeptor und nur einen geringen Nachweis für den Progesteronrezeptor (KOK - ONN LEE ,1989).

Die Methode der biochemischen Bestimmung der Steroidrezeptoren wurde Anfang der 80 -er Jahre von einem weitaus spezifischeren Verfahren ergänzt. Eine genauere Hormonrezeptorbestimmung wurde durch die Entwicklung von polyklonalen und monoklonalen Antikörpern möglich (GREENE et al. 1980).

In dieser Studie sind monoklonale Antikörper verwendet worden.

Ihr Vorteil gegenüber den polyklonalen Antikörpern ist ihre weitreichende Homogenität, das Fehlen unspezifischer Antigen - Antikörper - Reaktionen und auch das geringere Risiko chargenabhängiger Qualitätsschwankungen.

Diese Vorteile werden verständlich wenn die Art der Herstellung dieser monoklonalen Antikörper näher betrachtet werden. Durch die Klonierung von Plasmazellen, die zuvor antigenspezifisch immunisiert worden sind, werden immunchemisch identische Antikörper hergestellt (OSBORN 1984).

Sie sind demnach homogen und monospezifisch gegen ein spezifisches Epitop des Antigens. Das heißt sie reagieren mit nur einer bestimmten Gruppe von Aminosäuren innerhalb eines Proteins. In dieser Untersuchung sind sie spezifisch auf ein Epitop des Proteinrezeptors für Östrogen, beziehungsweise für Progesteron gerichtet.

Viele Studien haben die Methodik der biochemischen Rezeptorbestimmung mit dem immunhistochemischen Verfahren des Rezeptornachweises verglichen und zum Teil gute Korrelationen der Ergebnisse untereinander festgestellt (BECK et al 1986, CHARPIN et al 1986). Gleichzeitig zeigte sich die biochemische Methodik immer dann ungenau, wenn es sich um den Nachweis von geringen Rezeptorkonzentrationen handelte.

Hier ist die Spezifität der monoklonalen Antikörper sehr hoch und erbringt auch bei geringen Konzentrationen einen spezifischen Nachweis.

Trotzdem müssen einige Einschränkungen bei der Anwendung von monoklonalen Antikörpern beachtet werden.

Die Spezifität ist einerseits die hervorragende Eigenschaft der monoklonalen Antikörper, andererseits werden hierdurch unerwünschte Kreuzreaktionen begünstigt. Bereits ein einziges auf mehreren Antigenen vorkommendes Epitop kann zu falsch positiven Ergebnissen führen. Ferner kann sich die immunhistologische Reaktion als negativ erweisen, wenn das einzelne Epitop durch das angewendete Nachweisverfahren denaturiert wurde. Somit können sich ganze Strukturen dem immunhistologischen Nachweis entziehen.

Die in der hiesigen Studie eingesetzten monoklonalen Antikörper für den Östrogen - und Progesteronrezeptor haben sich für das hier angewandte Verfahren bereits seit Jahren bewährt. Die Versuchsreihen sind grundsätzlich nach konventionellen Vorschriften durchgeführt worden. Durch die Erkenntnis aus vorausgegangenen eigenen Testreihen sind zweierlei Abweichungen vorgenommen worden.

Es ist ein anderer Puffer als üblich eingesetzt worden, welcher in den Ergebnissen deutlich die Hintergrundfärbung und damit unspezifische Bindungen herausfiltern konnte. Darüber hinaus zeigten sich exaktere Färbesignale der Zellkerne mit diesem neu eingesetzten Puffer.

Der Antikörpertiter wurde individuell abgestimmt auf eine Inkubationszeit von 40 Minuten hinsichtlich einer optimalen spezifischen Anfärbung und geringer Hintergrundfärbung.

Der Antikörpertiter wurde auf eine 1:50 Verdünnung im Mikroliterbereich festgelegt.

Zusätzlich ist die Reproduzierbarkeit innerhalb der Methodik nachgewiesen worden. Es konnten somit Tag - zu - Tag - Abweichungen und individuelle Schwankungen in der Durchführung der Versuchsreihe ausgeschlossen werden.

Eine weitere Überprüfung des Testverfahrens hat durch die Verwendung von positiven Gewebekontrollpräparaten stattgefunden. In diesem Fall sind Gewebeproben von Mammatumoren mit sicher positiven Antigenexpressionen eingesetzt worden. Es sind stark positive Kontrollen aber auch schwach positive zum Einsatz gekommen, da dann sowohl die Anwesenheit des Antigens als auch ein möglicher Sensitivitätsverlust des Antikörpers überwacht werden konnte.

In den Veröffentlichungen fanden sich zwei Studien , die sich mit dem immunhistochemischen Rezeptorstatus an Gynäkomastiegewebe beschäftigt haben. In beiden Studien handelt es sich um Gynäkomastiegewebe von zumeist älteren Probanden und nicht um die reine Pubertätsgynäkomastie.

Eine immunzytochemische Östrogenrezeptor - Bestimmung mit monoklonalen Antikörpern an 26 Patienten mit Gynäkomastie ergab zu 89 % des Probandengewebes einen positiven Nachweis.

Das Probandenalter lag zwischen 18 und 80 Jahren.

Alle Östrogenrezeptoranfärbungen ließen sich nukleär im Brustdrüsenepithel nachweisen. Es fiel eine heterogene Anfärbung von Epithelzelle zu Epithelzelle auf, ebenso war die Quantität der Anfärbung von Fall zu Fall sehr verschieden.

Die Gewebeproben beider Brüste hingegen waren hoch konkordant im Östrogenrezeptorstatus.

Eine Beziehung zwischen der Histopathologie und dem semiquantitativ ausgewertetem ER - Status ließ sich nicht herstellen (ANDERSEN , SKOVGAARD , 1987).

In einer Studie von BURGESS et al von 1992 wurde Gewebe von 7 Patienten mit idiopathischer Gynäkomastie auf einen immunhistochemischen Rezeptornachweis untersucht. Hier lag das Probandenalter zwischen 19 und 60 Jahren.

Alle 7 Fälle zeigten eine Anfärbung für den Östrogen - und den Progesteronrezeptor in den Epithelzellen des Brustdrüsengewebes.

In beiden vorbenannten Studien ist der monoklonale Antikörper :ER-ICA (H222) von der Firma ABBOTT benutzt worden.

In dieser Studie sind die Antikörper der Firma DAKO verwendet worden, die sich seit mehreren Jahren im Institut für Pathologie bewährt haben.

In den Veröffentlichungen ließ sich bisher keine Studie finden, die sich mit dem immunhistochemischen Rezeptorstatus speziell an Pubertätsgynäkomastiegewebe von männlichen Jugendlichen und Adoleszenten beschäftigt.

In keiner Studie wurde bisher Bezug genommen zu einer gesunden Kontrollgruppe.

Dies ist in der vorgelegten Studie geschehen.

Sie beinhaltet 33 Fälle von idiopathischer Pubertätsgynäkomastie. Das Patientenalter rangiert entsprechend zwischen 12 und 22 Jahren.

Die immunhistochemischen Untersuchungen aller 33 Pubertätsgynäkomastiefälle, beziehungsweise deren durch Mammaablation gewonnenem Brustgewebe, sind alle positiv im Nachweis für den Östrogen- und den Progesteronrezeptorbesatz ausgefallen.

Der Östrogen - und Progesteronrezeptorbesatz läßt sich demnach nahezu in allen Brustgeweben von Gynäkomastiepatienten höheren Alters und in allen Brustgeweben von Pubertätsgynäkomastien nachweisen (ANDERSEN et al, BURGESS et al 1992, vorliegende Studie).

In dieser Studie waren 30 - 60 % der Epithelzellen des Brustdrüsengewebes für den Östrogenrezeptor positiv. Die Anfärbung für den Progesteronrezeptor lag darüber mit einem Nachweis zwischen 40 und 90 % der Epithelzellen (Diagramm 2).

Dies ergab Durchschnittswerte für den Östrogenrezeptor von 45,5% und für den Progesteronrezeptor von 64,4%.

Außer der reinen Auszählung welche Epithelzellen angefärbt sind, muß in der Auswertung der Immunreaktion auch die Qualität der Anfärbungen berücksichtigt werden.

Es werden hier die quantitativen Ergebnisse zusätzlich mit der Intensität der Anfärbung in einem Multiplikationsverfahren verrechnet. Diese semiquantitative Schätzung berücksichtigt somit auch die Stärke der Immunantwort (Abbildung 1 und 2).

Durch diese Art der Auswertung fielen drei Fälle unter den Pubertätsgynäkomastien mit einer nur schwachen Anfärbung für die Rezeptoren auf, während die restlichen 29 Fälle überwiegend eine starke Anfärbung und in nur einigen Fällen eine mäßige zeigten. Diese drei Fälle ähnelten sich in der semiquantitativen Auswertung als auch in den histologischen Erscheinungsbildern mit viel Fettgewebe dem in dieser Studie untersuchten und gesicherten Fall einer Adipositasgynäkomastie.

Leider konnten keine näheren Angaben zu diesen archivierten drei Fällen von Pubertätsgynäkomastie in Erfahrung gebracht werden.

Werden diese drei Fälle aus den idiopathischen Pubertätsgynäkomastien herausgerechnet und den Adipositasgynäkomastien zugerechnet, verändern sich die Rezeptorbestimmungen im Durchschnitt wie folgt.

Der Östrogenrezeptornachweis liegt bei 46% und der Progesteronrezeptornachweis deutlich höher bei 68 %. Bei den angenommenen Adipositasgynäkomastien fallen ein höherer Nachweis für den Östrogenrezeptor als für den Progesteronrezeptornachweis auf.

Bei den Pubertätsgynäkomastien ist diese Situation umgekehrt. (Diagramm 3 ,siehe Seite 20)

Dies kann bedeuten, daß die Pathophysiologie der Brustentwicklung in der Pubertätsgynäkomastie eine andere ist, als die in der Adipositasgynäkomastie.

Die Brustentwicklung die mit Adipositas einhergeht, erklärt sich durch das hauptsächlich im Fettgewebe vorkommende Enzym, die Aromatase. Sie konvertiert adrenale und testikuläre Androgene in Östrogene (HANDS , GREENALL et al 1991).

Der erhöhte Progesteronrezeptorbesatz gegenüber dem Östrogenrezeptornachweis bei den Pubertätsgynäkomastien kann für die Annahme einiger Autoren sprechen, daß diese Brustepithelzellen tatsächlich mehr Progesteronrezeptoren enthalten (KUTTEN et al 1981, KING 1989, MALET, GOMPEL 1991).

In dieser Studie sind bei identischen Versuchsreihen an ähnlichen Schnittebenen eine Mehranfärbung von Epithelzellen für den Progesteronrezeptor gegenüber dem Östrogenrezeptor zu erkennen. Zusätzlich läßt sich eine zytoplasmatische Anfärbung erkennen, wie sie bei dem Nachweis für den Östrogenrezeptor nicht vorkommt. (Photo 4a,b ;5a,b ; siehe Seite 24,25)

Die Spezifität des monoklonalen Antikörpers für den Progesteronrezeptor scheint hierbei erweitert auf Epitope zu sein, die auch zytoplasmatisch vorkommen.

Dies läßt sich durch die intrazytoplasmatische Expression der Rezeptoren an den Ribosomen und der entsprechenden messenger-RNA erklären.

Anhand dieser Ergebnisse stellt sich die Frage nach dem Rezeptorbesatz im Vergleich zu physiologischen weiblichen und männlichen Brustgeweben.

Es sind umfangreiche ER - und PR - Bestimmungen anhand der biochemischen Steroid - Bindungsmethode an pathologischen Brustgeweben durchgeführt worden.

Übereinstimmend wurden die höchsten ER - und PR - Werte an malignen Geweben gemessen, in geringerer Zahl an Fibroadenomen der Brust und benignen Brustdysplasien (MARTIN KUTTENN et al. 1978 , BALAKRISHNAN YANG 1987 , ALLEGRA LIPPMANN 1979 , GIANI D 'AMORE 1986 , ROSEN et al. 1975).

Um annähernd einen Vergleich mit physiologischem Brustgewebe zu haben, wurde vom Randgebiet von Mammatumoren Gewebe entnommen . Hier zeigte sich jedoch makroskopisch als auch mikroskopisch kein physiologisches Bild.

Diese Ergebnisse konnten somit auch nicht sicher verwertet werden.

Es wurden die Gewebe von Reduktionsplastiken, die bei operativen Eingriffen der Brustverkleinerung gewonnen wurden, untersucht.

Alle bisherigen Tests mit Östrogen - und Progesteronrezeptorbestimmungen an diesen „normalen“ Brustdrüsengeweben ergaben übereinstimmend niedrigere Werte als in dysplastischen, fibroadenomatösen oder gar malignen Brustgeweben.

Beispielsweise ließen sich an 18 Fällen von Mammareduktionsplastiken immunhistochemisch nur 7 % aller Epithelzellen für den Östrogenrezeptor anfärben (PETERSEN HOYER 1987 , CARPENTER GEORGIADÉ 1989).

1992 wies BURGESS et al. in einer Untersuchung an 10 Fällen von Mammagewebe aus Reduktionsplastiken in 4 Fällen einen Östrogenrezeptor und in 9 Fällen eine Anfärbung für den Progesteronrezeptor nach.

Ob es sich bei den aus Mammareduktionsplastiken gewonnenem Brustdrüsengewebe um normales Gewebe handelt, ist auch zweifelhaft. Pathologen beschreiben das histologische Bild hier sogar dem der Gynäkomastie ähnlich. Es wurde eine Proliferation von irregulär angeordneten Milchgängen mit verschiedenen Graden der intraductalen Papillomatosis kombiniert mit einem hypozellulärem Stroma gefunden (OBERMAN HA 1979).

Eine von RICKETTS and TURNBULL 1991 durchgeführte Rezeptorbestimmung bezog sich allein auf normales weibliches Brustgewebe. Hierzu wurden klinische und strenge histologische Kriterien angesetzt.

Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen bei der ER - ICA (immunocytochemischer assay) und der immunhistochemischen ER und PR - Bestimmung an FNA (fine needle aspiration) und Brustsektionen , ergab an den Brustgewebsschnitten mittels des immunhistochemischen Nachweises die größte Genauigkeit und Reproduzierbarkeit (benutzte AK: ER = H222 , PR = KD68).

Die immunhistochemische Versuchsreihe wurde erschwert, weil fast 20% der angefertigten Schnitte nicht verwendet werden konnten, da sie keine oder eine zu geringe Anzahl (< 50) an epithelialen Zellen aufwiesen.

6 von 40 Patienten schieden hierbei komplett aus , sie enthielten in keiner der Brustgewebeproben Epithelzellen.

Von den übrigen 56 Gewebeproben von 34 Patienten ließen sich 60 % für den ER anfärben. 9 Patienten (26 %) waren hierbei komplett ohne eine Anfärbung für den ER aufgefallen. Für den PR waren von 53 ausgewerteten Gewebeschnitten von 34 Patienten 80 % positiv. 7 Patienten waren hierbei komplett PR - negativ.

Die Quantität und Qualität der Anfärbung der Rezeptoren fiel hier sehr unterschiedlich aus.

Die Östrogenrezeptoranfärbung imponierte nur stellenweise und dann fokal gehäuft.

Die Heterogenität bestand nicht nur von Patientenfall zu Patientenfall , sondern auch innerhalb eines Falles .

Die PR - Anfärbungen waren insgesamt prominenter als die Epithelzellanfärbung für den ER.

Histologisch fielen eher schmale Brustdrüsengänge auf, die oftmals eine Anfärbung der Epithelzellen in einer Reihe zeigten. In einigen Schnitten zeigten die Läppchenareale fokale Anfärbungen, die eher ein gestreutes , gesprenkeltes Anfärbungsmuster ergaben.

Diese unterschiedlichen Ergebnisse an weiblichen Brustgeweben mit positivem und zum Teil gar keinem Nachweis von Östrogen- und Progesteronrezeptoren wurden in vorherigen Studien bereits beschrieben (FABRIS et al. 1987, BALAKRISHNAN et al. 1987).

Sie legen die Vermutung nahe, daß die Hormonrezeptoren des Brustgewebes zyklusabhängig sind, wie dies am Gewebe des genitalen Traktes und am Endometrium bereits nachgewiesen wurde (PRESS et al. 1986 , LESSEY et al. 1988 ,GARCIA et al. 1988).

Ähnliche zyklusabhängige ER -Rezeptorveränderungen , auch den Progesteronrezeptor betreffend, sind am weiblichem Brustdrüsengewebe 1983 von SILVA et al. anhand der biochemischen Steroidbindungsmethode nachgewiesen worden.

Hier wurden die höchsten ER - Nachweise während der proliferativen Phase des weiblichen Zyklus (3. - 7. Tag) nachgewiesen, während in den anderen Abschnitten des Zyklus zum Teil niedrige Werte für die ER - Rezeptoren gemessen wurden. Der Progesteronrezeptor - nachweis lag am höchsten in der folliculären Phase des Zyklus.

Angesichts des Wissens über die histologische Änderung im Brustgewebe (BÄSSLER R. 1970 , BÄSSLER R 1978) während des menstruellen Zyklus wird hiermit ein physiologisches Korrelat für die Gewebeveränderung geliefert.

Kontrovers wird diskutiert, wann die proliferative Aktivität, gemessen an den mitotischen Teilungen, während des weiblichen Zyklus am höchsten ist (VOGEL , GEORGIADÉ et al. 1981, LONGACRE TA , BARTOW et al. 1986 , FERGUSON , ANDERSON et al. 1982).

Bei der von MARKOPOLOUS et al. 1988 durchgeführten immunhistochemischen ER - Bestimmung an physiologischen FNA - Proben der Brust von 68 Patientinnen waren interessanterweise alle positiven ER - Fälle (31 %) innerhalb der 1. Zyklushälfte den Frauen entnommen worden.

Umgekehrt war keine der 33 Gewebeproben , die aus der 2. Zyklushälfte stammten, ER - positiv.

Die Produktion der Östrogenrezeptoren findet nach dieser Studie in der 1. Zyklushälfte (28. - 11.Tag) statt, wenn die Östradiol- und Progesteronspiegel im Serum relativ niedrig sind.

Zwei weitere Studien bestätigen die immunhistochemisch nachgewiesene Prominenz der Östrogenrezeptoren in der ersten Zyklushälfte (WILLIAMS et al. 1991 , BATTERSBY et al. 1992).

Der Östradiolspiegel steigt erst ab dem 7. Zyklustag. Die Stimulierung der ER - Rezeptoren in den ersten Zyklustagen scheint unabhängig vom Serum - Östradiolspiegel vor sich zu gehen. Es könnte lokal vorhandenes Östradiol dafür verantwortlich sein oder die Expression der Östrogenrezeptoren über andere Signale vermittelt werden.

Es liegen weniger Studien vor, die das Progesteronrezeptorvorkommen im weiblichen Zyklus untersucht haben und die Ergebnisse sind inhomogener ausgefallen.

Ein zyklusabhängiges PR - Vorkommen wurde an 15 Fällen von JACQUEMIER et al. 1990 nachgewiesen. Andere Studien zeigen keine signifikanten Veränderungen der PR während des Zyklus (JOYEUX et al. 1990 , WILLIAMS et al. 1991, BATTERSBY et al. 1992).

Die eigenen Ergebnisse aus den untersuchten weiblichen Brustgeweben aus der Kontrollgruppe im Pubertäts - und Adoleszentenalter (Diagramm 8) stützen die Vermutung einer zyklusabhängigen Östrogenrezeptorveränderung und einer homogenen, zyklusunabhängigen PR - Verteilung. Die ermittelten Östrogenrezeptorbestimmungen differieren auch hier von Fall zu Fall zwischen völligem Fehlen der ER und einer Anfärbung der Epithelzellen bis zu 50 %.

Die Progesteronrezeptoren ließen sich hingegen konstanter in den Epithelzellen zwischen 50 und 80% nachweisen. In einem Fall lag der Nachweis bei nur 30% der Epithelzellen.

Zu welchem Zyklusstadium diese Gewebe entnommen wurden, ist nicht bekannt.

Diese Erkenntnisse deuten auf eine zeitlich versetzte Reaktion zwischen Hormonserumspiegel und Rezeptorexpression hin. Es liefert die Erklärung für den hohen Östrogenrezeptornachweis in den Geweben der Pubertätsgynäkomastien trotz nicht erhöhter Östradiolspiegel.

Scheinbar gibt es eine versetzte Wirkung des Östradiolspiegels auf die Östrogenrezeptorexpression, so daß die Östrogenrezeptoren auch ohne momentan erhöhten Östradiolspiegel am Zielgewebe vorkommen.

Die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Proben von Mammacarcinomen zeigten wie in der Literatur beschrieben einen zyklusunabhängigen, durchgehenden homogenen Rezeptornachweis. In dieser Studie sind sie als Positiv-Kontrollen in jeder Versuchsreihe verwendet worden. Das Phänomen der zyklusabhängigen Östrogenrezeptor - Genexpression ist in den Carcinomgeweben gestört.

Informationen über den Rezeptorstatus an normalen männlichen Brustgeweben waren in den Veröffentlichungen nicht zu finden.

In dieser Studie sind Vergleichsfälle von männlichen normalen Brustgeweben herangezogen worden.

Es fand sich ein deutlich niedrigerer Rezeptorstatus für das männliche normale Brustgewebe im Vergleich zu den Pubertätsgynäkomastiegeweben. (Diagramm 3, siehe Seite 20)

Auch die Intensität der Anfärbungen lag weit unter denen der Pubertätsgynäkomastien. Zum überwiegenden Teil färbten sich nur einzelne Granulabestandteile im Zellkern an. Die Anfärbung fiel nur schwach bis mäßig aus. Während sich bei den Pubertätsgynäkomastien die Zellkerne meist stark und immer komplett markiert darstellten. (Vergleich Photo 3 mit 6, siehe Seite 23, 30)

Dies spricht im Vergleich für eine deutlich niedrigere immunhistologische Reaktion. Es ist in normalem Brustgewebe von männlichen Individuen von einer deutlich niedrigeren Zahl an Östrogen - und Progesteronrezeptoren auszugehen. (Diagramm 4 u. 5, siehe Seite 21)

Der erhöhte Rezeptornachweis für Östrogen und Progesteron in den Pubertätsgynäkomastiegeweben liefert hiermit das pathophysiologische Korrelat für die Brustentwicklung. Das pathomorphologische Korrelat ergibt sich aus der histologischen Begutachtung. Durch die histologische Betrachtung können Erkenntnisse über die Art der Brustentwicklung gewonnen werden.

Die bisherigen histopathologischen Beobachtungen von männlichen Brustgeweben bezogen sich auf die Gynäkomastie und nicht speziell auf die Pubertätsgynäkomastie. Sie fielen sehr variabel aus.

Oft wurde davon ausgegangen, daß die Gynäkomastie durch die Entwicklung der Milchgänge allein (sogenannter juvenile type) charakterisiert ist.

Andere Untersucher glaubten häufig besondere Läppchenstrukturen gesichtet zu haben. Die beobachteten Änderungen des histologischen Bildes bei länger bestehender Gynäkomastie stimmen mit den schon 1972 von BANNAYAN beschriebenen 3 Phasen der Gynäkomastie überein.

Das Bild wechselt in der ersten Phase von einem frühen Stadium mit einer Proliferation der Milchgänge und des Drüsenstromas in eine zweite Phase der Repression der epithelialen Proliferation mit dann zunehmender Fibrosierung und Hyalinisierung des Stromas in der dritten Phase (WILSON et al. 1980 , ANDERSEN & GRAM 1982 , ALLMAN GLASS 1994).

Diese histologischen 3 Stadien sind auf die Pubertätsgynäkomastie übertragen worden (LIEBER 1995 , PATRICK MAHONEY 1990) .

Und dies zu Recht, wie es sich aus den eigenen Untersuchungsergebnissen ableiten ließ. Die histologische Begutachtung der hier beschriebenen Pubertätsgynäkomastiegewebe ließen ebenfalls verschiedene Stadien bezüglich der Gängepithelproliferation und des Drüsenparenchyms erkennen.

Die eigene histologische Auswertung anhand von Hämatoxylin - Eosin - Schnitten wies bei 60 % der Pubertätsgynäkomastien eine Gängepithelproliferation in den Milchbrustgängen auf. Diese Fälle korrelierten häufiger mit zellreichem lockerem Drüsenstroma. (Photo 8, siehe Seite 32)

Bei den anderen 40 % der Pubertätsgynäkomastiegewebe lag ein fibrosiertes Brustdrüsenparenchym vor, welches häufiger mit schmalen, weniger proliferativ erscheinenden Milchbrustgängen korrelierte.(Photo 9, siehe Seite 33)

Zu vermuten ist, daß diese Gynäkomastien schon über einen längeren Zeitraum bestanden haben.

In fast allen Pubertätsgynäkomastiefällen ließen sich an den Geweben Epithelknospungen in das Ganglumen hinein nachweisen, welches bisher in der Literatur bezüglich Gynäkomastie nicht erwähnt wurde.(Photo 2, 5a z.Bsp., siehe Seite 22, 25)

Im Vergleich waren in der histologischen Begutachtung der männlichen Vergleichsgruppe weder Gängepithelproliferationen noch Epithelknospungen erkennbar. Das Drüsenstroma war in allen Fällen locker kollagenisiert und zellreich.

Das histopathologische Korrelat der Brust bei Pubertätsgynäkomastie besteht demnach im Anfangsstadium aus proliferierten Milchbrustgängen mit lockerem Drüsenstroma, während es im weiteren Verlauf der Persistenz zunehmend in ein kollagenöses bis fibröses Drüsenparenchym übergeht welches mit schmalen nichtproliferativen Milchbrustgängen imponiert.

Diese histologischen Merkmale des Brustgewebes bei Pubertätsgynäkomastie werden pathophysiologisch von einer erhöhten Anzahl an Östrogen - und Progesteronrezeptoren begleitet.

Wichtig ist nun das Zusammenspiel zwischen Hormonspiegel im Serum und dem Rezeptorbesatz am Zielgewebe genauer zu betrachten. Es drängt sich weiter die Frage auf, wie sich die über den Hormonrezeptor vermittelte Hormonwirkung am Erfolgsorgan tatsächlich auswirkt.

Eine interessante Versuchsreihe ist 1991 von MALET et al. dazu durchgeführt worden. Von Reduktionsmammoplastiken gewonnene Brustepithelzellen wurden kultiviert und eine Östrogen - und Progesteronrezeptorbestimmung durchgeführt, vor und nach Inkubation der Epithelzellen mit verschiedenen Hormonzusätzen.

Waren die Brustepithelzellen Östradiol (E 2) ausgesetzt, stieg sowohl die Zahl der Östrogenrezeptoren (ER) als auch die der Progesteronrezeptoren (PR) deutlich an. Die Färbeintensität nahm ebenfalls zu. Dieser Nachweis ließ sich verzögert mit einem geringen Anstieg am 4. - 5. Tag und einem Maximum am 8.Tag der Inkubation feststellen.

Wurde das gleiche Gewebe mit einem Progesteron - Abkömmling, dem Progestin R 5020, versehen, sank die Anzahl beider Hormonrezeptoren in den Brustepithelzellen deutlich, sogar unter die Ausgangswerte ab. Zusätzlich wurde eine deutliche Reduktion der Färbeintensität beobachtet.

Wurde die Kultur mit beiden Hormonen gleichzeitig inkubiert, pendelten sich die gemeinsamen Rezeptorwerte etwas unterhalb der Ausgangswerte, aber noch oberhalb der Werte aus der Versuchsreihe mit dem alleinigen Progestinzusatz ein.

Eine direkte Dosis - Wirkungsbeziehung zwischen den zugesetzten Hormonen und der Rezeptoranzahl konnte nicht ermittelt werden.

Der stimulierende Effekt von Östradiol und der repressive Effekt von Progestin (R 5020) auf die Östrogen - und Progesteronrezeptoren wurde sowohl am Endometrium (TSENG , GURPIDE 1977 , BAYARD DAMILANO 1978) , an Brustkrebszellen (HOROWITZ et al. 1978) , an fibroadenomatösem Brustgewebe (KUTTENN et al. 1981) und an physiologischen Brustdrüsengeweben (SILVA GEORGIADÉ 1983 , WELSCH et al. 1983 , MC MANUS et al. 1984) ebenfalls beobachtet.

Östradiol stimuliert scheinbar die eigene Aktivität der Östrogenrezeptoren über die gesteigerte Proteinbiosynthese. Auch die Aktivität von Progesteronrezeptoren wurde deutlicher, indem auch hier die Rezeptoren vermehrt exprimiert wurden.

Hingegen wirkte Progestin insgesamt limitierend auf die Rezeptorbildung von ER und PR (REE et al. 1989 , READ , SRIDER 1989 , MALET , GOMPEL 1991).

Diese Regulation der Steroidrezeptoren in vitro besagt, daß Östradiol als Zellwachstumsfaktor fungiert und daß Progesteron ein Kontrollfaktor ist, der für die Zelldifferenzierung verantwortlich ist.

Es ist bekannt, daß Progesteron einen Einfluß auf die Zelldifferenzierung des Milchgangsystems hat (SILBERNAGEL , DESPOPOULOS).

Gestützt werden diese Aussagen, wenn weitere Versuchsreihen dazu herangezogen werden.

Ein Enzym, die 17 β - Hydroxysteroid - Dehydrogenase ist ein Marker für die Epithelzelldifferenzierung und dieser Marker wird in seiner Aktivität durch Progestinzugabe gesteigert (GOMPEL MALET 1986, MALET GOMPEL SPRITZER 1986).

Daß Östradiol als stimulierender Zellwachstumsfaktor angesehen werden kann, verdeutlicht ein in vitro durchgeführter Test von LAIDLAW et al. von 1995.

Hier ist normales Brustgewebe in Nacktmäuse subcutan implantiert worden, um diese Mäuse anschließend mit Östradiol - und Progesterongaben zu konfrontieren.

Dann wurde die proliferative Aktivität der Brustimplantate in der Maus durch die Zunahme der Steroidrezeptorexpression und durch den Anstieg der Expression von Thymidin immunzytochemisch gemessen.

Es konnte 7 Tage später eine signifikante Korrelation zwischen der Thymidinexpression als Marker des Zellwachstums und der verabreichten Menge an Östradiol an diesen Brustgeweben festgestellt werden (LAIDLAW et al. 1995).

Analog dazu war diese Zellproliferation des Brustgewebes durch Progesteronzusatz nicht zu provozieren.

Beide Hormonrezeptorerhöhungen , wie sie in den Pubertätsgynäkomastien nachgewiesen wurden, wären nach den zuvor beschriebenen Erkenntnissen als ein Ergebnis von Östradioleinflüssen zu interpretieren. Erhöhte Plasma - Östradiol - Spiegel konnten jedoch bei den Pubertätsgynäkomastien nicht nachgewiesen werden, so daß andere Erklärungen herangezogen werden müssen.

Die genannten in vitro durchgeführten Versuchsreihen haben eine zeitlich verzögerte Reaktion von 5 - 7 Tagen zwischen Östradiolgabe und Rezeptorexpression gemessen.

Es sind demnach nicht kontinuierlich erhöhte Östradiolspiegel erforderlich um das Brustwachstum zu unterhalten.

Spitzen von Östradiolspiegel könnten dem Untersucher bei nicht kontinuierlicher und über Tage anhaltenden Messungen entgangen sein.

Denkbar ist bei der Pubertätsgynäkomastie ebenso ein veränderter hormoneller Spiegel mit Östradiolerhöhung der nur begrenzt zu Beginn der Brustentwicklung auftritt und einen Prozeß der Brustentwicklung in Gang setzt.

LEE et al. hat 1975 eine solche vorübergehende Östradiolspiegelerhöhung an 12 Jugendlichen nachgewiesen, die er vor und zu Beginn der Brustentwicklung untersucht hat.

Es ist wahrscheinlich, daß die spezifischen Östrogenrezeptoren der Mamma selbst den Wachstumsprozeß unterhalten, oder unter zur Hilfenahme von anderen Mediatoren.

Die meisten Hormonmessungen sind vorgenommen worden bei schon länger bestehender Pubertätsgynäkomastie und haben selten Hormonspiegel über längere Zeiträume erfaßt.

Es gibt weitere Hinweise die vermuten lassen, daß die länger bestehenden Pubertäts-gynäkomastien keiner Hormonstimulierung mehr unterliegen.

Die Vermutung ergibt sich einerseits aus der histologischen Veränderung die das Brustgewebe in der Entwicklung bis hin zur eingestellten Epithelzellproliferation mit fibrosiertem Drüsenparenchym durchläuft.

Es spricht auch das schlechtere Ansprechen einer antiöstrogenen Therapie bei schon länger bestehender Pubertätsgynäkomastie dafür.

Es ließen sich in dieser Dissertation von 17 Gynäkomastiepatienten die gemessenen Östradiolspiegel im Hormonlabor finden. Alle Östradiolbestimmungen lagen hier im Normbereich.

Bei der Recherche sämtlicher Veröffentlichungen die sich mit den Hormonparametern im Serum von Gynäkomastien und Pubertätsgynäkomastien beschäftigt haben, zeigt sich, daß das Verhältnis von Östrogenen und Androgenen und nicht einzeln betrachtete Absolutwerte der Hormone entscheidend sind.

Beispielsweise ergaben Untersuchungen an 30 Jugendlichen mit Brustentwicklung normale Östradiolspiegel aber erniedrigte Androgenspiegel von DHEA (Dehydroepiandrosteron), DHEA - Sulfat und Androstendion (MOORE , SCHLAEPFER et al. 1984).

Es hat auch eine Untersuchung gegeben, die an 116 Pubertätsgynäkomastiepatienten kein verändertes Verhältnis zwischen DHEA und Östradiol feststellen konnten. Hier fiel jedoch in den Messungen vor und nach Beginn der Brustentwicklung ein Mißverhältnis zwischen dem Gesamttestosteron und freiem Testosteron auf.

Die Werte für das freie und damit aktive Testosteron fielen in der Pubertätsgynäkomastiegruppe im Gegensatz zur Kontrollgruppe deutlich niedriger aus. Zusätzlich wurden die SHBG - Werte in dieser Gynäkomastiegruppe erhöht nachgewiesen (BIRO , LUCKY 1990).

Das Sexualhormon bindende Globulin (SHBG) spielt durch seine Transportfunktion für Östradiol, Testosteron und Dihydrotestosteron eine entscheidende Rolle. Es besteht eine besonders hohe Affinität des SHBG zum Testosteron, so daß bei einer Erhöhung wie es in der vorgenannten Studie nachgewiesen wurde, relativ mehr Testosteron gebunden vorliegt.

Dieses Mißverhältnis kann ohne eine Gesamthormonspiegel - Veränderung im Serum ein relatives Überwiegen der aktiven Östradiole gegenüber den aktiven Testosteronen am Zielort bedeuten. Die gemessenen absoluten Hormonspiegel im Serum sind demnach nicht gleichzusetzen mit der tatsächlich stattfindenden Hormonwirkung am Zielgewebe.

Das SHBG spielt durch seine Transportfunktion für die Sexualhormone und durch seine besondere Affinität zum Testosteron, wodurch er den Anteil an freiem aktiven Testosteron bestimmt, eine große Rolle (SINNECKER GHG 1993).

An dieser Stelle muß kontrovers diskutiert werden, daß nicht nur die freie Sexhormonfraktion aus dem Serum , sondern auch der SHBG - gebundene Anteil biologisch aktiv ist (SAKIYAMA et al. 1988, ROSNER 1990, SINNECKER 1993).

Um Einblicke in die am Gewebe tatsächlich vorhandene Hormonsituation zu bekommen , muß der Mechanismus des Transportes der Steroidhormone in die Zelle genauer betrachtet werden.

Ein möglicher Spiegel für diesen Vorgang dürfte das SHBG selbst sein.

Neue Erkenntnisse lassen vermuten, daß das SHBG außer der Transportfunktion der Sexualsteroiden im Serum auch eine Transduktionsfunktion durch die Zellmembran hindurch für die Sexualhormone in die Zelle hinein wahrnimmt (SINNECKER et al. 1998, PORTO et al. 1991).

Es sind Rezeptordomänen für SHBG und dem SHBG / Sexsteroid - Komplex an Membranen von normalen Prostatazellen (HRYB et al. 1985) , von endometrialem Gewebe (STREL 'CHYONOK et al. 1984, AVVAKUMOV et al. 1986 , FORTUNATI et al. 1991) , und an humanen Brustkrebszellen (PORTO et al. 1992) nachgewiesen worden.

Auch intrazellulär konnte das SHBG an diesen Geweben beobachtet werden (TARDIVEL - LACOMBE et al. 1984 , SINNECKER et al. 1989 , 1990, PORTO et al. 1990).

Ob das intrazellulär nachgewiesene SHBG - Protein ein endogenes Zellprodukt ist oder per Endozytose des plasmatischen SHBG - Carrier - Proteins in die Zelle gelangt ist, mußte zunächst noch ungeklärt bleiben.

Interessant war nun die Frage zu klären, ob über den SHBG - Nachweis an den Zielzellen Rückschlüsse auf den individuellen, intrazellulären Sexhormonmetabolismus möglich sind.

Zu dieser Frage nimmt eine Studie von SINNECKER et al von 1994 Stellung.

In dieser Untersuchung sind die intrazellulären SHBG - Anteile in den Epithelzellen von weiblichen Brustgeweben mit einem polyklonalen Antiserum immunhistochemisch bestimmt worden. Dieses Antiserum wurde gegen humanes Sex - hormone - binding globulin entwickelt (KHAN et al. 1982) und auf seine Monospezifität getestet (SINNECKER, KÖHLER 1989). Die zytoplasmatische Auswertung für das SHBG ist hier unterschiedlich ausgefallen. Es tauchten fokale und nicht kontinuierliche Anfärbungen für das SHBG an diesen weiblichen Brustgeweben auf.

So ähnlich sind die Östrogenrezeptoranfärbungen an physiologischen Brustgeweben in der Studie von RICKETTS et al von 1991 beschrieben worden.

Diese Ähnlichkeit von Östrogenrezeptor - und SHBG - Anfärbung fiel ebenfalls innerhalb der voran erwähnten Studie von SINNECKER et al. an den proliferierenden benignen Mammageweben auf. In diesen Fällen der erhöhten Proliferation zeigte sich eine stärkere Anfärbung sowohl für den Östrogenrezeptor als auch für das Sexualhormon bindende Globulin.

Diese Parallele im Vorhandensein von ER und SHBG kann eine gemeinsame physiologische Funktionskette im Sexualsteroidmetabolismus bedeuten.

Diese Korrelation war an malignen Brustkrebszellen in derselben Studie von SINNECKER nicht mehr zu beobachten. Unabhängig von der ER - Anfärbung wurden SHBG - positive und SHBG - negative Brustkrebszellen nachgewiesen.

Die möglicherweise physiologische endokrine Funktionskette, die über das zytoplasmatische SHBG auf den nukleären Östrogenrezeptor wirkt, könnte bei einigen Brustkrebstumoren gestört sein.

Es würde erklärend dazu beitragen, warum trotz ER - positiven Nachweises Mammatumoren zu 40 % nicht auf eine antiöstrogene Hormontherapie ansprechen.

1995 wurde von PORTO , LAZARI et al. die Funktion der Internalisierung und intrazellulären Signaltransduktion des SHBG - bindenden Hormonrezeptors experimentell nachgewiesen.

Die Bindung von SHBG an die Membran von MCF - 7 Brustkrebszellen und die zelluläre Endozytose wurde elektronenmikroskopisch nachgewiesen.

Es wurden parallel zur Internalisierung des SHBG die stattfindende biochemische Signaltransduktion erfaßt.

In den Ergebnissen zeigte das ungebundene SHBG in Interaktion mit der Membran der MCF - 7 Zellen eine zeit - und konzentrationsabhängige Erhöhung der Adenylat- Cyclase - Aktivität. Die c'AMP - Konzentration akkumulierte dadurch signifikant nach oben. Unter versuchsweisem Zusatz von Dihydrotesteron stieg die c'AMP - Konzentration nochmals höher an.

Der Nachweis, daß SHBG zusammen mit testikulärem, extrazellulärem Protein im Komplex gebunden , den intrazellulären c'AMP - Gehalt erhöht, läßt nach der genauen Funktion dieses biochemischen Schrittes fragen und dessen Einflußnahme auf die Steroidrezeptoren.

Eine Studie von 1990 (DENNER , WEIGEL et al.) beschreibt beispielsweise eine c'AMP - vermittelte Modulation der Progesteronrezeptoren durch Phosphorylierung.

Diese Ergebnisse stützen die Hypothese, daß extrazelluläres SHBG alleinig und auch zusammen mit den Testosteronen ein Regulator für die zelluläre Funktion durch den Membranrezeptor , gekoppelt mit der Adenylatcyclase darstellt.

Wie Östradiol die biochemische Signaltransduktion beeinflusst , ist experimentell noch nicht erfaßt worden.

Unklar bleibt auch, ob die ausgelöste Signaltransduktion einen essentiellen Schritt zur Zellaktivierung darstellt, oder ob es sich um einen speziellen Mechanismus im Steroidstoffwechsel handelt.

Ist die Funktion des SHBG tatsächlich ein notwendiger Schritt zur Vermittlung der hormonellen Wirkung der Steroide am nukleären Rezeptor, könnte die Antwort für die Pathogenese der jugendlichen Gynäkomastie auch hier liegen.

Die 1994 von SINNECKER et al beschriebenen ähnlichen Anfärbungsmuster zwischen intrazellulärem SHBG und nukleären Östrogenrezeptoren an physiologischen Brustgeweben wären auch durchaus denkbar für das Pubertätsgynäkomastiegewebe.

Somit würde das SHBG lediglich ein Spiegel für das Östrogenrezeptorvorkommen darstellen. Vielleicht liegt das SHBG - und Östrogenrezeptorvorkommen in den Epithelzellen des Pubertätsgynäkomastie - Gewebes verändert vor und weist auf einen möglichen Pathomechanismus hin.

Denkbar wäre eine gesteigerte intrazelluläre SHBG - vermittelte Signaltransduktion, die die Aktivität der Östrogen - und Progesteronrezeptor heraufsetzt, bzw. deren Expression fördert.

In dieser Studie sind alle 33 Pubertätsgynäkomastiefälle und alle Kontrollgruppen auf den SHBG - Rezeptor nach einer bewährten Methodik untersucht worden.

Das Pubertätsgynäkomastiegewebe ließ sich in allen 33 Fällen für den SHBG - Rezeptor anfärben.

Die Markierungen zeigten sich ausschließlich zytoplasmatisch. In einigen Fällen färbte sich fast alles angeschnittene Gangepithel an, in anderen Fällen nur einige Zellen.

Quantitativ geschätzt lag der SHBG - Nachweis zwischen 2% - 70 %.

Die Ergebnisse entsprechen ungefähr denen an normalen Mammageweben, die aus Makromastiegeweben und von gutartigen Tumoren von gesunden Frauen gewonnen wurden. Vielleicht sind einige der Pubertätsgynäkomastiefälle in größeren Anteilen positiv geschätzt worden (MEYER, SINNECKER 1994, persönliche Mitteilung von Meyer / Manchester).

Dieses Ergebnis stützt die Idee des erhöhten SHBG - Nachweises bei Pubertätsgynäkomastien, welches möglicherweise die Aktivität der Östrogen - und Progesteronrezeptoren erhöht hat.

An dieser Stelle soll ganz klar zum Ausdruck kommen, daß die vorbenannte Schlußfolgerung eine lediglich denkbare Möglichkeit wäre.

Nicht sicher ist, ob durch die ähnlichen Anfärbungsmuster von SHBG - und Östrogenrezeptoren an physiologischen Brustgeweben (SINNECKER et al 1994) hier auch tatsächlich ein hormonvermittelnder Zusammenhang besteht.

Es ist nicht nachgewiesen, daß die SHBG - negativ ermittelten Mammatumoren auch diejenigen sind, die auf eine Hormontherapie nicht ansprechen.

In dieser Studie ist kein sicherer erhöhter SHBG - Nachweis in den Pubertätsgynäkomastien gegenüber physiologischen weiblichen Brustgeweben gefunden worden.

Aussagekräftiger wäre hier ein doppelimmunhistochemischer Ansatz für nukleäre Östrogen - und Progesteronrezeptoren und zytoplasmatische SHBG - Rezeptoren, was aber aus methodischen Gründen zu erstellen nicht möglich war.

Das Kontrollgewebe beiderlei Geschlechtes ließ sich bis auf einen Fall nicht für den SHBG - Rezeptor anfärben.

Dieses Ergebnis ist unverständlich, da auch physiologisches weibliches Brustgewebe in den Altersstufen der Pubertät und Adoleszenz unter den Kontrollgeweben waren und alle im vorangegangenen Versuch Östrogen - und Progesteronrezeptoren aufwiesen.

Es muß angezweifelt werden, ob das angewandte Nachweisverfahren für das SHBG an diesen Kontrollgruppen aus der Rechtsmedizin geeignet ist. Möglicherweise ist der zytoplasmatische SHBG - Rezeptor post mortem im Gegensatz zu den nukleären Östrogen - und Progesteronrezeptoren durch Autolyse nicht mehr nachweisbar.

Unbestritten dürfte sein, daß ein **relativ** zu hoher Östrogeneinfluß an der Zielzelle bei den Pubertätsgynäkomastiepatienten vorliegt oder für einen bestimmten Zeitraum vorgeherrscht haben muß.

Die Östrogen - und Progesteronrezeptoren sind nachweislich in dieser Gruppe den Kontrollgruppen gegenüber erhöht, wie aus dieser Studie hervorgeht.

Eine Expression von Östrogen - und Progesteronrezeptoren wird aus experimentell gewonnenen Erkenntnissen durch Östradiol hervorgerufen (MALET 1991).

Die bisherigen zahlreichen Untersuchungen an Pubertätsgynäkomastien haben im Serumspiegel jedoch keine erhöhten Östradiolspiegel nachweisen können. Die Erklärung liegt demnach in einer zeitlich versetzten Wirkung zwischen Östradiolspiegel und Östrogenrezeptoren. Für diese Theorie gibt es aus experimentell gewonnenen Erkenntnissen wie zuvor schon erwähnt, Beweise.

Beschrieben wurden hier im weiblichen Zyklus eine Östrogenrezeptorexpression in der ersten Zyklushälfte, wenn die Östradiolspiegel im Serum relativ niedrig sind (MARKOPOLOUS 1988). In vitro durchgeführte Versuchsreihen haben eine zeitlich verzögerte Reaktion von 5 - 7 Tagen zwischen Östradiolgabe und Rezeptorexpression gemessen (MALET 1991).

Vielleicht sind die Serumspiegel der Pubertätsgynäkomastien nicht kontinuierlich genug überwacht worden.

Die aus dieser Studie heraus gewonnenen Erkenntnisse lassen eher vermuten, daß es zu Beginn des Brustwachstums bei diesen pubertierenden Knaben zu einem relativ erhöhten Östradiolspiegel gekommen ist.

Ein Ungleichgewicht im Verhältnis der Östrogene zu den Androgenen scheint die Pathophysiologie der Brustanlage bei pubertierenden Knaben in Gang zu setzen. Unterstützt wird diese mögliche Erklärung durch die Ergebnisse der Studie von BIRO LUCKY von 1990. Wie schon erwähnt, wurden hier die Hormonspiegel von Jugendlichen vor und nach Auftreten der Gynäkomastie gemessen und mit einer gleich großen Kontrollgruppe verglichen.

Es fielen deutlich niedrigere Hormonspiegel für das freie, aktive Testosteron zusammen mit einem SHBG - Anstieg in der Gruppe der Pubertätsgynäkomastien auf.

Dies könnte der Auslöser für die Entwicklung einer Brustdrüsenanlage bei pubertierenden Knaben sein.

Es ist seit mehreren Jahren bekannt, daß sich Androgene und Östrogene in ihrer endokrinen Funktion antagonisieren können (JAUSSI, WATSON, PAIGEN 1992).

Dies würde die Wirkung bei einem angenommenen Ungleichgewicht der Steroidhormone noch verstärken.

Es gibt weiterhin Hinweise von schon zuvor genannten Literaturstellen und aus den eigenen histologischen Betrachtungen, daß ab einem gewissen Grad der Brustdrüsenanlage diese irreversibel ist. Somit ist auch die Pubertätsgynäkomastie von keiner ständigen Östradiolstimulierung abhängig.

An dieser Stelle sei nochmals auf das SHBG aufmerksam gemacht, welches in der obig aufgeführten Studie unmittelbar durch dessen Erhöhung und Affinität zum freien aktiven Testosteron am Ungleichgewicht beteiligt ist. Hier fehlen weiterreichende Erkenntnisse über die tatsächliche Rolle des SHBG am Steroidstoffwechsel.

Es gibt immunhistochemisch durchgeführte Versuchsreihen, in denen Androgenrezeptoren in den Myoepithelzellen und den Epithelzellen der Milchgänge in der weiblichen Brust nachgewiesen wurden (RUIZVELD de WINTER , TRAPMAN et al. 1991, SHI et al. 1993).

Interessant wäre in diesem Zusammenhang ein Vergleich der Östrogen - und der Androgenrezeptorvorkommen in den Pubertätsgynäkomastiegeweben gegenüber physiologischen männlichen Brustgeweben. Dies könnte besonders in der Entstehungsphase der Brustentwicklung , ergänzend zu den Steroidserumspiegeln und dem SHBG, sehr aufschlußreich sein.

Eine weitere Theorie, die zur Aufklärung der Pubertätsgynäkomastie beitragen könnte, zieht die Möglichkeit einer Mutation der Östrogenrezeptor- Gene in Betracht, die losgelöst vom Östradiolvorhandensein unabhängig zu DNA - Transkription und damit zum Zellwachstum führt (Mc GUIRE et al. 1992).

Eine zum Teil unterschiedliche Expression von Östrogenrezeptor- Varianten ist zwischen normalem und malignem Brustdrüsengewebe anhand von mRNA - Analysen mit der PCR - Methode 1996 von LEYGUE & WATSON bewiesen worden.

Auch bei der Pubertätsgynäkomastie wäre eine Abwandlung in der Expression der mRNA der Rezeptoren durchaus denkbar.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Pubertätsgynäkomastie bedeutet das Wachstum der Brustdrüsenanlagen bei Knaben während der Pubertät.

Diese Studie befaßt sich mit der Östrogen - und Progesteronrezeptorbestimmung an 33 Pubertätsgynäkomastiefällen im Vergleich zu physiologischen Brustgeweben beiderlei Geschlechtes unterschiedlicher Altersstufen. Es wurde ein individuell spezifiziertes immunhistochemisches Nachweisverfahren mit monoklonalen Antikörpern angewandt. Zusätzlich wurden die Gewebe histologisch miteinander verglichen und einer Bestimmung des SHBG - Rezeptors unterzogen.

Der Rezeptornachweis lag in der Pubertätsgynäkomastiegruppe mit 30 - 60 % für das Östrogen und mit 40 - 90 % für das Progesteron deutlich über dem Nachweis in der männlichen physiologischen Kontrollgruppe mit 1 - 20 % für den Östrogenrezeptor und 10 - 40 % für den Progesteronrezeptor.

Diese Ergebnisse zeigen eine erhöhte Rezeptorexpression für Östrogene und Progesteron in den Pubertätsgynäkomastien, ohne daß bislang erhöhte Östradiolspiegel an diesem Patientengut festgestellt werden konnte. Eine Expression von Östrogen - und Progesteronrezeptoren wird nach experimentell gewonnenen Erkenntnissen durch Östradiol hervorgerufen. Die Erklärung für die Pubertätsgynäkomastie ist vermutlich eine zeitlich versetzte Reaktion zwischen Hormonserumspiegel und Rezeptorexpression.

Die eigenen Ergebnisse über den Rezeptorstatus an den untersuchten weiblichen Brustgeweben unterstützen neue Erkenntnisse der zyklusabhängigen, auch hier Östradiol - versetzten Östrogenrezeptorveränderung. Eine zeitlich versetzte Wirkung der Hormone auf die Rezeptorproduktion ist eine mögliche Erklärung für die Pubertätsgynäkomastie ohne nachweisbare erhöhte Östradiolspiegel im Serum.

Unbestritten dürfte sein, daß ein relativ zu hoher Östrogeneinfluß an der Zielzelle bei den Pubertätsgynäkomastien für einen bestimmten Zeitraum vorgeherrscht haben muß.

Es ist bekannt, daß ein zu Gunsten der Östrogene verschobenes Verhältnis die Wirkung der Androgene antagonisieren kann. Dieses Ungleichgewicht zwischen Östrogenen und Androgenen wurde in einer Studie anhand von gemessenen Hormonspiegeln vor und nach Auftreten der Pubertätsgynäkomastie im Vergleich zu einer Kontrollgruppe beobachtet. Ab einem bestimmten Zeitpunkt ist die Entwicklung der Brustdrüsenanlage irreversibel.

Dies zeigt sich in der eigenen histologischen Begutachtung durch die Wandlung des Brustgewebes in ein zunehmend fibrosiertes, kollagenisiertes Drüsenparenchym mit schmalen nicht mehr proliferativen Milchbrustgängen.

In einer Fremdstudie fiel zusätzlich ein erhöhter SHBG - Anstieg im Serum auf. Das SHBG hat eine besonders hohe Affinität zu freiem aktiven Testosteron, es kann somit für das verschobene Östrogen - Androgen - Verhältnis an der Zielzelle mitverantwortlich sein.

Alle in dieser Arbeit untersuchten 33 Pubertätsgynäkomastiefälle zeigten einen positiven SHBG - Rezeptor - Nachweis zwischen 2 und 70 %. Diese Ergebnisse entsprechen den geschätzten Prozentzahlen an normalem Mammagewebe. Es bleibt offen, ob ein erhöhtes SHBG primär bei den Pubertätsgynäkomastien an der Pathophysiologie beteiligt ist, oder ob es sich um einen essentiellen Schritt im Steroidstoffwechsel handelt.

Eine weitere Theorie, die zur Aufklärung der Pubertätsgynäkomastie beitragen könnte, zieht die Möglichkeit einer Mutation der Östrogenrezeptor - Gene in Betracht, die losgelöst vom Östradiolspiegel zur DNA- Transkription und damit zum Zellwachstum führt.

Eine zum Teil unterschiedliche Expression von Östrogenrezeptor - Varianten ist zwischen normalem und malignem Brustdrüsengewebe anhand von mRNA - Analysen bewiesen worden. Auch bei der Pubertätsgynäkomastie wäre eine Abwandlung in der Expression der mRNA der Rezeptoren durchaus denkbar.

Molekularbiologische Genanalysen und ein doppelimmunhistochemischer Ansatz für die Androgen - und Östrogenrezeptoren könnten zur weiteren Aufklärung in der Pathophysiologie der Pubertätsgynäkomastie beitragen. Ein daraus abzuleitendes geeignetes Therapieverfahren könnte in der Zukunft die operative Intervention an diesen Jugendlichen überflüssig machen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

ALLAN R , GLASS R 1994

Gynecomastia

J. Clin.Androl. Vol 23 , 4 : 825 - 837

ALLEGRA J C , LIPPMANN M E , GREEN L et al. 1979

Estrogen receptor values in patients with benign breast disease

Cancer 44 : 228 - 231

AMATRUDA J M , HORMAN M S , POURMOTABBED G

Depressed plasma testosterone and fractional binding of testosterone in obese males

J Clin Endocrinol Metab 47 : 268 - 271

ANDERSEN J A , GRAM J B 1982

Gynecomasty.Histological aspects in a surgical material

Acta Path.Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A 90 ; 185 - 90

ANDERSEN JA , GRAM J B 1982

Male breast at autopsy

Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A 90 ; 191 - 97

BÄSSLER R 1970

The morphology of hormone induced structural changes in the female breast

Pathol. 1970 ; 53: 1 - 89

BÄSSLER R 1978

Pathologie der Brustdrüse 1978

Berlin: Springer Verlag 1978

BALAKRISHNAN A , YANG J , CRAIG W B et al. 1987

Estrogen receptor in dissociated and cultured human breast fibroadenoma epithelial cells

Canc. Lett. , 34 : 233 - 42

BAYARD F , DAMILANO S , ROBEL P , BAULIEU EE 1978

Cytoplasmic and nuclear estradiol and progesterone receptors in human endometrium

J Clin Endocrinol Metab. 46 : 635 - 48

- BERGER U , WILSON P , THETHI S , MCCLELLAND R A (1989)
Comparison of an immunocytochemical assay for progesterone receptor
with a biochemical method of measurement and immunocytochemical
examination of the relationship between progesterone and estrogen receptors
Cancer Res 49 5176 - 79
- BERKOVITZ GD , GUERAMI A , BROWN T R (1985)
Familial gynecomastia with increased
extraglandular aromatization of Plasma
Carbon 19 - Steroid
J Clin. Invest 1985 ; 75 : 1763 - 9
- BANNAYAN G A , HAJDU S I 1972
Gynecomastia : Clinicopathologic Study of 351 Cases
A.J.C.P. 57 : 431 - 437
- BATTERSBY S , ROBERTSON BJ , ANDERSON TJ et al. 1992
Influence of menstrual cycle, parity and oral contraceptive use on steroid
hormone receptors in normal breast
Br. J.Cancer. 65: 601 - 7
- BIDLINGMAIER F , KNORR D (1973)
Plasma testosterone and estrogens in
pubertal gynecomastia
Z Kinderchir 115 : 89
- BIRO , LUCKY (1990)
J.Ped. 116 : 450 - 455
- BLANK B , ATTANASIO A , RAGER K , GUPTA D , (1978)
Determination of serum sex hormone binding globulin (SHBG)
in preadolescent and adolescent boys
J steroid Biochem 42 : 1018 - 23
- BRENTANI M M , FRANCO E L , OSHIMA (1986)
Androgen , estrogen , and progesterone levels in malignant
and benign breast tumors : a multivariate analysis approach
Int J Cancer 38 ; 637 - 642
- CARPENTER C , GEORGIADIS G , McCARTY (1989)
Immunohistochemical expression of estrogen receptor in normal
breast tissue
Proc. R. Soc.Edinb., 95B : 959 - 66
-

CHOPRA I J , ABRAHAM G E

Alterations in circulating estradiol 17 β in male patients
with Graves' disease
New Engl J Med 286 : 124 - 129

CHOPRA I J , TULCHINSKY D (1974)

Status of estrogen - androgen balance in hyperthyroid men with
Graves' disease
J Clin Endocrinol Metab ; 38 : 269 - 77

CHOPRA I J , TULCHINSKY D , GREENWAY F L

Estrogen - androgen imbalance in hepatic cirrhosis
Ann Intern Med 79 : 198 - 203

EVERSMANN , MOITO , von WERDER (1984)

Testosteron - und Östradiolspiegel bei
Gynäkomastie des Mannes
Dtsch. Wochenschrift 1984 : 109 (44) : 1678 - 82

FABRIS G , MARCHETTI E , MARZOLA A , BAGNI A (1987)

Pathophysiology of estrogen receptors in mammary tissue
by monoclonal antibodies
J Steroid Biochem 27 ; 171 - 76

FISHER B , REDMOND C , BROWN A et al (1983)

Influence of tumor estrogen and progesterone levels on the
response to tamoxifen and chemotherapy in primary breast cancer
J. Clin. Oncol. 1 (4) : 227 - 241

GABRILOVE J L , NICOLIS G L , MITTY H A (1975)

Feminising interstitial cell tumour of the testis:
personal observations and a review of the literature
Cancer 1975 : 35 : 1184 - 1202

GARCIA E , BOUCHARD P , DE BRUX J et al (1988)

Use of immunocytochemistry progesterone and estrogen
receptors for endometrial dating
J. Clin. Endocrinol. Metab. 67 : 80 - 87

GEORGIADIS E , PAPANDREOU C , EVANGELOPOULOU C et al 1994

Incidence of gynaecomastia in 954 young males and its
relationship to somatometric parameters
Annals of human biology , No 6 , Vol. 21 : 579 - 587

- GIANI C , D'AMORE , DELARUE J C et al 1986
Estrogen and progesterone receptors in benign breast tumors and lesions :
relationship with histological and cytological features
Int. J. Cancer ; 37 : 7 - 10
- GLASS A R , SWERDLOFF R S , BRAY G A
Low serum testosterone and sex - hormone -binding - globulin
in massively obese men
J Clin Endocrinol Metab 45 : 1211 - 1219
- GORDON GG , OLIVO J , RAFI F (1975)
Estrogen metabolism in hyperthyroidism and in cirrhosis of the liver
Steroids ; 26 : 47
- GREENE , NOLAN , ENGLER et al. 1980
Monoclonal antibodies to human
estrogen receptor
Proc. Natl. Acad. Sci USA 77 : 5115 - 5119
- GUPTA R K , NARAN S , SIMPSON J (1988)
The role of fine needle aspiration cytology (FNCA) in the diagnosis
of breast masses in males
Eureop J of Surgic Oncol 14 : 317 - 20
- HANDS L J , GREENALL M J (1991)
Gynaecomastia
Br. J. Surg. 78 : 907 - 911
- HERTL CH , WIEBEL J , SCHÄFER H , WILLIG R-P, LAMBRECHT W (1998)
Feminizing Sertoli Cell tumor associated with Peutz - Jeghers Syndrome
an increasingly recognized cause of prepubertal gynaecomastia
Plastic & Reconstr. Surg. , 102 : 1151 - 57
- HORST H-J , BARTSCH W , DIRKSEN - THEDENS (1977)
Plasma testosterone , sex hormone binding globulin binding capacity
and per cent binding of testosterone and 5 α - dihydrotestosterone in
prepubertal, pubertal and adult males.
J Clin Endocrinol Metab. ; 45 : 522 - 7
- HOROWITZ KB , KOSEKY Y , McGUIRE WL 1978
Estrogen control of progesterone receptor in human breast cancer :
role of estradiol and antiestrogen .
Endocrinol 103 : 1742 - 51

- JENSEN E V , GREENE G L , CLOSS L E et al (1982)
Receptors reconsidered : 20 - year perspective .
Rec. Prog. Horm. Res. 38 : 1 - 40
- KEW MC , KIRSCHNER MA , ABRAHAMS GE , KAZ M (1977)
Mechanism of feminization in primary liver cancer
N Engl J Med ; 296 : 1084 - 8
- KHAN, EWEN , ROSNER 1982
Radioimmunoassay for human testosterone - estradiol- binding
globulin
J Clin Endocrinol Metab 54 : 705 - 710, 1982
- KING R J B 1989
Oestrogen receptor : an overview of recent advances structure
and function
Proc. R. Soc. Edinb. ; 95B : 133 - 144
- KNIGHT W A , LIVINGSTON R B , GREGORY E J et al (1977)
Estrogen receptor as an independent prognostic factor for
early recurrence in breast cancer.
Cancer Res. 37 : 4669 - 4671
- KUMAR V , GREEN S , STRACK et al.
Functional domains of the human estrogen receptor
Cell 51 : 941 - 51
- KUTTENN F , FOURNIER S , DURAND JC , MAUVAIS-JARVIS 1981
Estradiol and progesterone receptors in human breast fibroadenomas
J Clin Endocrinol Metab 52 : 1225 - 9
- LA FRANCHI S H , PARLOW A F , LUPPE B M (1975)
Pubertal gynecomastia and transient elevation
of serum estradiol level
Am J Dis Child ; 129 : 927 - 31
- LAIDLAW IJ , CLARKE RB , HOWELL AW , ANDERSEN E , POTTEN CS 1995
The proliferation of normal human breast tissue implanted into athymic
mice is stimulated by estrogen but not on progesterone
Endocrinol. Jan ; 136 (1) 164 - 71
- LARGE D M , ANDERSON D C (1979)
Twenty - hour profiles of circulating androgens and
oestrogens in male puberty with and witho ut gynecomastia
J Clin Endocrinology 11 : 505 - 521
-

LEE PA , (1975)

The relationship of concentrations of serum hormones
to pubertal gynecomastia
J.Ped. 1975 ; 86 :212 - 215

LEE IR, LAWDER LE , TOWNEND DC , WETHERALL JD, HÄHNEL R (1985)

Plasma sex hormone binding globulin concentration and
binding capacity in children before and during puberty
Acta Endocrinol (Copenh) ; 109 : 276 - 80

LEE KOK - ONN , DIXIE Y F CHUA et al (1990)

Oestrogen and progesteron receptors in men with bilateral
or unilateral pubertal macromastia
Clin Endocrinol 32 : 101 - 105

LESSEY B , KILLIAM A P , METZGER D A , HANNEY A F , GREENE G (1988)

Immunohistochemical analysis of human uterus estrogen
and progesterone receptors throughout the menstrual cycle
J.Clin.Endocrinol.Metab. , 67 : 334 - 40

LEYGUE ER , WATSON PH , MURPHY LC 1996

Estrogen receptor variants in normal human mammary tissue
J - Natl. Cancer - Inst. Mar 6 ; 88 (5) : 284 - 90

MAHONEY P 1990

Adolescent Gynecomastia
Pediatric Clin North Am. , Vol 37 ; 1389 - 1404

MALET C , GOMPEL A , YANEVA H , CREN H , MOWSZOWICZ (1991)

Estradiol and progesterone receptors in cultured normal
human brest epithelial cells and fibroblasts :
Immuncytochemical studies
J Clin Endocrinol and metabolism 73 No.1 ; 8 - 17

MARKOPOULOS C , BERGER U , WILSON P , GAZET J-C (1988)

Oestrogen receptor of normal breast cells and breast carcinomas
throughout the menstrual cycle
Br Med J 296 ; 1349 - 51

MARTIN P M , KUTTENN F , SERMENT H , MAUVAIS-JARVIS 1978

Studies on clinical , hormonal and pathological correlations
in breast fibroadenomas
J.Steroid Biochem. , Vol 9 : 1251 - 55

MARYNICK S P , NISULA B C

Persistent Pubertal Macromastia
J Clin Endocrinol Metab 50 : 128 - 130

- MC CLELLAND , BERGER U , MILLER L S , POWLES T J (1986)
Immunocytochemical assay for estrogen receptor:
Relationship to outcome of therapy in patients with advanced
breast cancer
Cancer Res 46 4241s - 4243s
- MC GUIRE W L , CARBONE P P , SEARS M E et al (1975)
Estrogen receptors in human breast cancer . An overview.
N.Y. Raven Press : 1 - 7
- Mc MANUS MJ , WELSCH CW 1984
The effect of estrogen , progesterone and human placental
lactogen on DNA synthesis on human breast ductal epithelium
maintained in athymic nude mice.
Cancer 54 : 1920
- MOORE D C , SCHLAEPFER L V (1984)
Hormonal changes during puberty :
transient pubertal gynecomastia :
abnormal androgen-estrogen ratios.
J Clin Endocrinol Metab 58 : 492 - 9
- MORLEY JE , MELMED S , (1979)
Gonadal dysfunction in systemic disorder
Metabolism Vol.28 No. 10 (Oct.) 1051 - 73
- NIZZOLI G , DEL CORNO G , FARA G M et al 1986
Gynaecomastia and premature thelarche in a schoolchildren
population of northern Italy
Acta Endocrinologica 113 : 227 - 231
- NYDICK , BUSTOS , DALE et al. 1961
Gynecomastia in adolescent boys
JAMA ; 178 : 449 - 54
- OBERMAN HA , 1979
Breast lesions in the adolescent female
Pathol Annu ;14:175.
- OSBORN M , WEBER K (1984)
Biology of disease. Tumor diagnosis by intermediate
filament typing : a novel tool for surgical pathology
Lab Invest 48 : 372 - 394
-

- PETERSEN O W , HOYER P E , VAN DEURS (1987)
Frequency and distribution of estrogen receptor-positive
cells in normal, nonlacting human breast tissue
Cancer Res ; 47 : 5748 - 51
- PIRKE KM , DOERR P (1970)
Age related changes in free plasma testosterone , dihydrotestosterone
and estradiol
Acta Endocrinol ; 80 : 171
- PORTO CS , LAZARI MF , BARDIN CW , GUNSALUS GL (1995)
Receptors for androgen - binding proteins: internalization
and intracellular signalling
J-Steroid-Biochem-Mol-Biol. 1995 Jun; 53(1-6): 561 - 5
- PRESS M , NOUSEK - GOEBL N , BUR M , GREENE G (1986)
Estrogen receptor localization in the female genital tract
Am.J.Pathol. 123 : 286 - 92
- RICKETTS D , TURNBULL L , RYALL G , BAKHSHI R (1991)
Estrogen and progesterone receptors in the normal female breast
Cancer research 51 ; 1817 - 1822
- ROSEN P P , MENDEZ-BOTET J S , NISSELBAUM J S et al. (1975)
Pathological review of breast lesions analyzed for estrogen receptor protein
Cancer res. 35 : 3187 - 3194
- ROSNER W , 1990
The function of corticosteroid binding globulin and sex hormone binding
globulin. Recent advances
Endocrinol Rev. 11 : 80 - 89, 1990
- SAKIYAMA R , PARDRIDGE WM , MUSTO NA , 1988
Influx of testosterone- binding globulin and TeBG - bound sex steroid
hormones into rat testis and prostate
J Clin Endocrinol Metab 67 : 98 - 103 , 1988
- SCHNEIDER G , KIRSCHNER M A , ERTEL N H (1977)
Increased serum estradiol in morbidly obese males.
Abstracts of the 59th Endocrine Society Meeting, Chicago
1977 p211
-

-
- SINNECKER GHG 1993
Sexualhormon bindendes Globulin. Physiologische Bedeutung im
Wirkungsmechanismus der Steroidhormone und klinische Bedeutung für die
Diagnostik endokriner Erkrankungen. First edition
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1993
- SINNECKER G , HIORT O , DIBBELT L , ALBERS N et. al. (1996)
Phenotypic classification of male pseudohermaphroditism due to steroid 5 alpha-
reductase 2 deficiency.
Am-J-Med-Genet. 1996May 3; 63(1): 223 - 30
- SINNECKER G , KÖHLER S, 1989
Sex hormone-binding globulin response to the anabolic steroid stanazolol:
evidence
for its suitability as a biological androgen sensitivity test
J Clin Endocrinol Metab 68 : 1195 - 1200 , 1989
- SINNECKER G , HIORT O , KWAN PW , DELELLIS RA (1990)
Immunohistochemical localization of sex hormone - binding globulin
in normal and neoplastic breast tissue
Horm-Metab-Res. 1990 Jan;22(1): 47 - 50
- SINNECKER GH , STEGNER HE , MEYER S , BRUMM C (1994)
Intracellular sex hormone - binding globulin (SHBG) in normal and neoplastic
breast tissue - an additional marker for hormone dependency?
Exp-Clin-Endocrinol. 1994; 102(4): 334 - 40
- SILVA J S , GREGORY S , GEORGIADIS S , WILLIAMS G (1983)
Menstrual cycle-dependent variations of breast cyst fluid proteins
and sex steroid receptors in the normal human breast
Cancer (Phila) 51 : 1297 - 1302
- SKOVGAARD , ORNTOFT, ANDERSEN (1987)
Gynecomastia : Immunohistochemical demonstration of
oestrogen receptors
Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect.A;95: 263 - 67
- SKOVGAARD POULSEN H , HERMANSEN C et al (1985)
Gynecomasty : Estrogen and Androgen Receptors
Acta - Pathol - Microbiol - Immunol - Scand - A. 93(5) : 229-33
- SNYDER PJ (1976)
Effect of age on the serum LH and FSH responses to gonadotropine-
releasing hormone
DHEW Publication No. (NIH) 76 - 1113 p. 161
-

- SOUTHREN A , OLIVO GG , GORDON GG (1974)
The conversion of androgens to estrogens in hyperthyrodism
J Clin Endocrinol Metab ; 38 : 207
- STEARNS EL , MacDONNELL JA , KAUFMAN BJ , PADUA (1974)
Declining testicular function with age : hormonal and clinical correlates
Am J Med ; 57 : 761
- TSENG L , GURPIDE W , GUSBERG SB 1977
Estradiol receptor and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in normal
and abnormal human endometrium.
Ann NY Acad Sci. 286 : 190 - 8
- VERMUELEN A , REUBENS R , VERDONCK L (1972)
Testosterone secretion and metabolism in male senescence
J Endocrinol ; 34 : 730
- VOGEL PM , GEORGIADIS NG , FETTER BF et al. 1986
The correlation of histologic changes in the human breast with the
menstrual cycle.
Am J Surg Pathol 1986; 10: 382 - 93
- WALSH PC
The etiology of gynecomastia in patients with malignant
testicular tumours
Urol Dig 14 : 9 - 11
- WANG C , BAKER HWG , BURGER HG , de KRETZER DM , HUDSON (1975)
Hormonal studies in Klinefelter`s Syndrome
Clin Endocrinol 4 : 399
- WEINSTEIN RL , KELCH RP, JENNER MR , KAPLAN SL (1974)
Secretion of unconjugated androgens and estrogens by the
normal and abnormal human testis before and after human chorion
gonadotropin
J Clin Invest ; 53 : 1
- WELSCH CW , McMANUS , HAVILAND , DOMBROSKE 1983
Hormone regulation of DNA synthesis of normal and hyperplastic human
tissues in vitro and in vivo
Raven Press , NY , p 47
- WILLIG R P ; BOSK A ; LÜDECKE 1991
Prolactinomas in children and adolescents induce symptoms
different from adults
Hormon. Res. , 35 (52) : 14 (53)
-

WILSON J D , AIMAN J , MACDONALD PC (1980)

The pathogenesis of Gynecomastia

Year Book Medical Publishers , Inc. 0065 - 2822/79/0025-0001

7 DANKSAGUNG

Zuerst und besonders herzlich danken möchte ich Herrn Professor Dr. Rolf - Peter Willig, Abteilung für Endokrinologie der Universitäts - Kinderklinik Hamburg, der mir das Thema der Dissertation zur Auswahl gestellt hat und während der gesamten Zeit der Entstehung dieser Arbeit mit sehr hilfreicher, konstruktiver Unterstützung zur Seite gestanden hat.

Herrn Professor Dr. Hansjörg Schäfer, Institut für Pathologie der Universität Hamburg, danke ich herzlich für die kontinuierliche, sehr hilfsbereite Betreuung meiner experimentellen Labortätigkeit.

Frau Heike Tara, medizinisch technische Assistentin, danke ich herzlich für die wertvolle labortechnische Hilfe.

Für die Überlassung der Gewebematerialien und für das mir entgegengebrachte Interesse möchte ich mich an dieser Stelle bei Herrn Professor Dr. Wolfgang Püschel, Direktor des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, Herrn Professor Dr. Wolfgang Saeger, Chefarzt des Instituts für Pathologie des Marienkrankenhauses Hamburg und Herrn Professor Dr. Hansjörg Schäfer herzlichst bedanken.

Herrn Dr. Stefan Meyer, MRCP, Manchester UK, aus der Arbeitsgruppe Professor Dr. G.H.G. Sinnecker, danke ich für seine prompte unterstützende Labortätigkeit, welche zu einer sinnvollen Erweiterung meiner Studie beigetragen hat.

Herrn Professor Dr. Wolfgang Lambrecht, Leiter der Abteilung für Kinderchirurgie der Universität Hamburg, danke ich für die unproblematische Einsichtnahme in seine Operationsstatistiken.

8 LEBENSLAUF

Geburt: 22.11.1965 in Oldenburg / Holstein
 Eltern: Gerhard Herbert Gallowsky, Bauunternehmer
 Renate Gallowsky, geb. Weisner
 Familienstand: verheiratet mit Dr. med. Horst - Eckard Mausch
 Schulabschlüsse: 1982 Mittlere Reife
 1989 Abitur
 Ausbildung: 1983 - 86 Kinderkrankenschwester an der Universitäts-
 kinder-
 klinik in Kiel.
 1984 - 89 Rettungssanitäterausbildung
 Tätigkeit als 1986 - 89 Extrawachentätigkeit in der Altonaer Kinder-
 Kinderkrankenschwester: klinik
 06. - 09.89 UKE - Hautklinik
 10.89 - 10.90 Altonaer Kinderklinik Abt. Chirurgie
 1990 - 92 Extrawachentätigkeit UKE / Kinderklinik
 10.92 - 06.95 Albertinenkrankenhaus Abt. Innere Med. I
 Studium: Humanmedizin seit WS 90/91
 SS `93 Physikum
 SS `94 I. Staatsexamen
 SS `96 II. Staatsexamen
 Nov.`97 III. Staatsexamen
 Famulaturen: Universitätskrankenhaus, Wien: Innere Medizin I
 Middlesex hospital, London: Pädiatrie
 Universitätsklinik, Lübeck: HNO / Pedaudiologie
 UKE Kinderklinik, Hamburg: Poliklinik
 PJ: Innere / Amalie - Sieveking - KRH, Volksdorf
 Chirurgie / Amalie - Sieveking - KRH, Volksdorf
 Pädiatrie / UKE - Kinderklinik, Hamburg
 AIP: 01.01.1998 : Krankenhaus, Buxtehude: Chirurgie
 01.07.1998 : Martin Luther KRH, Zeven: Innere Medizin
 Dissertation: Hormonrezeptoren bei Pubertätsgynäkomastie
 Prof. Dr. med. R. P. Willig / UKE-Kinderklinik, Hamburg

ERKLÄRUNG

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbstständig und ohne Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.
