

Aus der
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen
Abteilung Kinderheilkunde I mit Poliklinik
(Schwerpunkt: allgemeine Pädiatrie, Hämatologie und Onkologie)

**Die diagnostische Bedeutung
des Dehydroepiandrosteron-Sulfat-Serumspiegels
für den Nachweis
einer zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Lara-Sophie Zehnder

2021

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Binder
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Wagner

Tag der Disputation: 21.06.2021

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	3
Abbildungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis.....	6
1. Einleitung.....	7
1.1. Physiologie der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse ...	7
1.2. Zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz im Kindesalter.....	11
1.3. Ursachen der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz im Kindesalter .	13
1.4. Diagnose der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern	16
1.5. Das Dehydroepiandrosteron-Sulfat.....	19
1.6. Fragestellung.....	21
2. Material und Methoden.....	22
2.1. Material.....	22
2.1.1. Patientendaten	22
2.1.2. DHEA-S-Referenzwerte	26
2.2. Methoden.....	27
2.2.1. DHEA-S-Immunoassay.....	27
2.2.2. Statistische Auswertung.....	28
3. Ergebnisse.....	29
3.1. Patientenkohorte.....	29
3.2. DHEA-S-Referenzwerte	35
3.3. Gegenüberstellung der Patientenkohorte und Kontrollkohorte	38
4. Diskussion.....	42
4.1. Diskussion	42
4.2. Vergleich mit Daten aus der Literatur	45
4.3. Schlussfolgerung aus dieser Arbeit	49
5. Zusammenfassung.....	50
Literaturverzeichnis	52

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon
BZ	Blutzucker
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CRH	Corticotropes Hormon
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEA-S	Dehydroepiandrosteron-Sulfat
DHT	Dihydrotestosteron
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
Gy	Gray
GH	Growth Hormon
HSD	Hydroxysteroid-Dehydrogenase
HSO	Hydroxysteroid-Oxygenase
ITT	Insulin-Toleranz-Test
LH	Luteinisierendes Hormon
NNRI	Nebennierenrindeninsuffizienz
POMC	Proopiomelanocortin
SOAT	Sialate-O-Acetyltransferase
TSH	Thyreotropin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse	8
Abbildung 1.2: Die Androgenbiosynthese.....	10
Abbildung 1.3: Sulfatierung von DHEA.....	19
Abbildung 3.1: Selektion Kohorte 1	29
Abbildung 3.2: Boxplot und Punkte-Wolken-Diagramm der Referenzgruppe der Jungen im Altersbereich 7-12 Jahre.....	35
Abbildung 3.3: Boxplot und Punkte-Wolken-Diagramm der Referenzgruppe der Jungen im Altersbereich 13-18 Jahre.....	36
Abbildung 3.4: Boxplot und Punkte-Diagramm der Referenzgruppe der Mädchen im Altersbereich von 7-12 Jahre.....	37
Abbildung 3.5: Boxplot und Punkte-Diagramm der Referenzgruppe der Mädchen im Altersbereich 13-18 Jahre.....	37
Abbildung 3.6: Vergleich DHEA-S-Serumspiegel (ng/ml) Referenzgruppe mit Kohorte 1 (Mädchen 7-12 Jahre).....	38
Abbildung 3.7: Vergleich DHEA-S-Serumspiegel (ng/ml) Referenzgruppe mit Kohorte 1 (Mädchen 13-18 Jahre).....	39
Abbildung 3.8: Vergleich DHEA-S-Serumspiegel (ng/ml) Referenzgruppe mit Kohorte 1 (Jungen 13-18 Jahre).....	40

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Darstellung der Ursachen der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern	15
Tabelle 3.1: Charakteristika Patientenkohorte 1 (n=11)	30
Tabelle 3.2: Tanner-Stadien zu niedrig.....	31
Tabelle 3.3: Tanner-Studien Normbereich.....	32
Tabelle 3.4: ACTH und Kortisol im Serum.....	33
Tabelle 3.5: ACTH-Stimulationstests (1µg)	33
Tabelle 3.6: Insulin-Hypoglykämie-Test.....	34
Tabelle 3.7: Referenzwerte DHEA-S (ng/ml) männlicher Patienten im Altersbereich 7-18 Jahre	35
Tabelle 3.8: 95%-Referenzbereich DHEA-S (ng/ml) weiblicher Probanden im Altersbereich 7-18 Jahre	36

1. Einleitung

1.1. Physiologie der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

Der Hypothalamus und die Hypophyse bilden übergeordnete Regulationszentren der hormonellen Steuerung des menschlichen Körpers.

Der Hypothalamus ist Teil des Zwischenhirns (Diencephalon). Er ist das wichtigste Bindeglied zwischen Nervensystem und endokrinem System und ist verantwortlich für die Aufrechterhaltung des Gleichgewichts des menschlichen Organismus. Kommunikationsweg zwischen Hypothalamus und dem Vorderlappen der Hypophyse bildet der sogenannte Portalkreislauf. Er setzt sich zusammen aus der Eminentia mediana, welche aus einem Kapillarnetz an der Basis des Hypothalamus gebildet wird, einem zweiten Kapillarnetz im Hypophysenvorderlappen (Adenohypophyse) und venösen Portalgefäßen, die beide verbinden. Aus dem Bereich der Eminentia mediana gelangen hypothalamische Steuerungshormone, sogenannte Freisetzungshormone und Freisetzungsinhibierende Hormone, in den Portalkreislauf und schließlich in den Hypophysenvorderlappen (Adenohypophyse). Hier bewirken sie Stimulation oder Hemmung der Freisetzung von Hormonen, die dann in den Blutkreislauf gelangen und so eine systemische Wirkung erzielen. [1]

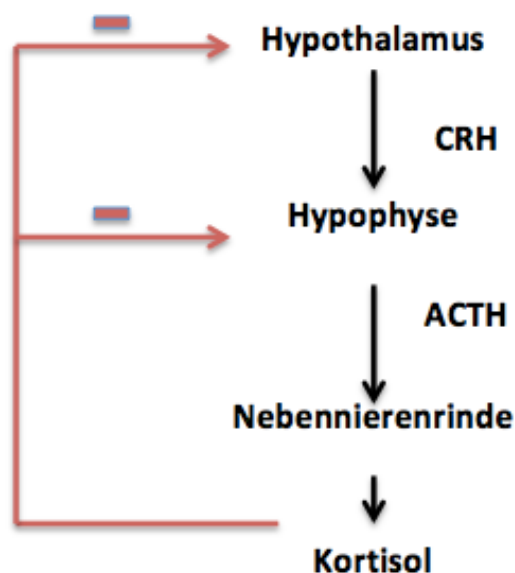
Die Hypophyse (Hirnanhangsdrüse) wird von der knöchernen Struktur der Sella turcica des Schädels und der bindegewebigen Sellamembran umschlossen. Sie ist über das Infundibulum (Hypophysenstiel) mit dem Hypothalamus verknüpft und teilt sich in einen vorderen und einen hinteren Lappen auf, die Adeno- und die Neurohypophyse. In der Adenohypophyse erfolgt unter anderem die Freisetzung von ACTH. Nach Stimulation durch das Freisetzungshormon CRH des Hypothalamus entsteht in den kortikotropen Zellen der Adenohypophyse und in den melanotropen Zellen der Pars intermedia Proopiomelanocortin (POMC). Dies geschieht durch die intrazelluläre Erhöhung des second messengers cAMP. POMC ist das Prohormon von ACTH, welches in Folge durch limitierte Proteolyse entsteht. [1], [2], [3]

Die Freisetzung von ACTH in den Blutkreislauf erfolgt pulsatil in einem 24-Stunden-Rhythmus (zirkadian). Die maximalen Sekretionswerte können in den Morgenstunden gemessen werden, die tiefsten Werte gegen 24 Uhr. Durch Stress wie z.B. Infektionen, Operationen, Traumata, Hypoglykämie, Schock oder Geburt kommt es zum Anstieg der ACTH-Sekretion, was dazu führt, dass die zirkadiane Rhythmik aufgehoben wird.

ACTH bindet schließlich an den Melanokortinrezeptor-2 [4] der Nebennierenrindenzellen und bewirkt über eine cAMP-Erhöhung eine Aktivierung der Proteinkinase, wodurch es zur Bildung und Freisetzung von Kortisol aus der Zona fasciculata und von DHEA aus der Zona reticularis kommt.

Die Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse wird durch negative Rückkopplung gehemmt. Bei hohen Kortisolspiegeln im Blut kommt es zur Hemmung der Expression von CRH und POMC und damit zur Hemmung der Bildung von ACTH. Somit entsteht ein Regelkreis. [1]

Abbildung 1.1: Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse



[3]

Die Nebennierenrinde ist die lebenswichtigste Hormondrüse des menschlichen Organismus. Sie besteht histologisch aus drei Zonen. In der Außenzone, der Zona glomerulosa, werden Mineralkortikosteroide gebildet. Diese regulieren den Salz- und Wasserhaushalt. Das wichtigste Mineralkortikoid ist das Aldosteron. Durch Erhöhung der Anzahl von Natrium-Kanälen bewirkt es eine verstärkte Rückresorption von Natriumchlorid in der Niere (distaler Tubulus und kortikale Sammelrohre), den Schweißdrüsen, Speicheldrüsen, dem Kolon sowie in der Lunge und ist somit für die Stabilisierung des Blutvolumens und des Kreislaufs verantwortlich. Außerdem bewirkt es eine vermehrte Kaliumausscheidung. Die Mineralkortikoidsekretion wird hauptsächlich durch das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System sowie zusätzlich durch den Kaliumspiegel kontrolliert, nicht aber durch ACTH. [2]

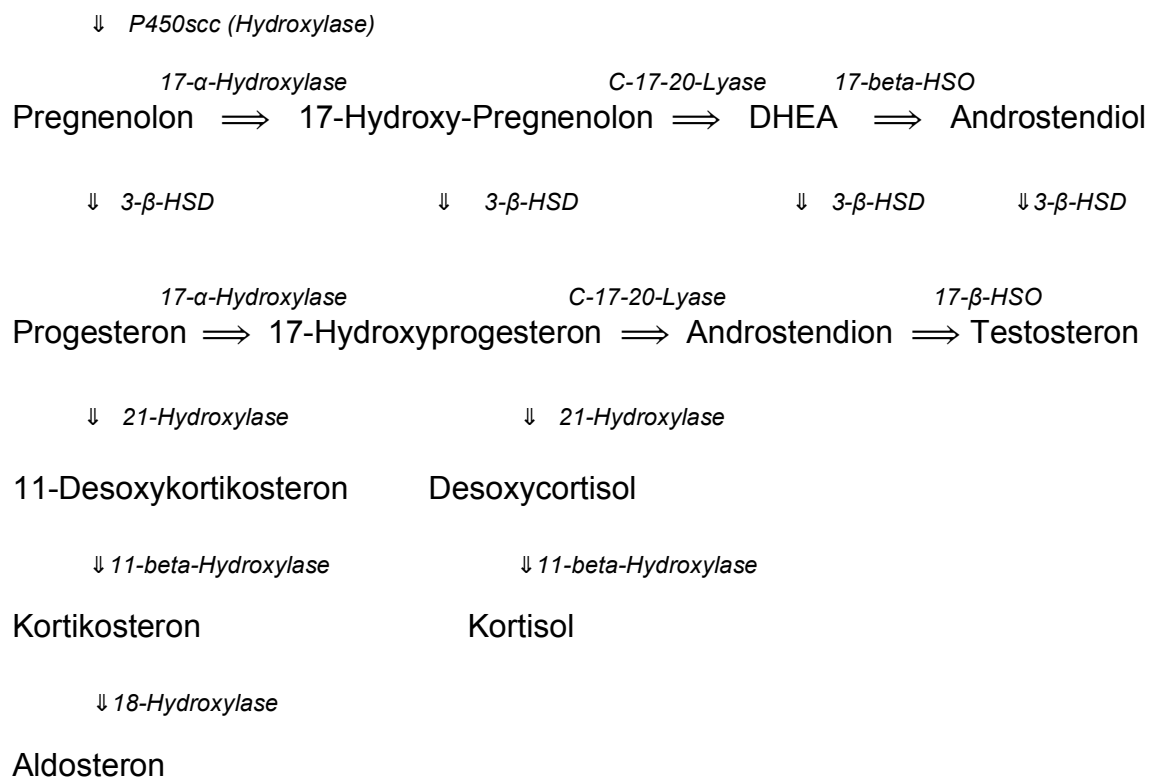
In der Mittelzone, der Zona fasciculata, werden die Glukokortikoide synthetisiert. Das Kortisol wird im Blut zu 80% an ein eigenes Transportprotein, das Corticosteroid-Binding-Globulin, und zu 10% an Albumin gebunden. Biologisch wirksam ist nur das freie, ungebundene Kortisol. Dieses bindet an intrazelluläre Rezeptoren. Die Hauptwirkungen bestehen in der Adaptation des Stoffwechsels und der Organfunktionen an Stresssituationen. [3]

In der Innenzone, der Zona reticularis, wird das sogenannte Prohormon DHEA gebildet. Es dient als Vorstufenhormon der Androgene. Diese sind u.a. verantwortlich für die Differenzierung der primären Geschlechtsorgane und die Entwicklung der Pubes und Axillarbehaarung beim weiblichen Geschlecht.[2]

In der NNR und zu einem kleinen Teil in der Leber kommt es zur Sulfatierung des DHEA zu DHEA-S. Dieses zirkuliert aufgrund der durch die Sulfatierung erlangten hohen Halbwertszeit relativ stabil im Blut und unterliegt keinen tageszyklischen Schwankungen. Es bildet die hydrophile Speicherform des DHEA. Durch die erhöhte Wasserlöslichkeit kommt es zum Wirkverlust an klassischen nukleären Rezeptoren und Verlust des passiven Diffusionsvermögens durch biologische Membranen. Um also in die Zielzellen zu gelangen und dort durch eine Sulfatase wieder in seine freie biologisch wirksame Form, zu DHEA, umgewandelt zu werden und in die Synthese der

Androgene einzutreten, muss das DHEA-S an spezielle Transporter binden, die „Organic Anion Transporting Polypeptides“ (OATPs). Einer davon, ist der erst seit kurzem entdeckte Natrium-dependent Organic-Anion-Transporter (SOAT). Diese Transporter sind für den transmembranösen Transport von sulfatierten Steroiden verantwortlich.[5] Die genauere Wirkung von DHEA und die Biosynthese der Androgene werden in den folgenden Abschnitten näher erläutert.

Abbildung 1.2: Die Androgenbiosynthese



In der Androgenbiosynthese gehört die Schlüsselrolle dem Cholesterin. Es wird zunächst nach Umwandlung mittels P450-Enzyme durch die innere Membran der Mitochondrien geschleust. Die Bildung der Prohormone und des Testosterons findet in der Nebenniere, in den Hoden und dem Ovar statt. Durch spezifische Enzyme in der Nebenniere kommt es dann zur Bildung von Aldosteron und Kortisol.

1.2. Zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz im Kindesalter

Die zentrale NNRI entsteht durch die verminderte Synthese und Freisetzung des adrenocorticotropen Hormons ACTH aus den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens oder der verminderten Freisetzung des Corticotropin-Releasing-Hormons CRH des Hypothalamus. Je nach Ursprung bezeichnet man sie als sekundäre, der Hypophyse geschuldete, oder tertiäre, im Hypothalamus entstandene Nebennierenrindeninsuffizienz. Die Folge der verminderten Ausschüttung von ACTH sowie CRH ist die Reduktion der Kortisol- und DHEA-Synthese und damit die verminderte Freisetzung aus der Nebennierenrinde.[6] Die Mineralkortikoid-Synthese ist dabei nicht betroffen, da diese hauptsächlich durch das Renin-Angiotensin-System und hier vor allem von Angiotensin-II gesteuert wird. Dies unterscheidet die sekundäre NNRI von einer primären NNRI, bei welcher die Sekretion aller Nebennierenrinden-Hormone betroffen ist und welche ihren Ursprung nicht in der Hypophyse, sondern in der Nebennierenrinde selbst hat. [7],[8] Bei einer sekundären oder tertiären NNRI liegt der ACTH- und CRH-Mangel häufig nur partiell vor, weshalb die Kortisol-Produktion immer noch im Blut nachweisbar ist, wenn auch nur auf einem subphysiologischen Niveau. Dies erschwert häufig die Diagnosestellung einer zentralen NNRI auf der Grundlage von Einzel-Messungen der Serum-Kortisol-Konzentration im Blut.[9]

ACTH ist der Prototyp eines Hormons, welches einen zirkadianen, also tageszeitabhängigen Rhythmus aufweist. Es zeigt ein Konzentrations-Maximum nach dem Erwachen und einen stetigen Abfall der Konzentration im Laufe des Tages. Beeinflusst wird die Höhe der Konzentration von mehreren Faktoren,

wie Infektionen, intensivem körperlichen Training, niedrigem Blutdruck sowie psychologischem Stress. Ein Mangel des adrenocorticotropen Hormons ACTH kann letal enden, wenn zusätzlich sogenannte externe Stressfaktoren wie Operationen, Infektionen oder Traumata auftreten.[10]

Wie bereits beschrieben ist es eine der wichtigsten Aufgaben des ACTH, den Organismus an auftretende Stresssituationen zu adaptieren, indem die Sekretion des ACTH-abhängigen Kortisols in der NNR verstärkt wird. Kortisol stimuliert die Glukoneogenese in der Leber, den Proteinabbau, hemmt die Glukose-Aufnahme in die Fett- und Muskelzellen, hemmt die Lipogenese und wirkt entzündungshemmend, in dem es die zelluläre und humorale Immunantwort unterdrückt. Weiterhin stimuliert es die Freisetzung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark und verstärkt permissiv die Wirkung der Katecholamine. Daher wirkt es am Herzen positiv inotrop und vasokonstriktorisches auf die peripheren Gefäße. [11]

Bei einer reduzierten Synthese und/oder Produktion des Nebennierenrinden-Hormons Kortisol kommt es zu unspezifischen Symptomen, weshalb die Diagnose einer Nebennierenrindeninsuffizienz meistens erst spät gesichert wird. Vor allem bei stressauslösenden Situationen wie Operationen, Infektionen oder Traumata kommt es zum Auftreten der Symptomatik des Krankheitsbildes. Aber auch schon zuvor kommt es häufig zu Müdigkeit, Energieverlust, erhöhter Reizbarkeit, Appetitlosigkeit, Übelkeit sowie Gedeihstörungen bei Säuglingen und Kindern. Diagnostisch finden sich zudem häufig eine Anämie, Eosinophilie, Lymphozytose und nach längerem Fasten oder im Infekt eine Hypoglykämie. Außerdem kommt es in der Regel zu einem hypotonen Zustand mit systolischen Blutdruckwerten unter 100 mmHg. Ein prägnantes diagnostisches Zeichen zur Differenzierung ist ein sehr blasses Hautkolorit, welches nur bei einer sekundären bzw. tertiären NNI zu finden ist. Wohingegen es bei einer primären NNI zu einer Hyperpigmentierung der Haut kommt. Dies liegt an einer verminderten Ausschüttung von POMC und damit verminderten Sekretion von Melanotropin in den Melanozyten der Haut.

Als Folge des DHEA-S-Mangelzustandes kommt es während der kindlichen Entwicklungsphase zu einem verspäteten oder vollständig Fehlen der Ausbildung von Sekundär-Behaarung bei Mädchen. [2, 12],[8]

1.3. Ursachen der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz im Kindesalter

Die Ursachen einer zentralen NNRI können erworben oder angeboren sein. Eine erworbene zentrale NNRI kann auftreten, wenn es zu einer Erkrankung oder Verletzung im Bereich der Hypophyse oder des Hypothalamus kommt.[6] Die Hauptursache im Kindesalter ist hier das Auftreten von Tumoren wie das Kraniopharyngeom, das Germinom oder das Prolaktinom. Zusätzlich können Operationen und Strahlentherapien in diesem Bereich einen ACTH- und/oder CRH-Mangel und damit verbundenen Kortisol-Mangel verursachen. Das höchste Risiko an einer zentralen NNRI zu erkranken, haben Kinder mit sehr hohen Bestrahlungsdosen im Rahmen einer kraniellen Bestrahlung (>24 Gy) und schon vorher bestehenden Hypophysen-Hormon-Mangelzuständen. [13],[14]

Zu den angeborenen Ursachen gehören Fehlbildungen der Hypophyse. Insbesondere die ektopische Neurohypophyse und die septo-optische Dysplasie. Diese können beide zu einer insuffizienten ACTH-Sekretion führen.

Zwei von drei der folgenden Diagnosekriterien müssen für eine septo-optische Dysplasie erfüllt sein: eine Hypoplasie des Nervus Opticus, ein vorliegender Hypopituitarismus oder entweder eine Agenesie des Septum pellucidum oder des Corpus Callosum. Es gibt Studien, die zeigen, dass diese Malformation vor allem Kinder junger, erstgebärender Mütter aufweisen.[15],[16] Es wurde festgestellt, dass diese unter anderem in Zusammenhang mit einer homozygoten Mutation des HESX1-Gens auftreten kann, bei der sich unter anderem eine mild ausgeprägte Form eines Hypopituitarismus entwickelt. Hierbei ist auch die ACTH-Produktion betroffen. [17] Die septo-optische Dysplasie wurde auch im Zusammenhang mit einer Mutation des PROKR2-Gens, des SOX-2-Gens, des FGFR-1-Gens (Tyrosin-Kinase-Rezeptor) und des

OTX-2-Gens beobachtet. Jedoch ist in den allermeisten Fällen die genetische Ursache für die septo-optische Dysplasie unklar. [18] [19] [20]

Bei Patienten mit ektopter Neurohypophyse wurde genetisch unter anderen eine Deletion im SOX3-Gen festgestellt, ein Transkriptionsfaktor, der für die vollständige Entwicklung der Hypophyse verantwortlich ist und durch dessen Mutation es zu einem X-chromosomal vererbten Hypopituitarismus kommt. Phänotypisch ist eine isolierte Wachstumshormon-Insuffizienz, wie auch ein Panhypopituitarismus, also zusätzlich eine ACTH-Insuffizienz, in der Ausprägung möglich. Weiterhin fand man genetische Mutationen wie auch bei der septo-optischen-Dysplasie im HESX-1-Gen, im LHX-1-Gen, LHX-4-Gen sowie im PROP-1- und PIT-1-Gen. Die Ausprägungen des Phänotyps sind jedoch sehr variabel. [21] [22]

Ein ACTH-Mangel kann sowohl isoliert als auch in Kombination mit einem Wachstumshormon-, TSH-, LH/FSH- und Prolaktin-Mangel vorliegen. Sehr selten ist eine angeborene isolierte ACTH-Insuffizienz, die bei Versäumnis der Diagnose früh letal enden kann. Diese Erkrankung gilt als unterschätzte Ursache für den Tod in der Neonatalperiode. Die Diagnose ist aufgrund unspezifischer Symptome schwierig zu stellen. Das am häufigsten auftretende Symptom ist hier die Hypoglykämie und eine Cholestase.

Es existieren hierbei zwei Formen der angeborenen isolierten ACTH-Insuffizienz: Die Early-Onset-Form, die mit bis zu einem oder zwei Jahren auftritt und die Late-Onset-Form, die sich erst nach dem 3. Lebensjahr manifestiert. Vallette-Kasic et al. beschreiben bei 17 ihrer 27 untersuchten Patienten, die an einer isolierten angeborenen ACTH-Insuffizienz leiden, festgestellte homozygote und komplex-heterozygote Mutationen im hypophysären Entwicklungsfaktor TPIT-Gen. Diese Mutationen präsentieren sich vor allem in der Early-Onset-Form. [23], [24]

Weiter kann ein isolierter Mangel durch genetische Mutation des POMC-Gens selbst oder eine autoimmune lymphozytäre Hypophysitis entstehen[25]. Der häufigste Grund für einen isolierten ACTH-Mangel in Form einer tertiären NNRI

(CRH-Mangel) ist sowohl im Erwachsenen- als auch im Kindesalter eine länger durchgeführte exogene Glukokortikoid-Substitution, die die physiologische Kortisol-Konzentration überschreitet und zu einer Suppression der Hypothalamus-Hypophysen-Achse führt. Dieser Hormonmangel ist transitorisch. [6],[26]

Tabelle 1.1: Darstellung der Ursachen der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern

Ursachen der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern:	
<u>Angeborene Ursachen:</u>	
Fehlbildungen der Hypophyse	ektope Neurohypophyse, septo-optische Dysplasie
Monogene Störungen der Hypophysenentwicklung/-funktion	z.B. durch Mutation des TPIT-Gens oder des POMC-Gens
<u>Erworbene Ursachen:</u>	
Exogene Glukokortikoidtherapie	
Radiatio des Hypothalamus/Hypophyse	
Operationen der Hypophyse	
ZNS-Tumoren	Kraniopharyngiom, Germinom, Prolaktinom, hypophysäre Metastasen
Schweres Trauma/Blutung der Hypophyse/Hypothalamus	
Autoimmune Hypophysitis	
Infiltration der Hypophyse	Sarkoidose, Langerhanszell-Histiozytose

[8], [27]

1.4. Diagnose der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern

Nach einer ausführlichen Anamnese und klinischen Untersuchung besteht der zweite Schritt der Diagnostik einer zentralen NNRI, in der Untersuchung der Funktion der Nebennierenrinden-Hormon-Sekretion. Es existieren verschiedene diagnostische Tests, wobei diese nur zum Teil für die Diagnostik im Kindesalter geeignet sind.

Die erste Methode ist die einfache Messung der basalen, d.h. nicht-stimulierten Kortisol-Konzentration im Serum zum Zeitpunkt der maximalen Tageskonzentration gegen acht Uhr morgens. Um die Diagnose der Nebennierenrindeninsuffizienz sicher ausschließen oder bestätigen zu können, müssen allerdings Werte über 12 oder 13 µg/dl oder unter 5 µg/dl gemessen werden.[9] Aufgrund dessen und aufgrund des niedrigen diagnostischen Nutzens von Werten, die zu anderen Tageszeiten gemessen wurden, gestaltet es sich schwierig, durch die einfache Messung der Kortisol-Konzentration einen signifikanten Hinweis auf eine NNRI zu erhalten.[10]

Um den Verdacht diagnostisch zu erhärten, ist eine weitere Möglichkeit die Stimulation der Kortisol-Produktion der Nebennierenrinde durch ein synthetisches Derivat von ACTH, dem sogenannten Cosyntropin. Dieses wird entweder in einer niedrigen Dosierung („low-dose“) von 1 µg oder einer hohen Dosierung („standard-dose“) von 250 µg i.v. injiziert.[9] Die Serum-Kortisol-Konzentration wird zur 0. Minute, 30. Minute und 60. Minute gemessen. Als „Peak“-Cut-off sind dabei 550 nmol/l definiert. [10] Der Test ist dann pathologisch und hinweisend auf eine zentrale NNI, wenn die erwartete erhöhte Kortisol-Produktion ausbleibt. Dies geschieht, wenn z.B. die endogene Stimulation durch ACTH wegfällt und es zur Atrophie der NNR gekommen ist. Im Frühstadium der Erkrankung besteht jedoch noch keine Atrophie und es kann aufgrund der großen applizierten Menge Cosyntropin beim „Standard-dosis“ Test zunächst zur Messung einer normalen Kortisol-Produktion kommen, obwohl eine Erkrankung vorliegt. Während der „Standard-Dosis-Test“ mit 250 µg daher nur eine geringe Sensitivität von 60% für die Diagnose einer zentralen

NNI hat, wurde der „Low-dose-Test“ in vielen Studien als sensitiver getestet, weshalb er in diesem Rahmen häufiger angewandt wurde. Es zeigten sich jedoch technische Schwierigkeiten bei der Durchführung aufgrund der hohen Variabilität der Dosierung von 1µg, weshalb man diesen aktuell nicht als Standard-Verfahren nutzt. [6], [28], [29], [30], [31]

Der alternative diagnostische Schritt, der einen direkten Hinweis auf eine zentrale NNI gibt und die Funktion der Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse testet, ist der Insulin-Toleranz-Test. Hierbei induziert man durch Gabe von einem Insulin-Bolus eine Hypoglykämie, also eine Stresssituation, und provoziert so die Sekretion von ACTH, GH und Prolaktin und damit eine Kortisol-Produktion in der Nebennierenrinde. Blutentnahmen erfolgen hier zweimal vor der Bolus-Gabe (-30 min und 0-min-Wert). Nach der zweiten Blutentnahme zur Minute 0 erfolgt die Injektion von Normalinsulin als Bolus und es folgen weitere Blutentnahmen jeweils nach 15, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten. Der Peak-Cut-off für Kortisol bei Erwachsenen liegt hier bei 500-520nmol/l. Ein fehlender Anstieg von Kortisol und ACTH weist auf einen hypophysären ACTH-Mangel hin.[10] Normalwerte für Kinder sind aktuell noch nicht veröffentlicht worden, allerdings ergaben interne Daten der Autoren des Buches „Endokrinologische Funktionsdiagnostik“ Normalbereiche für ACTH nach 30 Minuten bei $34,6 \pm 8,5$ pmol/l und nach 45 Minuten $38,85 \pm 21,45$ pmol/l und für Kortisol zwischen 585 ± 243 nmol/l gemessen nach 45 Minuten und 624 ± 199 nmol/l gemessen nach 60 Minuten. Die Induktion einer Hypoglykämie kann allerdings insbesondere für kleine Kinder und Kinder mit kardialen Erkrankungen zur Gefahr werden. [9] Bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern unter vier Jahren sollte er deswegen nicht durchgeführt werden. Außerdem gab es einige Fälle, bei denen der ITT falsch negativ ausfiel, obwohl die Probanden Symptome einer sekundären NNI aufzeigten. Trotzdem wird diese Methode häufig angewendet und von vielen als sicher angesehen. [32], [30]

Eine weitere Möglichkeit, um einen direkten Hinweis auf eine zentrale NNI zu erhalten, ist der Metopiron-Test, bei dem das negative Feedback durch Kortisol

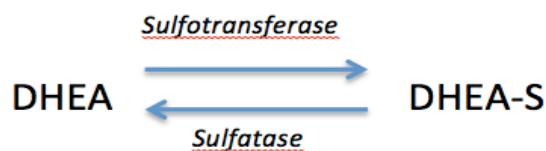
auf den Hypothalamus gehemmt wird. Dies wird durch die Blockade der 11- β -Hydroxylase erreicht, die 11-Desoxycortisol in Kortisol umwandelt. [30] Normalerweise steigt das 11-Desoxycortisol auf >200 nmol/l an und das Serum-Kortisol fällt auf <200 nmol/l ab, was zu einer raschen ACTH-Ausschüttung führt. Im Falle einer sekundären oder tertiären NNI-Insuffizienz würde hierbei die ACTH-Ausschüttung ausbleiben. Dieser Test ist am sensitivsten im Hinblick auf die Überprüfung der hypophysären ACTH-Sekretion. Zu berücksichtigen ist allerdings die Gefahr einer adrenalen Krise, da es zu einem schweren Mangel an Kortisol kommen kann. Zusätzlich ist das Risiko der Hypoglykämie bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern erhöht, weswegen der Test in diesem Alter kontraindiziert ist. Bei älteren Kindern ist es nötig eine kontinuierliche Blutzuckermessung durchzuführen. [6, 30]

Über die Messung der basalen ACTH-Plasma-Konzentration lässt sich feststellen, ob der Ursprung der NNRI in einem Defekt der Nebennierenrinde oder in einem Defekt in einer höheren Region wie dem Hypothalamus oder der Hypophyse liegt. Allerdings unterliegt auch dieses Steuerungshormon einem zirkadianen, das heißt tagesabhängigen Rhythmus, und muss daher für eine exakte Bestimmung zum Zeitpunkt des Konzentrations-Maximums abgenommen werden. Anhand des ACTH-Plasma-Levels lässt sich eine primäre NNRI, bei der die Konzentration des ACTH meistens über 100 pg/ml liegt, von einer sekundären bzw. tertiären unterscheiden, bei der die Konzentration des ACTH meistens unter 10 pg/ml liegt. Bei der Messung ergab sich in Studien jedoch das Problem einer nicht möglichen genauen Differenzierung zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Patienten, die an einer sekundären NNRI erkrankt waren. Die erhaltenen Messbereiche ergaben für beide Gruppen ähnliche Plasma-Konzentrationen. (Kontrollgruppe: 4-81 pg/ml; Patienten mit sekundärer NNRI: 8-75 pg/ml). Diese Methode erfasst also nur Patienten mit einer primären NNRI. [26]

1.5. Das Dehydroepiandrosteron-Sulfat

Das Dehydroepiandrosteron ist ein C-19-Steroid und wird in der Zona reticularis der Nebennierenrinde und zu einem geringen Teil in den Gonaden als Vorstufenhormon der Androgene produziert. Seine Sekretion wird durch ACTH gesteuert wird. [9] Das heißt, in dieser Form unterliegt es dem zirkadianen Sekretions-Rhythmus des Steuerhormons und unterliegt einer Halbwertszeit von circa 25 Minuten. Durch die Sulfotransferase wird es in der Leber zu dem hydrophilen stabileren Dehydroepiandrosteron-Sulfat umgewandelt, welches in großen Mengen im Blut-Plasma zirkuliert und einer langen Halbwertszeit von 10 Stunden unterliegt. DHEA-S liegt in der ca. 500fachen Menge als das DHEA vor, wobei die Plasmarelation zwischen beiden lebenslang konstant bleibt. Bei Blutabnahmen eignet sich diese sulfatierte Form also besser als diagnostischer Parameter. Jedoch besitzt nur das freie, nicht-sulfatierte DHEA eine biologische Aktivität. [33], [34], [35]

Abbildung 1.3: Sulfatierung von DHEA



DHEA und seine sulfatierte Form sind endokrine Steroide mit einer sehr hohen Serum-Konzentration im Menschen. Bis zum Eintritt der Gonadarche übernimmt die Nebennierenrinde nahezu vollständig die Produktion der Androgene. Danach übernimmt beim männlichen Geschlecht der Hoden den größten Teil der Produktion. Beim weiblichen Geschlecht weiterhin 75% die Nebennierenrinde. Die anderen 25% werden in den Ovarien produziert.[7]

Durch bestimmte Enzyme wie die 3-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase/ delta-5-delta-4-Isomerase, 17-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase, 5-alpha-Reduktase und Aromatase wird das DHEA in aktivere Steroide umgeformt. Diese sind das Testosteron, das Androstendion, das DHT und die Östrogene, durch welche DHEA indirekt wirken kann. Es gibt allerdings Vermutungen, dass das Prohormon auch direkte Wirkungen erzielt. Dies ist aufgrund eines spezifischen DHEA-Rezeptors möglich, über den es zurzeit noch keine genaueren Erkenntnisse gibt. [36] In einigen Studien zeigt sich, dass DHEA als neuroaktives Steroid Auswirkung auf kognitive Prozesse und Verhaltensweisen aufweist und eine bedeutende Rolle in der Regulation der Immunantwort spielt. [37], [38], [39]

Den Zeitpunkt, ab dem DHEA in signifikanter Menge (> 400mg/ml im Serum) produziert wird, bezeichnet man als Adrenarche. Es ist der Beginn der Ausreifung der Nebennierenrinde und führt durch die Produktion von Testosteron zur geschlechtsspezifischen Entwicklung - der Pubarche. Er ist der gonadalen Androgen-Produktion um zwei bis vier Jahre voraus. [40], [41]

Bis die Adrenarche zwischen dem sechsten und zehnten Lebensjahr beginnt, ist die Plasma-Konzentration des DHEA-S - bis auf eine kurze Zeit postnatal [42] - niedrig. In der fetalen Entwicklung übernimmt der fetale adrenale Kortex die Produktion der Androgene. Dieser Kortex bildet sich in den ersten drei Monaten nach Geburt wieder zurück und die Konzentration der Androgene im Blut sinkt. Danach steigt sie, aufgrund der Größenzunahme der Zona reticularis an. Diese ist das morphologische Äquivalent des fetal adrenalen Kortex. Sie ist zwischen dem 13. und 15. Lebensjahr fertig ausgereift und erreicht circa im 24. Lebensjahr ihre maximale Größe. Zu diesem Zeitpunkt ist auch das Konzentrations-Maximum des DHEA-S erreicht. Darauf folgend kommt es zu einer stetigen Abnahme bis auf 20% des Maximal-Werts. [7], [41], [43], [44], [45]

Die, aus dem DHEA der Nebennierenrinde entstandenen Androgene, unterstützen wahrscheinlich das Längenwachstum und die Skelettreifung von Kindern. Sie sind verantwortlich für die Differenzierung der primären

Geschlechtsorgane und die Entwicklung der Pubes und Axillarbehaarung beim weiblichen Geschlecht. [46]

Die Höhe der Konzentration des DHEA-S wird maßgeblich von Alter, Geschlecht und früherer exogener Glukokortikoid-Substitution beeinflusst. [47] In neueren Studien wird außerdem berichtet, dass niedrige Konzentrationen des DHEA-S bei Erwachsenen bei einem ACTH-Mangel zu finden seien.[33] Folglich könnte ein niedriger DHEA-S-Spiegel im Kindesalter einen biologischen Marker für eine sekundäre NNRI darstellen.

1.6. Fragestellung

In der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit wurde die diagnostische Bedeutung des Dehydroepiandrosteron-Sulfatspiegels im Blutserum für den Nachweis einer zentralen NNRI untersucht. Es ging um die Frage, ob der gemessene Spiegel des Nebennierenrinden-Hormons DHEA-S als diagnostischer Parameter für den Nachweis einer zentralen NNRI dienen könnte. Für diese Hypothese wurden die Daten von 107 Patienten im Alter von sieben bis 18 Jahren retrospektiv analysiert. Die Daten waren im endokrinologischen Labor der Kinderklinik der Eberhard-Karls-Universität Tübingen gemessen und erhoben worden.

Es wurden die Patienten selektiert, bei denen sowohl ein gültiger Abnahmewert des basalen Morgen-Kortisols, als auch parallel ein DHEA-S-Spiegel abgenommen wurden. Um die Spiegelhöhe des DHEA-S als zu gering einschätzen zu können, mussten aktuelle Referenzwerte von gesunden Patienten für die jeweiligen Altersgruppen von sieben bis 18 Jahren erstellt werden. Die Daten der gesunden Patienten wurden ebenfalls aus der Labordatenbank der Kinderklinik Tübingen zusammengestellt und ausgewertet. In der Referenzgruppe waren nur Patienten, deren Erkrankung nicht mit der Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse in Zusammenhang stand, weshalb sie diagnostisch für unsere Arbeit als „gesund“ eingestuft werden konnten.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Patientendaten

Es wurden an der Kinderklinik der Eberhard-Karls-Universität Tübingen Patientenakten von 107 Patienten der pädiatrischen Endokrinologie für Wachstums- und Hormonstörungen ausgewertet. Hierbei handelte es sich um Patienten mit der Diagnose eines Panhypopituitarismus, bei dem eine insuffiziente Produktion mehrerer Hypophysenvorderlappen-Hormone vorlag. Die Diagnose wurde zwischen den Jahren 1982 und 2014 gestellt.

Folgende Daten wurden aus den Patientenakten erhoben und dann in eine Excel-Tabelle eingetragen:

- Name, Geschlecht und Geburtsdatum der Patienten (pseudonymisiert)
- Datum der Erstdiagnose Panhypopituitarismus und das zugehörige Gewicht, Größe, BMI, Blutdruck und pubertärer Status
- Datum der Erstdiagnose ACTH-Insuffizienz und zugehöriges Gewicht, Größe, BMI, Blutdruck und pubertärer Status
- Klinische Symptome der zentralen NNRI:
Hypoglykämie, Müdigkeit, Einschränkungen der physischen Performance oder adrenale Krisen
- Tumoren als Ursache der zentralen NNRI:
Kraniopharyngeom (Größe, Alter bei Operation, Operationform),
Germinom, Prolaktinom, Langerhanszell-Histiozytose, Hypophysitis

- Zerebrale Radiatio als Ursache der zentralen NNRI:
Datum der Radiatio, Bestrahlungsdosis, Anzahl an Fraktionen, Grund der Bestrahlung (Kraniopharyngeom, Prolaktinom, Germinom, Rhabdomyosarkom, Keimzelltumor oder andere)
- Fehlbildungen als Ursache der NNRI:
Septo-optische Dysplasie, ektope Neurohypophyse, „Empty Sella“
- Weitere Hypophysenhormon-Mängel wie
GH, FSH/LH, TSH, Prolaktin oder ADH
- Messdaten des Morgen-ACTH in pmol/l
- Messdaten des Morgen-Kortisols in µg/dl
- Messdaten des Kortisols 30 Minuten nach einer Stimulation durch ACTH (Referenztest), Angabe ob Standard-Dosis-Test oder „low-dose“-Test und Messdaten des erreichten Kortisol-Peaks
- Messdaten der minimalen und maximalen Blutzucker-Konzentration zu Beginn eines ITT und des maximal gemessenen Kortisol-Spiegels
- Messdaten des DHEA-S in µg/dl

Von diesen Patienten konnten 70 Patienten nicht für diese Studie verwendet werden. Entweder erfolgte der Zeitpunkt der Diagnose in sehr jungem Alter und die Substitutionstherapie mit Hydrokortison wurde zu früh begonnen; somit vor Beginn der Adrenarche und damit vor Beginn der Produktion einer nachweisbaren signifikanten Menge an DHEA-S im Blut. Oder aber es folgten bei plötzlichem Auftreten eines Tumors, der Zeitpunkt der Diagnose und die darauffolgende Substitutionstherapie zu eng aufeinander, sodass keine verwertbaren Daten zu finden waren. Außerdem gingen einige Daten aufgrund der stattgefundenen Digitalisierung der Patientenakten in den letzten Jahren verloren.

Die verbliebenen 37 Patienten unserer Studie wurden im Anschluss noch einmal selektiert. Dabei wurden verschiedene Parameter und Diagnose-

Kriterien der Patienten herausgearbeitet und in eine Excel-Tabelle übertragen. Es erfolgte dabei die Einteilung in sechs unterschiedliche Kohorten:

Kohorte 1: gemessenes Morgen-Kortisol im Serum $<5\mu\text{g/dl}$
oder ACTH-stimulierte Kortisol-Ausschüttung im Serum $<18\mu\text{g/dl}$
oder durch ITT stimulierte Kortisol-Ausschüttung $<18\mu\text{g/dl}$

Kohorte 2: gemessenes Morgen-Kortisol im Serum $<10\mu\text{g/dl}$ (\triangleq partieller NNI)

Kohorte 3: gemessenes Morgen-Kortisol im Serum $>10\mu\text{g/dl}$ (\triangleq keiner NNI)

Kohorte 4: kein Referenztest vorhanden

Kohorte 5: keine DHEA-S-Werte vorhanden

Kohorte 6: keine DHEA-S-Werte und kein Morgen-Kortisol-Wert vorhanden

Zur Kontrolle der gemessenen DHEA-S-Werte unserer Patienten wurden im März 2014 Referenzwerte für die Altersklassen 7-9, 9-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-18 Jahre erhoben. Diese entstanden durch eine Auswertung von 2000 Blutproben im Hormonlabor der Universitätsklinik Tübingen von Patienten, die im Zeitraum des Jahres 2010 bis Anfang 2014 in der pädiatrischen Endokrinologie der Universitätsklinik Tübingen vorstellig geworden waren. Hierfür wurden nur Patienten ausgewählt, bei denen diagnostisch gesichert kein Mangel der Hormone des Hypophysen-Vorderlappens vorlag.

Die Kontrollkohorte rekrutierte sich aus der Datenbank des endokrinologischen Labors der Universitätsklinik Tübingen. Erfasst wurden alle Kinder von null bis 19 Jahren, deren Blutserum-Untersuchung einen DHEA-S-Wert enthielt. Um

eine für unsere Studie „gesunde“ Kontrollgruppe zu erhalten, wurden die Patienten nach ihren Diagnosen gefiltert.

Diagnosen, die nicht mit einer ACTH-Insuffizienz korrelierten:

- Akne vulgaris
- Alström-Syndrom
- Anorchie
- Appendizitis
- Arachnoidalzyste
- Brusthypoplasie
- Commotio cerebri
- DiGeorge-Syndrom
- Eisenmangelanämie
- Erythema nodosum
- Exophorie
- familiärer Hochwuchs
- familiärer Kleinwuchs
- Fieberkrampf
- Fruktose-Malabsorption
- Gynäkomastie
- Hodenagenesie
- Hydrocephalus occlusus
- Hypertrichose
- hypophosphatämische Rachitis
- Idiopathische thrombozytopenische Purpura
- juvenile generalisierte Epilepsie
- kognitive Retardierung
- lumbosakrale Meningomyelocele
- Lymphadenopathie
- medulläres Schilddrüsen-Karzinom
- Mikrosomie

- Mutation im Codon 790 des RET-Protoonkogens
- Psoriasis
- rezidivierende supraventrikuläre Tachykardie
- Schilddrüsenzysten
- Trichterbrust
- unklarer Hochwuchs
- Unklarer Kleinwuchs
- vaginale Blutungen
- Ventrikelseptumdefekt
- Zöliakie
- alle Ausschluss-Diagnosen

Des Weiteren wurden die Patienten nach ihrem Geschlecht und Alter sortiert. Es galt eine Altersspanne von sieben bis 18 Jahren. Alle Kinder, die unter oder über dieser Altersspanne lagen, wurden aus der Kohorte entfernt. So erhielten wir 143 DHEA-S-Werte von weiblichen Patienten und 217 DHEA-S-Werte von männlichen Patienten.

2.1.2. DHEA-S-Referenzwerte

Ausgehend von den identifizierten weiblichen und männlichen Kontrollkohorten, ließen sich aktuelle Referenzwerte für die verschiedenen Altersgruppen ermitteln. Der Referenzbereich beinhaltete 95% der gemessenen Werte der gesunden Probanden. Das Konfidenzintervall wurde so gewählt, dass jeweils 2,5% der Werte am oberen und unteren Rand außerhalb lagen.

Es wurden die Referenzwerte für eine Altersspanne zwischen 7-12 Jahren und 13-18 Jahren errechnet. Diese Selektion der Altersgruppen ergab sich folgendermaßen: ab dem siebten Lebensjahr beginnt die NNR Androgene zu produzieren, jedoch in einem gut messbaren Bereich erst ab dem Eintritt der Pubertät, deren Eintritt in unserer Studie ab dem 13. Lebensjahr festgesetzt wurde.

2.2. Methoden

2.2.1. DHEA-S-Immunoassay

Die Messung des DHEA-S erfolgte immunometrisch mit dem IMMULITE 1000 System der Firma Siemens Health Care Diagnostic.

Methodik:

Der DHEA-SO₄ IMMULITE/IMMULITE 1000 Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay. Hierbei werden spezifische Anti-DHEA-S-Antikörper, ein mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Antigen und native Antigene zusammengegeben. Die markierten Antigene konkurrieren dabei mit den Antigenen aus der Patientenprobe um die Bindungsstelle der Antikörper. Je höher die Konzentration des Antigens in der Patientenprobe ist, desto weniger markierte Antigene binden. Darüber erfolgt die Messung der Konzentration des nativen Antigens. Die Inkubationszyklen dauern 30 Minuten.

Enzym-Antigen + natives Antigen + Antikörper → AgAk + Enzym.-AgAk

Bei der automatischen Durchführung des Chemilumineszenz-Immunoassays werden mit Antikörper (polyklonaler Kaninchen anti-DHEAS Antikörper) beschichtete Kunststoffkugeln als Festphase verwendet. Diese befinden sich in einem Teströhrchen, welches als Reaktionsgefäß für den gesamten Testablauf dient. Die Probe und ein mit alkalischer Phosphatase konjugiertes DHEAS werden in das Teströhrchen pipettiert und bei 37 °C inkubiert. Anschließend wird die beschichtete Kugel gewaschen und durch Zentrifugation das Reaktionsgemisch entfernt. Ein lumineszierendes Substrat wird zugegeben und durch die gebundene alkalische Phosphatase zur Emission von Licht gebracht. Die Lumineszenzreaktion dauert 10 Minuten bei 37 °C, danach wird die Stärke des Lichtsignals mit einem Photomultiplier gemessen und die Software berechnet für jede Probe die Konzentration.

Zur genauen Quantifizierung beträgt die erforderliche Menge der Probe 5µl eines humanen Serums. Der Inhalt eines Probenröhrchens muss hierfür mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.

Die Ergebnisse des Chemilumineszenz-Assays wurden alle in ng/ml ausgedrückt, wobei der Umrechnungsfaktor in µmol/l $\times 0,002714$ beträgt. Der Messbereich liegt zwischen 150 – 10000 ng/ml (4,07- 27 µmol/l).

2.2.2. Statistische Auswertung

Die hier vorliegende Arbeit basiert auf einer retrospektiven Längsschnittstudie. Die Grundlage für die statistische Auswertung bildete die deskriptive Statistik. Es wurden mit Hilfe von Excel Punkte-Wolken-Diagramme sowohl für die Patienten-Daten als auch für die Referenz-Daten erstellt. Um die Referenzwerte der Kontrollgruppe zu erhalten, mussten die genauen 95%-Konfidenzintervalle für die jeweilige Altersgruppe errechnet werden. Weiterhin wurde für die Altersklasse der gesunden 13-18 Jährigen, für das weibliche Geschlecht und das männliche Geschlecht, jeweils ein Boxplot erstellt, wobei hierfür die Bestimmung des Minimums, des ersten Quartils, des Medians, des dritten Quartils und des Maximums notwendig war.

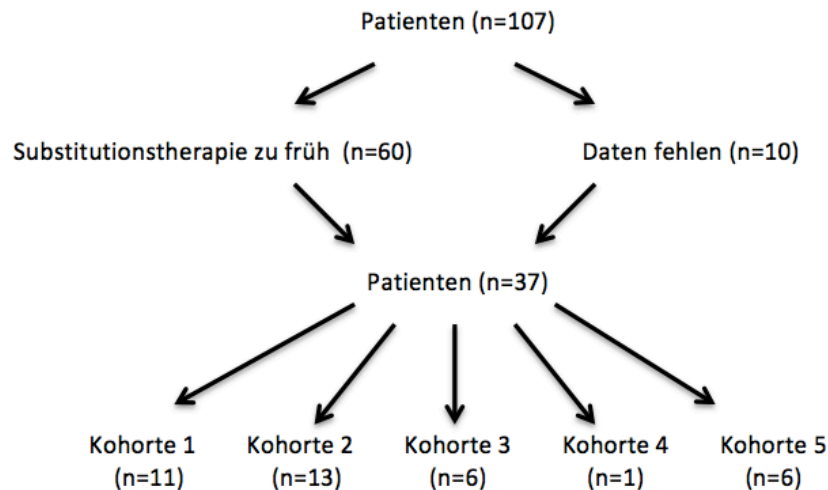
Bei der Gegenüberstellung der Punktegrafiken der Patienten und der Referenzgruppe mit Hilfe von PowerPoint, wurden „Cut-off-Werte“ für DHEA-S zur Diagnose der zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz berechnet. Hierbei wurde diese Grenze bei dem 3. Perzentil der Referenzgruppe gesetzt.

Um einen signifikanten Unterschied zwischen den DHEA-S-Werten unserer Patienten und der Werte der Gesunden (Referenzgruppe) darzustellen, wurde ein zweiseitiger t-Test benutzt. Zur Bestätigung außerdem ein Wilcoxon-Test. Hierfür war es notwendig die Daten zuvor logarithmisch zu transformieren, um eine annähernde Normalverteilung zu garantieren.

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkohorte

Abbildung 3.1: Selektion Kohorte 1



Um die Aussagekraft des DHEA-S-Werts in der Diagnostik einer zentralen NNRI zu überprüfen, wurden die Patienten aus Kohorte 1 verwendet. Es wurde also mit Patienten gearbeitet, deren Messwerte zeigten, dass sie an einer diagnostisch gesicherten sekundären NNRI erkrankt sind. In dieser Kohorte befanden sich insgesamt 11 Patienten. Ursächlich fanden sich Malformationen der Hypophyse, hierbei vor allem die ektopische Neurohypophyse n=4, eine Hypoplasie der Adenohypophyse n=1, ein Hypophysentrauma bei Zustand nach Battered Child n=1 sowie das Germinom n=1, das Kraniopharyngeom n=2 und ein Keimzelltumor n=1. Bei einem Patienten n=1 ließ sich die Ursache nicht genau recherchieren. Es wurden jeweils ein Patient mit Germinom und ein Patient mit Kraniopharyngeom therapeutisch bis zu einer Dosis von 40 Gray zerebral bestrahlt. Alle Patienten n=11 dieser Kohorte litten an weiteren Hypophysen-Hormonmängeln. Alle n=11 litten unter einem Wachstumshormonmangel. Bei zehn n=10 Patienten fand sich ein TSH-Mangel, bei sechs n=6 ein LH/FSH-Mangel und bei drei n=3 ein ADH-Mangel.

Tabelle 3.1: Charakteristika Patientenkohorte 1 (n=11)

Patient (w/m)	Alter bei Diagnose	BMI (kg/m²)	Tanner	Körperliche Symptomatik	Ursache der NNRI	Weitere Hormonmängel
1. w	9,35	15,3	B1/P1	keine	-	GH, TSH
2. w	10,71	15,16	B1/P1	keine	Ektope Neurohypophyse	GH, FSH, LH
3. w	14,16	-	-	Müdigkeit, Inappetenz	Kraniopharyngeom mit transphenoidaler OP mit 13 Jahren	GH, FSH, LH, TSH
4. m	14,75	18,83	G4/P3	Cerebral Parese linksbetont	Hypoplasie Adenohypophyse	GH, FSH, LH
5. w	14,93	19,25	B2/P1	Konzentrationschwäche, Müdigkeit	Germ-Cell-Tumor	GH, TSH, FSH, LH, ADH
6. w	15,08	16,51	B2/P2	keine	Germinom mit cerebraler Radiatio über 40 Gy	GH, FSH, LH, TSH, ADH
7. w	15,27	-	B3/P1	Hypoglykämie, adrenale Krise	Ektope Neurohypophyse	GH, TSH
8. m	15,86	19,29	G1/P2	Adrenale Krise	Transkraniale OP mit 15 Jahren bei Kraniopharyngeom	GH, TSH, FSH, LH, ADH
9. w	16,54	16,22	B1/P1	keine	Trauma bei Battered-Child	GH, TSH
10. w	16,88	18,15	B2/P2	Muskelschwäche	Ektope Neurohypophyse	GH, FSH, LH, TSH
11. w	17,62	17,18	B4/P1	keine	Ektope Neurohypophyse	GH, TSH

Die Pubertätsstadien nach Tanner lagen zum Zeitpunkt der Diagnose der ACTH-Insuffizienz und damit auch zum Zeitpunkt der Messung des DHEA-S-Werts bei sechs n=6 von 11 Patienten in einem für das jeweilige Alter zu niedrigen Bereich:

Tabelle 3.2: Tanner-Stadien zu niedrig

Alter (Jahre)	Tanner-Stadium
14,93 (w)	B2/P1
15,08 (w)	B2/P2
15,27 (w)	B3/P1
16,54 (w)	B1/P1
16,88 (w)	B2/P2
15,86 (m)	G1/P2

Drei n=3 Patienten konnten zum Zeitpunkt der Diagnose altersentsprechende Tanner-Stadien vorweisen. Bei einem n=1 Patienten fehlten die Angaben bezüglich des Pubertätsstadiums. Eine Patientin n=1 zeigte eine zur ihrem Alter entsprechende Brustentwicklung, jedoch nur Pubes-Stadium 1.

Tabelle 3.3: Tanner-Studien Normbereich

Alter (Jahre)	Tanner-Stadium
9,35 (w)	B1/P1
10,71 (w)	B1/P1
14,16 (w)	Keine Angaben
14,75 (m)	G4/P3
17,62 (w)	B4/P1

In der folgenden Tabelle sind die Messwerte von ACTH, Kortisol und DHEA-S im Serum aufgelistet. Die Abnahme erfolgte jeweils zum Zeitpunkt der Diagnose der ACTH-Insuffizienz. Unter Beachtung des zirkadianen Sekretions-Rhythmus des Kortisols und ACTH, betrug der Zeitraum der Abnahme 8 bis 10 Uhr morgens. Zur weiteren Diagnostik wurden bei unserer Patientenkohorte ein ACTH-Stimulationstest (Corticosyntropin-Test) n=6 im Low-Dose-ACTH-Test (1µg) und ein Insulin-Hypoglykämie-Test n=1 durchgeführt. In fünf Fällen n=5 konnte bei der Analyse der Daten keine weitere Diagnostik gefunden werden. Die erhaltenen Werte sind hier in Tabellen aufgeführt.

Tabelle 3.4: ACTH und Kortisol im Serum

Patient	Alter (Yrs)	ACTH (pmol/l)	Kortisol (µg/dl)
1	9,35	4,1	3,1
2	10,71	-	3,7
3	14,16	0,1	4,7
4	14,75	-	3,4
5	14,93	9,7	2,7
6	15,08	-	2,8
7	15,27	4,7	4,9
8	15,86	-	3,8
9	16,54	-	3,1
10	16,88	2,7	0,2
11	17,62	-	1,3

Tabelle 3.5: ACTH-Stimulationstests (1µg)

Patient	Kortisol (µg/dl) nach 30 min
7	27,4 (Wert im Referenzbereich)
8	10,1
9	6,0
11	12,3

Patient	Kortisol($\mu\text{g}/\text{dl}$) nach 60 min
5	15,1
1	17,2

Tabelle 3.6: Insulin-Hypoglykämie-Test

Patient	BZ 0.Minute (mg/dl)	BZ Minimum (mg/dl)	Kortisol ($\mu\text{g}/\text{dl}$)
7	81 mg/dl	63 mg/dl	27,7 (Wert im Referenzbereich)

Bei Patient 7 zeigte sich im ITT ein normales Peak-Kortisol. Auch der ACTH-Stimulationstest zeigte normale Ergebnisse. Bei diesem Patienten ließen sich also nur ein zu niedriges Morgen-Kortisol und ein zu niedriges DHEA-S finden, jedoch zeigten die Referenzteste eine physiologische Hormonproduktion.

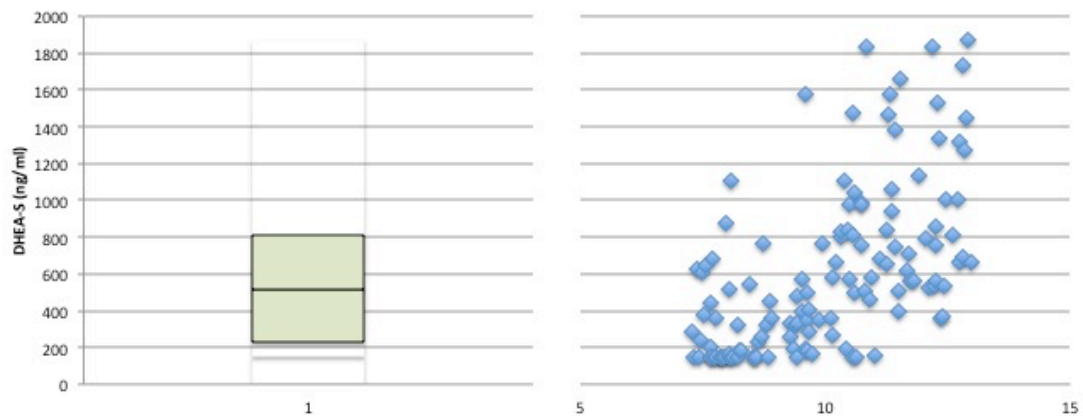
3.2. DHEA-S-Referenzwerte

Tabelle 3.7: Referenzwerte DHEA-S (ng/ml) männlicher Patienten im Altersbereich 7-18 Jahre

Alter (Jahre)	DHEA-S(ng/ml)
7-9	150-1577
9-11	150-1830
11-12	157-1830
12-13	359-3078
13-14	377-3239
14-16	473-3239
16-18	1219-5673

Abbildung 3.2: Boxplot und Punkte-Wolken-Diagramm der Referenzgruppe der Jungen im Altersbereich 7-12 Jahre

Referenzgruppe Jungen 7-12 Jahre



Der Boxplot wird in Quartile unterteilt. Das 1.Quartil bildet die 25. Percentile, das 3. Quartil die 75. Percentile. Das 2. Quartil bildet den Median. Es liegen genau 50% der Werte über dem Median und 50% der Werte darunter.

Abbildung 3.3: Boxplot und Punkte-Wolken-Diagramm der Referenzgruppe der Jungen im Altersbereich 13-18 Jahre

Referenzgruppe Jungen 13-18 J.

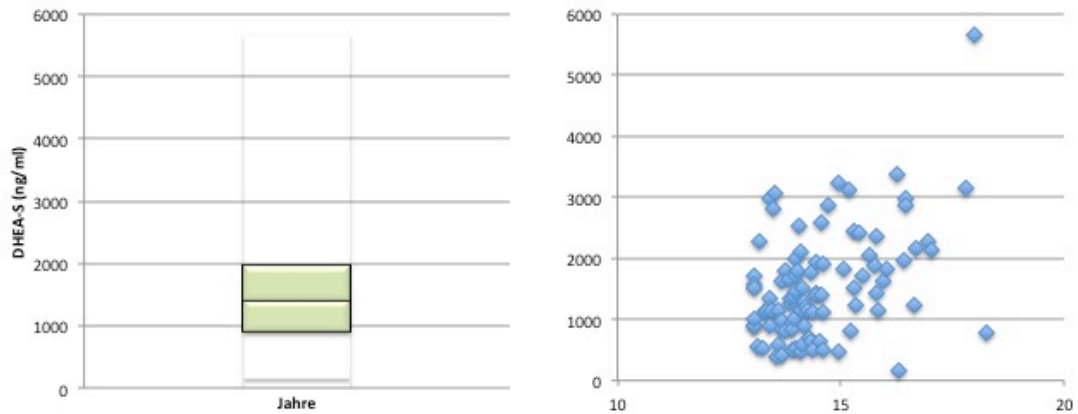


Tabelle 3.8: 95%-Referenzbereich DHEA-S (ng/ml) weiblicher Probanden im Altersbereich 7-18 Jahre

Alter(Jahre)	DHEA-S(ng/ml)
7-9	150-1624
9-11	157-1624
11-12	150-1632
12-13	150-2010
13-14	292-2010
14-16	292-2872
16-18	592-4856

Abbildung 3.4: Boxplot und Punkte-Diagramm der Referenzgruppe der Mädchen im Altersbereich von 7-12 Jahre

Referenzgruppe Mädchen 7-12 J.

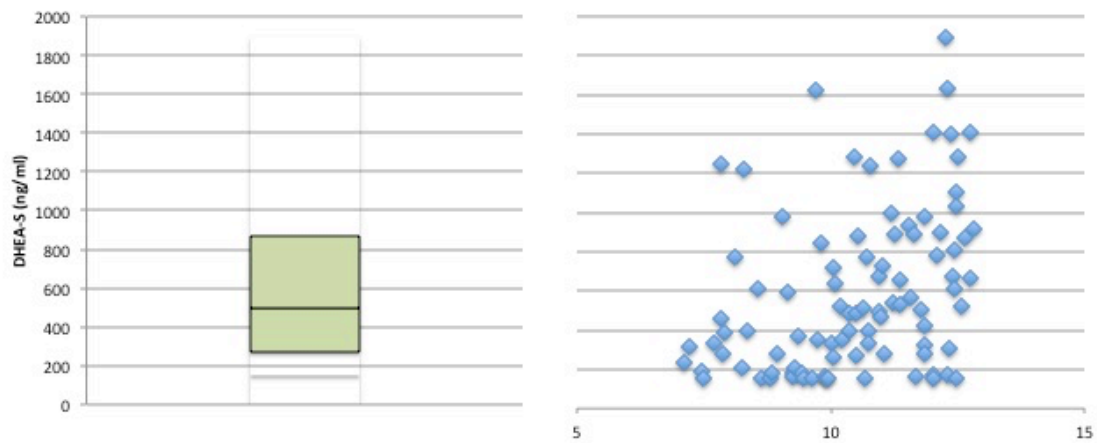
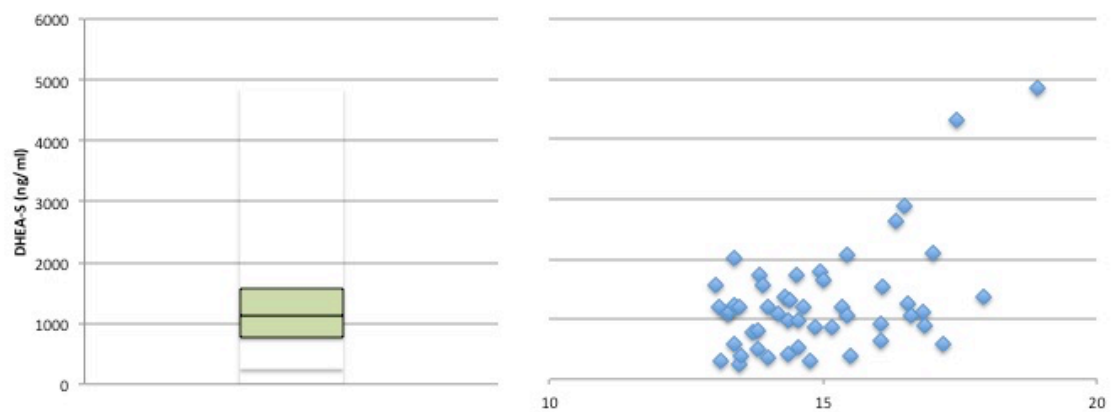


Abbildung 3.5: Boxplot und Punkte-Diagramm der Referenzgruppe der Mädchen im Altersbereich 13-18 Jahre

Referenzgruppe Mädchen 13-18 J.



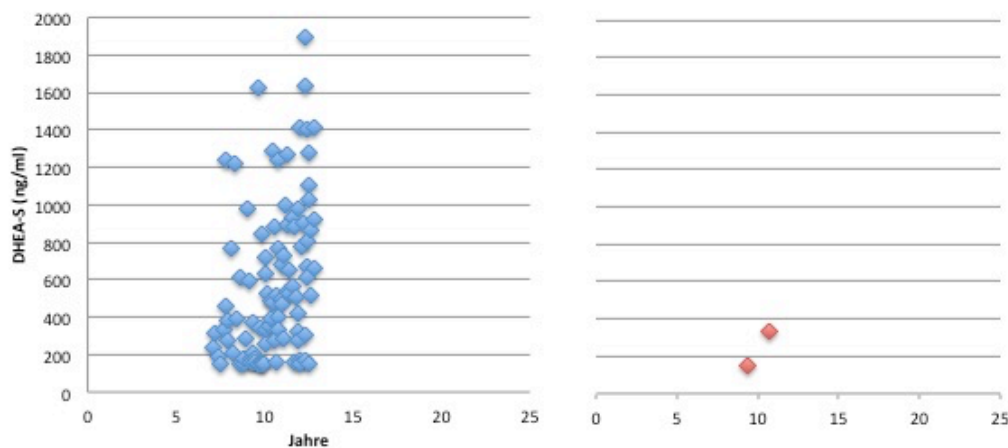
3.3. Gegenüberstellung der Patientenkohorte und Kontrollkohorte

Da sich unter den männlichen Patienten der Kohorte 1 keiner mit einem Alter unter 13 Jahren fand, war ein Vergleich mit der zugehörigen Referenzgruppe nicht möglich. Letztlich fanden sich bei den weiblichen Patienten nur im Altersbereich von 13-18 Jahren sieben verwertbaren Daten $n=7$ und bei den männlichen Patienten im gleichen Altersbereich eine Anzahl von zwei Daten $n=2$.

Die verwertbaren gemessenen DHEA-S-Serumspiegel unserer Patienten stellen wir den erarbeiteten Referenzwerten desselben Altersbereichs in Punkte-Diagrammen gegenüber:

Abbildung 3.6: Vergleich DHEA-S-Serumspiegel (ng/ml) Referenzgruppe mit Kohorte 1 (Mädchen 7-12 Jahre)

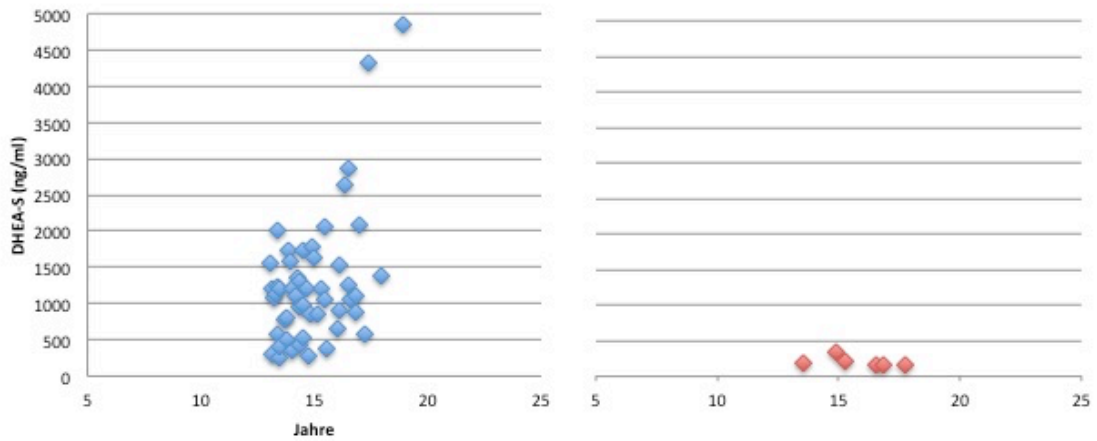
DHEA-S-Serumlevel Mädchen 7-12 Jahre



Datenreihe 1 = weibliche gesunde Probanden; Datenreihe 2 = weibliche Patienten, Kohorte 1

Abbildung 3.7: Vergleich DHEA-S-Serumspiegel (ng/ml) Referenzgruppe mit Kohorte 1 (Mädchen 13-18 Jahre)

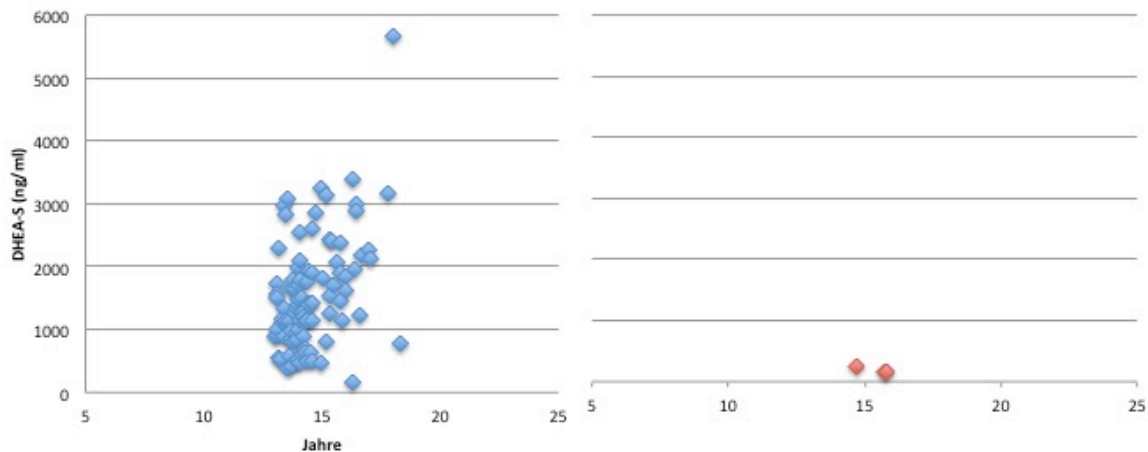
DHEA-S-Serumlevel Mädchen 13-18 Jahre



Datenreihe 1 = weibliche gesunde Probanden; Datenreihe 2 = weibliche Patienten, Kohorte 1

Abbildung 3.8: Vergleich DHEA-S-Serumspiegel (ng/ml) Referenzgruppe mit Kohorte 1 (Jungen 13-18 Jahre)

DHEA-S-Serumlevel Jungen 13-18 Jahre



Datenreihe 1 = männliche gesunde Probanden; Datenreihe 2 = männliche Patienten, Kohorte1

In Abbildung 3.2.2. liegen sechs (n=6) von sieben der gemessenen DHEA-S-Serumspiegel der Patienten unterhalb des zugehörigen Referenzbereiches. Dies bedeutet, dass in diesem Altersbereich 85,7% unserer weiblichen Patienten mit der Diagnose einer zentralen NNRI einen DHEA-S-Serumspiegel haben, der außerhalb des Referenzbereiches liegt.

Im Vergleich der Punkte-Diagramme der männlichen Patienten im Altersbereich 13-18 Jahre mit der zugehörigen Referenzgruppe in Abbildung 3.2.2, fallen die DHEA-S-Serumspiegel der zwei Patienten n=2 nicht in den Referenzbereich der männlichen Kontrollgruppe. Hier liegen also 100% in einem für das jeweilige Alter zu niedrigen Bereich.

Für die Bestimmung eines „Cut-Off-Wertes“ des gemessenen DHEA-S-Serumspiegels, der sich aufgrund der geringen Patientenzahl nicht exakt berechnen ließ, wurde die Grenze bei der 3.Percentile der Referenzgruppe

gesetzt. Für die männlichen Patienten im Altersbereich 13-18 Jahre ergab sich damit ein „Cut-Off“ von 402 ng/dl. Für die weiblichen Patienten ergab sich ein „Cut-Off“ von 292 ng/dl.

4. Diskussion

4.1. Diskussion

Mit dieser retrospektiven Studie sollte überprüft werden, ob die Messung des DHEA-S-Serumspiegels (ng/dl) im Blut ein valider Parameter im Rahmen der Diagnostik einer zentralen NNRI ist. Es zeigte sich sowohl bei den Mädchen als auch bei den Jungen ein Zusammenhang zwischen erniedrigten DHEA-S-Serumspiegeln und dieser Erkrankung. Die Voraussetzung hierfür war allerdings ein Mindestalter von 13 Jahren und damit der stattgefundene Eintritt in die adrenale Pubertät (Adrenarche), da zuvor die NNR noch nicht vollständig ausgereift ist und die Produktion des DHEA-S generell für eine valide Aussagekraft zu gering ist. Außerdem zeigte sich eine Abhängigkeit der jeweilig gemessenen DHEA-S-Serumspiegel von Alter und Geschlecht. Daher sind spezifische Referenzwerte für jedes Alter und Geschlecht notwendig.

Zu der Erkrankung und Diagnostik der zentralen NNRI im Kindesalter lassen sich in der Fachliteratur nur wenige Informationen finden. Gerade die Verwendung des DHEA-S im Hinblick auf die Diagnostik der zentralen NNRI bei Kindern wurde bislang nicht oft untersucht. Allein in der Erwachsenenmedizin gibt es in diesem Bereich eine Reihe von Studien.

Das Krankheitsbild einer zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz findet sich bei Kindern selten. Die entsprechenden Patienten zu selektieren war möglich, jedoch fanden sich im gesamten Daten-Archiv des Tübinger endokrinologischen Labors nur insgesamt elf Kinder, die sich durch Erfüllung, der von uns zuvor aufgestellten Kriterien, als repräsentative Kohorte eigneten. Jeder unserer ausgewählten Patienten unterlag mit seinem jeweiligen gemessenen Morgen-Kortisol-Wert dem Grenzwert von 5µg/dl oder dem ACTH-stimulierten-Kortisol-Wert (low-dose-Test) von 18µg/dl oder dem bei einem ITT provozierten Kortisol-Wert von 18µg/dl, wodurch auf eine unzureichende Funktion der Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse geschlossen werden konnte. [26] Bei allen Patienten war die Diagnose einer ACTH-Insuffizienz

gestellt worden. Ursächlich hierfür waren bei unseren jungen Patienten im Alter von sieben bis 18 Jahren hauptsächlich angeborene Malformationen oder Tumore der Hypophyse, aber auch Traumata der Hypophyse. Die Altersgruppe von 13-18 Jahren wurde gewählt, da grundsätzlich erst in diesem Altersbereich verwertbare DHEA-S-Serumspiegel gemessen werden können. Die Adrenarche und damit die Produktion der Androgene beginnt wie bereits beschrieben erst zwischen dem sechsten und zehnten Lebensjahr und erst ca. ab dem 13. Lebensjahr können verwertbare Konzentrationen gemessen werden. [7] Unsere Patientenkohorte erhielt zudem bis zu dem Zeitpunkt der Messung der Kortisol und DHEA-S-Werte keine Substitution mit externen Glukokortikoiden. Diese konnten also keinen Einfluss auf die Höhe der DHEA-S-Werte nehmen und dadurch keine falsch positiven Werte gemessen werden. [9]

Wir untersuchten die Daten unserer 11 Patienten aus der Kohorte 1 und verglichen die gemessenen DHEA-S-Serumspiegel mit denen unserer Referenzgruppe. Für diesen Vergleich wählten wir den Altersbereich 13-18 Jahre, da wir bei unserer Recherche im Altersbereich von sieben bis zwölf Jahren zu wenige Daten erhielten und wie bereits angemerkt, die NNR-Ausreifung in diesem Altersbereich noch nicht vollständig abgeschlossen ist und vor allem hoher Variabilität unterliegt. Eine valide Aussage für diese Patienten zu treffen, war daher nicht möglich.

Zum Vergleich der Altersgruppen zwischen 13 bis 18 Jahre wurden Punkte-Diagramme für die jeweiligen Gruppen erstellt. Diese wurden nebeneinander platziert, um eine möglichst plastische Veranschaulichung der Ergebnisse zu erzielen. Bei der Auswertung der männlichen DHEA-S-Werte ließ sich feststellen, dass alle Patienten (n=2) unterhalb des Referenzbereichs lagen. Bei den weiblichen Patienten lagen 6 (n=6) von 7 Patienten unterhalb des bestimmten Referenzbereichs. Es zeigte also nur ein Patient einen über dem „Cut-off“ liegenden Wert für DHEA-S bei gesicherter Diagnose einer sekundären NNRI. Die Sensitivität, Spezifität und sowohl der positive als auch negative prädiktive Wert konnten aufgrund der niedrigen Patientenzahl nicht berechnet werden. Die Vergleichsgruppen (Patienten und Referenzgruppe)

waren in ihrer Anzahl zu unterschiedlich. Wir können in unserer Studie daher nur deskriptiv bleiben und nur eine Annahme treffen. Um eine genaue Aussage treffen zu können, müsste die Anzahl der Patienten wesentlich größer sein.

Die Ergebnisse der Studie lassen also annehmen, dass es ab dem Alter von 13 Jahren einen starken Zusammenhang zwischen der Messung eines DHEA-S-Serumspiegels außerhalb des Referenzbereichs und der Erkrankung der sekundären NNRI gibt.

Jedoch muss die Dynamik der DHEA-S-Produktion beachtet werden. Bei gleichem Alter können die Werte durch eine verzögert eingesetzte Adrenarche variieren und für das jeweilige Alter zu niedrige DHEA-S-Werte ergeben. Daher gilt es die Messung im Verlauf mehrmals zu wiederholen, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden.

Aufgrund der Ergebnisse lässt sich die Rolle des DHEA-S-Serumspiegels in der Diagnostik der sekundären NNRI nun auch bei Kindern erkennen und neu einordnen. Voraussetzung ist hierbei allerdings ein Alter zwischen 13 und 18 Jahren und die Berücksichtigung der alters- und geschlechtsspezifischen Referenzwerte. Aufgrund der erst ab dem 6. Lebensjahr beginnenden Produktion von DHEA-S und erst spätem Erreichen eines höheren, gut messbaren Blutspiegels, kann DHEA-S demnach leider nicht in allen Altersklassen der Pädiatrie als diagnostischer Parameter verwendet werden. Außerdem beinhaltet unsere Studie nur eine sehr kleine Patientenzahl. Dies ist bedingt durch das seltene Auftreten der Erkrankung im Kindesalter.

Derzeit gilt ein zu niedrig gemessenes Morgen-Kortisol im Blutserum als der ausschlaggebende Faktor zur Veranlassung einer weiterführenden Diagnostik mit dem Verdacht auf eine NNRI. Nachteil ist hierbei der zirkadiane Sekretions-Rhythmus des Kortisols, weshalb eine Beurteilung des Werts nur bei einem Abnahmezeitpunkt zwischen 8 Uhr und 10 Uhr morgens möglich ist. Diesen Abnahmezeitraum einzuhalten, gestaltet sich bei ambulanten Terminen oft schwierig und erfordert häufig einen weiteren Termin. Der Vorteil von DHEA-S ist, dass es keinem zirkadianen Sekretions-Rhythmus unterliegt und in einer

relativ konstanten Menge im Blut zirkuliert. Es lässt sich also zu jeder Tages- und Nachtzeit ein aussagekräftiger Serumspiegel ermitteln. Bei der Bestimmung und Bewertung des Spiegels gilt es zu beachten, dass dieses Hormon ein Androgen ist und sein Serumspiegel damit abhängig vom jeweiligen Alter des Kindes ist. Es steigt ab dem 6. bis 10. Lebensjahr kontinuierlich an und erreicht sein Konzentrationsmaximum und damit einen konstanten Spiegel erst ab dem 24. Lebensjahr. Weiterhin ist der Spiegel geschlechtsabhängig. Ein diagnostischer Wert lässt sich also nur mit Zuhilfenahme der erstellten geschlechts- und altersabhängigen Referenzwerte erhalten.

4.2. Vergleich mit Daten aus der Literatur

Die Assoziation der sekundären NNRI und niedrigen DHEA-S-Serumspiegeln bei Erwachsenen wurde schon in einigen Studien dargestellt. In der Studie von Yamaji et al. zeigten die Ergebnisse, dass sich bei den meisten Patienten mit zentraler NNRI niedrige DHEA-S-Serumspiegel messen ließen. Es wurde die Vermutung aufgestellt, DHEA-S sei als sensitiver und spezifischer Indikator für eine insuffiziente ACTH-Sekretion verwendbar. [48] Auch Fischli et al. veröffentlichte eine Studie in der Patienten mit einer gestörten Hypophysen-Achsen-Funktion niedrigere Z-Scores für DHEA-S hatten als diejenigen mit einer physiologischen Funktion der Achse. [33]

Eine Studie in der explizit nur weibliche Patienten untersucht wurden, gab es von Miller et al. [49] Miller et al. zeigten, dass alle Frauen mit einer diagnostizierten zentralen NNRI, zusätzlich einen niedrigen DHEA-S-Wert im Blutserum aufwiesen.

In keiner Studie wurde die Empfehlung ausgesprochen, alleine DHEA-S als validen diagnostischen Parameter im Rahmen der Diagnostik einer zentralen NNRI zu verwenden. Al-Aridi et al. schlug in vor, immer den DHEA-S-Serumspiegel und zusätzlich die „Baseline-Bestimmung“ des Kortisols durchzuführen, um einen sicheren Hinweis auf eine möglicherweise bestehende zentrale NNRI zu erhalten. [50] Er stellte aber auch fest, dass ein

normaler alters- und geschlechtsspezifischer DHEA-S-Wert die Diagnose einer NNRI ausschließt und hob hervor, dass wenn ein zu niedriger Wert gemessen werde, man weitere diagnostische Tests zur endgültigen Diagnose durchführen müsse. [50]

Eine allgemein gültige und sichere Methode eines Screenings, die gleichzeitig günstig und einfach in der Handhabung ist, zur frühzeitigen Entdeckung einer zentralen NNRI von Kindern, die entweder an Hypophysen-Hormonmängel aufgrund von Malformationen oder Tumoren leiden oder aufgrund von chronischen Erkrankungen exogene Glukokortikoid-Gaben benötigen, wird immer noch gesucht. [51] In einer Veröffentlichung von Zollner et al. wird die Messung des Morgen-ACTH-Serumspiegels als potentieller Screening-Parameter bei Kindern mit Asthma und Therapie mit inhalativen Glukokortikoiden diskutiert, da es unabhängig von Geschlecht und Alter sei. DHEA-S hingegen sei als Parameter schwierig zu bewerten, da es eben von diesen beeinflusst werde und außerdem nicht nur von dem Steuerungshormon ACTH abhängig sei, sondern auch von IGF-1. Diese Studie beinhaltet zum einen jedoch nur eine kleine Kohorte, die nicht ausreichend repräsentativ ist, und zum anderen zeigt eine andere Studie [52], dass zwar vor Eintritt der Adrenarche die Konzentration von DHEA-S von mehreren Faktoren, wie z.B. IGF-1 abhängig ist, aber ab Eintritt der Adrenarche der bedeutendste Regulator ACTH ist. DHEA-S ist also in der Phase, in der unsere Kohorte untersucht wurde, hauptsächlich von ACTH gesteuert.[53] Das heißt, die gemessenen DHEA-S-Blutserum-Konzentrationen sind abhängig von der Höhe des sezernierten ACTH der Hypophyse. DHEA-S ist neben den zuvor aufgeführten Vorteilen außerdem direkt abhängig von der ACTH-Sekretion der Hypophyse und damit alles in allem ein guter valider Parameter für ein Screening, welches Hinweise auf eine zentrale NNRI geben soll. Auch in einer Studie von Grinspoon et al. wird deutlich darauf hingewiesen, dass ACTH auf keinen Fall als alleiniger Parameter zur Diagnose einer zentralen NNRI verwendet werden dürfe, da es sich gezeigt hat, dass die Differenzierung anhand der ACTH-Serumkonzentration zwischen normal gesunden und an einer zentralen NNRI erkrankten Probanden nicht funktioniert. [26]

Die Ergebnisse unserer Studie lassen einen starken Zusammenhang zwischen einer sekundären NNRI und einem niedrigen DHEA-S annehmen. Nur ein Patient n=1 lag mit dem gemessenen DHEA-S-Wert oberhalb des „Cut-off“. Um den Verdacht einer NNRI zu erhärten ist DHEA-S ein einfach zu gewinnender diagnostischer Parameter. Die Produktion dieses Hormons ist unabhängig von akuten Stresssituationen des Kindes, was bedeutet, dass sie auch in kritischen Situationen stabil bleibt, während sich die Kortisol-Bestimmung bei schwer kranken und frisch operierten Patienten zur Detektion einer zentralen NNI schwierig gestaltet, da es als Stresshormon in diesen Situationen vermehrt ausgeschüttet wird und eine eventuelle adrenale Insuffizienz überdeckt werden kann. Hier findet sich ein erheblicher Vorteil und Nutzen der Bestimmung des DHEA-S-Serumspiegels bei Kindern als auch bei Erwachsenen, bei denen eine insuffiziente ACTH-Produktion vermutet wird. Lebensbedrohliche Zustände aufgrund einer akuten adrenalen Insuffizienz können so frühestmöglich therapiert werden. Da der Zeitraum bis zur Therapie die ausschlaggebende Rolle spielt, ist eine einfache und schnelle Durchführung eines Tests, entscheidend. [8] Es ist also essenziell eine sichere und schnelle Screening-Methode zur Detektion dieses Krankheitsbildes zu finden.

Unsere Studie unterscheidet sich erheblich von einer Arbeit von Vaiani et al., in welcher man zu der Schlussfolgerung gelangte, dass der basale DHEA-S-Serumspiegel nicht als Parameter für die Diagnose einer insuffizienten Funktion der NNR zu benutzen sei. [28] Es wurden 94 Patienten im pubertären Alter in die Studie aufgenommen, bei welchen eine insuffiziente ACTH-Produktion aufgrund von klinischen Faktoren vermutet wurde. Diese setzten sich wie folgt zusammen: 1. Z.n. langfristiger Einnahme von exogenen Glukokortikoiden, 2. Diagnose von zentralen Hirntumoren, Hypophysitis, Histiozytose, Z.n. traumatischen Hirnoperationen und Z.n. kraniieller Bestrahlung und 3. ein gemessener Kortisol-Wert < 12µg/dl um 8 Uhr. Diagnostisch erfolgte hier zur Sicherung der Insuffizienz ein „Low-dose“ ACTH-Test, das heißt eine Stimulation der NNR mittels 1µg Cosyntropin. Gleichzeitig wurden die basalen DHEA-S-Serumspiegel gemessen und diese dann mit dem Ergebnis des „Low-dose“ ACTH-Test verglichen. Die Sensitivität des DHEA-S zur Detektion der

NNRI definiert als pathologischer ACTH-Test betrug in dieser Studie nur 38,6% und die Spezifität 80%.

Unsere Studie beinhaltet zwar eine wesentlich kleinere Gruppe von Patienten $n=11$, jedoch weisen alle 11 Patienten mehrere im Verlauf gemessene Kortisol-Werte auf, die sich unterhalb von $5\mu\text{g}/\text{dl}$ befanden und fünf $n=5$ einen „Low-dose“ ACTH-Test von unter $18\mu\text{g}/\text{dl}$. Die ACTH-Insuffizienz wurde also mehrfach gesichert. Ein weiteres Argument ist die Klinik unserer Patienten. (Hypophysentumoren- und Malformationen und damit einhergehende Hormonausfälle). In der Arbeit von Vaiani et al. wurde beschrieben, dass sich zwischen den zwei untersuchten Gruppen (Gruppe 1= negativer „Low-dose“ ACTH-Test /Gruppe 2= positiver „Low-dose“ ACTH-Test) keine wesentlichen Unterschiede im gemessenen Morgen-Kortisol im Serum zeigten. Der Kortisol-Wert müsste aber bei den meisten Patienten mit einer ACTH-Insuffizienz in einem zu niedrigen Bereich liegen, da sowohl DHEA-S als auch Kortisol von ACTH gesteuert werden. Hier stellt sich also die Frage, ob die positiv ausgefallen „Low-dose“ ACTH-Tests richtig positiv waren oder eventuell viele falsch positive Ergebnisse darunter lagen. Dies könnte die im normal physiologischen Bereich gemessenen DHEA-S-Werte erklären. Zusätzlich ist noch zu erwähnen, dass, wie auch schon im Vorhergehenden beschrieben, viele Autoren die Spezifität des „Low-dose“ ACTH-Test als alleinigen Test zur Sicherung der Diagnose einer zentralen NNRI anzweifeln. Es ist also fast zu vermuten, dass bei solch einer großen Patientenzahl und der Nutzung des „Low-dose“ ACTH-Test als einzigen diagnostischen Test, es zu falsch-positiven Ergebnissen gekommen ist und die Studie damit nicht repräsentativ für die Sensitivität des DHEA-S im Rahmen der Diagnose einer zentralen NNRI sein kann. Beachtet werden sollte auch, dass jenes Krankheitsbild sehr selten bei Kindern auftritt und diese Studie bei 43,8% der Patienten einen insuffizienten „Low-dose“ ACTH-Test erhalten hat. Des Weiteren wurde in jener Studie bei der Bewertung des DHEA-S-Spiegel zwar das Alter berücksichtigt, die Ergebnisse allerdings nicht nach Geschlecht getrennt bewertet. Da sich die Referenzwerte der männlichen und weiblichen Kinder unterscheiden, gilt es dies zu berücksichtigen, da es sonst erneut zu falschen Ergebnissen kommen

kann. Weiter zu beachten ist, dass sich in dieser Studie eine niedrige Prätestwahrscheinlichkeit findet. Die Prävalenz dieser Erkrankung ist sehr niedrig, so dass also die Wahrscheinlichkeit in einer Stichprobe, welche nur durch die Anamnese und klinische Untersuchung selektiert wurde, Kinder mit einer NNRI zu finden sehr niedrig ist.

Aufgrund ihres Ergebnisses, dass es zwischen DHEA-S und einer zentralen NNRI keinen Zusammenhang gibt, stellten Vaiani et al. die Behauptung auf, dass es bei Patienten mit einer zentralen NNRI trotzdem zum Eintritt der Adrenarche kommen würde. Dies widerlegt unsere Studie, da alle unsere Patienten aus Kohorte 1 mit der Diagnose einer zentralen NNRI, Pubes-Stadien im unteren Bereich zeigten und die Pubes-Entwicklung damit nicht zum jeweiligen Alter passte. Es zeigte sich also klinisch ganz deutlich, dass bei einer zentralen NNRI die Sekretion des Vorstufenhormons der Androgene, nämlich die des DHEA-S, betroffen ist.

4.3. Schlussfolgerung aus dieser Arbeit

In dieser Studie wird zum ersten Mal der diagnostische Wert der Bestimmung des DHEA-S-Serumspiegels bei der Diagnostik der zentralen NNRI bei Kindern in einem Alter von 13 bis 18 Jahren aufgezeigt. In einer Kohorte mit der gesicherten Diagnose der zentralen NNRI zeigte nur ein Patient einen DHEA-S-Wert oberhalb des bestimmten „Cut-off“ auf. Dies führt zu der Annahme, dass ein niedriges gemessenes DHEA-S mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine NNRI hinweisend ist und das mit hoher Wahrscheinlichkeit eine NNRI ausschließen lässt, wenn der gemessene DHEA-S-Wert deutlich oberhalb des jeweiligen Cut-off-Werts liegt.

In der Diagnostik der zentralen NNRI ist dieses Ergebnis ein wichtiger Fortschritt, da Kortisol nur limitiert verwendbar ist, die vorhandene Diagnostik gerade bei Kindern begrenzt und man immer noch auf der Suche nach einer optimalen Methode ist.

Die Bestimmung und Einbeziehung des DHEA-S-Serumspiegel ist für die jungen Patienten risikofrei, der Wert lässt sich schnell und zu jeder Tageszeit bestimmen und bildet in Zukunft vielleicht eine Möglichkeit falsch-positive „Low-dose“ ACTH-Tests zu hinterfragen.

5. Zusammenfassung

Miller et al zeigten in einer Studie, dass bei weiblichen Erwachsenen das Nebennierenrinden-Hormon DHEA-S im Rahmen der Diagnostik einer zentralen NNRI ein valider Parameter ist. Ziel unserer Studie war es, die Bedeutung dieses Hormons bei dieser Erkrankung auch für Kinder darzustellen. In einer retrospektiven Studie sammelten wir DHEA-S-Werte von Kindern im Alter von 7 bis 18 Jahren, die an einer zentralen NNRI erkrankt waren. Aus DHEA-S-Werten gesunder Kinder von 7 bis 18 Jahren wurden für jeden Altersbereich Referenzwerte erstellt. Mit Hilfe von Punkte-Diagrammen wurden die Hormonspiegel der gesunden und kranken Kinder einander gegenübergestellt und verglichen. Ziel war es darzustellen, dass die gemessenen DHEA-S-Blutspiegel der Kranken unterhalb der Werte der Gesunden liegen, wodurch der Zusammenhang zwischen einem niedrigen DHEA-S-Wert und der zentralen NNI gezeigt werden sollte. Da wir für den Altersbereich von sieben bis zwölf Jahren keine ausreichenden Daten erheben konnten und zu dieser Zeit die Verwendung von DHEA-S aufgrund der noch nicht vollständig ausgereiften Nebennierenrinde nicht valide ist, konzentrierten wir uns auf den Altersbereich von 13 bis 18 Jahren. Die Auswertungen ergaben sowohl bei den Mädchen also auch bei den Jungen einen signifikanten Unterschied der Werte zwischen den Gesunden und Kranken. Die Werte der Kranken lagen bei beiden Geschlechtern signifikant unter dem von uns bestimmten Cut-off-Wert, den wir mit Hilfe der Referenzgruppe altersspezifisch und geschlechtsspezifisch festlegten.

Im Rahmen dieser Studie ergab sich also eine Relation zwischen der Höhe des DHEA-S-Serumspiegels und einer zentralen NNRI. Da in neusten Studien

herausgefunden wurde, dass Jungen mehr DHEA-S produzieren und auch unsere erstellten Referenzwerte einen deutlichen Konzentrations-Unterschied für die jeweiligen Altersbereiche zwischen den Geschlechtern aufzeigen, gilt es DHEA-S-Werte immer mit den geschlechts- und altersspezifischen Referenzwerten zu vergleichen. Außerdem ist der Hormonwert erst ab einem Alter von 13 Jahren als valider Parameter zur Diagnose der NNRI zu verwenden.

Die Verwendung von DHEA-S als diagnostischer Parameter ist sinnvoll, da es aufgrund seiner langen Halbwertszeit zu jeder Tageszeit in einer stabilen Konzentration zu messen ist. Der Abnahmezeitpunkt kann also variieren, ohne dass die Aussagekraft beeinträchtigt wird. Dies ist ein großer Vorteil gegenüber der Abnahme eines Kortisol-Spiegels, welcher zwischen 8 und 10 Uhr morgens erfolgen muss.

Die zentrale NNRI ist eine Erkrankung, deren Symptomatik häufig unspezifisch ist und vor allem in Stresssituationen auftritt. Da adrenale Krisen bei falscher Therapie oder zu spätem Therapiebeginn letal enden können, ist es wichtig diese Kinder möglichst frühzeitig zu diagnostizieren. Umso wichtiger ist also ein valider Parameter, der als eine Art Screening-Parameter bei Kindern eingesetzt werden kann, die z.B. an einem Wachstumshormonmangel leiden, eine Hypophysenfehlbildung haben, exogen mit Glukokortikoiden substituiert werden oder an einer anderen hypophysären Erkrankung leiden. Ein unterhalb des in unserer Studie errechneten Cut-off-Wertes gemessener DHEA-S-Spiegel ist ein Hinweis auf eine zentrale NNRI und sollte eine anschließende Diagnostik zur Folge haben.

Da diese Studie nur wenige Patienten beinhaltet, wäre es zu empfehlen in der Zukunft weitere Patientendaten zu sammeln und die Ergebnisse dieser Studie weiter zu verifizieren. Somit ließe sich die Signifikanz der Daten untermauern.

Literaturverzeichnis

1. Behrends J., J.B., *Physiologie*. 2010.
2. Thews, G., E. Mutschler, and P. Vaupel, *Human anatomy, physiology, and pathophysiology*. Reference ed. 1985, Amsterdam ; New York, NY, USA,: Elsevier ;. xxi, 812 p.
3. Deetjen, P.S., Erwin-Josef; Hescheler, Jürgen, *Physiologie*. 2005.
4. Chida, D., et al., *Melanocortin 2 receptor is required for adrenal gland development, steroidogenesis, and neonatal gluconeogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(46): p. 18205-10.
5. Grosser, G., et al., *Transport of steroid 3-sulfates and steroid 17-sulfates by the sodium-dependent organic anion transporter SOAT (SLC10A6)*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2017.
6. Kazlauskaitė, R. and M. Maghnie, *Pitfalls in the diagnosis of central adrenal insufficiency in children*. Endocr Dev, 2010. **17**: p. 96-107.
7. Binder, G., et al., *Effects of dehydroepiandrosterone therapy on pubic hair growth and psychological well-being in adolescent girls and young women with central adrenal insufficiency: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase III trial*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(4): p. 1182-90.
8. Oelkers, W., *Adrenal insufficiency*. N Engl J Med, 1996. **335**(16): p. 1206-12.
9. Sayyed Kassem, L., et al., *Measurements of serum DHEA and DHEA sulphate levels improve the accuracy of the low-dose cosyntropin test in the diagnosis of central adrenal insufficiency*. J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(10): p. 3655-62.
10. Grossman, A.B., *Clinical Review#: The diagnosis and management of central hypoadrenalism*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(11): p. 4855-63.
11. Gekle, M., *Physiologie*. 2010: Thieme.
12. Arlt, W. and B. Allolio, *Adrenal insufficiency*. Lancet, 2003. **361**(9372): p. 1881-93.
13. Rose, S.R., et al., *ACTH deficiency in childhood cancer survivors*. Pediatr Blood Cancer, 2005. **45**(6): p. 808-13.

14. Patterson, B.C., et al., *Adrenal function testing in pediatric cancer survivors*. *Pediatr Blood Cancer*, 2009. **53**(7): p. 1302-7.
15. Catli, G., et al., *Acceleration of puberty during growth hormone therapy in a child with septo-optic dysplasia*. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2014. **6**(2): p. 116-8.
16. Atapattu, N., et al., *Septo-optic dysplasia: antenatal risk factors and clinical features in a regional study*. *Horm Res Paediatr*, 2012. **78**(2): p. 81-7.
17. Carvalho, L.R., et al., *A homozygous mutation in HESX1 is associated with evolving hypopituitarism due to impaired repressor-corepressor interaction*. *J Clin Invest*, 2003. **112**(8): p. 1192-201.
18. McCabe, M.J., et al., *Variations in PROKR2, but not PROK2, are associated with hypopituitarism and septo-optic dysplasia*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013. **98**(3): p. E547-57.
19. Webb, E.A. and M.T. Dattani, *Septo-optic dysplasia*. *Eur J Hum Genet*, 2010. **18**(4): p. 393-7.
20. Alatzoglou, K.S. and M.T. Dattani, *Genetic forms of hypopituitarism and their manifestation in the neonatal period*. *Early Hum Dev*, 2009. **85**(11): p. 705-12.
21. Alatzoglou, K., et al., *Sox3 Deletion in Mouse and Human Is Associated with Persistence of the Craniopharyngeal Canal*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014: p. jc20141160.
22. Dattani, M.T., *Novel insights into the aetiology and pathogenesis of hypopituitarism*. *Horm Res*, 2004. **62 Suppl 3**: p. 1-13.
23. Pham, L.L., et al., *Clinical, biological and genetic analysis of 8 cases of congenital isolated adrenocorticotrophic hormone (ACTH) deficiency*. *PLoS One*, 2011. **6**(10): p. e26516.
24. Vallette-Kasic, S., et al., *Congenital isolated adrenocorticotropin deficiency: an underestimated cause of neonatal death, explained by TPIT gene mutations*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. **90**(3): p. 1323-31.
25. Kasperlik-Zaluska, A.A., et al., *Secondary adrenal insufficiency associated with autoimmune disorders: a report of twenty-five cases*. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1998. **49**(6): p. 779-83.
26. Grinspoon, S.K. and B.M. Biller, *Clinical review 62: Laboratory assessment of adrenal insufficiency*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994. **79**(4): p. 923-31.

27. Elder, C.J. and P. Dimitri, *Hydrocortisone for adrenal insufficiency*. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2015.
28. Vaiani, E., et al., *Central adrenal insufficiency could not be confirmed by measurement of basal serum DHEAS levels in pubertal children*. Horm Res Paediatr, 2014. **82**(5): p. 332-7.
29. Agwu, J.C., et al., *Tests of adrenal insufficiency*. Arch Dis Child, 1999. **80**(4): p. 330-3.
30. F.G.Riepe, A.R.-U., J.Pohlenz, R.Schmedemann, C.-J. Partsch, *Molekulare Diagnostik in der Endokrinologie*. 2013.
31. Cross, A.S., et al., *International survey on high- and low-dose synacthen test and assessment of accuracy in preparing low-dose synacthen*. Clin Endocrinol (Oxf), 2018. **88**(5): p. 744-751.
32. Reimondo, G., et al., *Secondary hypoadrenalism*. Pituitary, 2008. **11**(2): p. 147-154.
33. Fischli, S., et al., *Dehydroepiandrosterone sulfate in the assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(2): p. 539-42.
34. Ahrendt, H.J. and C. Friedrich, *Sexualmedizin in der Gynäkologie*. 2015: Springer Berlin Heidelberg.
35. Burkhardt, T., et al., *DHEA(S)--a novel marker in Cushing's disease*. Acta Neurochir (Wien), 2013. **155**(3): p. 479-84; discussion 484.
36. Johannsson, G., et al., *Low dose dehydroepiandrosterone affects behavior in hypopituitary androgen-deficient women: a placebo-controlled trial*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(5): p. 2046-52.
37. Arlt, W., et al., *Oral dehydroepiandrosterone for adrenal androgen replacement: pharmacokinetics and peripheral conversion to androgens and estrogens in young healthy females after dexamethasone suppression*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(6): p. 1928-34.
38. Maninger, N., et al., *Neurobiological and neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS)*. Front Neuroendocrinol, 2009. **30**(1): p. 65-91.
39. Mundy, L.K., et al., *Adrenarche and the Emotional and Behavioral Problems of Late Childhood*. J Adolesc Health, 2015. **57**(6): p. 608-16.
40. Lentze, M.J., et al., *Pädiatrie: Grundlagen und Praxis*. 2013: Springer Berlin Heidelberg.

41. Stalla, G.K., *Therapielexikon Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten*. 2007: Springer Berlin Heidelberg.
42. Hunt, P.J., et al., *Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease in a randomized, double blind trial*. J Clin Endocrinol Metab, 2000. **85**(12): p. 4650-6.
43. Regelson, W., R. Loria, and M. Kalimi, *Dehydroepiandrosterone (DHEA)-the "mother steroid". I. Immunologic action*. Ann N Y Acad Sci, 1994. **719**: p. 553-63.
44. Belgorosky, A., et al., *Adrenarche: postnatal adrenal zonation and hormonal and metabolic regulation*. Horm Res, 2008. **70**(5): p. 257-67.
45. Hui, X.G., et al., *Development of the human adrenal zona reticularis: morphometric and immunohistochemical studies from birth to adolescence*. J Endocrinol, 2009. **203**(2): p. 241-52.
46. Mouritsen, A., et al., *Longitudinal changes in serum concentrations of adrenal androgen metabolites and their ratios by LC-MS/MS in healthy boys and girls*. Clin Chim Acta, 2015. **450**: p. 370-5.
47. Sahiner, U.M., et al., *Evaluation of adrenocortical function in 3-7 aged asthmatic children treated with moderate doses of fluticasone propionate: reliability of dehydroepiandrosterone sulphate (dhea-s) as a screening test*. Allergol Immunopathol (Madr), 2011. **39**(3): p. 154-8.
48. Yamaji, T., et al., *Serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations in secondary adrenal insufficiency*. J Clin Endocrinol Metab, 1987. **65**(3): p. 448-51.
49. Miller, K.K., et al., *Androgen deficiency in women with hypopituitarism*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(2): p. 561-7.
50. Al-Aridi, R., D. Abdelmannan, and B.M. Arafah, *Biochemical diagnosis of adrenal insufficiency: the added value of dehydroepiandrosterone sulfate measurements*. Endocr Pract, 2011. **17**(2): p. 261-70.
51. Zollner, E.W., et al., *Hypothalamic-pituitary-adrenal axis suppression in asthmatic children on inhaled and nasal corticosteroids: is the early-morning serum adrenocorticotropin hormone (ACTH) a useful screening test?* Pediatr Allergy Immunol, 2011. **22**(6): p. 614-20.
52. Kreitzer, P.M., et al., *Dehydroepiandrosterone sulfate levels are not suppressible by glucocorticoids before adrenarche*. J Clin Endocrinol Metab, 1989. **69**(6): p. 1309-11.

53. Zollner, E.W., *Hypothalamic-pituitary-adrenal axis suppression in asthmatic children on inhaled corticosteroids: part 1. Which test should be used?* *Pediatr Allergy Immunol*, 2007. **18**(5): p. 401-9.

Danksagung

Ich möchte mich hiermit ganz besonders für die Ermöglichung dieser Dissertationsschrift mit diesem spannenden Thema bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Gerhard Binder bedanken. Außerdem für die gute Betreuung, die immer mögliche Ansprache, die stets schnellen Antworten und die Geduld.

Danken möchte ich auch Karin Weber für die freundliche Zusammenarbeit.

Ein großer Dank geht an meine Eltern, die mir das Studium der Humanmedizin ermöglicht haben und auf deren Unterstützung ich immer zählen kann.

An meinen Bruder Phil, der mir eine große Hilfe war.

Zuletzt geht natürlich ein großer Dank an Hannes für die stetige Motivation, Zuversicht und Unterstützung.

Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. med. Gerhard Binder durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie der Universität Tübingen sowie durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Frankfurt, den 30. Oktober 2020

Lara-Sophie Zehnder

