
Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwigs-Maximilians-Universität
in München
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. D. Reinhardt

**Der ACTH-Stimulationstest mit Bestimmung von
Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron
als Bestätigungstest in der Diagnostik
des klassischen Adrenogenitalen Syndroms im Neugeborenenalter**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät
der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Steffen Hartrampf
aus Delmenhorst
2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter

Prof. Dr. H.P. Schwarz

Mitberichterstatter

Prof. Dr. J. Schopohl

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter

-

Dekan

Prof. Dr. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung

05.03.2009

Inhalt

| | Seite |
|--|-------|
| 1. Einleitung | |
| 1.1 Epidemiologie des Adrenogenitalen Syndroms | 9 |
| 1.2 klinische Erscheinungsformen des Adrenogenitalen Syndroms | 10 |
| 1.2.1 klassisches Adrenogenitales Syndrom | |
| 1.2.2 nichtklassisches Adrenogenitales Syndrom | |
| 1.3 biochemische Grundlagen in der Steroidbiosynthese beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom | 10 |
| 1.4 pathophysiologische Prozesse und klinischer Verlauf beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom | 11 |
| 1.4.1 normale geschlechtliche Entwicklung | |
| 1.4.2 geschlechtliche Entwicklung beim 21-Hydroxylasedefekt, Beeinflussung durch erhöhte Androgenspiegel | |
| 1.4.3 Größenwachstum | |
| 1.4.4 Fertilität und Reproduktion | |
| 1.4.5 neuropsychologische Entwicklung | |
| 1.4.6 Tumoren | |
| 1.5 Genetische Grundlagen des 21-Hydroxylasemangel | 14 |
| 1.5.1 Molekulargenetik | |
| 1.5.2 Korrelation von Genotyp und Phänotyp | |
| 1.6 Diagnose des Adrenogenitalen Syndroms | 16 |
| 1.6.1 Diagnostik bei Neugeborenen mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom | |
| 1.6.2 erhöhte 17-Hydroxyprogesteronwerte beim Adrenogenitalen Syndrom im Screening und im ACTH-Test | |
| 1.7 Therapie und Therapieziele des Adrenogenitalen Syndroms | 17 |
| 1.7.1 klassisches Adrenogenitales Syndrom | |
| 1.7.2 experimentelle Therapieansätze | |
| 1.7.3 chirurgische Therapie bei Mädchen mit virilisiertem Genital | |
| 1.7.4 pränatale Therapie | |
| 1.7.5 nichtklassisches Adrenogenitales Syndrom | |
| 1.8 Zielsetzung des Dissertation | 21 |
| 2. Methoden | |
| 2.1 Datenerhebung | 23 |
| 2.2 Beschreibung der Gruppen | 23 |
| 2.2.1 Gruppe 1: Patienten mit einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom | |
| 2.2.2 Gruppe 2: Nichterkrankte | |
| 2.3 Labormethoden | 26 |
| 2.3.1 ACTH-Stimulationstest | |
| 2.3.2 Bestimmung von Cortisol i.S. | |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2.3.3 | Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron i.S. | |
| 2.4 | Statistik | 26 |
| 3. | Resultate | |
| <hr/> | | |
| 3.1 | ACTH-Stimulationstest | 29 |
| 3.1.1 | Gruppe 1 (Erkrankte) | 29 |
| 3.1.2 | Gruppe 2 (Kontrollgruppe) | 34 |
| 3.1.3 | Vergleich von Gruppe 1 (Erkrankte) mit Gruppe 2 (Kontrollgruppe) | 38 |
| 3.2 | Anamnese ausgewählter Patienten | 43 |
| 3.2.1 | eingeschlossene Patienten | |
| 3.2.2 | Patienten, die in der Auswertung auffallen | |
| 4. | Diskussion | |
| <hr/> | | |
| 4.1 | Bedeutung des ACTH-Stimulationstests in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms | 47 |
| 4.2 | Der ACTH-Stimulationstest im Zentrum der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms im Neugeborenenalter | 48 |
| 4.3 | ACTH-Stimulationstest: Testdesign und laborchemische Methoden | 49 |
| 4.4 | Störfaktoren im ACTH-Stimulationstest | 50 |
| 4.5 | Bedeutung des ACTH-Stimulationstest in grenzwertigen Fällen – Erläuterung an Beispielen | 50 |
| 4.6 | Vorschlag zum Vorgehen bei Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom | 51 |
| 5. | Zusammenfassung | 55 |
| <hr/> | | |

Literaturverzeichnis

Der ACTH-Stimulationstest mit Bestimmung von Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron als Bestätigungstest in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms im Neugeborenenalter

Einleitung

1.1 Epidemiologie des Adrenogenitalen Syndroms

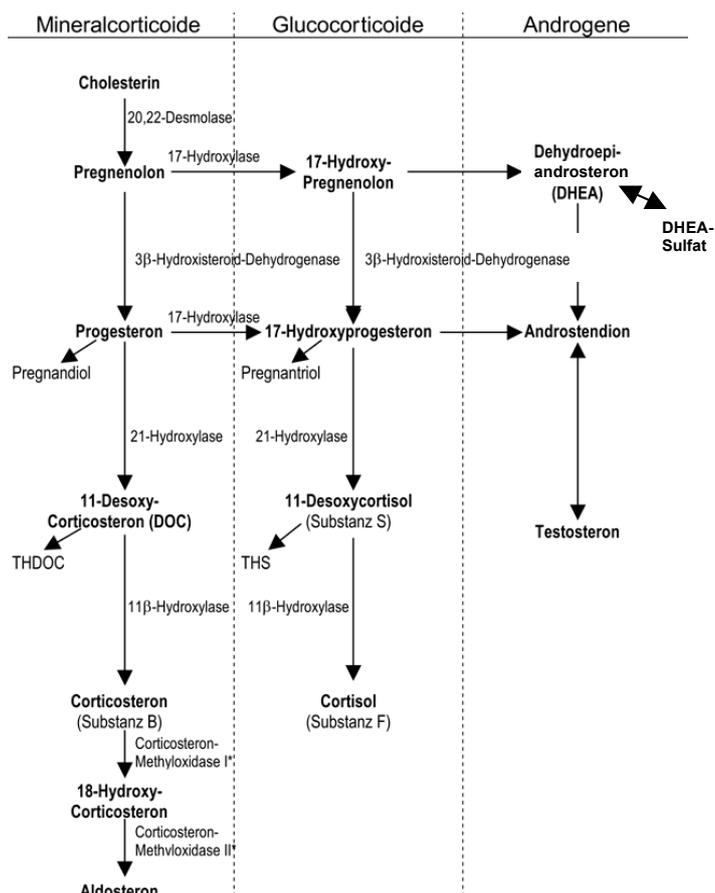
Das Adrenogenitale Syndrom (AGS) bezeichnet eine Gruppe von fünf autosomal-rezessiv erblichen Enzymdefekten in der Steroidbiosynthese der Nebennierenrinde. Dabei ist vor allem die Synthese von Androgenen sowie den Mineralo- und Glukokortikoiden Aldosteron und Cortisol aus Cholesterin in unterschiedlicher Ausprägung verändert. Durch die unzureichende Cortisolsynthese kommt es über einen Feedbackmechanismus im Hypothalamus-Hypophysen-System zu einer erhöhten Ausschüttung von CRH und ACTH. Die Folge ist eine Hyperplasie der Nebennieren. Im englischen Sprachraum wird das Adrenogenitale Syndrom deshalb als *congenital adrenal hyperplasia (CAH)* bezeichnet (1, 2, 3).

Die Inzidenz des klassischen Adrenogenitalen Syndroms liegt zwischen 1:10000 und 1:21000 in Europa, Japan und Nordamerika. Die höchste Inzidenz erreichen zwei geographisch isolierte Populationen, die Yupik Eskimos in Alaska mit 1:300 (4) und die Bevölkerung von La Réunion im Indischen Ozean mit 1:2100.

Die Inzidenz des nichtklassischen Adrenogenitalen Syndrom liegt bei 1:1600. Eine Manifestation der Erkrankung erfolgt jedoch in der Mehrzahl der Fälle nicht (5, 6, 7).

Die größte klinische Bedeutung der fünf Unterformen besitzt der 21-Hydroxylasedefekt (CYP21, CYP21A2, P450c21), der in mehr als 90% die Ursache für ein Adrenogenitales Syndrom ist. Am zweithäufigsten tritt der 11 β -Hydroxylasedefekt auf. Die weiteren Enzymdefekte wie die Defekte der Aldosteronsynthese, der 17 α -Hydroxylase und der 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase treten sehr selten auf.

Abb. 1.1 Steroidbiosynthese



Die folgenden Ausführungen beziehen sich ausschließlich auf den 21-Hydroxylasedefekt.

1.2 Klinische Erscheinungsformen des Adrenogenitalen Syndroms

Anhand des klinischen Bildes und dem Zeitpunkt der Manifestation der Erkrankung werden folgende Formen unterschieden:

1.2.1 klassisches Adrenogenitales Syndrom mit den Varianten:

a) *Adrenogenitales Syndrom mit Salzverlust*

Bis zu 75% der an einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom erkrankten Patienten haben ein Adrenogenitales Syndrom mit Salzverlust. Neben der ungenügenden Cortisol synthese kann auch Aldosteron nicht ausreichend gebildet werden (8). Unbehandelt entwickeln diese Kinder bereits in den ersten Lebenswochen eine lebensbedrohliche Salzverlustkrise, die durch eine Hyponatriämie, Hyperkaliämie und eine Dehydratation gekennzeichnet ist. Die verminderte Cortisol synthese kann zusätzlich die Symptomatik verschlimmern. Glukokortikoide verstärken in physiologischen Konzentrationen die Katecholaminwirkung am Herz sowie am Gefäßsystem und können einem hypovolämischen Schock entgegen wirken. Dieser Effekt bleibt nun aus. Das Tierexperiment zeigt bei Mäusen mit einem 21-Hydroxylasedefekt eine anomale Entwicklung des Nebennierenmarks mit verminderter Sekretion von Katecholaminen (9). Eine auch beim Menschen mögliche Katecholamindefizienz kann im Schock zur weiteren Verschlechterung der Situation beitragen. Erhöhte Konzentrationen der Steroidvorläuferhormone haben zusätzlich eine antagonistische Wirkung am Aldosteronrezeptor (10). Weiterhin ist bekannt, dass Progesteron eine antimineralokortikoide Wirkung besitzt (11, 12).

Obligatorisch ist das virilisierte äußere Genital bei den betroffenen Mädchen (vgl. 1.4.2). Erkrankte Jungen sind äußerlich oft unauffällig und fallen erst durch die lebensbedrohliche Salzverlustkrise auf, wenn sie nicht durch das Neugeborenen screening erfasst wurden.

b) *einfach virilisierende Form des Adrenogenitalen Syndroms*

Bei der einfach virilisierenden Form des Adrenogenitalen Syndrom ist die Aldosteronproduktion für die Regulation des Wasser- und Elektrolythaushalts ausreichend, so dass bei Geburt die Virilisierung des äußeren Genitals bei Mädchen das einzige Symptom der Erkrankung ist (1, 13).

Später kommt es bei beiden Geschlechtern zur Pseudopubertas praecox.

1.2.2 nichtklassisches Adrenogenitales Syndrom

Beim nichtklassischen Adrenogenitalen Syndrom sind die Erkrankten zunächst unauffällig. Die Cortisol- und Aldosteronsynthese sind weitestgehend unbeeinträchtigt. Die Manifestation erfolgt nach dem Kleinkindalter in unterschiedlicher Ausprägung in Abhängigkeit von einem milden Androgenüberschuss. Viele Patienten zeigen klinisch nie Auffälligkeiten. Betroffene *Mädchen* haben bei Geburt kein virilisiertes Genital. Erst in der Adoleszenz kann es zu Hirsutismus, Oligomenorrhö, Akne und Infertilität kommen. *Jungen* zeigen nur in seltenen Fällen eine Manifestation der Erkrankung mit Akne oder Infertilität. Die meisten Jungen fallen bei Familienuntersuchungen auf und bleiben lebenslang asymptomatisch (1, 14, 15, 16).

1.3 biochemische Grundlagen in der Steroidbiosynthese beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom

Die 21-Hydroxylase (CYP21) ist eines der Schlüsselenzyme in der Steroidbiosynthese, das im endoplasmatischen Retikulum der Zona glomerulosa und reticularis der Nebennierenrinde lokalisiert ist. Für die Synthese von Aldosteron, einem Mineralokortikoid, hydroxyliert das Enzym Progesteron an der Position 21 des Sterangerüsts zu Desoxycorticosteron. In der Cortisolbiosynthese wird 17-

Hydroxyprogesteron ebenfalls an der Position 21 des Sterangerüsts zu 11-Desoxycortisol hydroxyliert (17, 18).

Die Cortisolbiosynthese wird im Wesentlichen über CRH und ACTH im Hypothalamus und im Hypophysenvorderlappen reguliert. ACTH induziert die Steroidbiosynthese über die Synthese des steroidogenic acute regulatory proteins (StAR), das innerhalb weniger Minuten gebildet wird. Cortisol hat den stärksten negativen Einfluss auf die Sekretion von CRH und ACTH (19, 20, 21).

Die Aldosteronsekretion hingegen wird vornehmlich über Angiotensin II und den Serumkaliumspiegel gesteuert. ACTH spielt hier eine nur untergeordnete Rolle (22, 23).

Bei einem Defekt oder einer Unterfunktion der 21-Hydroxylase kommt es zu charakteristischen abnormalen Konzentrationen der Steroide im Serum. Je nach Restfunktion des Enzyms können die o.g. klinischen Formen unterschieden werden. Bereits in der Neugeborenenperiode fallen bei unbehandelten Patienten vor allem deutlich erhöhte 17-Hydroxyprogesteronspiegel auf. Auch für die Steroide Progesteron, Androstendion und Testosteron lassen sich erhöhte Serumkonzentrationen messen. Hingegen sind die Serumkonzentrationen für die Glukokortikoide und bei der saltverlierenden Form auch für die Mineralokortikoide erniedrigt (3).

1.4 pathophysiologische Prozesse und klinischer Verlauf beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom

1.4.1 normale geschlechtliche Entwicklung

In der frühen embryonalen Entwicklung sind die Gonaden undifferenziert und bipotential. Bei *Jungen* werden dann ab der siebten Schwangerschaftswoche aufgrund genetischer Faktoren, des Anti-Müller-Hormons und hohen lokalen Konzentrationen von Testosteron, das in den Leydig-Zellen der Hoden gebildet wird, die inneren und äußeren männlichen Geschlechtsorgane ausgebildet.

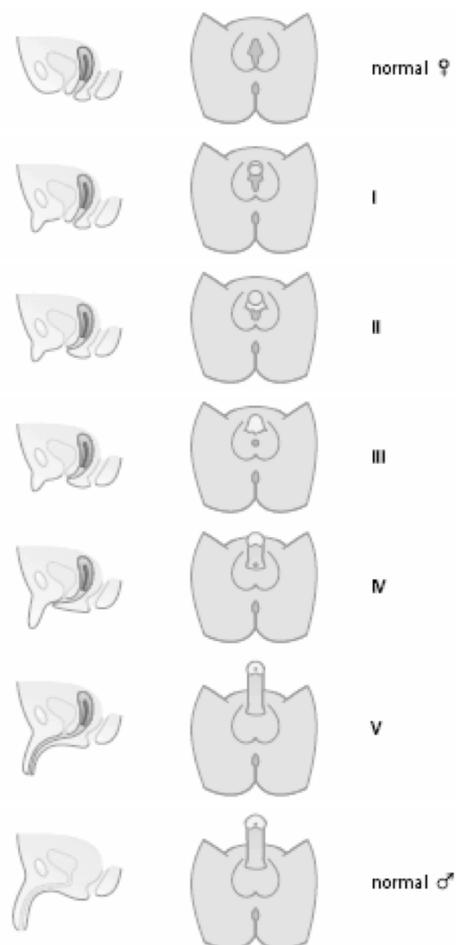
Bei *Mädchen* entwickeln sich bei Abwesenheit des Anti-Müller-Hormons und weiterer genetischer Faktoren die inneren weiblichen Geschlechtsorgane aus dem Müllerschen Gang. Eierstöcke sind ab der zehnten Schwangerschaftswoche erkennbar. Bei Abwesenheit von Testosteron entwickeln sich auch die äußeren weiblichen Geschlechtsmerkmale unauffällig (24, 25, 26).

1.4.2 geschlechtliche Entwicklung beim 21-Hydroxylasedefekt, Beeinflussung durch erhöhte Androgenspiegel

Bei *Jungen* wird die intrauterine geschlechtliche Entwicklung durch eine erhöhte Androgenproduktion der Nebennierenrinde nicht signifikant beeinflusst. In einigen Fällen werden bei Geburt eine skrotale Hyperpigmentierung und eine Penisvergrößerung beobachtet. Postnatal kommt es dann zu einem übermäßigen Peniswachstum bei kleinen Hoden.

Bei *Mädchen* kommt es ab der siebten Schwangerschaftswoche aufgrund der beginnenden Hypersekretion von Androgenen aus der fetalen Nebennierenrinde zu einer pränatalen Virilisierung. Zu diesem Zeitpunkt befindet sich der urogenitale Sinus in seiner Teilungsphase. Aufgrund der erhöhten Androgenspiegel wird die Septierung von Vagina und Urethra verhindert. Es kommt zu einer Klitorisvergrößerung, einer partiellen Fusion der Labia majora, sowie einem gemeinsamen urogenitalen Sinus von Vagina und Urethra in unterschiedlicher Ausprägung. Die Differenzierung des urogenitalen Sinus bei betroffenen Mädchen wird in fünf Stadien nach *Prader* eingeteilt (27).

Abb. 1.2 Stadieneinteilung nach Prader, Virilisierung des weiblichen Genitals



Der Uterus, die Eileiter und die Eierstöcke sind nicht betroffen und normal ausgebildet. Eine Virilisierung innerer Strukturen wie der Prostata und den Samenleitern findet bis auf sehr wenige Ausnahmen nicht statt, da hierzu deutlich höhere lokale Testosteronkonzentrationen notwendig wären. Werden die betroffenen Mädchen postnatal nicht behandelt, schreitet die Virilisierung des äußeren Genitals und die Klitorishypertrophie über das gesamte Kindesalter weiter fort (1, 3, 24, 25, 28, 29).

1.4.3 Größenwachstum

Androgene beschleunigen einerseits das Wachstum, andererseits fördern sie einen vorzeitigen Schluss der Epiphysenfugen. Betroffene Jungen und Mädchen sind bei Geburt aufgrund des Androgenüberschusses während der Schwangerschaft größer. Auch bei guter therapeutischer Einstellung wird das Größenwachstum postnatal durch den 21-Hydroxylasedefekt beeinflusst. Bei Kindern ist zunächst das Wachstum beschleunigt. Die Körpergröße liegt jedoch im Erwachsenenalter nach vorzeitigem Schluss der Epiphysenfugen ein bis zwei Standardabweichungen unter der Zielgröße (30, 31, 32, 33).

Die etablierte Therapie des Adrenogenitalen Syndrom mit Glukokortikoiden reduziert die erhöhten Spiegel der Androgene und verringert somit deren Einfluss auf das Längenwachstum.

Das große Wirkungsspektrum der Glukokortikoide zeigt sich jedoch auch im Wachstum. Während physiologische Dosen einen positiven Effekt auf die Sekretion von Wachstumshormon aus dem Hypophysenvorderlappen haben, kommt es bei pharmakologischen und meist notwendig höheren Dosierungen über eine erhöhte glukokortikoidvermittelte Ausschüttung von Somatostatin aus dem

Hypothalamus zu einer Wachstumsverminderung (34). Wachstumsverzögernd wirkt sich auch die glukokortikoidvermittelte Verringerung der Kollagen Typ-1-Synthese und eine verminderte Aktivität des Insulin-like growth factors I aus (35). Hinzu kommen interindividuelle Unterschiede hinsichtlich des Stoffwechsels von Glukokortikoiden und der Polymorphismen von Rezeptoren, die die in vivo-Aktivität beeinflussen (36).

Entscheidend für das Erreichen einer Körpergröße nahe der Zielgröße ist ein frühzeitiger Therapiebeginn und eine Therapie mit der niedrigst möglichen Glukokortikoiddosis (37).

1.4.4 Fertilität und Reproduktion

Das Adrenogenitale Syndrom hat bei *Frauen* einen ernstzunehmenden Einfluss auf die Fertilität, was sich im Erwachsenenalter in einem Symptomenkomplex ähnlich dem polyzystischen ovariellen Syndrom mit Hirsutismus, Oligomenorrhö, Amenorrhö, Menorrhagien, Akne und multiplen ovariellen Zysten äußern kann (38). Ursächlich werden eine Störung der hypothalamisch-hypophysären Achse, eine Fehlprägung des Hypothalamus und eine direkte Schädigung der Ovarien durch einen Überschuss an Progesteron, Androgenen und aromatisierten Östrogenen diskutiert (39, 40).

Die meisten Frauen bekommen ihre Regelblutung. Entscheidend ist eine adäquate Therapie, da bei unzureichend behandelten Frauen die Menarche verspätet eintritt (41). Die Fertilität hängt zudem von der Schwere des Adrenogenitalen Syndrom ab. Ungefähr 80% der Frauen mit der einfach virilisierenden Form des Adrenogenitalen Syndrom und 60% der Frauen mit einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust sind fruchtbar (42, 43).

Die Glukokortikoidtherapie sollte in der Schwangerschaft mit Hydrocortison oder Prednison in angepasster Dosierung fortgesetzt werden. Hydrocortison und Prednison erreichen den Fetus nicht, da sie von der Plazenta durch die 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase abgebaut werden. Vor erhöhten Androgenen der Mutter wird der Fetus durch eine placentare Aromatase, die Androgene zu Östrogenen umbaut, einer hohen Konzentration von geschlechtshormonbindendem Globulin und der androgenantagonistischen Wirkung von Progesteron geschützt (44, 45). Gesunde Töchter einer erkrankten Mutter zeigen deshalb keine Virilisierung (46).

Bei einigen erkrankten Frauen ist die Brustentwicklung verzögert oder unterdrückt. Als Ursache werden eine unzureichende Ausbildung der Brustanlage in der Fetalzeit bei erhöhten Androgenen und hauptsächlich eine ungenügende Therapieeinstellung in der Pubertät angenommen.

Die Fertilität betroffener *Männer* ist weniger häufig eingeschränkt als bei betroffenen Frauen. Die meisten Männer haben eine unauffällige Gonadenfunktion mit normalen Spermogrammen und können Kinder zeugen (47). In wenigen Fällen mit *testicular adrenal rest tumors* (s. 1.4.6) wurde eine insuffiziente Spermatogenese beobachtet (37, 48). In einem Fall konnte eine Infertilität durch eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion umgangen werden (49).

1.4.5 neuropsychologische Entwicklung

Die kognitive Entwicklung orientiert am Intelligenzquotienten von Patienten, die an einem Adrenogenitalen Syndrom (21-Hydroxylasedefekt) erkrankt sind, ist bei unkompliziertem Krankheitsverlauf weitestgehend unauffällig. Betroffene Frauen zeigen jedoch bessere räumliche Fähigkeiten als eine Kontrollgruppe (50). Patienten die an einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust erkrankt sind, können in einer Salzverlustkrise irreversible Hirnschädigungen erleiden, die dann zu einem kognitiven Defizit führen können (51).

Hinsichtlich der psychosexuellen Entwicklung treten bei Frauen und Männern deutliche Unterschiede auf. Bereits das verhaltensbeobachtende Tierexperiment zeigt, dass ein

Androgenüberschuss bei weiblichen Nagern und Primaten einen maskulinisierenden und defeminisierenden Effekt hat. Bei männlichen Versuchstieren ist in der Mehrzahl der Fälle kein Effekt nachweisbar (52).

Erkrankte *Mädchen und Frauen* zeigen in ihrer Geschlechtsrolle eine Tendenz zu aggressiverem Verhalten, männliches Verhalten im Spiel und ein männliches Verhaltensmuster in sozialen Beziehungen. Kinder, die an einem Adrenogenitalen Syndrom erkrankt sind, haben in MRT-Untersuchungen eine kleinere Amygdala (53). Die Amygdala ist ein androgensensitives Hirnzentrum, das u.a. Angst und Aggression kontrolliert. Hinsichtlich ihrer sexuellen Orientierung ist eine kleine aber signifikante Gruppe von Frauen homosexuell oder bisexuell. Nahezu alle betroffenen Frauen sehen sich in ihrer Geschlechtsidentität als Frauen (54, 55). Die Lebensqualität ist bei Frauen, die seit ihrer frühen Kindheit behandelt werden, nicht signifikant beeinträchtigt (56).

Es ist schwierig, genaue Ursachen für die Beobachtungen bei den betroffenen Frauen zu bestimmen. Neben den erhöhten Androgenen, die in mehreren Studien vor allem in der pränatalen Prägung eine Auswirkung auf die neuropsychologische Entwicklung zeigen, haben weitere Faktoren einen Einfluss: Erstens haben die Mädchen ein virilisiertes Genital, was bestimmte soziale Reaktionen der Umwelt insbesondere der Eltern hervorrufen kann. Zweitens haben die Betroffenen weitere hormonelle Veränderungen und drittens sind sie chronisch kranke Patienten. Alle diese Faktoren wirken sich auf das Verhalten aus.

Erkrankte *Männer* zeigen in ihrem Verhalten keine signifikanten Unterschiede gegenüber ihrer gesunden Kontrollgruppe hinsichtlich ihrer Geschlechtsrolle, ihrer sexuellen Orientierung und ihrer Geschlechtsidentität (52).

1.4.6 Tumoren

Die Inzidenz von *Nebennierentumoren* ist beim Adrenogenitalen Syndrom und heterozygoten Anlagenträgern leicht erhöht gegenüber der Gesamtpopulation (57, 58). Histologisch wurden gutartige Adenome, Myolipome und Hämangiome beschrieben (59, 60). Karzinome sind äußerst selten (61). Bei nicht behandelten erwachsenen Patienten können außerdem hyperplastische knotige Veränderungen der Nebennieren auftreten, die meist gut auf eine Therapie mit Glukokortikoiden ansprechen (3).

Hodentumoren treten bei Jungen, die an einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust leiden, gehäuft vor allem als benigne *testicular adrenal rest tumors* mit gestörter Spermiogenese auf (48, 62). Des Weiteren ist eine höhere Inzidenz bei unzureichend oder nicht behandelten Patienten zu beobachten. Die adäquate Therapie besteht in einer Suppression der Nebenniere mit Dexamethason, da die meisten Tumoren ACTH-sensibel sind und sich unter dieser Therapie zurückbilden (3). Eine Biopsie sollte nicht durchgeführt werden. Eine operative hodenerhaltende Enukleation ist nur nach Nichtansprechen auf Dexamethason und einer bildgebenden Diagnostik gerechtfertigt (63). Da die Tumoren bereits in der Kindheit auftreten können, ist bei Jungen auf regelmäßige klinische und gegebenenfalls bildgebende Untersuchungen zu achten. Die wichtigste Differentialdiagnose ist der Leydig-Zelltumor (64).

1.5 Genetische Grundlagen des 21-Hydroxylasemangel

1.5.1 Molekulargenetik

Das Gen für die 21-Hydroxylase (CYP21) und das nicht funktionelle Pseudogen (CYP21P) liegen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 (6p21.3) im Bereich des HLA-Komplexes (human leukocyte antigen). Beide Gene bestehen aus zehn Exons und haben jeweils eine Größe von etwa

drei Kilobasenpaaren. In ihrer Nukleotidsequenz stimmen sie in mehr als 96% überein. Das intakte Gen kodiert für 494 bzw. 495 Aminosäuren (65, 66).

Mutationen in dem funktionellen Gen verursachen den 21-Hydroxylasedefekt. Es sind mehr als 50 verschiedene Mutationen beschrieben. Die zwei häufigsten Mutationen entstehen durch Rekombination zwischen dem normalen Gen CYP21 und dem Pseudogen CYP21P. Hierbei kommt es während der Meiose durch crossing-over zu großen Deletionen im Gen CYP21 oder zu Genkonversionen von CYP21P zu CYP21, die zu einem Funktionsverlust führen. Weitere Mutationen, die beschrieben werden, sind eine Deletion von acht Basenpaaren und mehrere einfache Punktmutationen. Bei den schweren Mutationen wird kein funktionsfähiges Enzym gebildet, bei leichteren Mutationen ist die Enzymfunktion in unterschiedlichem Ausmaß eingeschränkt (28, 67, 68, 69, 70, 71).

Bei den Erkrankten liegen im Großteil der Fälle Zustände mit verschiedenartig veränderten Genen (compound heterozygotes) vor. Einfach heterozygote Anlageträger mit nur einem veränderten Allel erkranken nicht.

1.5.2 Korrelation von Genotyp und Phänotyp

Die Zuordnung des Genotyps zur klinischen Erscheinungsform wurde in mehreren Studien untersucht. Dabei besteht ein Zusammenhang zwischen der Restaktivität des Enzyms, die maßgeblich durch die Mutation bestimmt wird, und dem Schweregrad der Erkrankung. Bei Erkrankten, die zwei unterschiedlich veränderte Allele tragen, bestimmt in der Mehrzahl der Fälle der mildere Gendefekt den klinischen Verlauf. Patienten mit einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust zeigen im Allgemeinen einen kompletten Funktionsausfall der 21-Hydroxylase. Bei Betroffenen mit der einfach virilisierenden Form besteht eine minimale Restfunktion des Enzyms und bei der nichtklassischen Variante ist die Enzymaktivität nur mild beeinträchtigt. Die Mutationen können nach ihrer Auswirkung auf die 21-Hydroxylaseaktivität in drei Gruppen aufgeteilt werden – schwer, mäßig und mild. Daraus ergibt sich bezüglich der Korrelation von Genotyp und Phänotyp bei autosomal-rezessivem Erbgang, dass Patienten mit einem Salzverlust einen schwer/schwer betroffenen Genotyp, Patienten mit der einfach virilisierenden Form einen schwer/mäßig oder mäßig/mäßig betroffenen Genotyp und Patienten mit der nichtklassischen Form einen schwer/mild oder mäßig/mild oder mild/mild betroffenen Genotyp haben sollten. In der Mehrzahl der untersuchten Fälle trifft diese Einteilung zu. Der positive prädiktive Wert dieser Einteilung liegt in verschiedenen Studien für die einzelnen drei Gruppen zwischen 59 und 100% (72, 73, 74, 75, 76).

Es gibt verschiedene Erklärungen für die Diskordanz von Genotyp und Phänotyp. Erstens kann bei „mäßigen“ Mutationen, die Enzymaktivität in einigen Fällen nicht ausreichen, um einen Salzverlust zu verhindern. Zweitens nimmt man an, dass sich die Mutation I2G, die in der Mehrzahl einem Salzverlust zugeordnet werden kann, interindividuell verschieden auf die Transkription auswirkt, und bei einigen Betroffenen genügend 21-Hydroxylase generiert werden kann, um einen Salzverlust zu verhindern. Drittens treten in 1% der Fälle unbekannte *de novo* Mutationen auf, die die Enzymaktivität beeinflussen. Und schließlich gibt es weitere genetische und individuelle Dispositionen, die den Phänotyp mitbestimmen. Es gibt Hinweise auf eine extraadrenale Expression der 21-Hydroxylase, die nicht durch das CYP21-Gen kodiert wird (77). Außerdem muss angenommen werden, dass die Biosynthese und die Sensitivität für Androgene genetisch bedingten Unterschieden unterliegt (78).

Zusammenfassend kann man feststellen, dass der Genotyp in vielen Fällen den Phänotyp bestimmt (vgl. Tab. 1.1).

| Phänotyp | klassische Variante mit Salzverlust | einfach virilisierende Form | nichtklassische Variante |
|---|--|-----------------------------|--------------------------|
| Inzidenz | 1/10000-21000 | | 1/1600 |
| 17-Hydroxyprogesteron i.S. | > 20000 ng/dl | 10000-30000 ng/dl | < 1000 ng/dl |
| typische Mutationen, die die klinische Erscheinungsform bestimmen (Auswahl) | Gendeletionen große Genkonversionen Δ8bp E6 cluster F306+t Q318X R356W I2 G | I172N I2 G | P30L V281L P453S |
| Restaktivität der 21-Hydroxylase (%) | 0 | 1-2 | 20-50 |

Tab. 1.1 Genotyp-Phänotyp Korrelation beim Adrenogenitalen Syndrom bei Defekt der 21-Hydroxylase, Auswahl

1.6 Diagnose des Adrenogenitalen Syndroms

1.6.1 Diagnostik bei Neugeborenen mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom

Neugeborene mit einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom fallen im Neugeborenen-Screening durch einen erhöhten Serumwert von 17-Hydroxyprogesteron auf. Mädchen zeigen bereits bei ihrer Geburt ein virilisiertes Genital. Diese Kinder sollten einem erfahrenen Kinderendokrinologen zur weiteren Abklärung vorgestellt werden. Die Untersuchung eines Kindes mit nicht eindeutigen Genitalbefund bei dem Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom beinhaltet eine ausführliche Anamnese, eine körperliche Untersuchung, eine Ultraschalluntersuchung der inneren Geschlechtsorgane und Nebennieren, eine Bestimmung des chromosomalen Geschlechts und die Messung eines Serumwertes für 17-Hydroxyprogesteron (79).

Das Screening ist eine gute Methode, um erkrankte Jungen und Mädchen zu erkennen. Es verhindert eine falsche Geschlechtszuordnung, und vermindert Mortalität und Morbidität, da gerade betroffene männliche Neugeborene, die phänotypisch meist unauffällig sind, vor einer Salzverlustkrise diagnostiziert und therapiert werden können (80, 81).

Beim Neugeborenen-Screening wird 17-Hydroxyprogesteron mittels *time-resolved fluoro-immunoassay (Europa)*, *radioimmunoassay (USA)* oder *enzyme-linked immunoabsorbent assay (Japan)* in einem Blutstropfen auf einer Filterpapierkarte bestimmt (5).

Frühgeborene, kranke oder gestresste Kinder neigen zu erhöhten Werten von 17-Hydroxyprogesteron, was zu falsch-positiven Ergebnissen im Screening führt. Auch Kinder mit einem nichtklassischen Adrenogenitalen Syndrom oder heterozygote Anlagenträger können im Screening mit leicht erhöhten Werten auffallen. Das Screening sollte zudem nicht vor dem 3. Lebensstag durchgeführt werden, da in den ersten beiden Lebensstagen das 17-Hydroxyprogesteron bei Erkrankten noch im Normalbereich liegen kann (82, 83), meist aber physiologischerweise noch erhöhte Werte vorliegen.

Jedes Screeninglabor sollte aufgrund der unterschiedlichen Meßmethoden und den o.g. Einflussfaktoren auf den 17-Hydroxyprogesteronwert eigene validierte Schwellenwerte festlegen, die dem Geburtsgewicht und dem Alter des Kindes angepasst sind (84). Für Kinder mit niedrigem

Geburtsgewicht werden höhere 17-Hydroxyprogesteronwerte toleriert. Um eine adäquate Sensitivität zu erreichen, müssen die Schwellenwerte ausreichend niedrig angesetzt werden. Dies hat eine hohe Rate an falsch-positiven Testergebnissen zur Folge (28). Wird ein Grenzwert überschritten, müssen deshalb weitere Untersuchungen mit einer höheren Spezifität folgen. Weitere diagnostische Schritte sind eine Kontrolle des 17-Hydroxyprogesteronwerts in einer zweiten Blutprobe, ein Steroidprofil im Urin oder eine Analyse des CYP21-Gens (79, 85, 86, 87, 88). Hinweise auf einen Salzverlust geben zusätzlich die Untersuchung der Elektrolytkonzentrationen im Serum oder im Urin und die Bestimmung der Plasmareninaktivität (89). Letztlich gibt es keine einheitlichen Regelungen, wie bei einem positiven Screeningtest zu verfahren ist.

Auch der ACTH-Stimulationstest kann in der weiterführenden Diagnostik eingesetzt werden. Nach intravenöser Applikation von ACTH werden die Konzentrationen von 17-Hydroxyprogesteron und je nach Testdesign von weiteren Steroiden gemessen werden. Patienten mit einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom zeigen einen stärkeren Anstieg von 17-Hydroxyprogesteron als Gesunde (3, 13, 28). Die Bedeutung des ACTH-Stimulationstests wird unterschiedlich bewertet und er wird in vielen Zentren nicht routinemäßig durchgeführt.

1.6.2 Erhöhte 17-Hydroxyprogesteronwerte beim Adrenogenitalen Syndrom im Screening und im ACTH-Test

Der Grad der Erhöhung des 17-Hydroxyprogesterons im Screening und im ACTH-Stimulationstest lässt beim Adrenogenitalen Syndrom Vermutungen zur klinischen Manifestationsform zu. Je schwerer der Enzymdefekt ist, desto höhere Werte werden erreicht. Im Screening werden bei der salzverlierenden Form Werte größer als 20000 ng/dl und bei der einfach virilisierenden Form Werte zwischen 10000 und 30000 ng/dl gemessen. Bei der nichtklassischen Form liegen die Werte meist im Normbereich und sind kleiner als 1000 ng/dl (1, 72).

Im ACTH-Stimulationstest sieht man beim Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust Werte bis zu 100000 ng/dl, bei der einfach virilisierenden Form Werte bis zu 50000 ng/dl und bei der nichtklassischen Form Werte bis zu 10000 ng/dl. Patienten mit einem nichtklassischen Adrenogenitalen Syndrom können im ACTH-Stimulationstest verlässlicher unterschieden werden (28).

1.7 Therapie und Therapieziele des Adrenogenitalen Syndroms

1.7.1 klassisches Adrenogenitales Syndrom

Eine frühzeitige Therapie mit Gluko- und Mineralokortikoiden zur Unterdrückung der Überproduktion der Androgene und zur Substitution von Cortisol und Aldosteron ist notwendig, um eine weitere Virilisierung und eine vorzeitige Pubarche zu verhindern, das Größenwachstum zu optimieren, Fertilität zu erreichen und einer Salzverlustkrise vorzubeugen (79, 90).

Alle Patienten mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom sollten ab der Neugeborenenperiode mit Gluko- und Mineralokortikoiden in der niedrigst möglichen Dosis behandelt werden (91).

Als *Glukokortikoid* ist bei Kindern Hydrocortison in Tablettenform in einer supraphysiologischen täglichen Dosis von 10-15 mg/m² in drei oralen Einzeldosen (ED) das Medikament der ersten Wahl. Bei einigen Kindern sind initial höhere Dosierungen notwendig. Hydrocortison hat aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit weniger Nebenwirkungen als andere länger und stärker wirksame Glukokortikoide wie Prednison und Dexamethason (28). Erst nach Abschluss des Größenwachstum kann bei älteren Jugendlichen und Erwachsenen eine Therapie mit Prednison (5-

7.5 mg/d in 2 ED) oder Dexamethason (0.25-0.5 mg/d in 1-2 ED) in Betracht gezogen werden. Besonders bei diesen Patienten ist auf die Symptome eines iatrogenen Cushing-Syndroms zu achten (3). Männer mit *testicular adrenal rest tumors* benötigen oft höhere Dosen an Dexamethason, um die Ausschüttung von ACTH und damit ein Wachstum dieser benignen Tumoren ausreichend zu unterdrücken (13).

Als *Mineralokortikoid* ist Fludrocortison in einer oralen Dosis von 0.05-0.3 mg/d das Medikament der Wahl. Einige Kinder benötigen zusätzlich eine Natriumsubstitution (17-34 mmol/d) (92). Durch die Gabe von Mineralokortikoiden wird ein Salzverlust verhindert. Auch Patienten mit der einfach virilisierenden Form profitieren von dieser Therapie, da die Glukokortikoiddosis niedrig gehalten werden kann (79, 89). Im Verlauf entwickeln viele Kinder ein Gefühl für salzhaltige Nahrungsmittel, so dass eine Natriumsubstitution nicht mehr notwendig ist. Zeichen einer Überdosierung mit Mineralokortikoiden sind Hypertonie, Tachykardie, Ödeme, Wachstumsverzögerung und eine niedrige Plasmareninaktivität (93).

Zur Therapiekontrolle sollten in regelmäßigen Abständen 17-Hydroxyprogesteron, Androstendion, Testosteron, die Serumelektrolyte und die Plasmareninaktivität bzw. direktes Renin bestimmt werden. Der Zielspiegel für 17-Hydroxyprogesteron liegt bei 100-1000 ng/dl (94). Die Androgenspiegel sollten dem Alter und Geschlecht angemessenen sein. Bei Kindern sollten jährlich radiologisch das Knochenalter bestimmt und engmaschig das Längenwachstum kontrolliert werden (33).

In Stresssituationen wie fieberhaften Erkrankungen und chirurgischen Eingriffen in Allgemeinanästhesie ist eine Verdreifachung der Glukokortikoiddosis sowie eine Anpassung der Natrium- und Glukosezufuhr notwendig. Eine Erhöhung der Fludrocortisondosis ist nicht notwendig, da Hydrocortison in hoher Dosierung eine ausreichende mineralokortikoide Wirkung besitzt (3, 95, 96).

In der Schwangerschaft werden Frauen, die an einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom erkrankt sind, mit nicht plazentagängigen Glukokortikoiden wie Hydrocortison und Prednison in angepasster Dosierung weiter behandelt. Während der Geburt und in der Peripartalzeit ist eine Stressdosierung notwendig (97).

1.7.2 experimentelle Therapieansätze

Pharmakologisch gibt es unterschiedliche bisher nicht etablierte Therapieansätze. Eine Viererkombination mit einem Androgenrezeptorantagonisten, einem Aromataseinhibitor, niedrig dosierten Gluko- und Mineralokortikoiden zeigte viel versprechende Ergebnisse hinsichtlich des Fortschreitens des Knochenalters und des Längenwachstums (98, 99). Auf experimenteller oder theoretischer Basis werden Therapien mit CRH-Antagonisten (79), 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenaseinhibitoren (100), Wachstumshormonen, GnRH-Antagonisten (101) und eine Substitution von Dehydroepiandrosteron (DHEA) (102) diskutiert.

Chirurgisch wird die Durchführung einer Adrenalektomie in Erwägung gezogen. Vor allem betroffene Frauen mit einer hohen Androgenüberproduktion und einem pharmakologisch schwer einzustellenden Adrenogenitalen Syndrom könnten von diesem Eingriff profitieren (103, 104).

Gentherapeutisch ist eine kurative Behandlung denkbar. In der näheren Zukunft ist jedoch mit keiner Therapieoption bei Menschen zu rechnen (79).

1.7.3 chirurgische Therapie bei Mädchen mit virilisiertem Genital

Ziel der chirurgischen Korrektur sind die Herstellung eines äußeren Genitals dem Geschlecht entsprechend, eine gute Funktion des harnableitenden Systems sowie eine gute sexuelle und

reproduktive Funktionsfähigkeit (105). Entsprechend der derzeitigen klinischen Erfahrung wird ein einmaliger korrigierender operativer Eingriff im Alter von zwei Monaten bis zu einem Jahr durch einen Spezialisten empfohlen (79, 106). Dies ist nicht in allen Zentren die übliche Praxis. Bei einem geringen Grad der Virilisierung ist eine operative Korrektur nicht notwendig.

1.7.4 pränatale Therapie (vgl. Abb. 1.3)

Mädchen mit einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom profitieren von einer Therapie in utero (107). Ein frühzeitiger Therapiebeginn möglichst vor der siebten Schwangerschaftswoche verhindert die Virilisierung von betroffenen Mädchen in mehr als 85% der Fälle (108). Einschlusskriterien für eine pränatale Therapie sind: 1) Vorhandensein eines bereits betroffenen Geschwisterkindes oder eines betroffenen Verwandten ersten Grades mit gesicherter genetischer Analyse oder beide Eltern sind Anlagenträger, 2) Schwangerschaft nicht älter als 9. Schwangerschaftswoche, 3) Verfügbarkeit einer schnellen und verlässlichen genetischen Diagnostik und 4) gute Compliance der Mutter (79).

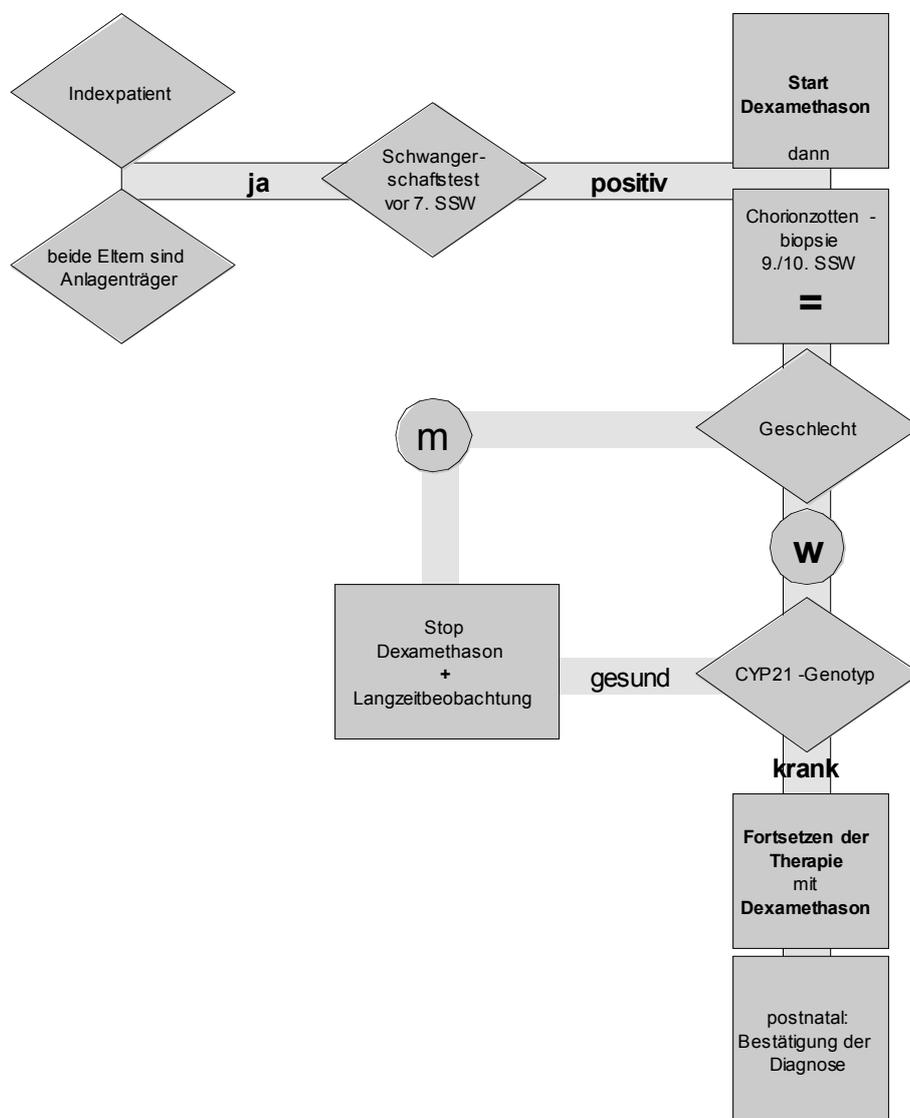


Abb. 1.3 Flussdiagramm: Entscheidung zur pränatalen Therapie bei Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom

Die Mutter erhält bei Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom des ungeborenen Kindes möglichst frühzeitig Dexamethason (Dosierung täglich 20 mcg/kg). Dexamethason kann die Plazenta passieren, da es nicht durch die placentare 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase metabolisiert wird (109). In der neunten bis elften Schwangerschaftswoche wird dann eine Chorionzottenbiopsie zur Geschlechtsbestimmung und Typisierung des CYP21-Gens durchgeführt. Bei homozygot oder heterozygot gesunden Mädchen und allen Jungen wird die pränatale Therapie gestoppt. Es zeigt sich ein ethisches Problem, da sieben von acht Schwangerschaften unnötigerweise mit Dexamethason behandelt werden (3).

Bei pränatal behandelten Kindern scheint die Rate an Fehlbildungen, Totgeburten, intrauterinen Wachstumsretardierungen, Störungen der kognitiven und körperlichen Entwicklung nicht höher zu sein als in der Normalbevölkerung (110). Es ist jedoch zu beachten, dass eine Chorionzottenbiopsie mit einer erhöhten Rate an spontanen Aborten verbunden ist (111). Hingegen sind bei behandelten Müttern Komplikationen wie eine größere Gewichtszunahme, Ödeme, Striae, Hypertonie und Hyperglykämie häufiger aufgetreten als bei unbehandelten Müttern (112).

Eine Langzeitbeobachtung sollte bei allen behandelten Müttern und Kindern als verbindlich angesehen werden.

1.7.5 nichtklassisches Adrenogenitales Syndrom

Eine Behandlung mit Glukokortikoiden ist bei Patienten mit einem nichtklassischen Adrenogenitalen Syndrom erst bei Auftreten von Symptomen bei möglicher Androgenüberproduktion empfohlen. So sollte bei einer vorzeitigen Pubarche mit beginnender Körperbehaarung und akzeleriertem Knochenalter sowie Hirsutismus, Oligomenorrhö, Infertilität, Hodenvergrößerung und Akne eine Therapie angeboten werden. Behandelten Patienten, die ihr Wachstum abgeschlossen haben oder deren Kinderwunsch erfüllt ist, sollte die Option gegeben werden, die Behandlung auszusetzen (79, 113).

1.8 Zielsetzung des Dissertation

Am Dr. von Haunerschen Kinderspital der Ludwigs-Maximilians-Universität in München wurde bei Kindern, die mit Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom bei einem positiven Neugeborenen-Screening oder bei virilisiertem Genital zur weiteren Evaluation vorgestellt wurden, ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Bei diesem Test wurden neben dem 17-Hydroxyprogesteron auch die basalen und stimulierten Werte von Cortisol im Serum bestimmt.

Diese Dissertation hat zum Ziel, die Verlässlichkeit und Sicherheit des ACTH-Stimulationstest in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndrom zu zeigen.

Der ACTH-Stimulationstest soll als Untersuchung etabliert werden, um möglichst frühzeitig und sicher die Diagnose Adrenogenitales Syndrom stellen zu können. Es soll gezeigt werden, dass neben der Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron der gleichzeitigen Bestimmung von Cortisol vor allem in grenzwertigen Fällen eine entscheidende Aussagekraft zukommt.

Der Test soll Gesunde von Kranken unterscheiden können, um eine unnötige Behandlung von Nichterkrankten zu vermeiden, da die Erkrankung klassisches Adrenogenitales Syndrom eine chronische Erkrankung ist, die für die Betroffenen eine lebenslange Substitutionstherapie zur Folge hat.

Schließlich soll diskutiert werden, ob der ACTH-Stimulationstest andere diagnostische Untersuchungen ersetzen kann in Betracht auf seine Sicherheit, die Kosten und die Durchführbarkeit im klinischen Alltag.

Methoden

2.1 Datenerhebung

Insgesamt wurden die Daten von 55 Patienten, die nach dem 1.1.1990 generiert wurden, ausgewertet. Alle untersuchten Patienten erhielten einen ACTH-Stimulationstest mit Bestimmung von Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron. Eingeschlossen wurden diejenigen Patienten, die an einem Adrenogenitalen Syndrom erkrankt waren und Nichterkrankte, die einen auffälligen Cortisol- oder 17-Hydroxyprogesteronwert nach Stimulation zeigten. Als Einschlusskriterien wurden ein 17-Hydroxyprogesteronwert größer als 1000 ng/dl oder ein Cortisolwert kleiner als 20 mcg/dl jeweils 60 Minuten nach Stimulation durch ACTH festgelegt.

Die Entscheidung einen ACTH-Stimulationstest durchzuführen hatte folgende Gründe. Die Mädchen fielen im Allgemeinen durch ein virilisiertes äußeres Genital auf. Die Jungen fielen durch einen beginnenden Salzverlust oder eine Penisvergrößerung mit skrotaler Hyperpigmentierung auf. Seit Einführung des Neugeborenen Screenings auf das Vorliegen eines Adrenogenitalen Syndroms in Bayern am 1.1.1999 konnte bereits in den ersten Lebenstagen bei einem positiven Screeningergebnis die Verdachtsdiagnose Adrenogenitales Syndrom gestellt werden.

Die Patienten konnten in zwei Gruppen eingeteilt werden. In der ersten Gruppe finden sich 25 Patienten (#01-#25), die an einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom der einfach virilisierenden Form oder mit einem Salzverlust erkrankt sind. In der zweiten Gruppe finden sich 30 Patienten (#26-#55), die nicht an einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom erkrankt sind, aber im ACTH-Stimulationstest die o.g. Kriterien hinsichtlich des Cortisols und des 17-Hydroxyprogesterons zeigten.

2.2 Beschreibung der Gruppen

Die Daten zu den einzelnen Patienten wurden anhand von Krankenblättern der Patienten und von Laborbüchern erhoben. Bei der Recherche wurden insbesondere Faktoren berücksichtigt, die einen Einfluss auf die Steroidbiosynthese haben können, wie Gestationsalter, Frühgeburtlichkeit, Genitalstatus, klinische Diagnosen und weitere „Stresssituationen“ in der Prä- und Neonatalphase. Zudem wurden, wenn durchgeführt, das Ergebnis im Neugeborenen Screening und der Genotyp dokumentiert.

1.2.1. Gruppe 1: Patienten mit einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom (Tab. 2.1)

In dieser Gruppe finden sich 25 Patienten, davon sind 7 männlich und 18 weiblich. 19 leiden an einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust, 5 an einem Adrenogenitalen Syndrom der einfach virilisierenden Form und bei einer Patientin stand zum Zeitpunkt der Evaluation die klinische Manifestationsform noch nicht eindeutig fest.

1.2.2. Gruppe 2: Nichterkrankte (Tab. 2.2)

In dieser Gruppe finden sich 30 Patienten, davon sind 15 männlich und 15 weiblich. entsprechend der Definition leidet keiner der Patienten an einem Adrenogenitalen Syndrom.

| Patient | Geburtsdatum | Gestationsalter [SSW] | small for gestational age | Frühgeburt | Genitalstatus bei Geburt ¹⁾ | Screening positiv ²⁾ | Genotyp | AGS mit Salzverlust | Mutationsgruppe ⁵⁾ | letzte Therapie | Nebendiagnosen |
|---------|--------------|-----------------------|---------------------------|------------|--|---------------------------------|--|---------------------|-------------------------------|-----------------|--|
| #01 | 26.07.1991 | 32 | - | X | m | | I2G/I172N | - | B | HC | - |
| #02 | 14.05.1992 | 40 | - | - | w P2 | | I2G/I172N | X | B | HC, AstH | - |
| #03 | 17.03.1994 | 41 | - | - | w P2 | | I172N/Q474X | - | B | HC | - |
| #04 | 12.07.1994 | 38 | - | - | w P2 | | I2G/I172N | - | B | HC | leichte Adipositas |
| #05 | 14.07.1994 | 39 | - | - | w P4 | 3) | conv/I2G | X | A | HC, AstH | Adipositas |
| #06 | 08.08.1994 | 40 + 6 | - | - | w P1 | | E3Δ8Bp _v /I172N _M | - | B | HC | - |
| #07 | 20.06.1996 | 41 | - | - | w P3-4 | | I2G/I172N | X | B | HC, AstH | Adipositas |
| #08 | 04.11.1996 | 42 + 3 | - | - | w P2-3 | | conv _M /I172N _V | X | B | HC | - |
| #09 | 01.06.1997 | 39 + 5 | - | - | m | | E3Δ8Bp _v /E3Δ8bp _M | X | 0 | HC, AstH | - |
| #10 | 01.10.1998 | 40 | - | - | m | | I2G/E3Δ8bp | X | A | HC, AstH | Temporallappenepilepsie, Enuresis nocturna |
| #11 | 21.01.1999 | 40 + 3 | - | - | w P2-3 | + | I172N _V /I2G _M | - | B | HC | - |
| #12 | 03.07.1999 | 40 | - | - | w P4 | + | 4) | X | - | HC, AstH | Balkenhypoplasie |
| #13 | 15.01.2002 | 40 + 3 | - | - | w P3-4 | + | del/W204X | X | A | HC | - |
| #14 | 04.02.2002 | 39 | - | - | w P2-3 | + | I2G _V /conv _M | X | A | HC, AstH | isolierte GOT-Erhöhung |
| #15 | 20.09.2002 | 36 + 6 | - | X | w P4 | + | I2G/I172N | X | B | HC, AstH | - |
| #16 | 29.11.2002 | 40 | - | - | w P3 | + | del/del | X | 0 | HC, AstH | art. Hypertonus, Z.n. komplexen Krampfanfall |
| #17 | 21.05.2003 | 39 | - | - | w P3 | + | del/I2G | X | A | HC, AstH | - |
| #18 | 20.11.2003 | 38 | - | - | w P1-2 | + | del _M /I172N _V | X | B | HC, AstH | - |
| #19 | 06.12.2003 | 38 | - | - | w P3-4 | + | conv _V /I2G _M | X | A | HC, AstH | - |
| #20 | 05.03.2004 | 41 + 2 | - | - | m | + | I172N _V /conv _M | X | B | HC, AstH | - |
| #21 | 27.06.2004 | 36 + 1 | - | X | m | + | I172N/I172N | X | B | HC, AstH | - |
| #22 | 13.10.2004 | 39 | - | - | m | + | I172N _M /conv _V | X | B | HC, AstH | - |
| #23 | 16.10.2004 | 40 | - | - | m | + | I2G _M /I2G _V | X | A | HC, AstH | - |
| #24 | 21.10.2004 | 33 + 1 | - | X | w P3 | + | del _M /del _V | X | 0 | HC, AstH | - |
| #25 | 08.02.2005 | 40 + 3 | - | - | w P4 | + | I2G/I2G | (X) | A | HC, AstH | - |

Tab. 2.1 Gruppe der an einem Adrenogenitalen Syndrom erkrankten Patienten (Gruppe 1). ¹⁾ m = männlich; w = weiblich, Beurteilung des weiblichen Genitales nach Prader (P 1-5); k.A. = keine Angabe; ²⁾ + = Screening positiv; - = kein Screening durchgeführt oder Screening negativ; ³⁾ Screening auf AGS in Bayern seit 1.1.1999; ⁴⁾ Genotyp wurde bisher nicht bestimmt; ⁵⁾ nach **Krone N, Braun A, Roscher AA, Knorr D, Schwarz HP** (2000) Predicting phenotype in steroid 21-hydroxylase deficiency? Comprehensive genotyping in 155 unrelated well defined patients from southern germany, J Clin Endocrinol Metab 85(3):1059-1065

| lfd. Nr. | Geburtsdatum | Gestationsalter | small for gestational age | Frühgeburt | Genitalstatus bei Geburt ¹⁾ | Screening positiv ²⁾ | "Stress" in der Prä- und Neonatalzeit | Genotyp ⁷⁾ | letzte Hauptdiagnose |
|----------|--------------|-----------------|---------------------------|------------|--|---------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|--|
| #26 | 26.07.1991 | k.A. | | | w | | | | |
| #27 | 15.11.1996 | 39 | X | - | m | | ja | - | Entwicklungsretardierung |
| #28 | 16.11.1996 | 26 | - | X | w | | ja | - | Tetraparese, Retardierung der mentalen Entwicklung |
| #29 | 18.03.1997 | 27 | - | X | m | | ja | - | altersentsprechende psychomotorische Entwicklung |
| #30 | 21.03.1997 | 33 | - | X | w | | ja | ? / ? | V.a. persistierend fetale Nebennierenrindenfunktion |
| #31 | 13.07.1997 | 39 | - | - | w K | | nein | - | - |
| #32 | 15.07.1997 | 39 | - | - | w L | | nein | a | V.a. AGS der late-onset-Form |
| #33 | 15.08.1997 | 38 | - | - | m HS | 3) | nein | - | V.a. AGS der late-onset-Form, AV-Block 1° |
| #34 | 27.09.1997 | 33 + 5 | - | X | m | | ja | - | V.a. hypertrophische Pylorusstenose, Apnoen |
| #35 | 26.10.1997 | k.A. | | | w | | | | |
| #36 | 07.11.1997 | 38 | - | - | w | | ja | b | Pulmonalstenose, VSD, Z.n. Nephrektomie rechts |
| #37 | 08.01.1998 | 24 + 2 | - | X | w ¹⁾ | | ja | V281L / ? | Hydrozephalus, Intelligenzminderung |
| #38 | 15.05.1998 | k.A. | | | m | | | | |
| #39 | 29.10.1998 | 39 | X | - | w | | ja | - | Z.n. neonataler Riesenzellhepatitis, neonatale Cholestase |
| #40 | 23.09.1999 | 36 | X | - | w | - | ja | - | Infektkrampf, Salmonellenenteritis, Entwicklungsverzögerung |
| #41 | 02.05.2000 | 36 | X | X | m | - | ja | ? / ? | Z.n. unklarer Leberfunktionsstörung |
| #42 | 08.07.2000 | k.A. | | | w | - | | | |
| #43 | 20.09.2000 | 40 | - | - | w | - | ja | - | Z.n. androgenproduzierendem Nebennierenrindentumor rechts |
| #44 | 18.11.2000 | 30 + 4 | - | X | m ^{†)} | - | ja | c | Fehlbildungssyndrom mit Trigonocephalie, Herzfehler u.a. |
| #45 | 22.02.2001 | k.A. | | | w | - | | | |
| #46 | 12.04.2001 | k.A. | | | w | - | | | |
| #47 | 19.08.2001 | 38 | - | - | m | 4) | ja | d | Pseudohypoadosteronismus |
| #48 | 21.08.2001 | 31 + 6 | - | X | m | + ₅₎ | ja | ? / ? | Z.n. persistierender fetaler Nebennierenrindenfunktion |
| #49 | 24.08.2001 | 37 + 1 | - | X | m | - | ja | - | V.a. Russell-Silver-Syndrom, Ausschluss M. Addison |
| #50 | 29.03.2002 | 32 + 1 | - | X | m HS | - | ja | e | Anpassungsstörung, Ureterabgangsstenose, Herzfehler |
| #51 | 18.06.2003 | 35 + 3 | - | X | m HS | + ₆₎ | ja | - | unklares Syndrom, latente Hypothyreose, Kleinwuchs |
| #52 | 14.11.2003 | 33 + 4 | - | X | m | + ₆₎ | ja | f | polyzystische Nieren beidseits, obstruktive Bronchitis |
| #53 | 09.04.2004 | 33 + 4 | - | X | m | - | ja | - | Granulozytopenie, Lympho- / Thrombozytose, Anämie, Ig-mangel |
| #54 | 27.07.2004 | 36 | - | X | m | + ₆₎ | ja | - | Hydronephrose beidseits, AV-Block 1° |
| #55 | 25.09.2004 | 36 + 3 | - | X | w | + ₆₎ | ja | ? / ? | - |

Tab. 2.2 Gruppe der Patienten mit einem auffälligen ACTH-Test, die nicht an einem Adrenogenitalen Syndrom erkrankt sind (Gruppe 2). k.A. = keine Angabe; ¹⁾ m = männlich; w = weiblich; es traten folgende Veränderungen auf: K = Klitorishypertrophie; L = große Labia majora und minora; HS = Hypospadie; *) Das Genital wurde bei der Geburt als virilisiertes Genital Stadium 3 nach Prader beschrieben. Es muss angenommen werden, dass diese Einordnung falsch ist; †) sehr kleines Genital, fragliche Hypospadie; ²⁾ + = Screening positiv; - = Screening negativ; ³⁾ Screening für AGS in Bayern seit 1.1.1999; ⁴⁾ Patient wurde nicht gescreent; ⁵⁾ 1. Screening war negativ, 2. Screening und Kontrolle waren positiv; ⁶⁾ 1. Screening war positiv, 2. Screening war dann negativ; ⁷⁾ - = Genotyp wurde bisher nicht bestimmt; ? = keine der 12 getesteten Mutationen für ein Adrenogenitales Syndrom nachweisbar; a = Ausschluss eines Androgenrezeptordefektes; b = im Elastigen kein Hinweis auf eine Mikrodeletion, normaler weiblicher Chromosomensatz; c = keiner der bekannten Defekte für das Trigonocephalie-Syndrom Opitz nachweisbar; d = splice site Mutation im Intron 1 des MLR-Gens; e = Ausschluss Androgenrezeptordefekt; f = keine der zehn häufigsten Mutationen für ein Adrenogenitales Syndrom nachweisbar, seltene Mutation für

2.3 Labormethoden

1.3.1. ACTH-Stimulationstest

Beim ACTH-Stimulationstest wird dem Patienten synthetisch hergestelltes ACTH in einer Dosis von 25 I.E./m² (entspricht Synacthen® 0.25 mg/m²) durch intravenöse Bolusinjektion verabreicht. Vor der Gabe von ACTH (Zeitpunkt 0') und eine Stunde nach Applikation (Zeitpunkt 60') werden die Werte für Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron im Serum durch Blutentnahmen bestimmt. ACTH bindet an spezifische Rezeptoren in der Nebennierenrinde. Die Steroidbiosynthese wird induziert.

1.3.2. Bestimmung von Cortisol im Serum

Das Cortisol im Serum wurde bis April 2002 mittels *TDx fluorescence polarization assay* (Fa. Abbot) und ab April 2002 mittels *ECLIA electrochemiluminescence immunoassay* (Fa. Roche) bestimmt. Die Richtigkeit dieser Methode zeigt einen Variationskoeffizienten von 5.2% bestimmt bei einer Messreihe mit dem Mittelwert von 12.7 mcg/dl und einer Standardabweichung von 0.66. Die Präzision liegt bei 4% bestimmt bei einer Messreihe mit einem Mittelwert von 11.4 mcg/dl und einer Standardabweichung von 0.4.

Bei der Bestimmung von Cortisol beträgt die Kreuzreaktivität mit 17-Hydroxyprogesteron 0.4% [*TDx (Abbot)*] bzw. 1.5% [*ECLIA (Roche)*].

1.3.3. Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron im Serum

Das 17-Hydroxyprogesteron im Serum wurde bis November 2003 mittels *RIA* (Fa. DSL und IBL) und dann mittels *enzyme immunoassay* (Fa. IBL) bestimmt. Die Richtigkeit dieser Methode zeigt einen Variationskoeffizienten von 4.0% bestimmt bei einer Messreihe mit dem Mittelwert von 111 ng/dl und einer Standardabweichung von 4.47. Die Präzision liegt bei 3.0% bestimmt bei einer Messreihe mit einem Mittelwert von 210 ng/dl und einer Standardabweichung von 6.5.

Bei der Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron beträgt die Kreuzreaktivität mit Cortisol 0.013% [*enzyme immunoassay (IBL)*] bzw. 0.008% [*RIA [IBL]*] und <0.01% [*RIA (DSL)*].

2.4 Statistische Methoden

Im Folgenden werden die statistischen Methoden beschrieben, mit denen die erhobenen Daten beschrieben und ausgewertet wurden.

2.4.1 Normalverteilung

Die erhobenen Daten für die Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte zeigen im Histogramm keine Normalverteilung. Zwar errechnet sich für einzelne Datenmengen im Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest eine scheinbare Normalverteilung, da dies jedoch nicht für alle Datenmengen zutrifft, kann nicht von einer Normalverteilung der Werte ausgegangen werden. Alle Tests, die angewandt wurden, sind bei nicht normalverteilten Stichproben zulässig.

2.4.2 Beschreibung der Daten einer Gruppe

Da die Daten für Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte nicht normalverteilt sind, lassen sie sich am besten durch die Angabe von Median, Spannweite, Interquartilabstand sowie Minimum und Maximum beschreiben.

Außerdem gibt es für einige Werte nur Angaben der Form *größer als*, da im Labor nur eine einmalige Bestimmung der Plasma-Renin-Aktivität erfolgen kann, und bei unerwartet hohen Werten keine ausreichende Verdünnung der Probe durchgeführt wurde.

2.4.3 Analyse der Daten der Gruppe 1 und der Gruppe 2

Vergleicht man die Cortisolwerte zum Zeitpunkt 0' mit den entsprechenden Werten zum Zeitpunkt 60' innerhalb einer Gruppe, so kommt der Wilcoxon-Test für verbundene und nicht normalverteilte Stichproben zur Anwendung. Entsprechend wird für die 17-Hydroxyprogesteronwerte verfahren.

In der Gruppe 1 ist ein 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 0', der als > 40000 ng/dl angegeben war, als 40000 ng/dl in die Analyse eingegangen. Da der Wert außerhalb des Interquartilbereichs liegt und nur ein einziges Mal auftritt, beeinflusst er das Gesamtergebnis kaum.

Die Korrelation von Alter und Cortisol- bzw. 17-Hydroxyprogesteronwerten wird mit dem Spearman-Koeffizienten angegeben. Im Streudiagramm lässt sich eine errechnete Korrelation zusätzlich abschätzen. Der Einfluss des Geschlechts auf die Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest wird mit dem U-Test nach Mann und Whitney für unverbundene und nicht normalverteilte Stichproben berechnet. Hierbei ist zu beachten dass die Verteilung von beiden Geschlechtern in der Gruppe 1 ungleichmäßig ist (7 männliche und 18 weibliche Patienten).

2.4.4 Vergleich und Analyse der Daten zwischen Gruppe 1 und 2

Mit dem U-Test nach Mann und Whitney können die Daten zwischen den beiden Gruppe verglichen werden, da sich die Cortisolwerte der Gruppe 1 zum Zeitpunkt 0' unverbunden mit den entsprechenden Cortisolwerten der Gruppe 2 verhalten. Die Cortisolwerte zum Zeitpunkt 60' und die 17-Hydroxyprogesteronwerte verhalten sich ebenso.

Auch die Stichproben für den relativen und den absoluten Anstieg des Cortisols und des 17-Hydroxyprogesteron werden mit dem U-Test nach Mann und Whitney geprüft.

Zur Bestimmung der optimalen „Cut-offs“ für die Berechnung der Sensitivität und Spezifität kommen ROC-Kurven zur Anwendung, anhand derer die Sensitivität und gegenläufig die Spezifität abgelesen werden können.

Resultate

3.1. ACTH-Stimulationstest

Im ACTH-Stimulationstest wird die Steroidbiosynthese durch die Gabe von ACTH stimuliert. Bei den untersuchten Patienten wurden das Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron vor Gabe des ACTH (Zeitpunkt 0') und 60 Minuten nach Applikation des ACTH (Zeitpunkt 60') gemessen. Bei einem kompletten oder teilweisen Defekt der 21-Hydroxylase, wie er beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom vorliegt, kommt es zu höheren Werten des Vorläufers 17-Hydroxyprogesteron und zu niedrigeren Werten des Endproduktes Cortisol. Im Folgenden sind die Ergebnisse und deren Analyse der Gruppen 1 (Erkrankte) und 2 (Nichterkrankte) dargestellt.

3.1.1. Gruppe 1 (Erkrankte)

Ein Patient der Gruppe 1 wurde von der statistischen Analyse in diesem Kapitel ausgeschlossen. Er wird als Einzelfall beschrieben (Patient #09, s. 3.2.) und ist nur in Tab. 3.1 sowie den Abb. 3.1 und 3.2 dargestellt. In den anderen Abbildungen und Tabellen des Kapitels 3.1 ist er nicht berücksichtigt worden. In der Gruppe 1 (#01 bis #25) wurden die Ergebnisse von 24 Patienten (davon sind 18 weiblich und 6 männlich), die an einem Adrenogenitalen Syndrom erkrankt sind und einen ACTH-Stimulationstest in den ersten beiden Lebensjahren bekommen haben, analysiert. Fünf (entspricht 21%) der untersuchten Patienten sind an der einfach virilisierenden Form des Adrenogenitalen Syndroms erkrankt, die anderen 19 (entspricht 79%) Patienten an einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust.

| Patient | Geschlecht | Geburtsdatum | Cortisol 0' | Cortisol 60' | 17-OHP 0' | 17-OHP 60' | Alter des Kindes in Tagen zum Zeitpunkt des ACTH-Tests |
|---------|------------|--------------|-------------|--------------|-----------|------------|--|
| #01 | m | 26.07.1991 | 8,7 | 9,5 | 15650 | 32265 | 467 |
| #02 | w | 14.05.1992 | 11,2 | 11,7 | 20395 | 48779 | 280 |
| #03 | w | 17.03.1994 | 4,7 | 5,6 | 24934 | 75955 | 385 |
| #04 | w | 12.07.1994 | 6,4 | 6,4 | 26302 | 28844 | 46 |
| #05 | w | 14.07.1994 | 6 | 4,4 | > 40000 | 35659 | 6 |
| #06 | w | 08.08.1994 | 6,6 | 9,5 | 46596 | 71934 | 364 |
| #07 | w | 20.06.1996 | 6,5 | 8,4 | 4460 | 10043 | 7 |
| #08 | w | 04.11.1996 | 10,1 | 13,3 | 27265 | 80946 | 108 |
| #09 | m | 01.06.1997 | 1,1 | 18,9 | 15984 | 15138 | 33 |
| #10 | m | 01.10.1998 | 4,4 | 5,3 | 30450 | 51450 | 18 |
| #11 | w | 21.01.1999 | 11 | 14 | 27380 | 49200 | 18 |
| #12 | w | 03.07.1999 | 10,8 | 11,5 | 103103 | 100584 | 6 |
| #13 | w | 15.01.2002 | 7 | 7 | 41082 | 40307 | 2 |
| #14 | w | 04.02.2002 | 3,1 | 5,4 | 5861 | 38648 | 7 |
| #15 | w | 20.09.2002 | 5,6 | 6,3 | 17741 | 20854 | 27 |
| #16 | w | 29.11.2002 | 5,6 | 6,6 | 19421 | 18447 | 5 |
| #17 | w | 21.05.2003 | 5 | 7,1 | 7008 | 17244 | 7 |
| #18 | w | 20.11.2003 | 7,4 | 9,1 | 26910 | 25117 | 29 |
| #19 | w | 06.12.2003 | 8,2 | 13,4 | 13124 | 18034 | 6 |
| #20 | m | 05.03.2004 | 5,1 | 9,4 | 14007 | 34866 | 10 |
| #21 | m | 27.06.2004 | 4,5 | 10,7 | 10694 | 30766 | 25 |
| #22 | m | 13.10.2004 | 5,6 | 8,9 | 15320 | 31440 | 55 |
| #23 | m | 16.10.2004 | 4,5 | 6,9 | 15129 | 23040 | 10 |
| #24 | w | 21.10.2004 | 10,4 | 11,1 | 46643 | 60329 | 5 |
| #25 | w | 08.02.2005 | 6,6 | 11 | 10569 | 18920 | 2 |

Tab. 3.1 Gruppe 1: Patienten mit einem Adrenogenitalen Syndrom. Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest für die Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte zu den Zeitpunkten 0' und 60'. Alter der Patienten zum Zeitpunkt des ACTH-Tests.

Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest

Die einzelnen Ergebnisse für die bestimmten Parameter der Patienten #01 bis #25 sind in Tab. 3.1 sowie in den Abb. 3.1 für Cortisol und in Abb. 3.2 für 17-Hydroxyprogesteron dargestellt.

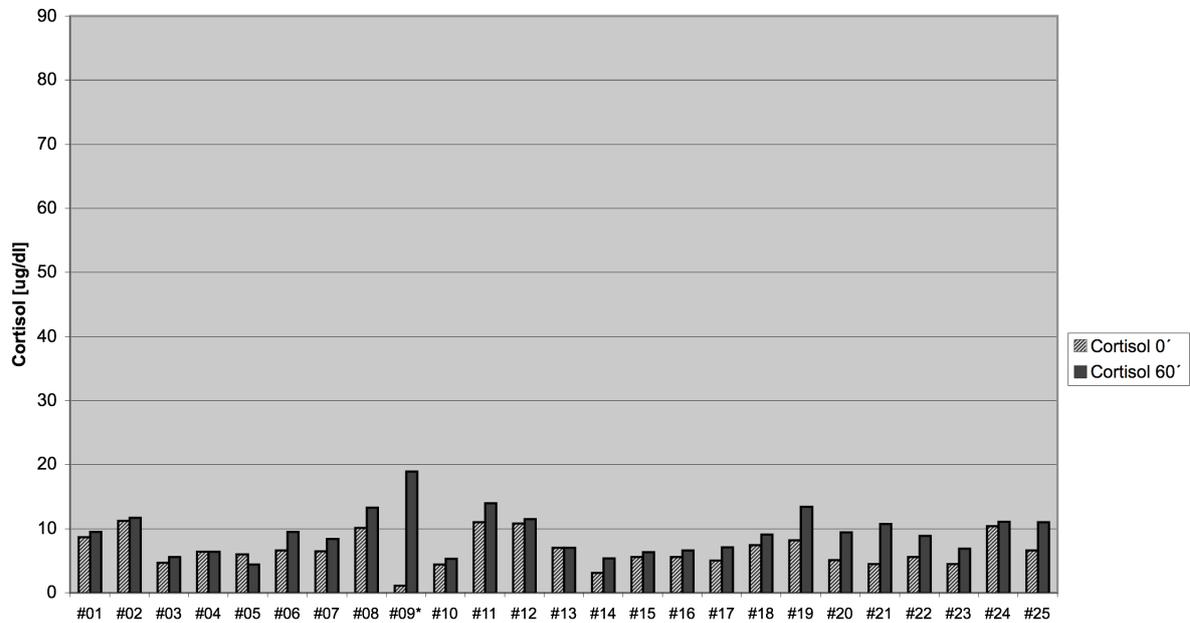


Abb. 3.1 Cortisolwerte der Gruppe 1 (Erkrankte) vor und nach Stimulation mit ACTH

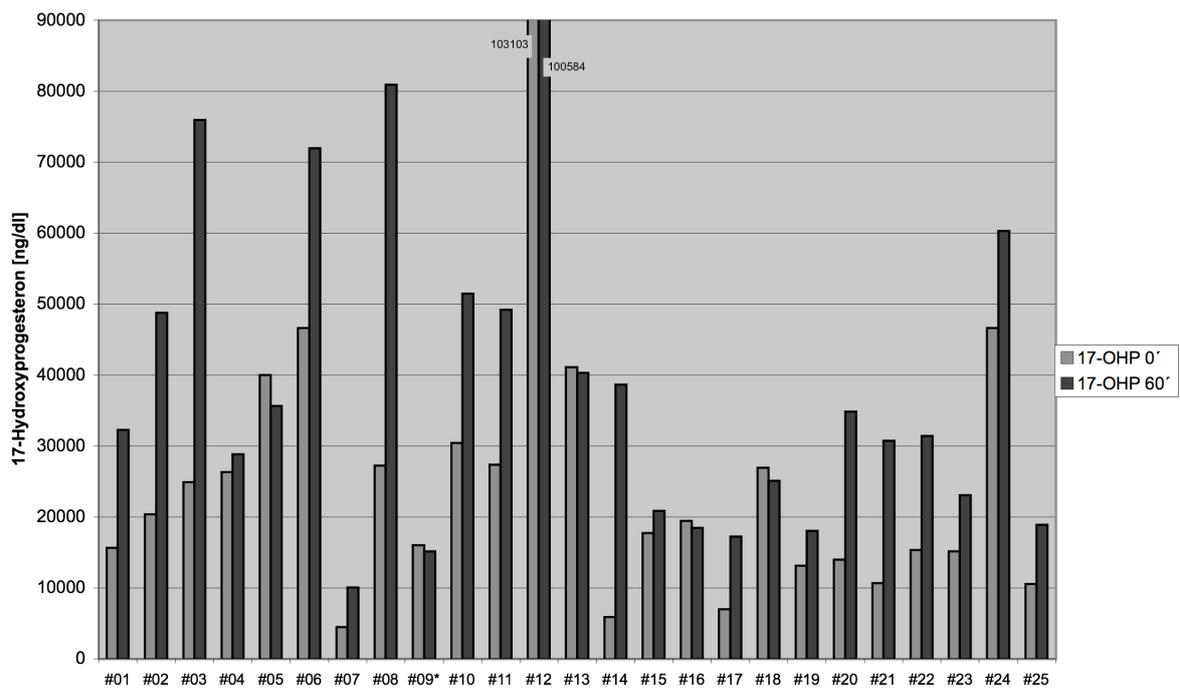


Abb. 3.2 17-Hydroxyprogesteronwerte der Gruppe 1 (Erkrankte) vor und nach Stimulation mit ACTH

a) Cortisolwerte zum Zeitpunkt 0´

Die Cortisolwerte in der Gruppe 1 für den Zeitpunkt 0´ zeigen eine Spannweite von 8.1 mcg/dl bei einem Minimum von 3.1 mcg/dl (Patient #14) und einem Maximum von 11.2 mcg/dl (Patient #02). Der Median ist 6.5 mcg/dl bei einem Interquartilbereich von 3.5 mcg/dl.

b) Cortisolwerte zum Zeitpunkt 60´

Die Cortisolwerte für den Zeitpunkt 60´ zeigen eine Spannweite von 9.6 mcg/dl bei einem Minimum von 4.4 mcg/dl (Patient #05) und einem Maximum von 14.0 mcg/dl (Patient #11). Der Median ist 9.0 mcg/dl bei einem Interquartilbereich von 4.6 mcg/dl.

Die bestimmten Cortisolwerte zum Zeitpunkt 0´ sind höchst signifikant niedriger als die Werte, die zum Zeitpunkt 60´ gemessen wurden ($p < 0.001$).

c) 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 0´

Die 17-Hydroxyprogesteronwerte für den Zeitpunkt 0´ zeigen eine Spannweite von 98643 ng/dl bei einem Minimum von 4460 ng/dl (Patient #07) und einem Maximum von 103103 ng/dl (Patient #12). Der Median ist 19908 ng/dl bei einem Interquartilbereich von 16338 ng/dl.

d) 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 60´

Die 17-Hydroxyprogesteronwerte für den Zeitpunkt 60´ zeigen eine Spannweite von 90541 ng/dl bei einem Minimum von 10043 ng/dl (Patient #07) und einem Maximum von 100584 ng/dl (Patient #12). Der Median ist 33566 ng/dl bei einem Interquartilbereich von 29487 ng/dl.

Die bestimmten 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 0´ sind von denen zum Zeitpunkt 60´ höchst signifikant verschieden ($p < 0.001$). Die 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 60´ sind also signifikant höher als die Werte zum Zeitpunkt 0´.

Analyse möglicher Einflussfaktoren auf den ACTH-Stimulationstest (Patient #09 wurde nicht berücksichtigt)

I. Alter der Patienten zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests

Der ACTH-Stimulationstest wurde in der Gruppe 1 im Median in einem Alter von 14 Tagen bei einem Interquartilbereich von 47 Tagen durchgeführt. Die zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests beiden jüngsten Patienten waren zwei Tage alt (#13 und #25), der zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests älteste Patient war 467 Tage alt (#01).

Unterteilt man die Gruppe 1 in die Patienten, die vor Einführung des Screenings in Bayern geboren wurden (Patienten #01 bis #10) und die Patienten, die am Screening teilgenommen haben (Patienten #11 bis #25), so ergeben sich folgende Werte.

Patienten #01 bis #10: Der jüngste Patient (#05) war sechs Tage alt, der älteste Patient (#01) war 467 Tage alt. Der Median beträgt 108 Tage.

Patienten #11 bis #25: Die beiden jüngsten Patienten (#13 und #25) waren zwei Tage alt, der älteste Patient (#22) war 55 Tage alt. Der Median ist sieben Tage.

II. Korrelation von Alter und Ergebnissen im ACTH-Stimulationstest

Es ergibt sich keine signifikante Korrelation von den Cortisolwerten zu dem Zeitpunkt 0' bzw. 60' mit dem Alter des Patienten bei Durchführung des ACTH-Stimulationstests (Korrelationskoeffizient 0.01 bzw. 0.038).

Für die 17-Hydroxyprogesteronwerte zu dem Zeitpunkt 0' bzw. 60' ergibt sich ebenfalls keine signifikante Korrelation mit dem Alter des Patienten (Korrelationskoeffizient 0.051 bzw. 0.287).

III. Geschlecht

Die Geschlechtszugehörigkeit in der Gruppe 1 (18 weibliche und sechs männliche Patienten) zeigt lediglich für den Cortisolwert zum Zeitpunkt 0' einen signifikanten Unterschied ($p=0.04$). Die männlichen Patienten haben niedrigere Cortisolwerte als die weiblichen Patienten.

Für die Cortisolwerte zum Zeitpunkt 60' und die beiden 17-Hydroxyprogesteronwerte ergibt sich kein signifikanter Unterschied.

3.1.2. Gruppe 2 (Kontrollgruppe)

In der Gruppe 2 (#26 bis #55) wurden 30 Patienten (davon sind 15 weiblich und 15 männlich), die im ACTH-Stimulationstest aufgefallen sind und nicht an einem Adrenogenitalen Syndrom leiden, untersucht. Die Patienten waren bei Durchführung des Tests jünger als zwei Jahre.

Als Kriterien für einen auffälligen ACTH-Stimulationstest wurden ein Cortisolwert zum Zeitpunkt 60' kleiner als 20 mcg/dl oder ein 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 60' größer als 1000 ng/dl festgelegt.

| Patient | Geschlecht | Geburtsdatum | Cortisol 0' [µg/dl] | Cortisol 60' [µg/dl] | 17-OHP 0' [ng/dl] | 17-OHP 60' [ng/dl] | Alter des Kindes in Tagen zum Zeitpunkt des ACTH-Tests |
|---------|------------|--------------|---------------------|----------------------|-------------------|--------------------|--|
| #26 | w | 26.07.1991 | 21,8 | 56,1 | 114 | 1975 | 467 |
| #27 | m | 15.11.1996 | 17,4 | 58,5 | 594 | 1302 | 60 |
| #28 | w | 16.11.1996 | 4,2 | 13,5 | 130 | 524 | 72 |
| #29 | m | 18.03.1997 | 29,8 | 41 | 779 | 1515 | 127 |
| #30 | w | 21.03.1997 | 32,2 | 46,8 | 4899 | 5618 | 53 |
| #31 | w | 13.07.1997 | 3,5 | 50,1 | 617 | 2639 | 60 |
| #32 | w | 15.07.1997 | 13,7 | 39,9 | 941 | 2303 | 8 |
| #33 | m | 15.08.1997 | 5,1 | 42,3 | 1411 | 3951 | 32 |
| #34 | m | 27.09.1997 | 5,7 | 43,8 | 716 | 2140 | 55 |
| #35 | w | 26.10.1997 | 1,5 | 53,5 | 304 | 1580 | 87 |
| #36 | w | 07.11.1997 | 2,6 | 46,6 | 1665 | 3865 | 77 |
| #37 | w | 08.01.1998 | 7,4 | 30,5 | 15546 | 22722 | 50 |
| #38 | m | 15.05.1998 | 12,2 | 57,5 | 1028 | 3007 | 5 |
| #39 | w | 29.10.1998 | 19,2 | 43 | 466 | 1035 | 35 |
| #40 | w | 23.09.1999 | 3,8 | 52,1 | 954 | 2233 | 41 |
| #41 | m | 02.05.2000 | 15,1 | 21,1 | 3483 | 4136 | 50 |
| #42 | w | 08.07.2000 | 4,1 | 53,8 | 635 | 1651 | 52 |
| #43 | w | 20.09.2000 | 10,9 | 36,8 | 1482 | 1465 | 331 |
| #44 | m | 18.11.2000 | 10,7 | 55,2 | 1054 | 3818 | 122 |
| #45 | w | 22.02.2001 | 7,1 | 68,1 | 1312 | 2720 | 20 |
| #46 | w | 12.04.2001 | 2,1 | 60,9 | 1383 | 3009 | 45 |
| #47 | m | 19.08.2001 | 18,8 | 86,3 | 125 | 1582 | 162 |
| #48 | m | 21.08.2001 | 15,4 | 48,5 | 539 | 1637 | 150 |
| #49 | m | 24.08.2001 | 11,2 | 30 | 506 | 1827 | 322 |
| #50 | m | 29.03.2002 | 8,2 | 44 | 678 | 2130 | 49 |
| #51 | m | 18.06.2003 | 1,7 | 35,2 | 718 | 1072 | 35 |
| #52 | m | 14.11.2003 | 35,1 | 21,7 | 6507 | 5203 | 25 |
| #53 | m | 09.04.2004 | 6 | 18,3 | 152 | 209 | 108 |
| #54 | m | 27.07.2004 | 5,2 | 35,5 | 1622 | 5381 | 27 |
| #55 | w | 25.09.2004 | 5,7 | 26 | 1306 | 1853 | 32 |

Tab. 3.2 Gruppe 2: Patienten mit einem auffälligen ACTH-Stimulationstest. Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest für die Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte zu den Zeitpunkten 0' und 60'. Alter der Patienten zum Zeitpunkt des ACTH-Tests.

Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest

Die einzelnen Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest der Patienten #26 bis #55 sind in der Tab. 3.2 sowie in den Abb. 3.3 und 3.4 dargestellt.

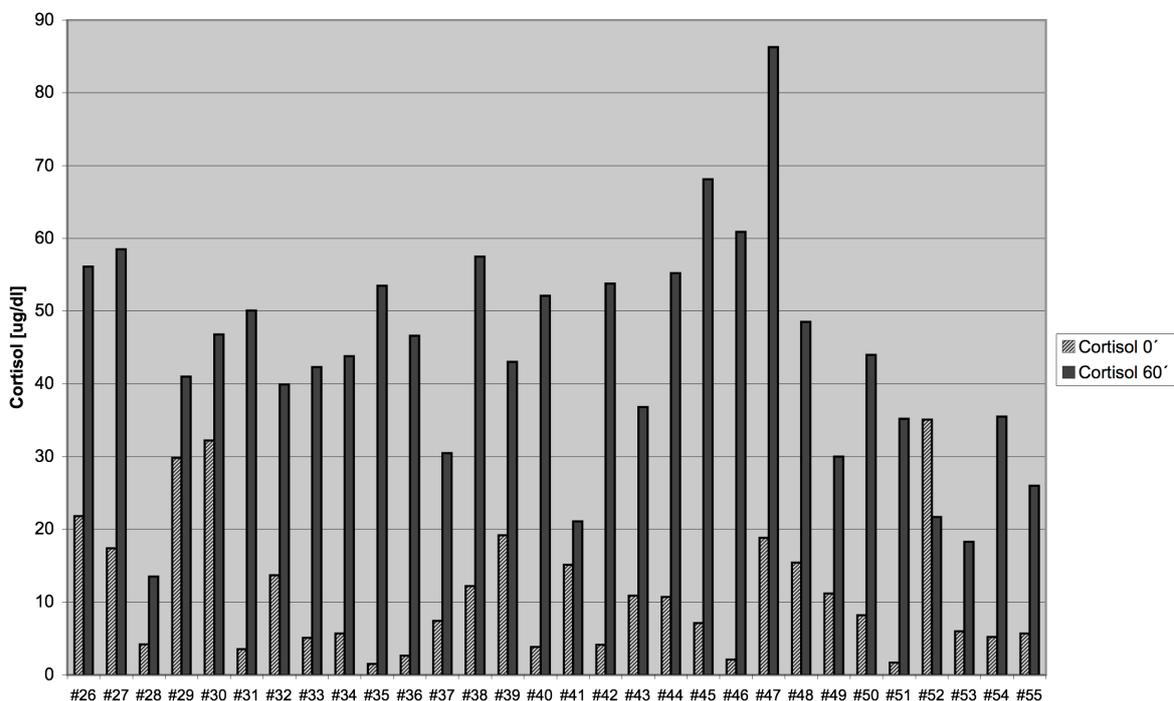


Abb. 3.3 Cortisolwerte der Gruppe 2 (Nichterkrankte) vor und nach Stimulation mit ACTH

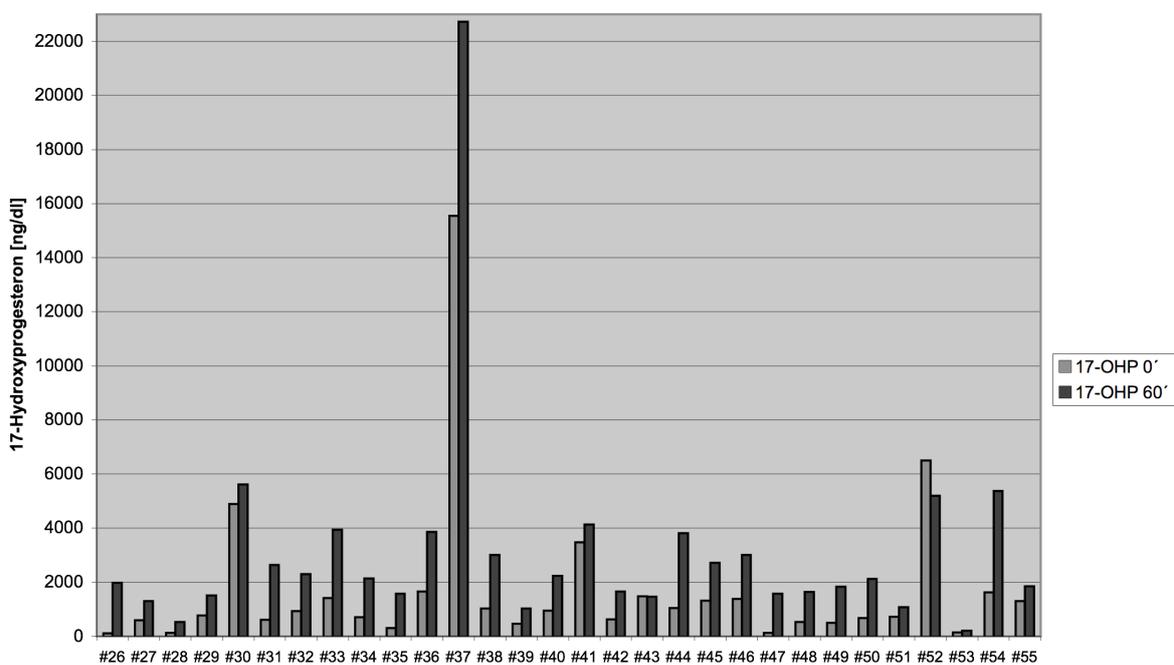


Abb. 3.4 17-Hydroxyprogesteronwerte der Gruppe 2 (Nichterkrankte) vor und nach Stimulation mit ACTH

a) Cortisolwerte zum Zeitpunkt 0'

Die Cortisolwerte in der Gruppe 2 für den Zeitpunkt 0' zeigen eine Spannweite von 33.6 mcg/dl bei einem Minimum von 1.5 mcg/dl (Patient #35) und einem Maximum von 35.1 mcg/dl (Patient #52). Der Median ist 7.8 mcg/dl bei einem Interquartilbereich von 11.7 mcg/dl.

b) Cortisolwerte zum Zeitpunkt 60'

Die Cortisolwerte für den Zeitpunkt 60' zeigen eine Spannweite von 72.8 mcg/dl bei einem Minimum von 13.5 mcg/dl (Patient #28) und einem Maximum von 86.3 mcg/dl (Patient #47). Der Median ist 43.9 mcg/dl bei einem Interquartilbereich von 20.1 mcg/dl.

Die bestimmten Cortisolwerte zum Zeitpunkt 0' sind von denen zum Zeitpunkt 60' höchst signifikant verschieden ($p < 0.001$).

c) 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 0'

Die 17-Hydroxyprogesteronwerte für den Zeitpunkt 0' zeigen eine Spannweite von 15432 ng/dl bei einem Minimum von 114 ng/dl (Patient #26) und einem Maximum von 15546 ng/dl (Patient #37). Der Median ist 860 ng/dl bei einem Interquartilbereich von 898 ng/dl.

d) 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 60'

Die 17-Hydroxyprogesteronwerte für den Zeitpunkt 60' zeigen eine Spannweite von 22513 ng/dl bei einem Minimum von 209 ng/dl (Patient #53) und einem Maximum von 22722 ng/dl (Patient #37). Der Median ist 2135 ng/dl bei einem Interquartilbereich von 2266 ng/dl.

Die bestimmten 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 0' sind höchst signifikant niedriger als die Werte, die zum Zeitpunkt 60' gemessen wurden ($p < 0.001$).

Analyse möglicher Einflussfaktoren auf den ACTH-Stimulationstest

I. Alter der Patienten zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests

Der ACTH-Stimulationstest wurde in der Gruppe 2 im Median in einem Alter von 52.5 Tagen bei einem Interquartilbereich von 77 Tagen durchgeführt. Der zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests jüngste Patient war fünf Tage alt (#38), der zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests älteste Patient war 467 Tage alt (#26).

Unterteilt man die Gruppe 2 in die Patienten, die vor Einführung des Screenings in Bayern geboren wurden (Patienten #26 bis #39) und die Patienten, die am Screening teilgenommen haben (Patienten #40 bis #55), so ergeben sich folgende Werte.

Patienten #26 bis #39: Der jüngste Patient (#38) war fünf Tage alt, der älteste Patient (#26) war 467 Tage alt. Es errechnet sich ein Median von 57.5 Tagen.

Patienten #40 bis #55: Der jüngste Patient (#45) war 20 Tage alt, der älteste Patient (#43) war 331 Tage alt. Im Median waren die Patienten zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests 49.5 Tage alt.

II. Korrelation von Alter und Ergebnissen im ACTH-Stimulationstest

Für die Cortisolwerte zu den Zeitpunkten 0' bzw. 60' ergibt sich keine signifikante Korrelation mit dem Alter des Patienten bei Durchführung des ACTH-Stimulationstests (Korrelationskoeffizient 0.148 bzw. 0.085).

Der 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 0' korreliert mit dem Alter des jeweiligen Patienten (Korrelationskoeffizient -0.476 ; $p=0.008$). Je älter der Patient bei Durchführung des ACTH-Stimulationstests ist, desto kleiner ist der 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 0'.

Der 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 60' korreliert ebenfalls schwach mit dem Alter des entsprechenden Patienten (Korrelationskoeffizient -0.418 ; $p=0.021$). Je älter der Patient bei Durchführung des ACTH-Stimulationstests ist, desto kleiner ist der 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 60'.

III. Geschlecht

Die Geschlechtszugehörigkeit (15 weibliche und 15 männliche Patienten) zeigt weder für die Cortisol- noch für die 17-Hydroxyprogesteronwerte einen signifikanten Unterschied.

3.1.3. Vergleich von Gruppe 1 (Erkrankte) mit Gruppe 2 (Kontrollgruppe)

I. Vergleich der Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte

Der ACTH-Stimulationstest soll bei der Differenzierung der an einem Adrenogenitalen Syndrom Erkrankten von Gesunden helfen.

Aufgrund des kompletten oder teilweisen Funktionsverlustes der 21-Hydroxylase in der Steroidbiosynthese zeigen Erkrankte eine verminderte Stimulierbarkeit des Cortisols durch ACTH. Gleichzeitig kommt es zu höheren Serumwerten des Vorläufers 17-Hydroxyprogesteron.

Bei der Beurteilung des ACTH-Stimulationstests können einerseits die stimulierten Werte nach 60' Minuten, andererseits der Anstieg von Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron betrachtet werden. Zu beachten ist, dass die basalen Werte von Cortisol und auch 17-Hydroxyprogesteron der Gruppe 1 nicht auf dem gleichen Niveau wie die entsprechenden basalen Werte in der Gruppe 2 liegen. Dies betrifft v.a. die 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 0'.

a) Analyse der Cortisolwerte (vgl. Abb. 3.5)

Die Cortisolwerte zum Zeitpunkt 0' der Erkrankten (Gruppe 1) sind von den entsprechenden Werten der Nichterkrankten (Gruppe 2) nicht signifikant verschieden.

Die Cortisolwerte zum Zeitpunkt 60' der Erkrankten sind höchst signifikant niedriger als die entsprechenden Cortisolwerte der Nichterkrankten ($p < 0.001$).

Betrachtet man den relativen Anstieg des Cortisols, so steigt das Cortisol in der Gruppe 1 im Median um 20% bei einem Interquartilbereich von 30%. Der größte Anstieg beträgt 58%, der Minimalwert ist -36%. In der Gruppe 2 steigt das Cortisol im Median um 78% bei einem Interquartilbereich von 25%. Das Maximum ist 97%, das Minimum beträgt -62%.

Der relative Anstieg des Cortisols in der Gruppe 1 ist höchst signifikant niedriger als der Anstieg in der Gruppe 2 ($p < 0.001$).

Der absolute Anstieg des Cortisols in der Gruppe 1 beträgt im Median 1.8 mcg/dl bei einem Interquartilbereich von 2.5 mcg/dl, einem Maximalwert von 6.2 mcg/dl und einem Minimalwert von -1.6 mcg/dl. Für die Gruppe 2 ergibt sich ein Anstieg im Median von 33.9 mcg/dl bei einem Interquartilbereich von 25.7 mcg/dl, einem Maximum von 67.5 mcg/dl und einem Minimum von -13.4 mcg/dl.

Der absolute Anstieg des Cortisols nach Stimulation in der Gruppe 1 ist höchst signifikant niedriger als der Anstieg des Cortisols in der Gruppe 2 ($p = 0.000$).

Die Gruppen 1 und 2 unterscheiden sich in den Cortisolwerten somit erst nach Stimulation durch ACTH und zwar hinsichtlich der absoluten Werte zum Zeitpunkt 60' sowie hinsichtlich des relativen und absoluten Anstiegs.

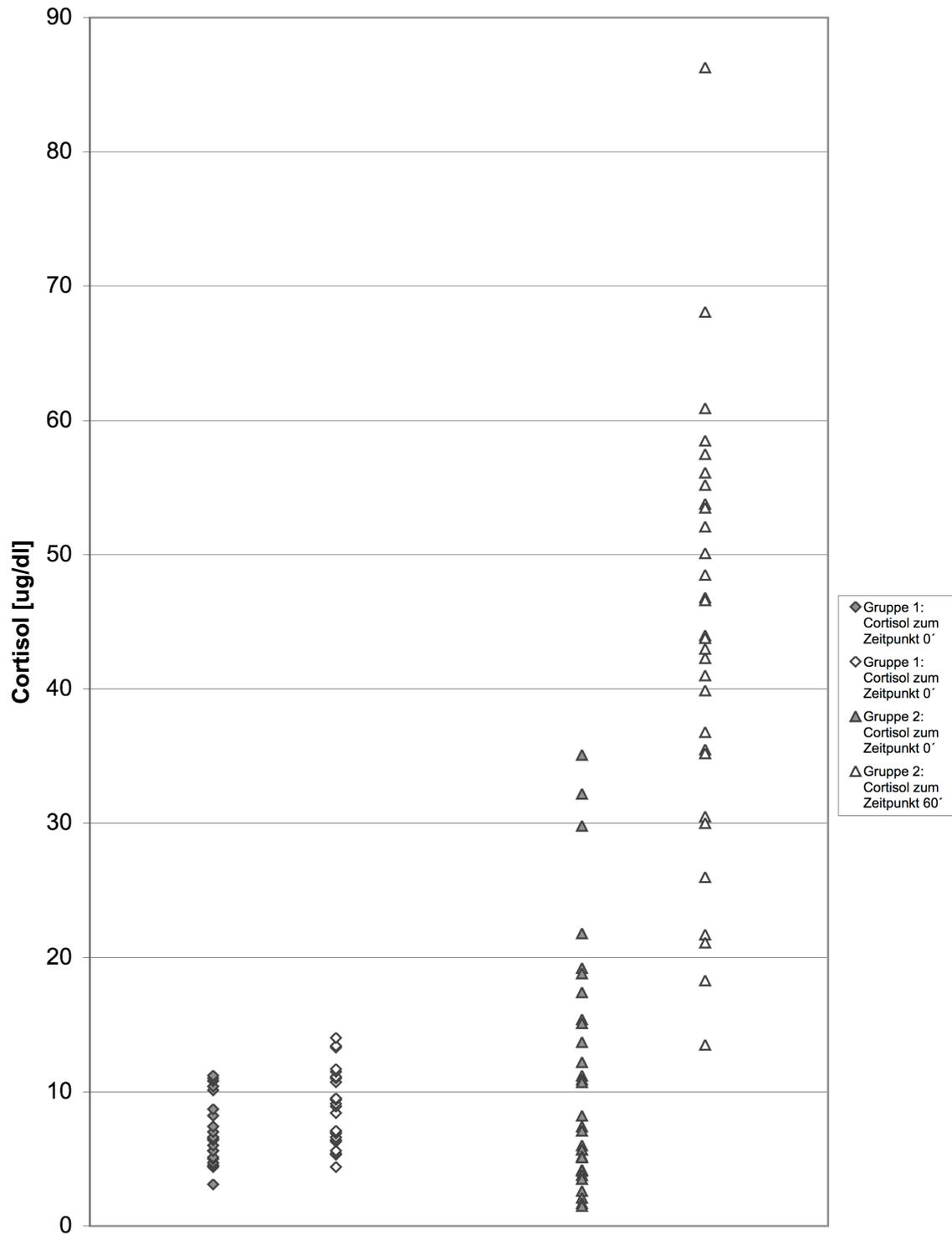


Abb. 3.5 Cortisolwerte vor und nach Stimulation: Vergleich Gruppe 1 (Erkrankte) mit Gruppe 2 (Nichterkrankte)

b) Analyse der 17-Hydroxyprogesteronwerte (vgl. Abb. 3.6)

Die 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 0' der Gruppe 1 sind höchst signifikant höher als die entsprechenden Werte der Gruppe 2 ($p < 0.001$). Auch die 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 60' zeigen in der Gruppe 1 höchst signifikant höhere Werte als in der Gruppe 2 ($p < 0.001$).

Bei der Analyse des relativen Anstiegs zeigt sich, dass die 17-Hydroxyprogesteronwerte in der Gruppe 1 im Median um 42% bei einem Interquartilbereich von 49% ansteigen. Der maximale Anstieg beträgt 85%, der Minimalwert ist -12%. Der Anstieg für das 17-Hydroxyprogesteron in der Gruppe 2 beträgt im Median 58% bei einem Interquartilbereich von 38%, einem Maximum von 94% und einem Minimum von -25%. Dieser Unterschied im prozentualen Anstieg ist sehr signifikant ($p = 0.016$).

Betrachtet man den absoluten Anstieg des 17-Hydroxyprogesteron, so ergibt sich in der Gruppe 1 ein Anstieg im Median von 11961 ng/dl bei einem Interquartilbereich von 18930 ng/dl, einem Maximum von 53681 ng/dl und einem Minimum von -4341 ng/dl. In der Gruppe 2 steigt das 17-Hydroxyprogesteron im Median um 1300 ng/dl bei einem Interquartilbereich von 1259 ng/dl, einem Maximum von 7176 ng/dl und einem Minimum von -1304 ng/dl. Der Anstieg des 17-Hydroxyprogesteron der Gruppe 1 verglichen mit der Gruppe 2 ist höchst signifikant größer ($p < 0.001$).

Die Gruppen 1 und 2 unterscheiden sich hinsichtlich der 17-Hydroxyprogesteronwerte bereits vor und weiterhin nach der Stimulation durch ACTH. Auch die absoluten und relativen Veränderungen im Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron sind signifikant unterschiedlich.

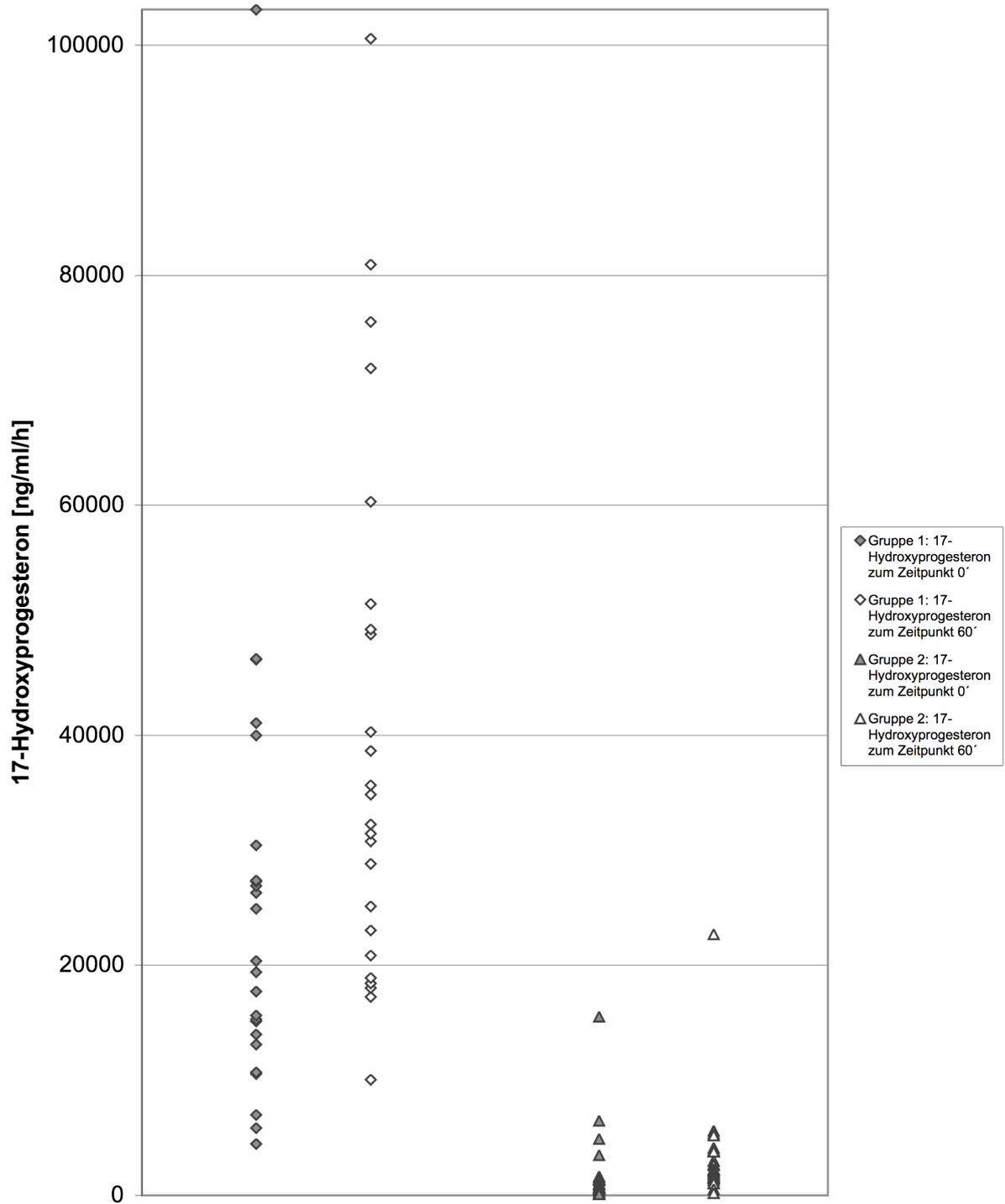


Abb. 3.6 17-Hydroxyprogesteronwerte vor und nach Stimulation: Vergleich Gruppe 1 (Erkrankte) mit Gruppe 2 (Nichterkrankte)

c) Zusammenfassung

Die Gruppe 1 und 2 unterscheiden sich im ACTH-Stimulationstest, und zwar insbesondere hinsichtlich der Werte für Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron nach Stimulation (Zeitpunkt 60') sowie im relativen und absoluten Anstieg beider Werte.

II. *Bewertung der Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 60': Bestimmung von Sensitivität und Spezifität*

Um die Cortisol- und 17-Hydroxyprogesteronwerte zum Zeitpunkt 60' zu beurteilen, können Spezifität und Sensitivität anhand von ROC-Kurven ermittelt werden. Ziel ist es, anhand der gemessenen Werte, die Patienten sicher ihrer Gruppe zuordnen zu können. Hierbei ist es entscheidend, die entsprechenden „Cut-offs“ anhand von ROC-Kurven und den Koordinaten der Kurven zu ermitteln.

a) Cortisolwert zum Zeitpunkt 60'

Eine Sensitivität von 100% wird erreicht, wenn als Bedingung für ein positives Testergebnis der Cortisolwert kleiner oder gleich 14.0 mcg/dl ist. Es ergibt sich dann eine Spezifität von 97%.

Um eine Spezifität von 100% zu erreichen, müsste der Grenzwert für das Cortisol unter 13.5 mcg/dl liegen. Die Sensitivität beträgt dann 96%.

b) 17-Hydroxyprogesteronwert zum Zeitpunkt 60'

Eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 97% ergeben sich, wenn das Testergebnis bei einem 17-Hydroxyprogesteronwert größer oder gleich 10043 ng/dl als positiv gewertet wird.

Wenn die Spezifität 100% betragen soll, muss der Grenzwert bei einem 17-Hydroxyprogesteron größer als 22722 ng/dl liegen. Die Sensitivität beträgt dann noch 75%.

c) Verknüpfung von a) und b)

Eine besonders hohe Sensitivität und Spezifität lassen sich erreichen, wenn alle Testpositiven sowohl einen Grenzwert für das Cortisol als auch das 17-Hydroxyprogesteron erreichen müssen.

Es ergeben sich dann eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 100%, wenn die Grenzwerte für das Cortisol zum Zeitpunkt 60' bei kleiner oder gleich 14.0 mcg/dl und für das 17-Hydroxyprogesteron zum Zeitpunkt 60' bei größer 22722 ng/dl liegen.

3.2. Anamnese ausgewählter Patienten

3.2.1. ausgeschlossene Patienten

Folgender Patient wurde von der statistischen Auswertung ausgeschlossen:

- Patient #09 der Gruppe 1

Der Patient ist männlich, war zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests 33 Tage alt und hat die molekularbiologisch gesicherte Diagnose eines Adrenogenitales Syndrom mit Salzverlust. Das 21-Hydroxylasegen zeigt zwei schwere Deletionen (E3 Δ 8Bp/E3 Δ 8Bp). Diese Konstellation bedeutet obligat einen Salzverlust.

Die Geburt erfolgte durch Vakuumextraktion in der 39. Schwangerschaftswoche, bei Verdacht auf ein Amnioninfektionssyndrom erfolgte postnatal eine antibiotische Therapie für fünf Tage. Der Patient wurde am 21. Lebenstag stationär bei Salzverlust aufgenommen. Klinisch war der Säugling dystroph und exsikiert bei Trinkunlust und rezidivierendem Erbrechen seit zwei Tagen. Das Serumnatrium war mit 115 mmol/l deutlich erniedrigt, das Serumkalium mit 8,7 mmol/l stark erhöht. Eine Substitutionstherapie mit Hydrocortison und Astonin H wurde bei dem starken Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom mit Salzverlust umgehend begonnen, worauf sich der Allgemeinzustand des Säuglings rasch verbesserte.

Am 33. Lebenstag wurde dann der ACTH-Stimulationstest durchgeführt. 50 Minuten vor ACTH-Gabe wurden 1mg Hydrocortison p.o. und 4 Stunden und 50 Minuten zuvor wurde eine halbe Tablette Astonin H gegeben. Der Cortisolwert zum Zeitpunkt 0' war dann 1.1 mcg/dl, das Cortisol zum Zeitpunkt 60' betrug 18.9 mcg/dl. Da davon ausgegangen werden muss, dass neben dem körpereigenen Cortisol auch das substituierte Hydrocortison gemessen wurden, wurde dieser Patient von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

3.2.2. Patienten, die in der Auswertung auffallen

Bei den untersuchten Patienten der Gruppen 1 und 2 fallen einige Patienten im ACTH-Stimulationstest in ihrer Gruppe besonders auf. Im Folgenden sind die Krankengeschichten dieser Patienten dargestellt, in denen sich Faktoren wieder finden, die besonderen Einfluss auf den Cortisol- sowie den 17-Hydroxyprogesteronwert haben.

Gruppe 1

- Patient #07

Die Patientin ist weiblich und war zum Zeitpunkt des ACTH-Stimulationstests sieben Tage alt. Die Diagnose Adrenogenitales Syndrom mit Salzverlust ist und molekularbiologisch bei der Mutation I2G/I172N im 21-Hydroxylasegen gesichert. Klinisch zeigte sich bei einem Auslassversuch von Astonin H im Alter von 6 Monaten ein beginnender Salzverlust.

Auffällig im ACTH-Stimulationstest sind die vergleichsweise niedrigen 17-Hydroxyprogesteronwerte (Anstieg von 4460 auf 10043 ng/dl) bei typischem Verhalten des Cortisols (Anstieg von 6.5 auf 8.4 mcg/dl).

Die Patientin wurde in der 41. Schwangerschaftswoche durch eine primäre Sectio geboren und zeigte bei Geburt ein virilisiertes Genital im Stadium 3 bis 4 nach Prader. Das 17-Hydroxyprogesteron war am 4. Lebenstag mit 4531 ng/dl erhöht.

In der weiteren Anamnese finden sich keine weiteren Hinweise, mit denen sich die vergleichsweise niedrigen 17-Hydroxyprogesteronwerte erklären lassen.

- Patient #14

Die Patientin ist weiblich und war bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstests sieben Tage alt. Die Diagnose Adrenogenitales Syndrom mit Salzverlust ist bei dem Gendefekt I2G/conv gesichert.

Es fällt auf, dass der basale 17-Hydroxyprogesteronwert mit 5861 ng/dl im Kontext der Gruppe 1 eher niedrig ist. Nach Stimulation wird mit 38648 ng/dl ein eindeutig erhöhter Wert erreicht. Das Cortisol verhält sich typisch bei dieser Erkrankung mit einem Anstieg von 3.1 auf 5.4 mcg/dl.

Die Anamnese der Patientin hinsichtlich der Geburt ist unauffällig.

Gruppe 2

- Patient #28

Die Patientin ist weiblich und war beim ACTH-Stimulationstest 72 Tage alt. Die Patientin leidet nicht an einem Adrenogenitalen Syndrom. Auffällig ist der sehr geringe Anstieg des Cortisols von 4.2 auf lediglich 13.5 mcg/dl. Die 17-Hydroxyprogesteronwerte sind mit 130 und 524 ng/dl nur gering erhöht. Eine Therapie mit 2 x 2.5 mg Hydrocortison p.o. für mindestens einen Monat wurde drei Tage vor Durchführung des ACTH-Stimulationstests unterbrochen.

Die Substitutionstherapie mit Hydrocortison kann zu einer Suppression der Nebennierenrindenfunktion geführt haben, was den niedrigen stimulierten Cortisolwert erklären könnte. Zudem befand sich die Patientin aufgrund ihrer Erkrankungen in einer großen Stresssituation, in der möglicherweise die Nebennierenrindenfunktion zusätzlich gestört war.

Die Patientin ist ein Frühgeborenes der 25. Schwangerschaftswoche und zeigte folgende postpartale Komplikationen: Amnioninfektionssyndrom, hyalines Membransyndrom Stadium III, bronchopulmonale Dysplasie, intrakranielle Blutung, cerebrale Krampfanfälle sowie eine Hyponatriämie, die eine Substitution erforderte. Bei der letzten Untersuchung im Alter von 6 Jahren zeigte sich weiterhin eine beinbetonte spastisch-dystone Tetraparese, ein Strabismus convergenz und eine Retardation der mentalen Entwicklung.

- Patient #37

Die Patientin ist weiblich und war bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstests 50 Tage alt. Im ACTH-Stimulationstest sind die 17-Hydroxyprogesteronwerte mit 15546 ng/dl zum Zeitpunkt 0' und 22722 ng/dl zum Zeitpunkt 60' deutlich erhöht. Bei dem Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom wurde eine Therapie mit Hydrocortison und Astonin H begonnen. Die Therapie wurde ausgeschlossen, da das 21-Hydroxylasegen in der molekularbiologischen Analyse nur auf einem Allel verändert war (V281L). Auf dem anderen Gen konnte keine Veränderung gefunden werden. Die Patientin ist somit mindestens heterozygote Trägerin für ein Adrenogenitales Syndrom der late-onset-Form. Sie benötigt weiterhin keine Substitutionstherapie.

Die Patientin ist ein Frühgeborenes der 24. Schwangerschaftswoche und zeigte folgende Komplikationen: Amnioninfektionssyndrom und ein posthämorrhagischer Hydrozephalus mit sich anschließender Ventilversorgung. Bei der letzten Untersuchung im Alter von 6 Jahren fielen weiterhin eine leichte Intelligenzminderung mit autistischen Verhaltenszügen und eine Sprachentwicklungsstörung auf.

- Patient #41

Der Patient ist männlich und war bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstests 50 Tage alt. Auffällig ist der nur geringe Anstieg des Cortisols von 15.1 auf 21.1 mcg/dl. Die Werte für das 17-Hydroxyprogesteron sind mit 3483 und 4136 ng/dl erhöht.

Das Neugeborenencreening auf ein Adrenogenitales Syndrom war unauffällig. Im Verlauf zeigte sich dann mit 7028 ng/dl ein erhöhter 17-Hydroxyprogesteronwert. In der Familienanamnese findet sich ein Kousin mütterlicherseits, der molekularbiologisch gesichert an einem Adrenogenitalen Syndrom erkrankt ist. Der ACTH-Stimulationstest wurde dann bei der Verdachtsdiagnose Adrenogenitales Syndrom durchgeführt.

Der Patient ist ein Frühgeborenes der 36. Schwangerschaftswoche und war in Relation zum Gestationsalter zu leicht („small for gestational age“). Die Geburt erfolgte per sectionem bei einem pathologischen Kardiotokogramm.

Der Patient zeigt in der molekularbiologischen Untersuchung keine der bekannten Veränderungen im 21-Hydroxylasegen. Der Patient wurde zuletzt im Alter von zwei Jahren gesehen und entwickelte sich normal.

- Patient #52

Patient #52 ist männlich. Der ACTH-Stimulationstest wurde am 25. Lebenstag durchgeführt. Auffällig sind die gemessenen Cortisolwerte mit 35.1 mcg/dl zum Zeitpunkt 0' und 21.7 mcg/dl zum Zeitpunkt 60'. Auch die 17-Hydroxyprogesteronwerte zeigen mit 6507 und 5203 ng/dl einen Abfall.

Letztlich kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Proben im ACTH-Stimulationstest vertauscht worden sind oder dass keine Synacthengabe erfolgte. Möglicherweise war der Patient schon bei Testbeginn maximal „gestresst“.

Der Patient ist ein Frühgeborenes der 33. Schwangerschaftswoche und zeigte postpartal folgende Auffälligkeiten: polyzystische Nieren beidseits, kompensierte Niereninsuffizienz, distale muskuläre Hypotonie, indirekte Leistenhernie beidseits, Retinopathie sowie Gesichtsdysmorphien. Das Screening auf Vorliegen eines Adrenogenitalen Syndrom war positiv.

In der molekularbiologischen Analyse konnte keine der untersuchten Veränderungen im 21-Hydroxylasegen nachgewiesen werden. Die 17-Hydroxyprogesteronwerte waren im weiteren Verlauf rückgängig. Der Patient wurde zuletzt im Alter von einem Jahr und drei Monaten gesehen. Das 17-Hydroxyprogesteron lag mit 138 ng/dl nur knapp über dem Normbereich. Der Patient litt akut an einer obstruktiven Bronchitis, die chronische polyzystische Nierendysplasie beidseits besteht weiterhin.

- Patient #53

Der Patient ist männlich und war bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstest 108 Tage alt. Auffällig ist der geringe Anstieg des Cortisols von 6.0 auf 18.3 mcg/dl. Die Werte für das 17-Hydroxyprogesteron sind mit 152 und 209 ng/dl unauffällig.

Der Patient ist ein Frühgeborenes der 33. Schwangerschaftswoche und bekam postpartal eine antibiotische Therapie bei einer B-Streptokokkeninfektion. Weiterhin bestanden eine Nierenbeckenerweiterung und eine Hyperbilirubinämie. Die letzte Untersuchung erfolgte im Alter von drei Monaten. Bei einer absoluten Granulozytopenie, einer Lympho- und Thrombozytose, einer Anämie, einem Immunglobulinmangel aber gutem Gedeihen besteht der Verdacht einer immunologisch-hämatologischen Erkrankung.

4. Diskussion

4.1 Bedeutung des ACTH-Stimulationstests in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms

Das klassische Adrenogenitale Syndrom ist eine chronische erbliche Erkrankung, die sich im frühesten Kindesalter manifestiert und die eine sofortige und dann lebenslange Substitutionstherapie mit Gluko- und meist auch Mineralokortikoiden notwendig macht.

Deshalb ist es unerlässlich, dass die Diagnose eines Adrenogenitalen Syndroms schnell und sicher gestellt werden kann. Erhöhte 17-Hydroxyprogesteronwerte werden bei erkrankten Kindern gefunden, ebenfalls ergibt sich eine hohe Rate falsch positiver Ergebnisse im Screening trotz Anpassung der Grenzwerte an Gestationsalter und Geburtsgewicht bei frühgeborenen, gestressten und kranken Neugeborenen. (114, 115, 28).

In dieser Studie wurden die Daten von insgesamt 54 Patienten, die mit Hilfe eines ACTH-Stimulationstest und der Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron i.S. und Cortisol i.S. untersucht wurden, erfasst und ausgewertet. Die Patienten erhielten einen ACTH-Stimulationstest zusätzlich zur weiterführenden Diagnostik, da sie im Neugeborenen-Screening durch einen erhöhten 17-Hydroxyprogesteronwert oder als Mädchen bei Geburt durch ein virilisiertes Genital auffielen.

24 (Gruppe 1, Erkrankte) der untersuchten Patienten sind an einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom der einfach virilisierenden Form oder an einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust erkrankt. Die Diagnose Adrenogenitales Syndrom ist durch die Bestimmung des Genotyps oder anhand des klinischen Verlaufs gesichert. 30 (Gruppe 2, Kontrollgruppe) der untersuchten Patienten leiden nicht an einem Adrenogenitalen Syndrom.

Der Basalspiegel vor Stimulation mit ACTH (Synacthen®) für das Cortisol i.S. kann Erkrankte von Gesunden nicht unterscheiden. Die basalen Cortisolwerte der Erkrankten sind von den entsprechenden Werten der Nichterkrankten nicht signifikant verschieden. Die Basalspiegel für das 17-Hydroxyprogesteron i.S. sind bei den Erkrankten zwar signifikant höher als bei den Gesunden, jedoch lässt sich kein eindeutiger Grenzwert festlegen, da Erkrankte als auch Gesunde Werte von 4000 bis 16000 ng/dl erreichen.

Erst nach Stimulation durch ACTH lassen sich Erkrankte von Gesunden unterscheiden. Bei den Erkrankten sind nach Stimulation alle 17-Hydroxyprogesteronwerte i.S. größer als 10000 ng/dl. Bei den Gesunden liegen alle Werte bis auf einen Ausreißer bei Patient #37 mit 22722 ng/dl deutlich unterhalb der Grenze von 10000 ng/dl. Alle erreichten Cortisolwerte i.S. sind bei den Erkrankten kleiner gleich 14.0 mcg/dl. Bei den Gesunden liegen alle Werte bis auf eine Abweichung mit 13.5 mcg/dl bei Patient #28 oberhalb von 18 mcg/dl. Dabei ist zu beachten, dass die beiden Ausreißer zwei verschiedene Patienten aus der Kontrollgruppe betreffen.

Es ist sinnvoll, für die Evaluation des ACTH-Stimulationstest folgende Grenzwerte nach Stimulation zu definieren: **Erkrankte** sollen

1. Cortisolwerte (60') kleiner als 16.0 mcg/dl
und
2. 17-Hydroxyprogesteronwerte (60') größer als 10000 ng/dl erreichen.

Um eine eindeutige Zuordnung bei dem untersuchten Patientenkollektiv zu gewährleisten, muss ein Erkrankter beide Voraussetzungen erfüllen. Wird kein oder nur ein Kriterium erfüllt, kann der Patient der Gruppe der Gesunden zugeordnet werden.

Der ermittelte Grenzwert von 10000 ng/dl für das stimulierte 17-Hydroxyprogesteron entspricht im Allgemeinen den bereits definierten Grenzwerten anderer Studien (72, 116). Für das stimulierte Cortisol finden sich Normalwerte, die einen Grenzwert von 16 bzw. 20 mcg/dl übersteigen sollen. Die Angaben unterscheiden sich und sind u.a. abhängig von der benutzten Methode zur Bestimmung des Cortisols (117, 118, 119). Nach den Erkenntnissen dieser Studie erscheint ein Grenzwert von 16.0 mcg/dl als sinnvoll.

Die Bedeutung des ACTH-Stimulationstests in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms ist in bisherigen Publikationen unklar. Die Notwendigkeit eines ACTH-Stimulationstest mit der Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron und Cortisol wird in einer Studie bei dem dringenden Verdacht auf das Vorliegen eines Adrenogenitalen Syndroms beschrieben, jedoch werden keine Grenzwerte für das Cortisol im Serum definiert (5).

4.2 Der ACTH-Stimulationstest im Zentrum der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms im Neugeborenenalter

Die Bedeutung des ACTH-Stimulationstest in der Diagnostik des Adrenogenitalen Syndroms wird unterschiedlich gesehen.

Zunächst ist festzustellen, dass weitgehend Einigkeit darüber besteht, dass der erste diagnostische Schritt das Neugeborenencreening mit der Bestimmung des Basalwerts von 17-Hydroxyprogesteron mittels *time-resolved fluoro-immunoassay (Europa)*, *radioimmunoassay (USA)* oder *enzyme-linked immunoabsorbent assay (Japan)* sein soll (80, 86, 87, 120, 121). Alternative Screeningmethoden, wie die Messung von 17-Hydroxyprogesteron, Androstendion und Cortisol mit Hilfe von Tandemmassenspektrometrie sind bisher nicht genügend evaluiert und aus Kostengründen nicht durchführbar.

Um im Screening keine erkrankten Kinder zu übersehen, müssen die Grenzwerte jedoch ausreichend niedrig angesetzt werden. Hieraus ergibt sich eine recht hohe Rate an falsch positiven Ergebnissen. Die Screeninguntersuchungen der einzelnen Staaten sind nur bedingt miteinander zu vergleichen, da unterschiedliche Grenzwerte definiert werden müssen, die den jeweiligen Labormethoden sowie dem Alter und Geburtsgewicht des Neugeborenen angepasst sind. Es ergibt sich ungefähr ein positiv prädiktiver Wert von 1% für das Neugeborenencreening (28). Um die Rate an falsch positiven Ergebnissen im Screening niedrig zu halten, wurden unterschiedliche Strategien entwickelt. Wie oben beschrieben, müssen die Grenzwerte für 17-Hydroxyprogesteron dem Alter und dem Geburtsgewicht angepasst werden. Einige Programme fordern routinemäßig die Durchführung von zwei Screeningtests. (122, 123). Weitere Vorschläge zur Verbesserung der Screeningprogramme hinsichtlich Spezifität und Sensitivität sind die gleichzeitige Messung von basalem Cortisol i.S. (124) und die Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron mittels Fluoroimmunoassay (125).

Bisher gibt es keine eindeutigen Richtlinien, wie bei einem positiven Screeningergebnis zu verfahren ist. Ein Konsens der *Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society* und der *European Society for Pediatric Endocrinology* fordert, dass ein positives Screeningergebnis entweder durch eine weitere Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron im Serum oder Plasma, einem Steroidprofil im Urin oder der Analyse des CYP21-Gens bestätigt werden muss (79). Des Weiteren wird die Erstellung von Hormonprofilen beschrieben. Beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom können Progesteron, Androstendion, Testosteron und dem atypischen Steroid 21-Deoxycortisol erhöht sein, während das Cortisol erniedrigt ist. Die Bedeutung der Bestimmung dieser Hormone ist unklar. Einige Autoren schreiben der Erstellung von

Hormonprofilen eine bedeutende Rolle in der Diagnostik von weiteren Enzymdefekten in der Steroidbiosynthese zu, während andere hier einen geringen Wert in der diagnostischen Aussagekraft sehen (79, 126, 127).

Mit der Bestimmung des CYP21-Gens gibt es eine sichere und zuverlässige Methode zur Erkennung und Bestätigung des klassischen Adrenogenitalen Syndroms. Aufgrund von Neumutationen, die beim Adrenogenitalen Syndrom in 1-2% der Fälle auftreten, lässt sich in wenigen Fällen der Genotyp nicht bestimmen. Die Diagnose kann dann nicht bestätigt bzw. ausgeschlossen werden (70, 76, 128). Da jedoch der Großteil der betroffenen Allele eine oder mehrere Mutationen einer überschaubaren Gruppe bekannter Mutationen trägt, kann davon ausgegangen werden, dass ein Patient, der keine der bekannten Mutationen trägt, zu 99% kein Adrenogenitales Syndrom hat (79). Hinzu kommt, dass der Genotyp in einigen Fällen nicht mit der klinischen Erscheinungsform korreliert (76, 128, 129, 130, 131, 132). Die Bedeutung der genetischen Analyse, vielleicht auch als Screeningmethode, wird in den kommenden Jahren in einigen Regionen wachsen, wenn ein flächendeckender und kostengünstiger Einsatz durch automatisierte Verfahren möglich ist (133, 134). Sicherlich wird sie nicht in allen Regionen verfügbar sein. Auch ist im Rahmen der Ökonomisierung von Gesundheitssystemen denkbar, dass alternative und günstigere Screeningmethoden den Vorzug erhalten werden.

Die Bedeutung des ACTH-Stimulationstests als Bestätigungstest und die Art seiner Durchführung in der Diagnostik des Adrenogenitalen Syndroms ist bisher unklar.

In wenigen Publikationen wird er als Goldstandard zur Unterscheidung des Adrenogenitalen Syndroms von anderen Enzymdefekten in der Steroidbiosynthese beschrieben. Hier wird lediglich das 17-Hydroxyprogesteron basal und stimuliert gemessen (28, 135). Auch wird gefordert, dass in dem Fall, dass ein Neugeborenen-Screening nicht verfügbar ist und der Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom bei zweideutigem Genital nahe liegt, ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt werden soll. Hierbei sollen zur Differenzierung der unterschiedlichen Enzymdefekte 17-Hydroxyprogesteron, Cortisol, Deoxycorticosteron, 11-Deoxycortisol, 17-OH-Pregnenolon, Dehydroepiandrosteron und Androstendion basal und stimuliert gemessen werden (116).

4.3 ACTH-Stimulationstest: Testdesign und laborchemische Methoden

Im Rahmen dieser Studie werden den Patienten beim ACTH-Stimulationstest ACTH in einer Dosierung von 25 I.E./m² (entspricht Synacthen® 250 mcg/m²) durch intravenöse Bolusinjektion verabreicht. Vor der Gabe von ACTH (Zeitpunkt 0') und eine Stunde nach Applikation (Zeitpunkt 60') werden die Werte für Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron im Serum durch Blutentnahmen bestimmt. In anderen Untersuchungen wird die Gabe einer einheitlichen Dosis von 250 mcg ACTH empfohlen (3). Auch wird die Gabe von 125 mcg im ersten Lebensjahr und von 250 mcg ab dem zweiten Lebensjahr vorgeschlagen (136). Die Anpassung der Dosis an die Körperoberfläche erscheint jedoch sinnvoll, um eine Vergleichbarkeit der Daten gerade bei Neugeborenen mit unterschiedlicher Körperoberfläche zu gewährleisten.

Dieser konventionelle ACTH-Stimulationstest, der die Steroidbiosynthese in der Nebennierenrinde stimulieren soll, muss von dem niedrig dosierten ACTH-Stimulationstest mit 1 mcg ACTH unterschieden werden. Bei letzterem wird die Integrität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse untersucht.

Die Bestimmung von Hormonkonzentrationen im Blut stellt hohe Anforderungen an das untersuchende Labor hinsichtlich der Qualitätskontrolle, der Präzision und der Leistungsfähigkeit. Bei der Durchführung von Immunoassays treten je nach verwendeten Testdesign zum Teil erhebliche Kreuzreaktionen mit

anderen Hormonen aufgrund einer unzureichenden Antikörperspezifität auf (134, 137, 138). In dieser Studie erfolgten die Bestimmungen von Cortisol mittels *TDx fluorescence polarization assay (Abbot)* und *ECLIA electrochemiluminescence immunoassay (Roche)*. Die Bestimmungen von 17-Hydroxyprogesteron erfolgten mittels *RIA radioimmunoassay (DSL und IBL)* und *enzyme immunoassay (IBL)*.

Bei der Bestimmung von Cortisol beträgt die Kreuzreaktivität mit 17-Hydroxyprogesteron 0.4% [*TDx (Abbot)*] bzw. 1.5% [*ECLIA (Roche)*]. Bei der Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron beträgt die Kreuzreaktivität mit Cortisol 0.013% [*enzyme immunoassay (IBL)*] bzw. 0.008% [*RIA [IBL]*] und <0.01% [*RIA (DSL)*]. Im Rahmen der erhobenen Messwerte für Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron ist davon auszugehen, dass selbst bei hohen Konzentrationen bis 100000 ng/dl für 17-Hydroxyprogesteron und bis 90 mcg/dl für Cortisol die Kreuzreaktivität die Messwerte nicht entscheidend beeinflusst.

Eine Beeinflussung der Testergebnisse durch Kreuzreaktionen mit weiteren Steroiden ist nach Herstellerangaben sehr gering und im Rahmen dieser Studie zu vernachlässigen.

4.4 Störfaktoren im ACTH-Stimulationstest

Die Ergebnisse im ACTH-Stimulationstest können durch mehrere Faktoren beeinflusst werden. Es ist bekannt, dass die Steroidbiosynthese in vivo komplexen Regulationsmechanismen unterliegt (19, 21, 139, 140). Bekannt ist, dass insbesondere das Alter des Neugeborenen, Frühgeburtlichkeit sowie Erkrankungen in der Perinatalzeit Einfluss haben (83, 115, 137, 141).

Hinsichtlich des Alters der Patienten zeigt sich in dieser Studie eine schwache Korrelation in der Gruppe der Gesunden mit den basalen und auch stimulierten 17-Hydroxyprogesteronwerten. Ältere Patienten erreichen tendenziell niedrigere Werte. Grund ist, dass die fetale Nebennierenrinde bei Geburt etwa zehnmal so groß wie die Nebennierenrinde des Erwachsenen ist. In der Neonatalzeit kommt es dann rasch zu einer Involution der Nebennierenrinde (142). Alle anderen Werte für Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron zeigen in der Gruppe der Gesunden und der Kranken keine Korrelation mit dem Alter. Die 17-Hydroxyprogesteronspiegel bei den Erkrankten werden maßgeblich durch den Enzymdefekt bestimmt, so dass das Alter der Patienten keine bestimmbare Auswirkung hat. Weiter ist anzunehmen, dass die Cortisolproduktion weitestgehend unabhängig von dem Alter des Patienten ist.

Es zeigt sich, dass sich bei der Mehrzahl der Patienten in der Kontrollgruppe mit „Stress“ in der Prä- und Neonatalzeit wie Frühgeburtlichkeit, ein geringes Geburtsgewicht, eigene Erkrankungen oder Erkrankungen der Mutter (vgl. Tab. 2.2) Gründe finden, die erhöhte Spiegel von 17-Hydroxyprogesteron erklären können. Hingegen sind in der Gruppe der Erkrankten bis auf drei Patienten alle Kinder reifgeboren.

4.5 Bedeutung des ACTH-Stimulationstest in grenzwertigen Fällen – Erläuterung an Beispielen

Der ACTH-Stimulationstest soll als zuverlässiger Bestätigungstest in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitales Syndrom eingesetzt werden. Im Rahmen dieser Studie sind bei einigen Patienten Cortisol und 17-Hydroxyprogesteronwerte gemessen worden, die eine Zuordnung zur gesunden bzw. kranken Gruppe erschweren.

Ein Patient (#09) musste aus der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, da er ungefähr eine Stunde vor der Testung peroral Hydrocortison und Astonin H erhalten hat. Bei einer schnellen Absorption, einer hohen oralen Verfügbarkeit von 96%, einem Spitzenspiegel eine Stunde nach Aufnahme und einer Serumhalbwertszeit von 1.5 Stunden, ist davon auszugehen, dass neben dem körpereigenen Cortisol auch

verabreichtes Hydrocortison gemessen worden sind. Hiermit lässt sich der relativ hohe Cortisolwert mit 18.9 mcg/dl nach Stimulation erklären (143, 144).

Um keine falsch-negativen Ergebnisse in der Gruppe der Erkrankten zu erhalten, wurden die Grenzwerte für das stimulierte Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron mit 16 mcg/dl bzw. 10000 ng/dl so gewählt, dass alle Patienten dieser Gruppe beide Kriterien erfüllen können. Dies ist notwendig, da ein Bestätigungstest sicher alle Kranken erkennen muss. Es zeigt sich, dass in Grenzfällen, der Aussagekraft von Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron eine entscheidende Bedeutung zukommt. So erreicht ein Patient (#07) nach Stimulation mit 100043 ng/dl 17-Hydroxyprogesteron nur knapp den vorgegebenen Grenzwert von 10000 ng/dl. Der unzureichende Anstieg von Cortisol von 6.5 auf 8.4 mcg/dl hingegen spricht eindeutig für das Vorliegen eines Adrenogenitalen Syndroms. Die anderen Patienten erfüllen hinsichtlich der definierten Parameter die Testkriterien und können eindeutig den Erkrankten zugeordnet werden.

Hingegen sollten in der Kontrollgruppe die Patienten als gesund hinsichtlich eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms erkannt werden. Eine Patientin (#37) aus der Gruppe der Gesunden erreicht im ACTH-Stimulationstest mit 15546 und 22722 ng/dl deutlich erhöhte 17-Hydroxyprogesteronwerte, die isoliert betrachtet für das Vorliegen eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms sprechen. Wendet man jedoch die Testkriterien an, so ist festzustellen, dass mit einem stimulierten Cortisolwert von 30.5 mcg/dl das Vorliegen eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms unwahrscheinlich ist. Die Erhöhung des 17-Hydroxyprogesteron bei diesem Patienten lassen sich durch seine Frühgeburtlichkeit und seine Multimorbidität erklären. Hinzu kommt, dass die Patientin auf einem Allel die Anlage für ein Adrenogenitales Syndrom der late-onset-Form trägt. Auf dem zugehörigen Allel konnte keine weitere Mutation gefunden werden.

Bei einer Patientin (#28) ist der Anstieg von Cortisol auf 13.5 mcg/dl unzureichend. Jedoch sprechen die 17-Hydroxyprogesteronwerte mit 130 bzw. 524 ng/dl eindeutig gegen das Vorliegen eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms. Die Patientin erhielt bis drei Tage vor Durchführung des ACTH-Stimulationstests eine orale Therapie mit Hydrocortison (5 mg/d). Die geringe Cortisolsekretion nach Stimulation durch ACTH lässt sich durch eine Suppression der Nebennierenrinde ausreichend erklären.

Drei weitere Patienten (#41, #52 und #53) zeigen mit 21.1, 21.7 und 18.3 mcg/dl im Vergleich zu ihrer Gruppe einen nur mäßig hohen jedoch per definitionem ausreichend hohen Cortisolwert nach Stimulation mit ACTH. Sicherheit im Ausschluss eines Adrenogenitalen Syndroms bringt der stimulierte Wert für 17-Hydroxyprogesteron, der bei allen drei Patienten deutlich unter 10000 ng/dl liegt.

Es ist festzustellen, dass keiner der gesunden Probanden beide Testkriterien erfüllt. Lediglich zwei Patienten erfüllen jeweils nur ein Testkriterium, mit Hilfe des anderen Kriteriums kann jedoch ein klassisches Adrenogenitales Syndrom ausgeschlossen werden. Der ACTH-Stimulationstest kann somit sicher gesunde von kranken unterscheiden.

4.6 Vorschlag zum Vorgehen bei Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom

Im Rahmen dieser Studie konnte ein Plan erarbeitet werden, der darstellt, wie bei Vorliegen eines positiven Screenings auf ein Adrenogenitales Syndrom die Diagnose bestätigt oder ausgeschlossen werden kann.

Ein Neugeborenes, das positiv im Screening getestet wurde oder als Mädchen durch ein virilisiertes Genital aufgefallen ist, sollte umgehend einem pädiatrischen Endokrinologen zur weiteren Untersuchung vorgestellt werden. Wenn nach einer ausführlichen Anamnese und körperlichen Untersuchung ein

Adrenogenitales Syndrom nicht sicher auszuschließen ist, empfiehlt es sich umgehend einen ACTH-Stimulationstest mit der Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron und Cortisol im Serum durchzuführen.

Da bei betroffenen Kindern, die an einem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust leiden, in den ersten beiden Lebenswochen nicht mit einem Salzverlustsyndrom zu rechnen ist, empfiehlt sich die Durchführung des ACTH-Stimulationstests möglichst noch in der ersten Lebenswoche.

Wie diese Untersuchung und weitere Studien gezeigt haben, sollte eine Behandlung des Neugeborenen mit Gluko- und Mineralokortikoiden bis zur Bestätigung der Diagnose vermieden werden, da die Testergebnisse entscheidend beeinflusst werden können (145). Sollte es in Einzelfällen bereits früher zu einer Salzverlustkrise kommen, ist eine Therapie mit Gluko- und Mineralokortikoiden sicherlich unumgänglich. Zur Bestätigung der Diagnose müsste in einem solchen Fall auf alternative Bestätigungstests zurückgegriffen werden.

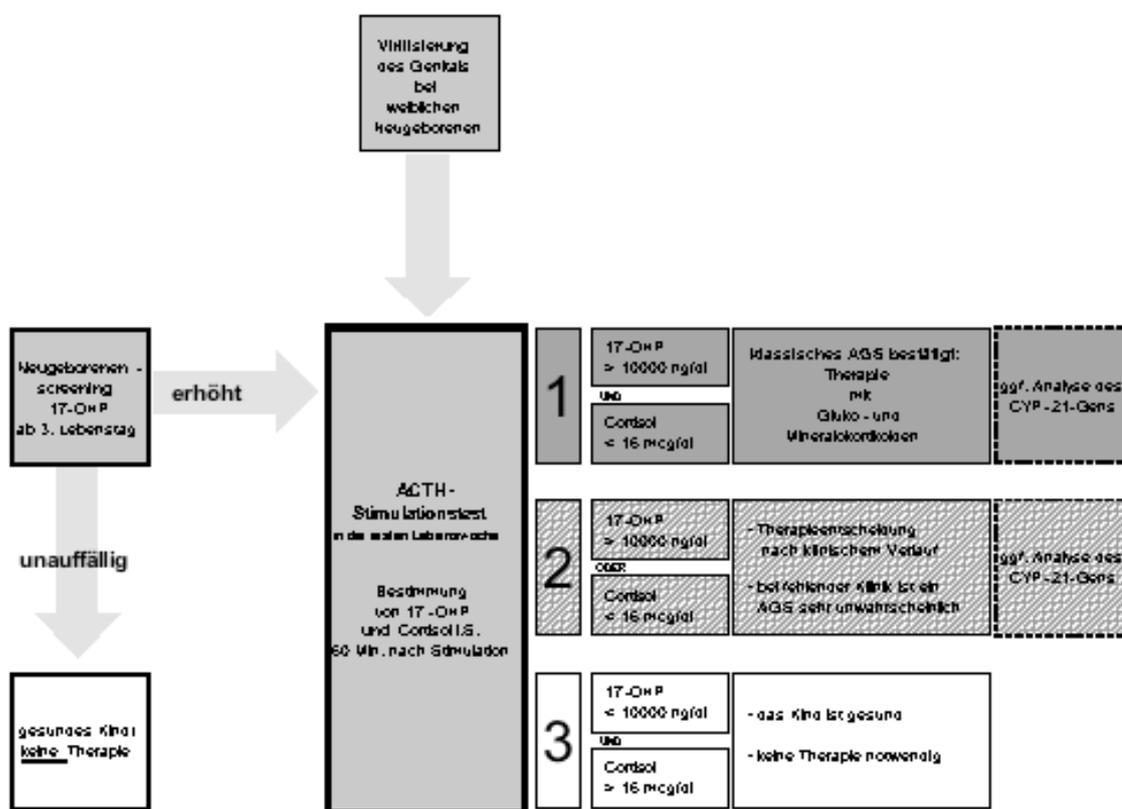


Abb. 4.1 Flussdiagramm: Der ACTH-Stimulationstest mit Bestimmung von Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron als Bestätigungstest in der Diagnostik des klassischen Adrenogenitalen Syndroms

Bei der Durchführung des ACTH-Stimulationstests sind folgende drei Ergebnisse möglich:

1. Der Patient erfüllt beide Testkriterien. Nach Stimulation erreicht der Patient ein 17-Hydroxyprogesteronwert größer als 10000 ng/dl und einen Cortisolwert kleiner als 16 mcg/dl. Die Diagnose eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms gilt hiermit als gesichert. Eine Therapie mit Gluko- und Mineralokortikoiden sollte umgehend begonnen werden.

Im Rahmen der Familienplanung oder aus wissenschaftlichem Interesse kann eine Analyse des CYP21-Gens als weiterer Bestätigungstest durchgeführt werden, was heute auch erfolgen sollte. Eine molekulargenetische Analyse ist jedoch für die Diagnose nicht notwendig.

2. Im ACTH-Stimulationstest wird nur eines der Testkriterien erfüllt. Entweder der stimulierte Wert für 17-Hydroxyprogesteron ist größer als 10000 ng/dl oder der stimulierte Wert für Cortisol bleiben unter 16 mcg/dl. In dieser Studie hatte keiner der Patienten mit dieser Konstellation ein Adrenogenitales Syndrom. Um jedoch keine Erkrankten zu übersehen, sollte bei dieser Konstellation individuell entschieden werden, ob eine weitere Diagnostik, beispielsweise durch eine enge endokrinologischen Betreuung oder durch die Analyse des CYP21-Gens sinnvoll ist. Es ist denkbar, dass solche Patienten an einem nichtklassischen Adrenogenitalen Syndrom erkrankt sind.

3. Im ACTH-Stimulationstest wird keines der Testkriterien erfüllt. Der stimulierte Wert für 17-Hydroxyprogesteron ist kleiner als 10000 ng/dl und der stimulierte Wert für Cortisol ist größer als 16 mcg/dl. Das Kind gilt als gesund. Eine weitere Diagnostik hinsichtlich eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms ist nicht notwendig.

Der ACTH-Stimulationstest sollte möglichst zeitnah bei dem Verdacht auf ein Adrenogenitales Syndrom als Bestätigungstest eingesetzt werden. So kann die Diagnose eines klassischen Adrenogenitalen Syndroms mit einer großen Präzision bereits in der ersten Lebenswoche gestellt werden. Die betroffenen Kinder werden hinsichtlich der Prävention einer lebensbedrohenden Salzverlustkrise, der richtigen Zuordnung des chromosomalen Geschlechts und einer besseren körperlichen sowie geistigen Entwicklung von diesem Fahrplan profitieren.

5. Zusammenfassung

Das klassische Adrenogenitale Syndrom ist eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die bei Mädchen zu einer Virilisierung des äußeren Genitals führt und bei beiden Geschlechtern zu einer lebensbedrohlichen Salzverlustkrise führen kann. Die Bedeutung hinsichtlich der neurokognitiven Entwicklung ist unklar. Es ist eine Erkrankung, die bestens für eine Früherkennung im Rahmen des Neugeborenen Screenings geeignet ist. Es gibt etablierte Screeningverfahren und eine pränatale sowie eine postnatale Therapie zur Vermeidung von Langzeitfolgen sind verfügbar.

Da der Screeningtest jedoch mit einer recht hohen Rate an falsch positiven Ergebnissen behaftet ist, ist ein guter Bestätigungstest notwendig. Im Rahmen dieser Dissertation wurde der ACTH-Stimulationstest (Bestimmung von Cortisol und 17-Hydroxyprogesteron) als Bestätigungstest in der Diagnostik des Adrenogenitalen Syndroms untersucht.

Die Untersuchung zeigt, dass der ACTH-Stimulationstest mit Bestimmung von Cortisol **und** 17-Hydroxyprogesteron im Serum vor und nach ACTH-Gabe ein sicherer Test ist, um erkrankte von gesunden Neugeborenen zu unterscheiden. In dieser Studie werden alle Kinder richtig als krank erkannt, die beide Kriterien – stimulierter Cortisolwert kleiner 16.0 mcg/dl **und** stimulierter 17-Hydroxyprogesteronwert größer 10000 ng/dl – erfüllen.

Der Test erkennt nicht erkrankte Kinder mit Einflussgrößen wie Frühgeburtlichkeit, anderen Erkrankungen und sonstigen Stressereignissen richtig als nicht betroffen von einem Adrenogenitalen Syndrom.

In Zusammenschau von auffälligem Screeningtest, klinischer Gesamtsituation und positivem ACTH-Stimulationstest kann die Diagnose klassisches Adrenogenitales Syndrom gestellt werden und eine Therapie begonnen werden.

Der ACTH-Stimulationstest ist einfach durchführbar und kostengünstig. Er kann in allgemeinpädiatrischen Zentren ohne Schwerpunkt angeboten werden. Er kann somit auch in wirtschaftlich weniger starken Gesundheitssystemen und dünn besiedelten Regionen eingesetzt werden.

Literaturverzeichnis

- 1 **Knorr D, Schwarz HP, Müller OA** 1994. Das kongenitale adrenogenitale Syndrom. *Internist* 35:219-225
- 2 **Hughes IA** 1998. Commentary: Congenital adrenal hyperplasia – a continuum of disorders. *The Lancet* 352:752-754
- 3 **White PC, Speiser PW** 2000. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews* 21(3):245-291
- 4 **Pang S, Murphey W, Levine LS, Spence DA, Leon A, La Franchi S, Surve S, New MI** 1982. A pilot newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Alaska. *J Clin Endocrinol Metab* 55:413-420
- 5 **Technical report:** Congenital adrenal hyperplasia 2000. Section on endocrinology and committee on genetics, *Pediatrics* 106:1511-1518
- 6 **Pang SY, Wallace MA, Hofman L, Thuline HC, Dorche C, Lyon IC, Dobbins RH, Kling S, Fujieda K, Suwa S** 1998. Worldwide experience in newborn for classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics* 81:866-874
- 7 **Speiser PW, Dupont B, Rubinstein P, Piazza A, Kastelan A, New Mi** 1985. High frequency of nonclassical steroid 21-hydroxylase deficiency. *Am J Hum Genet* 37:650-667
- 8 **Funder JW** 1993. Aldosterone action. *Annu Rev Physiol* 55:115-130
- 9 **Bornstein SR, Tajima T, Eisenhofer G, Haidan A, Aguilera G** 1999. Adrenomedullary function is severely impaired in 21-hydroxylase deficient mice. *FASEB J* 13:1185-1194
- 10 **Kuhnle U, Land M, Ullick S** 1986. Evidence for the secretion of an antimineralocorticoid in congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 62:934-940
- 11 **Wambach G, Higgins JR** 1978. Antimineralocorticoid action of progesterone in the rat: correlation of the effect on electrolyte excretion and interaction with renal mineralocorticoid receptors. *Endocrinology* 102:1686-1693
- 12 **Oelkers WK** 1996. Effects of estrogens and progestogens on the renin-aldosterone system and blood pressure. *Steroids* 61:166-171
- 13 **White PC, Speiser PW** 2002. Long-term consequences of childhood-onset congenital adrenal hyperplasia. *Best Practise and Research Endocrinology and Metabolism* 16:273-228
- 14 **Kohm B, Levine LS, Pollack MS, Pang S, Lorenzen F, Levy D, Lerner AJ, Rondanini GF, Dupont B, New MI** 1982. Late-onset steroid 21-hydroxylase deficiency: a variant of classical congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 55:817-827
- 15 **Kater CE, Biglieri EG, Wajchenberg B** 1985. Effects of continued adrenocorticotropin stimulation on the mineralocorticoid hormones in classical and nonclassical simple virilizing types of 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 60:1057-1062
- 16 **Moran C, Azziz R, Carmina E et al.** 2000. 21-hydroxylase deficient nonclassical adrenal hyperplasia is a progressive disorder: a multicenter study. *AM J Obstet Gynecol* 183:1468-1478
- 17 **Penning TM** 1997. Molecular endocrinology of hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocr Reviews* 18:281-305
- 18 **Simpson ER, MahendrooMS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, Amarneh B, Ito Y, Fisher CR, Michael MD, Mendelson CR, Bulun SE** 1994. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen synthesis. *Endocr Rev* 15:342-355
- 19 **Waterman MR, Bischof LJ** 1997. Cytochromes P450 12: diversity of ACTH (cAMP)-dependent transcription of bovine steroid hydroxylase genes. *FASEB J* 11:419-427
- 20 **Itoi K, Seasholtz AF, Watson SJ** 1998. Cellular and extracellular regulatory mechanisms of hypothalamic corticotropin-releasing hormones neurons. *Endocr J* 45:13-33
- 21 **Stocco DM, Clark BJ** 1996. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr Rev* 17:221-244

-
- 22 **Rainey WE, White PC** 1998. Functional adrenal zonation and regulation of aldosterone biosynthesis. *Curr Opin Endocrinol Diab* 5:175-182
- 23 **Cutler GB, Laue L** 1990. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med* 323: 1806-1813
- 24 **Parker KL, Schdl A, Schimmer BP** 1999. Gene interactions in gonadal development. *Annu Rev Physiol* 61:417-433
- 25 **Lee MM, Donahoe PK** 1993. Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple function. *Endocr Rev* 14:152-164
- 26 **Barthold JS, Gonzalez R** 1999. Intersex states. In: Gonzales ET, Bauer SB (eds) *Pediatric Urology Practice*. Lippincott Williams & Ailkins, Philadelphia, pp 547-578
- 27 **Prader A** 1954. Der Genitalbefund beim Pseudohermaphroditismus femininus des kongenitalen Adrenogenitalen Syndroms. *Helv Paediatr Acta* 9:231-248
- 28 **Speiser PW, White PC** 2003. Medical progress: congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med* 349:776-788
- 29 **Grumbach MM, Ducharme JR** 1960. The effects of androgens on fetal sexual development. Androgen-induced female pseudohermaphroditism. *Fertil Steril* 11:157-180
- 30 **Jaaskelainen J, Voutilainen R** 1997. Growth of patients with 21 hydroxylase deficiency: an analysis of the factors influencing adult height. *Pediatr Res* 41:30-33
- 31 **New MI, Gertner JM, Speiser PW, del Balzo P** 1988. Growth and final height in classical and nonclassical 21- hydroxylase deficiency. *Acta Paediatr Jpn* 30[Suppl]:79-88
- 32 **David M, Sempe M, Blanc M, Nicolino M, Forest MG, Morel Y** 1994. [Final height in 69 patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency]. [French]. *Arch Pediatr* 1:363-367
- 33 **Girgis R, Winter JS** 1997. The effects of glucocorticoid replacement therapy on growth, bone mineral density, and bone turnover markers in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3926-3929
- 34 **Giustina A, Bossoni S, Bodini C, Girelli A, Balestrieri GP, Pizzocolo G et al.** 1992. Arginine normalizes the growth hormone response to GH-releasing hormone in adult patients receiving chronic daily immunosuppressive glucocorticoid therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 74:1301-1305
- 35 **Allen DB, Goldberg BD** 1992. Stimulation of collagen synthesis and linear growth by growth hormone in glucocorticoid-treated children. *Pediatrics* 89:416-621
- 36 **Iluizenga NA, Koper JW, De Lange P et al.** 2001. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with an increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 83:144-151
- 37 **Schwartz RP** 2001. Back to basics: Early diagnosis and compliance improve final height outcome in congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr* 138:3-5
- 38 **Barnes RB, Rosenfield RL, Ehrmann DA, Cara JF, Cuttler L, Levitsky LL, Rosenthal IM** 1994. Ovarian Hyperandrogenism as a result of congenital adrenal virilizing disorders: Evidence for perinatal masculinization of neuroendocrine function in women. *J Clin Endocrinol Metab* 79:1328-1333
- 39 **Helleday J, Siwers B, Ritzen EM, Carlstrom K** 1993. Subnormal androgen and elevated progesterone levels in women treated for congenital virilizing 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 76:933-936
- 40 **Holmes-Walker DJ, Conway GS, Honour JW, Rumsby G, Jacobs HS** 1995 Menstrual disturbance and hypersecretion of progesterone in women with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* 43:291-296
- 41 **Schwarz HP, Jocham A, Kuhnle U** 1995 Rapid occurrence of thelarche and menarche induced by hydrocortisone in a teenage girl with previously untreated congenital adrenal hyperplasia. *Eur J Pediatr* 154:617-620

-
- 42 **Krone N, Wachter I, Stefanidou M, Roscher AA, Schwarz HP** 2001. Mothers with congenital adrenal hyperplasia and their children: outcome of pregnancy, birth and childhood. *Clin Endocrinol* 55:523-529
- 43 **Premawardhana LD, Hughes IA, Read GF, Scanlon MF** 1997. Longer term outcome in females with congenital adrenal hyperplasia (CAH): the Cardiff experience. *Clin Endocrinol* 46:327-332
- 44 **Kerlan V, Nahoul K, Le Martelot MT, Bercovici JP** 1994. Longitudinal study of maternal plasma bioavailable testosterone and androstenediol glucuronide levels during pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 40:263-267
- 45 **Dorfman RL** 1999. The antiestrogenic and antiandrogenic effects of progesterone in the defense of a normal fetus. *Anat Rec* 157:547-558
- 46 **Lo JC, Schwitzgebel VM, Tyrrell JB, Fitzgerald PA, Kaplan SL, Conte FA, Grumbach MM** 1999 Normal female infants born of mothers with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 84:930-936
- 47 **Prader A, Zachmann M, Illig R** 1973 Fertility in adult males with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Acta EndocrinolCopenh [Suppl]* 177:57
- 48 **Avila NA, Shawker TS, Jones JV, Cutler Jr GB, Merke DP** 1999. Testicular adrenal rest tissues in congenital adrenal hyperplasia: serial sonographic and clinical findings. *Am J Roentgenol* 172:1235-1238
- 49 **Murphy H, George C, de Kretser D, Judd S** 2001. Successful treatment with ICSI of infertility caused by azoospermia associated with adrenal rests in the testes: case report. *Hum Reprod* 16:263-267
- 50 **Hines M, Fane BA, Pasterski VL, Mathews GA, Conway GS, Brook C** 2003. Spatial abilities following prenatal androgen abnormality: targeting and mental rotations performance in individuals with congenital adrenal hyperplasia. *Psychoneuroendocrinology* 28:1010-1026
- 51 **Berenbaum SA** 2001. Cognitive function in congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:173-192
- 52 **Cohen-Bendahan CCC, Van De Beek C, Berenbaum SA** 2004. Prenatal sex hormone effects on child and adult sex-typed behavior: methods and findings. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 10:1-31
- 53 **Merke DP, Fields J, Vaituzis AC, Chrousos GP, Giedd JN** 1999. Children with classic CAH have decreased amygdala and normal hippocampal volume. Program of the 81st Annual Meeting of The Endocrine Society, San Diego, CA
- 54 **Hines M, Brook C, Conway GS** 2004. Androgen and psychosexual development: core gender identity, sexual orientation, and recalled gender role behavior in women and men with congenital adrenal hyperplasia (CAH). *J Sex Res* 22:505-515
- 55 **Meyer-Bahlburg HFL** 2001. Gender and sexuality in congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:155-171
- 56 **Kuhnle U, Bullinger M, Schwarz HP** 1995. The quality of life in adult female patients with congenital adrenal hyperplasia: a comprehensive study of the impact of genital malformations and chronic disease on female patients life. *Europ J Ped* 154:708-716
- 57 **Jaresch S, Kornely E, Kley HK, Schlaghecke R** 1992 Adrenal incidentaloma and patients with homozygous or heterozygous congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 74:685-689
- 58 **Vanzulli A, DelMaschio A, Paesano P et al.** 1992. Testicular masses in association with adrenogenital syndrome: US findings. *Radiology* 183:425-429
- 59 **Umpierrez MB, Fackler S, Umpierrez GE, Rubin J** 1997. Adrenal myelolipoma associated with endocrine dysfunction: review of the literature. *Am J Med Sci* 314:338-341
- 60 **Pignatelli D, Vendeira P, Cabral AC** 1998. Adrenal incidentalomas: adrenal hemangioma in a patient with congenital adrenal hyperplasia. *South Med J* 91:775-779
- 61 **Lightner ES, Levine LS** 1993. The adrenal incidentaloma. A pediatric perspective. *Am J Dis Child* 147:1274-1276

-
- 62 **Stikkelbroeck NMML, Otten BJ, Pasic A, Jager GJ, Sweep CGJ, Noordam K, Hermus ARMM** 2001. High prevalence of testicular adrenal rest tumors, impaired spermatogenesis, and Leydig cell failure in adolescent and adult males with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5721-5728
- 63 **Walker BR, Skoog SJ, Winslow BH, Canning DA, Tank ES** 1997. Testis sparing surgery for steroid unresponsive testicular tumors of the adrenogenital syndrome. *J Urol* 157:1460-1463
- 64 **Solish SB, Goldsmith MA, Voutilainen R, Miller WL** 1989. Molecular characterization of a Leydig cell tumor presenting as congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 69:1148-1152
- 65 **White PC, New MI, Dupont B** 1986. Structure of human steroid 21-hydroxylase genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:5111-5115
- 66 **Higashi Y, Yoshioka H, Yamane M, Gotoh O, Fujii-Kuriyama Y** 1986. Complete nucleotide sequence of two steroid 21-hydroxylase genes tandemly arranged in human chromosome: a pseudogene and a genuine gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2841-2845
- 67 **White PC, Vitek A, Dupont B, New MI** 1988. Characterization of frequent deletions causing steroid 21-hydroxylase deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:4436-4440
- 68 **Harada F, Kimura A, Iwanaga T, Shimozawa K, Yata J, Sasazuki T** 1987. Gene conversion-like events cause steroid 21-hydroxylase deficiency in congenital hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:8091-8094
- 69 **Higashi Y, Tanae A, Inoue H, Hiromasa T, Fujii-Kuriyama Y** 1988. Aberrant splicing and missense mutations cause steroid 21-hydroxylase [P-450(C21)] deficiency in humans: possible gene conversion products. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:7486-7490
- 70 **Krone N, Roscher AA, Schwarz HP, Braun A** 1998. Comprehensive analytical strategy for mutation screening in 21-hydroxylase deficiency. *Clin Chem* 44:2075-2082
- 71 **Krone N** 2001. Das Adrenogenitale Syndrom (21-Hydroxylasemangel): Molekularbiologische Diagnostik und Genotyp-Phänotyp Korrelation von 155 nichtverwandten Patienten [Dissertation]
- 72 **Speiser PW, Dupont J, Zhu D, Serrat J, Buegeleisen M, Tusie-Luna MT, Lesser M, New MI, White PC** 1992. Disease expression and molecular genotype in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Invest* 90:584-595
- 73 **Mornet E, Crete P, Kuttann F, Raux-Demay MC, Boue J, White PC, Boue A** 1991. Distribution of deletions and seven point mutations on CYP21B genes in three clinical forms of steroid 21-hydroxylase deficiency. *Am J Hum Genet* 48:79-88
- 74 **Wedell A, Thilen A, Ritzen EM, Stengler B, Luthman H** 1994. Mutational spectrum of the steroid 21-hydroxylase gene in Sweden: implications for genetic diagnosis and association with disease manifestations. *J Clin Endocrinol Metab* 78:1145-1152
- 75 **Jaaskelainen J, Levo A, Voutilainen R, Partanen J** 1997. Population-wide evaluation of disease manifestation in relation to molecular genotype in steroid 21-hydroxylase (CYP21) deficiency: good correlation in a well defined population. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3293-3297
- 76 **Krone N, Braun A, Roscher AA, Knorr D, Schwarz HP** 2000. Predicting phenotyp in Steroid 21-hydroxylase deficiency? Comprehensive Genotyping in 155 unrelated, well defined patients from southern germany. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1059-1065
- 77 **Mellon SH, Miller WL** 1989. Extraadrenal steroid 21-hydroxylation is not mediated by P450c21. *J Clin Invest* 84:1497-1502
- 78 **Choong CS, Kempainen JA, Zhou ZX, Wilson EM** 1996. Reduced androgen receptor gene expression with first exon CAG repeat expansion. *Mol Endocrinol* 10:1527-1535
- 79 **Clayton PE, Miller WL, Oberfield SE, Ritzen EM, Sippell WG, Speiser PW** 2002. Consensus statement on 21-hydroxylase deficiency from the Lawson Wilkens pediatric endocrine society and the European society for pediatric endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4048-4053
- 80 **Thilen A, Nordenstrom A, Hagenfeldt L, von Dobeln U, Guthenberg C, Larsson A** 1998. Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. *Pediatrics* 101:E11
- 81 **Therell BL** 2001. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:15-30

-
- 82 **de Peretti E, Forest MG** 1982. Pitfalls in the etiological diagnosis of congenital adrenal hyperplasia in the early neonatal period. *Horm Res* 16:10–22
- 83 **Ohkubo S, Shimozawa K, Matsumoto M, Kitagawa T** 1992. Analysis of blood spot 17 alpha-hydroxyprogesterone concentration in premature infants – proposal for cut-off limits in screening for congenital adrenal hyperplasia. *Acta Paediatr Jpn* 34:126-133
- 84 **Olgemöller B, Roscher AA, Liebl B, Fingerhut R** 2003. Screening for congenital adrenal hyperplasia: adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut-off values to both age and weight markedly improves the predictive value. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5790-5794
- 85 **Nordenstrom A, Thilen A, Hagenfeldt L, Larsson A, Wedell A** 1999. Genotyping is a valuable diagnostic complement to neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1503–1504
- 86 **Working group on neonatal screening of the European society for pediatric endocrinology** 2001. Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Horm Res* 55:201-205
- 87 **Pass KA, Lane PA, Fernhoff PM, Hinton CF, Panny SR, Parks JS, Pelias MZ, Rhead WJ, Ross SI, Wethers DL, Elsas 2nd LJ** 2000. U.S. newborn screening system guidelines II: follow-up children, diagnosis, management, and evaluation. Statement of the Council of regional network for genetic services (CORN). *J Pediatr* 137:S1-S46
- 88 **Homma K, Hasegawa T, Takeshita E, Watanabe K, Anzo M, Toyoura T, Jinno K, Ohashi T, Hamajima T, Takahashi Y, Takahashi T, Matsuo N** 2004. Elevated urine pregnanetriolone definitively establishes the diagnosis of classical 21-hydroxylase deficiency in term and preterm neonates. *J Clin Endocrinol Metab* 89:6087-6091
- 89 **Rosler A, Levine LS, Schneider B, Novogroder M, New MI** 1977. The interrelationship of sodium balance, plasma renin activity and ACTH in congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 45:500–512
- 90 **Kusuda, S, Tachibana K, Saisho S, Yokota I, Igarashi Y, Suwa S, Fujieda K** 1999. Guideline for the treatment of patients with 21-hydroxylase deficiency detected by neonatal screening. *Clin Pediatr Endocrinol* 8:61-65
- 91 **Migeon CJ, Wisniewski AB** 2001. Congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency: growth, development, and therapeutic considerations. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:193-206
- 92 **Mullis PE, Hindmarsh PC, Brook CG** 1990. Sodium chloride supplement at diagnosis and during infancy in children with salt-losing 21-hydroxylase deficiency. *Eur J Pediatr* 150:22-25
- 93 **Biglieri EG, Kater CE** 1991. Mineralocorticoids in congenital adrenal hyperplasia. *J Steroid Biochem Mol Biol* 40:493–499
- 94 **Bode HH, Rivkees SA, Cowley DM, Pardy K, Johnson S** 1999. Home monitoring of 17 hydroxyprogesterone levels in congenital adrenal hyperplasia with filter paper blood samples. *J Pediatr* 134:185–189
- 95 **Lamberts SW, Bruining HA, de Jong FH** 1997. Corticosteroid therapy in severe illness. *N Engl J Med* 337:1285–1292
- 96 **Charmandari E, Lichtarowicz-Krynska EJ, Hindmarsh PC, Johnston A, Aynsley-Green A, Brook CG** 2001. Congenital adrenal hyperplasia: management during critical illness. *Arch Dis Child* 85:26-28
- 97 **Miller WL** 1999. Congenital adrenal hyperplasia in the adult patient. *Adv Intern Med* 44:155-173
- 98 **Laue L, Merke DP, Jones JV, Barnes KM, Hill S, Cutler Jr GB** 1996. A preliminary study of flutamide, testolactone, and reduced hydrocortisone dose in the treatment of congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3535–3539
- 99 **Merke DP, Keil MF, Jones JV, Fields J, Hill S, Cutler Jr GB** 2000. Flutamide, testolactone, and reduced hydrocortisone dose maintain normal growth velocity and bone maturation despite elevated androgen levels in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1114–1120
- 100 **Walker BR, Stewart PM** 2000. Carbenoxolone effects in congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 52:246-248
- 101 **Quintos JBQ, Vogiatzi MG, Harbison MD, New MI** 2001. Growth hormone therapy alone or in combination with gonadotropin-releasing hormone analogue therapy to improve the height deficit in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin and Endocrinol Metab* 86:1511-1517

-
- 102 **Arlt W, Callies F, van Vlijmen JC, Koehler I, Reincke M, Bidlingmaier M, Huebler D, Oettel M, Ernst M, Schulte HM, Alloilio B** 1999. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 341:1013-1020
- 103 **Meyers RL, Grua JR** 2000. Bilateral laparoscopic adrenalectomy: a new treatment for difficult cases of congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Surg* 35:1586-1590
- 104 **Van Wyk JJ, Gunther DF, Ritzen EM, Wedell A, Cutler Jr GB, Migeon CJ, New MI** 1996. The use of adrenalectomy as a treatment for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3180-3190
- 105 **SchnitzerJJ, Donahoe PK** 2001. Surgical treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:137-154
- 106 **Donahoe PK, Gustafson ML** 1994. Early one-stage surgical reconstruction of the extremely high vagina in patients with congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Surg* 29:352-358
- 107 **Evans MI, Harrison MR, Flake AW, Johnson MP** 2002. Fetal therapy. Best practice and Research Clin Obstetrics and Gynaecology 16:671-683
- 108 **New MI, Carlson A, Obeid J, Marshall I, Cabrera MS, Goseca A, Lin-Su K, Putnam AS, Wei JQ, Wilson RC** 2001. Prenatal diagnosis for congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5651-5657
- 109 **White PC, Mune T, Agarwal AK** 1997. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocr Rev* 18:135-156
- 110 **Lajic S, Wedell A, Bui TH, Ritzen EM, Holst M** 1998. Long-term somatic follow-up of prenatally treated children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3872-3880
- 111 **Kuliev A, Jackson L, Froster U, Brambati B, Simpson JL, Verlinsky Y, Ginsberg N, Smidt-Jensen S, Zakut H** 1996. Chorionic villus sampling safety. Report of World Health Organization/EURO meeting in association with the Seventh International Conference on Early Prenatal Diagnosis of Genetic Diseases, Tel-Aviv, Israel, May 21, 1994. *Am J Obstet Gynecol* 174:807-811
- 112 **Pang S, Clark AT, Freeman LC, Dolan LM, Immken L, Mueller OT, Stiff D, Shulman DI** 1992. Maternal side effects of prenatal dexamethasone therapy for fetal congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 75:249-253
- 113 **Weintrob N, Dickerman Z, Sprecher E, Galatzer A, Pertzalan A** 1997. Non-classical 21-hydroxylase deficiency in infancy and childhood: the effect of time of initiation of therapy on puberty and final height. *Eur J Endocrinol* 136:188-195
- 114 Newborn Screening Committee, The Council of Regional Network for Genetic Services (CORN) 1999: 118-133
- 115 **Allen DB, Hoffmann GL, Fitzpatrick P, Laessig R, Maby S, Slyper A** 1997. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight-adjusted criteria for 17-hydroxyprogesterone levels. *J Pediatr* 130:128-133
- 116 **New MI, Lorenzen F, Lerner AJ, Kohn B, Oberfield SE, Pollack MS, Dupont B, Stoner E, Levy DJ, Pang S, Levine LS** 1983. Genotyping steroid 21-hydroxylase deficiency: hormonal reference data. *J Clin Endocrinol Metab* 57:320-326
- 117 **Stolecke H** 1997. *Endokrinologie des Kindes- und Jugendalters*, 3. Auflage
- 118 **Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR** 1998. *Williams Textbook of Endocrinology*, 9th edition
- 119 **Lifshitz F** 1996. *Pediatric Endocrinology*, 3rd edition
- 120 **Therell BL** 2001. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:15-30
- 121 **Honour JW, Torresani T** 2001. Evaluation of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res* 55:206-211
- 122 **Pang S, Clark A** 1993. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-Hydroxylase deficiency: newborn screening and ist relationship to the diagnosis and treatment of the disorder. *Screening* 2:105-139

-
- 123 **Therell BL, Berenbaum SA, Manter-Kapanke V et al.** 1998. Results of screening 1.9 million Texas newborns for 21-hydroxylase deficient congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics* 101:583-590
- 124 **Mikami A, Fukushi M, Oda H, Fujita K, Fujieda K** 1999. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Sapporo City: sixteen years experience. *Southeast asian J Trop Med Public Health* 30: Suppl 2:100-102.
- 125 **Boudi A, Giton F, Galons H et al.** 2000. Development of a plasma 17-hydroxyprogesterone time resolved-fluorescence immunoassay involving a new biotinylated tracer. *Steroids* 65: 103-108
- 126 **Gourmelen M, Gueux B, Pham HTM, Fiet J, Raux-Demay MC, Girard F** 1987. Detection of heterozygous carriers for 21-hydroxylase deficiency by plasma 21-deoxycortisol measurement. *Acta endocrinol (Copenh)* 116:507-512
- 127 **Wudy SA, Homoki J, Teller WM** 1996 (Gas chromatography-mass spectrometry determination of plasma 5 α -androstane-3 α ,17 β -diol and 5 α -androstane-3 α ,17 β -diol glucuronide in children with premature and normal puberty) (german). *Klein Pädiatr* 208:334-338
- 128 **Speiser PW, Dupont J, Zhu D et al.** 1992. Disease expression and molecular genotype in congenital adrenal hyperplasia due o 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Invest* 90:584-595
- 129 **Higashi Y, Hiromasa T, Tanae A et al.** 1991. Effects of individual mutations in the p-450(C21) pseudogene on the P-450(C21) activity and their distribution in the patinet genommes of congenital steroid 21-hydroxylase deficiency. *L Biochem (Tokyo)* 109:638-644
- 130 **Mornet E, Crete P, Kuttenn F et al.** 1991. Distribution of deletions and seven pont mutations on CYP21B genes in three clinical forms of steroid 21-hydroxylase deficiency. *Am J Hum Genet* 48:79-88
- 131 **Wedell A, Thilen A, Ritzen EM, Stengler B, Luthmann H** 1994. Mutational spectrum of the steroid 21-hydroxylase gene in Sweden: implications for genetic diagnosis and association with disease manifestation. *J Clin Endocrinol Metab* 78:1145-1152
- 132 **Wilson RC, Mercado AB, Cheng KC, New MI** 1995. Steroid 21-hydroxylase deficiency: genotype may not predict phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 80:2322-2329
- 133 **Day DJ, Speiser PW, White PC, Barany F** 1995. Detection of 21-hydroxylase deficiency alleles using gene-specific PCR and a multiplexed ligation detection reaction. *Genomics* 29:152-162
- 134 **The Endocrine society** 2004. Editorial: Improving Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Edocrinol Metab* 89:3685-3686
- 135 **Saisho S, Yokota I, Fukushi M, Fujieda K et al.** 1999. Special focus rept: Guidelines for diagnosing steroid 21-hydroxylase deficiency. *Clin Pediatr Endocrinol* 8:57-60
- 136 **Sipell WG, Partsch CJ** Endokrinologische Funktionsdiagnostik, ACTH-Test. 52-53
- 137 **Vliet G, Czernichow P** 2004. Screening for neonatal endocrinopathies: rationale, methods and results. *Seminars in neonatology* 9:80-82
- 138 **Lange-Kubini K, Zachmann M, Kempken B, Torresani T** 1996. 15 β -hydroxylated steroids may be diagnostically misleading in confirming congenital adrenal hyperplasia suspected by a newborn screening programme. *Eur J Pediatr* 155:928-931
- 139 **Arakane F, Kallen CB, Gerton GL, Strauss JF et al.** 1998. The mechanism of action of steroidogenic acute regulatory protein (StAR). StAR acts on the outside of mitochondria to stimulate steroidogenesis. *J Biol Chem* 273:16339-16345
- 140 **Carsla RV, Malamed S** 1983. Glucocorticoid control of steroidogenesis in isolated rat adrenocortical cells. *Biochem Biophys Acta* 763:83-89
- 141 **Nomura S** 1997 Immature adrenal steroidogenesis in preterm infants. *Early Hum Dev* 49:225-233
- 142 **Mesiano S, Jaffe RB** 1997. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. *Endocr Rev* 18:378-403
- 143 **Derendorf H, Mollmann H, Barth H, Mollmann C, Tunn S, Krieg M** 1991. Pharmacokinetics and oral bioavailability of hydrocortisone. *J. Clin Pharmacol* 31:473-476

144 Fachinformation Hydrocortison Hoechst® Tabletten Juni 2004

145 **Rohrer T, Gassmann KF, Pavel ME et al.** 2003. Pitfall of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Biol Neonate* 83:65-68

