

Die Ausscheidung der freien 11-Hydroxy-Corticosteroide im Neugeborenen- und Kindesalter vor und nach ACTH-Belastung

Von

W. HUBL und G. W. LEHMANN

Chemisches Zentrallaboratorium des Bezirkskrankenhauses Dresden-Friedrichstadt und Kinderklinik des Krankenhauses Dresden-Neustadt

(Eingegangen am 5. Januar 1970)

Mittels eines fluorometrischen Verfahrens wurden die freien (biologisch aktiven) 11-Hydroxy-Corticosteroide (11-OHCS) im Harn gesunder Probanden im Alter von 3 Tagen bis 18 Jahren bestimmt. Es fand sich eine gute Korrelation zwischen 11-OHCS-Ausscheidung und Alter der Kinder und Jugendlichen. Die Lücke in der Normalbereichsfixierung im Kindesalter wurde damit geschlossen. Unter ACTH-Belastung kommt es, analog zum Erwachsenenalter, zu einem massiven Anstieg der 11-OHCS im Harn, im Durchschnitt auf das 7,4fache. Eine maximale ACTH-Stimulierung der Nebennierenrinde ist zu erreichen mit 25 IE bis 3 Jahre, 50 IE bis 16 Jahre, 75 IE ab 16 Jahre.

Aus der Vielzahl der Corticosteroidbestimmungsmethoden haben sich die fluorometrischen Verfahren im klinischen Laboratorium herauskristallisiert und finden ihrer wesentlichen Vorteile wegen zunehmende Verbreitung. Auf die Vorzüge der fluorometrischen 11-Hydroxy-Corticosteroidbestimmung (11-OHCS) wiesen STAHL und DÖRNER in einer systematischen Darstellung [14] hin. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit der fluorometrischen Verfahren gelingt es, die freien, biologisch aktiven Hormone zu erfassen, die im Gegensatz zu den eiweißgebundenen Corticosteroiden bei Nebennierenrindenüberfunktion und nach ACTH-Gaben besonders eklatant ansteigen. Stoffwechselveränderungen, wie Adipositas, Lebererkrankungen, Hyperthyreose, üben

keinen störenden Einfluß auf die Ausscheidung der freien 11-OHCS aus.

Das fluorometrische Verfahren ist im Vergleich zu anderen quantitativen Hormonbestimmungsmethoden weniger aufwendig.

Zur Methode von STAHL und DÖRNER [15] sind ausführliche Untersuchungen bei Normalpersonen und Personen mit verschiedenen endokrinen Erkrankungen durchgeführt worden [4]. Es fehlen jedoch systematische Analysen über die Ausscheidung der freien 11-OHCS im gesamten Kindesalter. Da die Corticosteroidsekretion vom Körpergewicht (bzw. der Körperoberfläche) abhängig ist [17], interessierte uns, inwieweit eine Altersabhängigkeit auch zu dem mit dieser Methode erfaßbaren freien 11-OHCS-Spiegel im Harn besteht, des-

sen Höhe einerseits von der Sekretion und andererseits vom Abbau der Corticosteroide bestimmt wird.

Nach BEISEL und Mitarbeitern [1] korreliert die Konzentration der unkonjugierten 11-OHCS im Harn echt mit dem freien 11-OHCS-Spiegel des Plasmas. Bemerkenswert ist jedoch, daß zahlreiche Autoren [6, 7, 10, 16, 19] bei Kindern die gleichen Konzentrationen (10–20 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) der unkonjugierten Corticosteroide im Blut wie bei Erwachsenen fanden, während MINICK [11] sowie ULSTROM und Mitarbeiter [18] eine klare Altersabhängigkeit des unkonjugierten Cortisolspiegels im Harn mit sehr niedrigen Werten im ersten Lebensjahr angeben.

11-OHCS sind Glucocorticoide, ihre Bildungsstätte ist die Zona fasciculata. Diese ist, wie aus der Lebenskurve der Nebennierenrinde von ROTTER [13] abzulesen ist, bei der Geburt sehr schmal, aber nicht an der Involution der Cortex fetalis beteiligt, sondern verbreitert sich im ersten Lebenshalbjahr relativ schnell und nimmt während der gesamten Kindheit bis zur Geschlechtsreife allmählich zu.

Die Bestimmung der NNR-Hormone im Kindesalter ist wichtig für die Differentialdiagnose der Fettsucht, des M. Cushing, des M. Addison, der seltenen kongenitalen Lipoidhyperplasie der Nebenniere und des kongenitalen adrenogenitalen Syndroms, ferner bei NNR-Tumoren, die je nach Hormonproduktion verschiedene Krankheitsbilder erzeugen können. Auch bei kongenitaler Syphilis sollte von klinischer Seite der Rin-

denfunktion spezielle Aufmerksamkeit geschenkt werden, da unter Umständen auch bei klinisch ausgeheilten Fällen eine relative, latente Insuffizienz vorliegen könnte [3]. Das gleiche gilt für die wenigen Patienten, die ein Waterhouse-Friderichsen-Syndrom überleben.

Die niedrige Nachweisgrenze bei der fluorometrischen 11-OHCS-Bestimmung im Harn gestattet es, Unterfunktionen eindeutig vom Normalbereich abzugrenzen [5]. Weiterhin ist eine Schädigung der Nebennierenrinde durch fehlenden oder mangelhaften Anstieg der 11-OHCS beim ACTH-Test zu objektivieren.

Durch diesen Beitrag sollen

1. die Lücke in der Normalbereichsfixierung der freien 11-OHCS im Harn bei Kindern und Jugendlichen geschlossen und

2. Normalwerte für die Ausscheidung der 11-OHCS nach maximaler Stimulierung der Nebennierenrinde durch ACTH im Kindesalter mitgeteilt werden.

Zur Ermittlung der Normalwerte wurde der 24-Stunden-Harn von 11 Neugeborenen und 56 Kindern und Jugendlichen im Alter von 4 Monaten bis 18 Jahren untersucht.

Bei den Neugeborenen handelt es sich um reifgeborene Knaben zwischen 3. und 6. Lebenstag mit einem Körpergewicht über 3000 g (bei Knaben ist die Urinsammlung leichter durchführbar als bei Mädchen). Da die Miktion nicht willensmäßig geregelt werden kann, ist im Einzelfall mit kleinen Ungenauigkeiten bei der Sammlung des 24-Stunden-Harns zu

rechnen, die sich aber im Durchschnittswert von 11 Neugeborenen ausgleichen dürften.

MATERIAL UND METHODIK

Die Bestimmung der freien 11-OHCS im Harn erfolgte in einer Modifikation [8] der Methode von STAHL und DÖRNER [15]:

10 ml (bei Kindern unter 4 Monaten Gesamtharn) des 24-Stunden-Sammelharns werden mit 4 Vol.-Teilen Petroläther geschüttelt und nach der Abtrennung mit 15 ml eisgekühltem Methylenchlorid durch 5 min-langes, vorsichtiges Schütteln extrahiert. Anschließend wird mit 1 ml 0,1 n Natronlauge gewaschen. 10 ml des abgetrennten Methylenchloridextraktes werden mit 3,5 ml eisgekühlter alkoholischer Schwefelsäure (70 Vol.%) versetzt und 30 sec kräftig geschüttelt. Sobald sich die Phasen wieder getrennt haben, wird die untere Schwefelsäurephase in eine Küvette überführt. Genau 2 und 5 min nach der Schwefelsäurezugabe werden die Fluoreszenzintensitäten ausgemessen. Die Fluoreszenzanregung erfolgt mit der Quecksilberlinie 436 nm. Als Sekundärfilter dient das OG 4-Filter (Schott & Gen., Jena). Die korrigierten Fluoreszenzintensitäten (S) ergeben sich aus $S = J_5 - J_2 \cdot 1,1$.

J_5, J_2 = gemessene Fluoreszenzintensitäten nach 5 und 2 min.

Der ACTH-Test wurde bei 18 Kindern im Alter von 4 Monaten bis 15 Jahren durchgeführt. Dabei wurden die 11-OHCS im 10-Stunden-Nachtharn vor und nach ACTH-Injektion bestimmt. Nachtharn wird deshalb verwandt, weil die Probanden während des Schlafes frei von Stresseinwirkungen sind. Wir applizierten bis zum Alter von 3 Jahren 25 IE,

zwischen 3 und 16 Jahren 50 IE, über 16 Jahre 75 IE ACTH. Die angegebenen Dosen reichen für eine maximale Stimulierung der Nebennierenrinde aus, wie unser Versuch mit einem Kind unter 3 Jahren zeigt, dem wir zunächst 25 und bei einer zweiten Untersuchung 50 IE ACTH injizierten; wir fanden

11-OHCS/10^h — Nachtharn
 11-OHCS/10^h — Nachtharn
 11-OHCS/10^h — Nachtharn.

vor ACTH	2,9 µg
nach 25 IE ACTH	21,6 µg
nach 50 IE ACTH	18,9 µg

Die Probanden waren frei von endokrinologischen, zehrenden oder akuten Erkrankungen und standen nicht unter Stresseinwirkung.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Abb. 1 zeigt die Mittelwerte der 11-OHCS-Ausscheidung mit den 2 s-Grenzen für bestimmte Altersklassen von 4 Monaten bis 18 Jahren. Es wurden die 11-OHCS-Harnspiegel von insgesamt 56 Kindern untersucht. Wir fanden eine gute Korrelation zwischen der 11-OHCS-Ausscheidung und dem Alter bei Kindern. Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = + 0,838 > r$ ($P = 0,99; f = 110$) = 0,25.

Die dazu gehörende Regressionsgerade wird durch die Funktion $y = 1,28 \times + 1,73$ beschrieben.

In Tabelle I sind die Werte für die 11-OHCS-Ausscheidung bei Neugeborenen zusammengestellt. Der Mittel-

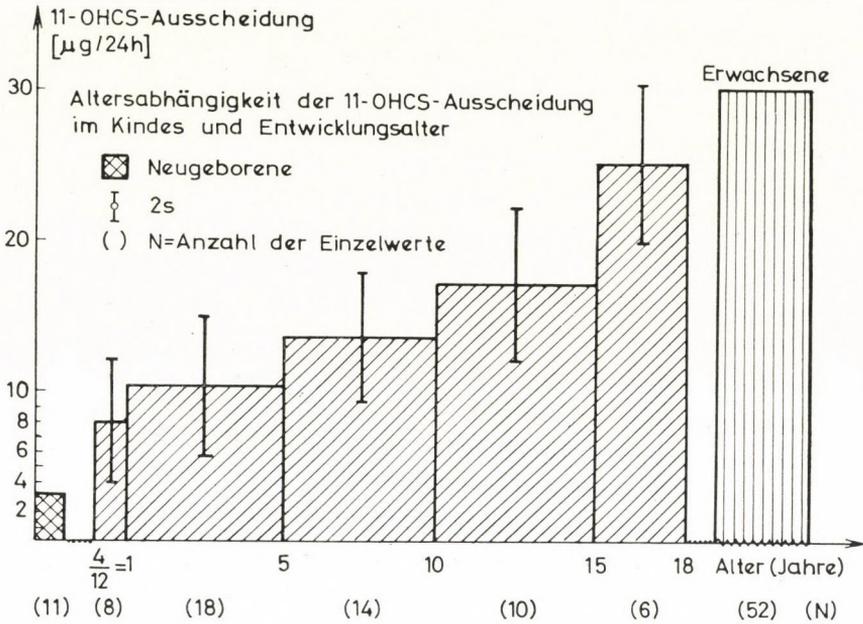


ABB. 1

TABELLE I
11-OHCS-Ausscheidung bei Neugeborenen

Nr.	Geschlecht	µg 11-OHCS/24 Stunden
1	♀	3,2
2	♀	3,5
3	♀	2,5
4	♀	5,9
5	♀	3,3
6	♂	5,1
7	♂	5,3
8	♂	1,0
9	♂	1,7
10	♂	0,4
11	♂	3,8
Mittelwert $\bar{x} \pm S$		3,24 ± 1,1

wert von 3,2 µg/24^h liegt dicht über der Nachweisgrenze der Methode und

läßt den Schluß einer äußerst geringen Corticosteroidaktivität des Neugeborenenblutes zu. ULSTROM u. a. [18] fanden bei Neugeborenen eine vergleichbar niedrige Ausscheidung der freien 17-Hydroxy-Corticosteroide.

Die Sekretion der C₂₁-Steroide steigt mit zunehmendem Kindesalter im direkten Verhältnis zum Körpergewicht an [9]. Ebenso nimmt als Kriterium des Corticosteroidabbaues die Ausscheidung der 17-Hydroxy-Corticosteroide (freie und konjugierte) zu [2]. Als logische Konsequenz fanden NELSON und Mitarbeiter [12] einen im Kindesalter gleichbleibenden Cortisolspiegel im Plasma, der in der gleichen Größenordnung wie bei Erwachsenen lag.

Andere Autoren [6, 10] fanden im Plasma eine ähnliche Übereinstim-

mung der Konzentration der unkonjugierten 17-Hydroxy-Corticosteroide zwischen Kindern und Erwachsenen. Diese unkonjugierten Corticosteroide bestehen aus einer eiweißgebundenen und einer freien Fraktion, die summarisch bei der Plasmabestimmung erfaßt werden; für die biologische Aktivität ist jedoch lediglich die freie Fraktion interessant, deren Konzentration entweder nach Abtrennung der proteingebundenen Fraktion (Dialyse, Gelfiltration etc.) oder nach BEISEL und Mitarbeitern [1] durch eine Bestimmung der freien 11-OHCS im Harn erfaßt werden kann.

Die von uns gefundene Korrelation zwischen Alter und freien Harn-11-OHCS, die mit den Ergebnissen von MINIK [11] sowie ULSTROM und Mitarbeitern [18] übereinstimmt, läßt sich theoretisch durch folgende Überlegungen begründen:

Vorausgesetzt, die Konzentration der unkonjugierten (freie und eiweißgebundene) 11-OHCS im Plasma ist analog zu den unkonjugierten 17-OHCS bei Erwachsenen und Kindern gleich und die von BEISEL und Mitarbeitern [1] angegebene echte Korrelation zwischen den freien 11-OHCS in Harn und Plasma trifft auch für den kindlichen Organismus zu, dann müßte die eiweißgebundene zugunsten der freien 11-OHCS-Fraktion im Plasma mit zunehmendem Alter ständig abnehmen. Im frühen Kindesalter bestände der unkonjugierte 11-OHCS-Anteil nahezu ausschließlich aus der proteingebundenen Fraktion, die bei erhöhtem Corticoidbedarf als rasch

mobilisierbare Reserve zur Verfügung steht.

Eine weitere Möglichkeit, den Anstieg der freien 11-OHCS im Harn zu erklären, wäre die Annahme einer altersabhängigen ansteigenden Clearance für Corticosteroide.

Bei der Nebennierenfunktionsdiagnostik hat der ACTH-Test weite Verbreitung gefunden. Nach DÖRNER und STAHL [4] sowie unseren eigenen Ergebnissen [8] liefern 50 bis 75 IE einen Anstieg der unkonjugierten 11-OHCS im 10-Stunden-Nachtharn

TABELLE II

11-OHCS-Ausscheidung bei Kindern im 10-Stunden-Nachtharn vor und nach ACTH-Gaben

Nr.	Alter, Jahre	Geschlecht	μg 11-OHCS/10 ^h -Nachtharn		Anstieg (%)
			vor	nach ACTH	
1	4/12	♂	2,6	36,5	1400
2	1	♂	2,8	23,1	830
3	1	♂	2,9	21,6	750
4	2	♂	0,8	2,8	360
5	2	♂	3,3	36,1	1090
6	2	♀	3,8	20,8	560
7	3	♀	8,0	30,6	380
8	3	♂	5,6	45,8	820
9	4	♀	6,0	24,6	410
10	6	♀	3,0	12,1	400
11	6	♀	7,3	84,8	1160
12	8	♂	4,6	85,2	1850
13	8	♂	5,0	47,9	960
14	10	♂	9,6	44,7	470
15	11	♀	3,1	11,5	370
16	11	♂	9,4	46,1	490
17	14	♀	10,7	41,3	410
18	15	♂	12,7	78,7	620
—					= 741
x					

um das 4 — 20 fache bei Erwachsenen. Da die Anwendung dieses Testes auch bei Kindern gebräuchlich ist, prüften wir die Reaktion der ACTH-Belastung bei 18 normalen Kindern unter den gleichen Standardbedingungen wie bei Erwachsenen, lediglich mit vermindelter ACTH-Dosis.

Unsere Ergebnisse sind in Tabelle II dargestellt. Wir fanden einen mittleren Anstieg auf das 7, 4fache in einem Schwankungsbereich von 360—1850%.

Auch bei Kindern kommt es also nach ACTH-Belastung zu einem massiven Anstieg der freien 11-OHCS im Harn.

LITERATUR

1. BEISEL, W. R., COS, J. J., HORTON, R., CHAO, P. Y., FORSHAM, P. H.: A simple estimation of unconjugated cortisol. *J. clin. Endocr.* **24**, 887 (1964).
2. BIERICH, J. R., VOSS, G., OTTO, E., Untersuchungen zur postnatalen Involution der Nebennierenrinde und ihrer klinischen Bedeutung *M Schr. Kinderheilk* **107**, 112 (1959)
3. DHOM, G.: Die Nebenniere im Kindesalter. Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1965, S. 108.
4. DÖRNER, G., STAHL, F.: Die diagnostische Bedeutung einer einfachen fluorometrischen Routinemethode zur Beurteilung der Nebennierenrindenfunktion. *Dtsch. med. Wschr.* **90**, 1917 (1965).
5. DÖRNER, G., STAHL, F., SIEDSCHLAG, W., KNAPPE, G.: A fluorometric routine method for urinary unconjugated 11-OHCS in adrenocortical hypofunction. *Steroids* **8**, 845 (1966).
6. ELY, R. S., KELLEY, V. C., RAILE, D. B.: Studies of 17-hydroxycorticoids in children *J. Pediat.* **42**, 38 (1953).
7. HILLMAN, D. A., GIROUD, C. J. P.: Plasma cortisone and cortisol levels at birth and during the neonatal period *J. clin. Endocr.* **25**, 243 (1965).
8. HUBL, W., GARTEN, C. D., BÜCHNER, M.: Die Anwendung einer fluorometrischen Methode zur Bestimmung der unkonjugierten 11-OHCS am Meßgerät SPEKOL. *Acta biol. med. germ.* **22**, 473 (1969).
9. KENNY, F. M., GANCAYCO, G. P., HEALD, F. P., HUNG, W.: Cortisol production rate in adolescent males in different stages of sexual maturation *J. clin. Endocr.* **26**, 1232 (1966).
10. KLEIN, R., PAPADATOS, C., FORTUNATO, J., BYERS, C.: Acid hydrolyzable corticoids of serum. *J. clin. Endocr.* **15**, 215 (1955).
11. MINICK, M. C.: Cortisol and cortisone excretion from infancy to adult life. *Metabolism* **15**, 359 (1966).
12. NELSON, D. H., EIK-NES, K., SANDBERG, A. A.: In: Antoniadis, H. N.: *Hormones in human plasma*. Little, Brown & Co., Boston, 1960. S. 333.
13. ROTTER, W.: Die Entwicklung der foetalen und kindlichen Nebennierenrinde, *Virchows Arch. path. Anat.* **316**, 590 (1949).
14. STAHL, F., DÖRNER, G.: Die chemische Bestimmung von Nebennierenrindensteroiden und ihre Bedeutung für die medizinische Diagnostik. *Z. ges. inn. Med.* **23**, 161 (1968).
15. STAHL, F., DÖRNER, G.: Eine einfache spezifische Routinemethode zur fluorometrischen Bestimmung von unkonjugierten 11-OHCS in Körperflüssigkeiten. *Acta endocr. (Kbh.)* **51**, 175 (1966).
16. STEENBURG, R. W., SMITH, L. L., MOORE, F. D.: Conjugated 17-hydroxycorticosteroids in plasma: measurement and significance in relation to surgical trauma. *J. clin. Endocr.* **21**, 39 (1961).
17. TELLER, W.: Der C-19- und C-21-Steroidstoffwechsel während der Pubertät. *Internist* **8**, 298 (1967).
18. ULSTROM, R. A., COLLE, E., BURLEY, J. B., GUNVILLE, R.: Adrenocortical steroid metabolism in newborn infants. *J. clin. Endocr.* **20**, 1066 (1960).
19. ULSTROM, R. A., COLLE, C., REYNOLDS, J. W., BURLEY, J.: Adrenocortical steroid metabolism in newborn infants. *J. clin. Endocr.* **21**, 414 (1961);

Dr. W. HUBL

Chemisches Zentrallaboratorium

Bezirkskrankenhaus

DDR-801 Dresden-Friedrichstadt