

**8. interdisziplinärer SGA-Workshop  
25.06.-26.06.2010 in Kloster Schöntal**

**Proceedingband 2010**

herausgegeben von **Prof.Dr.med. Siegfried Zabransky**  
**Med. Verlag Siegfried Zabransky, 2010, S 123-137**

## AGS-Screening



Siegfried Zabransky, IPEP Homburg

---

### **Steuerung der Funktionsachse Hypothalamus-HVL-NNR**

In der Nebennierenrinde werden drei verschiedene Hormongruppen produziert :

1. In der zona glomerulosa **Mineralokortikoide**  
(Aldosteron, steuert die Natrium- und Wasserresorption in den Nieren. Es ist ein wichtiger Faktor der Blutdruckregulierung)
2. In der zona fasciculata **Glukokortikoide**  
(Cortisol ist ein Stresshormon. Es ist wichtig für die Leistungsfähigkeit und Energiebereitstellung)
3. In der zona reticularis **Sexualhormone**  
(Testosteron: Sexualfunktion; Knochenstoffwechsel; Vorstufe des DHEA, das für das psychische Wohlbefinden bedeutend sein soll).

ACTH stimuliert alle drei Hormongruppen, wird aber nur über die Konzentration des freien Cortisols reguliert.

## **Adrenogenitales Syndrom (AGS) (9,12)**

### **Formen des AGS bei 21-alpha-Hydroxylasemangel:**

1. Klassisches AGS, einfache Form  
(Klinik: Virilisierung)
2. Klassisches AGS mit Salzverlustsyndrom  
(Klinik: Virilisierung und Salzverlust)
3. Nicht klassisches AGS= late onset Form
4. Kryptische Form (ohne Klinik)

### **Synonyma:**

- 21-alpha-Hydroxylase deficiency
- CYP21-deficiency
- Adrenal hyperplasia III
- congenital adrenal hyperplasia 1; CAH1
- Cytochrome P450, CYP21A2

### **Pathophysiologie:**

#### **Einfache oder klassische Form des AGS bei 21-alpha-Hydroxylase-Mangel:**

Ursache ist ein angeborener Mangel des Enzyms 21-alpha-Hydroxylase (Cytochrome P450), welches die Umwandlung des 17-alpha-Hydroxy-progesteron (17-OHP) zu 11-Desoxycortisol, der Vorstufe des Cortisols steuert. Der daraus resultierende Cortisolmangel führt über eine reaktive ACTH-Erhöhung zur Stimulierung einer unkontrollierten Überproduktion der adrenalen Androgene (Androstendion, Testosteron).

Das vor dem Stau befindliche 17-OHP steigt an. Ein erhöhter 17-OHP-Blutspiegel kann daher als Screening-Marker dienen.

## **AGS mit Salzverlustsyndrom**

Wird der 21-alpha-Hydroxylase-Mangel auch in der Zona glomerulosa manifest, wird zusätzlich die Aldosteronsynthese gehemmt. Salzverlust (Hyponatriämie, Hyperkaliämie, metabolische Alkalose) ist die Folge.

### **11-beta-Hydroxylase-Mangel**

#### **Synonyma:**

- P450C11B1-Mangel
- adrenal hyperplasia IV
- adrenal hyperplasia, hypertensive form

Das Enzym 11-beta-Hydroxylase ermöglicht den Syntheseschritt von 11-Desoxycortisol zu Cortisol und von DOC (11-Desoxycorticosteron), zu Corticosteron, der Vorstufe des Aldosterons.

Mangel dieses Enzyms bedingt wie beim 21-alpha-Hydroxylasemangel durch die reaktive ACTH-Erhöhung eine Hyperandrogenämie, zusätzlich aber auch eine Anhäufung der blutdrucksteigernden Substanzen 11-Deoxycortisol und 11-Deoxycorticosterone (DOC)

Androgenexzess mit Virilisierung und Bluthochdruck sind die Leitbefunde des 11-beta-Hydroxylasemangels.

### **Genetik (4,10)**

#### **21-alpha-Hydroxylasemangel**

Das AGS wird autosomal rezessiv vererbt. Die Heterozygotenfrequenz beträgt 1:50. Das aktive 21-alpha-Hydroxylase-Gen (CYP21B) ist auf dem Chromosom 6p21.3 in der HLA-III-Region in unmittelbarer Nähe zu dem Pseudogen (CYP21A oder CYP21P) lokalisiert. Ungleiches Crossingover zwischen beiden Genen ist eine häufige Ursache für Mutationen. Sequenzen des

Pseudogens, das verschiedene deletäre Mutationen enthält, werden auf des CYP21B-Gen übertragen. Es sind über 50 verschiedene Mutationen bekannt. Zehn Mutationen sind jedoch für mehr als 90% aller betroffenen Allele verantwortlich. Der Genotyp ist dabei gut korreliert zum Phänotyp.

Die CYP21 Mutationen lassen sich entsprechend dem Vorhandensein der Enzymaktivitäten in drei Kategorien einteilen (10):

Tab.1:Enzymaktivitäten und Klinik bei den verschiedenen Mutationen (nach Torresani et al. 2007)

<b>Mutation</b>	<b>Enzymaktivität</b>	<b>Klinik</b>
Null-Mutation= deletion oder nonsens Mutation	0,00%	AGS mit SVS
Missense Mutation Ile172Asn (1172N)	1-2%	Einfaches AGS ohne SVS
Val 281 Leu (V281 L)	20-60%	Late onset AGS

### **11-beta-Hydroxylasemangel**

Auch diese Enzymstörung wird autosomal rezessiv vererbt und kann molekulargenetisch nachgewiesen werden (Mutation des CYP11B1 Gen, R448H). Genlokus: 8q21.

**Häufigkeit:** Das AGS ist nach der primären Hypothyreose die häufigste endokrine Störung. Die Häufigkeit beträgt 1: 10.000-15.000. Bei 90% der Fälle liegt ein 21-alpha-Hydroxylasemangel vor, in 5-8% ein 11-beta-Hydroxylasemangel.

#### **Klinik des AGS:**

- Androgenisierung des äußeren Genitale ist der typische Befund sowohl beim **21-alpha-Hydroxylasemangel** als auch beim **11-beta-Hydroxylasemangel**. Ausmaß und Zeitpunkt des

Beginns der verstärkten Androgeneinwirkung während der embryonalen Entwicklung des Kindes sind entscheidend für den Grad der Vermännlichung des äußeren Genitale bei Mädchen. Sie reicht von bloßer Clitorishyperplasie (Prader I) bis zur völligen Umwandlung in ein äußerlich männliches Genitale (Phallus, fehlendes Skrotum) (Prader V). Bei Jungen imponiert ein sehr großer Phallus bei kleinen Hoden. Das Skrotum ist stark pigmentiert.

- Bei Blockierung der Cortisol- und Aldosteronbildung kommt es zum AGS mit **Salzverlustsyndrom**. Die Symptomatik beginnt in der 2. Lebenswoche mit Erbrechen und Gedeihstörung. Wird die Diagnose nicht rechtzeitig gestellt und die Substitutionstherapie unverzüglich begonnen, führt dies zur Dehydratation, Schock und schließlich zum Tod des Kindes. Während bei Mädchen das auffällige Genitale eher die Ursache vermuten lässt, wird die Diagnose bei Jungen häufiger zu spät erkannt.

- **DD**: Die Pylorusstenose geht mit ähnlicher Symptomatik einher. Na und K sind erniedrigt. Auch beim Salzverlustsyndrom ist Na erniedrigt, K jedoch erhöht.

- Das klinische Bild des AGS bei **11-Hydroxylasemangel** wird ebenfalls von den Folgen des Androgenexzesses geprägt. Hinzu kommt Bluthochdruck aufgrund der vasokonstriktorischen Wirkung des erhöhten DOC.

- Beim **nicht klassischem AGS (late-onset Form) bei 21-alpha-Hydroxylasemangel** entwickeln sich die Patienten zunächst normal. Erst ab dem Kindesalter treten Symptome des Enzymmangels auf (Prämature Pubarche, Pseudopubertas präcox; Hirsutismus und Zyklusstörungen bei erwachsenen Frauen).

Tab.2: Leitsymptome/-befunde des AGS in den verschiedenen Altersstufen

Bei Geburt	Mädchen: intersexuelles, virilisiertes äußeres Genitale Uterus, Gonaden normal angelegt Jungen: Makrophallus, dunkel pigmentiertes Skrotum
Säuglingsperiode	Bei SVS Erbrechen ab der 2. Woche p.p. (DD: Pylorusstenose)
Kleinkind/Schulkind	Pseudopubertas praecox; Längen- und Knochenreifung beschleunigt; Prämatüre Pubarche
Erwachsene Frauen	Hirsutismus, Zyklusstörungen

### **Neugeborenen screening auf AGS** (2, 12, 13, 14)

#### **Ziel**

des generellen Screening auf AGS ist die Reduktion von Morbidität und Mortalität von Kindern, insbesondere bei Jungen, mit Salzverlustsyndrom, sowie bei Mädchen die Möglichkeit einer frühen Geschlechtszuweisung bei stark virilisiertem äußeren Genitale.

#### **Parameter**

Der erhöhte Blutspiegel des 17-OHP dient als Marker für das Vorliegen eines 21-alpha-Hydroxylasemangels bzw. 11-beta-Hydroxylasemangels.

#### **Zeitpunkt der Blutentnahme**

Die Blutentnahme (Kapillarblut aus der Ferse) erfolgt in der Regel am 3. Lebenstag.

#### **Untersuchungsmaterial**

Wie für das Hypothyreosescreening werden Nativblutproben

getrocknet auf Filterpapier verwendet. EDTA- und Heparinblut verfälschen das Ergebnis. Bei der Lagerung und dem Transport sind die beim Hypothyreosescreening erwähnten Empfehlungen zu beachten (Trocknen bei Raumtemperatur, Lagerung im Kühlschrank, Versand noch am Tag der Blutentnahme).

### **Labormethode zum Nachweis von 17-OHP:**

Die direkte Bestimmung des 17-alpha-Hydroxyprogesterons im Vollblut getrocknet auf Filterpapier erfolgt mit einem Fluoreszenzimmunoassay (Delfia, Perkin Elmer). Da alle deutschen, österreichischen und schweizer Labors den gleichen Assay verwenden, sind die Ergebnisse gut vergleichbar. Auch die Liquide-Chromatography-Tandem-Massenspektrometrie (LC/MS/ MS-Assay) kann zum Nachweis des 17-OHP eingesetzt werden. Sie ermöglicht die simultane Bestimmung von 17OHP, Cortisol und Androstendion. Für ein Massenscreening ist die Testdauer jedoch zu lange, sodass dieses Verfahren nur gezielt bei auffälligen 17OHP-Befunden eingesetzt wird (second-tier test). Der positive prädiktive Wert steigt dabei um das zehnfache an (7).

### **Bewertung der Screeningergebnisse:**

Der Normbereich für 17OHP ist abhängig vom Gestationsalter und Geburtsgewicht des Kindes (8).

### **Tab.3: Fehlerquellen:**

- ◆ Falsch positive Werte
  - bei intensiv behandelten Kindern (stressbedingt)
  - bei Reifgeborenen in den ersten 24 h p.p. (Stimulierung der kindlichen NNR sowie Kreuzreaktion mit Progesteron)
  - bei Verwendung von EDTA beschichteten Kapillaren zur Blutentnahme (EDTA vermindert die Chelatbildung im Testansatz)
- ◆ Falsch negative Werte:
  - Nach Bluttransfusion (Blutentnahme für das Screening frühestens 3 Tage nach einer Transfusion)
  - Bei Kortikoidbehandlung von Mutter/Kind.



Leichte Formen des 21-alpha-Hydroxylase-Mangels (late Onset) werden mit dem 17-OHP-Screening nicht erfasst.

Tab.4: **Vorgehen bei erhöhten 17OHP-Screeningwerten bei Reifgeborenen** (Gewicht > 2000g, SSW 36 und mehr modifiziert nach Torresani et al.2007 und den Empfehlungen der ESPE und LWPS (2, 10, 13,14)

<b>17-OHP</b>	<b>Bewertung</b>	<b>Maßnahme</b>
< 30 nmol/l (<20 ng/ml)	normal	Keine
30-70 nmol/l (20-50 ng/ml)	Grenzwertig AGS nicht ausgeschlossen	<b>Bei stationärem Kind:</b> 2. FP-Probe a) Ergebnis normal: keine Maßnahme b) erhöhter 17OHP-Wert: Serum-17-OHP, Elektrolyte Bei erhöhten Serumwerte Bestätigungsdiagnostik
		<b>Befindet sich das Kind bereits zu Hause:</b> Serumanalysen 17-OHP, Elektrolyte, bei wiederum erhöhten Werten Bestätigungsdiagnostik
> 70 nmol/l (> 50 ng/ml)	Deutlich erhöht AGS wahrscheinlich	Serum-17OHP, Elektrolyte probatorische Therapie mit Hydrocortison. Bestätigt sich der Verdacht nicht, wird die Therapie beendet Bestätigungsdiagnostik: Mutationsanalyse

Tab.5: **Vorgehen bei erhöhten 17OHP-Screeningwerten bei Frühgeborenen** (<36 SSW, < 2000g) (modifiziert nach Torresani et al. 2007)

	17-OHP normal (bezogen auf SSW, Gewicht): <b>Test 2 (Zweitscreening): FP-Probe im Alter von 14</b>
--	---

<b>Test 1:</b> 3.Tag p.p.	<b>Tagen</b> bzw. 4 Tage nach einer Bluttransfusion:  a) <b>normal:</b> keine weiteren Maßnahmen b) <b>17-OHP erhöht:</b> bei nachfolgenden erhöhten Serumanalysen Bestätigungsdiagnostik
	Erhöhter 17-OHP-Wert im Erstscreening: (bezogen auf SSW, Gewicht): <b>sofort 2. FP-Probe:</b>  a) <b>Normalbefund:</b> keine weiteren Maßnahmen b) <b>17-OHP erhöht:</b> bei nachfolgenden erhöhten Serumanalysen Bestätigungsdiagnostik

### Molekulargenetische Diagnostik (4):

Die molekulargenetische Diagnostik ermöglicht in mehr als 98% der im Primärscreening verdächtigen Fällen eine eindeutige Diagnosestellung. Sie sollte daher bei allen auffälligen 17OHP-Befunden im gleichen Probenmaterial (Filterpapierproben) veranlasst werden. Werden auffällige Proben mit erhöhten 17OHP-Befunden auch auf Mutationen untersucht, kann die Recallrate um 90% gesenkt werden. Die Diagnose wird frühzeitiger gestellt. Die Eltern werden psychisch weniger belastet durch zunächst falsch positive Befunde (5, 6). Aus Kostengründen ist dieses Procedere im Routinelabor nicht etabliert.

Tab.6: Laborbefunde

AGS ohne SVS (21-OH-lase Mangel)	Erhöht: 17-OHP, 21-DF, ACTH, Testosteron normal Na, K, Aldosteron
AGS mit SVS	Erhöht:17-OHP, 21-DF, ACTH, Testosteron, Renin, K erniedrigt: Aldosteron, Na (metabolische Alkalose)
11-beta-OH-lase-Mangel	Erhöht: 17-OHP, 21-DF, ACTH, Testosteron, DOC normal: Na, K



### **Sonogramm:**

- Darstellung des inneren Genitale bei Mädchen (Uterus? Gonaden?), sowie des Introitus vaginae und der Urethralöffnung
- NNR: Hyperplasie?

### **Harnsteroidanalytik**

Mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) kann in einer spontanen Harnprobe (Nativurin 20ml) ein Steroidprofil analysiert werden, das die Bestimmung von 30-40 Harnsteroidmetaboliten ermöglicht. Diese nicht-invasive Methode eignet sich auch besonders für Verlaufskontrollen (1, 11)

### **Plasmasteroidbestimmungen mittels**

### **Isotopenverdünnungs /Gaschromatographie (ID/GC-MS)**

Mit Hilfe des ID/GC-MS-Assay können folgende Leitsterioide des Androgenstoffwechsels bestimmt werden: Testosteron, 4-Androstendion, Dehydroepiandrosteron, 5-alpha-Dihydrotestosteron, 5-alpha-Androstan -3-alpha, 17-beta—diol(Androstandiol), 17-alpha-Hydroxyprogesteron, 17-alpha-Hydroxypregnenolon (11).

### **Therapie:**

- Substitution mit Hydrocortison 15-20 mg/qm KOF/Tag oral.
- Bei SVS zusätzlich Astonin H 0,05-0,10 mg/qm KOF/Tag oral.
- Bei schweren Elektrolytentgleisungen je nach Bedarf NaCl-Zufuhr.

**Ziel der Therapie** ist ein ausgeglichener Hormonstatus, damit eine normale Längen- und Gewichtsentwicklung, ein normaler Pubertätsverlauf mit normaler familiärer Zielhöhe; sowie Fertilität ermöglicht werden.

Kinderarzt bzw. Hausarzt, aber auch die Eltern und das ältere Kind, müssen u.a. über die therapeutischen Konsequenzen bei Infekten, Operationen und anderen Stress-Situationen informiert sein, damit notwendige Hydrocortison-Dosiserhöhungen rechtzeitig erfolgen. Ein Notfallausweis sollte das Kind immer bei sich tragen. Die Lehrer sollten über die Diagnose informiert sein, um bei Zwischenfällen entsprechend handeln zu können.

**Zeichen der Überdosierung:**

Zu starke Gewichtszunahme, Cushingzeichen, vermindertes Längenwachstum

**Zeichen der Unterdosierung:**

schlechte Gewichtszunahme, Mattigkeit, Akzeleration der Knochenentwicklung mit der Gefahr einer vorzeitigen Pubertätsentwicklung und vorzeitigem Epiphysenschluss, Hypertonus beim 11-beta-Hydroxylasemangel.

**Zusammenfassung:**

Das AGS ist nach der primären Hypothyreose die zweithäufigste endokrine Störung. Bei AGS mit Salzverlustsyndrom kann es durch rasche Dehydratation mit Schock sowie den durch die Hyperkaliämie bedingten kardialen Komplikationen zum Tod des Kindes kommen. Um dies zu vermeiden, muss die Diagnose schon in der präklinischen Phase gestellt und die Substitutionstherapie mit Hydrocortison begonnen werden. Die Möglichkeit einer frühen

Geschlechtszuweisung bei hochgradig virilisiertem Genitale bei Mädchen ist ein weiterer Aspekt des AGS-Screening.

Kinder mit frühzeitig behandeltem AGS können sich normal entwickeln, d.h. ihre Zielhöhe erreichen, und als Erwachsene fertil sein. Dies setzt aber eine dem Körpergewicht angegliche kontinuierliche Substitutionstherapie voraus.

Bei Stresssituationen wie Operationen, Traumen, fieberhaften Erkrankungen muss eine adäquate kurzfristige Dosiserhöhung erfolgen. Die Langzeitbetreuung durch den Kinderarzt muss in Kooperation mit einem pädiatrischen Endokrinologen durchgeführt werden. Die Compliance der Eltern und Patienten ist unbedingte Voraussetzung für einen komplikationslosen Verlauf. Sie müssen über Ursache, Pathogenese, Therapie und mögliche Komplikationen gut informiert sein. Elterngruppen können dabei eine gute Hilfestellung geben. Betreuende Ärzte müssen über eine „Hotline“ bei Notfällen und Fragen stets erreichbar sein.

### **Literatur:**

1. Caulfield MP et al.  
The diagnosis of congenital adrenal hyperplasia in the newborn by gas chromatography/mass spectrometry analysis of random urine specimens.  
J Clin Endocrinol Metab 87: 3682-3690, 2002
2. ESPE Bulletin Board Consensus statement on 21-Hydroxylase Deficiency from The European Society for Pediatric Endocrinology and The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society  
Hormone Research 58: 188-195, 2002
3. Heinrich UE, Milevicz A, Fies A, Romer T, Haack D  
The usefulness of plasma 21-deoxycortisol (21-DF) prior to and after ACTH for diagnosis, therapy and detection of

heterozygotes in families with 21-hydroxylase deficiency.  
Acta Endocr Kbh Suppl. 267: 21, 1985

4. Hughes I.  
Congenital adrenal hyperplasia: phenotype and genotype.  
Molecular genetic studies of the CYP11B1 gene in 11-beta-hydroxylase deficiency have led to the identification of several mutations.  
J Pediatr Endocrinol Metab 15, suppl 5:1329-1340, 2002
5. Kosel S. et al.  
Rapid second-tier molecular genetic analysis for congenital adrenal hyperplasia attributable to steroid 21-hydroxylase deficiency.  
Clin Chem 51: 298-304, 2005
6. Lacey JM et al.  
Improved specificity of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by second-tier steroid profiling using tandem mass spectrometry  
Clin Chem 50: 621-625, 2004
7. Minutti CZ, Lacey JM, Magera MJ, Hahn SH, McCann M et al.  
Steroid profiling by tandem mass spectrometry improves the positive predictive value of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia  
J Clin Endocrinol Metab 89: 3687-3693, 2004
8. Olgemöller B et al.  
Screening for congenital adrenal hyperplasia: adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut off values to both age and birth weight markedly improves the predictive value.  
J Clin Endocrinol Metab 87: 5790-5794, 2003
9. Speiser PW, White PC  
Congenital adrenal hyperplasia  
N. Engl J Med 349: 776-788, 2003
10. Torresani T., Anna Biason-Lauber  
Congenital adrenal hyperplasia "Diagnostic advances  
J Inher Metab Dis 30:563-575, 2007
11. Wudy S.A.  
Hormonelle Konfirmationsdiagnostik nach AGS-Screening: Steroidanalytik mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS), In: siegfried zabransky (Hrsg.) screening auf angeborene endokrine und metabolische störungen,

Springer Verlag Wien, New York, 2001, S.196-1203

12.Zabransky S., Schulze E., Heinrich U.E. Adrenogenitales Syndrom, In: siegfried zabransky (Hrsg.) screening auf angeborene endokrine und metabole störungen, Springer Verlag Wien, New York, 2001, S.181-195

13. Joint ESPE/LWPS CAH working group  
Consensus statement on 21-hydroxylase deficiency from the European Society for Pediatric Endocrinology and the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society  
Horm Res 2002, 58: 188-195

14.Working Group on neonatal screening of the European Society for Pediatric Endocrinology:  
Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency.  
Horm Res 55:201-205, 2001