Harnsteroidmetabolomanalyse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie zum Therapiemonitoring pädiatrischer Patienten mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom vom Typ 21-Hydroxylase-Mangel

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Wettstädt, Lisa
aus Hamburg

Gießen 2020

Harnsteroidmetabolomanalyse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie zum Therapiemonitoring pädiatrischer Patienten mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom vom Typ 21-Hydroxylase-Mangel

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Wettstädt, Lisa
aus Hamburg

Gießen 2020

Aus der Kinderklinik Gießen,
Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin,
Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie,
Leitung Prof. Dr. med. Klaus-Peter Zimmer,
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. Stefan A. Wudy
Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Schäffler

Tag der Disputation: 08.12.2020

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG 1

1.1 DAS ADRENOGENITALE SYNDROM 1

1.1.1 DEFINITION UND KLASSIFIZIERUNG 1

1.1.2 BIOCHEMIE DER STEROIDHORMONSYNTHESE 2

1.1.3 METABOLISMUS DER STEROIDHORMONE 7

1.1.4 PATHOPHYSIOLOGIE 11

1.1.5 EPIDEMIOLOGIE 11

1.1.6 SYMPTOME 12

1.1.7 DIAGNOSTIK 15

1.1.8 THERAPIE 16

1.2 SCHWERE DER ERKRANKUNG UND WICHTIGKEIT DES UNTERSUCHTEN ZUSAMMENHANGS 18

2 ZIELSETZUNG 19

3 METHODIK UND MATERIAL 20

3.1 STUDIENDESIGN 20

3.2 ETHIKKOMMISSION 21

3.3 ERHEBUNG DER DATEN 21

3.3.1 PROBENGEWINNUNG 22

3.3.2 GASCHROMATOGRAPHIE-MASSENSPEKTROMETRIE 22

3.3.3 HARNSTEROIDPROFIL 24

3.3.4 DATENBANK ALLGEMEIN 31

3.4 STUDIENTEIL I 32

3.4.1 AUFBEREITUNG DER DATEN I 32

3.4.2 EINSCHLUSS- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN I 33

3.4.3 PATIENTENKOLLEKTIV I 34

3.5 STUDIENTEIL II 34

3.5.1 AUFBEREITUNG DER DATEN II 34

3.5.2 EINSCHLUSS- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN II 35

3.5.3 PATIENTENKOLLEKTIV II 35

3.6 STATISTISCHE METHODEN 35

4 ERGEBNISSE 37

4.1 STUDIENTEIL I 37

4.2 STUDIENTEIL II 65

5 DISKUSSION 84

5.1 DISKUSSION DER METHODEN 85

5.1.1 GASCHROMATOGRAPHIE-MASSENSPEKTROMETRIE 85

5.1.2 PATIENTENKOLLEKTIV, DATENBANK UND STATISTIK 86

5.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE 87

5.2.1 DISKUSSION DER WACHSTUMSDATEN 87

5.2.2 DISKUSSION DES URINMETABOLOMS BEI KINDERN MIT 21-OHD 88

5.2.3 AUSBLICK 95

6 ZUSAMMENFASSUNG 96

7 SUMMARY 98

8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 100

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS 103

10 TABELLENVERZEICHNIS 105

11 LITERATURVERZEICHNIS 107

12 PUBLIKATIONSVERZEICHNIS 124

13 EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG 126

14 DANKSAGUNG 127

HINWEIS ZUM TEXT:

In der folgenden Arbeit wird zu Gunsten der besseren Lesbarkeit ausschließlich die männliche Schreibform verwendet. Sie bezieht sich jeweils auf Personen jeglichen Geschlechts.

1 EINLEITUNG

1.1 DAS ADRENOGENITALE SYNDROM

1.1.1 DEFINITION UND KLASSIFIZIERUNG

Das Adrenogenitale Syndrom (AGS) ist eine autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung. Es umfasst eine Gruppe von Enzymdefekten der Steroidsynthese in der Nebennierenrinde. Dabei kommt es durch Mutation in einem von sieben Enzymen der Cortisolbiosynthese zu einer verminderten Produktion von Cortisol (Nimkarn et al., 1993; New, 1994; Speiser & White, 2003). Zudem kann es zu einer vermehrten oder verminderten Produktion von Mineralocorticoiden und Androgenen kommen (Pang, 1997a; Merke & Bornstein, 2005; Nimkarn et al., 2011; Auchus & Arlt, 2013).

Bei etwa 90-95 Prozent der Patienten mit AGS ist der Grund für die Erkrankung ein Mangel des Enzyms 21-Hydroxylase (White & Speiser, 2000). In fünf bis acht Prozent der Fälle liegt ein Defekt der 11β-Hydroxylase vor (Nimkarn & New, 2008). In seltenen Fällen betreffen die Mutationen Gene, die für das StAR-Protein (Steroidogenic Acute Regulatory Protein), die 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase, die 17α-Hydroxylase oder die P450-Oxidoreduktase kodieren (Pang, 1997a; Arlt et al., 2004; Krone et al., 2007; Hauffa & Hiort, 2011).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den Harnsteroidmetaboliten des AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel. Im Folgenden werden deshalb die biochemischen Grundlagen dieses häufigsten Enzymdefekts des Adrenogenitalen Syndroms beschrieben. In dieser Arbeit meint der Begriff AGS stets das Adrenogenitale Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel.

Das AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel lässt sich klinisch in drei Erscheinungsformen einteilen. Diese unterscheiden sich in Zeitpunkt des Auftretens sowie der Ausprägung der Symptome, stellen aber letztlich ein Kontinuum dar. Die klinisch schwerwiegendste Form, das AGS mit Salzverlustsyndrom, umfasst eine Störung der Cortisolsynthese mit einer konsekutiv erhöhten Androgenproduktion und Virilisierung, und Störung der Al-

dosteronsynthese. Beim einfach virilisierenden AGS ist die Mineralocorticoidhomöostase hingegen nicht von der Störung betroffen. Diese zwei ersten Formen treten in der Neonatalperiode auf und werden unter dem Begriff des klassischen AGS zusammengefasst (Speiser & White, 2003). Das AGS mit Salzverlust tritt dabei mit 75 % häufiger auf, als die einfach virilisierende Form ohne Salzverlust (25%) (van der Kamp & Wit, 2004). Ihnen gegenüber steht die nicht-klassische Form des AGS. Sie zeichnet sich durch einen deutlich milderen klinischen Verlauf mit später auftretenden Symptomen oder vollständiger Asymptomatik aus (Speiser & White, 2003). Da sich Symptome häufig erst im späten Kindesalter sowie prä- oder postpubertär zeigen, wird diese Form als late-onset oder bei Ausbleiben von Symptomen als kryptisches AGS bezeichnet (Kohn et al., 1982).

1.1.2 Biochemie der Steroidhormonsynthese

Die Steroidhormonbiosynthese zeichnet sich durch eine komplexe Abfolge von Hydroxylierungen und Reduktionen aus (Honour, 1997).

Die Steroidhormonbiosynthese beginnt mit dem Membranlipid Cholesterin, einem Molekül mit 27 Kohlenstoffatomen (Abb.1).

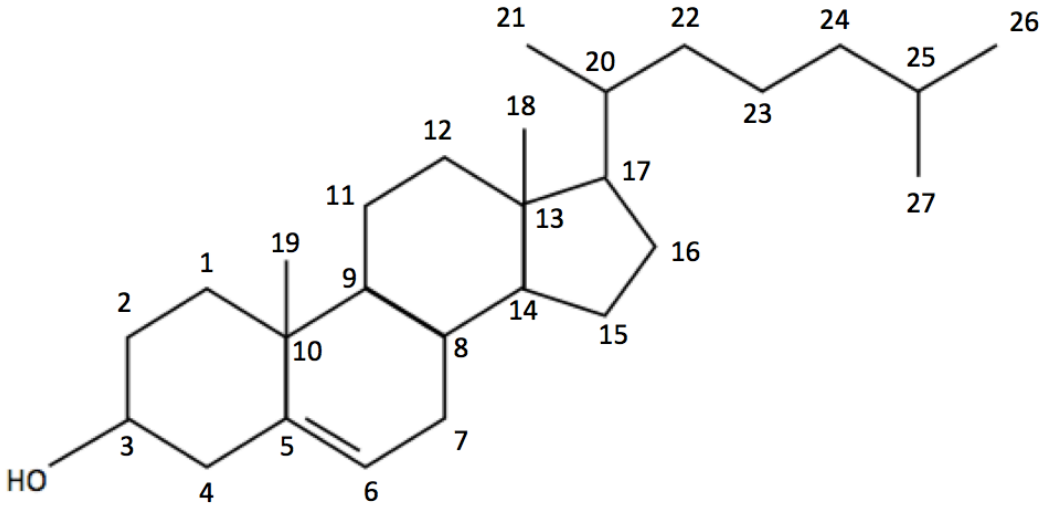


Abbildung 1. Strukturformel des Cholesterins. Das Molekül besteht aus 27 Kohlenstoffatomen ($C_{27}H_{46}O$).

Cholesterin wird mit Hilfe des StAR Proteins von der äußeren zur inneren Membran der Mitochondrien gebracht (Abb. 2) (Stocco & Clark, 1996), und von dort durch das P450-Side-Chain-Cleavage Enzyme (P450scc, CYP11A1) verstoffwechselt (Clark et al., 1994). Die StAR-Synthese wird durch das Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) beeinflusst (White & Speiser, 2000).

Durch P450scc erfolgt die Umsetzung von Cholesterin zu Pregnenolon (White, 1994). Die Steroidsynthese spaltet sich an dieser Stelle in einen Pfad der Cortisol- und Androgenproduktion und einen Pfad der Aldosteronproduktion auf.

Bei der Cortisolsynthese ist der nächste Stoffwechselschritt die Umwandlung von Pregnenolon zu 17-Hydroxypregnenolon. Dies wird durch die 17α-Hydroxylase-Aktivität der 17α-Hydroxylase/17,20-Lyase (CYP17A1) katalysiert und findet in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde statt (Yanase et al., 1991). Anschließend entsteht 17-Hydroxyprogesteron (17OHP) nach Umsetzung von 17-Hydroxypregnenolon durch die 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase (HSD3B2). Im nächsten Schritt setzt die 21-Hydroxylase (CYP21A2) 17-Hydroxyprogesteron zu 11-Desoxycortisol um, das danach Substrat für die 11β-Hydroxylase Typ 1 (CYP11B1) ist. Es entsteht Cortisol (White & Speiser, 2000). 17-Hydroxyprogesteron (17OHP) kann an der 11β-Hydroxylase Typ 1 ebenfalls zu 21-Desoxycortisol (21DF) metabolisiert werden und spielt beim Adrenogenitalen Syndrom eine wichtige Rolle (Kamrath et al., 2016).

Im Aldosteronsyntheseweg wird in der Zona glomerulosa Pregnenolon ebenfalls von der 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase zu Progesteron umgesetzt (Rhéaume et al., 1991). Auch für die Mineralocorticoidsynthese ist die 21-Hydroxylase von großer Bedeutung, da sie anschließend die Reaktion von Progesteron zu 11-Desoxycorticosteron katalysiert. Im Weiteren ermöglicht die Aldosteronsynthase (11β-Hydroxylase Typ 2, CYP11B2) die Reaktion von 11-Desoxycorticosteron zu Corticosteron. Anschließend wird durch die Aldosteronsynthase zunächst Corticosteron zu 18-Hydroxycorticosteron und dieses schließlich zu Aldosteron umgesetzt (White, 1994).

Im Stoffwechsel der Androgene sind mehrere Synthesepfade beschrieben. Sie finden in der Nebennierenrinde in der Zona reticularis statt und gehen ebenfalls vom Pregnenolon aus. Man unterscheidet einen Δ5-Syntheseweg von einem Δ4-Syntheseweg. Dabei erfolgt die Benennung des jeweiligen Weges abhängig davon, ob bei dem von Pregnenolon ausgehenden Molekül eine Doppelbindung zwischen Kohlenstoffatom 5 und 6 (Δ5), oder Kohlenstoffatom 4 und 5 (Δ4) vorliegt (Miller & Auchus, 2011).

Im Δ5-Syntheseweg katalysiert die 17,20-Lyase-Aktivität von CYP17A1 die Umsetzung von 17-Hydroxypregnenolon zu Dehydroepiandrosteron (DHEA). 17-Hydroxypregnenolon ist, wie oben beschrieben, nach 17α-Hydroxylierung durch die 17α-Hydroxylase-Aktivität von CYP17A1 entstanden. Im Anschluss bewirkt wiederum die 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase (HSD3B2) die Umwandlung zu Androstendion (A4) (White & Speiser, 2000).

Im Δ4-Syntheseweg entsteht 4-Androstendion (A4, Androstendion) nach Überführung aus 17-Hydroxyprogesteron (Kamrath et al., 2013). Im Weiteren findet die Umwandlung von Androstendion zu Testosteron durch die 17β-Reduktase Typ 5 (HSD17B5/AKR1C3) statt (Turcu et al., 2014), um danach von der 5α-Reduktase Typ 2 (SRD5A2) in extradrenalem Gewebe zum wirksamen Dihydrotestosteron umgesetzt zu werden (Turcu & Auchus, 2017b).

DHEA, sowie Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEA-S), das durch die Sulfotransferase aus DHEA entsteht, und Androstendion (A4) gelten als schwache Androgene der Nebennierenrinde, da sie als Vorstufen für die wirksameren Androgene Testosteron (T) und Dihydrotestosteron (DHT) dienen (Wilson, 2001; Sharifi & Auchus, 2012).

In Androgensynthese und –metabolismus wird ergänzend zu den oben beschriebenen Syntheseschritten aktuell eine Gruppe von 11-oxygenierten-C19-Steroiden (11oxC19) diskutiert (siehe Abb.2). Dies sind Androgene, die wie DHEA, DHEA-S und A4, ebenfalls aus 19 Kohlenstoffatomen bestehen. Die Gruppe umfasst neben 11β-Hydroxyandrostendion (11OHA4), und 11-Ketoandrostendion (11KA4), das 11β-Hydroxytestosteron (11OHT) und 11β-Ketotestosteron (11KT) (Turcu & Auchus, 2017b). Sie entstehen aus Androstendion und Testosteron (Dorfman, 1954; Turcu &

Auchus, 2017b). Obwohl schon in den 1950-er Jahren bekannt (Pretorius et al., 2016 nach Jeanloz, 1953; Dorfman, 1954; Touchstone et al., 1955; Goldzieher & Beering, 1969), rückte das 11β-Hydroxyandrostendion, als schwaches Androgen der Nebennierenrinde erst in den letzten Jahren erneut in den Fokus adrenaler Steroidforschung (Rege et al., 2013). 11β-Hydroxyandrostendion kann zu 11-Ketotestosteron und weiter zu 11-Ketodihydrotestosteron (11KTDHT) metabolisiert werden. Bedeutsamer Weise konnte nachgewiesen werden, dass die beiden letztgenannten Steroide eine ähnliche Wirksamkeit wie Testosteron und Dihydrotestosteron am menschlichen Androgenrezeptor besitzen (Storbeck et al., 2013). Besonders für androgenabhängige Erkrankungen wie den kastrationsresistenten Prostatakrebs, das Polyzyklische Ovarialsyndrom sowie für das Adrenogenitale Syndrom scheinen sie von größter pathogenetischer Relevanz zu sein (Turcu & Auchus, 2017b).

Zusätzlich kommen weitere alternative Androgensynthesewege beim Menschen vor, insbesondere, wenn sich 17OHP aufgrund von Enzymdefekten, wie dem 21-Hydroxylase-Mangel beim AGS, anstauen (Auchus, 2004; Kamrath et al., 2013).
Der sogenannte Backdoorpathway erlaubt die Synthese von Dihydrotestosteron nach 5α- und 3α-Reduktion von 17-Hydroxyprogesteron über 17-Hydroxyallopregnanolon. Im Detail betrachtet entsteht aus 17-Hydroxyprogesteron mittels 5α-Reduktase 17α-Hydroxydihydroprogesteron, das im Anschluss über die 3α-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 3 zu 17α-Hydroxyallopregnanolon reduziert wird.
Hieraus kann anschließend durch die 17,20-Lyase-Aktivität von CYP17A1 wiederum Androsteron und durch die 17β-Hydroxysteroiddehydrogenase schließlich Androstandiol entstehen, das in peripheren Geweben durch die 3α-Hydroxysteroiddehydrogenase zum wirksamen Dihydrotestosteron umgewandelt wird (Auchus, 2004; Kamrath et al., 2013*)*.

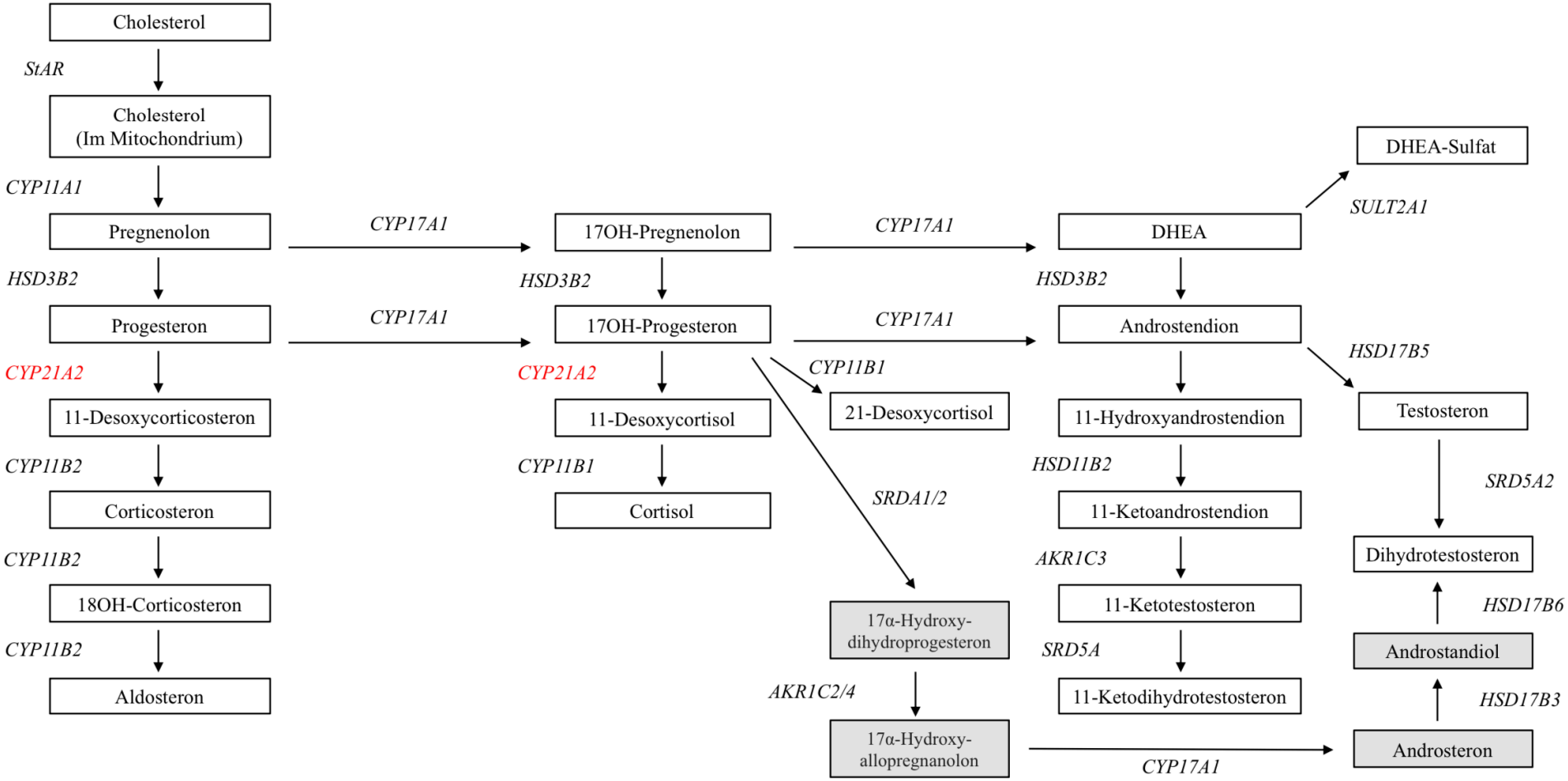


Abbildung 2. Teilausschnitt der Steroidsynthese ausgehend vom Cholesterin beim Adrenogenitalen Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel. Die Steroide sind umrahmt, die Enzyme kursiv dargestellt. Die 21-Hydroxylase ist in rot hervorgehoben. Abgebildet sind zusätzlich die 11-oxygenierten C19- Steroide, die für das Adrenogenitale Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel von Bedeutung sind (vgl. Turcu & Auchus, 2017b). In den grauen Kästen ist der sogenannte Backdoorpathway gezeigt, der beim Adrenogenitalen Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel zur Entstehung von Dihydrotestosteron beiträgt (Kamrath et al. 2013).

Die Cortisolsynthese wird über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse reguliert. Die Bildung von Glucocorticoiden wird über ACTH aus der Adenohypophyse stimuliert. ACTH ist abhängig von der Sekretion von Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) aus dem Hypothalamus (Itoi et al., 1998) und der Sekretion von Vasopressin (Antidiuretisches Hormon, ADH) (Scott & Dinan, 1998). Das Glucocorticoidlevel steigt physiologischerweise bei metabolischem, physikalischem oder emotionalem Stress an. Cortisol steht über eine negative Rückkopplung mit ACTH und CRH in Verbindung (White & Speiser, 2000).

1.1.3 Metabolismus der Steroidhormone

Die Steroidhormone werden in Leber und Niere verstoffwechselt (Honour, 1997); dabei bleibt der polyzyklische Carbonring der Steroidhormone erhalten (Wudy & Hartmann, 2004). Die Metaboliten werden in der Leber mit Glucuronid- und Sulfatresten konjungiert und anschließend über die Niere, und zu kleinerem Anteil über die Faeces, ausgeschieden (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984). Sie können im Urin zum Beispiel mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) simultan in einem Analyseverfahren nachgewiesen werden. Werden die Mengen aus einem 24-Stunden-Sammelurin bestimmt, erhält man Tagesausscheidungsraten (quantitatives Harnsteroidmetabolom) (Wudy & Hartmann, 2004; Wudy et al., 2018).

Der Katabolismus am Steroidgerüst wurde detailliert von Wörsinger 2001 beschrieben:
Es finden überwiegend vier biochemische enzymatische Umwandlungen am Steroidgerüst statt. Häufig findet eine Reduktion der Doppelbindung bei C_4 mit Reduktion der Keto-Gruppe bei C_3 statt. Es kann zur Reduktion der Keto-Gruppe bei C_{20} kommen. Zudem kann die 17β-Hydroxyl-Gruppe oxidiert werden. Weitere Hydroxylierungsreaktionen am Steroidgerüst sind möglich (Wörsinger, 2001).
Zum genauen Verständnis wird der Katabolismus der in dieser Arbeit gemessenen wichtigsten Metaboliten im Folgenden nach Wörsinger 2001 skizziert.

Pregnenolon kann zu Pregnendiol (5PD, 5-Pregnen-3β,20α-diol) metabolisiert werden, indem es zur Reduktion der Keto-Gruppe an C_{20} durch die 20α-Hydroxysteroiddehydrogenase kommt. Alternativ kann es über Progesteron zu Pregnandiol (PD, 5β-Pregnan-3α,20α-diol) metabolisiert werden.

Am Progesteron finden zahlreiche weitere katabole Reaktionen statt, die hier der Übersicht halber nicht im Detail dargestellt werden. Die nach Gower 1984 relevanteste, ist die Reaktion zum Pregnandiol (PD) über 5β-Pregnan-3α-ol-20-on mittels 5α-/5β-Reduktase, sowie 3α-/3β-Ketoreduktase und 20α-/20β-Ketoreduktase (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984; Dorfman & Ungar, 1965).

Im Katabolismus des 11-Desoxycorticosterons entsteht unter anderem durch die 5β-Reduktase und anschließender Reduktion der Keto-Gruppe bei C_3 durch die 3β-Ketoreduktase Tetrahydro-Desoxycortisosteron (TH-DOC, 5β-Pregnan-3α,21-diol-20-on). Weitere katabole Reaktionen sind möglich, die aus Gründen der Übersicht nicht dargestellt werden (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984).

Nach Wörsinger 2001 durchläuft Corticosteron ebenfalls zahlreiche katabole Reaktionen. Aus Corticosteron entsteht durch die Aktivität der 5α-/5β-Reduktase und 3α-/3β-Ketoreduktase Allotetrahydro-Corticosteron (Allo-THB, 5α-THB, 5α-Pregnan-3α,11β,21-triol-20-on), sowie Tetrahydro-Corticosteron (THB, 5β-Pregnan-3α,11β,21-triol-20-on). Aus 11-Dehydrocorticosteron, das über die 11β-Hydroxysteroiddehydrogenase mit Corticosteron in einem Gleichgewicht steht, entsteht durch die 5β-Reduktase und 3α-Ketoreduktase Tetrahydro-Derivat (THA, 5β-Pregnan-3α,21-diol-11,20-dion) (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984).

17-Hydroxy-Pregnenolon wird, wie Pregnenolon, über die 20α-/20β-Ketoreduktase katabolisiert. Es entsteht unter anderem Pregnentriol-17α (P5T-17α, 5-Pregnen-3β,17α,20α-triol). Des Weiteren kann 17-Hydroxy-Pregnenolon über die 17,20-Lyase zu Dehydroepiandrosteron (DHEA, 5-Androsten-3β-ol-17-on) verstoffwechselt werden (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984).

Aus 17-Hydroxyprogesteron gehen mittels 5α-/5β-Reduktase, sowie 3α-/3β-Ketoreduktase 17α-Hydroxypregnanolon (17HP, 5β-Pregnan-3α,17α-diol-20-on), beziehungsweise 17α-Hydroxyallopregnanolon (5α17HP, 5α-Pregnan-3α,17α-diol-20-on) hervor. Anschließend erfolgt durch die 20α-/20β-Ketoreduktase die Umsetzung neben anderen Pregnantriolen zu Pregnantriol (PT, 5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol), das diagnostisch als spezifischer Metabolit des 17-Hydroxyprogesterons von Bedeutung ist (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984). 17-Hydroxyprogesteron kann weiter zu 21-Desoxycortisol umgesetzt werden, das schließlich zu Pregnantriolon (PTO, 5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol-11-on) abgebaut wird. Dieser Mechanismus ist beim AGS durch 21-Hydroxylase-Mangel von Bedeutung (Kamrath et al., 2016; Kamrath et al., 2017b).

Auch das 11-Desoxycortisol wird auf vielfältige Weise abgebaut. Wiederum kommt es beispielsweise zur Reduktion durch die 5α-/5β-Reduktase und 3α-/3β-Ketoreduktase. Es entstehen Tetrahydro-11-Desoxycortisol (THS, 5β-Pregnan-3α,17α,21-triol-20-on), sowie Allo-Tetrahydro-11-Desoxycortisol (Allo-THS, 5α-Pregnan-3α,17α,21-triol-20-on). Hieraus können über die 17,20-Lyase-Aktivität Androsteron (AN, 5α-Androstan-3α-ol-17-on) und Etiocholanolon (ET, 5β-Androstan-3α-ol-17-on) hervorgehen. Durch direkte Umwandlung der 17,20-Lyase an 11-Desoxycortisol entsteht 4-Androstendion (A4) (Wörsinger, 2001). Der Beitrag von Glucocorticoiden und ihren Vorstufen zur Androgensynthese ist jedoch gering. Weitere katabole Reaktionen sind möglich, die hier nicht im Detail erwähnt sind (vgl. jeweils Wörsinger, 2001).

Der Katabolismus von DHEA, 4-Androstendion und Testosteron ist komplex und wird in dieser Arbeit in Auszügen dargestellt.
Nach Wörsinger kann Dehydroepiandrosteron (DHEA) als direkter Metabolit im Urin analysiert werden. Zudem können 4-Androstendion und Testosteron hervorgehen, die zu Androsteron und Etiocholanolon (AN und ET) metabolisiert werden. DHEA kann außerdem zu 17β-Androstendiol (A5-3β,17β; 5-Androsten-3β,17β-diol), beziehungsweise 17α-Androstendiol (A5-3β,17α; 5-Androsten-3β,17α-diol) umgesetzt werden.
Es ist auch der Metabolismus von DHEA zu 16a-Hydroxy-DHEA (16α-OH-DHEA; 5-Androsten-3β,16α-diol-17-on) mittels 16a-Hydroxylase möglich. Anschließend kann dies durch die 17-Ketoreduktase zu 16α-Androstentriol (A5T-16α; 5-Androsten-3β,16α,17β-triol) umgesetzt werden (Wörsinger, 2001 nach Dorfman und Unger, 1965).

Es ist beschrieben, dass 4-Androstendion, wie bereits genannt, nach Umsetzung durch die 17,20-Lyase aus 17-Hydroxyprogesteron, oder als Metabolit von DHEA entsteht. Zum größten Teil wird 4-Androstendion zu Androsteron und Etiocholanolon (AN und ET) umgesetzt. Des Weiteren kann es zu Epitestosteron oder Testosteron verstoffwechselt werden. Zudem ist eine 6β-Hydroxylierung oder die Hydroxylierung an C_{19} möglich. Auch Testosteron kann zu AN oder ET metabolisiert und ausgeschieden werden (Wörsinger, 2001).

Die oben genannte Gruppe von 11-oxygenierten C19-Steroiden wird zum größten Teil zu 11-Hydroxyandrosteron (11OHAN) metabolisiert und im Urin ausgeschieden (Kamrath et al., 2017 nach Goldzieher & Beering, 1969).

Cortison und Cortisol, die über die 11β-Hydroxysteroiddehydrogenase miteinander im Gleichgewicht stehen, werden zu vier Metaboliten umgewandelt. Mittels 5α-Reduktase und 5β-Reduktase und 3α-Hydroxylase entstehen Tetrahydro-Cortisol (THF, 5β-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on) und Tetrahydro-Cortison (THE, 5β-Pregnan-3α,17α,21-triol-11,20-dion), sowie die Isomere Allo-Tetrahydrocortisol (5αTHF, 5α-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on) und Allo-Tetrahydrocortison (5αTHE, 5α-Pregnan-3α,17α,21-triol-11,20-dion) (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984). Weitere, mengenmäßig weniger bedeutsame, katabole Reaktionen sind auch hier möglich (Wörsinger, 2001).
Die vier obengenannten Metaboliten THF, THE, 5α-THF und 5α-THE können weiter zu α- und β-Cortol, sowie α- und β-Cortolon (als entsprechende 11-Keto-Produkte) metabolisiert werden. Dies geschieht mithilfe der 20α-/20β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase. Es können des Weiteren Cortol- und Cortolonsäure entstehen, wenn eine kleinere Gruppe der Cortole und Cortolone an der Alkoholgruppe eine Carboxylgruppe bildet (Wörsinger, 2001 nach Gower, 1984).

1.1.4 Pathophysiologie

Der 21-Hydroxylase-Mangel ist bedingt durch eine Mutation im CYP21A2-Gen (White et al.,1984; Nordenström et al., 2005). Die 21-Hydroxylase (CYP21A2) ist ein Cytochrom-P450-Enzym und katalysiert beim Gesunden in der Nebennierenrinde die Umsetzung von 17-Hydroxyprogesteron zu 11-Desoxycortisol der Cortisolsynthese, sowie die Umwandlung von Progesteron zu 11-Desoxycorticosteron in der Mineralocorticoidsynthese (Speiser et al., 2010). Bei einem Enzymdefekt der 21-Hydroxylase beim AGS kommt es daher zum einen zu einer Einschränkung der Cortisolsynthese. Durch den Wegfall von Cortisol und des damit verbundenen negativen Feedbackmechanismus entsteht zum anderen eine erhöhte Produktion von CRH und ACTH in Hypothalamus und Adenohypophyse. In Folge kommt es zur Hyperplasie der Nebennierenrinde und zur vermehrten Transkription von an der Steroidhormonsynthese beteiligten Enzymen. Konsekutiv kommt es zum Aufstau von Hormonvorläufersteroiden, insbesondere von 17OHP (Krone et al., 2007; Kamrath et al., 2013).
Die Hormonvorstufen werden anschließend vermehrt dem Syntheseweg der Androgene zugeführt, der durch den Enzymdefekt nicht direkt betroffen ist. Es kommt zur übermäßigen Produktion von aktiven Androgenen (Speiser & White, 2003).

1.1.5 Epidemiologie

Die Prävalenz des klassischen AGS aufgrund aller bekannten Enzymdefekte liegt für die meisten Bevölkerungsgruppen bei 1:10000 bis 1:20000 (Speiser et al., 2010). Beispielsweise wird die Prävalenz des klassischen AGS für Europa mit 1:14970, für die USA mit 1:15981 und für Japan mit 1:19111 (van der Kamp et al., 2004 nach Pang, 2003) angegeben.
Ein Review von Pang 1997 fasste diverse Publikationen der Jahre bis 1995 zusammen und verwies auf hohe Inzidenzraten für Saudi Arabien (1:5000), und niedrige für Neuseeland (1:23000) (Pang and Shook, 1997b). Die höchste Prävalenz wurde bislang bei den Yupik Inuit in Alaska mit 1:280 gefunden (Pang et al., 1985). In den meisten Populationen tritt die nicht-klassische (late-onset) Form wesentlich häufiger auf als die klassische Form; in einer Untersuchung von Speiser et al., 1985 in ca. 1 von 8000 Geburten (Speiser et al., 1985).

Nach Einführung des Neonatalscreenings zeigten Studien eine etwa gleichhohe Erkrankungsrate der Geschlechter (Balsamo et al., 1996; Thil'en et al., 1998; Brosnan et al., 1999; White & Speiser, 2000).
Etwa 65-75% der Patienten mit AGS sind compound-heterozygot für die Erkrankung, das heißt, zwei unterschiedliche Mutationen des gleichen Gens können nachgewiesen werden. Der Genotyp spielt eine Rolle bei der phänotypischen Ausprägung der Erkrankung (Wedell et al., 1994; Ezquieta et al., 1995; Krone et al., 2000; New et al., 2013).

1.1.6 Symptome

Die Ausprägung der Symptome beim Adrenogenitalen Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel ist abhängig von der Art der Mutation im CYP21A2-Gen (Merke & Bornstein 2005; New et al. 2013).

Beim klassischen AGS mit Salzverlust, bei dem die Enzymaktivität unter 2% der normalen Funktion liegt (Parsa & New, 2016), kommt es schon in der Fetalzeit zu gleichzeitigem Cortisol- und Aldosteronmangel (Pang, 1997a; Speiser & White, 2003). Parallel dazu entwickelt sich aufgrund nicht umgesetzter Vorstufen ein Überschuss von Androgenen. Bei betroffenen Jungen wird die Geschlechtsdifferenzierung während der Schwangerschaft durch diesen Überschuss von Androgenen der Nebennierenrinde im Vergleich mit betroffenen Mädchen nur mild beeinflusst. Bei Geburt zeigen sie gelegentlich ein leicht hyperpigmentiertes Skrotum oder einen vergrößerten Penis (Speiser & White, 2003). Bei Mädchen spielen die Androgene auch schon pränatal eine wichtige Rolle. Die Nebennierenrinden beginnen mit der pathologischen Androgenproduktion in einer entscheidenden Phase der Geschlechtsentwicklung - nämlich bei der Bildung von Vaginal- und Urethralröhre. Ab der siebten Gestationswoche finden sich bei den Ungeborenen erhöhte systemische Androgenkonzentrationen (Speiser & White, 2003). Es kommt zu Klitorishypertrophie und Fusion der Schamlippen (Pang, 1997a; White & Speiser, 2000; Speiser & White, 2003; Merke & Bornstein, 2005). Eine gängige klinische Einteilung erfolgt dabei nach Prader, und zeigt die unterschiedlichen Schweregrade der Virilisierung bei weiblichen Neugeborenen (Prader, 1954). Prader Stufe 1 beschreibt eine einfache Klitorishypertrophie, Prader Stufe 5 die komplette Virilisierung mit einem langstreckigen urogenitalen Situs und kompletter Verbindung der Labien (Prader &

Gurtner, 1955). Das innere Genitale der betroffenen Mädchen entspricht dem genetisch weiblichen Phänotyp (Speiser et al., 2010).
Aufgrund des Aldosteronmangels manifestiert sich das AGS mit Salzverlust außerdem bei beiden Geschlechtern meistens ein bis drei Wochen nach der Geburt durch Elektrolytstörungen und Dehydratation im Rahmen einer Salzverlustkrise (Pang, 1997a), (Merke & Bornstein, 2005). Das fehlende Aldosteron bedingt eine Hyperkaliämie und einen exzessiven Natriumverlust über die Nieren und führt so zu Hypovolämie und Hyperreninämie. Erbrechen, Lethargie und Gewichtsverlust sind die Folge. Bei Jungen manifestierte sich die Salzverlustkrise vor Einführung des Neonatalscreenings häufiger, da die Krankheit wegen des unauffälligen Genitales bei Geburt noch unerkannt geblieben war (Merke & Bornstein, 2005). Der Grad der Virilisierung korreliert nicht unbedingt mit der Stärke des Salzverlustes (Krone et al., 2000).
Der Cortisolmangel hat ebenfalls schwerwiegende Folgen. Es kommt unbehandelt zu Herzschwäche, vaskulären Regulationsproblemen und einer verminderten glomerulären Filtrationsrate. Auch die Sekretion von ADH kann erhöht sein (Lamberts et al., 1997; Speiser & White, 2003). Cortisol ist ebenfalls verantwortlich für die regelrechte Funktion des Nebennierenmarks. Es kann durch den Cortisolmangel konsekutiv zu einer verminderten Produktion von Katecholaminen kommen. Es wird nicht mehr ausreichend Adrenalin gebildet. Dies kann einen hyponatriämischen Schock noch verstärken (Merke et al., 2000).
Zudem haben die Cortisolvorstufen Progesteron und 17-Hydroxyprogesteron, die sich in der Steroidsynthese vor dem Enzymdefekt anreichern, eine mineralocorticoidantagonistische Wirkung und vergrößern den Salzmangel zusätzlich (Speiser & White, 2003; Oelkers, 1996).

Das **etwas schwächer ausgeprägte klassische AGS ohne Salzverlust**, wird auch als einfach virilisierendes AGS bezeichnet. Es kommt ebenfalls zu einem signifikanten Mangel an Cortisol und einer exzessiven Überproduktion von Androgenen in der Nebennierenrinde (Speiser & White, 2003). Mädchen zeigen häufig bei Geburt ein virilisiertes externes Genitale. Allerdings ist die Aldosteronsynthese minimal betroffen, sodass die Kinder nicht an den Folgen eines Salzverlustes leiden (Kuhnle et al., 1981; Pang, 1997a). Dennoch können sich auch bei diesen Patienten eine erhöhte Plasmareninaktivität oder eine direkte Hyperreninämie zeigen (Riepe & Sippell, 2007).

Bei Jungen wird diese Form des AGS häufig zunächst übersehen. Pubertas praecox, eine verminderte Körpergröße aufgrund zu schnellen Wachstums in der Kindheit und Jugend und der damit verfrüht einsetzende Schluss der Epiphysenfugen der langen Röhrenknochen, können die Folge sein (Pang, 1997a; Speiser & White, 2003).

Beim **nicht-klassischen AGS** handelt es sich um eine leichtere Form der Erkrankung mit 20-50% Enzymaktivität (Tusie-Luna et al. 1990). Patienten zeigen häufig erst im Laufe ihres Lebens unterschiedlich stark ausgeprägte Symptome (Kohn et al., 1982b; Temeck et al., 1987). Es kommt meistens zu einem leichten Cortisolmangel. Der weniger stark ausgeprägte Androgenüberschuss zeigt sich in der Kindheit durch vorzeitige Schambehaarung (premature Pubarche) oder Akne, verstärktes Körperwachstum oder eine mäßige Klitorishypertrophie (Miller and Levine, 1987; Temeck et al., 1987; Pang, 1997a). Im Erwachsenenalter kann es zu Infertilität oder Menstruationsstörungen, Akne und Hirsutismus kommen (Moran et al., 2000; Reichman et al., 2014).
Bei einigen erwachsenen Patienten manifestieren sich trotz biochemischer AGS-Veränderungen auch später keine Symptome des Hyperandrogenismus. Diese Variante wird als kryptisches oder asymptomatisches AGS bezeichnet (Azziz, Dewailly & Owerbach, 1994; Pang, 1997a).
Symptomatische Patienten mit AGS werden mit Glucocorticoiden und gegebenenfalls mit Fludrocortison behandelt. Bei nicht oder inadäquat behandelten heranwachsenden Patienten droht eine Pubertas praecox mit stark beschleunigtem Körperwachstum. Die Patienten sind als Kinder größer im Vergleich zu gleichaltrigen Gesunden. Im Erwachsenenalter bleiben sie aber aufgrund des verfrühten Schlusses der Epiphysenfugen deutlich unter der Durchschnittsgröße zurück. Außerdem schreitet die Virilisierung des Genitales voran. Bei Jungen werden dennoch zu kleine Hoden beobachtet, da der Androgenüberschuss aus der Nebenniere entstammt und dies die Gonadotropinfreisetzung inhibiert (White & Speiser, 2000; Speiser & White, 2003).
Verminderte Fruchtbarkeit durch anovulatorische Zyklen, Oligomenorrhö oder Amenorrhö bei Frauen und Azoospermie durch die Entwicklung von testikulären adrenalen Resttumoren bei Männern können in Adoleszenz und im Erwachsenenalter auftreten (Speiser & White, 2003; Krone et al., 2007; Claahsen-van der Grinten, Hermus & Otten, 2009).
Doch auch adäquat behandelte Menschen mit AGS bleiben im Durchschnitt unter ihrer genetischen Zielgröße. Die durchschnittliche Endgröße von Patienten mit AGS lag in

einer Metaanalyse aus dem Jahr 2001 1,37 Standardabweichungen (SD) unterhalb des Populationsdurchschnitts (Eugster et al., 2001).
In weiteren Studien konnten beim Adrenogenitalen Syndrom durchschnittliche Endgrößen von -1,65±1,2 SD (Cabrera, Vogiatzi & New, 2001), -1,49±0,34 SD (Premawardhana et al., 1997) oder -1,8±1,06 SD (Grigorescu-Sido et al., 2003) gemessen werden.

1.1.7 Diagnostik

Die Diagnose eines Adrenogenitalen Syndroms kann prinzipiell mittels genetischer und invasiver Diagnostik pränatal oder mit Hilfe von unterschiedlichen Hormonanalysemethoden im Rahmen klinischer Diagnostik nach der Geburt gestellt werden (Kulle et al., 2017). In den ersten Tagen postnatal erfolgt eine Neugeborenenscreeninguntersuchung auf das AGS.
Ist die Erkrankung in einer Familie bekannt, kann pränatal zur genetischen Analyse des Ungeborenen ab der 9. Schwangerschaftswoche eine Chorionzottenbiopsie oder ab der 15. Schwangerschaftswoche eine Amniozentese erfolgen (Frasier et al., 1975; Speiser et al., 1990; Wudy et al., 1999). Die Chorionzottenbiopsie wird bevorzugt, da sie einen früheren Erkenntnisgewinn ermöglicht. In experimentellem Rahmen ist bei positivem Befund schon während der Schwangerschaft eine Glucocorticoidtherapie der Mutter möglich. Damit soll die Virilisierung des kindlichen Genitales verhindert werden (Speiser et al., 1990). Bei noch nicht ausreichend gesicherter Datenlage und Kenntnis über Wirkung und Nebenwirkung dieser Behandlung, wird dieses Verfahren in den aktuellen deutschen pädiatrischen Leitlinien jedoch nicht empfohlen (AWMF AGS, 2010). Beide obengenannten Diagnostikverfahren birgen ein Risiko für Fehlentwicklungen des Fetus (Amniozentese 0,1% / Chorionzottenbiopsie 0,2%) (Evans & Wapner, 2005; Akolekar et al., 2015). Neuere Analyseverfahren ermöglichen die Genotypbestimmung aus mütterlichem Blut schon in der sechsten Schwangerschaftswoche, und stellen damit eine attraktive, bislang aber noch nicht in der Routinediagnostik etablierte, Alternative zur bisherigen Diagnostik dar (Costa et al., 2001; New et al., 2014; Tardy-Guidollet et al., 2014; Parsa and New, 2016).
Gleich nach der Geburt beurteilt die Ärztin oder der Arzt beim Neugeborenen die Entwicklung des Genitales – bei betroffenen Mädchen mit klassischem AGS mit Salzver-

lust fällt in vielen Fällen ein virilisiertes Genitale auf. Durch die Einführung eines Neonatalscreenings konnte die Zeit bis zur Diagnosestellung reduziert werden (Therrell et al., 1998). Dies führt zu verminderter Mortalität und Morbidität, da aufgrund der frühen Diagnose schwerwiegende Folgen für Kinder mit Salzverlustsyndrom abgewendet werden können (White & Speiser, 2000).

Erstmals wurde ein Screening in Alaska 1977 erprobt; mittlerweile ist es in vielen Ländern der Welt flächendeckend eingeführt worden (van der Kamp HJ, 2004). Im Blut können bei AGS Patienten erhöhte 17-Hydroxyprogesteronwerte nachgewiesen werden (Barnes and Atherden, 1972; Youssefnejadian & David, 1975). Das Screening findet zwischen der 36. und 72. Lebensstunde statt (AWMF AGS, 2010). Für das klassische AGS mit Salzverlust ist die Sensitivität hoch, beim einfach-virilisierenden AGS und dem nicht-klassischem AGS gelingt jedoch nicht immer der Nachweis der Erkrankung. Falsch positive Befunde sind häufig (Pang, 1993; van der Kamp HJ, 2004; Parsa & New, 2016). Dies gilt insbesondere für Frühgeborene, bei denen der positive Vorhersagewert bei nur 0,4%, im Gegensatz zu 30,1% bei reifen Neugeborenen lag (Coulm et al., 2012). Ursache ist eine Unreife der Nebenniere mit verminderter 11β-Hydroxylase-Aktivität (Kamrath et al., 2014).

Die Harnsteroidanalyse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie erlaubt in diesen Fällen mittels Spontanurin eine genaue und sichere Diagnosebestätigung (Wudy et al., 2000; Homma et al., 2004; Kamrath et al., 2016; Wudy et al., 2018).

Treten Symptome im Rahmen des nicht-klassischen AGS erst später bei Patienten auf, besteht die Diagnostik aus Erkennen der klinischen Symptome und spezifischer Hormonanalyse beispielsweise mit Nachweis erhöhter 17-Hydroxyprogesteron-metabolitwerte in Urin oder Blutplasma. Eine Genanalyse kann sich anschließen (Joint ESPE/LWPES CAH working Group, 2002).

1.1.8 Therapie

Medikamentöse Therapie

Das Adrenogentiale Syndrom wird mit Glucocorticoiden behandelt, um den Cortisolspiegel zu normalisieren, die erhöhte ACTH Produktion zu drosseln und die adrenale Androgensynthese ausreichend zu unterdrücken. Dabei stehen Hydrocortison (HC), Dexamethason oder Prednisolon zur Verfügung. Im Kindesalter wird zumeist Hydrocor-

tison in drei Einzeldosen über den Tag hin verabreicht. Hydrocortison findet bei Heranwachsenden vor allem Verwendung, da es mit kürzerer Halbwertszeit ein günstigeres Nebenwirkungsprofil insbesondere in Hinblick auf die Wachstumsentwicklung gegenüber potenteren, länger wirksamen Glucocorticoiden zeigt (Speiser et al., 2010 nach Bonfig et al., 2007). Die empfohlene Tagesdosis des Hydrocortisons liegt bei 10-15mg/m^2 Körperoberfläche (AWMF AGS, 2010). Beim klassischen AGS sollte zusätzlich die Substitution der fehlenden Mineralocorticoide mit Fludrocortison erfolgen (Joint ESPE/LWPES CAH working Group, 2002).

Therapiemonitoring

Zur Vermeidung von lebensbedrohlicher Salzverlustkrise und weiteren Symptomen des AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel wie Virilisierung und Pubertas praecox ist eine Therapieüberwachung essentiell. Der Blick auf die Serum- und Plasmaelektrolyte, Serumkreatinin, Blutgasanalyse und die Natriumexkretion im Urin gehören ebenso zum Therapiemonitoring, wie die Kontrolle der Hormonmetaboliten im Serum, Speichel oder im Urin (Joint ESPE/LWPES CAH working Group, 2002).
In drei- bis viermonatigen Abständen sollten körperliche Symptome wie Größe und Wachstumsgeschwindigkeit der Patienten kontrolliert werden. Ergänzend kann auch das Knochenalter der Patienten mittels Röntgenuntersuchung überprüft werden. Neben den klinischen Parametern hat sich die Erhebung von biochemischen Analysen der Hormone etabliert. Als Serummarker im Blut dienen vor allem 17OHP, Androstendion und Testosteron (Dauber, Kellogg and Majzoub, 2010).
Die Marker im Blut unterliegen tageszeitlichen Schwankungen, da sowohl die Cortisollevel eine zirkadiane Rhythmik aufweisen, als auch die externe Glucocorticoidtherapie bei Kindern mit AGS die Serumprobe beeinflussen kann (Frisch et al., 1981; Charmandari et al., 2001). In dem über 24 Stunden lang gesammelten Urin finden sich diese zirkadianen Unterschiede nicht. Die Analyse der Hormonmetaboliten im 24-Stunden-Sammelurin erfolgt mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (Wudy, Hartmann and Homoki, 2000).

1.2 Schwere der Erkrankung und Wichtigkeit des untersuchten Zusammenhangs

In der Zusammenschau obengenannter Symptome ist ersichtlich, dass das Adrenogenitale Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel eine ernsthafte Stoffwechselerkrankung mit weitreichenden biochemischen und anatomischen Folgen für den Organismus ist. Trotz fortgeschrittener Screeningprogramme und umfangreichen Wissens über Krankheitsverlauf und Therapieoptionen bleibt die Behandlung des AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel schwierig (Han et al., 2014). Die Therapieeinstellung mit Glucocorticoiden gleicht einem Balanceakt zwischen Hyperandrogenismus und Stoffwechselentgleisung auf der einen, und Gefahr eines Cushing-Syndroms durch Hypercortisolismus auf der anderen Seite (White & Speiser, 2000). Trotz erster Therapieansätze mit Cortison bereits in den 1950er Jahren (Bartter et al., 1951; Wilkins et al., 1951) und beachtlicher Fortschritte in der Therapie von Kindern mit AGS, ist die Suche nach einem objektiven, spezifischen und möglichst genauem Therapiemonitoring weiterhin Gegenstand aktueller Forschung.

Regelmäßige körperliche Untersuchungen und Dokumentation der Wachstumskurven ergänzen die Analyse des Hormonstatus im Vergleich von erkrankten mit gesunden Kindern. Nur erfahrenden pädiatrischen Endokrinologen gelingt unter Zusammenschau der obigen Befunde eine ausreichende Gesamtbeurteilung der Hormonhomöostase. Dabei stellt ein normales Wachstum der betroffenen Kinder ein wichtiges Therapieziel der behandelnden Ärzte dar (Muthusamy et al., 2010). Aktuellen empirischen Studien gelingt es Zusammenhänge zwischen Wachstumswerten von AGS-Kindern mit verschriebener Hormonsubstitution aufzuzeigen (Bonfig et al., 2009). Studien, die diese Parameter mit Tagesausscheidungsmengen von Hormonmetaboliten in Verbindung setzen fehlen hingegen weitgehend.

2 ZIELSETZUNG

Die medikamentöse Therapie des Adrenogenitalen Syndroms soll betroffenen Kindern ein symptomarmes Leben, ein normales Wachstum sowie im Weiteren eine normale Fertilität ermöglichen. Dabei kommt der Frage „Ist das Kind gut eingestellt?“ in der klinischen Praxis die herausragende Bedeutung zu. Eine gründliche Therapieüberwachung ist notwendig, um frühzeitig Symptome der Erkrankung zu verhindern (Joint ESPE/LWPES CAH working Group 2002). Präzise biochemische Richtlinien, die dem behandelnden Arzt erlauben ein Kind im Vergleich mit anderen erkrankten Altersgenossen zu beurteilen fehlen weitgehend.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, in einer retrospektiven Datenauswertung möglichst genaue Einsichten in die Wachstumsentwicklungen von behandelten Kindern mit klassischem AGS sowie ihrer Hormoneinstellung zu erhalten, um in Zukunft diese für eine fundierte Therapieüberwachung und -optimierung des Adrenogenitalen Syndroms bei 21-Hydroxylase-Mangel (21-hydroxylase-deficiency = 21-OHD) nutzen zu können.

Von grundlegendem Interesse war bei dieser Untersuchung deshalb folgende Überlegung: Wie lässt sich das Harnsteroidmetabolom der behandelten Kinder mit AGS durch 21-Hydroxylase-Mangel charakterisieren und welche Rückschlüsse können daraus für das Therapiemonitoring gezogen werden?

3 METHODIK UND MATERIAL

3.1 STUDIENDESIGN

Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Datenauswertung.
Im ersten Teil dieser Studie (Studienteil I) erfolgte die Charakterisierung der Wachstumsparameter, wie Größe und BMI, sowie der im Urin messbaren Steroidmetaboliten von Kindern mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel. Dabei gelang es aus den Analyseergebnissen Referenzwerte für einige Harnsteroidmetaboliten bei Kindern mit AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison zu erstellen. In einem zweiten Studienteil (Studienteil II) wurden sogenannte Z-Scores (auch als SDS-Werte bezeichnet) einiger Metaboliten erstellt, um die Harnsteroidmetaboliten in Bezug auf Alter und Geschlecht mit einer gesunden Gruppe von Kindern und untereinander bei erkrankten Kindern vergleichen zu können. Die Analyseergebnisse unterstützen neueste Entwicklungen im Bereich der Steroidforschung und können in Zukunft einen wichtigen Beitrag zur Therapieoptimierung des klassischen Adrenogenitalen Syndroms bei 21-Hydroxylase-Mangel leisten. Ebenso tragen sie zum Verständnis der Pathophysiologie der Androgensynthese bei.

Die quantitative und qualitative Urinsteroidmetabolomanalyse erfolgte im Labor für translationale pädiatrisch-endokrinologische Hormonanalytik, Leiter Prof. Dr. Stefan Wudy, am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Zur Analyse der Urinsteroidmetaboliten von Kindern mit klassischem 21-OHD Adrenogenitalem Syndrom mit Salzverlust wurde ein größtmögliches Patientenkollektiv von Kindern mit dem Diagnosecode ‚AGS' im Patientenregister des Labors gesucht. Die für die Untersuchung erforderlichen Daten stammten aus dem oben genannten Steroid- und Peptidlabor des Universitätsklinikums Gießen. Die Namen der Kinder waren bei Arbeitsbeginn für die Studie bereits von der Laborleitung anonymisiert worden. Alle anonymisierten Daten der Kinder wurden in einer Datenbank registriert. Die Datenbank wurde in Microsoft® Excel® 2011 erstellt und verwaltet. Im Anschluss fand die statistische Auswertung mit dem Statistikprogramm R (R Core Team, R Version 2016) statt.

3.2 ETHIKKOMMISSION

Die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen stimmte der Verwendung bereits vorliegender Daten des Labors für translationale pädiatrisch-endokrinologische Hormonanalytik am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen im Rahmen unserer retrospektiven Datenerhebung am 23.04.2013 zu. Das Aktenzeichen lautet 84/13.

3.3 ERHEBUNG DER DATEN

Ein erster Schritt dieser Arbeit bestand darin, nur die Kinder mit der übergeordneten Diagnose Adrenogenitales Syndrom aus der Gruppe aller behandelten Kinder des Labors herauszusuchen. Dies war zu Beginn der Studie bereits durch die Laborleitung geschehen. Die Patientennamen wurden von Mitarbeitern des Steroid- und Peptidlabors in der Datenbank anonymisiert. Die Zuordnung mehrerer Patientenuntersuchungen zu einem Patienten war zu Beginn der Studie nur noch mittels der zugeteilten Patientennummer möglich. Der Zeitraum der retrospektiven Datenanalyse wurde auf Januar 2003 bis Dezember 2013 festgelegt.
Im zweiten Schritt wurden zwei Datenbereiche der Patienten mit AGS ausgewählt: Zum einen wurden die Wachstumsparameter Größe und Gewicht, sowie die Dosierungen von Hydrocortison und Fludrocortison der Kinder erhoben. Zum anderen wurden die Ergebnisse der Urinsteroidmetabolomanalysen der für die Studie ausgesuchten Patienten selektiert.
Im Folgenden sollen die einzelnen Schritte der Datenerhebung im Detail dargestellt und erläutert werden. Nach einem ersten gemeinsamen Teil wird sowohl im Abschnitt Methodik als auch bei den Ergebnissen zunächst jeweils Studienteil I und anschließend Studienteil II dargestellt. Der zweite Studienteil nimmt in Fragestellung und Ausarbeitung auf den ersten Studienteil direkten Bezug.

3.3.1 Probengewinnung

Um Fehler bei der Sammlung des Urins und konsekutiv in späterer Analyse zu vermeiden, erhalten die Eltern und Patienten eine Anleitung zur Urinsammlung. Es ist darauf zu achten, dass die Sammlung morgens und erst nach dem ersten Morgenurin beginnt. Die Sammlung des Urins endet nach 24 Stunden am folgenden Tag inklusive des ersten Morgenurins. Alle gesammelten Urinmengen werden mit Zeitangabe und Mengenangabe dokumentiert.

3.3.2 Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Die Untersuchung der Harnsteroide fand im Steroidlabor mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) statt. Im Folgenden ist die Methode nach Wudy und Hartmann (2004) und Wudy et al. (2018) zusammenfassend beschrieben.
Die Gaschromatographie-Massenspektrometrie ist eine Untersuchungsmethode, mit deren Hilfe die Enzymerkrankungen der Nebennierenrinde diagnostiziert werden können. Sie dient unteranderem dazu, Steroide zu analysieren, die als Metaboliten von Hormonen über den Harn ausgeschieden werden. Die Analyse von Harnsteroiden ist nicht invasiv, da die Proben entweder aus einer Spontanurinprobe oder aus einer 24-Stunden-Sammelurinprobe gewonnen werden können. Mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie wird ein breitgefächertes Steroidprofil der abgebauten Hormone erstellt und lässt in ihrer Konstellation umfassende Rückschlüsse auf zahlreiche Erkrankungen der Steroidsynthese der Nebennierenrinden zu. Dabei reicht ein Spontanurin eines Patienten häufig aus, um eine Diagnose zu stellen, während die Analyse eines 24-Stunden-Sammmelurins quantitativ die Metaboliten analysiert und die Grundlage der Therapieüberwachung von Erkrankungen der Nebennierenrinde bildet. Der Vorteil der Harnsteroidanalyse mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie gegenüber anderen Verfahren der Hormonanalyse liegt nach Wudy und Hartmann darin, dass die Sammlung des Urins über den ganzen Tag erfolgt und die zirkadianen Schwankungen des Hormonhaushaltes integriert. Tageszeitabhängige Probenentnahmen, wie beispielsweise die Analyse von Hormonmetaboliten im Blutserum nach morgendlicher Entnahme, bilden häufig nicht den genauen Hormonstatus eines Patienten ab (Wudy & Hartmann, 2004; Wudy et al., 2018).

Beim klassischen Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel sind vor allem die Erhöhung der 17OHP-Metaboliten 17α-Hydroxypregnanolon (17HP), Pregnantriol (PT), sowie des 21-Desoxycortisolmetaboliten Pregnantriolon (PTO) im Hormonprofil ausschlaggebend für die Diagnosestellung (Shackleton, 1976; Homoki et al., 1992; Wudy & Hartmann, 2004).

Die Steroidhormonanalyse erfolgt wie von Wudy und Hartmann 2004 beschrieben und wird im Folgenden im Detail dargestellt. Zur Analyse der Steroidhormone aus den 24-Stunden-Sammelurinen werden 5 ml der Proben entnommen und mittels Festphasenextraktion werden die Steroidhormone aus den Urinen extrahiert. Der eingetrocknete Extrakt wird in Acetatpuffer aufgenommen und anschließend enzymatisch hydrolisiert. Im nächsten Schritt werden die freigesetzten Steroide wieder extrahiert, der Extrakt eingetrocknet und in 1 ml Methanol gelöst. Eine Standardmischung (5a-Androstan-3a,17a-diol, Stigmasterol und Cholesterin Butyrat) wird der Probe hinzugefügt und Methyloxim-Trimethylsilylether-Derivate hergestellt. Der derivatisierte Extrakt wird mittels Gelchromatographie aufgereinigt, das Eluat eingedampft und in Isooctan/Pyridin/Hexamethyldisilazan (98/1/1 Vol%) aufgenommen. 1 µL der Lösung wird mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert. Das GC-MS besteht aus einem Agilent 7683 Autoinjektor, auf einem Agilent 6890 Serie GC, der mit einem Agilent 5973 N massenselektiven Detektor gekoppelt ist. Helium dient als mobile Phase für die GC. Im Anschluss an die GC-MS Analyse werden die erhaltenen Peaks der Analyten mit den Peaks der Standards ins Verhältnis gesetzt und mittels Kalibrierkurven die Konzentrationen der Steroidhormone berechnet. Die Konzentrationen für die Steroidhormone werden in µg/Tag angegeben (nach Wudy & Hartmann, 2004).

3.3.3 HARNSTEROIDPROFIL

Exemplarisch ist in Abbildung 3 auf folgender Seite eine Harnsteroidmetabolomanalyse, wie sie im Steroid- und Peptidlabor erstellt wird (nach Wudy & Hartmann, 2004), dargestellt: Im oberen Abschnitt ist das Profil eines siebenjährigen präpubertären gesunden Jungen gezeigt, im unteren Abschnitt das eines an 21-Hydroxylase-Mangel erkrankten neunjährigen Jungen.

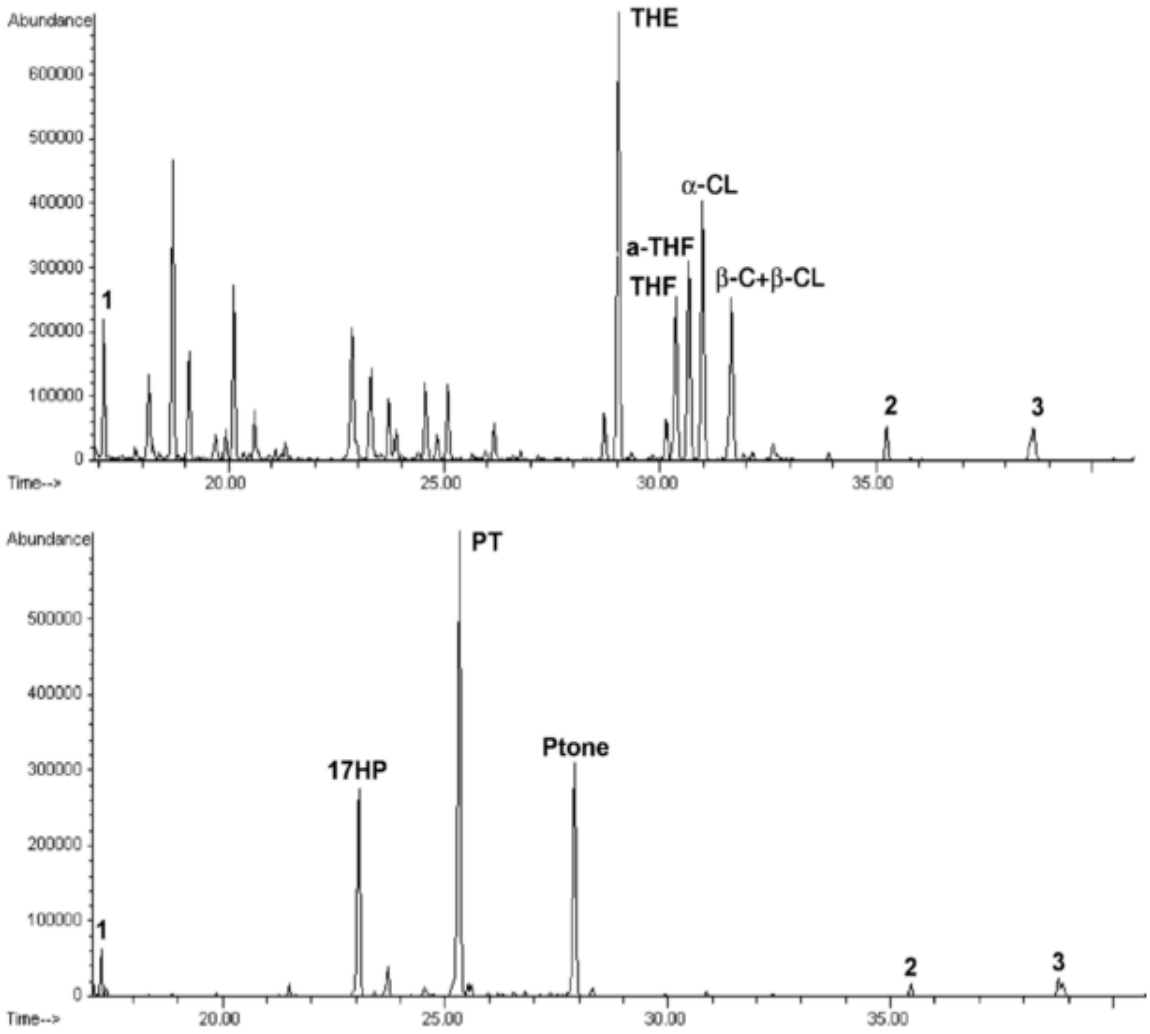


Abbildung 3. Beispiel einer Harnsteroidmetabolomanalyse eines gesunden sieben Jahre alten Jungen (oben) und eines an 21-OHD erkrankten neun Jahre alten Jungen (unten) (modifiziert nach Wudy & Hartmann, 2004). Abkürzungen der Harnmetaboliten des Cortisols: THE = Tetrahydrocortison, THF = Tetrahydrocortisol, 5α-THF = 5α-Tetrahydrocortisol, α- und β-CL = α- und β-Cortolon, β-C = β-Cortol. Abkürzungen der Harnmetaboliten des 17OHP: PT = Pregnantriol, 17HP = 17α-Hydroxypregnanolon, und des 21-Desoxycortisol: Ptone = PTO = Pregnantriolon. Im Hormonprofil des gesunden Jungen zeigt sich die Dominanz der Glucocorticoidmetaboliten (THE, THF, 5αTHF, α-Cortol, β-Cortol, α-Cortolon, β-Cortolon), *während im Hormonprofil des an 21-OHD erkrankten Jungen die 17OHP-Metaboliten (17HP, PT, PTO) deutlich erhöht gemessen werden.*

Für die Auswertung der Metaboliten benutzten wir die absoluten Werte, die in μg/Tag angegeben sind.

Mittels GC-MS wurden in unserem Labor folgende Metaboliten gemessen:
Für das Cortisol sieben Cortisolmetaboliten:

- 5α-Tetrahydrocortisol (5αTHF; 5α-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on)
- Tetrahydrocortisol (THF; 5β-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on)
- Tetrahydrocortison (THE; 5β-Pregnan-3α,17α,21-triol-11,20-dion)
- α-Cortol (5β-Pregnan-3α,11β,17α,20α,21-pentol)
- β-Cortol (5β-Pregnan-3α,11β,17α,20β,21-pentol)
- α-Cortolon (5β-Pregnan-3α,17α,20α,21-tetrol-11-on)
- β-Cortolon (5β-Pregnan-3α,17α,20β,21-tetrol-11-on)

Die sieben Metaboliten wurden zudem summiert (Σ Cortisolmetaboliten) und repräsentieren die tägliche Cortisolmetabolitenexkretion (nach Wudy et al., 2007).
Die Enzymaktivität der 11β-Hydroxysteroiddehydrogenase, die Cortisol zu Cortison inaktiviert, zeigte sich in dem Verhältnis von (5αTHF+THF)/THE. Das Verhältnis von 5αTHF/THF spiegelte die Aktivität der 5α-Reduktase zur 5β-Reduktase wider (nach Wudy et al., 2007) .

Für 17α-Hydroxyprogesteron wurden drei Metaboliten gemessen:

- 17α-Hydroxypregnanolon (17HP; 5β-Pregnan-3α,17α-diol-20-on)
- 17α-Hydroxyallopregnanolon (5α17HP; 5α-Pregnan-3α,17α-diol-20-on)
- Pregnantriol (PT; 5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol)

Für 21-Desoxycortisol (21DF) wurde ein Metabolit gemessen:

- Pregnantriolon (PTO; 5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol-11-on)

Die drei 17OHP-Metaboliten und PTO wurden als 17OHP-Metaboliten addiert (Σ 17OHP-Metaboliten) (nach Wudy et al., 2000; Krone et al., 2010).

Außerdem wurden acht Androgenmetaboliten gemessen:

- Androsteron (AN; 5α-Androstan- 3α-ol-17-on)
- Etiocholanolon (ET; 5β-Androstan-3α-ol-17- on)
- 11β-Hydroxyandrosteron (11OHAN; 5α-Androstan- 3α,11β-diol-17-on)
- 17β-Androstendiol (A5-3β,17β; 5-Androsten-3β,17β-diol)
- 17α-Androstendiol (A5-3β,17α; 5-Androsten-3β,17α-diol)
- Dehydroepiandrosteron (DHEA; 5-Androsten-3β-ol-17-on)
- 16α-Hydroxy-DHEA (16α-OH-DHEA; 5-Androsten-3β,16α-diol-17-on)
- 16α-Androstentriol (A5T-16α; 5-Androsten-3β,16α,17β-triol)

Die fünf letztgenannten Metaboliten wurden zusammengefasst als Summe der DHEA-Metaboliten berechnet (Σ DHEA-Metaboliten) (nach Remer et al., 2005).
11β-Hydroxyandrosteron ist der Metabolit des 11β-Hydroxyandrostendion und entsteht nach 11β-Hydroxylierung aus Androstendion (Goldzieher & Beering, 1969; Swart & Storbeck, 2015). 11β-Hydroxyandrostendion dient als Vorstufe von 11-Ketotestosteron und 11-Ketodihydrotestosteron. Beides sind aktive Androgene (Storbeck et al., 2013; Swart & Storbeck, 2015; Pretorius et al., 2016).
Androsteron ist der Urinmetabolit von Androstendion, Testosteron und 5α-Dihydrotestosteron (Remer et al., 2005).

Die nächste Abbildung auf der folgenden Seite (Abb. 4) zeigt die Steroidsynthese beim 21-Hydroxylase-Mangel und die jeweils gemessenen Harnmetaboliten.

Im Anschluss sind die im Harn messbaren Steroidmetaboliten mit Abkürzungen, sowie ihren vollen ausgeschriebenen Namen und ihrer Ausgangssubstanz als Tabelle (Tabelle 1) dargestellt.

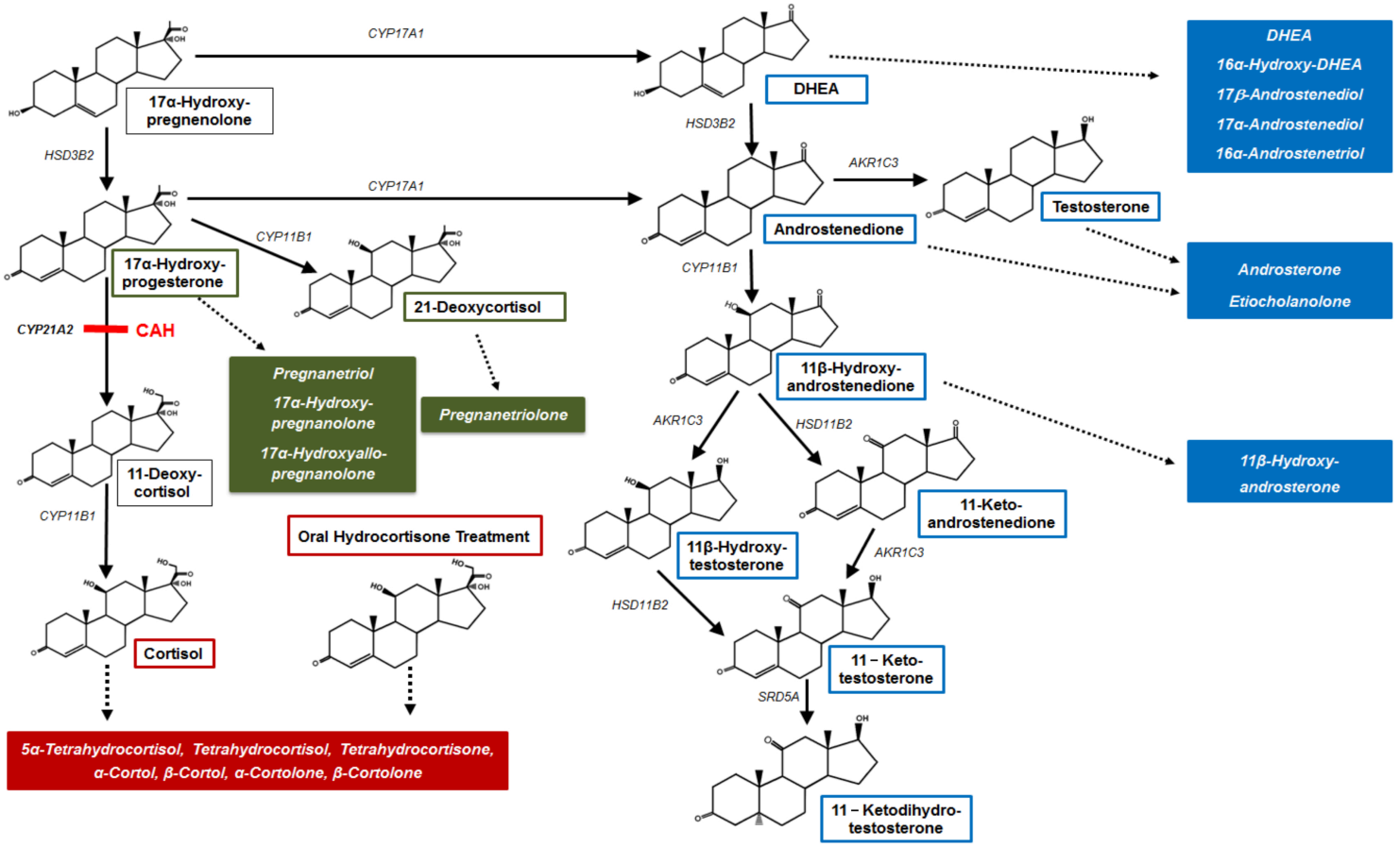


Abbildung 4. Steroidsynthese mit Metaboliten. Enzyme sind in kursiv neben den Pfeilen zu erkennen. Der Enzymdefekt ist als roter Balken mit congenital adrenal hyperplasia (CAH) beschriftet. Die Hormone sind in transparenten Kästen dargestellt, die zugehörigen Urinmetaboliten in farbig hinterlegten Rechtecken. Gepunktete Linien verdeutlichen den Entstehungsweg der Metaboliten. Die Hormone und Metaboliten der Cortisolsynthese sind in rot, Hormone und Metaboliten des 17OHP und des 21-Desoxycortisols in grün, und der Syntheseweg und -abbau der Androgene in blau markiert. Im unteren Teil der Androgensynthese sind auch die 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide abgebildet.

Abkürzung	Trivialname	Systematischer Name	Metabolit von
AN	Androsteron	5α-Androstan- 3α-ol-17-on	Androstendion, Testosteron, 5α-Dihydrotestosteron, DHEA
ET	Etiocholanolon	5β-Androstan-3α-ol-17-on	Testosteron, DHEA
DHEA	Dehydroepiandrosteron	5-Androsten-3β-ol-17-on	Dehydroepiandrosteron
16αDHEA	16α-Hydroxy-DHEA	5-Androsten-3β,16α-diol-17-on	Dehydroepiandrosteron, Dehydroepiandrosteron-Sulfat
11OHAN	11β-Hydroxyandrosteron	5α-Androstan-3α,11β-diol-17-on	11β-Hydroxyandrostendion
11OHET	11β-Hydroxyetiocholanolon	5β-Androstan-3α,11β-diol-17-on	Cortisol
11OXOAN	11-oxo-Androsteron	5α-Androstan- 3α-ol-11,17-dion	11-Keto-Androstendion
17βAD	17β-Androstendiol	5-Androsten-3β,17β-diol	Dehydroepiandrosteron
17αAD	17α-Androstendiol	5-Androsten-3β,17α-diol	Dehydroepiandrosteron
16αAT	16α- Androstentriol	5-Androsten-3β,16α,17β-triol	Dehydroepiandrosteron
PD	Pregnandiol	5β-Pregnan-3α,20α-diol	Progesteron, 11-Desoxycorticosteron
5PD	Pregnendiol	5-Pregnen-3β,20α-diol	Pregnenolon
17HP	17-Hydroxy-Pregnanolon	5β-Pregnan-3α,17α-diol-20-on	17-Hydroxy-Progesteron
5α17HP	5α-17-Hydroxy-Pregnanolon	5α-Pregnan-3α,17α-diol-20-on	17-Hydroxy-Progesteron
PT	Pregnantriol	5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol	17-Hydroxy-Progesteron
5PT	5-Pregnentriol	5-Pregnen-3β,17α,20α-triol	17-Hydroxy-Pregnenolon
PTO	Pregnantriolon	5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol-11-on	21-Desoxycortisol
THDOC	Tetrahydrodesoxycorticosteron	5β-Pregnan-3α,21-diol-20-on	11-Desoxycorticosteron

Fortsetzung von Seite 29

Abkürzung	Trivialname	Systematischer Name	Metabolit von
5αTHDOC	5α-Tetrahydrodeoxycorti-costeron	5α-Pregnan-3α,21-diol-20-on	11-Desoxycorticosteron
THS	Tetrahydro-11-Desoxycortisol	5β-Pregnan-3α,17α,21-triol-20-on	11-Desoxycortisol
THA	Tetrahydro-11-Dehydrocorticosteron	5β-Pregnan-3α,21-diol-11,20-dion	Corticosteron
5αTHA	5α-Tetra-11-Dehydrocorticosteron	5α-Pregnan-3α,21-diol-11,20-dion	Corticosteron
THB	Tetrahydrocorticosteron	5β-Pregnan-3α,11β,21-triol-20-on	Corticosteron
5αTHB	5α-Tetrahydrocorticosteron	5α-Pregnan-3α,11β,21-triol-20-on	Corticosteron
THE	**Tetrahydrocortison**	**5β-Pregnan-3α,17α,21-triol-11,20-dion**	**Cortisol, Cortison**
THF	**Tetrahydrocortisol**	**5β-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on**	**Cortisol**
5αTHF	**5α-Tetrahydrocortisol**	**5α-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on**	**Cortisol**
α-Cortolon	**α-Cortolon**	**5β-Pregnan-3α,17α,20α,21-tetrol-11-on**	**Cortisol, Cortison**
β-Cortolon	**β-Cortolon**	**5β-Pregnan-3α,17α,20β,21-tetrol-11-on**	**Cortisol, Cortison**
α-Cortol	**α-Cortol**	**5β-Pregnan-3α,11β,17α,20α,21-pentol**	**Cortisol**
β-Cortol	**β-Cortol**	**5β-Pregnan-3α,11β,17α,20β,21-pentol**	**Cortisol**
6β-OH-Cortisol	6β-Hydroxy-Cortisol	4-Pregnen-6β,11β,17α,21-tetrol-3,20-dion	Cortisol

Tabelle 1. Harnsteroidmetaboliten mit Abkürzung, Trivialnamen, systematischem Namen und Ausgangshormon. Die jeweils in dieser Studie gemessenen Androgenmetaboliten sind in grün, die 17OHP-Metaboliten in blau und die Cortisolmetaboliten in rot hinterlegt. Nach (Krone et al., 2010).

3.3.4 DATENBANK ALLGEMEIN

Alle erhobenen Daten wurden in einer Tabelle in Microsoft® Excel® für Mac 2011 eingetragen und gespeichert. Die Tabelle bestand aus den folgenden Spalten:

- Probandennummer
- Alter des Patienten bei Eingang des Untersuchungsmaterials im Labor
- Geschlecht des Patienten
- Art der Urinsammlung (24-Stunden-Sammelurin, Spontanurin oder andere Art von Sammlung)
- Sammelmenge des Urins in ml
- Gewicht des Patienten in kg (auf 0,1 kg genau)
- Größe des Patienten in cm (auf 0,1 cm genau)
- Körperoberfläche (KOF) des Patienten in m^2
- Blutdruckangabe in mm/Hg
- Knochenalter des Patienten
- Hydrocortisondosis als Tagesdosis in $mg/m^2/d$, oder als Einzeldosen während des Tages in mg
- Fludrocortisondosis in µg/d
- Prednisolon und Dexamethason in mg/d
- Angabe über die late-onset Form des AGS
- Prader und Tanner Stadien
- Hodenvolumen

3.4 STUDIENTEIL I

3.4.1 AUFBEREITUNG DER DATEN I

Pro Patient wurde jeweils nur ein 24-Stunden-Sammelurin jährlich analysiert, um Überpräsentationen einzelner Patienten zu vermeiden.
Die Ausscheidungsraten der Steroidmetaboliten der Kinder wurden auf die Körperoberfläche der Probanden (Body Surface Area = BSA) bezogen. Es ist bekannt, dass die Größe der Nebennieren, sowie die damit verbundenen Ausscheidungsraten mit der Körperoberfläche korrelieren (Linder et al., 1990; Rubin & Phillips, 1991; Gomez et al. 1991). Auch die jeweilige Hydrocortisondosis wurde auf die Körperoberfläche bezogen (Speiser et al., 2010). Die Körperoberfläche wurde mit der Methode nach Mosteller ermittelt (Mosteller, 1987):

$$\text{Körperoberfläche } [\text{m}^2] = \sqrt{\frac{\text{Körpergröße [cm] x Körpergewicht[kg]}}{3600}}$$

Zum Teil lagen die Werte der Steroidausscheidung unterhalb der Nachweisgrenze des jeweiligen Metaboliten. Falls dies der Fall war, benutzten wir folgende minimale Nachweisgrenzen in der Berechnung:

- 3,125µg/l für Androsteron, Etiocholanolon und 16α-Androstendiol
- 6,25 µg/l für 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol und 16α-Hydroxy-DHEA
- 12,5 µg/l für DHEA.

Den BMI errechneten wir aus der allgemein üblichen Formel

$$\text{BMI} = \frac{\text{Körpermasse[kg]}}{\text{Körpergröße } [\text{m}^2]}$$

Um die Größe und den BMI der Kinder in der Kohorte mit gesunden Kindern und untereinander vergleichen zu können, wurden SDS (Standard Deviation Scores, Standardabweichungs-Werte, auch als Z-Scores bezeichnet) für die Größe und den BMI mit der LMS-Methode nach Cole erstellt (Cole & Green, 1992). Als Referenz von gesunden

Kindern verwendeten wir die Wachstumsdaten der KiGGS-Studie, einer Langzeitsammlung von Wachstumsdaten des Robert Koch-Instituts zur gesundheitlichen Lage der Kinder und Jugendlichen in Deutschland (Robert Koch-Institut, (KiGGS), 2010).
Die LMS-Methode wurde in der KiGGS-Studie benutzt, um Zufallsschwankungen der Perzentilen auszugleichen.
Mittels der Formel

$$z = \frac{((x/M)^L - 1)}{(SxL)} = SDS$$

und den in der KiGGS-Studie angegebenen Werten für L(Schiefe), M(Median) und S(Variationskoeffizient) in den unterschiedlichen Altersgruppen bei Jungen und Mädchen konnten in der Datenbank dieser Studie die jeweiligen Z-Scores erstellt werden. Im Ergebnisteil werden diese Z-Scores im ersten Studienteil als SDS-Werte bezeichnet.

3.4.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien I

Nach Festlegung des Untersuchungszeitraums und der Auswahl aller Kinder mit der Diagnose ‚AGS' wurden folgende fünf Einschlusskriterien der Patienten für die Studie gewählt:
Alle Kinder waren Patienten mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom bei 21-Hydroxlase-Mangel mit Salzverlust-Syndrom. Die in der Studie inkludierten Kinder waren mindestens 3 Jahre und höchstens 18 Jahre alt. Die Glucocorticoidsubstitution erfolgte ausschließlich mit oral verabreichtem Hydrocortison, das in drei Einzeldosen über den Tag verteilt verabreicht wurde. Es lagen bei allen Patienten vollständige Wachstumsangaben zum Untersuchungszeitpunkt der Größe (in 0,1 cm Intervallen) und des Gewichts (in 0,1 kg Intervallen) vor. Ebenso gab es von jedem Patienten eine vollständige Urinsteroidprofilanalyse mittels GC-MS aus 24-Stunden-Sammelurin im Steroidlabor mit Angabe der Sammelmenge in ml.

Die Diagnose 21-Hydroxlase-Mangel bei AGS wurde durch quantitative und qualitative Urinsteroidprofilanalyse mittels GS-MS (Gaschromatographie-Massenspektrometrie) in unserem Labor bestätigt (Wudy & Hartmann, 2004).
Wenn die Notwendigkeit der Mineralocorticoid-Substitution (Fludrocortison) in der Behandlung bestand wurde von einem AGS mit Salzverlust-Syndrom ausgegangen. Die

untere Altersgrenze der Patienten wurde so gewählt, dass eine adäquate Sammlung von 24-Stunden-Urin möglich war.

Ausschlusskriterien für Patienten dieser retrospektiven Datenauswertung waren somit Patienten mit nicht-klassischem Adrenogenitalem Syndrom, oder klassischem Adrenogenitalem Syndrom ohne Salzverlust oder ohne 21-Hydroxlase-Mangel. Es wurden alle Kinder aus der Studie ausgeschlossen, die jünger als 3 Jahre oder älter als 18 Jahre waren. Ebenfalls ausgeschlossen waren Kinder, die Glucocorticoide wie Dexamethason oder Prednisolon zusätzlich oder anstatt von oral appliziertem Hydrocortison einnahmen. Bei fehlenden oder inkompletten Wachstumsangaben war kein Studieneinschluss möglich. Auch fehlende oder nur partielle Urinsteroidprofilanalyse oder eine Sammlungsperiode kürzer als 24 Stunden galten als Ausschlusskriterien.

3.4.3 Patientenkollektiv I

Ausgewählt wurden für den Studienteil I 576 24-Stunden-Urinsteroidprofile von 150 Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom mit Salzverlust, davon waren 317 Steroidprofile von Jungen und 259 Steroidprofile von Mädchen. Bei 86% der Einträge (497 von 576) war die Hydrocortisondosis angegeben.

3.5 Studienteil II

3.5.1 Aufbereitung der Daten II

In Studienteil II analysierten wir jeweils nur einen Urin pro Patient pro zwei Jahre. Das Ziel war es, Z-Scores der Metaboliten zu erstellen, um Metaboliten hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den Geschlechtern und der Dominanz einiger Metaboliten im Hormonprofil vergleichen zu können. Als Referenzwerte dienten Harnsteroidwerte von gesunden Kindern aus der sogenannten DONALD (Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed) Studie – einer breitangelegten Erhebung von alters- und geschlechtsbezogenen Harnsteroidmetabolitendaten (Remer et al., 2005; Wudy et al., 2007). Dort wurden die Kinder in Gruppen von zwei Jahren zusammengefasst. Fanden wir für einen Patienten in unserer Datenbank mehrere Einträge in zwei Untersu-

chungsjahren, wählten wir denjenigen Eintrag aus, der am ehesten vom Alter in der Mitte des Referenzrahmens lag. Z-Scores für Größe und BMI erstellten wir wiederum nach der LMS Methode mit den Referenzwerten der KiGGS Studie und die Körperoberfläche berechneten wir wiederum nach Mosteller, beides wie oben beschrieben (Mosteller, 1987; Robert Koch-Institut, (KiGGS), 2010).

3.5.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien II

Die Ein- und Ausschlusskriterien im Studienteil II glichen in den meisten Punkten denjenigen aus Studienteil I. Allerdings unterschieden sie sich in Bezug auf das Alter der Kinder. Es wurden nur Kinder von genau oder älter als drei bis jünger als elf Jahren ausgewählt.

3.5.3 Patientenkollektiv II

In Studienteil II analysierten wir 190 Harnsteroidprofile von 99 Patienten (56 Jungen, 43 Mädchen) zwischen 3,0 und 10,9 Jahren. 112 Harnsteroidprofile waren von Jungen, 78 von Mädchen. Von sieben Kindern wurden jeweils vier Proben verwendet, von 17 Kindern jeweils drei Proben, von 36 Kindern jeweils zwei Proben und von ebenfalls 36 Kindern nur eine Probe.

3.6 Statistische Methoden

Studienteil I

Zur Auswertung der Rohdaten wurden die Harnsteroidmetabolitwerte auf die Körperoberfläche berechnet und in Microsoft® Excel® für Mac 2011 logarithmiert (Logarithmus zur Basis 10), da sie einer logarithmierten Normalverteilung folgten. Anschließend wurden sie als Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die Normalverteilung wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Die weitere statistische Auswertung zur Korrelation von Alter und Geschlecht zu den Harnsteroidmetaboliten fand mittels des Statistikprogramms R (‚R' Version 3.3.0) statt. Dabei wurde ein Linear Mixed Effect Model benutzt (‚R' Version 3.3.0, R Core Team, 2016; Pinheiro et al. 2016).

Alter und Geschlecht sowie ihre Interaktion mit den logarithmierten (und auf die Körperoberfläche (KOF) bezogenen) Steroidausscheidungswerten dienten als Fixed Effects. Mittelwerte der Harnsteroidmetaboliten inklusive des zugehörigen 95% Intervalls wurden als Kurven dargestellt (Wickham, 2009). Ein p-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Studienteil II

Die Z-Scores der Harnmetaboliten waren nicht normalverteilt. Wir berechneten sie deshalb als Median mit Angabe der Quartilenrange. Um die Z-Scores zwischen den Geschlechtern vergleichen zu können, verwendeten wir den Mann-Whitney-U-Test, für den Vergleich der Z-Scores in den Androgengruppen untereinander den Kruskal-Wallis-Test, mit post-hoc Analyse durch den Conover-Iman-Test und die Bonferroni-Holm-Methode (Conover & Iman 1982; Aickin & Gensler, 1996). Wir nutzten die lineare Regressionsanalyse nach Pearson und die multivariate lineare Regressionsanalyse, um die tägliche logarithmierte und auf die KOF berechnete Ausscheidung von 11β-Hydroxyandrosteron (11OHAN), dem Hauptmetabolit von 11β-Hydroxyandrostendion (11OHA4), in Abhängigkeit von der täglichen logarithmierten und auf die KOF berechneten Ausscheidung von dem Androgenmetaboliten Androsteron (AN), den 17OHP-Metaboliten, dem 21-Desoxycortisolmetaboliten Pregnantriolon (PTO), den DHEA-Metaboliten, den Cortisolmetaboliten und dem Alter darzustellen. 11β-Hydroxyandrosteron diente als abhängige Variable. Es wurde der Regressions Koeffizient b und das 95% Konfidenz Intervall berechnet. Zudem wurden der nicht standarisierte Koeffizient B und der standarisierte Koeffizient β berechnet. Wiederum benutzen wir das Statistikprogramm R (‚R' Version 3.3.0, R Core Team, 2016; Pinheiro et al. 2016). Ein p-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

4 ERGEBNISSE

4.1 STUDIENTEIL I

Um die statistischen Ergebnisse möglichst verständlich darzustellen, verwendeten wir im Studienteil I Tabellen und Kurvendiagramme. Auf der x-Achse der Diagramme stellten wir das Alter der untersuchen Patienten dar. Auf der y-Achse finden sich die abhängigen Variablen entweder als absolute Einheit, als Standard Deviation Score (SDS/Z-Scores) oder als Verhältnis zweier untersuchter Parameter (Ratio). Die Kurvenverläufe der Jungen sind stets in blau dargestellt, die der Mädchen in rot, der Mittelwert ist dabei als durchgezogene Linie zu erkennen. Die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus. Die schwarze Linie markiert in Diagrammen mit Angabe des SDS-Werts zur Orientierung einen SDS-Wert von 0 – dieser entspricht dem Durchschnittswert gesunder Kinder. Auf der folgenden Seite bildet Tabelle 2 die für Studienteil I ausgewählte Kohorte ab.

	Urinproben Jungen				Urinproben Mädchen			
Alter (MW ± SD (Jh.))	**N**	**Hydrocortisondosis (mg/m²/Tag) [N]**	**KOF (m²)**	**Urinvolumen (ml/24 Std.)**	**N**	**Hydrocortisondosis (mg/m²/Tag) [N]**	**KOF (m²)**	**Urinvolumen (ml/24 Std.)**
3 (3.54 ± 0.30)	8	10.7 ± 1.9 [6]	0.70 ± 0.08	938 ± 427	13	11.6 ± 2.1 [13]	0.66 ± 0.06	680 ± 274
4(4.54 ± 0.24)	19	11.7 ± 2.2 [15]	0.77 ± 0.09	719 ± 380	14	12.2 ± 1.9 [12]	0.74 ± 0.08	638 ± 263
5 (5.56 ± 0.29)	23	11.4 ± 2.3 [19]	0.87 ± 0.12	780 ± 374	15	12.4 ± 1.9 [14]	0.84 ± 0.12	928 ± 260
6 (6.54 ± 0.24)	26	11.9 ± 2.2 [24]	0.98 ± 0.11	730 ± 269	16	13.1 ± 2.6 [15]	0.94 ± 0.15	968 ± 478
7 (7.47 ± 0.40)	28	12,7 ± 2.7 [25]	1.05 ± 0.12	956 ± 481	18	13.2 ± 3.1 [16]	0.99 ± 0.13	894 ± 343
8 (8.54 ± 0.269)	30	12.8 ± 3.1 [24]	1.17 ± 0.12	995 ± 426	15	12.8 ± 2.6 [14]	1.08 ± 0.16	907 ± 389
9 (9.58 ± 0.265)	24	13.2 ± 3.9 [23]	1.26 ± 0.15	1101 ± 463	19	12.5 ± 2.6 [17]	1.24 ± 0.18	1187 ± 589
10 (10.54 ± 0.26)	19	13.8 ± 3.6 [18]	1.38 ± 0.15	1110 ± 542	22	14.7 ± 3.3 [21]	1.28 ± 0.15	1500 ± 611
11 (11.41 ± 0.23)	21	13.2 ± 3.4 [19]	1.41 ± 0.14	1129 ± 619	24	13.5 ± 3.2 [20]	1.38 ± 0.18	1389 ± 755
12 (12.55 ± 0.25)	20	13.6 ± 3.2 [13]	1.52 ± 0.24	1406 ± 586	22	13.8 ± 3.0 [20]	1.49 ± 0.21	1548 ± 750
13 (13.49 ± 0.28)	23	13.5 ± 3.3 [18]	1.61 ± 0.27	1438 ± 690	19	16.1 ± 3.6 [17]	1.58 ± 0.21	1586 ± 675
14 (14.57 ± 0.26)	25	15.0 ± 3.9 [22]	1.74 ± 0.26	1208 ± 487	20	14.7 ± 3.5 [18]	1.60 ± 0.17	1395 ± 642
15 (15.54 ± 0.23)	20	15.2 ± 4.3 [14]	1.76 ± 0.25	1550 ± 548	18	16.0 ± 3.5 [15]	1.64 ± 0.20	1475 ± 597
16 (16.48 ± 0.27)	20	15.1 ± 4.4 [18]	1.80 ± 0.24	1351 ± 464	15	14.2 ± 2.7 [12]	1.68 ± 0.25	1503 ± 790
17 (17.62 ± 0.11)	11	16.7 ± 3.7 [9]	1.79 ± 0.29	1660 ± 764	9	15.4 ± 3.1 [6]	1.80 ± 0.13	2176 ± 1285

Tabelle 2. Überblick über Alter in Jahren (mit Mittelwert +- Standardabweichung), Anzahl (N), verschriebene Hydrocortisondosis in mg/m²KOF/Tag, Körperoberfläche (KOF in m²) und Urinvolumen in ml/24 Stunden bei Kindern mit 21-OHD unter Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, davon 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Zunächst untersuchten wir die Wachstumsdaten der Kinder. Sie sind in Tabelle 3 gezeigt. In Abbildung 5 und 6 wurden die Größe (Körperhöhe) in absoluten Werten, sowie die Körperhöhen-SDS der Kinder, also die Größe in Bezug auf ihre gleichaltrige Referenzgruppe in der KiGGS Studie (Robert Koch-Institut (KiGGS), 2010), grafisch dargestellt. Die Auswertung ergab, dass sich die Größe von Kindern mit klassischem AGS mit drei Jahren nicht von der Größe der Referenzpopulation unterschied. Im Anschluss wuchsen die AGS Kinder im vorpubertären Alter aber deutlich schneller, als die Kinder der Referenzgruppe. Bei Jungen war die Wachstumsstörung dabei ausgeprägter, als bei Mädchen. Jungen erreichten ihren maximalen Körperhöhen-SDS-Wert von 0,55 ± 0,95 (Mittelwert ± Standardabweichung) im Alter von 10 Jahren, wie Tabelle 3 zeigt. Bei den Mädchen bestand die maximale Ausprägung des Körperhöhen-SDS von 0,21 ± 1,36 mit bereits 6 Jahren deutlich früher, dafür weniger ausgeprägt. Bei beiden Geschlechtern nahm der Körperhöhen-SDS nach dem Maximum im Verlauf kontinuierlich erheblich ab. Der mittlere Körperhöhen-SDS-Wert war bei Mädchen erstmals ab ca. 10 Jahren negativ, bei Jungen später, ab ca. 14 Jahren. Die Endgröße der Kinder lag deutlich unter dem Durchschnitt von Gleichaltrigen (mit 17 Jahren: -1,10 ± 1,73 bei Jungen und -0,31 ± 1,25 bei Mädchen). Wie zuvor die erhöhten Körperhöhen-SDS-Werte zeigte sich in unserer Kohorte auch der Größenverlust deutlicher bei Jungen als bei den Mädchen.

	Urinproben Jungen					Urinproben Mädchen				
Alter (Jh.)	**Körperhöhe (cm)**	**Körperhöhen-SDS**	**Gewicht (kg)**	**BMI (kg/m²)**	**BMI-SDS**	**Körperhöhe (cm)**	**Körperhöhen-SDS**	**Gewicht (kg)**	**BMI (kg/m²)**	**BMI-SDS**
3	93.4 ± 4.6	-0.05 ± 1.25	17.9 ± 4.1	17.2 ± 2.1	0.83 ± 1.53	98.1 ± 5.4	-0.10 ± 1.48	16.2 ± 2.6	16.8 ± 2.9	0.50 ± 1.68
4	108.7 ± 6.6	0.17 ± 1.44	19.9 ± 3.6	16.7 ± 1.2	0.75 ± 0.85	106.9 ± 5.3	0.07 ± 1.13	18.5 ± 3.1	16.1 ± 1.4	0.32 ± 0.92
5	116.7 ± 6.6	0.28 ± 1.46	23.6 ± 5.3	17.2 ± 2.7	0.74 ± 1.16	113.8 ± 7.0	-0.13 ± 1.34	22.3 ± 5.5	16.9 ± 2.5	0.64 ± 1.23
6	123.4 ± 5.2	0.31 ± 1.20	28.0 ± 5.6	18.0 ± 2.8	1.03 ± 1.03	121.5 ± 6.8	0.21 ± 1.36	26.2 ± 6.9	17.8 ± 2.9	0.64 ± 1.41
7	129.3 ± 4.6	0.26 ± 0.94	30.9 ± 6.0	18.3 ± 2.8	0.82 ± 0.91	126.8 ± 6.8	0.08 ± 1.26	27.9 ± 6.4	17.2 ± 2.4	0.38 ± 1.14
8	136.6 ± 5.3	0.45 ± 0.99	36.4 ± 6.3	19.4 ± 2.5	0.93 ± 0.72	133.2 ± 8.1	0.07 ± 1.36	31.9 ± 7.9	17.8 ± 2.8	0.34 ± 1.04
9	141.8 ± 5.9	0.32 ± 0.97	40.9 ± 8.5	20.2 ± 3.2	0.83 ± 0.78	140.1 ± 7.7	0.16 ± 1.26	40.0 ± 9.4	20.1 ± 3.1	0.78 ± 0.90
10	148.4 ± 7.0	0.55 ± 0.95	46.3 ± 8.1	20.9 ± 2.8	0.86 ± 0.57	143.7 ± 7.2	-0.14 ± 1.00	41.4 ± 9.4	19.8 ± 3.3	0.49 ± 0.83
11	152.0 ± 7.9	0.44 ± 1.08	47.2 ± 7.2	20.3 ± 1.7	0.61 ± 0.44	150.1 ± 6.8	-0.21 ± 0.96	46.1 ± 10.4	20.3 ± 3.6	0.36 ± 0.88
12	159.3 ± 11.6	0.40 ± 1.39	52.7 ± 13.6	20.4 ± 3.6	0.28 ± 0.94	156.1 ± 7.7	-0.18 ± 1.07	51.9 ± 12.9	21.2 ± 4.4	0.29 ± 1.05
13	163.9 ± 11.6	0.08 ± 1.43	57.2 ± 15.3	20.6 ± 3.6	0.21 ± 1.06	155.3 ± 6.3	-0.27 ± 1.11	61.2 ± 16.5	22.8 ± 4.9	0.33 ± 1.16
14	168.3 ± 10.3	-0.27 ± 1.28	66.1 ± 16.9	23.2 ± 5.3	0.50 ± 1.16	160.8 ± 6.2	-0.44 ± 0.96	58.0 ± 11.9	22.5 ± 4.6	0.25 ± 1.12
15	168.0 ± 9.8	-0.93 ± 1.22	67.0 ± 17.5	23.8 ± 6.3	0.35 ± 1.45	160.6 ± 7.9	-0.69 ± 1.23	60.8 ± 14.9	23.7 ± 6.5	0.24 ± 1.40
16	167.0 ± 9.3	-0.98 ± 1.42	72.3 ± 17.9	23.7 ± 5.3	0.29 ± 1.36	161.5 ± 8.2	-0.63 ± 1.28	64.4 ± 18.8	24.7 ± 7.2	0.31 ± 1.43
17	170.8 ± 12.2	-1.10 ± 1.73	68.6 ± 19.6	23.4 ± 5.4	-0.03 ± 1.58	163.6 ± 8.0	-0.31 ± 1.25	72.1 ± 12.8	27.4 ± 6.9	0.94 ± 1.25

Tabelle 3. Wachstumsdaten der Kinder mit klassischem AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel (21-OHD) angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung. Dargestellt sind Körperhöhe in cm, der Körperhöhen-SDS, das Gewicht in kg, der BMI in kg/m², und der BMI-SDS, links bei Jungen, rechts bei Mädchen (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, davon 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

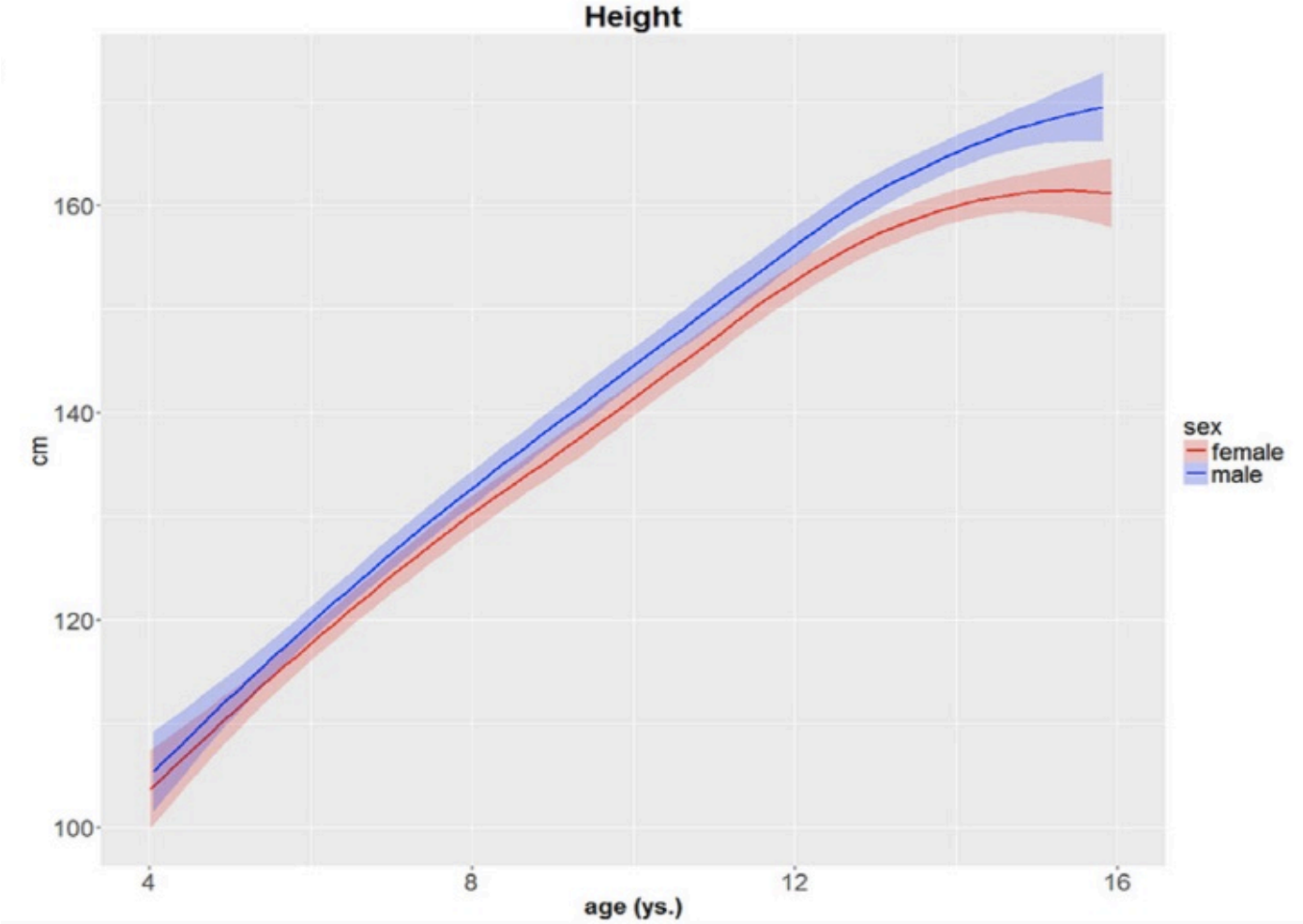


Abbildung 5. Mittlere Körperhöhe (in cm) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

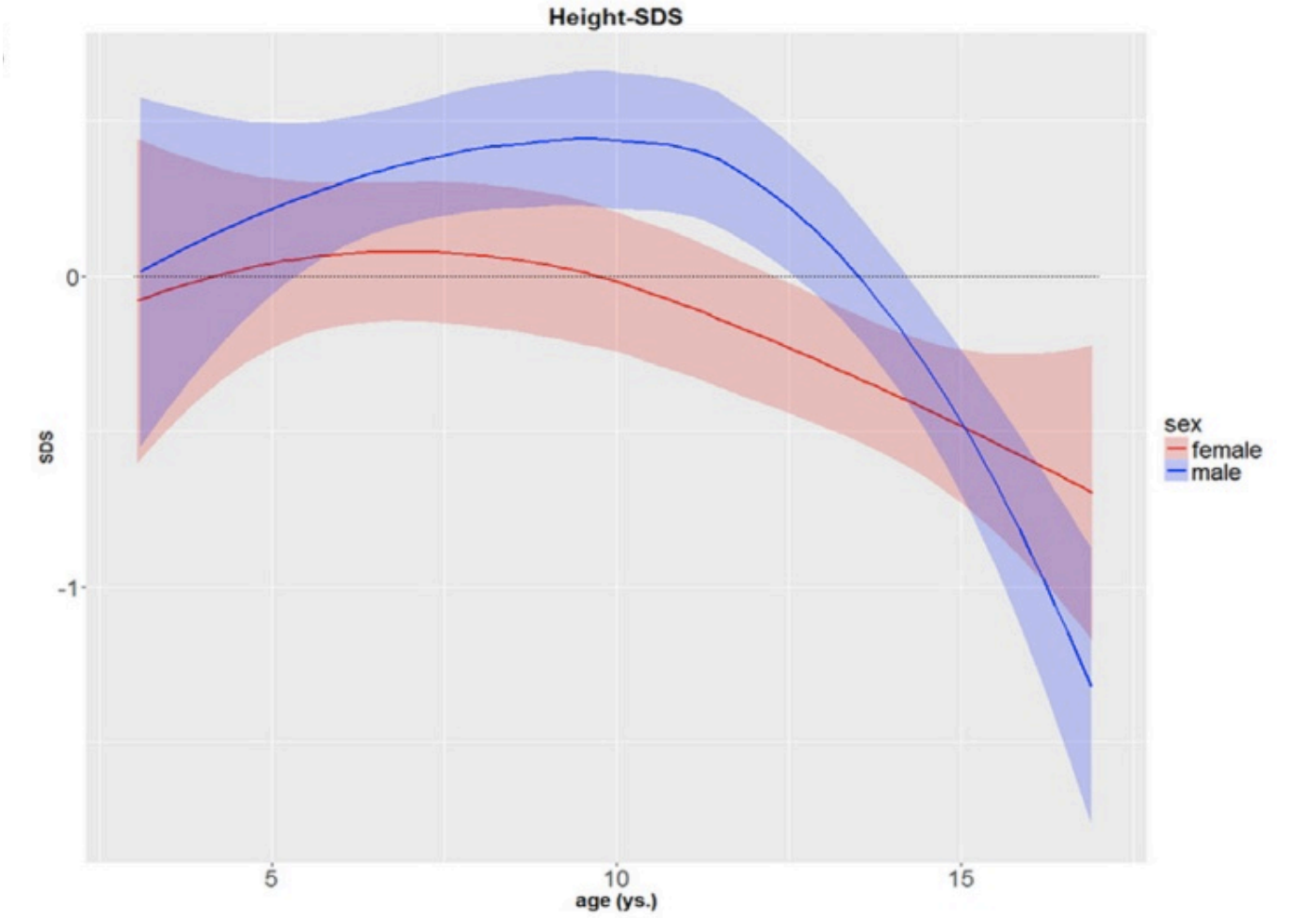


Abbildung 6. Mittlere Körperhöhen-SDS in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

Beim Blick auf die absoluten BMI-Werte, sowie die BMI-SDS-Werte unserer AGS-Kohorte (Tabelle 3, sowie Abbildungen 7 und 8) fiel auf, dass sie im Vergleich mit nicht erkrankten Kindern deutlich erhöht waren. Dies zeigte sich sogar schon im Alter von drei Jahren, als die Größe der Kinder sich noch nicht von Gesunden unterschied. Abbildung 8 verdeutlicht, dass die BMI-SDS-Werte vor allem bei Jungen bis zu einem Alter von 10 Jahren deutlich anstiegen. Danach fielen die Werte zwar ab, blieben aber dennoch im deutlich positiven Bereich. Bei Mädchen zeigten sich die BMI-SDS-Werte in der Kindheit und im vorpubertären Alter relativ konstant. Während der Pubertät fielen sie ebenfalls ab. Nach der Pubertät glichen sich die BMI-Werte von Jungen und Mädchen untereinander in unserer Kohorte an. Bei beiden Geschlechtern kam es im Vergleich mit den gesunden Kindern zu einer Annäherung der BMI-SDS-Werte.

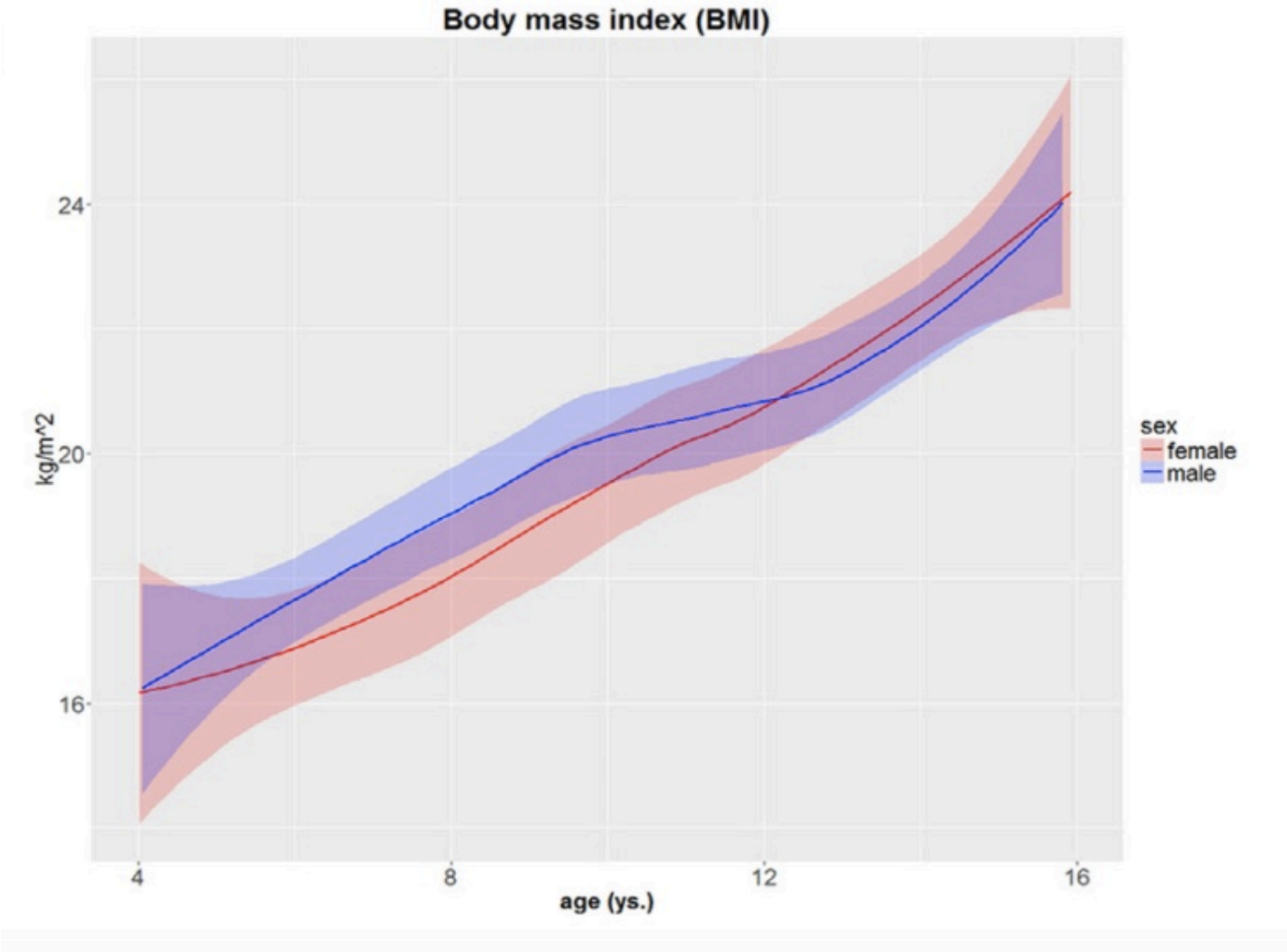


Abbildung 7. Mittlerer BMI (in kg/m²KOF) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

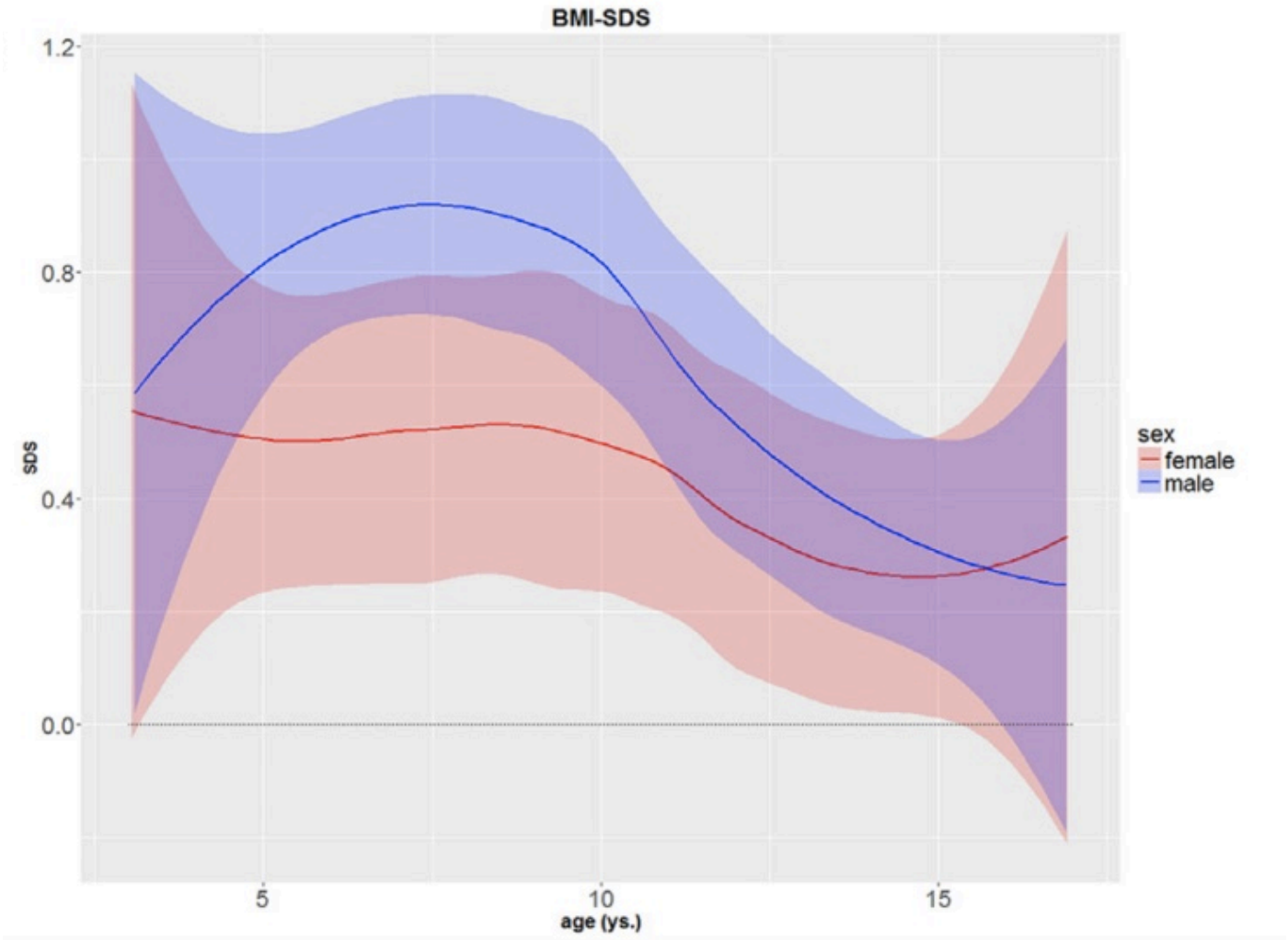


Abbildung 8. Mittlere BMI-SDS in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N=576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

Als nächstes untersuchten wir die verschriebene Hydrocortisondosis pro Tag (Tabelle 2). Der Kurvenverlauf ist in Abbildung 9 dargestellt. Die Dosis lag bei weiblichen Kleinkindern bei circa 12 mg/m^{2}KOF/Tag und bei männlichen Kleinkindern bei circa 10 bis 11 mg/m^{2}KOF/Tag. Mit zunehmendem Alter stieg die Dosis auf circa 15mg/m^{2}KOF/Tag bei Adoleszenten an. In der Korrelationsanalyse zeigte sich eine signifikante Korrelation für das Alter mit der verschriebenen Hydrocortisondosis (p=0,0002). Das Geschlecht (p=0,26) und auch das Alter und Geschlecht zusammengenommen (p=0,33) waren nicht signifikant mit der verschriebenen Dosis korreliert.

Im Gegensatz zu den verordneten Glucocorticoiden wurde allerdings die auf die Körperoberfläche (KOF) bezogene und logarithmierte Ausscheidung der Summe aller Cortisolmetaboliten vom Alter nicht signifikant beeinflusst (p=0,61). Auch Geschlecht (p=0,78) und Alter und Geschlecht zusammengenommen (p=0,76) hatten wiederum keinen signifikanten Einfluss auf die Ausscheidung der Cortisolmetaboliten. Die Ausscheidungsraten der Cortisolmetaboliten zeigt Abbildung 10, sowie Tabelle 4.

Die Ausscheidungsraten verhielten sich gegensätzlich bei Jungen und Mädchen. Mädchen schieden im Alter von circa acht Jahren die geringste Menge an Cortisolmetaboliten aus, während der Höhepunkt der Exkretion im Alter von etwa 12 Jahren erreicht wurde. Bei Jungen verhielt es sich genau andersherum: Dort wurde eine hohe Ausscheidungsrate mit etwa 8 Jahren registriert, während sich mit 12 Jahren eine niedrige Ausscheidungsrate der Summe der sieben Cortisolmetaboliten fand. Danach stiegen die Werte bei Jungen wiederum an.

Das Verhältnis (Ratio) der Summe der sieben gemessenen Cortisolmetaboliten (Σ Cortisolmetaboliten) zu dem oral verabreichten Hydrocortison findet sich in der Kurve der Abbildung 11. Es lag im Mittel bei 0,61 ± 0,24 und wurde dabei nicht signifikant von Alter (p=0,10), Geschlecht (p=0,55) oder der Interaktion von Alter und Geschlecht (p=0,53) beeinflusst. Der Kurvenverlauf ähnelt dem der Cortisolmetabolitenausscheidung in Abbildung 10, mit dem Unterschied, dass sich das Verhältnis bei Jungen und Mädchen in der Pubertät anglich.

	Urinproben Jungen				Urinproben Mädchen			
Alter (Jh.)	**THE**	**THF**	**5α-THF**	**∑ Cortisolmeta-boliten**	**THE**	**THF**	**5α-THF**	**∑ Cortisolmeta-boliten**
3	3275 ± 0.150	2.896 ± 0.181	2.935 ± 0.201	3.697 ± 0.146	3.323 ± 0.262	2.903 ± 0.251	3.048 ± 0.302	3.738 ± 0.255
4	3.375 ± 0.203	2.949 ± 0.237	3.067 ± 0.209	3.793 ± 0.197	3.434 ± 0.155	2.975 ± 0.181	3.102 ± 0.231	3.842 ± 0.164
5	3.359 ± 0.219	2.945 ± 0.231	2.999 ± 0.265	3.765 ± 0.210	3.509 ± 0.217	3.106 ± 0.186	3.196 ± 0.260	3.926 ± 0.182
6	3.428 ± 0.231	2.983 ± 0.236	3.020 ± 0.271	3.816 ± 0.211	3.428 ± 0.161	3.014 ± 0.184	3.071 ± 0.235	3.835 ± 0.163
7	3.500 ± 0.153	3.073 ± 0.173	3.109 ± 0.191	3.899 ± 0.122	3.423 ± 0.195	2.983 ± 0.206	3.022 ± 0.233	3.818 ± 0.181
8	3.431 ± 0.244	3.040 ± 0.236	3.093 ± 0.277	3.844 ± 0.229	3.416 ± 0.195	3.013 ± 0.245	3.028 ± 0.215	3.819 ± 0.193
9	3.484 ± 0.190	3.103 ± 0.194	3.102 ± 0.221	3.889 ± 0.168	3.425 ± 0.205	3.001 ± 0.219	3.065 ± 0.218	3.829 ± 0.189
10	3.436 ± 0.271	3.086 ± 0.196	3.031 ± 0.242	3.834 ± 0.231	3.505 ± 0.255	3.112 ± 0.264	3.117 ± 0.255	3.913 ± 0.235
11	3.335 ± 0.380	2.891 ± 0.470	2.922 ± 0.423	3.736 ± 0.385	3.431 ± 0.299	3.011 ± 0.302	3.031 ± 0.262	3.826 ± 0.282
12	3.354 ± 0.382	3.006 ± 0.366	3.080 ± 0.357	3.804 ± 0.360	3.504 ± 0.211	3.107 ± 0.247	3.107 ± 0.247	3.907 ± 0.202
13	3.367 ± 0.454	2.996 ± 0.500	3.034 ± 0.527	3.801 ± 0.475	3.445 ± 0.216	3.064 ± 0.234	3.069 ± 0.263	3.864 ± 0.201
14	3.316 ± 0.545	2.959 ± 0.600	3.036 ± 0.650	3.758 ± 0.571	3.349 ± 0.484	2.989 ± 0.511	2.942 ± 0.496	3.770 ± 0.475
15	3.234 ± 0.595	2.900 ± 0.619	3.068 ± 0.450	3.691 ± 0.607	3.148 ± 0.861	2.821 ± 0.794	2.780 ± 0.785	3.581 ± 0.539
16	3.326 ± 0.506	3.037 ± 0.546	3.093 ± 0.493	3.787 ± 0.497	3.107 ± 0.841	2.837 ± 0.714	2.761 ± 0.714	3.560 ± 0.763
17	2.937 ± 0.965	2.690 ± 0.906	2.755 ± 0.954	3.421 ± 0.936	2.913 ± 1.025	2.767 ± 1.022	2.618 ± 0.958	3.427 ± 1.010

Tabelle 4. Logarithmierte Urincortisolmetabolitenexkretion (lg(µg/m2KOF/Tag)) der Kinder mit klassischem AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel (N = 150 Kinder) angegeben als Mittelwert und Standardabweichung. Abkürzungen: THE=Tetrahydrocortisol, THF=Tetrahydrocortison, 5a-THF= 5a-Tetrahydrocortison, Summe der Cortisolmetaboliten (5α-THF, THF, THE, α-Cortol, β-Cortol, α-Cortolon, β-Cortolon).

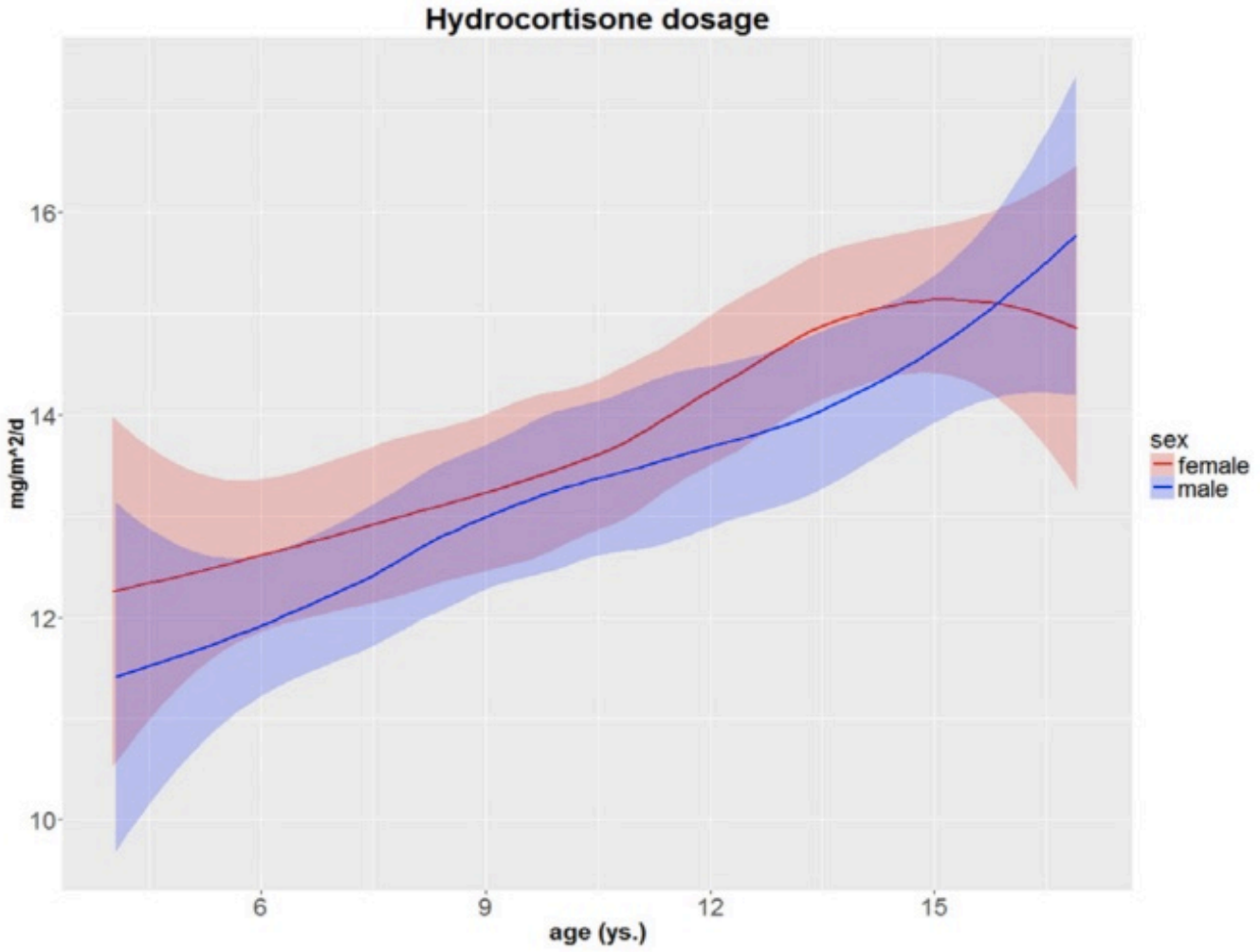


Abbildung 9. Mittlere Hydrocortisondosis (in mg/m²KOF/Tag) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

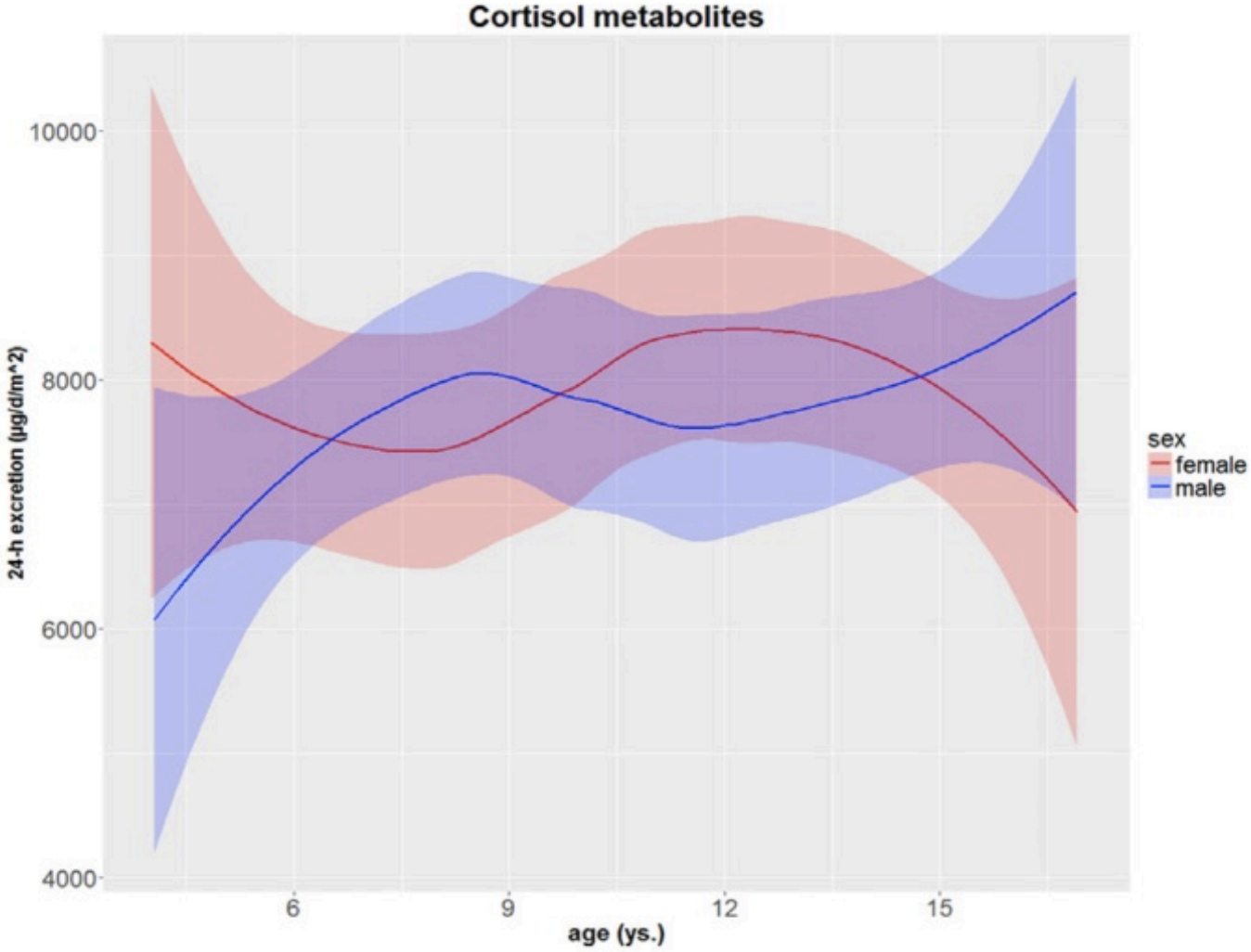


Abbildung 10. Mittlere Cortisolmetabolitenexkretion (in µg/m²KOF/Tag) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

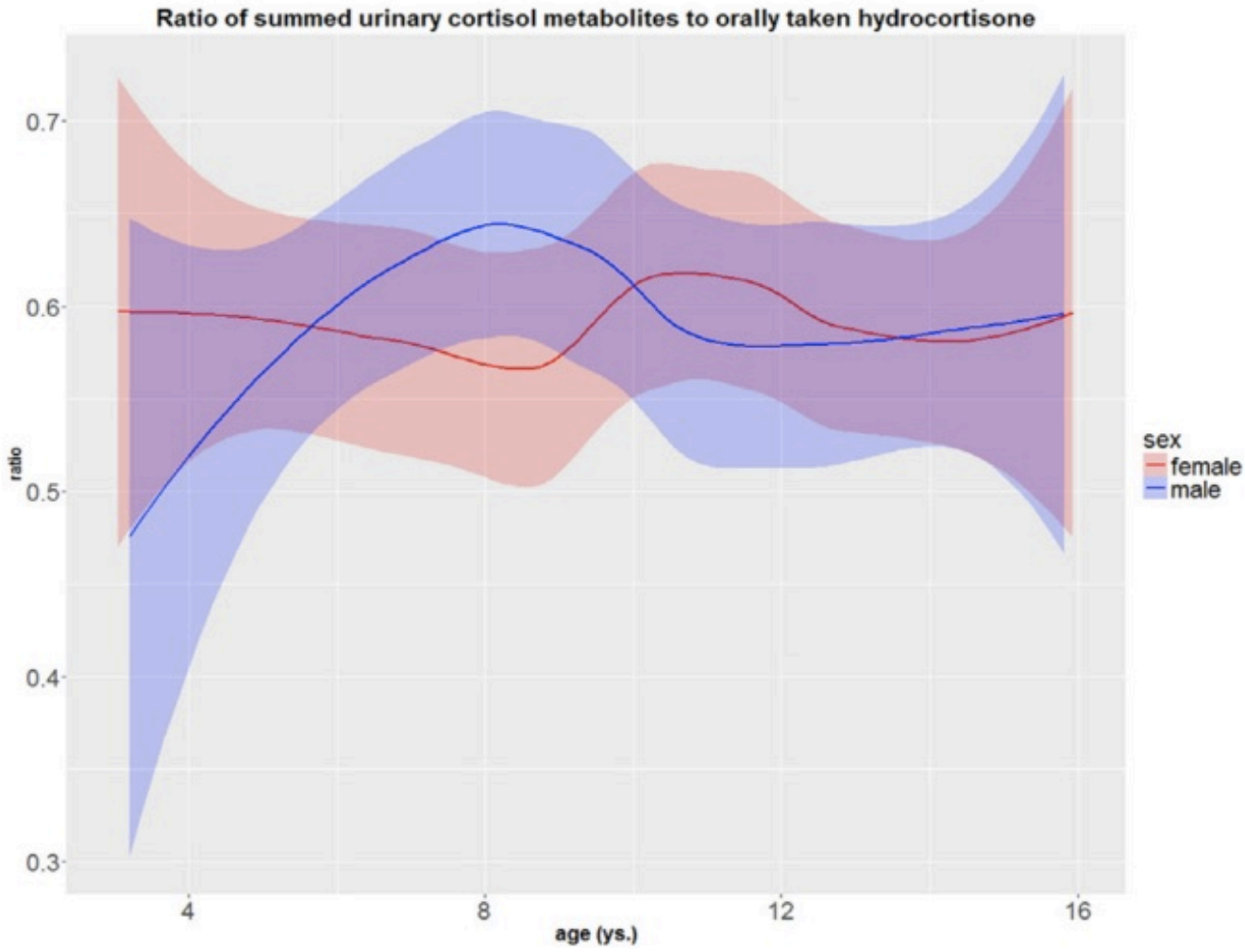


Abbildung 11. Verhältnis (Ratio) der summierten Cortisolmetaboliten zu der verordneten Hydrocortisondosis in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

Im Weiteren untersuchten wir in einem linearen gemischten Model die Korrelation des BMI-SDS-Werts mit den logarithmierten und auf die Körperoberfläche bezogenen Cortisolmetaboliten, mit dem Alter, mit dem Geschlecht und der jeweiligen Interaktion dieser Parameter (Cortisolmetaboliten x Alter, Cortisolmetaboliten x Geschlecht) bei Kindern unter 10 Jahren. Es zeigten sich bei diesen Kindern signifikante Ergebnisse für die Metaboliten, das Alter und ihre Interaktion mit dem BMI-SDS: Die Signifikanz für den Einfluss der Summe der Cortisolmetaboliten auf den BMI-SDS war p=0.0006, die Signifikanz für den Einfluss des Alters auf den BMI-SDS lag bei p=0,0005 und die Signifikanz für den Einfluss der Summe der Cortisolmetaboliten x Alter war p=0,0001. Ohne Signifikanz war der Einfluss des Geschlechts (p=0.75) und der Einfluss der Summe der Cortisolmetaboliten x Geschlecht (p=0,80).

Die Aktivität der 5α-Reduktase (Abbildung 12), und der 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase (Abbildung 13) ähnelte bei der untersuchten Kohorte der von gesunden Kindern nach den Daten von Wudy et al. 2007.

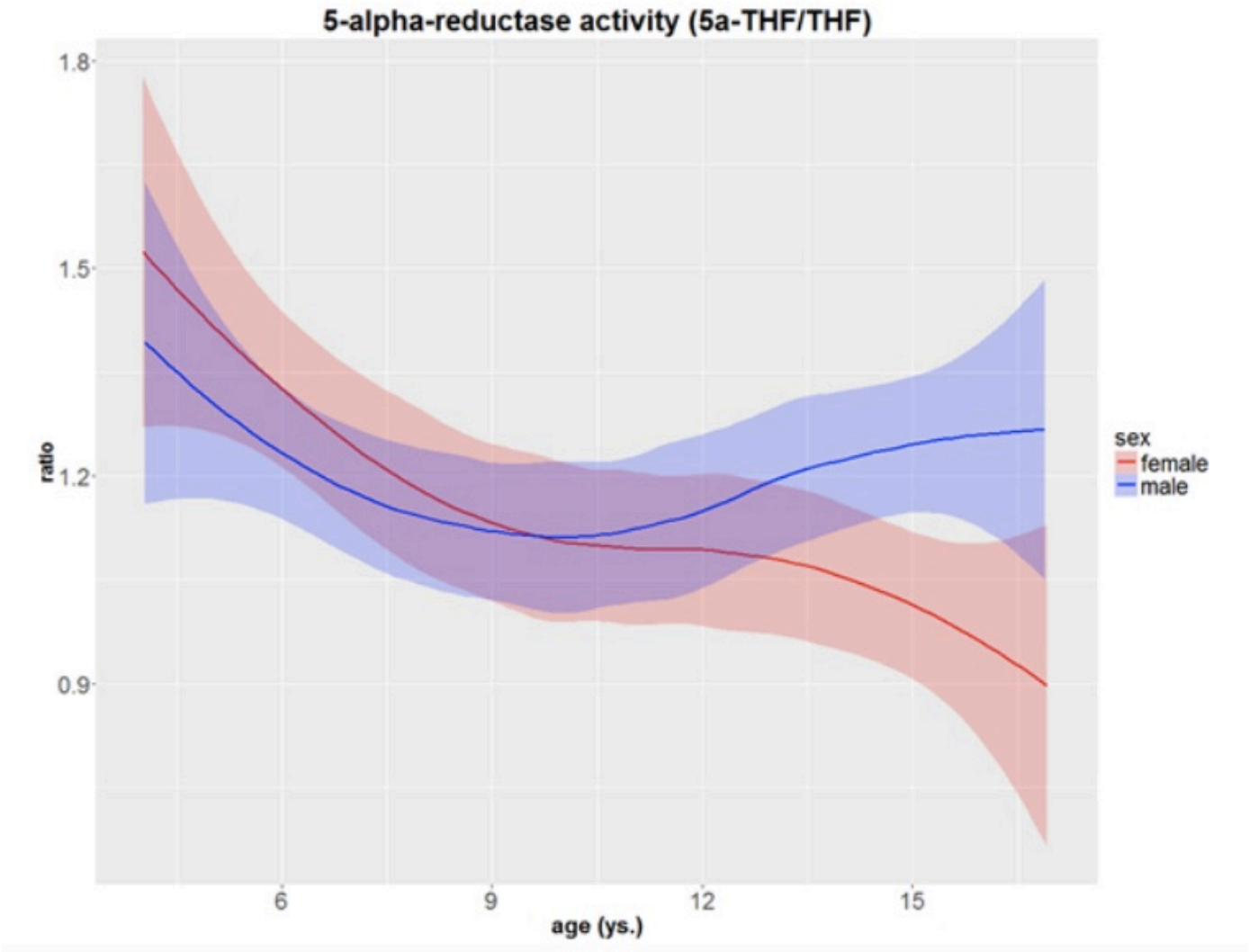


Abbildung 12. 5α-Reduktase-Aktivität (Verhältnis von (5α-THF/THF)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

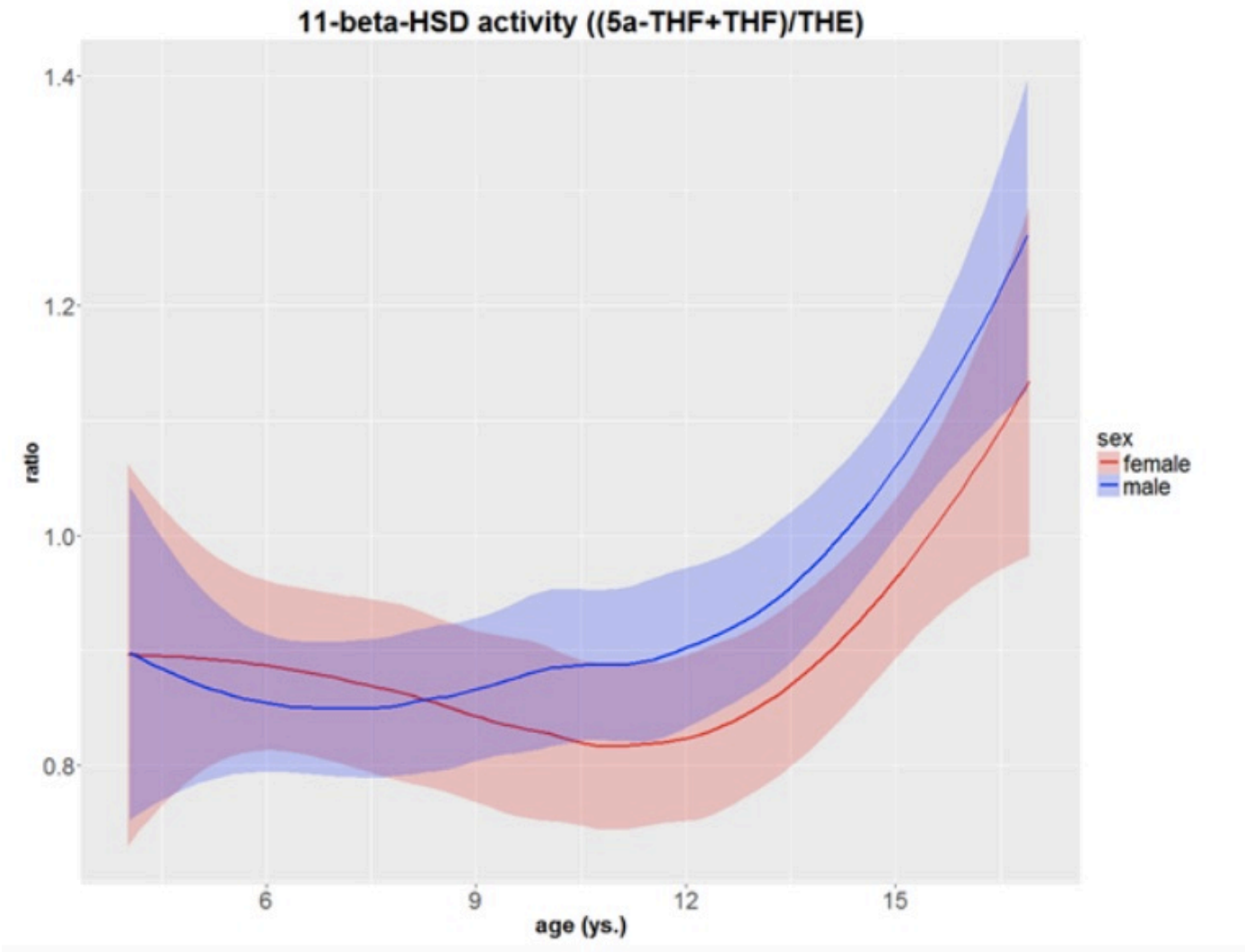


Abbildung 13. 11β-Hydroxysteroiddehydrogenase-Aktivität (Verhältnis von ((5α-THF/THF)/THE)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N=576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

Als nächstes analysierten wir die auf die Körperoberfläche bezogenen Ausscheidungsraten der 17α-Hydroxyprogesteronmetaboliten (Tabelle 5 und Abbildung 14). Bis zu einem Alter von 13 Jahren zeigten sie in beiden Geschlechtern einen Anstieg. Im weiteren Verlauf nahmen sie bei Mädchen ab. Bei Jungen hielt sich die Ausscheidungsrate der 17OHP-Metaboliten in etwa auf dem gleichen Level.

	Urinproben Jungen					Urinproben Mädchen				
Alter (Jh.)	**17HP**	**5α17HP**	**PT**	**PTO**	**∑ 17OHP-Metaboliten**	**17HP**	**5α17HP**	**PT**	**PTO**	**∑ 17OHP-Metaboliten**
3	1.915 ± 0.688	1.223 ± 0.374	2.291 ± 0.682	1.644 ± 0.649	2.589 ± 0.575	2.285 ± 0.637	1.587 ± 0.673	2.765 ± 0.556	2.291 ± 0.699	3.038 ± 0.575
4	2.112 ± 0.612	1.381 ± 0.477	2.666 ± 0.456	1.913 ± 0.615	2.873 ± 0.487	2.456 ± 0.863	1.703 ± 0.826	2.847 ± 0.877	2.320 ± 0.961	3.131 ± 0.847
5	2.400 ± 0.682	1.591 ± 0.638	2.813 ± 0.693	2.225 ± 0.766	3.073 ± 0.674	2.388 ± 0.896	1.664 ± 0.797	2.994 ± 0.725	2.477 ± 0.788	3.241 ± 0.752
6	2.708 ± 0.683	1.848 ± 0.622	3.128 ± 0.613	2.587 ± 0.644	3.395 ± 0.596	2.209 ± 0.797	1.452 ± 0.597	2.760 ± 0.720	1.982 ± 0.772	2.954 ± 0.727
7	2.554 ± 0.805	1.702 ± 0.732	2.929 ± 0.724	2.384 ± 0.79	3.196 ± 0.726	2.388 ± 0.706	1.548 ± 0.525	2.912 ± 0.652	2.291 ± 0.728	3.146 ± 0.637
8	2.383 ± 0.832	1.593 ± 0.691	2.831 ± 0.756	2.245 ± 0.894	3.090 ± 0.760	2.488 ± 0.660	1.567 ± 0.507	2.982 ± 0.535	2.347 ± 0.678	3.214 ± 0.558
9	2.542 ± 0.778	1.677 ± 0.685	3.010 ± 0.625	2.424 ± 0.732	3.251 ± 0.656	2.455 ± 0.627	1.597 ± 0.459	2.948 ± 0.430	2.335 ± 0.580	3.183 ± 0.466
10	2.844 ± 0.806	1.958 ± 0.728	3.808 ± 0.650	2.687 ± 0.902	3.546 ± 0.698	2.476 ± 0.657	1.610 ± 0.588	2.931 ± 0.627	2.410 ± 0.673	3.194 ± 0.604
11	2.608 ± 0.811	1.744 ± 0.742	3.077 ± 0.630	2.438 ± 0.850	3.310 ± 0.690	2.832 ± 0.688	1.922 ± 0.621	3.198 ± 0.697	2.620 ± 0.684	3.455 ± 0.682
12	2.706 ± 0.864	1.905 ± 0.699	3.261 ± 0.597	2.590 ± 0.919	3.392 ± 0.798	2.815 ± 0.604	1.874 ± 0.577	3.239 ± 0.527	2.691 ± 0.663	3.489 ± 0.551
13	2.941 ± 0.829	2.053 ± 0.701	3.356 ± 0.686	2.729 ± 0.867	3.602 ± 0.718	2.879 ± 0.735	2.053 ± 0.667	3.347 ± 0.593	2.680 ± 0.836	3.574 ± 0.641
14	3.077 ± 0.817	2.248 ± 0.734	3.425 ± 0.605	2.748 ± 0.809	3.687 ± 0.662	2.787 ± 0.745	1.822 ± 0.664	3.160 ± 0.586	2.536 ± 0.856	3.420 ± 0.635
15	2.736 ± 0.868	1.917 ± 0.781	3.175 ± 0.623	2.507 ± 0.885	3.432 ± 0.692	2.845 ± 0.858	1.874 ± 0.745	3.200 ± 0.687	2.519 ± 0.937	3.463 ± 0.728
16	3.013 ± 0.784	2.081 ± 0.684	3.363 ± 0.631	2.683 ± 0.735	3.619 ± 0.668	2.674 ± 1.001	1.732 ± 0.921	3.069 ± 0.807	2.470 ± 0.886	3.322 ± 0.853
17	2.702 ± 0.716	1.861 ± 0.609	3.067 ± 0.924	2.386 ± 0.955	3.348 ± 0.772	2.202 ± 0.912	1.463 ± 0.736	2.753 ± 0.662	2.144 ± 0.844	2.978 ± 0.720

Tabelle 5. Logarithmierte 17α-Hydroxyprogesteronmetabolitenexkretion (in lg(µg/m²KOF/Tag)) der Kinder mit klassischem AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel (N = 150 Kinder) angegeben als Mittelwert und Standardabweichung. Abkürzungen: 17HP= 17α-Hydroxypregnanolon, 5α17HP= 17α-Hydroxyallopregnanolon, PT= Pregnantriol, PTO= Pregnantriolon, Σ 17OHP-Metaboliten= Summe der 17OHP-Metaboliten (17HP, 5α17HP, PT, PTO).

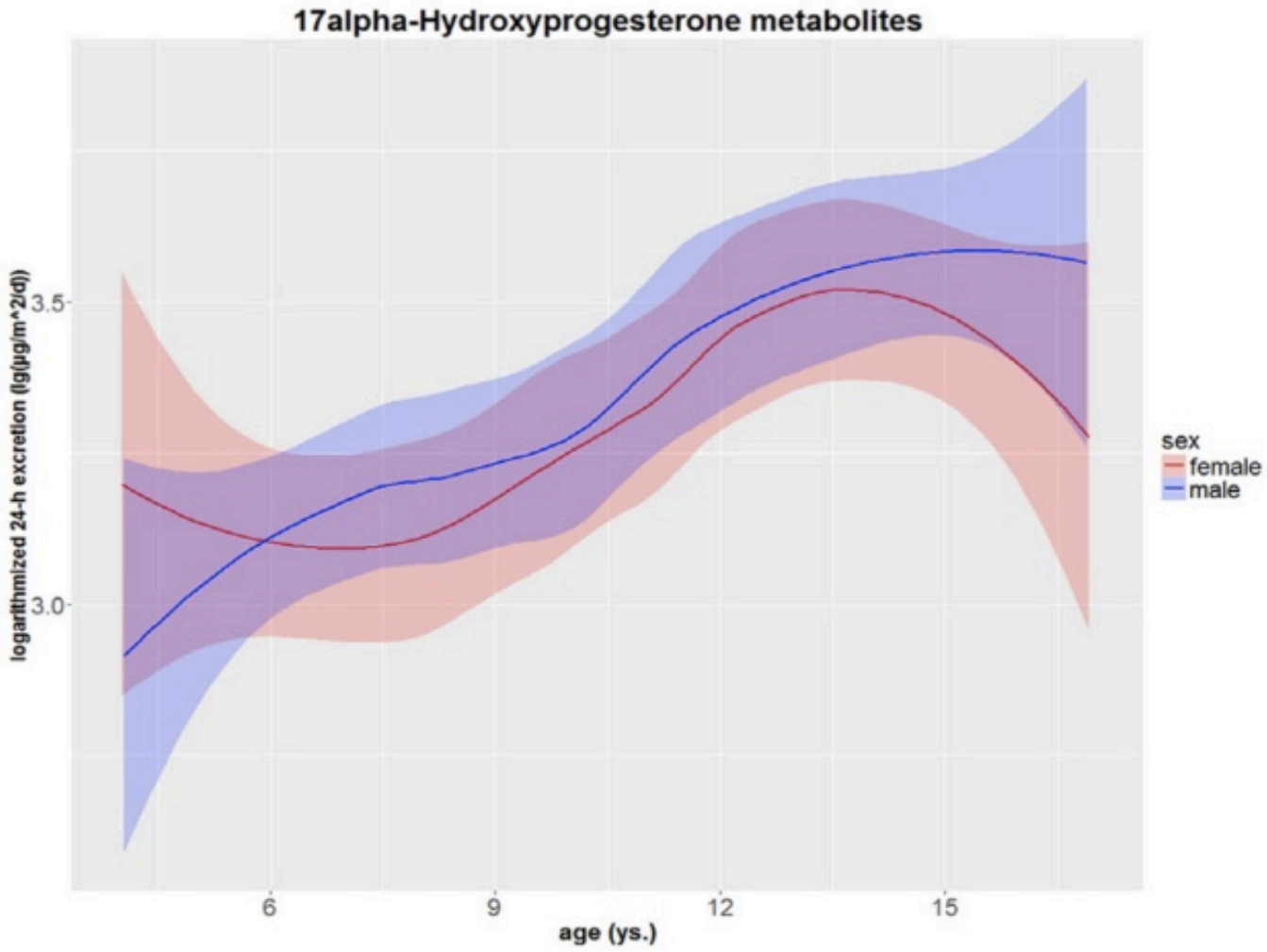


Abbildung 14. Mittlere auf die Körperoberfläche bezogenen und logarithmierten 24-Stunden-Exkretion der summierten 17α-Hydroxyprogesteronmetaboliten (in lg(µg/m²KOF/Tag)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

Bei der Analyse der Androgenmetaboliten (Tabelle 6, Abbildungen 15-19) in der untersuchten AGS-Kohorte zeigte sich, dass 11β-Hydroxyandrosteron der dominierende Androgenmetabolit war. Der Kurvenverlauf dieses Metaboliten ist in Abbildung 15 dargestellt. Bei beiden Geschlechtern kommt es mit zunehmendem Alter zu einem Anstieg der Metabolitenausscheidung mit einem Maximum von 13 Jahren bei Mädchen und 14 Jahren bei Jungen. Danach fallen die Werte ab.

In Abbildung 16 ist der Verlauf der mittleren auf die Körperoberfläche bezogenen und logarithmierten 24-Stunden-Ausscheidung der summierten DHEA-Metaboliten dargestellt. Bei beiden Geschlechtern steigt die Exkretionsrate ab ca. 9 Jahren deutlich an und findet ihr Maximum mit ca. 15 Jahren. Ab ca. 9 Jahre kommt es bei den Jungen zu einem starken Anstieg der Ausscheidung der Summe der DHEA-Metaboliten, während der Anstieg der Ausscheidungsmengen bei den Mädchen im Vergleich geringer ausfällt. Bis zum ca. 9. Lebensjahr findet sich bei beiden Geschlechtern ein etwa identischer Anstieg der Ausscheidungsmenge.

In den Abbildungen 17 und 18 sind die Verläufe der mittleren auf die Körperoberfläche bezogenen und logarithmierten 24-Stunden-Ausscheidungen von Androsteron und Etiocholanolon dargestellt. Die Kurvenverläufe beider Metaboliten sind nahezu identisch: Es findet sich ein Anstieg sowohl bei Androsteron, als auch bei Etiocholanolon bei Jungen und Mädchen bis ca. 11 Jahre. Danach kommt es bei Jungen bei beiden Metaboliten zu einem etwas ausgeprägteren Anstieg der Exkretion mit Maximum um das 16. Lebensjahr, während das Maximum der Exkretion etwas weniger ausgeprägt bei Mädchen bei ca. 14 Jahren liegt.

Zusätzlich ist in Abbildung 19 die Summe der auf die mittleren Körperoberflächen bezogenen und logarithmierten 24-Stunden-Auscheidungen der Androgenmetaboliten abgebildet. Es findet sich ein ähnliches Bild, wie bei Androstendion und Etiocholanolon. Die auf die Körperoberfläche berechnete summierte Androgenexkretion stieg progredient bei Jungen und Mädchen bis zu einem Alter von etwa 10 bis 11 Jahren, danach stieg die Ausscheidung bei Jungen deutlicher an als bei Mädchen. Das Maximum lag bei Jungen bei ca. 16 Jahren, bei den Mädchen lag das Maximum der Körperoberflächenadjustierten und logarithmierten Exkretion bei ca. 14 Jahren.

	Urinproben Jungen						Urinproben Mädchen					
Alter (Jh.)	**AN**	**ET**	**AN & ET**	**11OHAN**	**∑ DHEA-Metaboliten**	**∑ Androgenmetaboliten**	**AN**	**ET**	**AN & ET**	**11OHAN**	**∑ DHEA-Metaboliten**	**∑ Androgenmetaboliten**
3	1.131 ± 0.601	1.116 ± 0.582	1.425 ± 0.592	1.998 ± 0.440	1.619 ± 0.196	2.314 ± 0.281	1.470 ± 0.682	1.440 ± 0.616	1.764 ± 0.645	2.114 ± 0.651	1.527 ± 0.185	2.438 ± 0.464
4	1.294 ± 0.805	1.229 ± 0.749	1.565 ± 0.780	2.259 ± 0.403	1.587 ± 0.458	2.489 ± 0.424	1.565 ± 0.684	1.570 ± 0.595	1.881 ± 0.634	2.296 ± 0.649	1.456 ± 0.231	2.557 ± 0.481
5	1.579 ± 0.652	1.522 ± 0.617	1.855 ± 0.634	2.224 ± 0.507	1.490 ± 0.263	2.499 ± 0.414	1.629 ± 0.701	1.581 ± 0.640	1.910 ± 0.671	2.418 ± 0.601	1.707 ± 0.350	2.647 ± 0.517
6	1.791 ± 0.733	1.706 ± 0.687	2.054 ± 0.712	2.565 ± 0.324	1.444 ± 0.256	2.747 ± 0.344	1.410 ± 0.744	1.368 ± 0.700	1.696 ± 0.721	2.169 ± 0.628	1.530 ± 0.188	2.475 ± 0.448
7	1.587 ± 0.845	1.512 ± 0.776	1.856 ± 0.814	2.485 ± 0.534	1.547 ± 0.275	2.686 ± 0.468	1.644 ± 0.717	1.612 ± 0.670	1.933 ± 0.693	2.367 ± 0.417	1.487 ± 0.207	2.601 ± 0.387
8	1.666 ± 0.722	1.628 ± 0.691	1.954 ± 0.709	2.414 ± 0.550	1.513 ± 0.290	2.648 ± 0.471	1.779 ± 0.593	1.713 ± 0.566	2.049 ± 0.580	2.504 ± 0.299	1.518 ± 0.212	2.694 ± 0.313
9	1.834 ± 0.666	1.780 ± 0.595	2.124 ± 0.630	2.452 ± 0.529	1.588 ± 0.394	2.714 ± 0.450	1.935 ± 0.572	1.830 ± 0.540	2.190 ± 0.556	2.523 ± 0.251	1.610 ± 0.214	2.772 ± 0.240
10	2.059 ± 0.769	1.996 ± 0.725	2.341 ± 0.752	2.690 ± 0.489	1.715 ± 0.409	2.938 ± 0.463	1.837 ± 0.688	1.766 ± 0.617	2.108 ± 0.656	2.561 ± 0.401	1.692 ± 0.298	2.795 ± 0.360
11	2.088 ± 0.522	2.043 ± 0.503	2.382 ± 0.513	2.500 ± 0.548	1.669 ± 0.448	2.849 ± 0.428	2.052 ± 0.591	1.937 ± 0.530	2.304 ± 0.565	2.594 ± 0.566	1.569 ± 0.303	2.838 ± 0.474
12	2.410 ± 0.563	2.299 ± 0.585	2.669 ± 0.575	2.727 ± 0.627	2.051 ± 0.397	3.123 ± 0.465	2.381 ± 0.345	2.278 ± 0.298	2.639 ± 0.319	2.628 ± 0.432	1.750 ± 0.262	2.980 ± 0.335
13	2.583 ± 0.396	2.460 ± 0.378	2.833 ± 0.388	2.818 ± 0.597	2.066 ± 0.348	3.207 ± 0.445	2.445 ± 0.386	2.301 ± 0.299	2.687 ± 0.348	2.732 ± 0.475	1.753 ± 0.189	3.057 ± 0.372
14	2.788 ± 0.339	2.583 ± 0.287	3.006 ± 0.313	2.960 ± 0.518	2.188 ± 0.322	3.363 ± 0.352	2.434 ± 0.343	2.347 ± 0.326	2.700 ± 0.328	2.570 ± 0.572	1.785 ± 0.420	3.013 ± 0.371
15	2.783 ± 0.382	2.617 ± 0.315	3.015 ± 0.352	2.730 ± 0.565	2.151 ± 0.320	3.277 ± 0.407	2.436 ± 0.661	2.373 ± 0.643	2.710 ± 0.652	2.578 ± 0.710	1.818 ± 0.390	3.070 ± 0.454
16	2.652 ± 0.627	2.554 ± 0.654	2.913 ± 0.636	2.792 ± 0.621	2.092 ± 0.384	3.275 ± 0.460	2.340 ± 0.604	2.302 ± 0.601	2.628 ± 0.601	2.401 ± 0.764	1.643 ± 0.357	2.908 ± 0.577
17	2.550 ± 0.734	2.390 ± 0.669	2.781 ± 0.705	2.680 ± 0.499	2.060 ± 0.446	3.126 ± 0.479	2.105 ± 0.474	2.004 ± 0.444	2.360 ± 0.460	2.128 ± 0.771	1.667 ± 0.204	2.708 ± 0.399

Tabelle 6. Logarithmierte Androgenmetabolitenexkretion (in (lg(µg/m2KOF/Tag)) der Kinder mit klassischem AGS bei 21-Hydroxylase-Mangel (N = 150 Kinder) angegeben als Mittelwert und Standardabweichung. Abkürzungen: AN = Androsteron, ET = Etiocholanolon, 11OHAN = 11β-Hydroxyandrosteron, DHEA = Dehydroepiandrosteron, Σ Androgenmetaboliten = Summe der Androgenmetaboliten (AN, ET, 11OHAN, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 16α- Androstentriol), ΣDHEA-Metaboliten = Summe der DHEA-Metaboliten (17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 16α- Androstentriol).

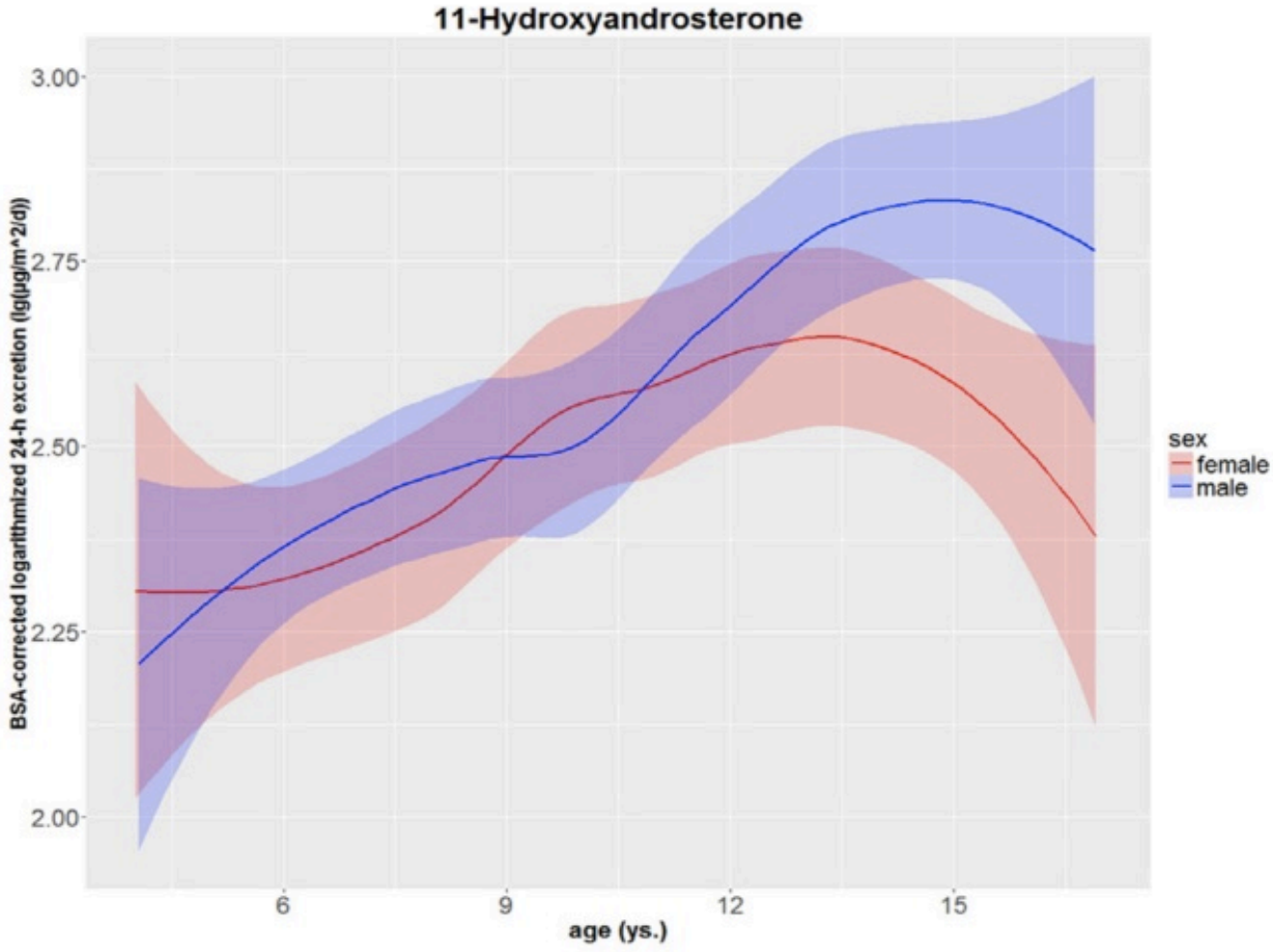


Abbildung 15. Mittlere auf die Körperoberfläche bezogene und logarithmierte 24-Stunden-Exkretion von 11β-Hydroxyandrosteron (in lg(µg/m²KOF/Tag)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

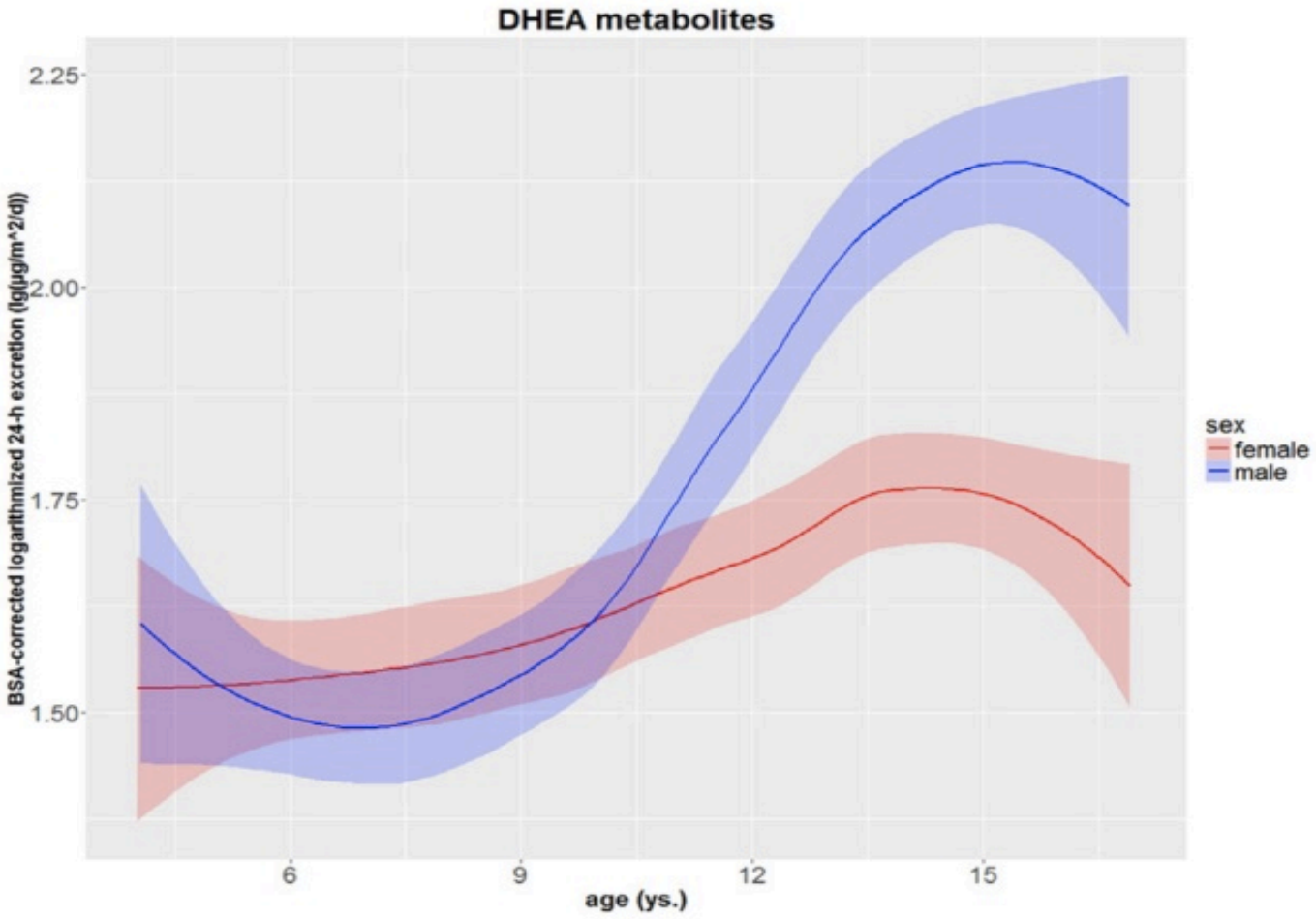


Abbildung 16. Mittlere auf die Körperoberfläche bezogene und logarithmierte 24-Stunden-Exkretion der summierten DHEA-Metaboliten (in lg(µg/m²KOF/Tag)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen). Summe der DHEA-Metaboliten = 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 16α- Androstentriol

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

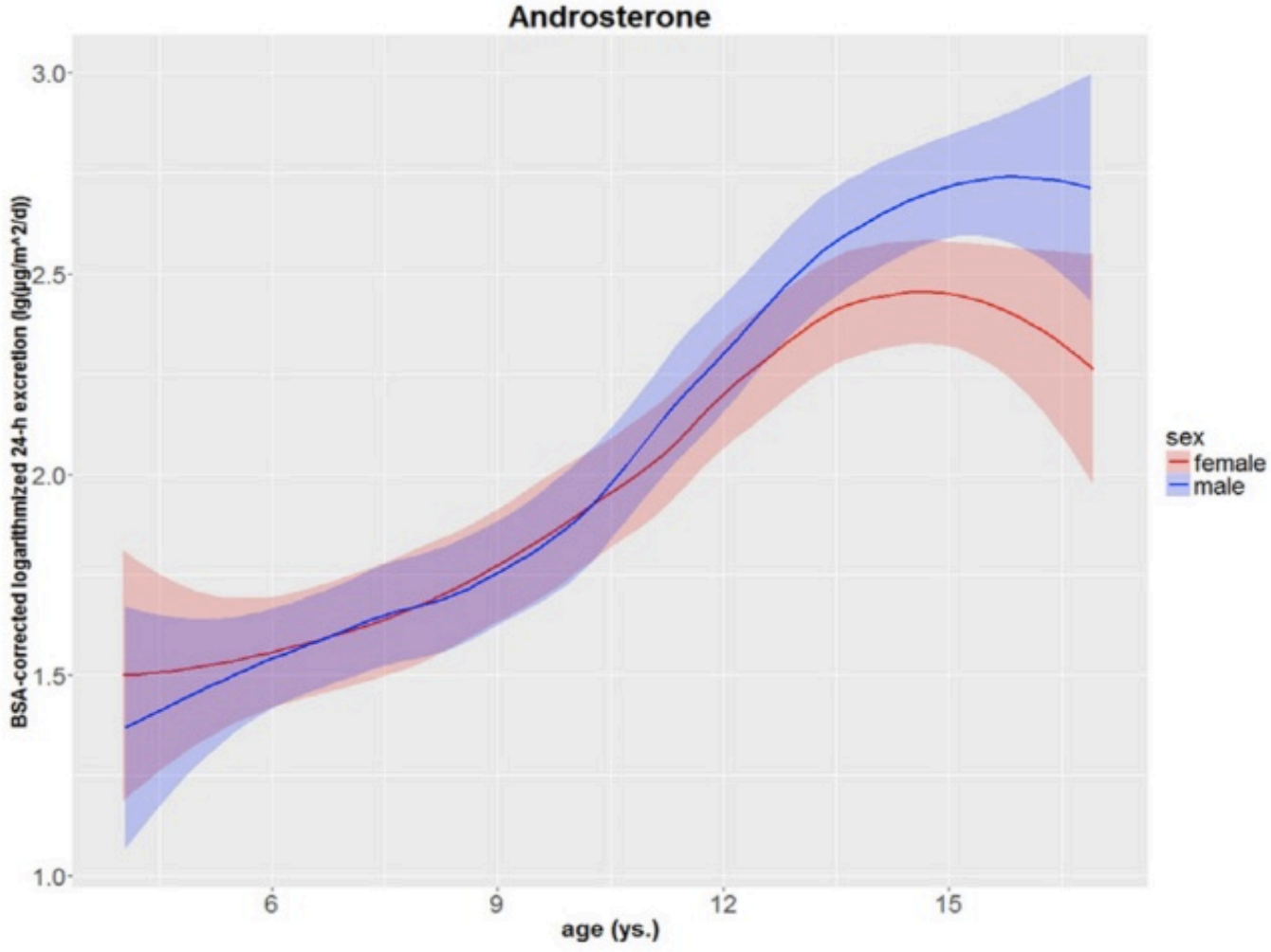


Abbildung 17. Mittlere auf die Körperoberfläche bezogene und logarithmierte 24-Stunden-Exkretion von Androsteron (in lg(µg/m²KOF/Tag)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

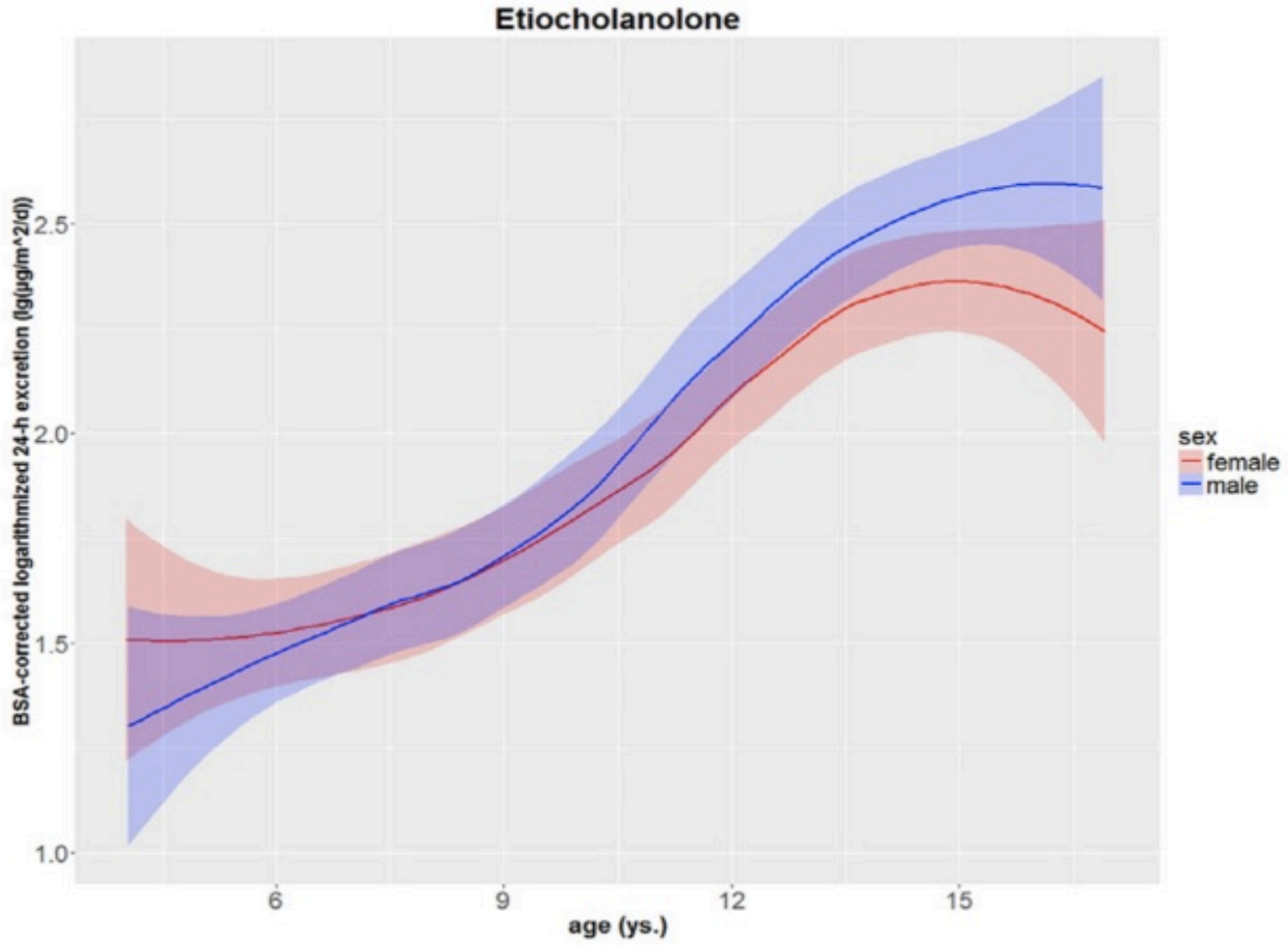


Abbildung 18. Mittlere auf die Körperoberfläche bezogene und logarithmierte 24-Stunden-Exkretion von Etiocholanolon (in lg(µg/m²KOF/Tag)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen).

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

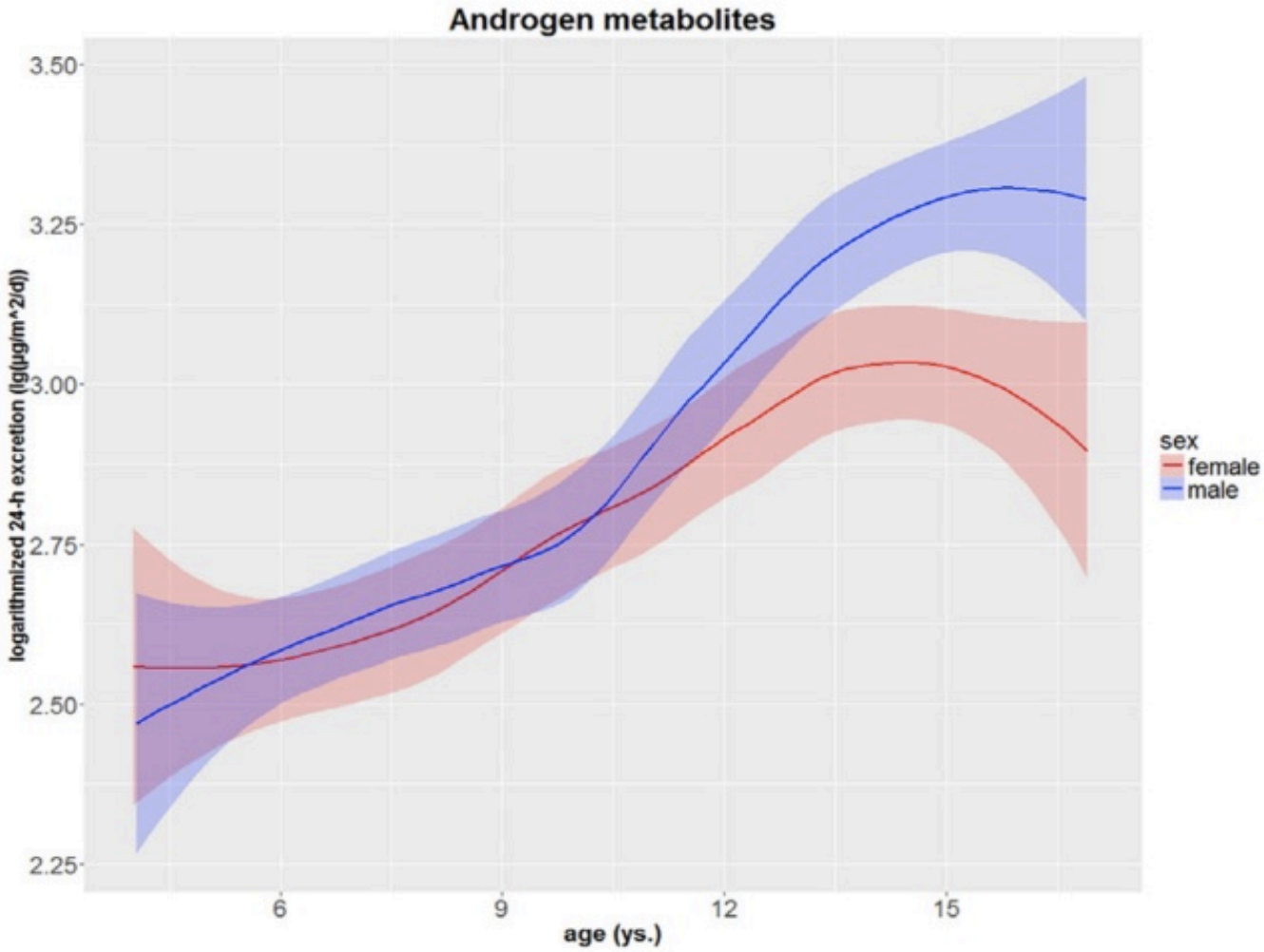


Abbildung 19. Mittlere auf die Körperoberfläche bezogene und logarithmierte 24-Stunden-Exkretion der summierten Androgenmetaboliten (in lg(µg/m²KOF/Tag)) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 576 Harnsteroidprofile von 150 Kindern, 317 Harnsteroidprofile von Jungen und 259 Harnsteroidprofile von Mädchen). Summe der Androgenmetaboliten = Androsteron, Etiocholanolon, 11β-Hydroxyandrosteron, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, Dehydroepiandrosteron (DHEA), 16α-Hydroxy-DHEA, 16α- Androstentriol.

Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

Zusätzlich sind in Abbildung 20 die mittleren logarithmierten 24-Stunden-Extretionen der Androgenmetaboliten als absolute Werte (in lg(µg/Tag)) dargestellt, um die hohen Exkretionswerte zu veranschaulichen und diese mit den Werten gesunder Kinder vergleichen zu können.

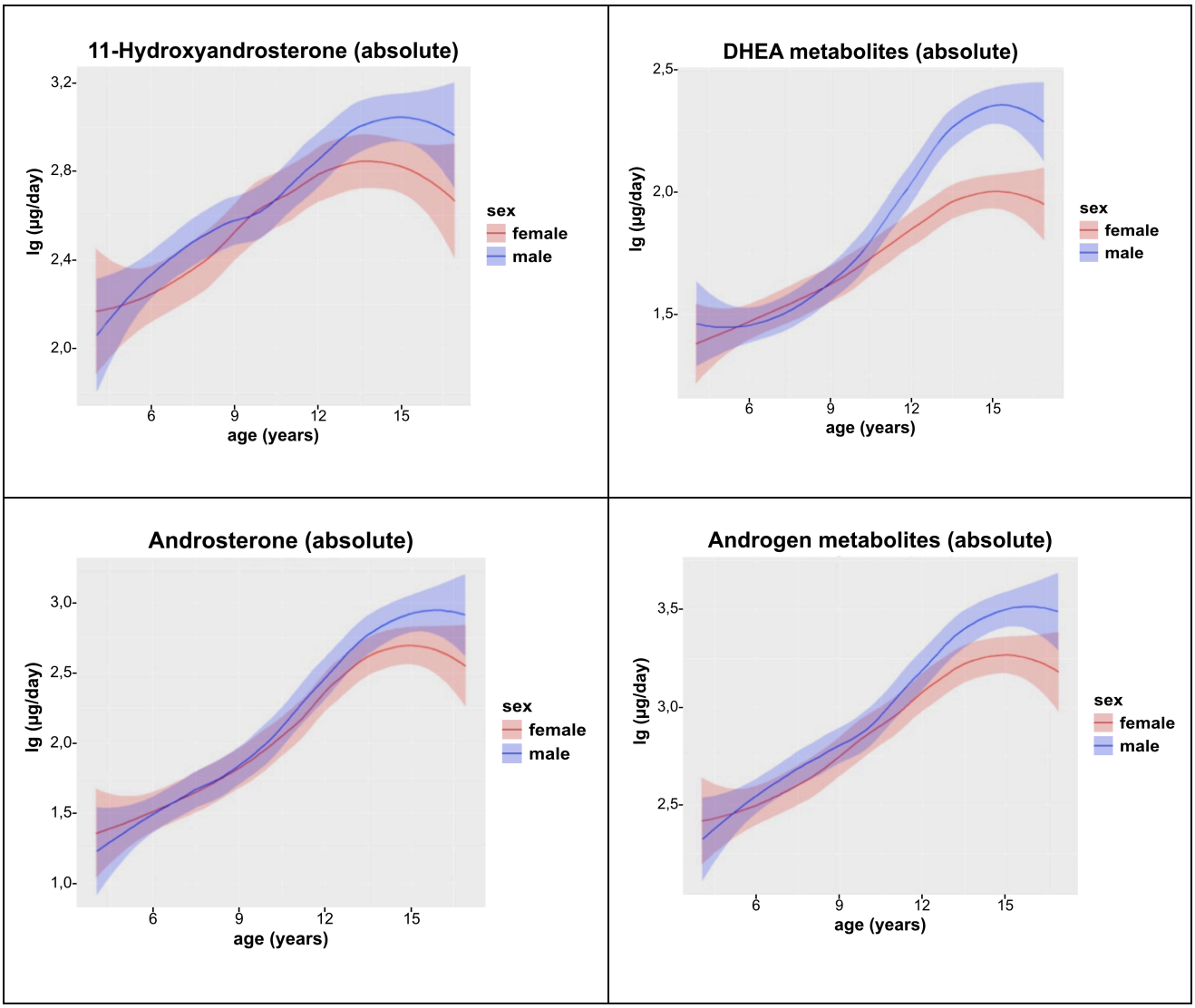


Abbildung 20. Mittlere logarithmierte absolute Werte der Androgenmetaboliten (11β-Hydroxyandrosteron, Summe der DHEA-Metaboliten (17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 16α- Androstentriol), Androsteron, Summe der Androgenmetaboliten (AN, ET, 11OHAN, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 16α- Androstentriol)) in lg(µg/Tag) in Abhängigkeit des Alters (in Jahren) bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison (N = 150 Kinder). Der Kurvenverlauf der Jungen ist in blau dargestellt, der Kurvenverlauf der Mädchen in rot. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die Schattenbereiche füllen das 95% Intervall des Mittelwerts aus.

4.2 STUDIENTEIL II

Im zweiten Studienabschnitt wurden zusätzlich zu den Z-Scores (SDS-Werten) der Körperhöhe und des BMI aus Studienteil I Z-Scores der Harnsteroidmetaboliten erstellt. Die neue Kohorte bestand aus 99 Patienten (56 Jungen und 43 Mädchen) zwischen 3,0 und 10,9 Jahren. Es wurden 190 Harnsteroidprofile analysiert. 112 Harnsteroidprofile waren von Jungen, 78 von Mädchen.

Von sieben Kindern wurden jeweils vier Proben verwendet, von 17 Kindern jeweils drei, von 36 Kindern jeweils zwei Proben und von 36 Kindern jeweils eine Probe. Die Kohorte wurde zunächst in vier Altersgruppen eingeteilt: Altersgruppe 3-4 Jahre, 5-6 Jahre, 7-8 Jahre und 9-10 Jahre.

Im ersten Abschnitt wurden wiederum die Z-Scores für Körperhöhe (Größe) und BMI der Kohorte berechnet. Die Werte sind in Tabelle 7 und 8 auf folgender Seite dargestellt. Die mittleren Körperhöhen-Z-Scores waren bei beiden Geschlechtern in der ersten Altersgruppe (3–4 Jahre) noch negativ, in den Altersgruppen 5–10 Jahre allerdings positiv. Die mittleren BMI-Z-Scores waren durchweg positiv in unserer Kohorte.

Altersgruppe in Jahren (MW ± SD)	N	Hydrocortisondosis (mg/m²/d)	Größe (cm)	Größe Z-Score	Gewicht (kg)	BMI (kg/m²)	BMI Z-Score
3-4 (4.2 ± 0.5)	19	11.4 ± 2.2	105.5 ± 7.8	-0.06 ± 1.44	18.8 ± 3.9	16.7 ± 1.6	0.65 ± 1.16
5-6 (6.0 ± 0.5)	31	11.8 ± 2.2	120.3 ± 7.2	0.40 ± 1.37	25.7 ± 6.2	17.5 ± 2.5	0.84 ± 1.03
7-8 (8.0 ± 0.5)	32	12.7 ± 2.5	133.5 ± 6.1	0.42 ± 0.95	33.7 ± 6.3	18.7 ± 2.6	0.86 ± 0.80
9-10 (9.8 ± 0.5)	30	13.3 ± 4.1	143.2 ± 7.4	0.33 ± 1.01	41.5 ± 8.3	20.1 ± 2.9	0.76 ± 0.71

Tabelle 7. Alter und Wachstumsdaten sowie Hydrocortisondosis bei Jungen mit 21-OHD.

Altersgruppe in Jahren (MW ± SD)	N	Hydrocortisondosis (mg/m²/d)	Größe (cm)	Größe Z-Score	Gewicht (kg)	BMI (kg/m²)	BMI Z-Score
3-4 (3.9 ± 0.5)	17	11.6 ± 1.8	102.5 ± 8.3	-0.10 ± 1.37	17.4 ± 3.7	16.6 ± 2.6	0.34 ± 1.50
5-6 (6.0 ± 0.5)	19	12.7 ± 1.9	118.0 ± 7.8	0.16 ± 1.35	24.7 ± 6.5	17.5 ± 2.9	0.75 ± 1.26
7-8 (7.9 ± 0.5)	19	12.3 ± 2.7	130.0 ± 7.9	0.15 ± 1.26	30.1 ± 7.8	17.6 ± 2.7	0.37 ± 1.14
9-10 (10.1 ± 0.4)	23	14.4 ± 3.4	142.2 ± 7.7	0.03 ± 1.19	40.8 ± 9.9	19.9 ± 3.2	0.61 ± 0.86

Tabelle 8. Alter und Wachstumsdaten sowie Hydrocortisondosis bei Mädchen mit 21-OHD.

Tabelle 7 und 8 zeigen die verschriebene Hydrocortisondosis, Größe, Größen-Z-Scores, Gewicht, BMI und BMI-Z-Scores bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison. N = Anzahl der Harnsteroidprofile von insgesamt 99 Patienten (56 Jungen und 43 Mädchen).

Im Anschluss wurden die Z-Scores der Metaboliten (als Median, Minimum, Maximum mit Range, 1. und 3. Quartil) erstellt und zwischen den Geschlechtern verglichen.

Auf den folgenden Seiten stellen Abbildungen 21–24 die Z-Scores als Balkendiagramme (Boxplots) mittels Median, Minimum, Maximum, der Range, sowie erstem und drittem Quartil dar. Es sind zudem die signifikanten Unterschiede der Harnsteroide in den vier Altersgruppen wiedergegeben. Jedes Diagramm zeigt eine Altersgruppe. Die Z-Scores der Harnsteroidexkretion bei Mädchen sind in rot und bei Jungen in blau abgebildet. Sie sind auf der y-Achse eingezeichnet; dabei dient die Nulllinie zur Orientierung des Z-Scores Null. Die horizontalen Linien in den farbig ausgefüllten Kästen zeigen die Mediane, die Kästen die Quartile (1. und 3. Quartil). Die vertikalen Linien bilden die Range der Werte ab. Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die Klammern zeigen die jeweiligen Unterschiede der p-Werte von den auf der x-Achse genannten Metaboliten zwischen den Geschlechtern (Klammern von rot zu blau) oder untereinander bei nur einem Geschlecht (Klammern zwischen gleicher Farbe) an.

Als 17OHP-Metaboliten gelten 17α-Hydroxypregnanolon und 17α-Hydroxyallopregnanolon. Als DHEA-Metaboliten sind DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol und 16α-Androstentriol zusammengefasst. Die Cortisolmetaboliten beinhalten Tetrahydroocortisol, 5α-Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison, α-Cortol, β-Cortol, α-Cortolon, β-Cortolon. AN = Androsteron, 11OHAN = 11β-Hydroxyandrosteron.

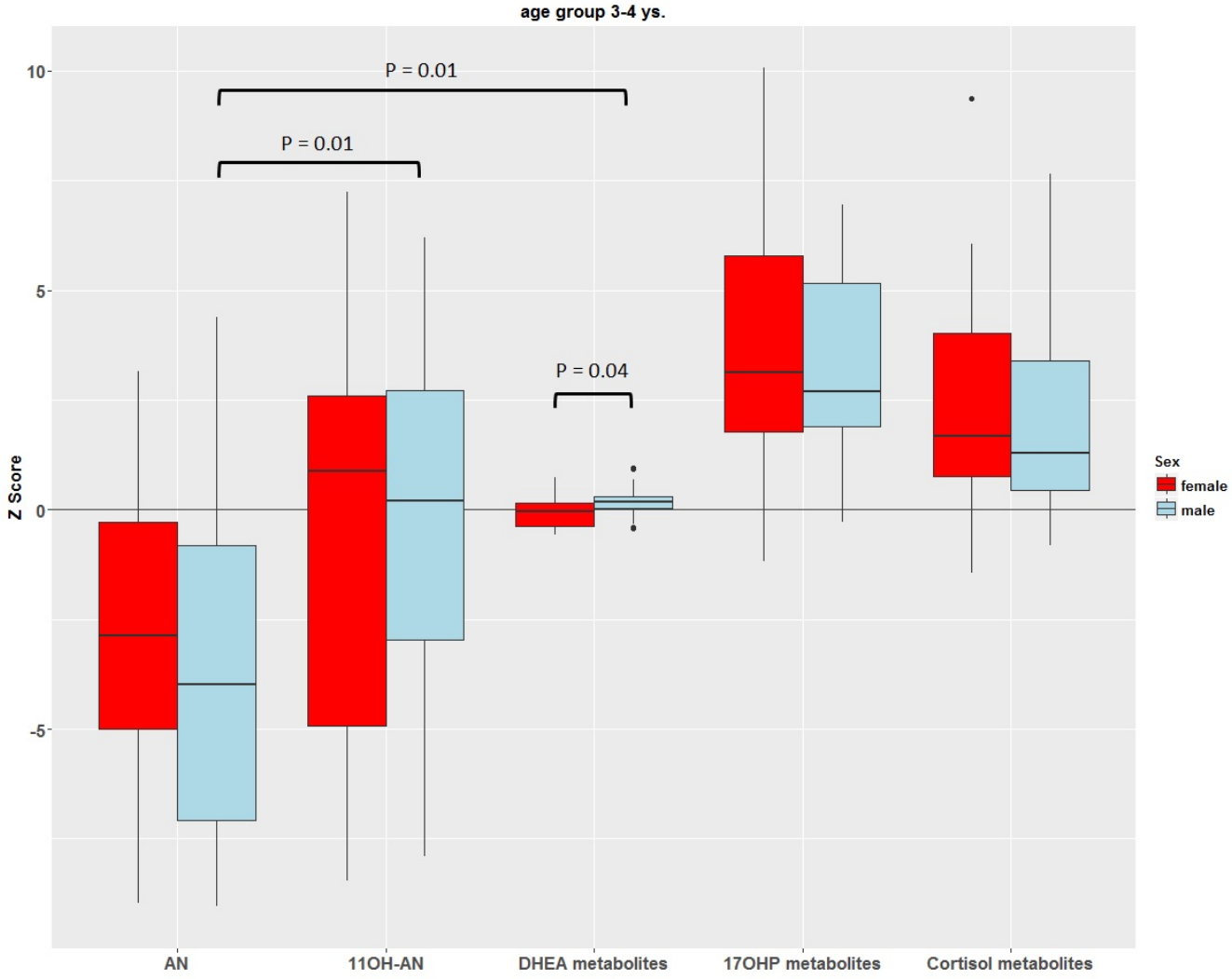


Abbildung 21. Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 3–4 Jahre mit den signifikanten Unterschiede bei Jungen und Mädchen mit 21-OHD.

Die Balken der Z-Scores der Harnsteroidexkretion bei Mädchen sind in rot und bei Jungen in blau abgebildet. Sie sind auf der y-Achse eingezeichnet; dabei dient die Nulllinie zur Orientierung des Z-Scores Null. Die horizontalen Linien in den farbig ausgefüllten Kästen zeigen die Mediane, die Kästen die Quartile (1. und 3. Quartil). Die vertikalen Linien bilden die Range der Werte ab. Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die Klammern zeigen die jeweiligen Unterschiede der p-Werte von den auf der x-Achse genannten Metaboliten zwischen den Geschlechtern (Klammern von rot zu blau) oder untereinander bei nur einem Geschlecht (Klammern zwischen gleicher Farbe) an.

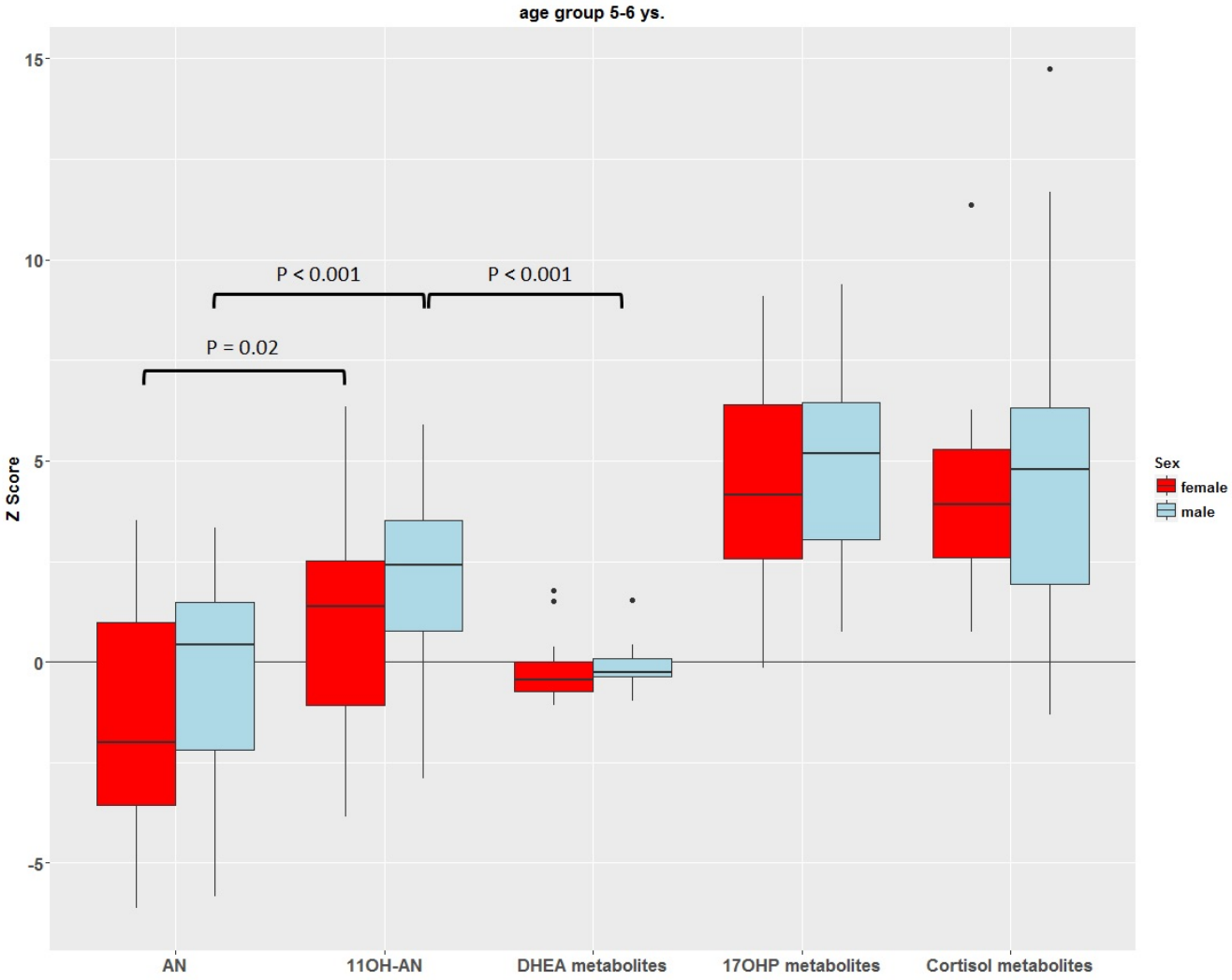


Abbildung 22. Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 5–6 Jahre mit den signifikanten Unterschiede bei Jungen und Mädchen mit 21-OHD.

Die Balken der Z-Scores der Harnsteroidexkretion bei Mädchen sind in rot und bei Jungen in blau abgebildet. Sie sind auf der y-Achse eingezeichnet; dabei dient die Nulllinie zur Orientierung des Z-Scores Null. Die horizontalen Linien in den farbig ausgefüllten Kästen zeigen die Mediane, die Kästen die Quartile (1. und 3. Quartil). Die vertikalen Linien bilden die Range der Werte ab. Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die Klammern zeigen die jeweiligen Unterschiede der p-Werte von den auf der x-Achse genannten Metaboliten zwischen den Geschlechtern (Klammern von rot zu blau) oder untereinander bei nur einem Geschlecht (Klammern zwischen gleicher Farbe) an.

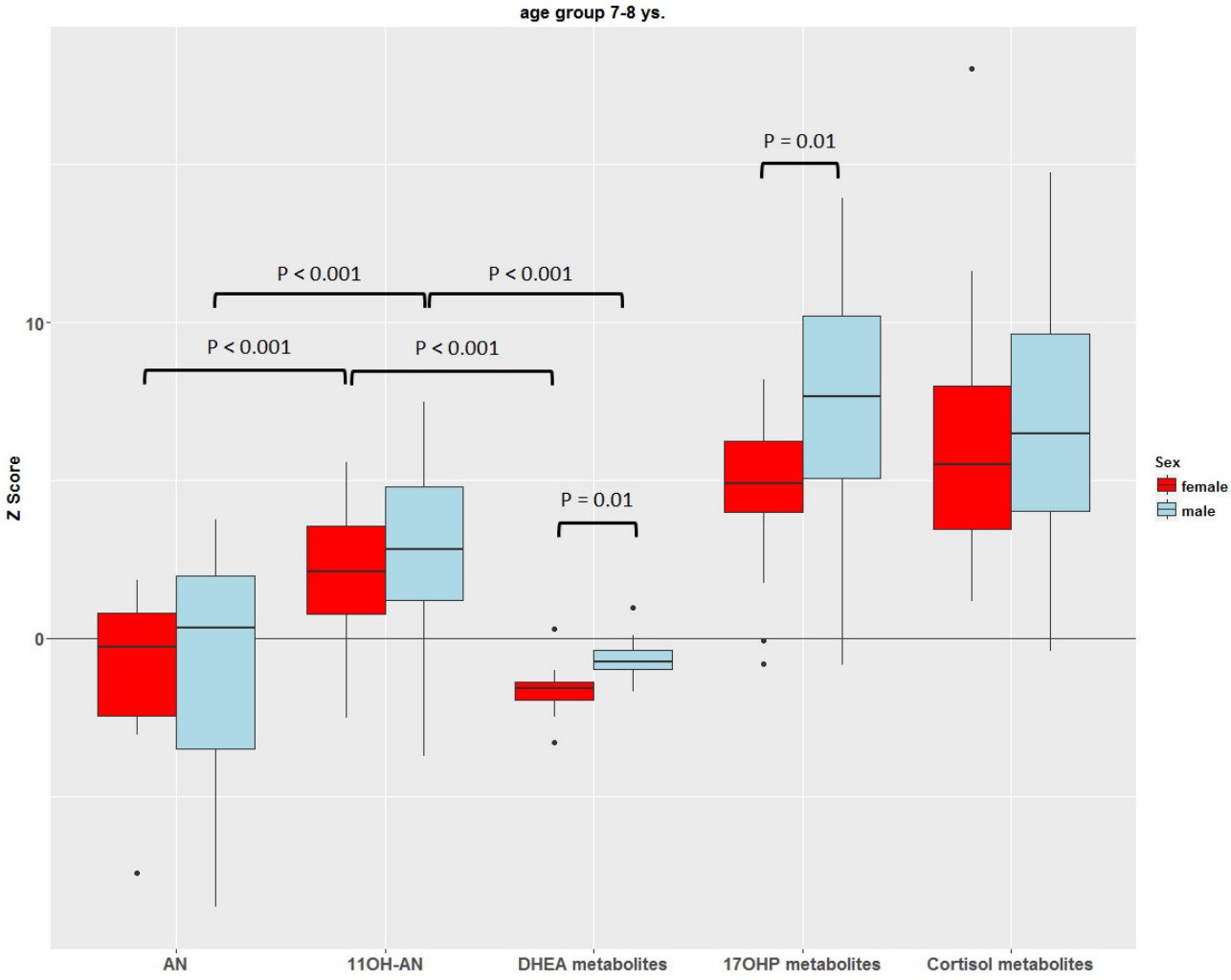


Abbildung 23. Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 7–8 Jahre mit den signifikanten Unterschiede bei Jungen und Mädchen mit 21-OHD.

Die Balken der Z-Scores der Harnsteroidexkretion bei Mädchen sind in rot und bei Jungen in blau abgebildet. Sie sind auf der y-Achse eingezeichnet; dabei dient die Nulllinie zur Orientierung des Z-Scores Null. Die horizontalen Linien in den farbig ausgefüllten Kästen zeigen die Mediane, die Kästen die Quartile (1. und 3. Quartil). Die vertikalen Linien bilden die Range der Werte ab. Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die Klammern zeigen die jeweiligen Unterschiede der p-Werte von den auf der x-Achse genannten Metaboliten zwischen den Geschlechtern (Klammern von rot zu blau) oder untereinander bei nur einem Geschlecht (Klammern zwischen gleicher Farbe) an.

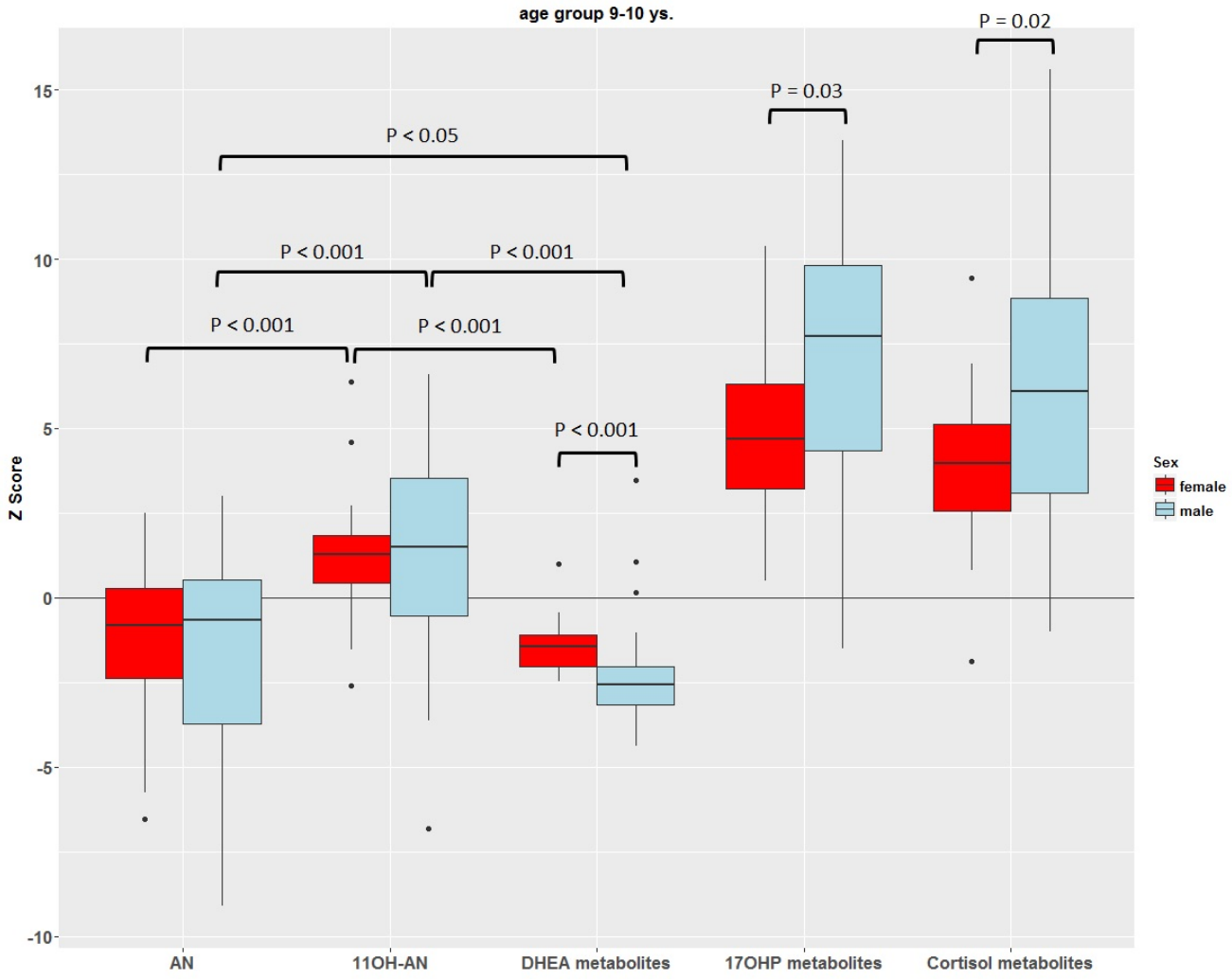


Abbildung 24. Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 9–10 Jahre mit den signifikanten Unterschiede bei Jungen und Mädchen mit 21-OHD.

Die Balken der Z-Scores der Harnsteroidexkretion bei Mädchen sind in rot und bei Jungen in blau abgebildet. Sie sind auf der y-Achse eingezeichnet; dabei dient die Nulllinie zur Orientierung des Z-Scores Null. Die horizontalen Linien in den farbig ausgefüllten Kästen zeigen die Mediane, die Kästen die Quartile (1. und 3. Quartil). Die vertikalen Linien bilden die Range der Werte ab. Ausreißer sind als Punkte dargestellt. Die Klammern zeigen die jeweiligen Unterschiede der p-Werte von den auf der x-Achse genannten Metaboliten zwischen den Geschlechtern (Klammern von rot zu blau) oder untereinander bei nur einem Geschlecht (Klammern zwischen gleicher Farbe) an.

Es fiel auf, dass sich in allen Altersgruppen die Z-Scores von AN im mittleren normalen bis leicht negativen Bereich befanden und die Z-Scores der DHEA Metaboliten deutlich negative supprimierte Werte zeigten. Die Z-Scores von 11OHAN hingehen präsentierten sich in unserer Studie im positiven Bereich.

Es wurden die Z-Scores zwischen den Geschlechtern verglichen. Hier zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern bei den Z-Scores der DHEA-Metaboliten (DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol und 16α-Androstentriol) in folgenden Altersgruppen: 3–4 Jahre ($p = 0.04$), 7–8 Jahre ($p < 0.001$), 9–10 Jahre ($p < 0.001$). Ebenfalls gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern bei den 17α-Hydroxyprogesteron-Metaboliten (17HP und 5α-17HP) in der Altersgruppe 7–8 Jahre ($p = 0.01$), 9-10 Jahre ($p = 0.03$) und bei den Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 9–10 Jahre ($p = 0.02$). Kein signifikanter Unterschied konnte für Androsteron oder 11β-Hydroxyandrosteron zwischen den Geschlechtern nachgewiesen werden.

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*0,04*	*nicht signifikant*	*< 0.001*	*< 0.001*

Tabelle 9. Unterschied der DHEA-Metaboliten-Z-Scores zwischen den Geschlechtern

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*nicht signifikant*	*nicht signifikant*	*0.01*	*0.03*

Tabelle 10. Unterschied der 17OHP-Metaboliten-Z-Scores zwischen den Geschlechtern

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*nicht signifikant*	*nicht signifikant*	*nicht signifikant*	*0.02*

Tabelle 11. Unterschied der Cortisolmetaboliten-Z-Scores zwischen den Geschlechtern

Der genaue Blick auf die Unterschiede der Androgenmetaboliten bei jeweils nur einem Geschlecht zeigte ebenfalls interessante Ergebnisse: Zum einen unterschieden sich bei Jungen die Z-Scores der drei Androgenmetaboliten Androsteron, 11β-Hydroxyandrosteron und die DHEA-Metabolitengruppe signifikant untereinander in allen untersuchten Altersgruppen:

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*0.02*	*<0.001*	*<0.001*	*< 0.001*

Tabelle 12. Unterschied der Androgenmetaboliten-Z-Scores untereinander bei den Jungen

Bei Mädchen zeigte die gleiche Analyse für die drei letzten Altersgruppen signifikante Ergebnisse:

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*nicht signifikant*	*0.02*	*<0.001*	*< 0.001*

Tabelle 13. Unterschied der Androgenmetaboliten-Z-Scores untereinander bei den Mädchen

Im Einzelnen betrachtet waren die Z-Scores des 11β-Hydroxyandrosterons (11OHAN) bei Jungen damit auch in allen Altersgruppen signifikant höher als die des Androsterons (AN):

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*0.01*	*<0.001*	*<0.001*	*<0.001*

Tabelle 14. Unterschiede zwischen 11OHAN- und AN-Z-Scores bei den Jungen

Bei Mädchen ergaben sich wiederum für die letzten drei Altersgruppen signifikante Ergebnisse:

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*nicht signifikant*	*0.02*	*<0.001*	*<0.001*

Tabelle 15. Unterschiede zwischen 11OHAN- und AN-Z-Scores bei den Mädchen

Im Vergleich mit den Z-Scores der DHEA-Metaboliten zeigten sich für die Z-Scores des 11β-Hydroxyandrosterons siginifikant erhöhte Werte bei Jungen in drei Altersgruppen zwischen 5–10 Jahren:

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*nicht signifikant*	*<0.001*	*<0.001*	*<0.001*

Tabelle 16. Unterschiede zwischen 11OHAN- und DHEA-Metaboliten-Z-Scores bei den Jungen

Nur die älteren zwei Altersgruppen zeigten signifikant höhere Z-Scores für 11OHAN, als für DHEA bei Mädchen:

Altersgruppe	*3-4 Jahre*	*5-6 Jahre*	*7-8 Jahre*	*9-10 Jahre*
p-Wert	*nicht signifikant*	*nicht signifikant*	*<0.001*	*<0.001*

Tabelle 17. Unterschiede zwischen den 11OHAN- und DHEA-Metaboliten-Z-Scores bei den Mädchen

Untereinander unterschieden sich die Z-Scores von Androsteron und der DHEA-Metaboliten nur bei Jungen in der jüngsten und der ältesten Altersgruppe: 3–4 Jahre (P=0,01) und 9–10 Jahre (P<0,05). Dies ist darauf zurückzuführen, dass in der Altersgruppe von 3-4 Jahren Androsteron niedriger gemessen wird als DHEA, und in der Altersgruppe 9-10 Jahre wegen der supprimierten Adrenarche DHEA niedriger gemessen wird als Androsteron.

Der Androgenexzess bei Kindern mit 21-OHD geht somit mit der überschießenden Exkretion von 11OHAN einher. Neben den in den Boxplots dargestellten Z-Scores der Androgenmetaboliten bestätigte sich diese Erkenntnis in den signifikanten Unterschieden von 11OHAN mit AN und DHEA in der Mehrzahl der Altersgruppen (Tabelle 14-17).

Tabelle 18 stellt die absoluten Werte der Androgenausscheidungsmengen und die der weiteren Metaboliten in µg/m^{2}KOF/Tag dar. Die Ausscheidung von 11OHAN überstieg die Ausscheidungsmengen von AN um das Dreifache und veranschaulicht so auch in dieser Darstellung die Dominanz des 11OHAN im Vergleich mit den anderen Androgenmetaboliten.

In allen Altersgruppen waren ebenso die Z-Scores der 17OHP- und Cortisolmetaboliten erhöht. Unsere Untersuchung zeigt, dass die Behandlung mit Hydrocortison supraphysiologisch ist, denn die Ausscheidung der Cortisolmetaboliten ist deutlich erhöht. Dennoch kommt es nicht zu einer Normalisierung der 17OHP-Metabolitenausscheidung.

	µg/m²KOF/Tag (Median (IQR))	*lg(µg/m²KOF/Tag) (Mittelwert ± SD)*
Androsteron (AN)	*100 (23-181)*	*1.790 ± 0.63*
11β-Hydroxyandrosteron (11OHAN)	*329 (157-582)*	*2.406 ± 0.523*
DHEA-Metaboliten	*33 (24-46)*	*1.550 ± 0.281*
17-Hydroxypregnanolone (17HP+5α-17HP)	*491 (86-1138)*	*2.545 ± 0.726*
Pregnantriolon (PTO)	*330 (82-765)*	*2.343 ± 0.751*
Cortisolmetaboliten	*6523 (5040-8778)*	*3.809 ± 0.179*

Tabelle 18. Tägliche Harnsteroidexkretion der Androgenmetaboliten Androsteron (AN) und 11β-Hydroxyandrosteron (11OHAN), der DHEA-Metaboliten (Summe aus DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol und 16α-Androstentriol), der 17OHP-Metaboliten (Summe aus 17α-Hydroxypregnanolon (17HP) und 17α-Hydroxyallopregnanolon (5α-17HP)), des 21-Desoxycortisol-Metaboliten Pregnantriol (PTO), sowie der Cortisolmetaboliten (Tetrahydroocortisol, 5α-Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison, α-Cortol, β-Cortol, α-Cortolon, β-Cortolon) in µg/m²KOF/Tag und lg(µg/m²KOF/Tag). Die Kohorte bestand aus 99 Patienten (56 Jungen und 43 Mädchen) zwischen 3,0 und 10,9 Jahren. Es wurden 190 Harnsteroidprofile analysiert. 112 Harnsteroidprofile waren von Jungen, 78 von Mädchen.

Abkürzungen: IQR= Interquartile range = Interquartilsabstand, beinhaltet 50% der mittleren Werte der Stichprobe; lg = dekadischer Logarithmus; SD = standard deviation = Standardabweichung.

In einer linearen Korrelationsanalyse nach Pearson untersuchten wir den in Tabelle 19 und Abbildung 25 dargestellten Zusammenhang der Exkretion von 11β-Hydroxyandrosteron als abhängige Variable mit der jeweiligen Exkretion des Androstendion- und Testosteronmetaboliten Androsteron (AN) (Abb. 25A), des 21-Desoxycorticosteronmetaboliten Pregnantriolon (PTO) (Abb. 25B), der 17OHP-Metaboliten (17α-Hydroxypregnanolon und 17α-Hydroxyallopregnanolon) (Abb. 25C), der DHEA-Metaboliten (DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol und 16α-Androstentriol) (Abb. 25D), der Cortisolmetaboliten (Tetrahydroocortisol, 5α-Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison, α-Cortol, β-Cortol, α-Cortolon, β-Cortolon) (Abb. 25E) und dem Alter (Abb. 25F) als Einflussvariablen.

In Tabelle 19 ist der Regressionskoeffizient *b* mit dem zugehörigen 95% Konfidenzintervall und der Korrelationskoeffizient *r* mit dem zugehörigen 95% Konfidenzintervall angegeben.

	b und 95% Konfidenzintervall	*r und 95% Konfidenzintervall*	*p-Wert*
AN (Metabolit von A4, Testosteron, Dihydrotestosteron)	*b = 0.62 (95% KI: 0.51-0.73)*	*r = 0.76 (95% KI: 0.66-0.83)*	*< 0.0001*
PTO (Metabolit von 21-Desoxycorticosteron)	*b = 0.56 (95% KI: 0.48-0.65)*	*r = 0.81 (95% KI: 0.73-0.87)*	*< 0.0001*
17OHP-Metaboliten (17α-Hydroxypregnanolon + 17α-Hydroxyallopregnanolon)	*b = 0.58 (95% KI: 0.50-0.67)*	*r = 0.81 (95% KI: 0.72-0.87)*	*< 0.0001*
DHEA-Metaboliten (DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, 16α-Androstentriol)	*b = 0.57 (95% KI: 0.21-0.92)*	*r = 0.31 (95% KI: 0.11-0.47)*	*0.002*
Cortisolmetaboliten (Tetrahydroocortisol, 5α-Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison, α-Cortol, β-Cortol, α-Cortolon, β-Cortolon)	*b = 0.50 (95% KI: -0.08-1.08)*	*r = 0.17 (95% KI: -0.03-0.36)*	*0.09 (nicht signifikant)*
Alter	*b = 0.10 (95% KI: 0.05-0.15)*	*r = 0.35 (95% KI: 0.16-0.51)*	*0.0004*

Tabelle 19. Lineare Korrelationsanalyse nach Pearson. Gezeigt ist in der linearen Korrelationsanalyse nach Pearson der Einfluss der logarithmierten und auf die Körperoberfläche berechneten Harnsteroidexkretion pro Tag von AN (Androsteron), PTO (Pregnantriolon), 17OHP-

Metaboliten, DHEA-Metaboliten, Cortisolmetaboliten und des Alters auf die Ausscheidung von 11OHAN (11β-Hydroxyandrosteron) bei Kindern mit 21-OHD. Die Kohorte bestand aus 99 Patienten (56 Jungen und 43 Mädchen) zwischen 3,0 und 10,9 Jahren.

Als 17OHP-Metaboliten sind 17α-Hydroxypregnanolon und 17α-Hydroxyallopregnanolon zusammengefasst, die DHEA-Metaboliten beschreiben die Summe aus DHEA, 16α-hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol und 16α-Androstentriol. Als Cortisolmetaboliten gelten Tetrahydrocortisol, 5α-Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison, α- und β-Cortol, und α- und β-Cortolon.

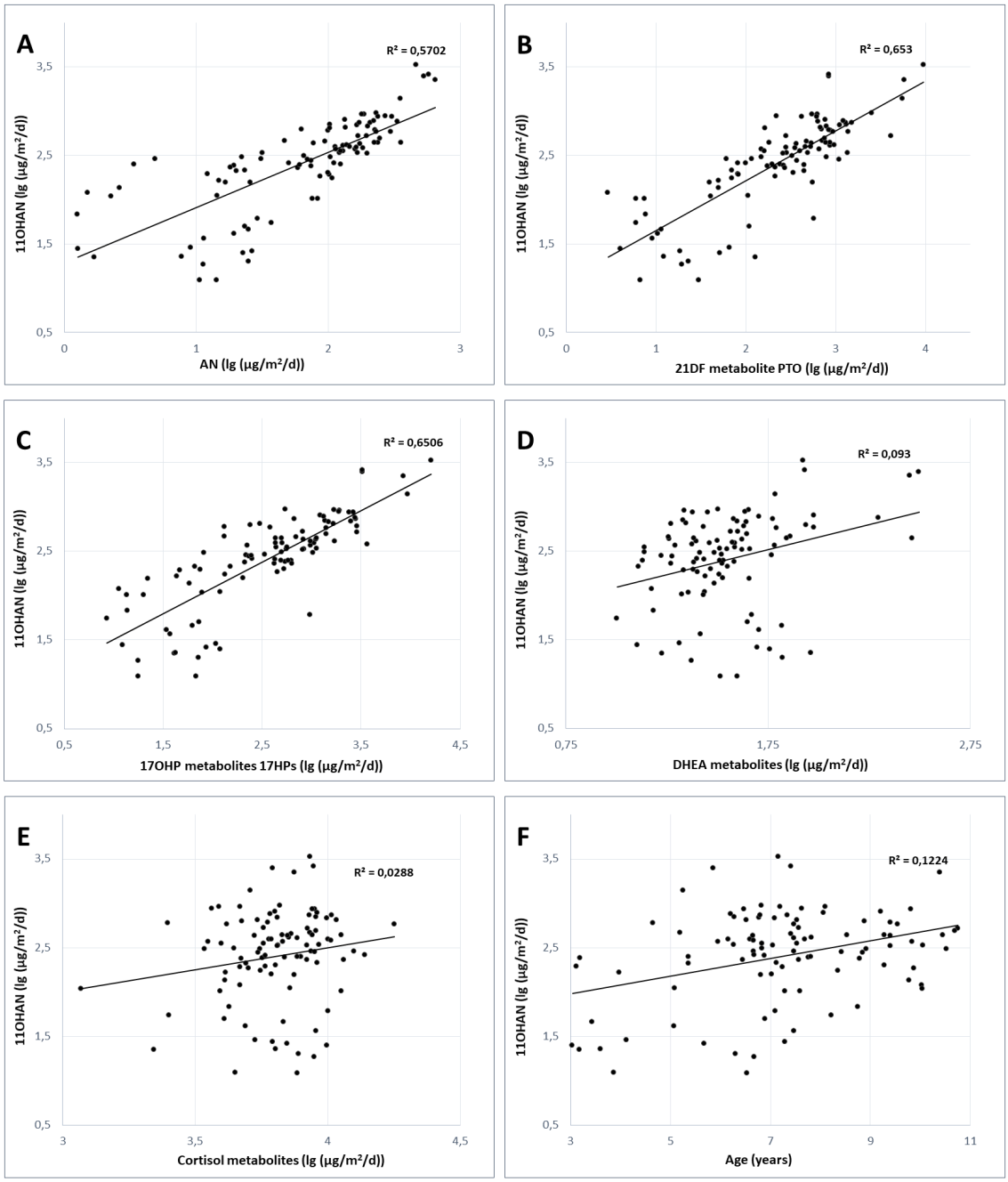


Abbildung 25 A-F. Lineare Regressionsanalyse der logarithmierten und auf die KOF berechneten Harnsteroidexkretion von 11OHAN in Abhängigkeit von AN ***(A)****, PTO* ***(B)****, 17OHP-Metaboliten (17HPs)* ***(C)****, DHEA-Metaboliten* ***(D)****, Cortisolmetaboliten* ***(E)*** *und Alter* ***(F)****. Abkürzungen: R^2 = Determinationskoeffizient, 11OHAN= 11β-Hydroxyandrosteron, AN= Androsteron, 21DF= 21-Desoxycortisol, PTO= Pregnantriolon, 17HPs= 17α-Hydroxypregnanolone (17α-Hydroxypregnanolon und 17α-Hydroxyallopregnanolon), DHEA= Dehydroepiandrosteron. DHEA-Metaboliten = DHEA+16α-Hydroxy-DHEA+17β-Androstendiol+17α-Androstendiol+16α-Androstentriol. Cortisolmetaboliten = Tetrahydrocortisol+5α-Tetrahydrocortisol+Tetrahydrocortison+α- und β-Cortol+ α- und β-Cortolon.*

Anschließend ergänzten wir unsere Untersuchung um eine multivariate Regressionsanalyse. Die Harnsteroidexkretion von 11β-Hydroxyandrosteron (11OHAN) stellte dabei die abhängige Variable dar, während die Harnsteroidexkretionen von Androsteron (AN), den 17α-Hydroxypregnanolonen (17HPs= 17HP+5α17HP), von Pregnantriolon (PTO) und der DHEA-Metaboliten (DHEA, 16α-Hydroxy-DHEA, 17β-Androstendiol, 17α-Androstendiol, 16α-Androstentriol) sowie das Alter als mögliche Einflussfaktoren gewählt wurden. Auch das Alter wurde als Einflussvariable hinzugefügt. Die Harnsteroidmetabolitexkretionsraten wurden logarithmiert und auf die KOF berechnet.

In Tabelle 20 sind die Ergebnisse der statistischen Analyse dargestellt. Die multivariate Regressionsanalyse zeigte einen signifikanten Einfluss des 21-Desoxycortisolmetaboliten PTO (p=0,0006) und des Androsterons (p=0,0008), dem Harnsteroidmetaboliten des Androstendions (A4), Testosterons und Dihydrotestosterons, auf die Exkretion von 11OHAN. Auch die 17OHP-Metaboliten (p=0,04) zeigten einen schwächeren statistisch signifikanten Einfluss auf 11OHAN. Insgesamt ergibt sich so das Bild von über zwei Wege entstehenden 11-oxygenierten-Androgenen bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel unter Therapie mit Hydrocortison und Fludrocortison. Zum einen erfolgt die Synthese, wie bereits angenommen, über Androstendion (Pretorius et al., 2016), zum anderen kann aus unserer Analyse geschlussfolgert werden, dass die Synthese über die direkte 11-Hydroxylierung von 17OHP zu 21-Desoxycortisol erfolgt, das anschließend in 11-Hydroxyandrostendion umgewandelt wird.

	B	*t-Wert*	*β*	*p-Wert*
AN	*0.231 ± 0.066*	*3.48*	*0.280*	*0.0008*
17OHP-Metabolite	*0.175 ± 0.084*	*2.08*	*0.243*	*0.04*
21-Desoxycortisolmetabolit Pregnantriolon (PTO)	*0.264 ± 0.075*	*3.53*	*0.379*	*0.0006*
DHEA-Metaboliten	*-0.031 ± 0.107*	*-0.29*	*-0.016*	*0.78*
Alter	*0.038 ± 0.015*	*2.46*	*0.133*	*0.02*

Tabelle 20. Multivariate Regressionsanalyse der logarithmierten und auf die Körperoberfläche berechneten Harnsteroidexkretion von 11OHAN als abhängige Variable und der Harnsteroidexkretion von AN, 17OHP-Metaboliten, PTO, der DHEA-Metaboliten und des Alters als Einflussvariablen (11OHAN ~ 17OHP-Metaboliten + PTO + DHEA-Metaboliten + Alter). B gibt den Regressionskoeffizienten an, β beschreibt den standardisierten Regressionskoeffizienten, der t-Wert gibt den Quotienten aus Regressionskoeffizient und Standardfehler an. Ein p-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Abkürzungen: 11OHAN = 11β-Hydroxyandrosteron, AN = Androsteron, PTO = Pregnantriolon, 17OHP = 17α-Hydroxyprogesteronmetaboliten (17α-Hydroxypregnanolon+17α-Hydroxyallopregnanolon), DHEA = Dehydroepiandrosteron, DHEA-Metaboliten = DHEA+16α-Hydroxy-DHEA+17β-Androstendiol+17α-Androstendiol+16α-Androstentriol.

Standardfehler der Residuen: 0.266 bei 93 Freiheitsgraden. R: 0.869; R^2: 0.755; Adjustiertes R^2: 0.742. F-Statistik: 57.33 bei 5 und 93 Freiheitsgraden; f^2: 3.082; p-Wert: < 2.2e-16.

Teile der Ergebnisse dieser Studie wurden vorab in folgenden Publikationen veröffentlicht:

The urinary steroidome of treated children with classic 21-hydroxylase deficiency. Kamrath, C.[1], Wettstaedt L.[1], Boettcher, C., Hartmann, M.F., Wudy, S.A.. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology,* 165, pp.396–406. (Online 08/2016, im Druck 01/2017)

([1] both authors contributed equally to this work)

und

Androgen excess is due to elevated 11-oxygenated androgens in treated children with congenital adrenal hyperplasia. Kamrath. C., Wettstaedt, L., Boettcher, C., Hartmann, M.F., Wudy, S.A.. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology,* 178, pp. 221-228. (Online 12/2017, im Druck 04/2018)

5 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden Wachstums- und Gewichtsverläufe von Kindern mit behandeltem klassischem Adrenogenitalen Syndrom bei 21-Hydroxylase-Mangel und ihre im Urin ausgeschiedenen Mengen von Harnsteroiden untersucht. Die Analyse der Harnsteroide fand mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie aus 24-Stunden-Sammelurinen statt und ergab die Ausscheidungsraten pro Tag. Es handelte sich um eine retrospektive Datenauswertung. Die Analyse ermöglichte es, Einblicke in das krankheitsspezifische Steroidmetabolom von behandelten Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom zu bekommen. Es wurden Referenzwerte für die 24-Stunden-Harnmetaboliten der Androgene (Androsteron, Etiocholanolon, 11β-Hydroxyandrosteron, ∑ Dehydroepiandrosteron-Metaboliten), des 17α-Hydroxyprogesterons (17α-Hydroxypregnanolon, 17α-Hydroxyallopregnanolon, Pregnantriol, ∑ 17α-Hydroxyprogesteron-Metaboliten), des 21-Desoxycortisols (Pregnantriolon), sowie des Cortisols (Tetrahydrocortison, Tetrahydrocortisol, 5α-Tetrahydrocortisol, ∑ Cortisolmetaboliten) bei erkrankten Kindern erstellt (Studienteil I). Im Anschluss erfolgte die Erstellung von Z-Scores, die die 24-Stunden-Harnmetabolitausscheidung betroffener Kinder in Bezug zu der 24-Stunden-Harnmetabolitausscheidung von gleichaltrigen Gesunden setzten. Von besonderem Erkenntniswert war die Messung von 11β-Hydroxyandrosteron als Metabolit der 11-oxygenierten-Androgene, das für das zukünftige Behandlungsregime beim Adrenogenitalen Syndrom von besonderer Bedeutung sein könnte.

In der folgenden Diskussion sollen insbesondere methodische Stärken und Schwächen hinsichtlich der Verwendung der Gaschromatographie-Massenspektrometrie, der Zusammenstellung des Patientenkollektivs, sowie der Statistik erwähnt werden. Zudem werden im Anschluss die Ergebnisse der Harnsteroidanalyse in den internationalen Forschungskontext eingeordnet. Abschließend wird die Bedeutung der neuen Erkenntnisse zum Therapiemonitoring des 21-Hydroxylase-Mangels bei Kindern mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom diskutiert.

5.1 Diskussion der Methoden

5.1.1 Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Diese retrospektive Datenerhebung fußte auf den Ergebnissen der Harnsteroidanalysen bei Kindern mit AGS vom Typ 21-Hydroxylase-Mangel. Die Harnsteroide wurden mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert. Die GC-MS zeigt hervorragende Ergebnisse in der Diagnostik von Erkrankungen der Steroidbiosynthese (Wudy & Hartmann, 2004; Krone et al., 2010). Dennoch gibt es im Feld der Steroidhormonanalyse weitere Verfahren, die ebenfalls in der Diagnostik und der Therapieüberwachung von Erkrankungen der Steroidbiosynthese in der klinischen Praxis eingesetzt werden. Dazu zählen Immunoassays, die Proben aus Blutplasma nutzen, sowie die Liquid Chromatographie Tandem Massenspektrometrie (LC-MS/MS) (Krone et al., 2010; Soldin & Soldin, 2009). Die Gründe für den jeweiligen Einsatz von Immunoassays, LC-MS/MS oder GC-MS in der Diagnostik sind vielfältig. Einflussfaktoren der Entscheidung für oder gegen ein Verfahren können Verfügbarkeit und Laborausstattung, Schnelligkeit der Methode, finanzielle Möglichkeiten sowie spezifische Fragestellungen zu einzelnen Steroiden sein (Krone et al., 2010). Es soll im Weiteren aber vor allem auf die Vor- und Nachteile der GC-MS eingegangen werden, um ihre Bedeutung für die Durchführung dieser Studie ersichtlich zu machen.

Die Gaschromatographie-Massenspektrometrie erlaubt einen weitgefächerten Einblick in den Hormonstatus eines Patienten, da mit nur einer einzigen Probe gleichzeitig zahlreiche Steroidmetaboliten gemessen werden können. In der Zusammenschau der Ausscheidungsmengen der Glucocorticoidmetaboliten, der 17OHP-Metaboliten und der Androgenmetaboliten entsteht so ein genaues Abbild der Hormoneinstellung eines Kindes mit AGS. Der Vorteil der Methode liegt unter anderem darin, dass die Probengewinnung mittels Urin, im Gegensatz zu der Probenentnahme von Blutserum/-plasma, nicht invasiv erfolgt (Wudy et al., 2000; Caulfield et al., 2002). Zudem können Harnmetabolitenausscheidungsmengen analysiert werden, wenn über 24 Stunden hinweg gesammelt wurde. So wird der Hormonstatus eines ganzen Tages abgebildet, und nicht nur der einer Momentaufnahme während einer Blutuntersuchung. Außerdem liegt die besondere Stärke der GC-MS darin, Metaboliten nicht selektiv zu analysieren. Es werden auch Einblicke in Steroidabbauprozesse ermöglicht, die noch nicht im Fokus vorheriger Untersuchungen standen (Wudy et al., 2000; Wudy & Hartmann, 2004; Krone et al., 2010).

Gerade in der Weiterentwicklung des Therapiemonitorings und der Entdeckung neuer biochemischer Abbauwege liegen die Vorteile und Stärken der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (Krone et al., 2010). Andere Methoden, wie die weitverbreiteten Immunoassays, weisen häufig eine deutlich geringere Spezifität der analysierten Steroide auf. Für seltener gemessene Steroide, beispielsweise die 11-oxygenierten-Androgene, welche schließlich die Hauptandrogene bei unserem Patientenkollektiv darstellten, sind keine Immunoassays verfügbar (Wudy & Hartmann, 2004). In unserer Studie waren die hohe Spezifität und die Non-Selektivität der Methode enorm wichtig, um den Hormonstatus von erkrankten Kindern allumfassend beurteilen zu können. Sie ermöglichte einen Blick auf Harnmetaboliten, wie das 11β-Hydroxyandrosteron, die bislang noch nicht als Biomarker für das Adrenogenitale Syndrom galten, und gleichzeitig auf die diagnostisch etablierten Glucocorticoid-, 17OHP- und Androgenmetaboliten.

5.1.2 Patientenkollektiv, Datenbank und Statistik

Das Patientenkollektiv umfasste im ersten Studienteil 157 Patienten sowie im zweiten Studienteil 99 Patienten und stellte im Vergleich mit anderen Studien eine relativ umfangreiche Kohorte dar. Andere Studien zu Wachstumsanalysen bei Kindern mit klassischem AGS mit Salzverlust schlossen beispielsweise nur 34 Kinder (Van der Kamp et al., 2002) oder 17 Kinder (Manoli et al., 2002) ein.
Bei der Auswahl der Kohorte wurde darauf geachtet, dass bei jedem Patienten alle Informationsfelder ausgefüllt waren, die in der statistischen Auswertung von Relevanz waren. Bei der Hydrocortisondosis gelang dies nicht für jeden Patienten. Nur bei 86% (N=135) der Patienten aus Studienteil I war die genaue Hydrocortisondosis dokumentiert.

5.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

5.2.1 DISKUSSION DER WACHSTUMSDATEN

Zunächst wurden in Studienteil I und Studienteil II die Wachstumsparameter der Kinder mit behandeltem 21-Hydroxylase-Mangel analysiert. Die in der Kindheit höheren Körperhöhen-SDS-Werte und im späteren Jugendalter deutlich niedrigeren Körperhöhen-SDS-Werte decken sich mit Größenuntersuchungen von AGS-Kindern in anderen Studien (Jääskeläinen & Voutilainen, 1997; Eugster et al., 2001; Muirhead et al., 2002). Van der Kamp ermittelte zum Beispiel für Patienten mit Salzverlust AGS einen Endgrößen-SDS-Wert von -1,63 (Van der Kamp et al., 2002), Manoli Werte von -0,57 SDS und -0,61 SDS für ausgewachsene Jungen und Mädchen mit Salzverlust-AGS (Manoli et al., 2002). Auch in dieser Kohorte zeigte sich die Größenentwicklung als Resultat der Hyperandrogenämie mit dadurch beschleunigtem Wachstum im Kindesalter und dem vorzeitigen Schluss der Epiphysenfugen in der Pubertät, wie vorbeschrieben (Pang, 1997a).
Die mittleren BMI-SDS-Werte waren schon ab 3 Jahren bei unserer Kohorte erhöht und blieben über alle Altersgruppen hinweg im positiven Bereich. Vor allem im vorpubertären Bereich zeigten sich deutlich erhöhte BMI-SDS-Werte, während es im Pubertäts- und Erwachsenenalter zu einer langsamen Normalisierung der BMI-Werte kam. Die Ergebnisse glichen bei beiden Geschlechtern und in den unterschiedlichen Altersgruppen denen weiterer Studien (Manoli et al., 2002).
Es ist bekannt, dass Überbehandlung mit Cortisol beim Adrenogenitalen Syndrom zu Übergewicht führen kann (Knorr & Hinrichsen de Lienau, 1988).
Die mittleren BMI-SDS-Werte waren auch in unserem Studienteil I mit den Cortisolmetaboliten korreliert. Die BMI-Erhöhung kann somit als Folge der therapeutisch verordneten supraphysiologischen Hydrocortisondosen angenommen werden.
Andere Studien konnten zwischen BMI-Werten und verordneter Hydrocortisondosis keine direkte signifikante Korrelation aufzeigen (Manoli et al., 2002; Van der Kamp et al., 2002). Es zeigt sich also die Notwendigkeit der Analyse von 24-Stunden-Ausscheidungsmengen der Cortisolmetaboliten im Rahmen des klinischen Größen- und Gewichtsmanagements beim Adrenogenitalen Syndrom.

5.2.2 Diskussion des Urinmetaboloms bei Kindern mit 21-OHD

In der Analyse der Androgenmetaboliten rückte das 11β-Hydroxyandrosteron als Metabolit des 11β-Hydroxyandrostendions in beiden Studienteilen in den Vordergrund, da es im Vergleich mit Androsteron (als klassischem Metabolit von Androstendion, Testosteron und 5α-Dihydrotestosteron) und den DHEA-Metaboliten die Androgenausscheidung dominierte:
Androsteron, Etiocholanolon und die DHEA-Metaboliten wurden deutlich niedriger als 11β-Hydroxyandrosteron bei unserer Kohorte gemessen. Dies zeigte sich zum einen im absoluten Vergleich der Metaboliten in µg/Tag (Studienteil I). Zum anderen waren die Z-Scores des 11β-Hydroxyandrosterons in der Kohorte des Studienteils II deutlich erhöht, während die Z-Scores der anderen Androgenmetaboliten, Androsteron und der DHEA-Metaboliten, im normalen oder supprimierten Bereich lagen.

Beim Vergleich der Z-Scores der drei Androgenmetabolitgruppen jeweils bei Jungen und bei Mädchen ergab sich ein signifikanter Unterschied für Androsteron, 11β-Hydroxyandrosteron und die DHEA-Metaboliten in fast allen Altersgruppen bis 11 Jahre (in allen vier Altersgruppen, mit Ausnahme der Mädchen von 3–4 Jahren). Auch im direkten Vergleich von 11β-Hydroxyandrosteron mit jeweilig Androsteron und DHEA zeigte sich bei Jungen und Mädchen in vielen Altersgruppen eine signifikante Differenz (keine Signifikanz lediglich in der jeweils jüngsten Altersgruppe und bei Mädchen von 5–6 Jahren).

Unsere Studie ergänzt mit diesen Messungen zur Dominanz des 11β-Hydroxyandrosterons im Androgenprofil neuere Veröffentlichungen zu den 11-oxygenierten-C_{19}-Steroiden:
Storbeck et al. stellten 2013 dar, dass die besondere Rolle des 11β-Hydroxyandrostendions (11OHA4) als C_{19}-Steroid bei dem kastrationsresistenten Prostatakrebs in den letzten Jahrzehnten unterschätzt wurde. Die Arbeitsgruppe zeigte, wie 11β-Hydroxyandrostendion zu 11-Ketotestosteron und 11-Ketodihydrotestosteron verstoffwechselt wird. Sie verwiesen auf die besondere Bedeutung dieser Erkenntnis, da 11-Ketodihydrotestosteron wiederum als aktives Androgen den Androgenrezeptor direkt stimuliert, und zwar vergleichbar mit derjenigen Wirkung von Dihydrotestosteron

(Storbeck et al., 2013). Die Arbeitsgruppe führte 2015 weiter aus, dass 11β-Hydroxyandrosteron der hauptsächliche Harnmetabolit des 11β-Hydroxyandrostendions ist (Swart & Storbeck, 2015).

Eine weitere aktuelle Studie von Turcu et al. untersuchte die 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide spezifisch bei erwachsenen Patienten mit 21-Hydroxylase-Mangel. Mittels Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie konnten im Blutserum von Patienten mit 21-Hydroxylase-Mangel wiederum die vier 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide in hoher Konzentration nachgewiesen werden. Diese waren bei einer gesunden Kontrollgruppe signifikant geringer. Neben 11-Ketoandrostendion, 11β-Hydroxytestosteron und 11-Ketotestosteron war auch die Konzentration des 11β-Hydroxyandrostendion signifikant erhöht (Turcu et al., 2016). Aus ihren Daten schlussfolgerten Turcu et al., dass 11-Ketotestosteron, das aus 11β-Hydroxyandrostendion entsteht (Storbeck et al., 2013), in Zukunft ein Biomarker für das AGS mit 21-Hydroxylase-Mangel sein könnte (Turcu et al., 2016).

Dabei kommt der überwiegend adrenalen Herkunft der 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide eine zusätzliche Bedeutung zu (Pretorius et al., 2016). Es gelang der Nachweis, dass die 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide signifikant mit der im CT gemessenen Größe der Nebenniere bei Patienten mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom assoziiert waren (Turcu et al., 2017a).

In der Zusammenschau dieser vorliegenden Studie mit den anderen neuesten Erkenntnissen zu den 11-oxygenierten-C_{19}-Steroiden, scheint das 11β-Hydroxyandrosteron als Metabolit dieser Androgengruppe eine außerordentlich entscheidende Rolle für das Hormonprofil eines Kindes mit Adrenogenitalem Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel einzunehmen. Die in diesen Studien veröffentlichen Daten zeigen erstmals, dass 11-oxygenierte-C_{19}-Steroide bei pädiatrischen Patienten mit klassischem Adrenogenitalen Syndrom für die Hyperandrogenämie verantwortlich sind.

Auch einer weiteren Arbeitsgruppe gelang mittels LC-MS/MS und GC-MS der Nachweis, dass auch beim Polyzystischen Ovarialsyndrom 11-oxygenierte-C_{19}-Steroide von immenser Bedeutung sind. Eingeschlossen war hierbei wiederum das 11β-

Hydroxyandrosteron als Metabolit des 11β-Hydroxyandrostendions (O'Reilly et al., 2016).

Der separate Blick auf die DHEA-Metaboliten ergab, dass sie in unserer Kohorte erheblich supprimiert waren und somit häufig unterhalb der Nachweisgrenze der Gaschromatographie-Massenspektrometrie lagen. Auch die Z-Scores im zweiten Studienabschnitt zeigten in den sehr jungen Altersgruppen zwar nur minimal von 0 abweichende Werte, bei etwas älteren Kindern (7–10 Jahre) lagen sie im Mittel aber im deutlich negativen Bereich. DHEA steigt im Rahmen der Adrenarche bei gesunden Kindern an (Remer et al., 2005). Die Suppression verdeutlicht die verminderte Adrenarche und lässt sich auf die Medikation mit Hydrocortison zurückführen. Diese Beobachtung wurde bereits zuvor gemacht (Rezvani et al., 1983). Zur Beurteilung des Androgenstatus bei Kindern mit AGS sind die DHEA-Werte deshalb nicht geeignet. Eine fehlende Korrelation der Z-Scores von 17OHP- und DHEA-Metaboliten in dieser Studie stützt die Erkenntnis.

Zusammen betrachtet schieden Mädchen und Jungen vor der Pubertät ähnliche Mengen an Androgenen aus (siehe Summe der Androgenmetaboliten in Studienteil I). Trotzdem war bei den Jungen der AGS Kohorte vor der Pubertät im Vergleich mit Mädchen eine ausgeprägtere Wachstumsbeschleunigung festzustellen. Dies legt die Vermutung nahe, dass Jungen mit AGS vor der Pubertät sensitiver auf Androgeneinflüsse reagieren als Mädchen. Auch die Cortisolmetabolitenausscheidung und die Hydrocortisondosis nahmen bei den Jungen in der Pubertät mehr zu als bei Mädchen. Es trifft daher nicht zu, dass die relativ zu Mädchen erhöhte Androgenausscheidung bei Jungen auf eine geringere Medikation mit Hydrocortison zurückzuführen wäre. Wahrscheinlicher ist, dass die Simultanität von höherer Androgenausscheidung und höheren Cortisolmetaboliten beziehungsweise Hydrocortisondosierungen bei Jungen auf eine schlechter zu supprimierende Nebennierenrinde hindeutet.

Unsere Daten ermöglichen ein tieferes Verständnis der Androgensynthese beim Adrenogenitalen Syndrom. Bislang wurde für den Metabolismus der 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide angenommen, dass aus DHEA Androstendion (A4) entsteht und dieses wiederum mittels der 11β-Hydroxylaseaktivität zu 11β-Hydroxyandrostendion umgewandelt wird (Swart & Storbeck, 2015; Turcu et al., 2016; Turcu & Auchus, 2017b). Dies ist bereits im Abschnitt Methodik und Material in Abbildung 4 gezeigt. Die Daten dieser

Studie zeigen nun an, dass ein zusätzlicher Syntheseweg möglich scheint. In der multiplen linearen Regressionsanalyse war neben dem AN auch PTO (als Metabolit des 21-Desoxycortisols) mit 11OHAN korreliert. Es ist somit naheliegend, dass 11OHAN als Metabolit des 11OHA4 über einen weiteren Weg entsteht; nämlich über 17OHP und 21DF. Dies zeigt Abbildung 26 auf der folgenden Seite:

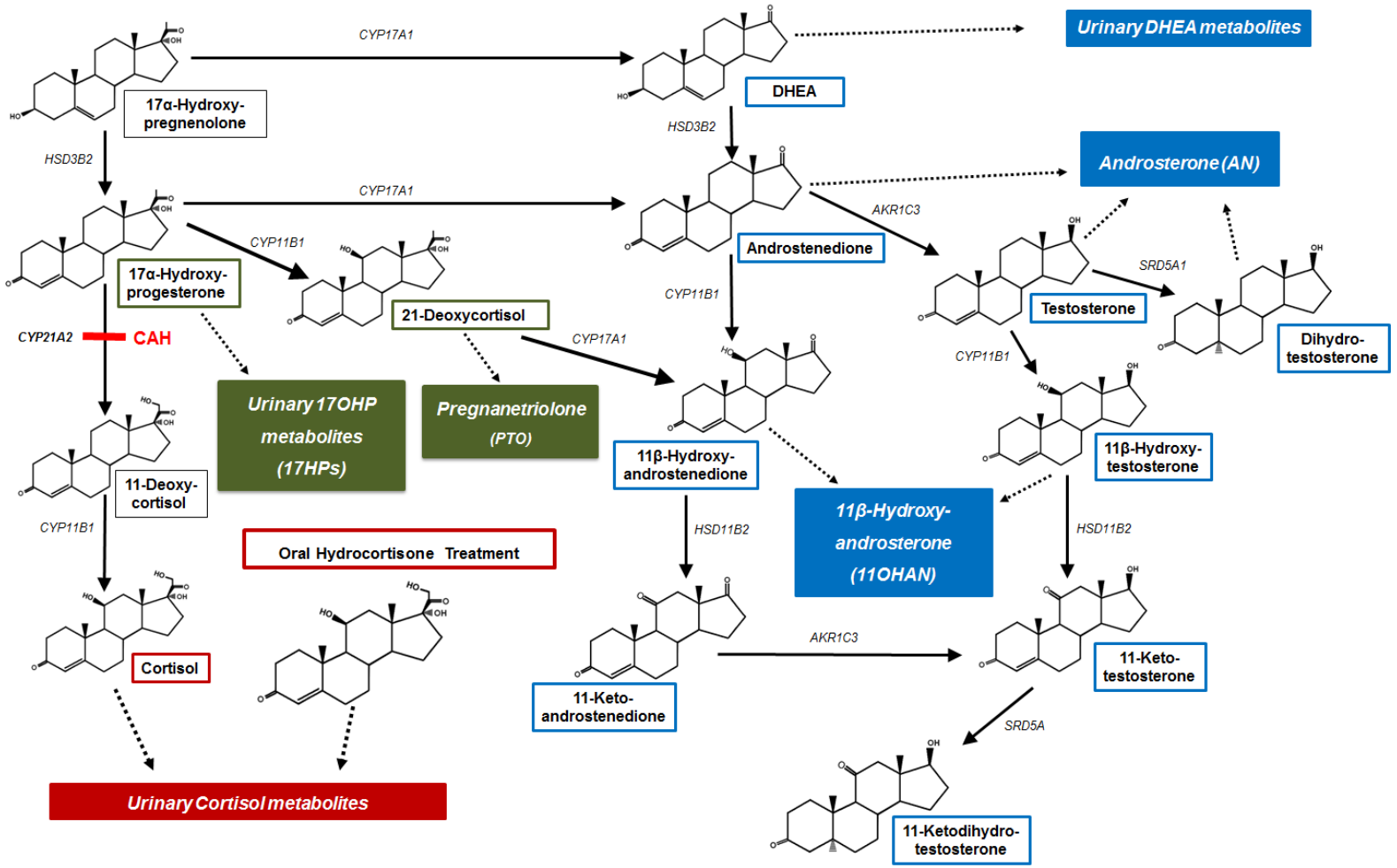


Abbildung 26. Syntheseweg der Steroide zum 11OHAN. Gezeigt ist die Steroidsynthese mit Metaboliten inklusive eines neuen Synthesewegs von 21-Desoxycortisol zu 11β -Hydroxyandrostendion. Enzyme sind in kursiv neben den Pfeilen zu erkennen. Der Enzymdefekt ist als roter Balken mit congenital adrenal hyperplasia (CAH) beschriftet. Die Hormone sind in transparenten Kästen dargestellt, die zugehörigen Urinmetaboliten in farbig hinterlegten Rechtecken. Gepunktete Linien verdeutlichen den Entstehungsweg der Metaboliten. Die Hormone und Metaboliten der Cortisolsynthese sind in rot, Hormone und Metaboliten des 17OHP und des 21-Desoxycortisols in grün, und der Syntheseweg und -abbau der Androgene in blau markiert. Es sind auch die 11-oxygenierten-C_{19}-Steroide abgebildet.

Die Rolle des 21-Desoxycortisol (21DF) bei Hyperplasie der Nebennierenrinde und dessen Rolle bei der Synthese von 11β-Hydroxyandrostendion (11OHA4) wurde schon vor über 60 Jahren von Jailer et al. vermutet (Jailer et al., 1955). Jailer beobachtete, dass 11β-Hydroxyandrostendion vermehrt ausgeschieden wurde, wenn Probanden zuvor oral verabreichtes 21-Desoxycortisol eingenommen hatten. Bei oral verabreichtem 17-Hydroxyprogesteron (17OHP) kam es jedoch nicht zu einer vermehrten Ausscheidung von 11β-Hydroxyandrostendion. Bislang wurde 21-Desoxycortisol beim AGS als diagnostischer Marker benutzt (Shackleton, 1976; Wudy et al., 2000). Diese Studie konnte eine direkte Korrelation von 11β-Hydroxyandrostendion nicht nur mit Androsteron (AN), dem Metabolit von 4-Androstendion (A4), sondern ebenfalls mit Pregnantriolon (PTO), dem Harnmetaboliten von 21-Desoxycortisol, nachweisen.

Zusammenfassend ist die Synthese der 11-oxygenierte-C_{19}-Steroide in der Nebennierenrinde bei Kindern mit 21-OHD somit sowohl von 4-Androstendion durch CYP11B1 zu 11β-Hydroxyandrostendion wie vorbekannt denkbar, zum anderen ist der Metabolismus von 21-Desoxycortisol über CYP17A1 zu 11β-Hydroxyandrostendion möglich.

Der sogenannte Backdoorpathway, ein alternativer Androgensyntheseweg, in dem Dihydrotestosteron nach 5α- und 3α-Reduktion von 17-Hydroxyprogesteron über 17-Hydroxyallopregnanolon entsteht, scheint bei behandelten Kindern mit Adrenogenitalem Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel nicht von Bedeutung zu sein. Androsteron, das als bekannter Metabolit dieses Synthesewegs gilt (Kamrath et al., 2012), war im Studienteil II in allen Altersgruppen supprimiert.

Für die Glucocorticoidhomöostase von Kindern mit AGS lässt sich aus unseren Daten ableiten, dass die Substitutionsmedikation mit Hydrocortison bei Kindern mit AGS supraphysiologisch ist, denn die ausgeschiedenen Cortisolmetaboliten der Patienten überschreiten die Normalwerte von Gesunden (Wudy et al., 2007) deutlich. Bei unseren Patienten lag die Einnahme von Hydrocortison im Mittel zwischen 12–15 mg/m^2/Tag, und damit in dem von der Endocrine Society Guideline empfohlenen Bereich (Joint ESPE/LWPES CAH working Group, 2002; Speiser et al., 2010). Die physiologische Cortisolproduktion der Nebennierenrinde liegt jedoch mit etwa 7 mg/m^2/Tag wesentlich niedriger (Linder et al., 1990). Die BMI-Werte korrelierten mit der Hydrocortisondosierung und den Cortisolmetaboliten. Dies zeigte sich vor allem bei Jungen im vorpubertären Alter. Die Erkenntnisse zur Einnahme des Hydrocortisons und der BMI-

Entwicklung bei Kindern mit klassischem AGS decken sich mit einer Vielzahl weiterer Veröffentlichungen (Bonfig et al., 2009; Speiser et al., 2010; Webb & Krone, 2015), auch wenn andere Studien keine direkte Korrelation nachweisen konnten (Manoli et al., 2002; Van der Kamp et al., 2002).

5.2.3 AUSBLICK

Neue Forschungsentwicklungen zeigen die Bedeutung von 11-oxygenierten-C_{19}-Steroiden sowohl beim AGS durch 21-Hydroxylase-Mangel (Turcu et al., 2016), beim Polyzystischen Ovarialsyndrom (O'Reilly et al., 2016), und dem kastrationsresistenten Prostatakrebs (Storbeck et al., 2013). Zukünftige Studien könnten zeigen, welche Bedeutung die 11-oxygenierten-C_{19}-Androgene auch bei anderen Erkrankungen der Steroidsynthese, wie verfrüht eintretender Adrenarche oder bei postmenopausalen Frauen, haben (Turcu & Auchus, 2017b).
Auch diese Studie unterstützt mit den Messungen des 11β-Hydroxyandrosterons im Urin die neuen Erkenntnisse zu 11-oxygenierten-C_{19}-Steroiden und trägt damit zur Weiterentwicklung des Therapiemonitorings beim klassischen AGS bei. Wir konnten erstmals nachweisen, dass der Androgenanstieg bei Kindern mit 21-Hydroxylase-Mangel durch eine erhöhte 11β-Hydroxyandrostendion-Ausscheidung bedingt ist. Entscheidend kann hierbei für Kinder mit 21-OHD der neuskizzierte Entstehungsweg des 11β-Hydroxyandrosterons über 17-Hydroxyprogesteron und 21-Desoxycortisol sein. Weitere Studien müssen zeigen, inwieweit das 11β-Hydroxyandrosteron alters- und geschlechtsbezogen auch im Blutplasma von Patienten mit 21-OHD nachweisbar ist.

Die hier veröffentlichen Daten können bei weiteren Untersuchungen als Referenzwerte dienen, beispielsweise um medikamentöse Therapieregime bei Patienten mit 21-OHD (zum Beispiel Hydrocortison versus Dexamethason und Prednisolon bei älteren Kindern und Erwachsenen, oder Hydrocortisonpräparate mit veränderter Wirkstofffreisetzung) zu vergleichen. Auch für zukünftige Studien zum zeitlichen Therapieregime, beispielsweise der Verteilung der Einzeldosen des Hydrocortisons während des Tages, können unsere Referenzwerte hilfreich sein.
Abseits der klinischen Forschung, können die hier gezeigten Harnsteroidwerte als Referenzwerte beim Therapiemonitoring des klassischen AGS in der klinischen Praxis nützen. Sie ermöglichen dem behandelnden Kinderendokrinologen das Hormonprofil eines Kindes mit einer großen Gruppe erkrankter Kinder unter Behandlung zu vergleichen, um die richtige Medikamentendosierung zu finden. Die Gefahren von Androgenexzess und Hypercortisolismus können so für pädiatrischen Patienten mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel minimiert werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Das Adrenogenitale Syndrom durch 21-Hydroxylase-Mangel (21-OHD) ist eine schwerwiegende Steroidhormonerkrankung. Zugrunde liegen Mutationen im CYP21A2-Gen. Das Symptomspektrum reicht von Virilisierung und Hirsutismus bis hin zu lebensbedrohlicher Salzverlustkrise mit Erbrechen, Übelkeit, Hypotonie und Schock. Wachstumsbeschleunigung im Kindesalter und reduzierte Endgröße sowie Infertilität stellen zusätzliche Gefahren bei insuffizienter Therapie dar. Die Therapie mit Hydrocortison muss sorgsam zwischen Über- und Unterdosierung ausbalanciert werden. Dabei drohen gleichzeitig die enormen Folgen eines Hyperandrogenismus bei zu geringer Hydrocortison-Medikation, sowie die eines Hypercortisolismus und iatrogenem Cushing-Syndroms bei zu hoher Hydrocortison-Medikation. Bei Kindern und Adoleszenten stellt der stetige Wachstumsprozess eine weitere Schwierigkeit bei der Therapieeinstellung dar. Auch der erhöhte Glucocorticoidbedarf bei Krankheit und Fieber erfordert die Erhöhung der Hormondosis. Die medikamentöse Therapie unterliegt einer ständigen Anpassung. Ein genaues Therapiemonitoring ist unverzichtbar.

Ziel dieser Studie war, Wachstumsdaten und das Urinmetabolom von behandelten Kindern mit 21-Hydroxylase-Mangel zu charakterisieren, um daraus detaillierte Schlüsse für die Therapieoptimierung der Erkrankung ziehen zu können.

Die Harnmetabolomanalyse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie ermöglichte ein genaues Abbild der Konstellation der Cortisol-, 17α-Hydroxyprogesteron- und Androgenmetaboliten der behandelten Kinder. Die Analyse der großen Patientenkohorte, die Harnmetabolitendaten von Kindern zwischen 3–18 Jahren in einem Zeitraum von 10 Jahren (2003-2013) einschloss, ließ nach Erstellen von SDS-Werten (Z-Scores) fundierte Aussagen über die Wachstumsentwicklungen und das Urinmetabolom bei Kindern mit 21-Hydroxylase-Mangel zu.

Von größter Relevanz scheint das vermehrte Auftreten von 11β-Hydroxyandrosteron, als Metabolit einer Gruppe von 11-oxygenierten-Androgenen, im Urin der Kinder zu sein. Es dominierte die Exkretion der Androgenmetaboliten quantitativ und war im Vergleich

mit gesunden Kindern stark erhöht. Diese Studie lässt einen Syntheseweg der 11-oxygenierten-Androgene über 21-Desoxycortisol vermuten, der die klassischen Androgene, wie Androstendion, umgeht. 11-oxygenierte-Androgene, die als hochpotente Androgene gelten, können als dominante Androgene bei erkrankten Kindern angenommen werden und erlauben neue Einsicht in den Androgenexzess bei Kindern mit klassischem AGS durch 21-Hydroxylase-Mangel.

Mithilfe der präsentierten alters- und geschlechtsspezifischen Referenzwerte ermöglicht die vorliegende Analyse Ärzten ihre Patienten im Vergleich mit einer großen Gruppe anderer Patienten mit 21-Hydroxylase-Mangel zu beurteilen und hieraus Schlüsse für eine fundierte evidenzbasierte Therapieentscheidung ziehen zu können. Auch zukünftige Studien können die vorliegenden Daten als Referenzwerte nutzen und müssen zeigen, welche Bedeutung das 11β-Hydroxyandrosteron als Biomarker in der klinischen Praxis einnehmen kann.

7 SUMMARY

Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) is a severe disease in steroid homeostasis. It is caused by mutations in the CYP21A2 gene encoding the 21-hydroxylase enzyme. The variety of symptoms reaches from virilization and hirsutism to life threatening salt wasting crisis with nausea and vomiting, hypotension and shock. Acceleration of growth during childhood as well as limited final end height and infertility are additional major risks if therapy is insufficient. Medical treatment consists of daily intake of hydrocortisone and fludrocortisone and needs to be balanced between over- and undertreatment. Hyperandrogenism as well as a hypercortisolism and iatrogenic Cushing's syndrome are threatening consequences for the patient when prescribed hydrocortisone dose remains too low or too high. In childhood and during puberty the growth process adds additional challenges in treatment of 21-hydroxylase deficiency. During illness and febrile temperatures increased glucocorticoid dosage is mandatory. Medical treatment needs to be supervised continuously and needs to be adjusted to the patients' clinical symptoms.

The aim of this study was to characterize growth development and the urinary steroid metabolome of treated children suffering from 21-OHD in order to optimize treatment options in future.

Urinary steroid profile analysis by gas chromatography-mass spectrometry provided insight in glucocorticoid, 17α-hydroxyprogesterone and androgen metabolites. This study was able to analyse a large cohort of treated children with 21-OHD, consisting of patients aged 3-18 years, monitored over a time span of ten years (2003-2013). Z-scores and statistical analysis presented profound knowledge about growth development and urinary steroid metabolites of paediatric patients with 21-hydroxylase deficiency.

The results suggest that 11β-hydroxyandrosterone, a metabolite of a group of 11-oxygenated androgens, seems to play a major role in androgen excess of treated children. Metabolite levels lay above the normal excretion for 11β-hydroxyandrosterone of healthy children and dominated the levels of all other androgen metabolites measured in

our cohort. Analysis indicates a new synthesis pathway of 11-oxygenated androgens through 21-deoxycortisol bypassing the so called ‘classical’ androgens, like androstendion. 11-oxygenated androgens are seen to be highly potent androgens and can be considered to be the dominant androgens in children with 21-OHD. This gives new insight into androgen excess in paediatric patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-OHD.

We present age- and gender specific reference values of children suffering from 21-OHD. Physicians will be able to use these reference values to evaluate metabolite levels of their patients in comparison with a large cohort of also affected children and draw evidence based conclusion in monitoring and treatment. Studies can use the presented values as reference for steroid metabolite measurements in future additionally. Further studies will have to show if 11β-hydroxyandrosterone can serve as a biomarker in clinical daily use.

8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

11KA4	11-Ketoandrostendion
11KT	11-Ketotestosteron
11OHA4	11β-Hydroxyandrostendion
11OHAN	11β-Hydroxyandrosteron
11OHT	11β-Hydroxytestosteron
11β-OHAN	11β-Hydroxyandrosteron
11βOHase	11-β-Hydroxylase
17HP	17α-Hydroxypregnanolon
17OHP	17-Hydroxyprogesteron
17OHPreg	17-Hydroxypregnenolon
17αOHase	17α-Hydroxylase
21-OHD	21-Hydroxylase-Mangel
21DF	21-Desoxycortisol
3βHSD	3β-Hydroxysteroiddehydrogenase
5α17HP	17α-Hydroxyallopregnanolon
5αTHF	5α-Tetrahydrocortisol
A4	4-Androstendion
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon, Vasopressin

AGS	Adrenogenitales Syndrom
AN	Androsteron
CAH	Congenital adrenal hyperplasia
CRH	Corticotropin-Releasing Hormon
CYP11A1	P450-Side-Chain-Cleavage-Enzyme
CYP11B1	11β-Hydroxylase Typ 1
CYP11B2	11β-Hydroxylase Typ 2, Aldosteronsynthase
CYP17A1	17α-Hydroxylase Typ 1
CYP21A2	21-Hydroxylase Typ 2
d	dies (lat.), Tag
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEA(S)	Dehydroepiandrosteronsulfat
DHT	Dihydrotestosteron
ET	Etiocholanolon
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
HC	Hydrocortison
HSD3B2	3β-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 2
KOF	Körperoberfläche
LC-MS/MS	Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie
n.s.	nicht signifikant
NNR	Nebennierenrinde

P450scc	P450-Side-Chain-Cleavage-Enzyme
POR	P450-Oxidoreduktase
Preg	Pregnenolon
Prog	Progesteron
PT	Pregnantriol
PTO	Pregnantriolon
SDS; Z-Score	Standard Deviation Score
SRD5A2	5α-Reduktase Typ 2
StAR	Steroidogenic Acute Regulatory Protein
T	Testosteron
THE	Tetrahydrocortison
THF	Tetrahydrocortisol
Z-Score	siehe SDS

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1	Strukturformel des Cholesterins	2
ABBILDUNG 2	Teilausschnitt der Steroidsynthese ausgehend vom Cholesterin	6
ABBILDUNG 3	Beispiel einer Harnsteroidmetabolomanalyse	25
ABBILDUNG 4	Steroidsynthese mit Metaboliten	28
ABBILDUNG 5	Körperhöhe in cm bei Kindern mit 21-OHD	41
ABBILDUNG 6	Körperhöhen-SDS-Werte bei Kindern mit 21-OHD	42
ABBILDUNG 7	BMI in kg/m^{2}KOF bei Kindern mit 21-OHD	44
ABBILDUNG 8	BMI-SDS-Werte bei Kindern mit 21-OHD	45
ABBILDUNG 9	Hydrocortisondosis in mg/m^{2}KOF/Tag	48
ABBILDUNG 10	Cortisolmetabolitenexkretion µg/m^{2}KOF/ Tag	49
ABBILDUNG 11	Verhältnis der Cortisolmetaboliten (Ratio) zu der verordneten Hydrocortisondosis	50
ABBILDUNG 12	5α-Reduktase-Aktivität	52
ABBILDUNG 13	11β-Hydroxysteroiddehydrogenase-Aktivität	53
ABBILDUNG 14	Logarithmierte 17α-Hydroxyprogesteronmetaboliten	56
ABBILDUNG 15	Logarithmiertes 11β-Hydroxyandrosteron	59
ABBILDUNG 16	Logarithmierte DHEA-Metaboliten	60

ABBILDUNG 17 Logarithmiertes Androsteron 61

ABBILDUNG 18 Logarithmiertes Etiocholanolon 62

ABBILDUNG 19 Summe der logarithmierten Androgenmetaboliten 63

ABBILDUNG 20 Darstellung der absoluten Werte der Androgenmetaboliten 64

ABBILDUNG 21 Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 3–4 Jahre 68

ABBILDUNG 22 Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 5–6 Jahre 69

ABBILDUNG 23 Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 7–8 Jahre 70

ABBILDUNG 24 Z-Scores der Exkretion von AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten und der Cortisolmetaboliten in der Altersgruppe 9–10 Jahre 71

ABBILDUNG 25 Lineare Regressionsanalyse Harnsteroidexkretion von 11OHAN in Abhängigkeit von AN, PTO, 17OHP-Metaboliten, DHEA-Metaboliten, der Cortisolmetaboliten und des Alters (A-F) 80

ABBILDUNG 26 Syntheseweg der Steroide zum 11OHAN 92

10 TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1	Harnsteroidmetaboliten Übersicht	30
TABELLE 2	Studienteil I: Alter, Anzahl, Hydrocortisondosis, Körperoberfläche, Urinvolumen	38
TABELLE 3	Studienteil I: Wachstumsdaten	40
TABELLE 4	Urincortisolmetabolitenexkretion	47
TABELLE 5	17α-Hydroxyprogesteronmetabolitenexkretion	55
TABELLE 6	Androgenmetabolitenexkretion	58
TABELLE 7	Studienteil II: Alter und Wachstumsdaten (Größe, Größen-Z-Scores, Gewicht, BMI, BMI-Z-Scores) und Hydrocortisondosis Jungen	66
TABELLE 8	Studienteil II: Alter und Wachstumsdaten (Größe, Größen-Z-Scores, Gewicht, BMI, BMI-Z-Scores) und Hydrocortisondosis Mädchen	66
TABELLE 9	Unterschied der DHEA-Metaboliten zw. den Geschlechtern	72
TABELLE 10	Unterschied der 17OHP -Metaboliten zw. den Geschlechtern	72
TABELLE 11	Unterschied der Cortisolmetaboliten zw. den Geschlechtern	72
TABELLE 12	Unterschied der Androgenmetaboliten-Z-Scores untereinander bei den Jungen	73
TABELLE 13	Unterschied der Androgenmetaboliten- Z-Scores untereinander bei den Mädchen	73
TABELLE 14	Unterschiede zwischen 11OHAN- und AN-Z-Scores bei den Jungen	74

TABELLE 15 Unterschiede zwischen 11OHAN- und AN-Z-Scores bei den Mädchen 74

TABELLE 16 Unterschiede zwischen 11OHAN- und DHEA-Metaboliten-Z-Scores bei den Jungen 74

TABELLE 17 Unterschiede zwischen 11OHAN- und DHEA-Metaboliten-Z-Scores bei den Mädchen 75

TABELLE 18 Tägliche Harnsteroidexkretion AN, 11OHAN, DHEA-Metaboliten, 17OHP-Metaboliten, PTO, Cortisolmetaboliten 76

TABELLE 19 Lineare Korrelationsanalyse nach Pearson 11OHAN und AN, 17HPs, PTO, DHEA-Metaboliten, Alter 78

TABELLE 20 Multivariate Regressionsanalyse 11OHAN und AN, 17HPs, PTO, DHEA-Metaboliten, Alter 82

11 LITERATURVERZEICHNIS

Aickin, M. & Gensler, H., 1996. Adjusting for multiple testing when reporting research results: the Bonferroni vs Holm methods. *American journal of public health*, 86(5), pp.726–8.

Akolekar, R., Beta, J., Picciarelli, G., Ogilvie, C., D'Antonio, F., 2015. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 45(1), pp.16–26.

Arlt, W., Walker, E.A., Draper, N., Ivison, H.E., Ride, J.P., Hammer, F., Chalder, S.M., Borucka-Mankiewicz, M., Hauffa, B.P., Malunowicz, E.M., Stewart, P.M., Shackleton, C.H.L., 2004. Congenital adrenal hyperplasia caused by mutant P450 oxidoreductase and human androgen synthesis: Analytical study. *Lancet*, 363(9427), pp.2128–2135.

Auchus, R.J., 2004. The backdoor pathway to dihydrotestosterone. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 15(9), pp.432–438.

Auchus, R.J. & Arlt, W., 2013. Approach to the Patient : The Adult With Congenital Adrenal Hyperplasie. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(7), pp.2645–2655.

AWMF Leitlinie Adrenogenitales Syndrom, 2010. *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften, Leitlinien der Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin (DGKJ)*, pp.1–4.

Azziz, R., Dewailly, D. & Owerbach, D., 1994. Nonclassic Adrenal Hyperplasia: Current Concepts. The *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 78(4), pp.810–815.

Balsamo, A., Cacciari, E., Piazzi, S., Cassio, A., Bozza, D., Pirazzoli, P, Zappulla, F., 1996. Congenital adrenal hyperplasia: neonatal mass screening compared with clinical diagnosis only in the Emilia-Romagna region of Italy, 1980-1995. *Pediatrics*, 98(3 Pt 1), pp.362–367.

Barnes, N.D. & Atherden, S.M., 1972. Diagnosis of congenital adrenal hyperplasia by measurement of plasma 17-hydroxyprogesterone. *Archives of disease in childhood*, 47(251), pp.62–65.

Bartter, F.C., Albright, F., Forbies, A.P., Leaf, A., Dempsey, E., Carroll, E., 1951. The Effects of Adrenocorticotropic Hormone and Cortisone in the Adrenogenital Syndrome Associated with Congenital Adrenal Hyperplasia: An Attempt to Explain and Correct its Disordered Hormonal Pattern. *The Journal of Clinical Investigation*, 30(3), pp.237–251.

Bonfig, W., Bechthold, S., Schmidt, H., Knorr, D., Schwarz, H.P., 2007. Reduced Final Height Outcome in Congenital Adrenal Hyperplasia under Prednisone Treatment: Deceleration of Growth Velocity during Puberty. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(5), pp.1635–1639.

Bonfig, W., Bechthold Dalla Pozza, S., Schmidt, H., Pagel, P., Knorr, D., Schmwarz, H.P., 2009. Hydrocortisone Dosing during Puberty in Patients with Classical Congenital Adrenal Hyperplasia: An Evidence-Based Recommendation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(10), pp.3882–3888.

Brosnan, P.G., Brosnan, C.A., Kemp, S.F., Domek, D.B., Jelley, D.H., Blackett, P.R., Riley, W.J., 1999. Effect of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 153(12), pp.1272–1278.

Cabrera, M.S., Vogiatzi, M.G. & New, M.I., 2001. Long Term Outcome in Adult Males with Classic Congenital Adrenal Hyperplasia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(7), pp.3070–3078.

Caulfield, M.P., Lynn, T., Gottschalk, M.E., Jones, K.L., Taylor, N.F., Malunowicz, E.M., Shackleton, C.H.L., Reitz, R.E., Fisher, D.A., 2002. The Diagnosis of Congenital Adrenal Hyperplasia in the Newborn by Gas Chromatography/Mass Spectrometry Analysis of Random Urine Specimens. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(8), pp.3682–3690.

Charmandari, E., Matthews, D.R., Johnston, A., Brook, C.G.D., Hindmarsh, P.C., 2001. Serum Cortisol and 17-Hydroxyprogesterone Interrelation in Classic 21-Hydroxylase Deficiency: Is Current Replacement Therapy Satisfactory? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(10), pp.4679–4685.

Claahsen-van der Grinten, H.L., Hermus, A.R.M.M. & Otten, B.J., 2009. Testicular Adrenal Rest Tumours in Congenital Adrenal Hyperplasia. *International Journal of Pediatric Endocrinology*, 2009(Article ID 624823), pp. 1-8.

Clark, B.J., Wells, J., King, S.R., Stocco, D.M., 1994. The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 Mouse leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR). *Journal of Biological Chemistry*, 269(45), pp.28314–28322.

Cole, T.J. & Green, P.J., 1992. Smoothing reference centile curves: The lms method and penalized likelihood. *Statistics in Medicine*, 11(10), pp.1305–1319.

Conover, W.J. & Iman, R.L., 1982. Analysis of covariance using the rank transformation. *Biometrics*, 38(3), pp.715–724.

Costa, J.-M., Benachi, A., Gautier, E., Jouannic, J.-M., Ernault, P., Dumez, Y., 2001. First-trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR. *Prenatal Diagnosis*, 21(12), pp.1070–1074.

Coulm, B., Coste, J., Tardy, V., Ecosse, E., Roussey, M., Morel, Y., Carcel, J.-C., DHCSF Study Group, 2012. Efficiency of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in children born in mainland France between 1996 and 2003. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 166(2), pp.113–120.

Dauber, A., Kellogg, M. & Majzoub, J.A., 2010. Monitoring of Therapy in Congenital Adrenal Hyperplasia. *Clinical Chemistry*, 56(8), pp.1245-1251.

Dorfman, R.I., 1954. In Vivo Metabolism of Neutral Steroid Hormones. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 14(3), pp.318–325.

Dorfman, R.I., Ungar, F., 1965. Metabolism of Steroid Hormones. *Academic Press New York and London*.

Eugster, E. A., Dimeglio, L.A., Wright, J.C., Freidenberg, G.R., Seshadri, R., Pescovitz, O.H., 2001. Height outcome in congenital adrenal hyperplasia caused by 21-hydroxylase deficiency: A meta-analysis. *Journal of Pediatrics*, 138(1), pp.26–32.

Evans, M.I. & Wapner, R.J., 2005. Invasive prenatal diagnostic procedures 2005. *Seminars in Perinatology*, 29(4), pp.215–8.

Ezquieta, B., Oliver, A., Gracia, R., Gancedo, P.G., 1995. Analysis of steroid 21-hydroxylase gene mutations in the Spanish population. *Human Genetics*, 96(2), pp.198–204.

Frasier, S.D., Thorneycroft, I.H., Weiss, B.A., Horton R., 1975. Letter: Elevated amniotic fluid concentration of 17 alpha-hydroxyprogesterone in congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of Pediatrics*, 86(2), pp.310–312.

Frisch, H., Parth, K., Schober, E., Swoboda, W., 1981. Circadian patterns of plasma cortisol, 17-hydroxyprogesterone, and testosterone in congenital adrenal hyperplasia. *Archives of Disease in Childhood*, 56(3), pp.208–213.

Goldzieher, J.W. & Beering, S.C., 1969. Metabolism of 11β-Hydroxyandrostenedione, Adrenosterone and Hydrocortisone to Urinary 11-Oxy 17-Ketosteroids. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(2), pp.171–178.

Gomez, M.T., Malozowski S., Winterer, J., Vamvakopoulos, N.C., Chrousos, G.P., 1991 Urinary free cortisol values in normal children and adolescents, *The Journal of Pediatrics.* 118(2), pp. 256–258.

Gower, D.B., 1984. Steroid catabolism and urinary excretion; *In: Makin H.l.J. (ed), Biochemistry of Steroid Hormones, 2nd edition, Blockwell scientific publications Oxford London Edinburgh Boston Palo Alto Melbourne*, pp.349-362.

Grigorescu-Sido, A., Bettendorf, M., Schulze, E., Duncea, I., Heinrich, U., 2003. Growth Analysis in Patients with 21-Hydroxylase Deficiency Influence of Glucocorticoid Dosage, Age at Diagnosis, Phenotype and Genotype on Growth and Height Outcome. *Hormone Research*, 60(2), pp.84–90.

Han, T.S., Walker, B.R., Arlt, W., Ross, R.J., 2014. Treatment and health outcomes in adults with congenital adrenal hyperplasia. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(2), pp.115–124.

Hauffa, B. & Hiort, O., 2011. P450 side-chain cleavage deficiency - a rare cause of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrine Development*, 20, pp.54–62.

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. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(12), pp.6087–6091.

Homoki, J., Solyom, J., Wachter, U., Teller, W.M., 1992. Urinary excretion of 17-hydroxypregnanolones in patients with different forms of congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency. *European Journal of Pediatrics*, 151(1), pp.24–28.

Honour, J.W., 1997. Steroid profiling. *Annals of Clinical Biochemistry*, 34, pp.32–44.

Itoi, K., Seasholtz, A.F. & Watson, S.J., 1998. Cellular and Extracellular Regulatory Mechanisms of Hypothalamic Corticotropin-Releasing Hormone Neurons. *Endocrine Journal*, 45(1), pp.13–33.

Jääskeläinen, J. & Voutilainen, R., 1997. Growth of Patients with 21-Hydroxylase Deficiency: An Analysis of the Factors Influencing Adult Height. *Pediatric Research*, 41(1), pp.30–33.

Jailer, J.W., Gold, J.J., Vande Wiele, R., Lieberman, S., 1955. 17 α-hydroxyproesterone and 21-desoxyhydrocortisone; their metabolism and possible role in congenital adrenal virilism. *The Journal of Clinical Investigation*, 34(11), pp.1639–1646.

Jeanloz, R., Levy, H., Jacobsen, R., Hechter, O., Schenker, V., Pincus, G.,1953. Chemical transformations of steroids by adrenal perfusion. *Journal of Biological Chemistry*, 203, pp. 453-461.

Joint ESPE/LWPES CAH working Group, 2002. Consensus Statement on 21-Hydroxylase Deficiency from The European Society for Paediatric Endocrinology and The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, *Hormone Research,* 58, pp.188–195.

van der Kamp, H.J. et al., 2002. Longitudinal analysis of growth and puberty in 21-hydroxylase deficiency patients. *Archives of disease in childhood*, 87(2), pp.139–144.

van der Kamp H.J., Wit J.M., 2004. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *European Journal of Endocrinology*, 151, pp.U71-U75.

Kamrath, C., Hochberg, Z., Hartmann, M.F., Remer, T., Wudy, S.A., 2012. Increased Activation of the Alternative "Backdoor" Pathway in Patients with 21-Hydroxylase Deficiency: Evidence from Urinary Steroid Hormone Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 97 (3), pp.367–375.

Kamrath, C., Hartmann, M.F., Wudy, S., 2013. Der alternative Androgensyntheseweg des Menschen. *Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York. Klinische Pädiatrie*, 225(01), pp.3–7.

Kamrath, C., Hartmann, M.F., Boettcher, C., Wudy, S.A., 2014. Reduced Activity of 11β-Hydroxylase Accounts for Elevated 17α-Hydroxyprogesterone in Preterms. *The Journal of Pediatrics*, 165(2), pp.280–284.

Kamrath, C., Hartmann, M.F., Boettcher, C., Zimmer, K.-P., Wudy, S.A., 2016. Diagnosis of 21-hydroxylase deficiency by urinary metabolite ratios using gas chromatography-mass spectrometry analysis: Reference values for neonates and infants. *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 156, pp.10–16.

Kamrath C., Wettstaedt L., Boettcher C., Hartmann M.F., Wudy S.A., 2017a. The urinary steroidome of treated children with classic 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology,* 165, pp.396–406.

Kamrath C., Wettstaedt L., Boettcher C., Hartmann M.F., Wudy S.A., 2017b. Androgen excess is due to elevated 11-oxygenated androgens in treated children with congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 178, pp. 221-228.

Knorr, D. & Hinrichsen de Lienau, S.G., 1988. Persistent obesity and short final height after corticoid overtreatment for congenital adrenal hyperplasia (CAH) in infancy. *Acta Paediatrica Japonica: Overseas edition*, 30 Suppl, pp.89–92.

Kohn, B., Levine, L.S., Pollack, M.S., Pang, S., Lorenzen, F., Levy, D., Lerner, A.J., Rondanini, G.F., Dupont, B.O., New, M.I., 1982. Late-Onset Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: A Variant of Classical Congenital Adrenal Hyperplasia. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 55(5), pp.817–27.

Krone, N., Braun, A., Roscher, A.A., Knorr, D., Schwarz, H.P., 2000. Predicting Phenotype in Steroid 21-Hydroxylase Deficiency? Comprehensive Genotyping in 155 Unrelated, Well Defined Patients from Southern Germany. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(3), pp.1059–1065.

Krone, N., Dhir, V., Ivison, H.E., Arlt, W., 2007. Congenital adrenal hyperplasia and P450 oxidoreductase deficiency. *Clinical Endocrinology*, (66), pp.162–172.

Krone, N., Hughes, B.A., Lavery, G.G., Stewart, P.M., Arlt, W., Shackleton, C.H.L., 2010. Gas chromatography / mass spectrometry (GC / MS) remains a pre-eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry. *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 121, pp.496–504.

Kuhnle, U., Chow, D., Rapaport, R., Pang, S., Levine, L.S., New, M.I., 1981. The 21-Hydroxylase Activity in the Glomerulosa and Fasciculata of the Adrenal Cortex in Congenital Adrenal Hyperplasia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 52(3), pp.534–544.

Kulle, A., Krone, N., Holterhus P.M., Schuler, G., Greaves, R.F., Juul, A., de Rijke, Y.B., Hartmann, M.F., Saba, A., Hiort, O., Wudy, S.A., EU COST Action, 2017. Steroid hormone analysis in diagnosis and treatment of DSD: position paper of EU COST Action BM 1303 'DSDnet'. *European Journal of Endocrinology*, 176(5), pp. P1–P9

Lamberts, S.W.J., Bruining, H.A. & de Jong, F.H., 1997. Corticosteroid Therapy in Severe Illness. *New England Journal of Medicine*, 337(18), pp.1285–1292.

Linder, B.L., Esteban, N.V., Yergey, A.L., Winterer, J.C., Loriaux, D.L., Cassorla, F., 1990. Cortisol production rate in childhood and adolescence. *The Journal of Pediatrics*, 117(6), pp.892–896.

Manoli, I., Kanaka-Gantenbein, C., Voutetakis, A., Maniati-Christidi, M., Dacou-Voutetakis, C., 2002. Early growth, pubertal development, body mass index and final height of patients with congenital adrenal hyperplasia: Factors influencing the outcome. *Clinical Endocrinology*, 57(5), pp.669–676.

Merke, D.P. Chrousos, G.P., Eisenhofer, G., Weise, M., Keil, M.F., Rogol, A.D., 2000. Adrenomedullary Dysplasia and Hypofunction in Patients with Classic 21-Hydroxylase Deficiency. *New England Journal of Medicine*, 343(19), pp.1362–1368.

Merke, D.P. & Bornstein, S.R., 2005. Congenital adrenal hyperplasia., *Lancet*, 365, pp.2125–2136.

Miller, W.L. & Levine, L.S., 1987. Molecular and clinical advances in congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of Pediatrics*, 111(1), pp.1–17.

Miller, W.L. & Auchus, R.J., 2011. The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. *Endocrine Reviews*, 32(1), pp.81–151.

Moran, C., Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D., Fruzzetti, F., Ibañez, L., Knochenhauer, E.S., Marcondes, J.A.M., Mendonca, B.B., Pignatelli, D., Pugeat, M., Rohmer, V., Speiser, P.W., Witchel, S.F., 2000. 21-Hydroxylase – deficient nonclassic adrenal hyperplasia is a progressive disorder : A multicenter study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology,* 183(6), pp.1468–1474.

Mosteller, R.D., 1987. Simplified Calculation of Body-Surface Area. *New England Journal of Medicine*, 317(17), pp.1098–1098.

Muirhead, S., Sellers, E.A.C. & Guyda, H., 2002. Indicators of adult height outcome in classical 21-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of Pediatrics*, 141(2), pp.247–252.

Muthusamy, K., Elamin, M.B., Smushkin, G., Murad, M.H., Lampropulos, J.F., Elamin, K.B., Abu Elnour, N.O., Gallegos-Orozco, J.F., Fatourechi, M.M., Argwal, N., Lane, M.A., Albuquerque, F.N., Erwin, P.J., Montori, V.M., 2010. Adult Height in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia: A Systematic Review and Metaanalysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(9), pp.4161–4172.

New, M.I., 1994. 21-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 48(1), pp.15–22.

New, M.I., Abraham, M., Gonzalez, B., Dumic, M., Razzaghy-Azar, M., Chitayat, D., Sun, L., Zaidi, M., Wilson, R.C., Yuen, T., 2013. Genotype-phenotype correlation in 1,507 families with congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(7), pp.2611–2616.

New, M.I., Tong, Y.K., Yuen, T., Jiang, P., Pina, C., Chan, K.C.A., Khattab, A., Liao, G.J.W., Yau, M., Kim, Se-M., Chiu, R.W.K., Sun, L., Zaidi, M., Lo, Y.M., 2014. Noninvasive Prenatal Diagnosis of Congenital Adrenal Hyperplasia Using Cell-Free Fetal DNA in Maternal Plasma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(6), pp.E1022–E1030.

Nimkarn, S., Gangishetti, P.K., Yau, M., New, M.I., 1993. 21-Hydroxylase-Deficient Congenital Adrenal Hyperplasia. *In Adam M.P., Ardinger H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean L.J.H., Stephens, K., Amemiva, A., editors. Gene Reviews, Seattle (WA), USA.*

Nimkarn, S. & New, M.I., 2008. Steroid 11β- hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 19(3), pp.96–99.

Nimkarn, S., Lin-Su, K. & New, M.I., 2011. Steroid 21 Hydroxylase Deficiency Congenital Adrenal Hyperplasia. *Pediatric Clinics of North America*, 58(5), pp.1281–1300.

Nordenstrom, A., Ahmed, S., Jones, J., Coleman, M., Price, D.A., Clyton, P.E., Hall, C.M., 2005. Female Preponderance in Congenital Adrenal Hyperplasia due to CYP21 Deficiency in England: Implications for Neonatal Screening. *Hormone Research*, 63(1), pp.22–28.

O'Reilly, M.W., Kempegowda, P., Jenkinson, C., Taylor, A.E., Quanson, J.L., Storbeck, K.-H., Arlt, 2016. 11-oxygenated C19 steroids Are the Predominant Androgens in Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 138(6), pp. 840-848.

Oelkers, W.K. 1996. Effects of estrogens and progestogens on the renin-aldosterone system and blood pressure. *Steroids*, 6. pp.166-171.

Pang, S., Spence, D.A. & New, M.I., 1985. Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia with Special Reference to Screening in Alaska. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 458(1), pp.90–102.

Pang, S., Clark, A., Carmago Neto, E., Giugliani, R., Dean, H., Winter, J., Dhondt, J.-L., Farriaux, J.P., Graters, A., Cacciari, E., Balsamo, A., Piazzi, S., Suwa, S., Kuroda, Y., Wada, Y., Naruse, H., Kizaki, T., Ichihara, N., Arai, O., Harada, S., Fujieda, K., Matsuura, N., Kusuda, S., Fukushi, M., Mizushima, Y., Kikuti, Y., Yoyoura, T., Saisho, S., Shimozawa, K., Matsumoto, M., Webster, D., Vilarinho, L., Wallace, A.M., Eguileor, I., Marzana, I., Dulin Iniguez, E., Fernandez Sanchez, A., Gonzalez Gallego, C., Hagenfeldt, L., Guthenberg, C., van Dobeln, U., Thilen, A., Larsson, A., Torresani, T., LeBlond, C., Papdea, C., Rumph, F., Craft, W., Kling, S., Tsalikian, E., Cook, J., Getchell, J., Susanin, J., Mitchell, M., Hofman, L., Naylor, E., Therrell, B., Brown, L., Prentice, L., Glass, M., Neier, S., 1993. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: Newborn screening and its relationship to the diagnosis and treatment of the disorder. *Screening*, 2(2-3), pp.105–139.

Pang, S., 1997a. Congenital adrenal hyperplasia. *Baillière's Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 11(2), pp.281–306.

Pang, S. & Shook, M.K., 1997b. Current status of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia, *Current Opinion in Pediatrics*, (9), pp. 419-423

Parsa, A.A. & New, M.I., 2016. Steroid 21-hydroxylase deficiency in congenital adrenal hyperplasia. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 165, pp.2

Pinheiro J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., R Core Team, 2016. Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. *R package version 3.1-128 (2016) URL: http://CRAN.R-project.org/package=nlme*.

Prader, A., 1954. Genital findings in the female pseudo-hermaphroditism of the congenital adrenogenital syndrome; morphology, frequency, development and heredity of the different genital forms. *Helvetica Paediatrica. Acta*, 9(3). pp.231–248.

Prader, A., Gurtner, H.P., 1955. The syndrome of male pseudohermaphrodism in congenital adrenocortical hyperplasia without overproduction of androgens (adrenal male pseudohermaphrodism. *Helvetica Paediatrica. Acta*, 10(4). pp.397–412.

Premawardhana, L.D., Hughes, I.A., Read, G.F., Scanlon, M.F., 1997. Longer term outcome in females with congenital adrenal hyperplasia (CAH): the Cardiff experience. *Clinical Endocrinology*, 46(3), pp.327–332.

Pretorius, E., Arlt, W. & Storbeck, K.H., 2016. A new dawn for androgens: Novel lessons from 11-oxygenated C19 steroids. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 441, pp.75-85.

‚R' Version 3.3.0, fR Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing, *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016 URL https://www. R-project.org/.*

Rege, J., Nakamura, Y., Satoh, F., Morimoto, R., Kennedy, M.R., Layman, L.C., Honma, S., Sasano, H., Rainey, W.E., 2013. Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Analysis of Human Adrenal Vein 19-Carbon Steroids Before and After ACTH Stimulation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(3), pp.1182–1188.

Reichman, D.E., White, P.C., New, M.I., Rosenwaks, Z., 2014. Fertility in patients with congenital adrenal hyperplasia. *Fertility and Sterility*, 101(2), pp.301–309.

Remer, T., Bove, K.R., Hartmann, M.F., Wudy, S.A., 2005. Urinary Markers of Adrenarche: Reference Values in Healthy Subjects, Aged 3-18 Years. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(4), pp.2015–2021.

Rezvani, I., Garibaldi, L.R., Digeorge, A.M., Artman, H.G., 1983. Disproportionate Suppression of Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEAS) in Treated Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Pediatric Research*, 17(2), pp.131–134.

Rhéaume, E., Lachance, Y., Zhao, H.F., Breton, N., Dumont, M., de Launoit, Y., Trudel, C., Luu-The, V., Simard, J., Labrie, F., 1991. Structure and Expression of a New Complementary DNA Encoding the almost Exclusive 3ß-Hydroxysteroid Dehydrogenase/Δ^5-Δ^4-Isomerase in Human Adrenals and Gonads. *Molecular Endocrinology*, 5(8), pp.1147–1157.

Riepe, F.G. & Sippell, W.G., 2007. Recent advances in diagnosis, treatment, and outcome of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 8(4), pp.349–363.

Robert-Koch-Institut, Abteilung für Epidemiologie und Gesundheitsmonitoring, 2010. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Referenzperzentile für anthropometrische Maßzahlen und Blutdruck aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS), *2. Erweiterte Auflage, Robert-Koch-Institut,* pp. 1-127.

Rubin, R.T. & Phillips, J.J., 1991. Adrenal gland volume determination by computed tomography and magnetic resonance imaging in normal subjects. *Investigative Radiology*, 26(5), pp.465–469.

Scott, L. V & Dinan, T.G., 1998. Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: Implications for the pathophysiology of depression. *Life Sciences*, 62(22), pp.1985–1998.

Shackleton, C.H., 1976. Congenital adrenal hyperplasia caused by defect in steroid 21-hydroxylase. Establishment of definitive urinary steroid excretion pattern during first weeks of life. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 67(3), pp.287–298.

Sharifi, N. & Auchus, R.J., 2012. Steroid biosynthesis and prostate cancer. *Steroids*, 77(7), pp.719–726.

Soldin, S.J. & Soldin, O.P., 2009. Steroid Hormone Analysis by Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry*, 55(6), pp.1061–1066.

Speiser, P.W., Dupont, B., Rubinstein, P., Piazza, A., Kastelan, A., New, M.I., 1985. High Frequency of Nonclassical Steroid 21-hydroxylase Deficiency. *American Journal of Human Genetics*, 37(4), pp.650–667.

Speiser, P.W., Laforgia, N., Kato, K., Parcira, J., Khan, R., Yang, S.Y., Whorwood, C., White, P.C., Elias, S., Schriock, E., Schriock, E., Simpson, J.L., Taslimi, M., Najjar, J., May, S., Mills, G., Crawford, C., New, M.I., 1990. First Trimester Prenatal Treatment and Molecular Genetic Diagnosis of Congenital Adrenal Hyperplasia (21-Hydroxylase Deficiency). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 70(4), pp.838–848.

Speiser, P.W. & White, P.C., 2003. Congenital Adrenal Hyperplasia. *The New England Journal of Medicine*, 349(8), pp.776–788.

Speiser, P.W., Azziz, R., Baskin, L.S., Ghizzoni, L., Hensle, T.W., Merke, D.P., Meyer-Bahlburg, H.F.L., Miller, W.L., Montori, V.M., Oberfield, S.E., Ritzen, M., White, P.C., 2010. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(9), pp.4133–4160.

Stocco, D.M. & Clark, B.J., 1996. Regulation of the Acute Production of Steroids in Steroidogenic Cells. *Endocrine Reviews*, 17(3), pp.221–244.

Storbeck, K.-H., Bloem, L.M., Africander, D., Schloms, L., Swart, P., Swart, A.C., 2013. 11β-Hydroxydihydrotestosterone and 11-ketodihydrotestosterone, novel C19 steroids with androgenic activity: A putative role in castration resistant prostate cancer? *Molecular and Cellular Endocrinology*, 377, pp.135–146.

Swart, A.C. & Storbeck, K.-H., 2015. 11β-hydroxyandrostenedione: Downstream metabolism by 11βHSD, 17βHSD and SRD5A produces novel substrates in familiar pathways. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 408, pp.114–123.

Tardy-Guidollet, V., Menasse, R., Costa, J.-M., David, M., Bouvattier-Morel, C., Baumann, C., Houang, M., Lorenzini, F., Philip, N., Odent, S., Guichet, A., Morel, Y., 2014. New Management Strategy of Pregnancies at Risk of Congenital Adrenal Hyperplasia Using Fetal Sex Determination in Maternal Serum: French Cohort of 258 Cases (2002-2011). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(4), pp.1180–1188.

Temeck, J.W., Pang, S.Y., Nelson, C., New, M.I., 1987. Genetic Defects of Steroidogenesis in Premature Pubarche. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 64(3), pp.609–617.

Therrell, B.L., Berenbaum, S.A., Manter-Kapanke, V., Simmank, J., Korman, K., Prentice, L., Gonzalez, J., Gunn, S., 1998. Results of Screening 1.9 Million Texas Newborns for 21-Hydroxylase-Deficient Congenital Adrenal Hyperplasia. *Pediatrics*, 101(4), pp.583–590.

Thil'en, A., Nordenström, A., Hagenfeldt, L., von Döbeln, U., Guthenberg, C., Larsson, A., 1998. Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. *Pediatrics*, 101(4), p.E11.

Touchstone, J.C., Glazer, L., Cooper, D.Y., Roberts, J.M., 1955. The isolation of Δ4-androstene-llβ-OL-3,17-dione from human adrenal incubates. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 15(3), pp.382–384.

Tusie-Luna M., Traktman P. & White P.C., 1990. Determination of Functional Effects of Mutations in the Steroid 21-Hydroxylase Gene (CYP21) Using Recombinant Vaccinia Virus. *Journal of Biological Chemistry*, 265(34). pp.20916-20922.

Turcu, A., Smith, J.M., Auchus, R., Rainey, W.E., 2014. Adrenal androgens and androgen precursors-definition, synthesis, regulation and physiologic actions. *Comprehensive Physiology*, 4(4), pp.1369–1381.

Turcu, A.F., Nanba, A.T., Chomic, R., Upadhyay, S.K., Giordano, T.J., Shields, J.J., Merke, D.P., Rainey, W.E., Auchus, R.J., 2016. Adrenal-derived 11-oxygenated 19-carbon steroids are the dominant androgens in classic 21-hydroxylase deficiency. *European Journal of Endocrinology*, 174(5), pp.601–609.

Turcu, A.F., Mallappa, A., Elman, M.S., Avila, N.A., Marko, J., Rao, H., Tsodikov, A., Auchus, R.J., Merke, D.P., 2017a. 11-Oxygenated Androgens are Biomarkers of Adrenal Volume and Testicular Adrenal Rest Tumors in 21-Hydroxylase Deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(8), pp.2701–2710.

Turcu, A.F. & Auchus, R.J., 2017b. Clinical significance of 11-oxygenated androgens. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity, Wolter Kluwer Health,* 24(3), pp.252-259

Webb, E.A. & Krone, N., 2015. Current and novel approaches to children and young people with congenital adrenal hyperplasia and adrenal insufficiency. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(3), pp.449–468.

Wedell, A., Thilén, A., Ritzén, E.M., Stengler, B, Luthman, H., 1994. Mutational spectrum of the steroid 21-hydroxylase gene in Sweden: implications for genetic diagnosis and association with disease manifestation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 78(5), pp.1145–1152.

White, P.C., New, M.I. & Dupont, B., 1984. HLA-linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome P-450 specific for steroid 21-hydroxylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(23), pp.7505–7509.

White, P.C., 1994. Genetic diseases of steroid metabolism. *Vitamins and hormones*, 49, pp.131–195.

White, P.C. & Speiser, P.W., 2000. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews*, 21(3), pp.245–291.

Wickham, H., 2009. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis, *Springer-Verlag, New York, 2009.*

Wilkins, L. et al., 1951. Treatment of congenital adrenal hyperplasia with cortisone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 11(1), pp.1–25.

Wilson, J.D., 2001. The role of 5α-reduction in steroid hormone physiology. *Reproduction, Fertility and Fevelopment*, 13(7–8), pp.673–678.

Wörsinger, F., 2001. Findet bei Kindern mit Adrenogenitalem Syndrom die Adrenarche statt? Eine Untersuchung zur Ausscheidung von C19- und C21-Steroiden im Harn von Kindern mit Adrenogenitalem Syndrom (21-Hydroxylasemangel) im Vergleich mit einem Normalkollektiv. pp.6-25

Wudy, S.A., Dörr, H.G., Solleder, C., Djalali, M.; Homoki, J., 1999. Profiling Steroid Hormones in Amniotic Fluid of Midpregnancy by Routine Stable Isotope Dilution/Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Reference Values and Concentrations in Fetuses at Risk for 21-Hydroxylase Deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(8), pp.2724–2728.

Wudy, S.A., Hartmann, M. & Homoki, J., 2000. Hormonal diagnosis of 21-hydroxylase deficiency in plasma and urine of neonates using benchtop gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Endocrinology*, 165(3), pp.679–683.

Wudy, S.A. & Hartmann, M.F., 2004. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Profiling of Steroids in Times of Molecular Biology. *Hormone and Metabolic Research*, 36(6), pp.415–422.

Wudy, S.A., Hartmann, M.F. & Remer, T., 2007. Sexual dimorphism in cortisol secretion starts after age 10 in healthy children: urinary cortisol metabolite excretion rates during growth. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 293(4), pp.E970–E976.

Wudy, S.A., Schuler, G., Sánchez-Guijo, A., Hartmann, M.F., 2018. The art of measuring steroids. Principles and practice of current hormonal steroid analysis. *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 179, pp.88–103.

Yanase, T., Simpson, E.R. & Waterman, M.R., 1991. 17α-Hydroxylase/17,20-Lyase Deficiency: From Clinical Investigation to Molecular Definition. *Endocrine Reviews*, 12(1), pp.91–108.

Youssefnejadian, E. & David, R., 1975. Early diagnosis of congenital adrenal hyperplasia by measurement of 17-hydroxyprogesterone. *Clinical Endocrinology*, 4(4), pp.451–454.

12 PUBLIKATIONSVERZEICHNIS

Teile des Inhalts dieser Arbeit wurden vorab publiziert:

VERÖFFENTLICHUNGEN

The urinary steroidome of treated children with classic 21-hydroxylase deficiency. Kamrath, C.[1], Wettstaedt, L.[1], Boettcher, C., Hartmann, M.F., Wudy, S.A. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 165, pp.396–406.* (Online 08/2016, gedruckt 01/2017) *([1] both authors contributed equally to this work)*

Androgen excess is due to elevated 11-oxygenated androgens in treated children with congenital adrenal hyperplasia. Kamrath, C., Wettstaedt, L., Boettcher, C., Hartmann, M.F., Wudy, S.A. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 178, pp. 221–228. (Online 12/2017, gedruckt 04/2018)

Height Velocity defined metabolic Control in Children with Congenital Adrenal Hyperplasia using urinary GC-MS Analysis. Kamrath, C., Wettstaedt, L., Hartmann, M.F., Wudy, S.A. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 104(9), pp. 4214–4224. (Online 05/2019, gedruckt 09/2019)

VORTRÄGE

Das Urinsteroidmetabolom von Kindern mit klassischem Adrenogenitalem Syndrom bei 21-Hydroxylasemangel unter Behandlung mit Hydrocortison und Fludrocortison

Clemens Kamrath, Lisa Wettstädt, Claudia Böttcher, Michaela F. Hartmann und Stefan A. Wudy

JA-PED 2016 – Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderendokrinologie und –diabetologie e.V. (DGKED) und der Arbeitsgemeinschaft Pädiatrische Diabetologie e.V., 11.-13. November 2016, Osnabrück

Harnsteroidmetabolomik zum Therapiemonitoring bei Kindern mit klassischem AGS bei 21-Hydroxylasemangel

Clemens Kamrath, Lisa Wettstaedt, Michaela F. Hartmann, and Stefan A. Wudy

JA-PED 2017 – Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderendokrinologie und –diabetologie e.V. (DGKED) und der Arbeitsgemeinschaft Pädiatrische Diabetologie e.V., 17.-19. November 2017, Freiburg im Breisgau

24-hours Urinary Steroid Analysis for Treatment Monitoring of Children with classic Congenital Adrenal Hyperplasia

Clemens Kamrath, Lisa Wettstaedt, Michaela F. Hartmann, and Stefan A. Wudy

61. Deutscher Kongress für Endokrinologie, 14.-16. März 2018, Bonn

Urinary Steroidomics for the Management of Children with Congenital Adrenal Hyperplasia

Clemens Kamrath, Lisa Wettstaedt, Michaela F. Hartmann, and Stefan A. Wudy

10th International Meeting of Pediatric Endocrinology, 14.-17. September 2017, Washington DC, USA

POSTER

The Urinary Steroidome of Children with Classic 21-Hydroxylase Deficiency Treated with Hydrocortisone

Clemens Kamrath, Lisa Wettstädt, Claudia Böttcher, Michaela F. Hartmann und Stefan A. Wudy

ESPE 2016 - The 55th Annual ESPE Meeting, European Society of Paedicatric Endocrinology, 10.-12. September 2016, Paris, Frankreich

13 EIDESTATTLICHE ERKLÄRUNG

Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Berlin, 09.02.2021



Ort, Datum

Unterschrift

14 DANKSAGUNG

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die zur Verwirklichung beigetragen haben.
Allen voran danke ich Herrn Professor Dr. med. Stefan A. Wudy für die Überlassung des Themas und die Aufnahme in seine Forschungsgruppe. Seine zugewandte und kompetente Unterstützung, feste Strukturvorgabe und Erfahrung haben mich durch die gesamte Arbeit geleitet und mir jederzeit die Möglichkeit gegeben aufkommende Fragen zu klären.
Mein außerordentlicher Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. med. Clemens Kamrath für die exzellente Betreuung mit größtem Engagement und enger Zusammenarbeit, die das Fundament dieser Arbeit sind. Ich danke für jede inhaltliche Hilfe, die ständige und schnelle Erreichbarkeit und die Geduld in allen Punkten.
Besonders danken möchte ich auch Frau Dr. biol. hum. Michaela F. Hartmann aus dem translationalen Labor für pädiatrisch-endokrinologische Hormonanalytik an der Universität Gießen, für die fachlichen Ratschläge, für die Beantwortung aller Fragen zur Methodik, sowie die Unterstützung bei der Datenerhebung. Ebenso danke ich allen weiteren Mitarbeitern des Labors, die an der Durchführung der Hormonanalysen beteiligt waren.
Ich danke allen Probanden dieser Studie, deren Daten und Werte diese Arbeit und die Fortführung der Harnsteroidforschung ermöglicht haben.
Zudem danke ich meiner Familie und Florian für die uneingeschränkte Unterstützung während aller Phasen dieser Dissertation.