Aus der Klinik für Pädiatrie m.S. Endokrinologie, Diabetologie,
Gastroenterologie, Intensivmedizin und Stoffwechselerkrankungen
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Nebennierenrindenfunktion bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Julia Katharina Krafft geb. Trinschek

aus Bonn

Datum der Promotion: 22.09.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Abstract 4
1.1. Abstract deutsch 4
1.2. Abstract english 5
2. Einleitung 7
2.1. Prader-Willi-Syndrom 7
2.1.1 Definition und Prävalenz 7
2.1.2 Klinische Charakteristika und Entwicklung 7
2.1.3 Ätiologie 10
2.1.4 Morbidität und Mortalität 10
2.2. Nebennierenrindenfunktion 11
2.2.1 Steroidhormonproduktion der Nebennierenrinde 11
2.2.2 Pubarche und Adrenarche 13
2.2.3 Nebennierenfunktionstests 16
2.3. Aktueller Forschungsstand zur Nebennierenrindenfunktion bei PWS 18
2.4. Fragestellungen 21
2.4.1. Leiden Kinder mit Prader-Willi-Syndrom unter einer („partiellen“) Nebennierenrindeninsuffizienz? 22
2.4.2 Welche klinischen und serologischen Auffälligkeiten gehen mit einer prämaturen Adrenarche und Pubarche einher? 22
2.4.3 Zeigen Kinder mit Prader-Willi-Syndrom ein verändertes Multisteroid-Hormonprofil im Vergleich zu Kindern ohne Prader-Willi-Syndrom? 22
3. Patienten und Methoden 23
3.1. Studienablauf und Probandenauswahl 23
3.1.1 Einschlusskriterien 24
3.1.2 Ausschlusskriterien 24
3.1.3 Abbruch- und Aussetzungskriterien 24
3.1.4 Anamnese und klinische Untersuchung 24
3.2. Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel 25
3.3. Metapyron-Test 25

3.4. Nebennierenrindenhormonbestimmung im kapillären sowie venösen Blut anhand von Trockenblutkarten 26
3.4.1 HPLC System und Tandem Massenspektrometer 27
3.5. Labor 28
3.6. Statistik 29
4. Ergebnisse 30
4.1. Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel 32
4.2. Metapyrontest 32
4.3. Prämature Pubarche und Adrenarche 34
4.4. Steroidhormonanalyse 36
4.4.1 Demonstration der Gleichwertigkeit der Bestimmung der Steroidhormone aus dem venösen und dem kapillären Blut 36
4.4.2 Steroidhormonprofil aus dem Trockenblut vor und während des Metapyrontests 37
4.4.3 Steroidhormonlevel um 8:00 Uhr morgens 43
4.4.4 Enzymaktivitäten 47
5. Diskussion 49
5.1. Cotisol-Tagesprofil aus dem Speichel 49
5.2. Metapyron-Test und Nebennierenrindeninsuffizienz 49
5.3. Prämature Adrenarche und Pubarche 53
5.4. Steroidhormonanalyse 54
5.4.1 Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase 54
5.4.2 Steroidhormonananlyse aus dem Trockenblut 58
6. Literaturverzeichnis 59
7. Abbildungsverzeichnis 69
8. Tabellenverzeichnis 70
9. Abkürzungsverzeichnis 71
10. Eidesstattliche Versicherung 73
11. Lebenslauf 74
12. Danksagung 76

1. Abstract

1.1. Abstract deutsch

Einleitung: Das Prader-Willi-Syndrom ist eine seltene genetische Erkrankung. Sie wird verursacht durch das Fehlen der Expression von väterlicherseits vererbten Genen auf Chromosom 15q11.2-q13. Patienten mit Prader-Willi-Syndrom haben mit circa 3% eine erhöhte Mortalität, einerseits im Rahmen der mit Adipositas einhergehenden Erkrankungen, andererseits im Rahmen von Infekten. In den letzten Jahren wurde mit einer Diagnostik mittels Metapyron-Test eine hohe Rate (60%) zentraler Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom vermutet. Andere Nebennierenrindenfunktions-Testungen konnten diese hohe Zahl nicht bestätigen. Patienten mit Prader-Willi-Syndrom haben häufig eine Prämature Adrenarche. Dies kann ebenfalls ein Hinweis für eine Störung der Nebennierenrindenfunktion sein.

Methodik: Wir führten eine Nebennierenrindenfunktionstestung mittels Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel und Metapyron-Test bei 11 Kindern mit Prader-Willi-Syndrom durch. Zudem erfolgte eine Mulitsteroidanalyse aus dem kapillären und venösen Vollblut bei 13 Kindern.

Ergebnisse: Im Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel war bei 8 von 11 Kindern eine Tagesrhythmik im Cortisol-Tagesprofil erkennbar, jedoch hatten insgesamt 7 von 11 Kindern trotzdem zu hohe nächtliche Cortisolspiegel. Keines der 11 Kinder, bei denen der Metapyron-Test durchgeführt wurde, zeigte eine inadäquate ACTH-Antwort.

In der Multisteroidanalyse für 17-OH-Pregnenolon liegen bei 11 von 13 Kindern (84,6%) die Werte deutlich oberhalb des Referenzbereichs und zwar sowohl in der jeweiligen Altersgruppe, als auch bezogen auf das jeweilige Tanner Stadium.

Alle Mädchen unserer Gruppe zeigten deutlich erhöhte Dihydrotestosteron-Werte, sowohl auf das Alter, als auch auf das Tanner-Stadium bezogen. Auch die Jungen haben größtenteils erhöhte Dihydrotestosteron-Werte, sowohl auf ihr Alter (4 von 6 = 66,7%), als auch auf ihr Tanner-Stadium (5 von 6 = 83,3%) bezogen.

Die Umwandlung von 17-OH-Pregnenolon und Dihydrotestosteron wird von der 3ß-Hydroxysteroid Dehydrogenase katalysiert.

Schlussfolgerung: Die zu hohen nächtlichen Cortisol-Werte im Speichel könnten ein Hinweis darauf sein, dass die circadiane Rhythmik bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom gestört ist. Die hohe Rate an zentraler Nebennierenrindeninsuffizienz konnte in unserer Kohorte auch mittels Metapyron-Test nicht bestätigt werden. Die hohe Rate positiver Ergebnisse in früheren

Studien könnte daran liegen, dass der Metapyron-Test ein sehr störanfälliger Nebennierenrinden-Funktionstest ist.
Die jeweilige Relation von 17-OH-Pregnenolon zu 17-OH-Progesteron und von 17-OH-Pregnenolon zu Cortisol spiegelt die Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase wieder. Sie entspricht bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom ungefähr der Enzymaktiviät von Kindern mit einem genetischen Defekt der 3ß-Hydroxysteroid Dehydrogenase. Auch die erhöhten Dihydrotestosteron-Werte können ein Hinweis auf eine gestörte Funktion der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase sein. Eine verminderte Aktivität der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase würde das häufige Auftreten einer prämaturen Adrenarche bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom erklären. Ob ein wirklicher Funktionsverlust des Enzyms (z.B. durch einen fehlerhaften Aufbau des Enzyms) bei Prader-Willi-Syndrom vorliegt, oder ob die Aktivität des Enzyms herunterreguliert ist, sollte in weiteren Studien evaluiert werden.

1.2. Abstract english

Introduction: Prader-Willi syndrome is a rare genetic disorder in which the region q11.2-q13 of paternal chromosome 15 is deleted or unexpressed. It has a high annual death rate (3%). In the last years a high rate of central adrenal insufficiency (60%) in children with Prader-Willi syndrome has been detected by metyrapone test. Other tests of the adrenal axis did not confirm such a high rate of central adrenal insufficiency. Another sign of disturbance of the function of the adrenal cortex in children with Prader-Willi syndrome is the high rate of premature pubarche.
Methods: We performed salivary cortisol profiles and metyrapone tests in 11 children and analysis of adrenal steroids in capillary and venous blood in 13 children to analyse and describe the function of adrenal glands in children with Prader-Willi syndrome.
Results: The diurnal salivary cortisol profile showed in 8 of 11 cases a circadian rhythm, but in 7 of 11 cases to high levels of cortisol in the night. All of the 11 children with metyrapone test had a normal ACTH-response. In the analysis of steroids 11 of 13 children (=84,6%) had elevated levels of 17-OH-pregnenolon. All female patients had elevated levels of dihydrotestosterone for age and Tanner stage. Male patients also had elevated levels of dihydrotestosteron for age (4 of 6 = 66,7%), and also for Tanner stage (5 of 6 = 83,3%). Both steroids are substrates of 3ß-hydroxysteroid dehydrogenase.
Conclusions: Elevated cortisol levels in the night might be a result of a disturbed circadian rhythm in children with Prader-Wille syndrome.

Abstract

We could not confirm the high rate of central adrenal insufficiency in children with Prader-Willi syndrome with metyrapone test. The metyrapone test is very susceptible, which might be an explanation for the high rate of positive tests in previous reports.
The ratio of 17-OH-pregnenolone to 17-OH-progesterone and cortisol is a scale for the enzymatic activity of 3ß-hydroxysteroid dehydrogenase. The ratio in children with Prader-Willi syndrome is almost as high as in children with genetic 3ß-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. The high levels of dihydrotestosterone could also be a result of decreased activity of 3ß-hydroxysteroid dehydrogenase. This could be an explanation for the high rate of premature adrenarche in children with Prader-Willi syndrome. Further studies should analyse if a genetic loss of function or a down regulation of 3ß-hydroxysteroid dehydrogenase can be the reason for decreased activity.

2. Einleitung

2.1. Prader-Willi-Syndrom

2.1.1 Definition und Prävalenz

Prader-Willi-Syndrom (PWS) ist eine komplexe genetische Erkrankung, die eine Prävalenz von ca. 1/30000 bis 1/10000 hat. Sie wird verursacht durch das Fehlen der Expression von väterlicherseits vererbten Genen auf Chromosom 15q11.2-q13.[1] Dies ist entweder durch die Deletion dieser Region auf dem väterlichen Chromosom, eine maternale uniparenterale Disomie, einen Imprinting Defekt der paternalen Region 15q11.2-q13 oder selten durch eine Mutation einzelner Gene in diesem Gebiet bedingt.[2]

Das Prader-Willi-Syndrom ist gekennzeichnet durch ein charakteristisches Bild von typischen Dysmorphie-Zeichen, kognitiven, endokrinen und Verhaltensauffälligkeiten, die interindividuell sehr unterschiedlich stark ausgeprägt sein können. Besonders typisch ist eine muskuläre Hypotonie, und anfangs eine Gedeihstörung, später eine Adipositas durch Hyperphagie, eine Entwicklungsverzögerung, Kleinwuchs und Hypogonadismus.[1]

2.1.2 Klinische Charakteristika und Entwicklung

Schon vor der Geburt können betroffene Kinder durch eine muskuläre Hypotonie auffallen, die sich in verminderten fetalen Bewegungen im Mutterleib, eine abnormale fetale Position bei Geburt und eine schwierige Geburt äußert. Kurz nach der Geburt fallen vor allem ein durch die muskuläre Hypotonie verursachtes schwaches Schreien, Lethargie, Trinkschwäche und Gedeihstörung auf. Diese ist in der Regel so ausgeprägt, dass eine supportive Ernährung über eine Magensonde notwendig ist. Die muskuläre Hypotonie ist ein so charakteristisches Merkmal, dass alle Neugeborenen mit ungeklärter persistierender Hypotonie auf ein Prader-Willi-Syndrom getestet werden sollten. Die Hypotonie ist zentralen Ursprungs.[3]

Der Hypogonadismus manifestiert sich bei beiden Geschlechtern durch ein hypoplastisches Genital. In der weiteren Entwicklung fällt eine inkomplette Pubertätsentwicklung auf. Fast alle Patienten mit Prader-Willi-Syndrom sind infertil, bei Frauen treten jedoch in seltenen Fällen Schwangerschaften auf[4,5].

Bei männlichen Säuglingen besteht ein einseitiger oder beidseitiger Maldescensus testis. Zudem fällt vor allem ein hypoplastisches Skrotum auf, das klein und auch in der weiteren Entwicklung hypopigmentiert bleibt.[6] Bei Frauen sind Labien und Klitoris hypoplastisch.[7]

Bei beiden Geschlechtern tritt häufig eine prämature Pubarche (frühzeitige Schambehaarung) auf.[8]

Die Pubertätsentwicklung beginnt verspätet und verläuft inkomplett. Bei Frauen tritt die Menarche meist verspätet auf oder gar nicht. Wenn sie auftritt, kommt es häufig zur Oligomenorrhö. Bei Männern kommt es nur zu einer geringen Stimmtonveränderung, Bartwuchs und Köperbehaarung bleiben spärlich.[8]

Hierbei scheint bei beiden Geschlechtern eine kombinierte zentrale und periphere Genese zu Grunde zu liegen, mit einer gonadalen Insuffizienz sowie einer hypothalamischen Regulationsstörung. Dies wird daraus geschlossen, dass die Spiegel des follikelstimulierenden Hormons (FSH) und des luteinisierenden Hormons (LH) trotz zu niedriger Testosteron- und Estrogen-Level normal oder niedrig sind. Zudem ist Inhibin B, das in den Sertolizellen bzw. Granulosazellen gebildet wird und als Marker der Spermienzahl und des Follikelvorrats dient, bei beiden Geschlechtern abnorm niedrig.[6,7,9-12]

Viele Kinder mit Prader-Willi-Syndrom leiden unter Skoliose und Hüftdysplasie.[1]

Häufig tritt auch eine Hypopigmentierung (helle Haare, Iris und Haut) auf, insbesondere bei durch eine Deletion verursachtem Prader-Willi-Syndrom.[1]

Die motorische und sprachliche Entwicklung ist verzögert. Meilensteine in den ersten Lebensmonaten und Jahren werden nach etwa der doppelten der normalen Zeit erreicht. Die kognitive Entwicklungsverzögerung wird im Schulalter offensichtlich. Die meisten Menschen mit Prader-Willi-Syndrom haben eine leichte mentale Retardierung. Es treten verschiedene Lernschwierigkeiten auf, insbesondere eine verzögerte und schwierige sprachliche Entwicklung.[9] Die meisten Erwachsenen sind auf Grund der verschiedenen kognitiven Defizite und Verhaltensstörungen nicht selbstständig, sondern auf eine Aufsicht und Hilfe zum Beispiel durch betreutes Wohnen angewiesen.[1]

Das für das Prader-Willi-Syndrom typische Übergewicht entsteht vor allem durch eine Hyperphagie in Kombination mit einem vermindertem Aktivitätslevel und einem vermindertem Kalorienverbrauch bei einem durch eine veränderte Körperzusammensetzung bedingt erniedrigtem Grundumsatz.[13] Die Hyperphagie beginnt in der Regel in der Kindheit und ist vermutlich hypothalamischen Ursprungs. Sie ist bedingt durch ein fehlendes Sättigungsgefühl.[14] Nach Miller et al.[15] werden vier Ernährungsphasen bei Prader-Willi-Syndrom unterschieden. Phase 0 ist gekennzeichnet durch verminderte fetale Bewegungen und ein niedrigeres Geburtsgewicht als gesunde Geschwister. In der Phase 1a, die von Geburt bis zum 9. Lebensmonat reicht, fällt die muskuläre Hypotonie mit Trinkschwäche auf, die häufig eine supportive Ernährung notwendig macht. In der Phase 1b (9. – 25. Lebensmonat) sistiert die Trinkschwäche und es kommt zu einem normalem Wachstum. Anschließend kommt es zu einer Gewichtszunahme ohne gesteigerten Appetit, dies ist Phase 2a (2,1 – 4,5 Jahre), der

Kalorienbedarf liegt bei 60-80% der Empfehlung für gleichschwere nicht betroffene Kinder. In der Phase 2b kommt es zu einer Gewichts- und Appetitzunahme (4,5 – 8 Jahre), eine Nahrungsmittel-Restriktion ist notwendig. Phase 3 (8 Jahre – Erwachsenenalter) zeichnet sich durch Hyperphagie und fehlendes Sättigungsgefühl aus, die Gedanken kreisen ständig um Essen. In der Phase 4, die die wenigsten Erwachsenen erreichen, kommt es zu einer Verbesserung des Sättigungsgefühls und der Selbstkontrolle.

Einige Studien konnten erhöhte Ghrelin-Serumspiegel bei Patienten mit Prader-Willi-Syndrom im Vergleich zu gleichaltrigen und BMI-angepassten Kontrollen zeigen.[16-19] Ghrelin wird vor allem von den Belegzellen im Magenfundus und in geringerer Menge auch von ε-Zellen im Pankreas produziert und hat einen Appetit-anregenden Effekt durch Modulation Appetit-regulierender Signaltransduktionswege im Hypothalamus.[20] Eine pharmakologische Reduktion des Ghrelin-Spiegels durch eine Infusion mit einem Somatostatin-Analogon bei Patienten mit Prader-Willi-Syndrom hatte jedoch keinen Effekt auf Gewicht, Essverhalten oder Appetit.[21-23] Zudem zeigten sich die Ghrelin-Spiegel bereits im Säuglinsalter, das durch Trinkschwäche gekennzeichnet ist, erhöht, also vor dem Einsetzen der Hyperphagie, so dass es unwahrscheinlich erscheint, dass Ghrelin alleine für die Hyperphagie bei Prader-Willi-Syndrom verantwortlich ist.[24]

Kleinwuchs ist ein weiteres charakteristisches Merkmal, das fast immer auftritt, wenn keine Wachstumshormon-Therapie durchgeführt wird. Die erwartete Endgröße liegt dann für Frauen bei ca. 148 cm und für Männer bei ca. 155 cm.[1] Während nicht von Prader-Willi-Syndrom betroffene adipöse Kinder eine verminderte Wachstumshormon (GH)-Ausschüttung mit jedoch normalen Serumspiegeln von Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) und einer normalen Größe haben, haben Kinder mit PWS niedrige GH- und IGF-1 Spiegel und sind zu klein, so dass ein tatsächlicher Wachstumshormon-Mangel angenommen wird. [25-28] Eine Substitutionstherapie verbessert nicht nur die Endgröße, sondern hat unter anderem auch positive Effekte auf Body mass index (BMI), Körpermassenkomposition, Muskelmasse, Kopfumfang, motorische und kognitive Fähigkeiten.[29]

Häufig sind auch Verhaltensauffälligkeiten, seltener psychatrische Störungen. Diese beginnen in der frühen Kindheit. Typisch sind Stimmungsschwankungen, Sturheit, zwanghafte Wesenszüge und Schwierigkeiten, Routineabläufe zu ändern.[30] Auch Aufmerksamkeitsdefizite und Hyperaktivität kommen vor.[9]

Bei ca. 25% aller Patienten besteht eine zentrale Hypothyreose.[31,32]

Atemstörungen treten häufig bei Prader-Willi-Syndrom auf. Einerseits kommt es vermehrt zu obstruktiven Atemstörungen, begünstigt durch eine muskuläre Hypotonie und Adipositas,

andererseits besteht oft auch eine zentrale Atemstörung, mit Sauerstoffsättigungsabfällen vor allem nachts. Auch hier wird eine hypothalamische Funktionsstörung als ursächlich angenommen.[33]
Störungen in der Schlafarchitektur mit einer reduzierten REM-Latenz sowie Störungen der Körpertemperatur-Regulation beruhen wahrscheinlich auf einer hypothalamischen Störung.[34,35]
Verschiedene Studien erbrachten sehr unterschiedliche Ergebnisse bezüglich einer möglichen zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz, hier wurde mit unterschiedlichen Tests zur Evaluation der adrenalen Funktion eine Insuffizienzrate zwischen 0% und 60% angegeben. Dies wird Gegenstand dieser Arbeit sein.

2.1.3 Ätiologie

Das klinische Erscheinungsbild beruht darauf, dass die Expression der Gene in der Region 15q11.2-q13 des väterlich vererbten Chromosoms nicht stattfindet. Dies kann verschiedene Ursachen haben. Am häufigsten ist die Deletion dieser Region auf dem väterlichen Chromosom (65-75%). Die meisten Deletionen lassen sich dem Typ I oder II zuordnen, wobei die Typ I Deletion größer ist. Die Gene, die in der Typ I Deletion mitbetroffen sind, jedoch nicht in der Typ II Deletion, werden im Gehirn exprimiert. Andere Deletionen kommen nicht häufig vor und sind unterschiedlich groß.
Die zweithäufigste Ursache ist eine maternale uniparenterale Disomie (UPD) (20-30%), dann folgt ein Imprinting Defekt der paternalen Region 15q11.2-q13 (2-5%). Selten kommt eine Mutation einzelner Gene in diesem Gebiet vor.[2,36]
In der Genotyp-Phänotyp-Korrelation zeigen Patienten mit Typ I Deletion häufig mehr Verhaltensauffälligkeiten und niedrigere Intelligenzquotienten als Patienten mit Typ II Deletion. Andere Deletionen führen häufig zu einem atypischen klinischen Erscheinungsbild. Individuen mit UPD haben häufig einen höheren Intelligenzquotienten, bessere soziale Kompetenzen und eine größere Aufmerksamkeitsspanne als Patienten mit Deletion, zudem sind sie seltener hypopigmentiert und die typischen Gesichtszüge sind weniger ausgeprägt, jedoch neigen sie eher zu Psychosen und autistischem Verhalten.[30,37]

2.1.4 Morbidität und Mortalität

Das Prader-Willi-Syndrom ist mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität verknüpft.
Ein wesentlicher Punkt der Morbidität stellt das Übergewicht und das metabolische Syndrom mit seinen Folgeerkrankungen dar, unter dem viele Menschen mit Prader-Willi-Syndrom leiden.[38]

Das Übergewicht begünstigt zudem eine obstruktive Schlafapnoe und kardiorespiratorische Insuffizienz.[35]

Operationen wegen Hodenhochstand, Hernien und Skoliose müssen häufig durchgeführt werden, die Anästhesie ist bei Prader-Willi-Syndrom auf Grund der Begleiterkrankungen und der häufig ausgeprägten Adipositas schwierig.[39]

Die Mortalität ist mit circa 3% pro Jahr sehr hoch.[40] Auch wenn man die Mortalität mit der von Patienten mit mentaler Retardierung oder Übergewicht ohne Prader-Willi-Syndrom vergleicht, ist diese bei Prader-Willi-Syndrom erhöht.[41]

Viele der Todesfälle geschehen überraschend, und eine hohe Anzahl bleibt ungeklärt. Respiratorische Probleme stellen wohl mit 61% der Fälle eine der häufigsten Todesursachen dar, auf Grund einer respiratorischen Insuffizienz in Kombination mit Infekten der oberen Atemwege.[42]

Je nach Alter sind die Ursachen kritischer Krankheit und Tod unterschiedlich häufig. Im Kindesalter treten vor allem plötzliche Todesfälle während respiratorischer Infekte auf, mit Temperaturdysregulation im Sinne von fehlendem oder zu hohem Fieber. Bei Erwachsenen stehen die Komplikationen des Übergewichts im Vordergrund.[43,44]

In Zusammenhang mit dem Beginn einer GH-Therapie wurde von einigen unerwarteten Todesfällen berichtet, häufig in den ersten Monaten nach Therapiebeginn. Die Daten hierzu sind widersprüchlich. Bei den Todesfällen handelte es sich häufig um Personen mit einer bereits vorher bestehenden kardiovaskulären oder respiratorischen Erkrankung auf Grund von Übergewicht.[45-47] Es wurde aber auch von einigen plötzlichen Todesfällen nur auf Grund respiratorischer Probleme (insbesondere Schlafbezogener Atemstörungen) berichtet.[48] Eine andere Studie zeigte jedoch keinen Unterschied in der Mortalität von PWS mit oder ohne GH-Therapie.[49] Andere Studien zeigten verbesserte Ventilation und Oxygenierung während des Tages und während des Schlafes nach Beginn einer Therapie mit GH.[50,51]

Eine Evaluation schlafbezogener Atemstörungen ist vor und nach Beginn einer GH-Therapie empfohlen.[52]

2.2. Nebennierenrindenfunktion

2.2.1 Steroidhormonproduktion der Nebennierenrinde

Die Ausschüttung von Cortisol in der Nebennierenrinde wird durch die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindenachse reguliert. Im Hypothalamus wird Corticotropin releasing hormone (CRH) gebildet, das die Produktion von Adrenocorticotropin (ACTH) in der

Adenohypophyse anregt. ACTH führt zu einer vermehrten Ausschüttung von Cortisol in der Nebennierenrinde[53] (s. Abbildung 2).
Die Nebenniere ist eine paarig angelegte endokrine Drüse am oberen Pol der Nieren und besteht aus der Nebennierenrinde und dem Nebennierenmark. Die Nebennierenrinde ist mesodermalen Ursprungs. Histologisch lassen sich im Erwachsenenalter drei unterschiedliche ineinander übergehende Zonen erkennen.
In der äußeren Zona glomerulosa werden vor allem Mineralokortikoide gebildet. Im mittleren Rindenabschnitt, der Zona fasciculata, werden hauptsächlich Glukokortikoide gebildet.
Innen ist die Zona reticularis gelegen. Hier werden vor allem Androgene (DHEA, DHEAS, Androstendion) gebildet.
Diese Zone wird erst ab einem Alter von circa vier Jahren histologisch sichtbar.[54]
In der Fetalzeit sind die Nebennieren vergleichsweise zu ihrer späteren proportionalen Größe sehr groß. Sie sind in dieser Zeit fast so groß wie die Nieren. Der Großteil der Nebennierenrinde wird in dieser Zeit von der innen gelegenen Fetalzone gebildet. Diese bildet sich in den ersten Monaten nach Geburt zurück. Außen gelegen befindet sich die Permanente Zone. Dazwischen liegt die Transitional-Zone.[55]
Eine schematische Abbildung der Steroidhormonsynthese findet sich im Kapitel Dikussion – Steroidhormonanalyse.
In der Fetalzeit kann bis zur 23. Gestationswoche in der fetalen Nebennierenrinde Cortisol nicht aus Cholesterol oder Pregnenolon synthetisiert werden, da das Enzym 3β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase I nur während einer sehr kurzen Zeit im ersten Trimester und dann erst nach der 23. Gestationswoche exprimiert wird.[56] Stattdessen entsteht vor allem DHEAS, das als Estrogen Perkursor in der Plazenta dient. Das Progesteron, das in der Plazenta gebildet wird, kann von der fetalen Nebennierenrinde jedoch in Cortisol umgewandelt werden, da Progesteron ein Metabolit ist, der bereits hinter dem 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Schritt liegt.[57]
Da sich nach der Geburt die fetale Zone zurück bildet, sind die adrenalen Androgenspiegel während der frühen Kindheit sehr niedrig. Während der so genannten Adrenarche nimmt die 17,20-Lyase-Aktivität durch verschiedene Regulationsmechanismen zu während die Aktivität der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase abnimmt.[58,59] Dies geschieht vor allem in der innersten Schicht der Nebennierenrinde und führt zu dem morphologischem Erscheinen der Zona reticularis. Es kommt zur vermehrten Produktion von DHEA und DHEAS.[60]

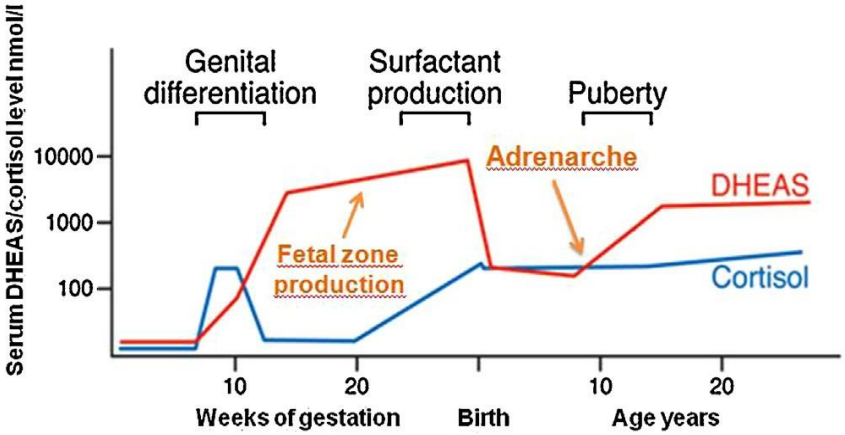

Abbildung 1: Konzentrationslevel von DHEAS und Cortisol in der menschlichen Fetalzone und der postnatalen Nebennierenrinde (Grafik aus White et al.[61])

Es wird vermutet, dass eine hohe Konzentration von Corticosteron und Cortisol in der innersten Schicht der Nebennierenrinde zu einer kompetitiven Hemmung der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase führt.[62] ACTH-Stimulation führt physiologischerweise zu einer Erhöhung der Konzentration von Cortisol in der innersten Schicht der Nebennierenrinde.[63] Auch eine Hochdosis-Behandlung mit ACTH bei Kindern mit West-Syndrom führt zu einer Erhöhung der DHEA- und DHEAS-Serum-Level.[64]

Ein genetischer 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase – Mangel führt auch zu einer Erhöhung der DHEA- und DHEAS-Serum-Level. Es handelt sich eine sehr seltene autsomal-rezessive Form von kongenitaler adrenaler Hyperplasie, die verschieden stark ausgeprägt sein kann (siehe auch Diskussion: Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase).[65]

2.2.2 Pubarche und Adrenarche

Der Begriff Adrenarche bezeichnet den morphologischen und funktionellen Wandel der Nebennierenrinde, der zu einer vermehrten Produktion von adrenalen Androgenen führt (s.o.). Dies geschieht typischerweise im Alter von 5 bis 8 Jahren.[66] Klinische Konsequenz ist mit einiger Latenz die Pubarche.

Der Begriff Pubarche bezeichnet das Auftreten der Pubesbehaarung. Diese kann von dem Auftreten von Axillarbehaarung begleitet sein. Auch andere Zeichen einer Androgen-Aktivität können auftreten, zum Beispiel adulter Körpergeruch, eine gesteigerte Talgproduktion von Haar und Haut, das Auftreten von Kommedonen und Akne, und eine leicht gesteigerte Wachstumsgeschwindigkeit.[67] In Tanners ursprünglicher Veröffentlichung wird beschrieben, dass die Pubarche im Alter von 11,69 ± 1,21 Jahren bei Mädchen und 13,44 ± 1,09 Jahren bei Jungen auftritt.[68,69] In neueren Studien ist das Alter bei Beginn der Pubarche etwas nach unten

korrigiert: auf 10,54 ± 1,67 Jahren bei kaukasischen Mädchen und das Alter von 9 – 13,5 Jahren bei kaukasischen Jungen.[70] Tritt die Pubarche bei Mädchen vor dem achten und bei Jungen vor dem neunten Lebensjahr auf, wird sie als prämatur bezeichnet, wobei der Begriff prämature Adrenarche und prämature Pubarche in der Literatur synonym verwendet werden.[71,72] Allerdings gibt es auch Hinweise darauf, dass das Erscheinen von Pubesbehaarung bei kaukasischen Mädchen ab dem Alter von 7 Jahren und bei afrikanischen Mädchen ab dem Alter von 6 Jahren als normal gelten kann.[73]

Bei der prämaturen Pubarche sind das Hodenvolumen bei Jungen bzw. die Brustentwicklung bei Mädchen definitionsgemäß präpubertär. Auch Steroidhormon-produzierende Tumoren und kongenitale adrenale Hyperplasie auf Grund von Enzymdefekten der Cortisolsynthese müssen ausgeschlossen sein.[66]

Die prämature Pubarche tritt in der Regel zwischen dem dritten und achten Lebensjahr auf, und kommt bei Mädchen sehr viel häufiger vor.[74]

Das Auftreten der Pubarche geschieht durch die Aktivierung Androgen-sensitiver Haarfollikel.[75] Die Androgene werden in der Nebennierenrinde produziert, man spricht von der Reifung der Nebennierenrinde, der Adrenarche. Der genaue Auslöser der Adrenarche ist bislang unbekannt. Bei Kindern, die keine ACTH-Wirkung haben, zum Beispiel bei ACTH-Resistenz (familiäre Glucocorticoid Defizienz), Hypopituitarismus oder auch bei Kindern mit Glucocorticoid-Behandlung in ACTH-supprimierenden Dosierungen bleibt die Adrenarche aus.[71] Hieraus lässt sich schließen, dass für den Prozess der Adrenarche eine basale Stimulation durch ACTH notwendig ist.

Bei Kindern mit Prämaturer Adrenarche findet man erhöhte DHEA-, DHEAS- und Androstendion-Spiegel im Serum.[76] Diese sind erhöht für das präpubertäre chronologische Alter, jedoch normal hoch für Tanner-Pubertäts-Stadium II-III.[66]

Dabei werden während der prämaturen Pubarche bei Auftreten der Pubesbehaarung individuell sehr unterschiedlich hohe DHEAS-Werte gemessen, was dafür spricht, dass auch die Empfindlichkeit der Androgenrezeptoren im Zielgewebe (z.B. den Haarfollikeln) eine Rolle bei Auftreten der Pubarche spielt.[71,75]

Bei der Suche nach der Ursache von prämaturer Adrenarche und Pubarche fanden sich zahlreiche Mutationen und genetische Polymorphismen, alle bisherigen Untersuchungen beziehen sich jedoch auf kleine Gruppen von Kindern. Bestimmte Veränderungen im Gen des Androgen-Rezeptors führen zu einer erhöhten Sensibilität für Androgene und können so zu einer prämaturen Adrenarche führen.[77,78] Auch Polymorphismen in Genen des Insulin und IGF-I-Systems zeigten eine höheres Auftreten bei Kindern mit prämaturer Pubarche als bei

Kontrollen.[79] Zudem wurden Kinder mit Prämaturer Pubarche/ Adrenarche auch immer wieder auf nicht klassische Formen der kongenitalen adrenalen Hyperplasie getestet. Kongenitale adrenale Hyperplasien beruhen auf verschiedenen genetischen Defekten der Enzyme der Steroidhormonsynthese. Hierdurch kommt es zu einem Aufstau früher Metabolite der Steroidhormonsynthese, die dann vermehrt zu adrenalen Androgenen umgewandelt werden. Kongenitale adrenale Hyperplasien scheinen jedoch im Allgemeinen eine sehr seltene Ursache für eine prämature Pubarche zu sein, insbesondere seit dem die Diagnose nicht mehr allein aufgrund der Höhe der Steroidhormonwerte gestellt wird, sondern durch genetische Analysen, steht fest, dass dies seltener die Ursache ist, als vorher angenommen.[80]
Unter den kongenitalen adrenalen Hyperplasien kommen wohl relativ häufig heterozygote Mutationen im *CYP21*-Gen vor.[81] Selten besteht als Ursache ein 11β-Hydroxylase-Defizit, und extrem selten ein 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Defizit.[82]

2.2.3 Nebennierenfunktionstests

Zur Testung der Nebennierenfunktion (Glukokortikoid-Synthese) sind verschiedene Tests etabliert.

Tabelle 1: Nebennierenfunktionstests

Neben-nierentests	**Insulin-Toleranztest (ITT)[83,84]**	**Metapyron-Test[85-87]**	**Low Dose-Synacthen-Test (niedrig Dosis ACTH-Kurztest)[88,89] (LDST)**	**Standard Dose-Synacthen-Test (Standard Dosis ACTH-Kurztest)[88,90] (HDST)**
Funktions-prinzip	Mit Hilfe von Insulin wird eine Hypoglykämie erzeugt. Die Stress-Antwort des Körpers besteht in einer gesteigerten ACTH- und Cortisol-Ausschüttung.	Metapyron inhibiert reversibel die 11β-Hydroxylase der Nebennierenrinde und hemmt dadurch die Konversion von 11-Deoxycortisol zu Cortisol. Durch den Wegfall der Feedback-Hemmung kommt es beim Gesunden zu einem maximalen ACTH-Anstieg, woraus eine Steigerung der 11-Deoxycortisolsynthese folgt.	Synthetisch hergestelltes ACTH (Synacthen) wird intravenös oder intramuskulär verabreicht. Dies führt zu einer Stimulation der Cortisolproduktion. Ist die Nebennierenrinde zum Beispiel bei Atrophie durch länger fehlende physiologische ACTH-Stimulation nicht in der Lage genügend Cortisol zu produzieren kommt es zu niedrigeren Cortisolwerten nach Stimulation.	Synthetisch hergestelltes ACTH (Synacthen) wird intravenös oder intramuskulär verabreicht. Dies führt zu einer Stimulation der Cortisolproduktion. Ist die Nebennierenrinde zum Beispiel bei Atrophie durch länger fehlende physiologische ACTH-Stimulation nicht in der Lage genügend Cortisol zu produzieren kommt es zu niedrigeren Cortisolwerten nach Stimulation.
Durch-führung	Es wird Insulin (0,15 IE/kg) intravenös verabreicht und so eine Hypoglykämie hervorgerufen (Plasma Glukose <2,2 mmol/l).	Es erfolgt die Gabe von 30 mg/kg Körpergewicht Metapyron (Metopirone®) p.o. um 23:00 Uhr. Am nächsten Morgen um 08:00 Uhr erfolgt die Blutentahme zur Bestimmung von ACTH und Cortisol. Nach der letzten Blutentnahme um 8.00 Uhr wird eine	Der basale Cortisolspiegel wird bestimmt, danach erfolgt die Gabe von 1µg Synacthen, nach 30 oder 60 min erfolgt die Bestimmung des Cortisolspiegels.	Der basale Cortisolspiegel wird bestimmt, danach erfolgt die Gabe von 250µg Synacthen, nach 30 oder 60 min erfolgt die Bestimmung des Cortisolspiegels.

Neben-nierentests	**Insulin-Toleranztest (ITT)[83,84]**	**Metapyron-Test[85-87]**	**Low Dose-Synacthen-Test (niedrig Dosis ACTH-Kurztest)[88,89] (LDST)**	**Standard Dose-Synacthen-Test (Standard Dosis ACTH-Kurztest)[88,90] (HDST)**
		einmalige Dosis Hydrocortison (30mg) verabreicht.		
Auswer-tung	Cortisol > 500 – 600 nmol/l (Angabe unterschiedlicher Cut-off-Werte)	Cortisol < 200 nmol/l (erfolgreiche Konversionshemmung), 11-Deoxycortisol > 130 - 200 nmol/l, ACTH > 33 pmol/l	Cortisol > 500 nmol/l	Cortisol > 400 - 700 nmol/l (Angabe unterschiedlicher Cut-off-Werte)
Nachteil	- auf Grund der möglichen Nebenwirkungen einer Hypoglykämie gibt es zahlreiche Kontraindikationen: Epilepsie, kardiovaskuläre und cerebrovaskuläre Erkrankungen	-schlechte Verfügbarkeit von Metapyron -Metapyron schmeckt extrem bitter, was vor allem bei Kindern Probleme bereiten kann -es besteht das potentielle Risiko einer Addison-Krise	- eine sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz kann erst diagnostiziert werden, wenn sie bereits zu einer Nebennierenrindenatrophie geführt hat, so dass eine partielle sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz möglicherweise nicht erkannt wird	- eine sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz kann erst diagnostiziert werden, wenn sie bereits zu einer Nebennierenrindenatrophie geführt hat, so dass eine partielle sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz möglicherweise nicht erkannt wird
Vorteil	- der Test gilt als Goldstandard der Nebennierenfunktionstest, da er eine hohe Sensitivität und Spezifität hat - der Stimulus der Cortsiolproduktion, die Hypoglykämie, kommt physiologischem Stress am nächsten	- der Test gilt nach dem ITT als sensitivster Test zur Diagnose einer Nebennierenrindeninsuffizienz ohne das hohe Nebenwirkungsprofil des ITT	- geringes Nebenwirkungsprofil	- geringes Nebenwirkungsprofil

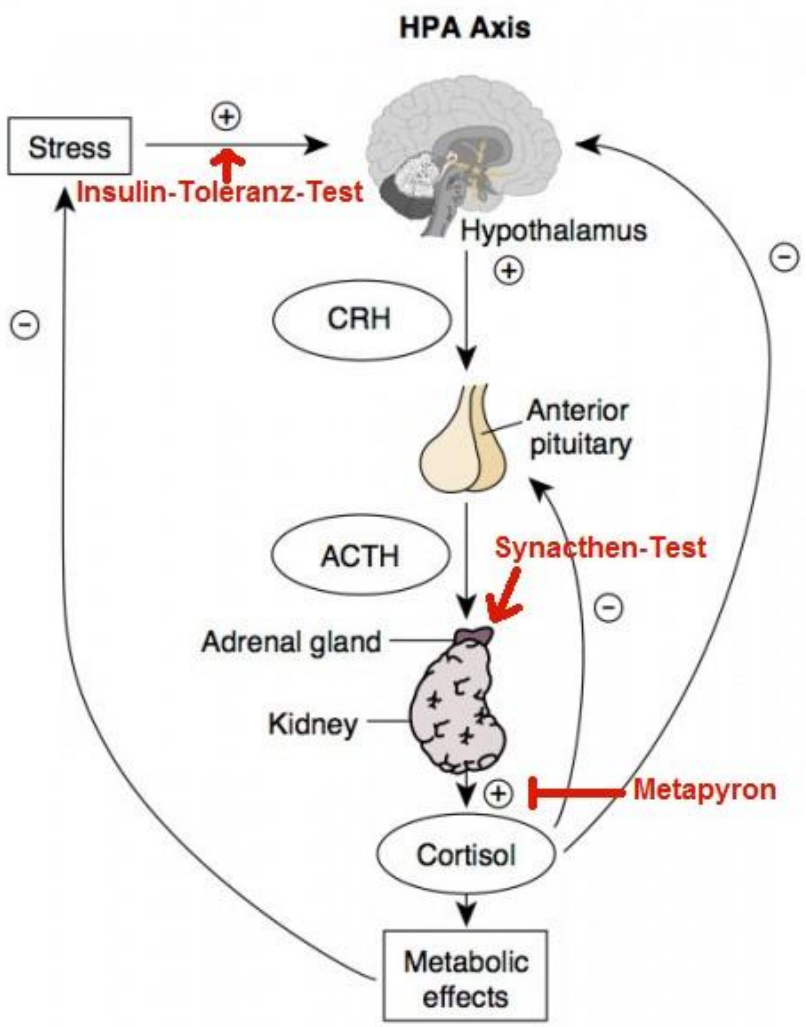

Abbildung 2: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Regulationsachse mit Angriffspunkten der verschiedenen Funktionstests (Grafik nach Hiller-Sturmhöfel et al.[91])

2.3. Aktueller Forschungsstand zur Nebennierenrindenfunktion bei PWS

Da bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom viele Störungen auf Hypophysen-Hypothalamus-Ebene bestehen, wie zum Beispiel eine verminderte Ausschüttung von GH, aber auch LH/FSH, häufig auch eine zentrale Hypothyreose, eine gestörte Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus, der Appetit-Regulation und eine gestörte Temperatur-Regulation liegt der Schluss nahe, dass auch eine zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz bestehen könnte. Zudem besteht bei Prader-Willi-Syndrom eine erhöhte Mortalität von 3% pro Jahr, die teilweise in einem Zusammenhang mit milden Infekten steht.

Erstmals beschrieb Forssman et al. 1964 eine reduzierte Urinexkretion von 17-Hydroxy- und 17-Ketosteroiden nach ACTH-Stimulation bei einem Kind mit der klinischen Diagnose eines Prader-Willi-Syndroms.[92]

1969 führten Rudd et al. bei 6 Kindern mit klinisch diagnostiziertem Prader-Willi-Syndrom einen nicht standardisierten Kurz-ACTH-Test (4 Stunden) durch. Hier zeigte sich bei 4 Kindern eine verminderte Cortisol-Antwort im Vergleich mit der Cortisol-Antwort gesunder junger, kleinwüchsiger und adipöser Kontrollen. 2 der 6 Kinder mit Prader-Willi-Syndrom lagen außerhalb des 95% Konfidenzintervalls und wurden mit einem prolongiertem ACTH-Test (3 Tage) getestet. Dabei wurde die 17-Hydroxy- und 17-Ketosteroid-Exkretion im Urin gemessen, die deutlich reduziert war.[93]

2004 beschreiben Stevenson et al. eine Reihe von unerwarteten Todesfällen bei Prader-Willi-Syndrom, in den durchgeführten Autopsien haben 3 von 4 Patienten ein zu geringes Gewicht der Nebennieren entsprechend ihrer Körpergröße.[94]

De Lind van Wijngaarden et al. testete im Jahr 2008 Kinder mit Prader-Willi-Syndrom auf eine zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz. Sie entschieden sich hierbei für den Metapyron-Test, der neben dem Insulin-Toleranz-Test als Goldstandard zur Testung auf eine Nebennierenrindeninsuffizienz gilt. Hierbei maßen sie bei 25 Kindern mit Prader-Willi-Syndrom die ACTH-Ausschüttung und das 11-Deoxycortisol. 60% der Kinder hatten eine ACTH-Konzentration am nächsten Morgen, die unter dem Cut-Off-Wert von 33 pmol/l bzw. 150 pg/ml lag. Bemerkenswerter Weise hatten 7 von 11 Kindern mit zu niedrigem ACTH-Anstieg einen 11-Deoxycortisol-Anstieg unter 200 nmol/l, woraus die Autoren schlossen, dass hier bereits eine Nebennierenrindenatrophie vorliegen könnte, was jedoch auch ein Hinweis auf eine unzureichende Blockade der Cortisol-Synthese durch das Metapyron sein könnte, insbesondere da diese Kinder morgens höhere Cortisol-Werte aufwiesen, als die, deren ACTH-Wert morgens über dem Cut-off-Wert lag.

Die Speichelcortisol-Profile und morgendlichen Cortisol-Peak-Werte aller Kinder lagen im Normbereich, so dass de Lind van Wijngaarden et al. vermuteten, dass es sich lediglich um eine „partielle“ zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz handelt, die nur in Situationen mit erhöhtem Cortisol-Bedarf klinisch relevant wird.[95]

2009 veröffentlichte die Gruppe um de Lind van Wijngaarden et al. eine Studie, in der Kinder mit Prader-Willi-Syndrom, bei denen mit Hilfe des Metapyron-Tests eine zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz diagnostiziert worden war, während des Schlafs einen höheren zentralen Apnoe Index zeigten und tendenziell eine niedrigere minimale periphere Sauerstoffsättigung in der Nacht erreichten. Hierin vermuten die Autoren einen Grund für die hohe Mortalität. [96]

Butler et al. veröffentlichten 2009 eine Studie, in der die morgendlichem Cortisol-Werte von 63 Kindern und Erwachsenen mit PWS mit denen von gesunden, adipösen Kontrollen verglichen.

Hier gab es keine signifikanten Unterschiede in den Cortisol-Konzentrationen der beiden Gruppen. Patienten mit Prader-Willi-Syndrom, die jünger als 3 Jahre waren, hatten signifikant niedrigere Cortisol-Konzentrationen als die, die älter als 3 Jahre waren. Die Cortisol-Konzentration korrelierte bei den Patienten mit Prader-Willi-Syndrom positiv mit dem Alter.[97]
2010 veröffentlichten Connel et al. Daten, in denen sie retrospektiv Nebennierenrindenfunktionstest auswerteten. Von 25 Kindern mit Prader-Willi-Syndrom hatten 6 einen Standard-Dosis-ACTH-Test erhalten, 4 einen niedrig-dosierten ACTH-Test, 15 einen Insulin-Toleranz-Test, der als Goldstandard zur Diagnostik einer Nebennierenrinden-Insuffizienz gilt. Nur ein Patient von den 25 hatte einen Cortisol-Wert unter dem Cut-off-Wert von 500 nmol/l (479 nmol/l, getestet durch ITT). Dieser Patient war sehr adipös (BMI 49) und starb im Alter von 26 Jahren an einer Sepsis auf Grund einer Hautinfektion.[98]
Nyunt et al. veröffentlichten 2010 eine Studie, in der 41 Kinder mit Prader-Willi-Syndrom in verschiedenen Zentren in Australasien mittels niedrig-dosiertem ACTH-Test auf eine Nebennierenrindeninsuffizienz getestet wurden. Keines der Kinder hatte nach 30 Minuten eine Cortisol-Konzentration unter dem Cut-off-Wert von 500 nmol/l.[99]
2011 veröffentlichten Farholt et al. eine Studie, in der 57 Kinder und Erwachsene mit Prader-Willi-Syndrom mittels Standard-Dosis-ACTH-Test und 8 Patienten mittels Insulin-Toleranz-Test auf eine Nebenniereninsuffizienz getestet wurden. Im Standard-Dosis ACTH-Test hatte nur ein Patient eine stimulierte Cortisol-Konzentration unter dem cut-off-Wert von 500 nmol/l (474 nmol/l). In dem daraufhin durchgeführten Insulin-Toleranz-Test zeigte der Patient einen normalen Cortisol-Spitzenwert. Auch die 7 anderen Patienten hatten eine normale Cortisol-Ausschüttung im Insulin-Toleranz-Test. Bei 4 Kindern wurde zudem während akuter Erkrankung ein basaler Cortisol-Wert bestimmt. Dieser lag zwischen 680 – 1372 nmol/l.[100]
Corrias et al. veröffentlichten 2012 eine Studie, in der bei 84 Kinder mit Prader-Willi-Syndrom der basale Cortisol-Spiegel bestimmt wurde und die mittels niedrig-dosiertem ACTH-Test getestet wurden. 12 (14,3%) der Patienten hatten einen Cortisol-Wert unter dem Cut-off-Wert von 500 nmol/l. Diese Kinder hatten verglichen mit den Kindern mit einer Cortisol-Antwort über dem cut-off-Wert auch niedrigere basale Cortisol-Spiegel. Die Kinder mit auffälligem niedrig-dosiertem ACTH-Test wurden dann einem Standard-Dosis ACTH-Test unterzogen. Hier zeigten 4 der 12 Patienten weiterhin eine zu niedrige Cortisol-Antwort (4,8% der gesamten Kohorte). Patienten mit Deletion auf Chromosom 15 hatten signifikant niedrigere Spitzen-Cortisol-Werte nach ACTH-Testung als Patienten mit UPD.[101]
Eine Fallbeschreibung wurde 2012 von Barbara et al. veröffentlicht, in der ein 16-jähriger Junge mit Prader-Willi-Syndrom während einer Wirbelsäulen-Operation unter einer persistierenden,

schweren arteriellen Hypotonie litt, die sich erst unter einer Hydrokortison-Gabe besserte. Eine Nebennierenrindeninsuffizienz war vorher nicht bekannt, und der Patient war bisher dahingehend asymptomatisch.[102]

2013 veröffentlichten Grugni et al. eine Studie, in der 53 Erwachsene mit Prader-Willi-Syndrom mittels niedrig-dosiertem ACTH-Test evaluiert wurden. 8 Patienten zeigten einen Cortisolanstieg unter 500 nmol/l, von denen wurden 6 mittels Standard-Dosis ACTH-Test überprüft (3 hatten weiterhin eine Cortisol-Antwort unter 500 nmol/l), bei einem wurde der niedrig-dosierte ACTH-Test wiederholt (wieder mit einer Cortisol-Antwort unter 500 nmol/l), einer verweigerte eine weitere Diagnostik. Insgesamt konnte durch ein erneutes Testen also die Diagnose einer Nebennierenrindeninsuffizienz bei 4 Patienten bestätigt werden (7,5% der gesamten Kohorte).[103]

2.4. Fragestellungen

Es gibt verschiedene Hinweise auf eine Störung der Nebennierenrindenfunktion bei PWS. Verschiedene Studien haben nahegelegt, dass eine partielle zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz mit einer unzureichenden Cortisolsynthese in Stresssituationen bestehen könnte. Kinder mit PWS haben zudem sehr viel häufiger als Kinder ohne PWS eine prämature Pubarche.

Die bisherigen Veröffentlichungen bezüglich einer zentralen Nebennierenrindeninsuffizienz bei PWS haben widersprüchliche Ergebnisse erbracht.

Dies wirft Fragen bezüglich der Indikation für eine möglicherweise nebenwirkungsreiche Steroidsubstitutions-Therapie bei PWS auf.

Zudem stellt sich die Frage des Mechanismus der prämaturen Adrenarche bei Kindern mit PWS.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zum einen, die Nebennierenrindenfunktion bei Kindern mit PWS zu testen und so die Grundlage zur Indikation einer Steroidhormonsubstitutions-Therapie zu überprüfen. Und falls Steroide substituiert werden sollten, dann kontinuierlich, oder nur in Stresssituationen? Welche Probleme ergeben sich, wenn man sich für eine Substitution in Stresssituationen bei Prader-Willi-Syndrom entscheidet?

Zum anderen ist es das Ziel, einen Teil der Ätiologie des klinischen Erscheinungsbildes bei Prader-Willi-Syndrom besser zu verstehen.

Da die Adrenarche auch bei Gesunden einem noch wenig verstandenem Mechanismus folgt, können Erkenntnisse zur Entstehung der prämaturen Adrenarche bei Prader-Willi-Syndrom eventuell auch zu Erkenntnissen des Mechanismus der Adrenarche im Allgemeinen führen.

Der Arbeit liegen folgende Fragestellungen zu Grunde:

2.4.1. Leiden Kinder mit Prader-Willi-Syndrom unter einer („partiellen“) Nebennierenrindeninsuffizienz?

Zeigt das Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel Auffälligkeiten?
Kann man die hohe Anzahl von 60% Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom mittels Metapyron-Test bestätigen?
Welche klinischen Konsequenzen ergeben sich aus den Erkenntnissen des Metapyron-Tests?

2.4.2 Welche klinischen und serologischen Auffälligkeiten gehen mit einer prämaturen Adrenarche und Pubarche einher?

Wieviele Kinder mit Prader-Willi-Syndrom haben eine prämature Adrenarche und Pubarche?
Gibt es serologische oder klinische Faktoren, die mit der Wahrscheinlichkeit einer prämaturen Adrenarche oder Pubarche korrelieren?
Besteht ein Zusammenhang zwischen prämaturer Adrenarche und Pubarche und der Nebennierenrindenfunktion?

2.4.3 Zeigen Kinder mit Prader-Willi-Syndrom ein verändertes Multisteroid-Hormonprofil im Vergleich zu Kindern ohne Prader-Willi-Syndrom?

Besteht bei Kindern mir Prader-Willi-Syndrom ein Hinweis auf eine Störung der peripheren Synthese von Nebennierenrindenhormonen?
Finden sich veränderte Aktivitäten der Enzyme der Steroidgenese im Vergleich zu Kindern ohne Prader-Willi-Syndrom?
Lassen sich Veränderungen im Multisteroid-Hormonprofil und in den Aktivitäten der Enzyme feststellen, die Aufschluss über die Ursache der prämaturen Adrenarche bei Kindern mit Pader-Willi-Syndrom und über die Adrenarche im Allgemeinen geben können?

3. Patienten und Methoden

3.1. Studienablauf und Probandenauswahl

Die vorliegende Studie wurde im Rahmen eines klinisch indizierten Hormontests zur Nebennierenrindenfunktion zum Teil als klinisch prospektive Studie, zum Teil als retrospektive Studie in der Pädiatrischen Endokrinologie der Charité Berlin durchgeführt.
Vor Beginn der Studie wurde die Zustimmung der Ethikkommission Charité Berlin eingeholt.
Allen Familien der in der Pädiatrischen Endokrinologie der Charité Berlin behandelten Kinder mit Prader-Willi-Syndrom wurde die Durchführung eines Metapyron-Tests, sowie eines Speichel-Cortisol-Tagesprofils angeboten. Im Rahmen dieser klinisch indizierten Tests wurde bei vorliegender Einverständniserklärung während der Blutentnahmen jeweils eine geringe Menge Blut für die Multisteroidhormon-Analyse verwendet.
Die Testung der Nebennierenrindenfunktion wurde im Rahmen eines zweitägigen stationären Aufenthalts durchgeführt. Es wurde zur Erfassung der Funktion der Cortisolproduktion ein Speichel-Cortisol-Tagesprofil durchgeführt. Zudem wurden zur weiteren Charakterisierung der Nebennierenrindenfunktion klinische Merkmale (z.B. Tanner-Stadien, Blutdruck, Krankheitshäufigkeit, Ultraschalluntersuchung der Nebennieren) erhoben.
Zur genauen Aussage, ob eine partielle zentrale Nebennierenrindeninsuffizienz vorliegt, führten wir einen Metapyron-Test durch.
Es erfolgte die Erstellung eines Steroidhormonprofils für jeden Studienteilnehmer vor und während des Metapyron-Tests.
Zudem wurden weitere endokrinologische Parameter bestimmt (z.B. GH, IGF, TSH).
Eine Testung der Nebennierenrindenfunktion wurde allen im Sozial Pädiatrischen Zentrum des Virchow Klinikums der Charité betreuten Kindern mit genetisch gesichertem Prader-Willi-Syndrom und deren Eltern angeboten.
Das primäre Ziel der Studie ist die Klärung der Frage, ob bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom eine zentrale partielle Nebennierenrindeninsuffizienz vorliegt, die eine Cortisol-Substitution nötig machen würde, sowie ob eine Störung der peripheren Nebennierenrindenfunktion (Cortisol-Synthese) besteht.

3.1.1 Einschlusskriterien

Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die folgenden Kriterien sämtlich erfüllt sein:

1. Unterschrift der Einwilligungserklärung durch die Eltern / Erziehungsberechtigten und Einwilligung der Studienteilnehmer/in
2. Kinder und Jugendliche im Alter zwischen 1 und 20 Jahren
3. Diagnose Prader-Willi-Syndrom

3.1.2 Ausschlusskriterien

Jedes der folgenden Kriterien führte zum Ausschluss aus der Studie

1. Teilnahme an einer klinischen Studie oder Einnahme eines experimentellen Medikamentes innerhalb der letzten 30 Tage vor Einschluss in die Studie
2. Patienten/innen, die zu dem Prüfarzt oder dem an der Studiendurchführung beteiligten Personal im selben Zentrum in einem Verwandtschafts- oder Abhängigkeitsverhältnis stehen
3. schwere chronische Erkrankungen, die nicht mit der geplanten Diagnostik vereinbar sind, wie z.B. eine schwere Leber- oder Nierenerkrankung, Gerinnungsstörungen, systemischen Infektionen

3.1.3 Abbruch- und Aussetzungskriterien

Bei einzelnen Versuchspersonen:

1. Nebennierenraumforderung
2. nicht ordnungsgemäße Einnahme der Metapyron-Kapseln

3.1.4 Anamnese und klinische Untersuchung

In der Eingangsuntersuchung wurde im Rahmen der klinischen Diagnostik eine Eigen- und Sozialanamnese erhoben. Zudem wurde gezielt nach Zeichen einer Nebennierenrindeninsuffizienz gefragt. Alle Angaben wurden in den CRF-Bögen dokumentiert. Bei der allgemeinen pädiatrischen klinischen Untersuchung erfolgte unter anderem die Bestimmung des Pubertätsstadiums nach Tanner[68,69]. Die Körpergröße wurde mit Hilfe eines an der Wand angebrachten Stadiometers nach Keller (Meßgenauigkeit: 0,1 cm) ermittelt und das Körpergewicht wurde mittels einer elektronischen Waage (Soehnle, Digitalanzeige; Meßgenauigkeit: 0,1 kg) ermittelt, und der BMI aus diesen Werten berechnet (Quotient aus Körpergewicht und Körperlänge zum Quadrat [kg/m²]). Es wurden alters- und geschlechtsspezifische Perzentilen nach Kromeyer-Hauschild zur Beurteilung herangezogen, um

die physiologischen Unterschiede der prozentualen Körperfettmasse in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht zu berücksichtigen.[104]

Die statistische Kenngröße SDS_{LMS} (Standard Deviation Scores) wurde ermittelt. Sie verdeutlicht, wieviel ein individueller BMI-Wert unter (negativer Wert) bzw. über (positiver Wert) dem alters- und geschlechtsspezifischen BMI-Median liegt. Dieser Wert erlaubt einen individuellen BMI-Wert noch genauer in die Referenzgruppe einzuordnen. Es wurden der Taillen- und Hüftumfang gemessen. Der Blutdruck wurde mit Hilfe einer passenden Blutdruckmanschette manuell ermittelt (Mittel aus drei Messungen).

3.2. Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel

Die Überprüfung, ob die circardiane Rhythmik der Ausschüttung von Cortisol erhalten ist, erfolgte durch die Bestimmung des Cortisols im Speichel zu verschiedenen Tageszeitpunkten (07:00, 10:00, 12:00, 18:00, 23:00 Uhr). Dabei wurden von den Probanden wiederholt im Laufe von 16 Stunden Speichelproben gewonnen, indem Watteträger gekaut und in speziellen Speichelröhrchen asserviert wurden. [105,106]

Die so gewonnen Konzentrations-Werte wurden mit den Laborinternen Referenzwerten verglichen, aber auch der individuelle Verlauf der Konzentrationen betrachtet.

3.3. Metapyron-Test

Es erfolgte die Blutentnahme zur Bestimmung von ACTH und nach Möglichkeit Cortisol um 23:00 Uhr. Danach erfolgt die Gabe von 30 mg/kg Körpergewicht Metapyron (Metopirone®) p.o. um 23:00 Uhr.

Am nächsten Morgen um 08:00 Uhr erfolgte die Blutentahme zur Bestimmung von ACTH und Cortisol.

Je nach Rückläufigkeit einer liegenden Venenverweilkanüle erfolgten zusätzliche Blutentnahmen mit Bestimmung von ACTH und Cortisol um 4:00 und 6:00 Uhr.

Nach der letzten Blutentnahme um 8.00 Uhr wurde eine einmalige Dosis Hydrocortison (30 mg) verabreicht.

Während des Metapyron Tests wurden Puls und Sauerstoff-Sättigung kontinuierlich gemessen, und der Blutdruck alle 30 Minuten. Der Blutzucker wurde durch eine kapilläre Blutentnahme alle zwei Stunden gemessen.

Bei einer Pulssteigerung um 30% oder mehr, oder einem Blutdruckabfall um 10% oder mehr sollte der Blutdruck alle 15 Minuten kontrolliert werden.

Funktionsprinzip des Metapyrontests:

Metapyron inhibiert reversibel die 11β-Hydroxylase der Nebennierenrinde und hemmt dadurch die Konversion von 11-Deoxycortisol zu Cortisol. Durch den Wegfall der Feedback-Hemmung kommt es beim Gesunden zu einem maximalen ACTH-Anstieg, woraus eine Steigerung der 11-Deoxycortisolsynthese folgt.

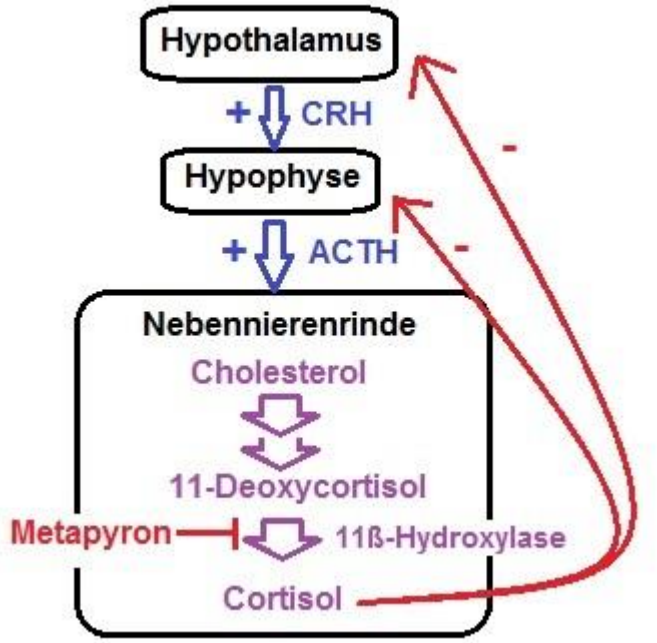

Abbildung 3: Funktionsweise Metapyron

3.4. Nebennierenrindenhormonbestimmung im kapillären sowie venösen Blut anhand von Trockenblutkarten

Durch die Bestimmung der Nebennierenrindenhormone, ihrer Synthese-Zwischenstufen und Metabolite (17-OH-Progesteron [17-OHP], 11-Deoxycorticosteron [DOC], Androstendion, Testosteron, Dihydrotestosteron [DHT], Cortisol, 11-Deoxycortisol, 21-Deoxycortisol, Corticosteron, 17-OH-Pregnenolon [17-OH-Preg]) wird ein Steroidhormonprofil aus Trockenblutkarten erstellt.

Es wird zunächst die Gleichwertigkeit der Bestimmung der Steroidhormone aus dem venösen und dem kapillären Blut demonstriert und zwar anhand von zwei zum gleichen Zeitpunkt erstellten Steroidhormonprofilen.

Es erfolgt die Erstellung eines Nebennierenrindenhormonprofils im Tagesverlauf aus dem kapillären Blut.

Dann wird ein Steroidhormonprofil während des Metapyron-Tests erstellt.

3.4.1 HPLC System und Tandem Massenspektrometer

In der HPLC (high pressure liquid chromatography) findet zunächst eine Auftrennnung des Stoffgemisches mittels eines Laufmittels (mobile Phase) durch unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten (Retentionszeiten) der einzelnen Analyten durch eine Trennsäule (stationäre Phase) statt. Im Anschluss erfolgt die Fraktionsanalyse durch die Tandem-Massenspektrometrie. Hierbei erhält man eine qualitative und quantitative Analyse der enthaltenen Substanzen.
Die Analyse wurde durch Frau Dr. Nele Alder-Baerens durchgeführt. Eine Veröffentlichung ist in Vorbereitung. Die wichtigsten Daten zu Ihrer Arbeit werden hier kurz zusammengefasst:

Chemikalien und Reagenzien

D2-Cortisol und D8-17-OHP wurden von Dr. Ehrensdorfer GmbH in Deutschland bezogen, 17-OH-Pregnenolon von Steraloids Inc in den USA und alle anderen Steroide (17-OH-Progesteron, 11-Deoxycorticosteron, Cortisol, 11-Deoxycortisol, 21-Deoxycortisol, Androstendion, Testosteron und Dihydrotestosteron) von Sigma-Aldrich in Deutschland. Aceton und Acetonitril kamen von J.T.Baker in den Niederlanden. Methansäure und Methanol in HLPC-Qualität wurden von Fluka in Deutschland bezogen und Steroid-freies Serum von MP Biomedicals in Deutschland.

Externes Kontroll-Material

Trockenblut-Testmaterial zur Qualitätskontrolle der 17-OHP-Bestimmung wurden vom Neugeborenen Screening Qualitätssicherungsprogramm vom Center for Disease Control in Atlanta, GA bezogen.

HPLC System und Tandem Massenspektrometer

Das HPLC System (Shimadzu, Deutschland) ist ausgestattet mit einem CBM-20A Controller, zwei UFLC LC-20AD Pumpen, die eine interne Flüssigkeits-Entgaser-Einheit enthalten und einen CTO-20AC Kolumnen-Heizer. Nachdem die Probe die Kolumne durchlaufen hat, gelangt die Probe sofort in die angeschlossene Turbo Spray ESI Quelle des triple quadruple QTrap4000 Tandem-Massenspektrometers (Apllied Biosystems, MDS Sciex, Deutschland). Alle Komponenten wurden von der Analyst Software 1.5 (Applied Biosystems, MDS Analtical Technologies, Deutschland) kontrolliert.

Liearität

Die lineare Korrelation zwischen Steroidkonzentration und Signalintensität wurde mittels wiederholter Analyse der Trockenblut-Kalibratoren-Proben bewertet. Die Regressionskoeffizienten (R^2) waren größer als 0,99.

Sensitivität

Die Nachweisgrenze (limit of detection „LOD") und die Bestimmungsgrenze (limit of quantification „LOQ") wurden mit Hilfe der Gleichungen nach DIN32645 mittels Kalibriergerade bestimmt.

Präzision und Wiedererkennung

Methoden-Präzision und Wiedererkennung wurden mittels Trockenblut-Proben mit zwei verschiedenen Konzentrationen ermittelt (62,5 nM und 312,5 nM für Cortisol und 17-OH-Pregnenolon und 25 und 125 nM für alle anderen Steroide). Die intraassay Variationskoeffizienten lagen zwischen 4,6 und 12,4%, und die interassay Variationskoeffizienten zwischen 3,1 und 9,6%. Die Wiedererkennung lag bei allen Steroiden im Konfidenzintervall und zwar zwischen 91,8 und 106,7%.

Qualitätskontrolle

Vor jeder Probenanalyse wurde durch eine Injektion eines Steroid-Stammlösungsmixes, der alle nicht deuterisierten Steroide in einer Konzentration von 500 nM enthält, das fehlerfreie Arbeiten des HPLC-Systems und der HPLC-Säule bestätigt.
Internes und externes Kontrollmaterial lag innerhalb des Konfidenzintervalls.
Zusätzlich bestätigt die vierteljährlich Teilnahme am Leistungstest der CDC Atlanta, Newborn Screening Quality Assurance Program, Second Tier LC-MS/MS for CAH, die Genauigkeit unserer Messdaten.

3.5. Labor

Die Laborwerte wurden anhand der in Deutschland für Kinder und Jugendlich üblichen Standards beurteilt.
Das Labor Berlin hat die biochemische Analyse folgender Stoffe vorgenommen:

- ACTH im Plasma durch ein Chemilumineszenzassay
- Cortisol im Serum durch ein Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay

- Cortisol im Speichel durch ein Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- DHEAS im Serum durch ein Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- Androstendion durch ein Radioimmunoassay
- 11-Deoxycortisol im EDTA durch ein Radioimmunoassay
- 17-a-Hydroxyprogesteron durch ein Radioimmunoassay
- Testosteron, Östradiol durch jeweils ein Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay
- GH durch ein Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay
- IGF-I im Serum durch ein Chemilumineszenzassay
- IGF-BP-3 durch ein Chemilumineszenzassay
- HbA1c durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
- R-HOMA: Insulin durch ein Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay, Glukose durch photometrische Bestimmung
- TSH durch ein Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay
- fT3, fT4 durch ein Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay

3.6. Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgt mit Hilfe des Statistikprogramm SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Ausgabe 21.0 für Windows.
Die deskriptive Auswertung der Daten erfolgte mittels Häufigkeiten und Kreuztabellen.
Bei kontinuierlichen, normalverteilten Daten dienten als Maße die Mittelwerte und Standardfehler (MW ± SD) und bei kontinuierlichen, nicht normalverteilten oder ordinal skalierten Daten der Median und erstes und drittes Quartil (MD (1.-3. Quartil)). Für jeden Parameter wurde die Normalverteilung mittels Histogramm und mittels des Shapiro-Wilk-Tests geprüft (hohe Teststärke auch bei kleinen Stichproben).
Die Mittelwerte normalverteilter Variablen wurden mit Hilfe des t-Tests für unabhängige Stichproben verglichen, bei nicht normalverteilten Variablen wurden die Verteilung und die Mediane mittels des U-Test nach Mann-Whitney und des Mediantests für unabhängige Stichproben verglichen. Zum Prüfen kategorialer Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet (Berechnung nach Pearson oder Mantel-Haenszel).
Als signifikant wurden Testunterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit α (Fehler 1. Art) von 5% oder weniger (< 0,05) eingestuft.
Um die Korrelation zwischen intervallskalierten Variablen zu untersuchen, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Es erfolgte zudem eine Regressionsanalyse.

4. Ergebnisse

Der Ergebnisteil der Studie ist in einen Teil mit den Ergebnissen des Cortisol-Tagesprofils aus dem Speichel, dem Metapyron-Tests, einen Teil mit den Ergebnissen zu den Untersuchungen zur prämaturen Pubarche und einen Teil mit den Ergebnissen der Steroidhormon-Analyse aus den Trockenblutkarten gegliedert.

Es wurde allen Kindern mit PWS (N=19) und ihren Eltern die Durchführung des klinisch indizierten Metapyron-Tests empfohlen. Sechs Patienten und ihre Eltern lehnten die Durchführung eines Metapyron-Tests ab.

Bei einem Jungen wurde der Metapyron-Test aufgrund einer danach sonografisch detektierten Raumforderung der Nebennierenrinde nicht in die Auswertung mit einbezogen (diese wurde am ehesten als Adenom eingestuft und wird verlaufskontrolliert). Da es sich jedoch um einen Nicht-Hormon-produzierendem Tumor handelt, erfolgte auch hier eine Multisteroidanalyse.

Von den initial 12 Kindern, bei denen der Metapyron-Test durchgeführt wurde, musste ein Mädchen vom Metapyron-Test ausgeschlossen werden, da es die Metapyron-Kapseln sofort wieder erbrochen hat. Dieses Mädchen wurde zu der Gruppe hinzugerechnet, bei welcher der Metapyron-Test nicht durchgeführt wurde. Bei diesem Mädchen erfolgte jedoch auch eine Multisteroidhormonanalyse um 08:00 Uhr.

Es folgt die Darstellung der Gruppe, bei der der Metapyron-Test durchgeführt wurde, und der Gruppe, bei der kein Metapyron-Test durchgeführt bzw. die ausgeschlossen wurden, sowie der Vergleich der beiden Gruppen. Zudem erfolgt die Darstellung der gesamten Kohorte.

Zwischen der Gruppe mit Kindern, bei denen der Metapyron-Test durchgeführt wurde, und der Gruppe mit Kindern, bei welchen er auf Grund einer Ablehnung nicht durchgeführt wurde, ergaben sich keine signifkanten Unterschiede in der Geschlechterverteilung, dem Alter, BMI, BMI-SDS, dem basalen Cortisol, R-HOMA, BP-3, IGF-I, IGF-I-SDS, den Pubertätsstadien nach Tanner, dem Alter bei Beginn der Pubarche und Adrenarche und der Häufigkeit einer prämaturen Pubarche und Adrenarche.

Bei einem Jungen hatte zwar bereits die Pubarche begonnen, es fanden sich jedoch keine Aufzeichnung mehr dazu in welchem Alter, da er erst nach Pubertätsbeginn in der Pädiatrischen Endokrinologie der Charité Berlin behandelt wurde.

Tabelle 2: Kohortenbeschreibung

Parameter	**Metapyron-Test durchgeführt N=11**	**Metapyron-Test nicht durchgeführt/ausgeschlossen N=8**	p-Wert	**Gesamte Kohorte N=19**
Geschlecht				
männlich	6 (54,5%)	4 (50,0%)	1,000	10 (52,6%)
weiblich	5 (45,5%)	4 (50,0%)		9 (47,4%)
Alter (Jahre)*	10,2 (±3,9)	8,93 (±5,26)	0,553	9,66 (±4,43)
BMI (kg/m2)*	22,43 (±5,93)	20,41 (±4,57)	0,434	21,58 (±5,34)
BMI-SDS*	1,29 (±1,31)	1,14 (±1,19)	0,800	1,22 (±1,23)
basales Cortisol durchschnittlich (µg/dl)**	7,00 (6,63 – 9,4)	7,49 (5,72 – 9,62)	1,000	7,07 (5,95 – 9,4)
R-HOMA*	1,32 (±0,47)	1,76 (±1,06)	0,299	1,52 (±0,79)
BP-3 (µg/ml)*	3,13 (±0,72)	3,16 (±0,76)	0,920	3,14 (±0,71)
IGF-I (ng/ml)*	391,20 (±214,50)	363,00 (±269,44)	0,808	378,67 (±233,37)
IGF-I-SDS*	1,30 (± 1,37)	1,34 (± 1,13)	0,954	1,32 (±1,23)
Pubertätsstadium nach Tanner P			0,253	
PI	2 (18,2%)	4 (50%)		6 (31,6%)
PII,PIII	8 (72,8%)	2 (25%)		10 (52,7%)
PIV	1 (9,1%)	2 (25%)		3 (15,8%)
Pubertätsstadium nach Tanner B/G			0,296	
BI/GI	7 (63,6%)	6 (75%)		13 (68,4%)
BII/GII-BIII/GIII	4 (36,4%)	1 (12,5%)		5 (26,3%)
BIV/GIV	0 (0%)	1 (12,5%)		1 (5,3%)
Prämature Pubarche ***	4/9 (44,4%)	2/3 (66,7%)	1,000	6/12 (50,0%)
Alter Beginn Pubarche (Jahre)*	8,61 (±0,84) [N=9]	7,97 (±3,23) [N=3]	0,762	8,46 (±1,58) [N=12]
Prämature Adrenarche***	6/9 (66,7%)	3/3 (100,0%)	0,509	9/12 (75,0%)
Sexhormontherapie	0/11 (0%)	1/8 (12,5%)	0,412	1/19 (5,3%)
L-Thyroxin-Therapie	0/11 (0%)	3/8 (37,5%)	0,058	3/19 (15,8%)
GH-Therapie	10/11 (90,9%), 1/11 (9,1%) nicht mehr	8/8 (100,0%)	1,000	18/19 (94,7%), 1/19 (5,3%) nicht mehr

*Angaben als Mittelwert ± Standardabweichung (MW ± SD); Range bzw. ** Median (1.-3. Quartil) (Range) *** unter denen, deren Adrenarche bereits eingesetzt hat, bzw. den Mädchen > 8 Jahren, den Jungen > 9 Jahren

4.1. Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel

Im Cortisol Tagesprofil zeigten 8 von 11 Kindern eine erkennbare circadiane Rhythmik im Tagesverlauf mit morgendlichem Peak des Cortisol-Spiegels. 4 von diesen 8 Kindern zeigten jedoch eine fehlende nächtliche Absenkung des Cortisols und eines einen deutlich zu hohen Cortisol-Spiegel nachts.

Eine nicht erkennbare Tagesrhythmik zeigte sich bei 3 von 11 Kindern. Von diesen hatten 2 deutlich zu hohe Cortisolspiegel nachts. Insgesamt zeigen also 7 von 11 Kindern einen zu hohen Cortisol-Spiegel nachts.

Die Referenzwerte stammen aus dem Labor Berlin und sind bezogen auf das Alter und die Tageszeit.[107]

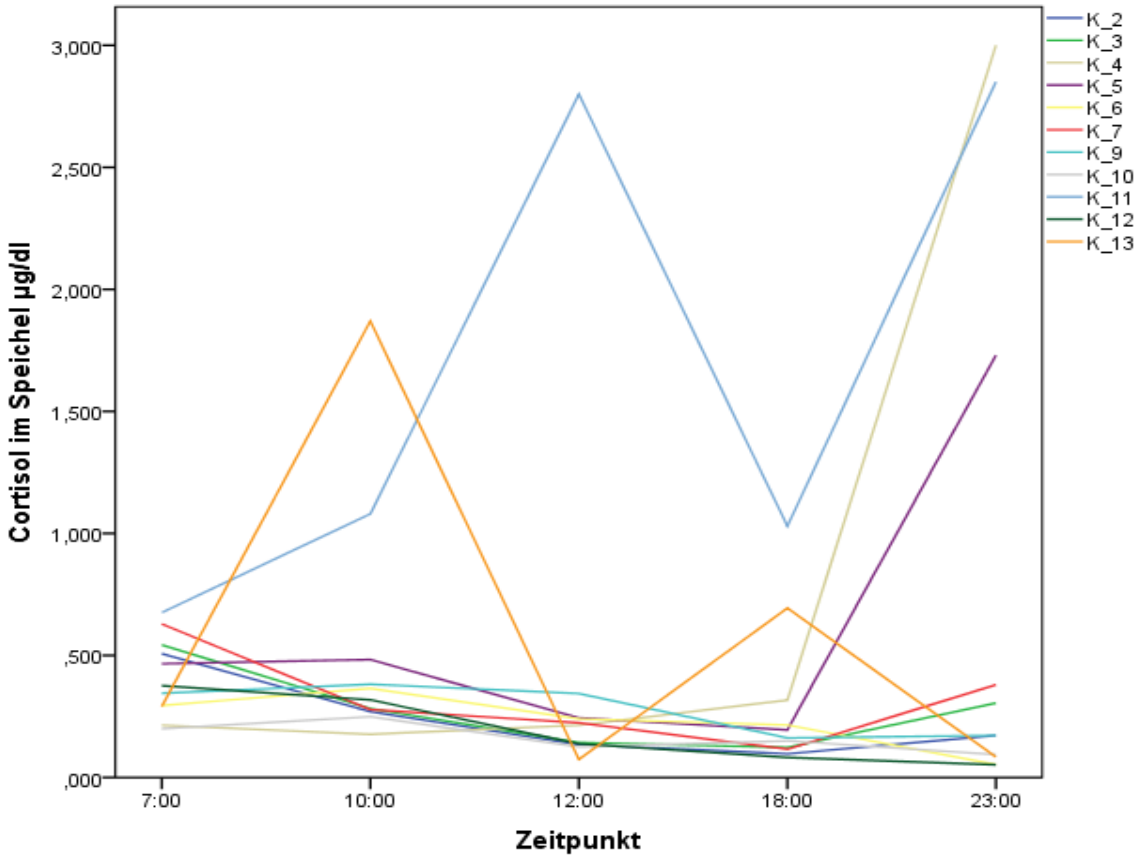

Abbildung 4: Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel

4.2. Metapyrontest

Von den initial 12 Kindern, bei denen der Metapyron-Test durchgeführt wurde, musste ein Mädchen vom Metapyron-Test ausgeschlossen werden, da es die Metapyron-Kapseln wieder erbrochen hat. Dieses Mädchen wurde zu der Gruppe hinzugerechnet, bei denen der Metapyron-

Test nicht durchgeführt wurde. In der Grafik sieht man als K_6 den fehlenden ACTH-Anstieg und die fehlende Cortisolsynthese-Hemmung dieses Mädchens.
Der Junge, der Aufgrund seiner Nebennierenraumforderung im Nachhinein ausgeschlossen wurde, hatte einen normalen Verlauf von ACTH und Cortisol unter dem Metapyron-Test.
Ein Junge, bei dem der Metapyron-Test durchgeführt wurde, hatte um 08:00 Uhr einen ACTH-Wert knapp unter dem Cut-off-Wert von 150 pg/ml, nämlich 142 pg/ml. Zu diesem Zeitpunkt hat er jedoch schon den zweithöchsten Cortisol-Wert der Gruppe (7,2 µg/dl), der bereits im unteren Normbereich liegt, so dass wir nicht von einer zentralen oder peripheren Nebennierenrindeninsuffizienz ausgehen (K_12).
Ansonsten hatten alle Kinder einen ACTH-Wert um 08:00 Uhr morgens, der über dem Cut-off-Wert von 150 pg/ml lag.

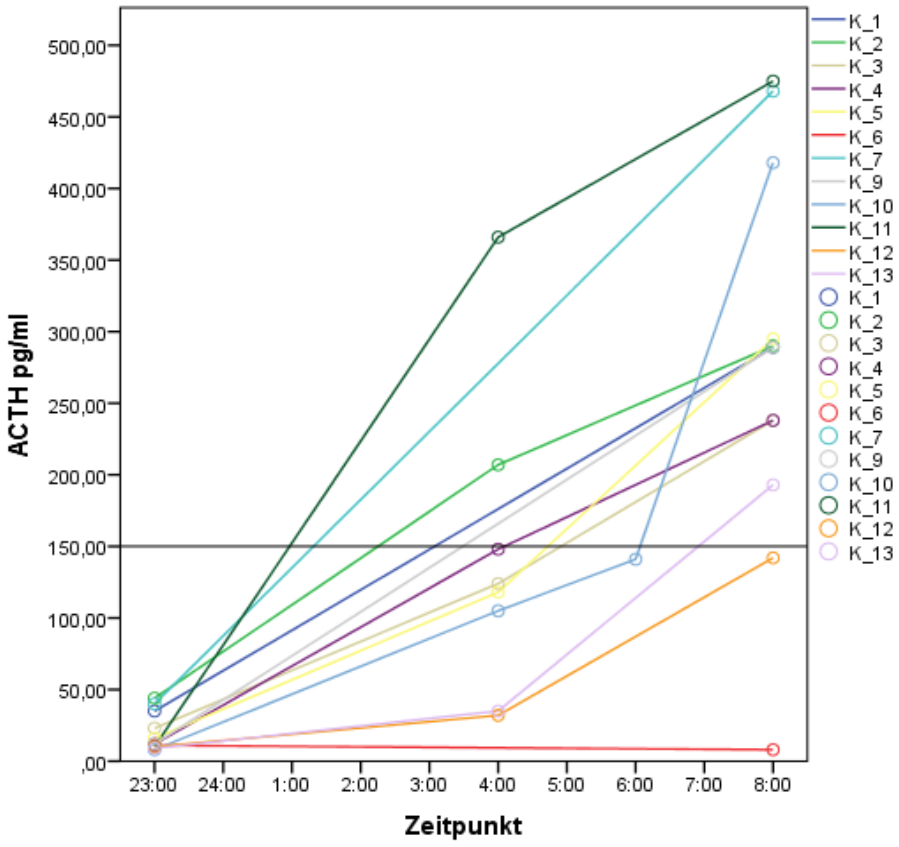

Abbildung 5: ACTH-Konzentration während des Metapyron-Test

K_6: das Mädchen, das die Metapyron-Kapseln wieder erbrochen hat

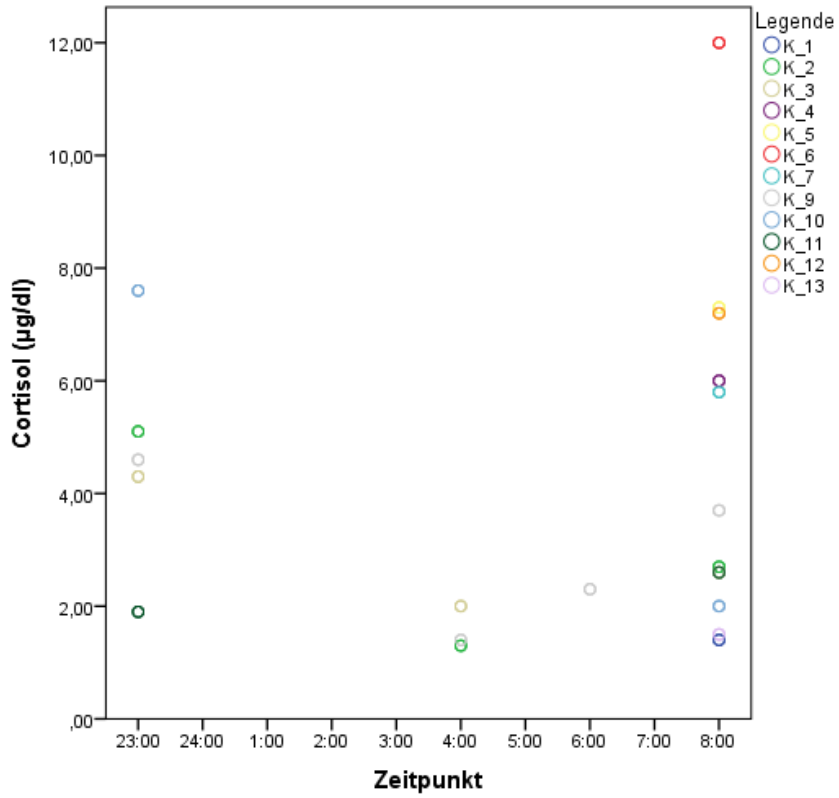

Abbildung 6: Cortisol-Konzentration während des Metapyron-Test

K_6: das Mädchen, das die Metapyron-Kapseln wieder erbrochen hat

4.3. Prämature Pubarche und Adrenarche

In dieser Arbeit wurde zwischen einer Prämaturen Pubarche und einer prämaturen Adrenarche differenziert. Als prämature Pubarche wurde ein Einsetzen der Schambehaarung vor dem 8. Lebensjahr bei Mädchen und vor dem 9. Lebensjahr bei Jungen gewertet.

Als prämature Adrenarche wurde ein für das Alter erhöhter DHEAS-Serum-Spiegel vor dem Alter von 8 bzw. 9 Jahren gewertet.

In der gesamten Kohorte wurde ausgewertet, welche Kinder eine Prämature Pubarche hatten, und welche Parameter und Charakteristika damit vergesellschaftet waren.

Von den insgesamt 19 Kindern der Kohorte hatte bei 13 Kindern schon die Pubarche begonnen (siehe Tabelle 2). Bei einem Jungen fanden sich jedoch keine Aufzeichnung mehr dazu, in welchem Alter die Pubarche begonnen hatte, da er erst nach Pubertätsbeginn in der Pädiatrischen Endokrinologie der Charité Berlin behandelt wurde, so dass die Daten zur Pubarche bei insgesamt 12 Kindern ausgewertet werden konnten.

Unter diesen hatten insgesamt 6 Kinder eine prämature Pubarche (50%), und sogar 9 von 12 eine prämature Adrenarche (75%). Mädchen und Jungen hatten in unserer Kohorte gleich häufig eine prämature Pubarche.
Der Mittelwert des Alters bei Beginn der Pubarche betrug 8,46 (±1,58) Jahre. Das mittlere Alter bei Beginn der Pubarche bei Kindern mit prämaturer Pubarche betrug 7,46 (±1,47) Jahre, bei Kindern ohne prämature Pubarche 9,46 (±0,96) (p-Wert 0,019).
Kinder mit prämaturer Pubarche hatten alle, wie erwartet, da dieser ja die Adrenarche vorrausgeht, auch eine prämature Adrenarche. Aber auch Kinder ohne prämature Pubarche zeigten in 50% der Fälle eine prämature Adrenarche, so dass sich zwar eine deutlicher Unterschied zeigt, dieser aber auf Grund der geringen Fallzahl keine statistische Signifikanz erreicht (p-Wert: 0,091).
Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Kindern mit prämaturer Pubarche und mit altersgerechter Pubarche in BMI, BMI-SDS, R-HOMA, IGF-I und IGF-I-SDS. Auch beim Knochenalter-SDS zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen. Kinder mit prämaturer Pubarche tendierten dazu, höhere IGF-I-SDS-Werte und einen höheren Knochenalter-SDS zu haben.
Auch zwischen Kindern mit prämaturer Adrenarche und denen mit altersgerechter Adrenarche zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Knochenalter-SDS.
Die bisherige Definition der prämaturen Adrenarche, die auf den gleichen Altersgrenzwerten beruht, wie die der prämaturen Pubarche erscheint nicht sinnvoll, da die Adrenarche der Pubarche in der Regel mindestens ein Jahr voraus geht. Konsequenter Weise müsste man die Altersgrenze für eine prämature Adrenarche um mindestens ein Jahr auf 7 bzw. 8 Jahre vorverlegen, die so definierte prämature Adrenarche ist hier „Prämature Adrenarche2“ benannt und wird durch für das jeweilige Alter erhöhte DHEAS-Serum-Spiegel vor dem 7. Lebensjahr bei Mädchen bzw. vor dem 8. Lebensjahr bei Jungen definiert. Mit dieser Korrektur der Definition kann man bei unseren Patienten einen signifikanten Unterschied sehen: nur Kinder mit Prämaturer Pubarche haben in der Regel auch eine Prämature Adrenarche (p-Wert: 0,04).
Auch bei der angepassten Definition der prämaturen Adrenarche zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Knochenalter-SDS, jedoch zeigte sich auch hier eine Tendenz zu einem erhöhten Knochenalter bei prämaturer Adrenarche.

Tabelle 3: Prämature Pubarche

Parameter	**Prämature Pubarche N=6**	**Keine Prämature Pubarche N=6**	p-Wert
Geschlecht			1,000
männlich	3 (50%)	3 (50%)	
weiblich	3 (50%)	3 (50%)	
Alter bei Beginn der Pubarche (Jahre)*	7,46 (±1,47)	9,46 (±0,96)	**0,019**
BMI*	22,21 (±6,86)	23,68 (±4,17)	0,663
BMI-SDS*	1,41 (±1,61)	1,19 (±0,87)	0,778
R-HOMA*	1,88 (±0,73)	1,58 (±0,82)	0,520
IGF-I*	457,50 (±183,11)	414,20 (±135,47)	0,672
IGF-I-SDS*	2,05 (±1,08)	1,17 (±1,06)	0,208
Prämature Adrenarche	6/6 (100%)	3/6 (50%)	0,091
Prämaturer Adrenarche2**	5/6 (83,3%)	1/6 (16,7%)	**0,040**
Knochenalter-SDS*	0,75 (±0,65)	0,17 (±1,20)	0,405
Erhöhte DHEAS-Level	6/6 (100%)	3/6 (50%)	0,091

Tabelle 4: Prämature Adrenarche

Parameter	**Prämature Adrenarche N=9**	**Keine Prämature Adrenache N=3**	p-Wert
Knochenalter-SDS*	0,43 (±0,84)	0,33 (±1,59)	0,901

Parameter	**Prämature Adrenarche2** N=6**	**Keine Prämature Adrenache2** N=6**	p-Wert
Knochenalter-SDS*	0,63 (±0,48)	0,25 (±1,28)	0,537

* Angaben als Mittelwert ± Standardabweichung (MW ± SD)
** Prämature Adrenarche2 = Definition durch eine Adrenarche bei Jungen vor dem 8. Lebensjahr, bei Mädchen vor dem 7. Lebensjahr.

4.4. Steroidhormonanalyse

4.4.1 Demonstration der Gleichwertigkeit der Bestimmung der Steroidhormone aus dem venösen und dem kapillären Blut

Um zu demonstrieren, dass die Konzentrationen der Multisteroide im kapillären Blut denen im venösen Blut entsprechen, wurden zu einem Zeitpunkt die Multisteroide sowohl aus dem venösen als auch aus dem kapillären Blut von zwei Patienten bestimmt.

Hier zeigt sich eine Pearson-Korrelationskoeffizient von 0,979 mit einer einer Signifikanz von $p < 0,001$.

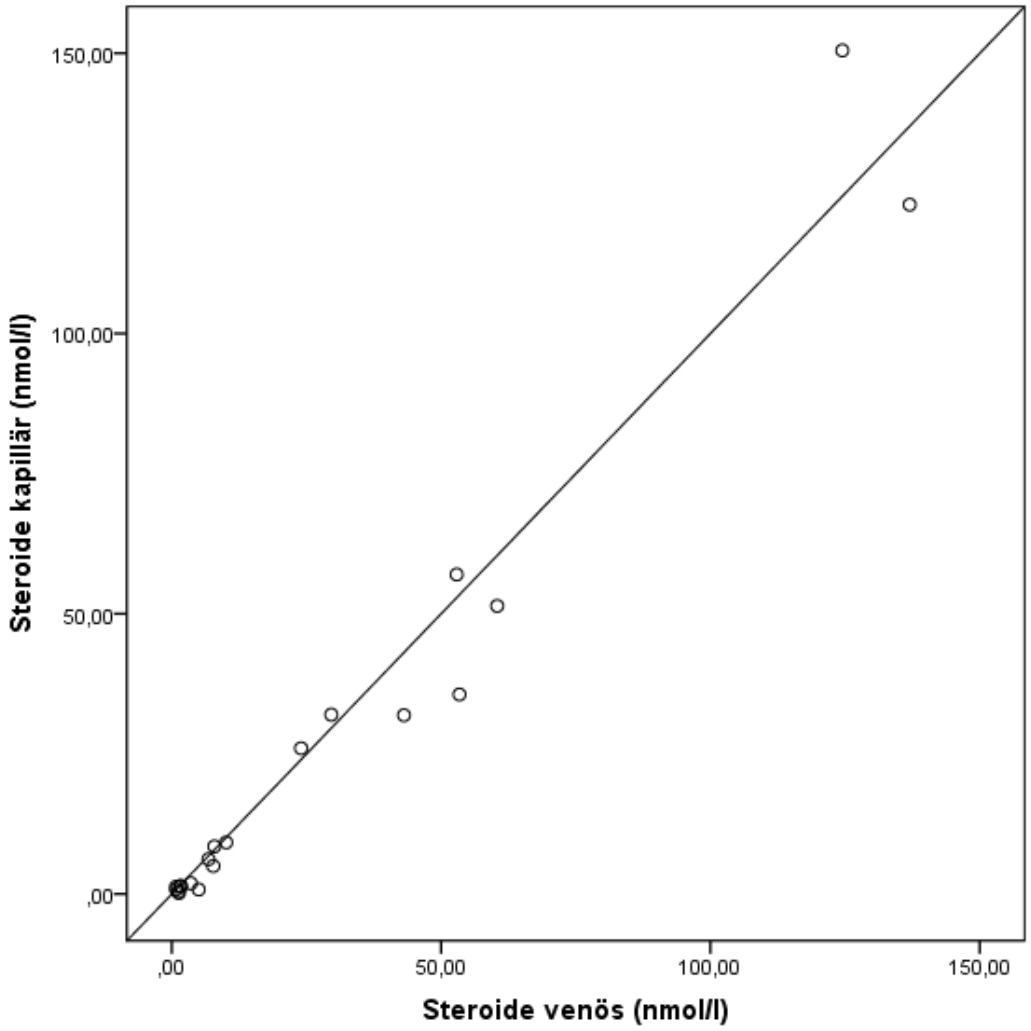

Abbildung 7: Korrelation Steroidhormonbestimmung im venösen und kapillären Blut

4.4.2 Steroidhormonprofil aus dem Trockenblut vor und während des Metapyrontests

Im Steroidhormonprofil vor dem Metapyrontest liegt nur Cortisol in relevanten Konzentrationen vor. Wird die Cortisolsynthese gehemmt, kommt es zu einem Konzentrationsanstieg aller Synthesevorstufen. Besonders stark steigen die Konzentrationen der direkten Substrate des gehemmten Enzyms 11β-Hydroxylase an: 11-Deoxycortisosteron und 11-Deoxycortisol.

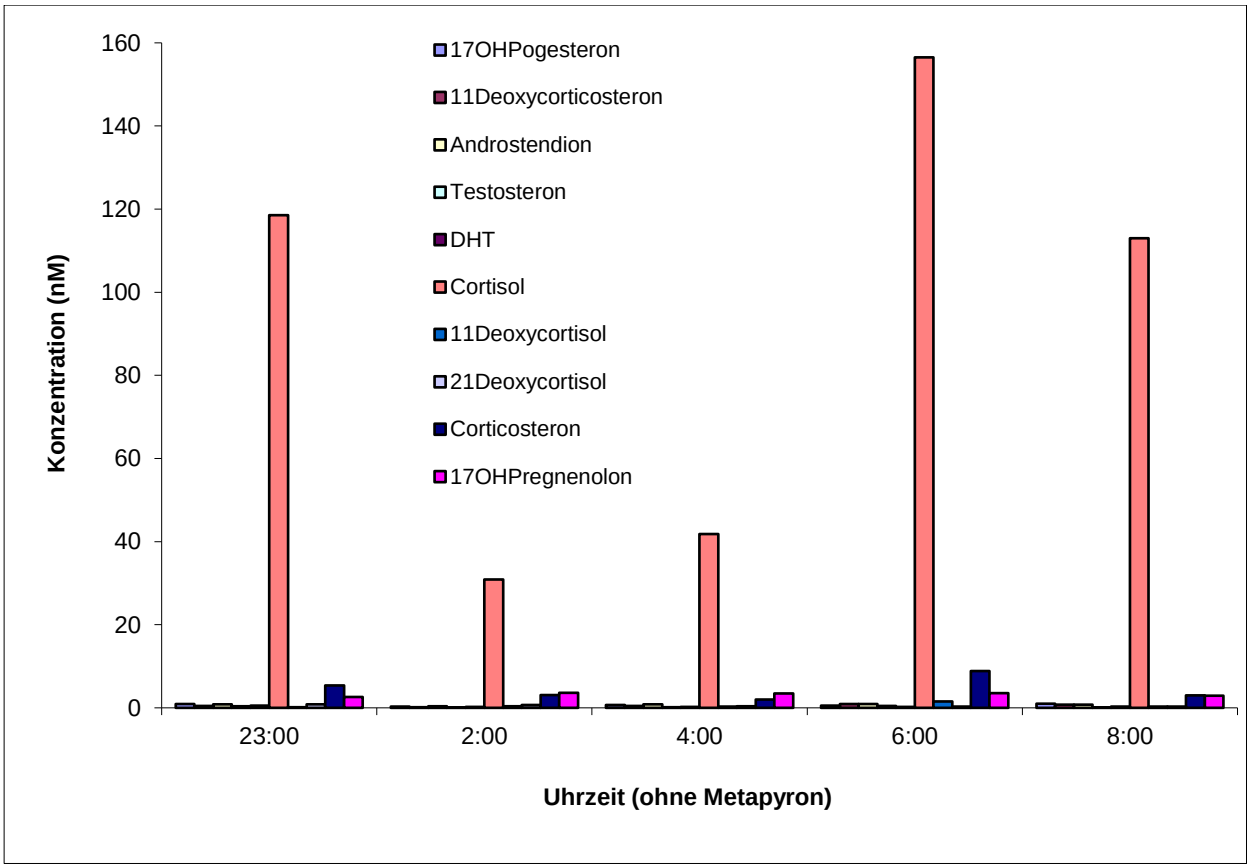

Abbildung 8: Nächtliches Multisteroidprofil eines Patienten ohne vorherige Metapyrongabe

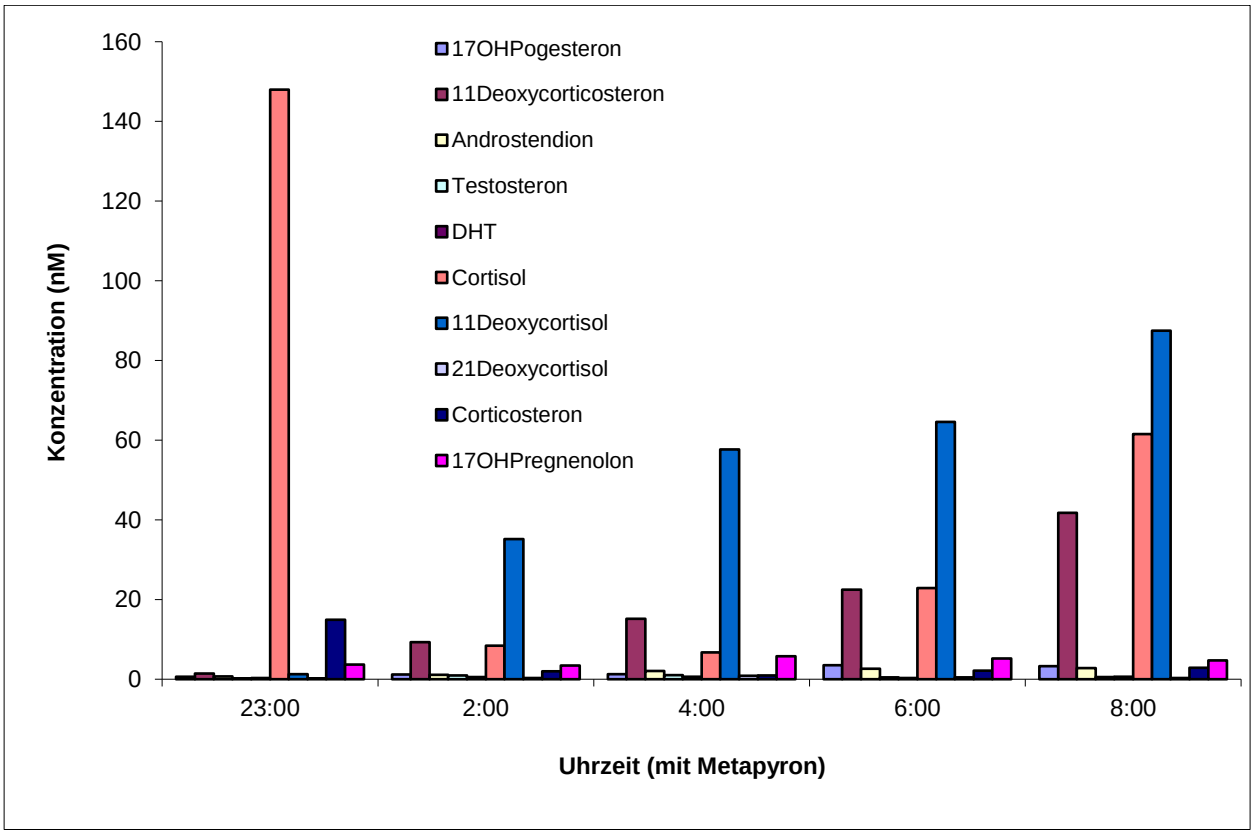

Abbildung 9: Nächtliches Multisteroidprofil eines Patienten nach Metapyrongabe

In den folgenden Grafiken sind die Konzentrationsveränderungen von Cortisol, 11-Deoxycorticosteron und 11-Deoxycortisol im Verlauf der Nacht ohne vorherige Metapyrongabe und nach vorheriger Metapyrongabe dargestellt. Die Werte der männlichen Patienten werden dabei als blaue Linien dargestellt, die der weibliche Patienten werden rot dargestellt.

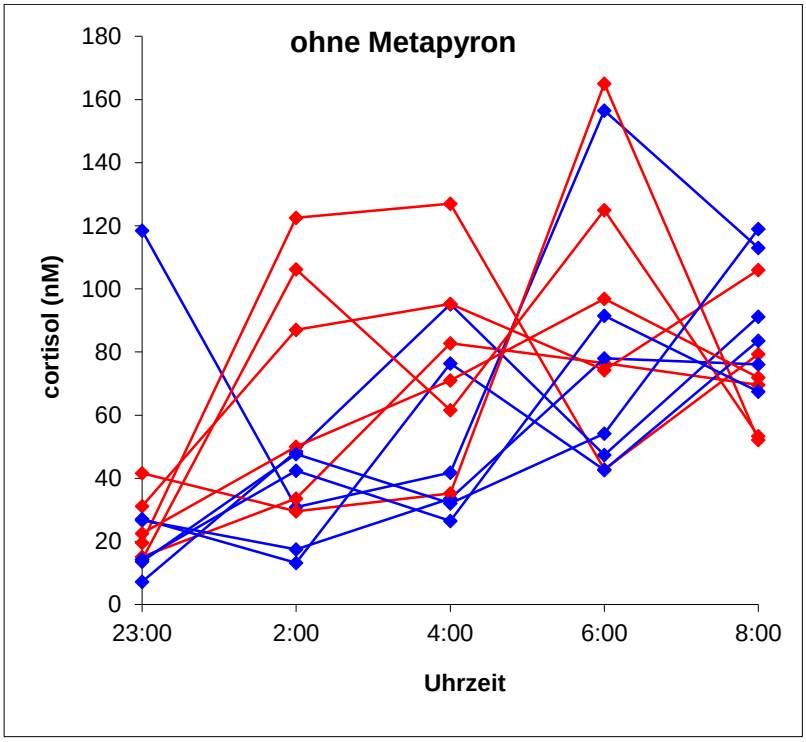

Abbildung 10: Nächtliches Cortisol-Profil aller Patienten ohne Metapyrongabe

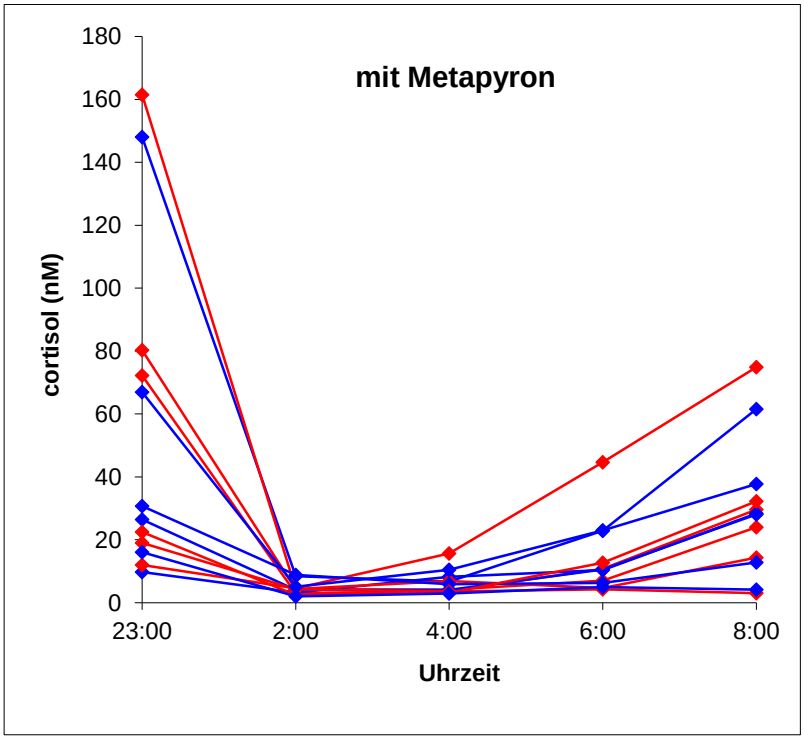

Abbildung 11: Nächtliches Cortisol-Profil aller Patienten nach Metapyrongabe

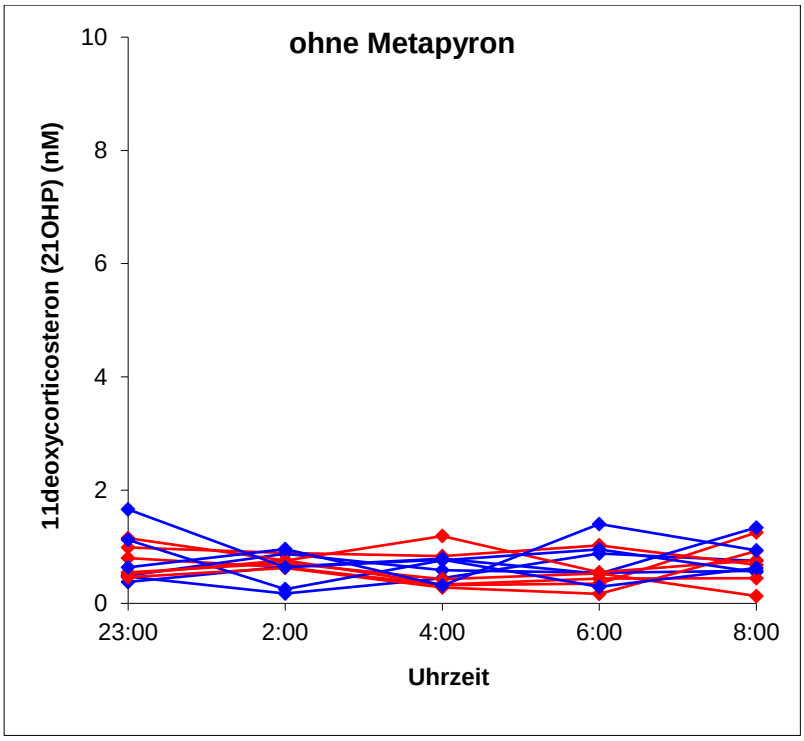

Abbildung 12: Nächtliches 11-Deoxycorticosteron-Profil aller Patienten ohne Metapyrongabe

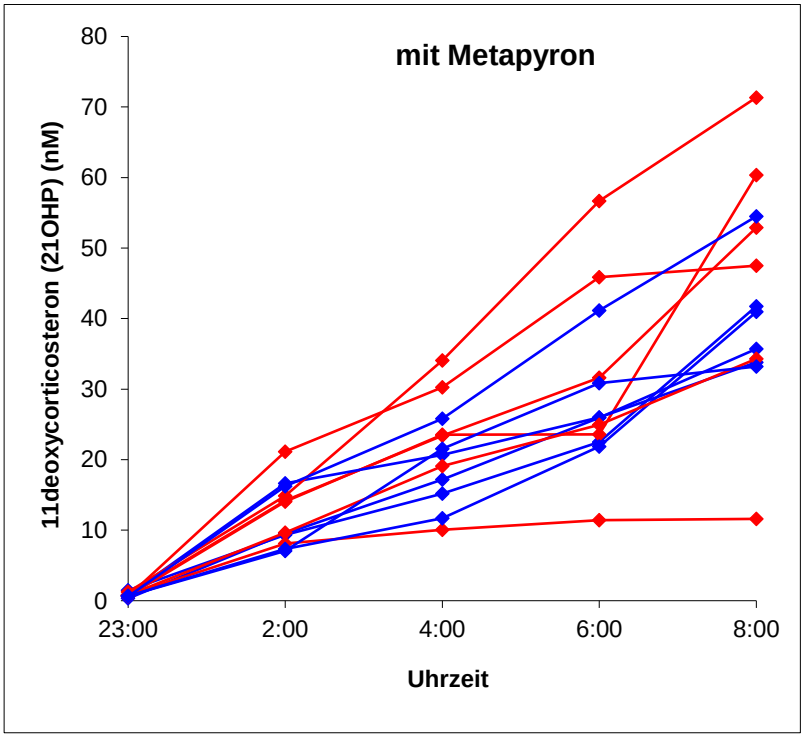

Abbildung 13: Nächtliches 11-Deoxycorticosteron-Profil aller Patienten nach Metapyrongabe

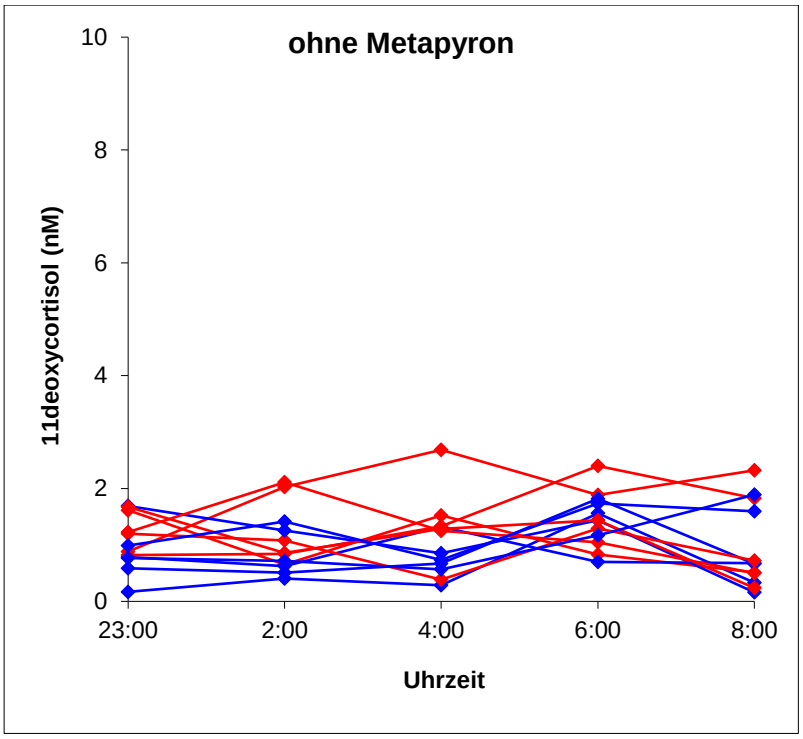

Abbildung 14: Nächtliches 11-Deoxycortisol-Profil aller Patienten ohne Metapyrongabe

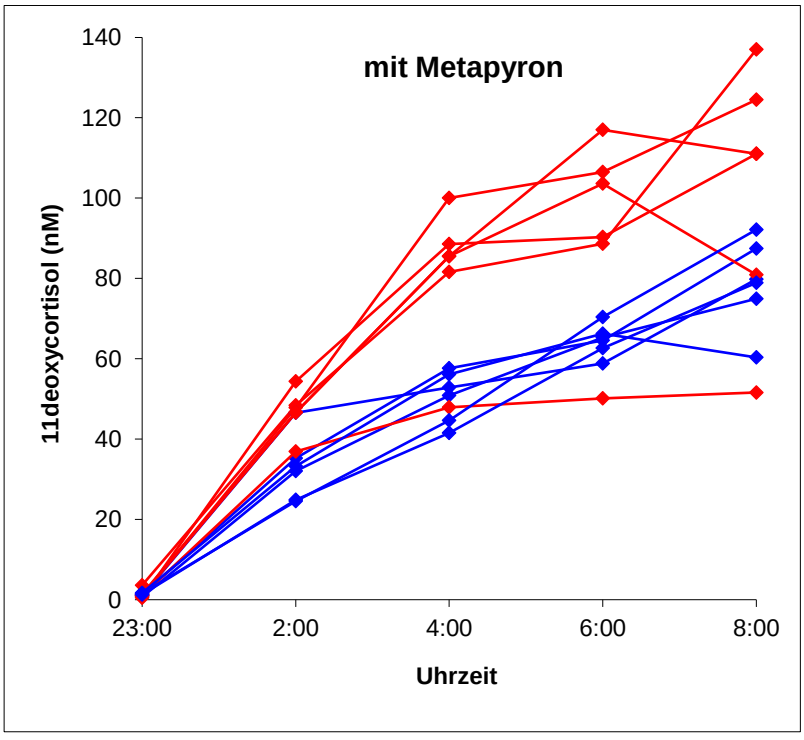

Abbildung 15: Nächtliches 11-Deoxycortisol-Profil aller Patienten nach Metapyrongabe

4.4.3 Steroidhormonlevel um 8:00 Uhr morgens

Die Steroidhormonanalyse wurde bei insgesamt 13 Patienten um 08:00 Uhr morgens durchgeführt. Es ergeben sich signifikante Unterschiede in den Steroihormonleveln der unterschiedlichen Altersgruppen bei Corticosteron (p=0,05) und Cortisol (p=0,05).

Tabelle 5: Steroidhormonlevel der verschiedenen Altersgruppen

	Alter	**Altersgruppen**		**p-Wert***	**Insgesamt**		
	(Jahre)	N	Median		**Median**	**Min**	**Max**
17OH-Preg	1-6 7-12 13-15	3 8 2	9,30 9,10 13,85	0,135	9,60	2,9	17,8
17-OHP	1-6 7-12 13-15	3 8 2	1,00 0,80 0,60	0,072	0,80	0,3	2,1
DOC	1-6 7-12 13-15	3 8 2	0,70 0,80 0,60	0,424	0,70	0,1	1,3
Corticosteron	1-6 7-12 13-15	3 8 2	2,40 1,30 2,60	**0,050**	1,60	0,6	4,2
11-Deoxycortisol	1-6 7-12 13-15	3 8 2	1,60 0,70 0,45	0,519	0,70	0,2	2,3
21-Deoxycortisol	1-6 7-12 13-15	3 8 2	0,70 0,70 1,15	0,424	0,70	0,3	1,6
Cortisol	1-6 7-12 13-15	3 8 2	113,00 72,00 87,40	**0,050**	77,70	52,2	119,0

Alle Konzentrationsangaben in nmol/l im Vollblut.
*Signifikanz bei Altersunterschieden?

Da für die analysierten Multisteroide in unserem Labor bislang keine Referenzwerte für Kinder existieren, wurden zum Vergleich verschiedene Veröffentlichungen herbei gezogen. Dafür mussten um eine Vergleichbarkeit herzustellen, die Vollblutkonzentrationen der Hormone, die wir bestimmt haben in Plasmakonzentrationen umgerechnet werden. Dies erfolgte mit dem Umrechnungsfaktor 1/(1-Hkt) mit dem jeweiligen Hämatokritwert des Kindes. Zudem wurde die Konzentrationsangabe von nmol/l in ng/ml mit dem jeweiligen Steroidhormon zugehörigem Umrechnungsfaktor umgerechnet.
Für 17-OHP, 11-Deoxycorticosteron, Cortisol, 11-Deoxycortisol, 21-Deoxycortisol und Corticosteron wurden die Referenzwerte aus “Implementation of a Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Assay for Eight Adrenal C-21 Steroids and Pediatric Reference Data” von Alexandra E. Culle et al.[108] verwendet, für 17-OH-Pregnenolon die Referenzwerte aus “Development and Performance Evaluation of a Tandem Mass Spectrometry Assay for 4

Adrenal Steroids“ von Mark M. Kushnir et al.[109], und zwar zum einen bezogen auf die verschiedenen Altersgruppen und zum anderen bezogen auf die verschiedenen Tanner-Stadien. Im angegebenen Referenzbereich liegen jeweils 95% der in beiden Veröffentlichungen erhobenen Werte.

Keiner der von uns erhobenen Werte liegt unterhalb des Referenzbereichs.

Für 17-OH-Pregnenolon liegen bei 11 von 13 Kindern (84,6%) die Werten deutlich oberhalb des Referenzbereichs und zwar sowohl in der jeweiligen Altersgruppe, als auch bezogen auf das jeweilige Tanner Stadium.

3 von 13 Kindern (23,1%) hatten leicht erhöhte 21-Deoxycortisolwerte.

Tabelle 6: Steroidhormonlevel bezogen auf den Referenzbereich nach Alter

	Alter	**Altersgruppen**		**Vergleichsgruppe***		**Insgesamt**			**Außerhalb des Referenzbereichs**	
	(Jahre)	N	Median	Median	**Referenzbereich (2,5%- 97,5%)**	**Median**	**Min**	**Max**	**unterhalb**	**oberhalb**
17OH-Preg	1-6 7-12 13-15	3 8 2	4,958 5,013 7,643		<2,35 < 3,87 0,25 – 4,78	5,327	1,5 3,57 5,64	6,56 7,93 9,64		2 7 2
17-OHP	1-6 7-12 13-15	3 8 2	0,516 0,441 0,332	0,20 0,25 0,30	0,06 – 0,58 0,06 – 0,84 0,06 – 1,06	0,434	0,43 0,16 0,28	1,12 0,83 0,38	0	1
DOC	1-6 7-12 13-15	3 8 2	0,362 0,441 0,334	0,1 0,09 0,09	0,06 – 0,56 0,06 – 0,60 0,06 – 0,30	0,374	0,32 0,06 0,33	0,48 0,75 0,34	0	 2
Corticosteron	1-6 7-12 13-15	3 8 2	1,339 0,781 1,525	0,61 0,62 0,66	0,09 – 4,11 0,09 – 4,14 0,09 – 3,38	0,905	0,33 0,35 1,02	1,62 2,42 2,03	0	0
11-Deoxycortisol	1-6 7-12 13-15	3 8 2	0,893 0,404 0,258	0,30 0,20 0,21	0,09 – 1,25 0,09 – 1,18 0,09 – 0,97	0,400	0,16 0,11 0,12	1,06 1,33 0,4	0	 1
21-Deoxycortisol	1-6 7-12 13-15	3 8 2	0,391 0,404 0,676	0,08 0,05 0,06	0,04 – 0,60 0,04 – 0,57 0,04 – 0,50	0,400	0,16 0,18 0,4	0,67 0,92 0,95	0	1 1 1
Cortisol	1-6 7-12 13-15	3 8 2	63,969 44,239 53,194	53,25 59,88 63,57	10,72 – 171,21 19,42 – 158,56 23,47 – 187,46	47,307	39,44 30,02 52,22	69,54 64,01 54,17	0	0

alle Konzentrationsangaben **in ng/ml im Plasma**

*17-OH-Preg Referenz Werte aus Kushnir et al.: Development and Performance Evaluation of a Tandem Mass Spectrometry Assay for 4 Adrenal Steroids[109] , restliche Referenzwerte aus Kulle et al.: Implementation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for eight adrenal C-21 steroids and pediatric reference data[108]

Tabelle 7: 17-OH-Pregnenolon-Level bezogen auf den Referenzbereich nach Tanner-Stadium

	Tanner-P			Vergleichsgruppe*		Insgesamt			Außerhalb des Referenzbereichs	
		N	Median	Median	**Referenzbereich (2,5%- 97,5%)**	**Median**	**Min**	**Max**	**unterhalb**	**oberhalb**
17OH-Preg*	I II III IV	3 3 5 1	3,567 7,226 5,013 5,64		<2,35 <3,67 <4,5 0,35 – 4,78	5,327	1,5 6,56 4,52	4,96 7,93 9,64		2 3 5 1

alle Konzentrationsangaben **in ng/ml im Plasma**
*17-OH-Preg Referenz Werte aus Kushnir et al.: Development and Performance Evaluation of a Tandem Mass Spectrometry Assay for 4 Adrenal Steroids[109]

Für die Analyse von Androstendion, Dihydrotestosteron und Testosteron musste ein Junge auf Grund einer Hormonsubstitutionstherapie mit Testoteron-Pflaster ausgeschlossen werden, so dass die Werte von 6 Mädchen und 6 Jungen mit Prader-Willi-Syndrom ausgewertet werden konnten.

Referenzwerte für Androstendion, Testosteron und Dihydrotestosteron wurden aus „A Novel Ultrapressure Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Determination of Androstendione, Testosterone, and Dihydrotestosterone in Pediatric Blood Samples: Age- and Sex-Specific Reference Data" von A.E. Kulle et al.[110] entnommen. In dieser Veröffentlichung wurde statt des 95%-Referenzintervalls die gesamte Spannweite der Werte angegeben. Die Werte wurden für Mädchen und Jungen getrennt ausgewertet. Auffällig ist hier, dass alle Mädchen unserer Gruppe deutlich erhöhte Dihydrotestosteron-Werte haben, und zwar sowohl auf das Alter, als auch auf das Tanner-Stadium bezogen. Auch die Jungen haben größtenteils sowohl auf ihr Alter (4 von 6 = 66,7%), als auch auf ihr Tanner-Stadium (5 von 6 = 83,3%) bezogen, erhöhte Dihydrotestosteron-Werte.

Tabelle 8: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Mädchen nach Alter

	Alter	Weiblich		Vergleichsgurppe*		Außerhalb des Referenzbereichs	
	(Jahre)	N	Median	Median	Range	**unterhalb**	**oberhalb**
Androstendion	1-6 7-12 13-15	0 6 0	2,136	0,65-1,43	0,1-3,6		
Testosteron	1-6 7-12 13-15	0 6 0	0,739	0,19-0,54	0,1-1,5		2
DHT	1-6 7-12 13-15	0 6 0	3,417	0,1	0,1-0,8		6 (2,5-6,84)

Tabelle 9: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Jungen nach Alter

	Alter	**Männlich**		**Vergleichsgurppe***		**Außerhalb des Referenzbereichs**	
	(Jahre)	N	Median	Median	Range	**unterhalb**	**oberhalb**
Androstendion	1-6 7-12 13-15	3 1 2	1,094 2,373 2,9	0,1-0,52 0,4-0,9 1,75	0,1-1,5 0,1-2,5 0,1-6,7		
Testosteron	1-6 7-12 13-15	3 1 2	0,968 1,017 5,397	0,4 0,24-0,75 7,84	0,1-0,9 0,1-5,6 0,1-17,6		2 (0,968;1,129)
DHT	1-6 7-12 13-15	3 1 2	3,871 4,068 2,704	0,1 0,15-0,25 0,96	0,1-1,3 0,1-1,9 0,1-3,2		2 (3,871) 1 1 (3,276)

alle Konzentrationsangaben **in nmol/l im Plasma**

* Referenzwerte aus Kulle et al.: A novel ultrapressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of androstenedione, testosterone, and dihydrotestosterone in pediatric blood samples: age- and sex-specific reference data[110]

Tabelle 10: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Mädchen nach Tanner-Stadium

	Tanner-Stadium	**Weiblich**		**Vergleichsgurppe***		**Außerhalb des Referenzbereichs**	
		N	Median	Median	Range	**unterhalb**	**oberhalb**
Androstendion	P1 P2 P3 P4	1 1 4 0	0,635 3,167 2,136	0,66-0,75 1,43 2,12	0,1-2,7 0,3-3,4 0,5-3,4		
Testosteron	P1 P2 P3 P4	1 1 4 0	0,476 0,833 1,156	0,24-0,25 0,39 0,6	0,1-1,5 0,1-1,7 0,3-1,3		2(1,67)
DHT	P1 P2 P3 P4	1 1 4 0	2,857 3,167 4,495	0,1 0,2 0,22	0,1-1,0 0,1-0,5 0,1-0,8		1 1 4(2,5;6,84;5,32;3,67)

Tabelle 11: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Jungen nach Tanner-Stadium

	Tanner-Stadium	Männlich		Vergleichsgurppe*		Außerhalb des Referenzbereichs	
		N	Median	Median	Range	unterhalb	oberhalb
Androstendion	P1 P2 P3 P4	2 2 1 1	0,869 1,832 1,311 4,483	0,35-0,9 0,9 1,5 2,0	0,1-1,8 0,1-2,5 0,6-3,3 0,1-4,1		
Testosteron	P1 P2 P3 P4	2 2 1 1	0,643 0,992 1,311 9,483	0,28-2,5 3,1 6,75 10	0,1-2,4 0,3-13,3 1,2-14,2 1-15,8		
DHT	P1 P2 P3 P4	2 2 1 1	2,17 3,969 2,131 3,276	0,1-0,3 0,4 0,6 0,95	0,1-1,3 0,1-1,8 0,1-1,9 0,1-1,8		1 (3,87) 2 (4,07;3,87) 1 1

alle Konzentrationsangaben **in nmol/l im Plasma**
* Referenzwerte aus Kulle et al.: A novel ultrapressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of androstenedione, testosterone, and dihydrotestosterone in pediatric blood samples: age- and sex-specific reference data[110]

4.4.4 Enzymaktivitäten

Bezieht man die verschiedenen Synthesestufen der Steroidhormone aufeinander, erhält man einen Hinweis auf die Enzymaktivität des Enzyms, das die Umwandlung katalysiert.
Dabei stellt der Quotient aus 17-OH-Pregnenolon und 17-OH-Progesteron sowie 17-OH-Pregnenolon und Cortisol ein Maß für die Aktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase dar. Der Quotient aus 17-OH-Progesteron und 11-Deoxycortisol stellt ein Maß für die 21-Hydroxylase dar. Einen Hinweis auf die Aktivität der 11ß-Hydroxylase gibt der Quotient aus 11-Deoxycortisol und Cortisol, ebenso wie der Quotient aus 11-Deoxycorticosteron und Corticosteron. Der Quotient aus Androstendion und Testosteron gibt einen Hinweis auf die Aktivität der 17ß-Hydroxysteroiddehydrogenase.

Tabelle 12: Relationen der Steroidhormone

Verhältnisse	17-OH-Preg/17-OHP	17-OH-Preg/Cortisol(µmol/l)	17-OHP/11-Deoxycortisol	11-Deoxycortisol/Cortisol	11-Deoxycorticosteron/Corticosteron	Androstendion/Testosteron
	2,90	25,66	3,33	,00	,23	7,00
	10,25	103,40	,35	,03	1,17	1,20
	38,33	165,23	,60	,01	1,00	4,00
	16,13	169,51	1,14	,01	1,30	2,33
	25,43	195,18	1,00	,01	,33	1,00
	22,67	130,27	,17	,03	1,29	1,33
	9,60	135,85	2,14	,01	,19	3,80
	19,80	118,42	2,50	,00	,18	,47
	5,73	161,05	7,50	,00	,29	3,75
	13,00	126,39	1,40	,01	,03	1,30
	15,38	182,22	,42	,03	1,00	1,33
	4,43	78,15	1,31	,01	,38	,57
Median	14,186	133,059	1,228	0,007	0,354	1,333

5. Diskussion

5.1. Cotisol-Tagesprofil aus dem Speichel

Obwohl 8 von 11 Kindern eine erkennbare Tagesrhythmik der Cortisol-Ausschüttung zeigen, haben doch insgesamt 7 von 11 Kindern einen zu hohen Cortisol-Spiegel nachts. Dies ist wahrscheinlich vor allem den Umständen der Probenentnahme geschuldet. Die Kinder befanden sich zum Zeitpunkt der Probensammlung stationär im Krankenhaus, also in einer für sie fremden Umgebung. Dies kann eine erhöhte Cortisol-Ausschüttung erklären. Für die nächtliche Probe wurden die Kinder um 23:00 Uhr geweckt und sollten den Watteträger kauen. Auch dies kann die zu hohen nächtlichen Cortisol-Werte erklären.[111,112] Gerade Kinder mit Prader-Willi-Syndrom haben Schwierigkeiten von der gewohnten täglichen Routine abzuweichen.[1]
Andererseits wird eine Störung der circadianen Rhythmik durch eine hypothalamische Funktionsstörung bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom vermutet. Die zu hohen nächtlichen Cortisol-Spiegel können auch Ausdruck dieser Funktionsstörung sein.
Ein Gen, das in Prader-Willi-Syndrom inaktiviert ist, ist *Magel2*. Dieses wird normalerweise im Hypothalamus exprimiert. Im Mausmodell zeigen Mäuse mit *Magel2*-Inaktivierung Adipositas mit erhöhter Fett- und reduzierter Muskelmasse, Störungen der Hormonregulation durch den Hypothalamus, sowie eine Störung der circadianen Rhythmik.[113]

5.2. Metapyron-Test und Nebennierenrindeninsuffizienz

Ganz allgemein ergeben sich bei der Diagnose einer Nebennierenrindeninsuffizienz durch einen postiven Metapyron-Test mehrere Probleme. Zum einen gilt er zwar als einer der sensitivsten Tests zur Überprüfung einer zentralen oder peripheren Nebennierenrindeninsuffizienz[85], jedoch wurden die Referenzwerte für die stimulierte ACTH-Antwort und das 11-Deoxycortisol bei Erwachsenen ermittelt und es ist nicht auszuschließen, dass dieser Test deshalb zu falsch positiven Ergebnissen bei Kindern führt. Zudem wird der Test als positiv gewertet, wenn eine unzureichende ACTH-Antwort auf die Hemmung der Cortisol-Synthese vorliegt. Ist gleichzeitig der 11-Deoxycortisol-Wert niedrig, geht man von einer schon vorliegenden Nebennierenrindenatrophie aus. Ein niedriger 11-Deoxycortisol-Wert könnte aber auch ein Hinweis auf eine unzureichende Hemmung der 11β-Hydroxylase sein. Deswegen ist es sinnvoll ACTH- und 11-Deoxycortisol-Spiegel beim Metapyron-Test nur in Verbindung mit dem Cortisol-Spiegel zu bewerten, was in den bislang vorliegenden Studien nicht geschehen ist[95,96], jedoch in dieser Publikation erfolgt ist. Ist der Cortisol-Spiegel morgens bereits im (unteren)

Normbereich, liegt die Vermutung nahe, dass die Cortisol-Synthese durch das Metapyron nicht ausreichend geblockt wurde und es deswegen zu keinem ausreichenden ACTH- und 11-Deoxycortisol-Anstieg gekommen ist.
Zudem ist ACTH, dessen Konzentration als Diagnosekriterium im Metapyron-Test verwendet wird, ein Peptidhormon, das, wenn die Probe nicht zügig gekühlt und verarbeitet wird, abgebaut wird. Dadurch könnten sich falsch niedrige Konzentrationen ergeben.
Auch die Durchführung des Metapyron-Tests stellt sich als nicht unproblematisch dar.
Während des Metapyron-Test muss eine kontinuierliche nächtliche Kreislauf-Überwachung mit Puls, Sauerstoffsättigung, Atemfrequenz und Blutdruck auf Grund der Gefahr einer Addison-Krise erfolgen. Zudem besteht die Gefahr einer Hypoglykämie, so dass regelmäßige Blutzuckerkontrollen erfolgen sollten.
Wir erhielten das Metapyron in 250 mg Kapseln, deren Inhalt extrem bitter schmeckt. Gewichtsadaptiert mussten die Kinder zwischen 3 und 8 Kapseln schlucken. Allein aufgrund der Größe der Kapseln fiel es vielen Kindern schwer diese im Ganzen zu schlucken. Ein Mädchen zerbaß versehentlich eine Kapsel, deren Inhalt so bitter schmeckte, dass sie sich übergeben musste und sich weigerte, nochmal eine Kapsel zu schlucken, so dass der Metapyron-Test nicht durchgeführt werden konnte.
Dies alles macht den Metapyron-Test zu einem aufwändigen Test, der sich auf einer Normalstation nur schwer in den klinischen Alltag integrieren lässt und auch für die Patienten einige Risiken und Unannehmlichkeiten birgt.

Tabelle 13: Vergleich vorhergehender Studien mit den Ergebnissen dieser Arbeit bzgl. der (partiellen) Nebennierenrindeninsuffizienz

	High Prevalence of Central Adrenal Insufficiency in Patients with Prader-Willi Syndrome de Lind van Wijngaarden RF et al. 2008	**Normal Cortisol Response to High-Dose Synacthen and Insulin Tolerance Test in Children and Adults with Prader-Willi Syndrome** Farholt S et al. 2011	**Normal Cortisol Response on Low-Dose Synacthen (1µg) Test in Children with Prader Willi Sydrome** Nyunt O et al. 2010	**Pädiatrische Endokrinologie Charité Berlin**
Test	- **Metapyron-Test** - Cortisol im Speichel beim Aufwachen, 30 min danach, 14.00 Uhr, 20.00 Uhr	- **High dose Synacthen test** **- ITT** - Cortisol Werte bei akuter Krankheit	- **Low dose Synacthen test** **-** morgendliche ACTH- und Cortisol-Plasma-Spiegel	**- Metapyron-Test** - Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel
Patienten-anzahl	**25**	**65:** 57 HDST, 8 ITT, 4 s-cortisol-Wert	**41**	**11**
Alter	6,8-13,6 Jahre (Median: 9,7)	HDST: 0,5-48 Jahre (MD: 22), ITT: 16-36 Jahre (MD: 26), s-Cortisol: 0,7-4 Jahre	Median: 7,68(+/-5,23) Jahre	MW: 10,2 (±3,9) Jahre
Ergebnis	- 15 Pat.: nicht ausreichender ACTH-Anstieg (<33pmol/l) - 7 von 11 Pat. mit nicht genügend ACTH: nicht ausreichender 11-Deoxycortisol-Anstieg (<200nmol/l) - Tagesprofil Cortisol im Speichel normal bei allen Patienten	- HDST: alle normal (s-cortisol >500nmol/l o. Anstieg größer als 250nmol/l) (3 Pat. in nur einem Kriterium) - ITT: alle normal (s.o.) - Cortisol bei akuter Krankheit: 680-1372 nmol/l	- LDST: alle normal (cortisol >500nmol/l) - morgendliche ACTH-Spiegel 15(+/-14) ng/l (Referenzwert 9-50) - morgendliche Cortisol-Spiegel 223(+/-116) nmol/l (Referenzwert 150-700)	- 1 Pat. ACTH-Wert 142 pg/ml (cut-off 150 pg/ml) um 08:00 Uhr, bei allerdings schon normalem Cortisol-Wert - 8 von 11 Kindern erkennbare circadiane Rhythmik, 7 von 11 Kindern jedoch zu hohe nächtliche Cortisolspiegel

In unserer Kohorte von Kindern mit Prader-Willi-Syndrom hatte keines der 11 Kinder, bei denen der Metapyron-Test durchgeführt wurde, eine Nebennierenrindeninsuffizienz. Ein Kind hatte einen ACTH-Wert von 142 pg/ml, was knapp unter dem Cut-off-Wert von 150 pg/ml liegt, jedoch schon einen niedrig normalen Cortisol-Wert, so dass wir von einer unzureichenden Hemmung der 11ß-Hydroxylase ausgehen.

In der Zwischenzeit gab es auch andere Veröffentlichungen, in denen mittels niedrig und hoch dosiertem ACTH-Test[100,114] auch keine Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom festgestellt werden konnte. Bei diesen Ergebnissen stellte sich die Frage, ob dies an der unterschiedlichen Art der Testung liegt. Jedoch passen unsere Ergebnisse trotz der gleichen Methode wie bei De Lind van Wijngaarden et al[95], nämlich der Testung mittels Metapyron-Test, nun auch besser zu den Testergebnissen der Gruppen, die den ACTH-Test durchgeführt haben.

In der Studie von De Lind van Wijngaarden et al. 2008 hatten zwar 60% (15 von 25) der Kinder bei dem Metapyron-Test eine ACTH-Konzentration am nächsten Morgen, die unter dem Cut-Off-Wert von 33 pmol/l bzw. 150 pg/ml lag, jedoch hatten auch 7 von 11 Kindern mit zu niedrigem ACTH-Anstieg einen 11-Deoxycortisol-Anstieg unter 200 nmol/l, was ein Hinweis auf eine unzureichende Blockade der Cortisol-Synthese durch das Metapyron sein könnte, insbesondere da diese Kinder morgens höhere Cortisol-Werte aufwiesen, als die, deren ACTH-Wert morgens über dem Cut-off-Wert lag. Eine Nebennierenrindenatrophie erscheint zudem bei normalem Cortisol-Tagesprofil im Speichel unwahrscheinlich.[115]

Eine andere Frage ergibt sich in der Studie von De Lind van Wijngaarden et al. 2008 dadurch, dass zunächst bei 15 von 25 Kindern ein nicht ausreichender ACTH-Wert nach Metapyron-Gabe beschrieben wird, und dann bei 7 von 11 Kindern mit nicht ausreichendem ACTH-Wert auch niedrige 11-Deoxycortisol-Werte beschrieben werden. Dabei fehlen 4 Kinder in der Angabe mit zu niedrigem ACTH-Wert nach Metapyron-Testung.

Angesichts der beschriebenen Probleme des Metapyron-Tests sollte eine Diagnostik einer Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom nur bei klinischem Verdacht auf eine Nebennierenrindeninsuffizienz durchgeführt werden.

Der ACTH-Test scheint zur Diagnostik einer partiellen Nebennierenrindeninsuffizienz nicht geeignet. Dieser ist generell zwar unkomplizierter durchführbar, und dies insbesondere bei Kindern, da diese dabei keine Tabletten schlucken müssen. Jedoch kann mittels ACTH-Test eine „partielle“ zentrale Nebenniereninsuffizienz wahrscheinlich nicht detektiert werden, da es hier grundsätzlich eine ausreichende ACTH-Ausschüttung gibt, so dass es zu keiner

Nebennierenrindenatrophie kommt. Die ACTH-Ausschüttung wäre im Falle der partiellen Nebennierenrindeninsuffizienz nur bei gesteigertem Bedarf relativ zu gering. Aufgrund der fehlenden Nebennierenrindenatrophie würde in diesem Fall im ACTH-Test eine normale Cortisol-Antwort zu Stande kommen, im Metapyron-Test jedoch eine nicht ausreichende ACTH-Ausschüttung auffallen.
Hierbei handelt es sich jedoch nur um theoretische Überlegungen, bislang wurde noch nicht gezeigt, dass ein positiver Metapyron-Test mit einer erhöhten Rate an akuter Nebennierenrindeninsuffizienz bei Stress oder einer erhöhten Mortalität einhergeht.
Es ergibt sich die Frage, wie mit einem auffälligem Testergebnis beim Metapyron-Test umgegangen werden soll, insbesondere bei der sogenannten „partiellen“ Nebennierenrindeninsuffizienz, bei der spontan abgenommene Cortisol-Werte im Normbereich liegen. Ist eine Cortisol-Substitution im Alltag notwendig? Oder nur bei Stress?
Bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom ergeben sich hieraus noch mehr Probleme. Sie haben häufig verminderte Krankheitszeichen, z.B. kein Fieber, so dass hier die Identifikation einer Stresssituation nochmals schwieriger ist. Zudem leiden viele Kinder mit Prader-Willi-Syndrom unter Übergewicht, das sich unter einer Substitutionstherapie mit Cortisol aggravieren könnte, was in die Risiko-Nutzen-Abwägung miteinbezogen werden sollte.
Da eine zentrale „partielle“ Nebennierenrindeninsuffizienz bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom jedoch in verschiedenen Veröffentlichungen nachgewiesen wurde, sollte bei schweren Erkrankungen und während Operationen bei Hypoglykämien und unerklärlichen arteriellen Hypotonien die Indikation für eine Steroidhormonsubstitution schnell und großzügig gestellt werden.

5.3. Prämature Adrenarche und Pubarche

Der bisherige Begriff der prämaturen Adrenarche, der bisher synonym zum Begriff der prämaturen Pubarche verwendet wurde, sollte neu definiert werden. Auch ohne das klinische Zeichen der Pubesbehaarung können erhöhte DHEAS-Serumwerte bezogen auf Geschlecht und Alter bei präpubertären Kindern gemessen werden. Treten diese mindestens 1 Jahr vor der definierten Altersgrenze für eine prämature Pubarche (also vor dem 7. Lebensjahr bei Mädchen, oder dem 8. Lebensjahr bei Jungen) auf, kann man unabhängig davon, ob es im weiteren Verlauf auch zu einer prämaturen Pubarche kommt, oder nicht, von einer prämaturen Adrenarche sprechen.

Definiert man eine prämaturen Adrenarche durch erhöhte DHEAS-Werten vor dem 8. bzw. 9. Lebensjahr, also auf den gleichen Altersgrenzwerten wie bei der prämaturen Pubarche, lässt sich eine prämature Pubarche anhand einer prämaturen Adrenarche schlechter voraussagen. Dies zeigt sich auch in unseren Daten, in denen zwar alle Kinder mit prämaturer Pubarche eine prämature Adrenarche haben, jedoch auch 50% der Kinder, die die Pubarche erst nach dem Altersgrenzwert von 8 bzw. 9 Jahren entwickeln definitionsgemäß eine prämature Adrenarche haben.
Setzt man die Altersgrenze für eine prämature Adrenarche auf 7 bzw. 8 Jahre, lässt sich die Entwicklung einer prämaturen Pubarche besser voraussagen.

5.4. Steroidhormonanalyse

In der Mulitsteroidhormonanalyse hatten 11 von 13 Kindern mit Prader-Willi-Syndrom, sowohl Jungen als auch Mädchen, bezogen auf ihr Alter, als auch bezogen auf ihr Tanner-Stadium erhöhte 17-OH-Pregnenolonwerte. Zudem hatten alle Mädchen und fast alle Jungen, bezogen auf ihr Alter und auf ihr Tanner-Stadium, erhöhte Dihydrotestosteron-Werte.

5.4.1 Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase

Die Relation von 17-OH-Pregnenolon zu 17-OH-Progesteron und die Relation von 17-OH-Pregnenolon zu Cortisol und damit die Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase wird hier mit den Daten aus „Refining Hormonal Diagnosis of Type II 3β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Deficiency in Patients with Premature Pubarche and Hirsutism Based on *HSD3B2* Genotyping“ von Livia M. Mermejo et al.[65] verglichen.
Dabei wurden in dieser Veröffentlichung drei verschieden Gruppen festgelegt: eine Kontrollgruppe von Kindern, die sich altersentsprechend im Tannerstadium P II-III befinden, eine Gruppe von Kindern im Tannerstadium P II-III bei prämaturer Pubarche und einer Gruppe von Kindern im Tannerstadium P II-III mit Mutationen im *HSD3B2*-Gen. Diese Gruppen haben sehr kleine Fallzahlen. Interessanterweise befinden sich die Quotienten von 17-OH-Preg/17-OHP und 17-OH-Preg/Cortisol(µmol/l) bei den Kindern mit Prader-Willi-Syndrom in unserer Untersuchung nahezu in dem Bereich, in dem auch die der Kinder mit Mutationen im Bereich des *HSD3B2*-Gens liegen.

Tabelle 14: Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase

Verhältnisse	**17-OH-Preg/17-OHP**	**17-OH-Preg/Cortisol(µmol/l)**
Median (n=12)	14,186 (2,90 – 38,33)	133,059 (25,66 – 195,18)
Median Tanner II-III (n=8)	14,186	163,139
Median Tanner II-III controls*(n=7)	2,9 ± 2,2	8,1 ± 6,0
Controls PP, Genotype normal*(n=6)	3,5 ± 7,0	30,5 ± 54,5
***3BHSD* genotype proven*(n=3)**	23 ± 16	192 ± 874,1

*Werte aus Mermejo et al.: Refining hormonal diagnosis of type II 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency in patients with premature pubarche and hirsutism based on *HSD3B2* genotyping[65], gelb markiert die Ergebnisse unserer Untersuchungen

Auch bei Kindern ohne Nachweis einer Mutation mit idiopathischer prämaturer Pubarche zeigten sich in dieser Publikation erhöhte Quotienten im Vergleich zu Kontrollen im Tanner-Stadium II - III, jedoch nicht so hoch wie in unserer Kohorte.[65] Auch absolut zeigten sich die 17-Hydroxypregnenolon-Werte unserer Prader-Willi-Kinder bezogen auf veröffentlichte Referenzwerte deutlich erhöht.

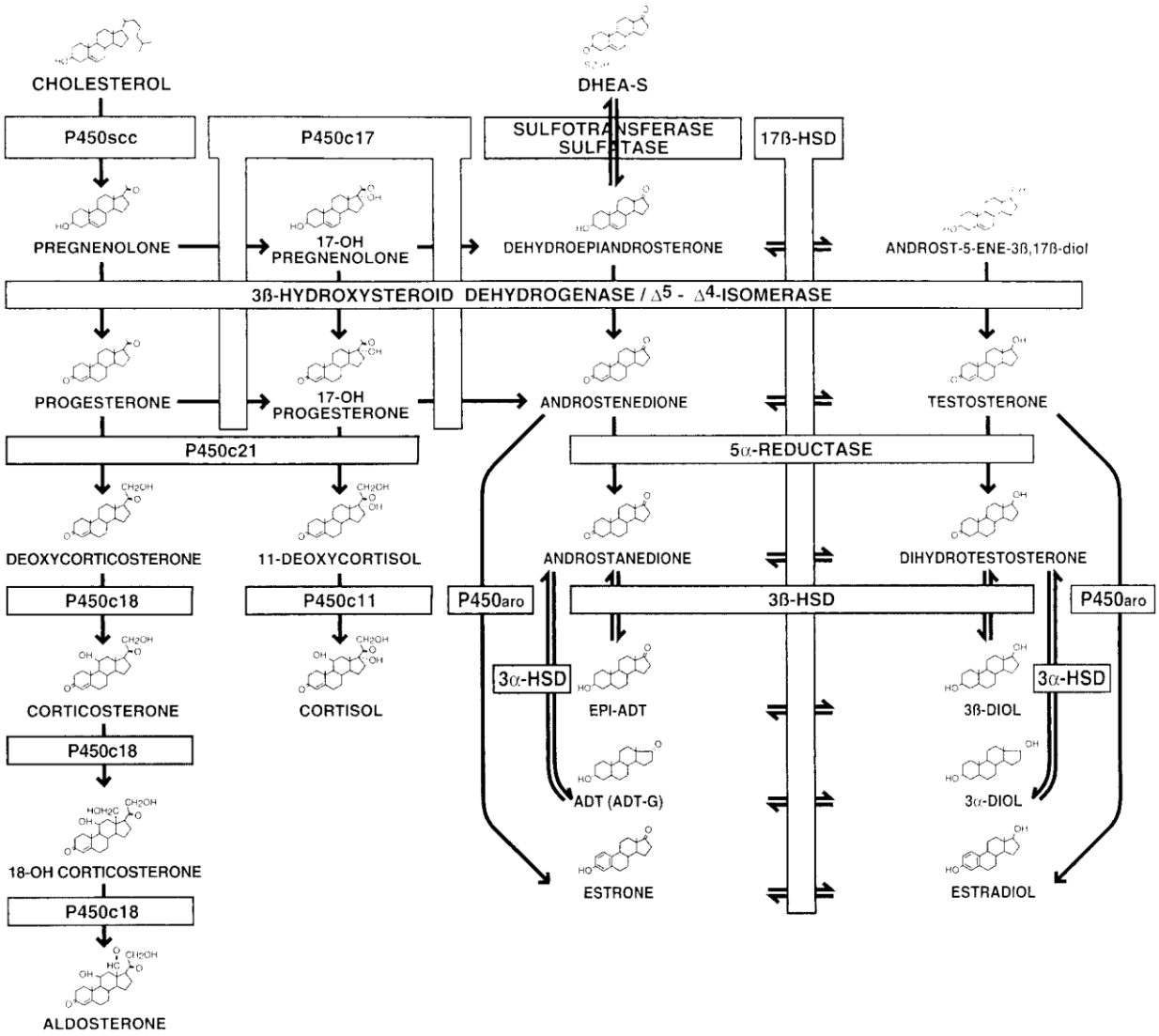

Abbildung 16: Steroidogenese (Grafik aus Simard et al.[116])

3ß-HSD= 3ß-Hydroxysteroid Dehydrogenase, P450c21= 21-Hydroxylase, P450c17= 17-Hydroxylase/ 17,20- Lyase, P450c11= 11-Hydroxylase, P450c18= Enzym, dass die 11-Hydroxylierung katalisiert und weitere Schritte der Aldsosteron-Synthese, 17-HSD= 17-Hydroxysteroid Dehydrogenase, P450aro= Aromatase

Bei genetischem 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase – Mangel handelt es sich eine sehr seltene autosomal-rezessive Form von kongenitaler adrenaler Hyperplasie, die verschieden stark ausgeprägt sein kann. Sowohl die adrenale als auch die gonadale Steroidogenese sind eingeschränkt. Verursacht wird die Erkrankung durch verschiedene homozygote oder compound-heterozygote Mutationen im Gen *HSD3B2*. In den am schwersten betroffenen Fällen tritt durch eine fehlende Synthese von Aldosteron ein Salzverlustsyndrom bei beiden

Geschlechtern auf, ähnlich wie beim 21-Hydroxylase-Mangel, zudem kommt es zu einer inkompletten Entwicklung des äußeren Genitals in genetisch männlichen Säuglingen.[116]
Bei der weniger ausgeprägten Form mit einer residualen Aktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase kommt es zu einer Prämaturen Pubarche, Hypogonadismus in beiden Geschlechtern und/ oder Hirsutismus und Zyklusstörungen bei Frauen.[65]
Prämature Pubarche und Hypogonadismus in beiden Geschlechtern ist auch ein häufig auftretendes Merkmal bei Prader-Willi-Syndrom.
Ein Verdacht auf einen genetischen 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase-Mangel kann durch eine hormonelle Diagnostik gestellt werden. Basales und ACTH-stimuliertes 17-OH-Pregnenolon sind deutlich erhöht, zudem sind die Relationen von 17-OH-Preg/17-OHP und 17-OH-Preg/Cortisol signifikant erhöht, vor und nach ACTH-Stimulation.[65]
Interessanterweise ergab sich in unseren Daten kein Zusammenhang zwischen prämaturer Pubarche oder Adrenarche bzw. Alter bei Pubarche und der errechneten Enzymaktivität. Dies spricht dafür, dass bei vielen Kindern mit Prader-Willi-Syndrom eine verminderte Aktivität der 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ II vorliegt, aber auch von anderen Faktoren abhängig ist, ob sich dies klinisch manifestiert.
In diesem Zusammenhang sicherlich auch interessant wäre eine zusätzliche Analyse von DHEA und Androstendion, um zu sehen, ob auch dieser Quotient erhöht ist, da auch die Umwandlung von DHEA in Androstendion von der 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ II katalysiert wird. Auch der Abbau von Dihydrotestosteron zu 3ß-Diol wird durch die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase katalisiert.[116] In unserer Mulitsteroidanalyse hatten fast alle Kinder mit Prader-Willi-Syndrom, sowohl Jungen als auch Mädchen, bezogen auf ihr Alter, als auch bezogen auf ihr Tanner-Stadium erhöhte Dihydrotestosteron-Werte, was ein weiterer Hinweis auf eine verminderte Aktivität der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase sein könnte.
Ob die erniedrigte Aktivität der 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ II bei Prader-Willi-Syndrom an einer „zu frühen" Herabregulation des Enzyms wie in der Adrenarche liegt, oder an einer verminderten Aktivität aufgrund eines Enzymdefekts, diese Frage bleibt offen. Ein direkter Defekt des Gens *HSD3B2,* das die 3ß-Hydroysteroiddehydrogenase Typ II verschlüsselt, erscheint unwahrscheinlich, da dieses beim Menschen auf Chromosom 1 liegt.[117] Durchaus denkbar wäre jedoch, dass ein Gen für einen Transkriptionsfaktor, der für die Transkription des Gens *HSD3B2* benötigt wird, auf Chromosom 15q 11.2 -13 liegt.
Eine Diagnostik mittels Bestimmung von basalem und ACTH-stimuliertem 17-OH-Pregnenolon bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom und Vergleich zu Werten bei genetischem 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase – Mangel wäre sicherlich aufschlussreich und würde die

Hypothese einer deutlich eingeschränkten Funktion der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom weiter untersuchen.

5.4.2 Steroidhormonananlyse aus dem Trockenblut

Letztendlich hat die vorliegende Studie nur eine sehr geringe Probenzahl, für Multisteroidlevel bei Kindern existiert bislang keine eigene Referenzdatenbank. Die Ergebnisse sollten anhand einer größeren Kohorte mit nach Möglichkeit eigenen Referenzwerten bestätigt werden.
Auch die Gleichwertigkeit einer Analyse aus dem Vollblut zu einer Analyse aus Plasma oder Serum sollte nochmals mit einer größeren Zahl an Werten bestätigt werden. Würde dies gelingen, wäre dies ein Fortschritt in der Analyse von Steroidhormonen. Bei Säuglingen und Kindern würde für eine genaue Analyse der Funktionalität der Nebennierenrinde ein kapillärer Tropfen Blut ausreichen.

6. Literaturverzeichnis

1. Cassidy SB, Schwartz S, Miller JL, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. Genet Med 2012;14(1):10-26.

2. Cassidy SB, Schwartz S. Prader-Willi and Angelman syndromes. Disorders of genomic imprinting. Medicine 1998;77:140-51.

3. Miller SP, Riley P, Shevell MI. The neonatal presentation of Prader-Willi syndrome revisited. The Journal of pediatrics 1999;134:226-8.

4. Akefeldt A, Tornhage CJ, Gillberg C. 'A woman with Prader-Willi syndrome gives birth to a healthy baby girl'. Developmental medicine and child neurology 1999;41:789-90.

5. Schulze A, Mogensen H, Hamborg-Petersen B, Graem N, Ostergaard JR, Brondum-Nielsen K. Fertility in Prader-Willi syndrome: a case report with Angelman syndrome in the offspring. Acta paediatrica 2001;90:455-9.

6. Siemensma EP, de Lind van Wijngaarden RF, Otten BJ, de Jong FH, Hokken-Koelega AC. Testicular Failure in Boys with Prader-Willi Syndrome: Longitudinal Studies of Reproductive Hormones. J Clin Endocrinol Metab 2012;97(3):E452-9.

7. Eldar-Geva T, Hirsch HJ, Benarroch F, Rubinstein O, Gross-Tsur V. Hypogonadism in females with Prader-Willi syndrome from infancy to adulthood: variable combinations of a primary gonadal defect and hypothalamic dysfunction. Eur J Endocrinol 2010;162:377-84.

8. Crino A, Schiaffini R, Ciampalini P, Spera S, Beccaria L, Benzi F, Bosio L, Corrias A, Gargantini L, Salvatoni A, Tonini G, Trifiro G, Livieri C, Genetic Obesity Study Group of Italian Society of Pediatric e, diabetology. Hypogonadism and pubertal development in Prader-Willi syndrome. European journal of pediatrics 2003;162:327-33.

9. Cassidy SB, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. Eur J Hum Genet 2009;17:3-13.

10. Hirsch HJ, Eldar-Geva T, Benarroch F, Rubinstein O, Gross-Tsur V. Primary testicular dysfunction is a major contributor to abnormal pubertal development in males with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:2262-8.

11. Eiholzer U, l'Allemand D, Rousson V, Schlumpf M, Gasser T, Girard J, Grüters A, Simoni M. Hypothalamic and gonadal components of hypogonadism in boys with Prader-Labhart- Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:892-8.

12. Eldar-Geva T, Hirsch HJ, Rabinowitz R, Benarroch F, Rubinstein O, Gross-Tsur V. Primary ovarian dysfunction contributes to the hypogonadism in women with Prader-Willi Syndrome. Horm Res 2009;72:153-9.

13. Butler MG, Theodoro MF, Bittel DC, Donnelly JE. Energy expenditure and physical activity in Prader-Willi syndrome: comparison with obese subjects. Am J Med Genet A 2007;143:449-59.
14. Goldstone AP, Holland AJ, Butler JV, Whittington JE. Appetite hormones and the transition to hyperphagia in children with Prader-Willi syndrome. International journal of obesity 2012;36:1564-70.
15. Miller JL, Lynn CH, Driscoll DC, Goldstone AP, Gold JA, Kimonis V, Dykens E, Butler MG, Shuster JJ, Driscoll DJ. Nutritional phases in Prader-Willi syndrome. Am J Med Genet A 2011;155A:1040-9.
16. Feigerlova E, Diene G, Conte-Auriol F, Molinas C, Gennero I, Salles JP, Arnaud C, Tauber M. Hyperghrelinemia precedes obesity in Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:2800-5.
17. Goldstone AP, Patterson M, Kalingag N, Ghatei MA, Brynes AE, Bloom SR, Grossman AB, Korbonits M. Fasting and postprandial hyperghrelinemia in Prader-Willi syndrome is partially explained by hypoinsulinemia, and is not due to peptide YY3-36 deficiency or seen in hypothalamic obesity due to craniopharyngioma. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:2681-90.
18. DelParigi A, Tschop M, Heiman ML, Salbe AD, Vozarova B, Sell SM, Bunt JC, Tataranni PA. High circulating ghrelin: a potential cause for hyperphagia and obesity in prader-willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:5461-4.
19. Cummings DE, Clement K, Purnell JQ, Vaisse C, Foster KE, Frayo RS, Schwartz MW, Basdevant A, Weigle DS. Elevated plasma ghrelin levels in Prader Willi syndrome. Nature medicine 2002;8:643-4.
20. Patterson M, Bloom SR, Gardiner JV. Ghrelin and appetite control in humans--potential application in the treatment of obesity. Peptides 2011;32:2290-4.
21. De Waele K, Ishkanian SL, Bogarin R, Miranda CA, Ghatei MA, Bloom SR, Pacaud D, Chanoine JP. Long-acting octreotide treatment causes a sustained decrease in ghrelin concentrations but does not affect weight, behaviour and appetite in subjects with Prader-Willi syndrome. Eur J Endocrinol 2008;159:381-8.
22. Haqq AM, Stadler DD, Rosenfeld RG, Pratt KL, Weigle DS, Frayo RS, LaFranchi SH, Cummings DE, Purnell JQ. Circulating ghrelin levels are suppressed by meals and octreotide therapy in children with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:3573-6.
23. Tan TM, Vanderpump M, Khoo B, Patterson M, Ghatei MA, Goldstone AP. Somatostatin infusion lowers plasma ghrelin without reducing appetite in adults with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:4162-5.

24. Kweh FA, Miller JL, Sulsona CR, Wasserfall C, Atkinson M, Shuster JJ, Goldstone AP, Driscoll DJ. Hyperghrelinemia in Prader-Willi syndrome begins in early infancy long before the onset of hyperphagia. Am J Med Genet A 2015;167A:69-79.
25. Burman P, Ritzen EM, Lindgren AC. Endocrine dysfunction in Prader-Willi syndrome: a review with special reference to GH. Endocrine reviews 2001;22:787-99.
26. Grugni G, Crino A, Pagani S, Meazza C, Buzi F, De Toni T, Gargantini L, Pilotta A, Pozzan GB, Radetti G, Ragusa L, Salvatoni A, Sartorio A, Bozzola M, Genetic Obesity Study Group ISoPE, Diabetology. Growth hormone secretory pattern in non-obese children and adolescents with Prader-Willi syndrome. Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM 2011;24:477-81.
27. Angulo M, Castro-Magana M, Mazur B, Canas JA, Vitollo PM, Sarrantonio M. Growth hormone secretion and effects of growth hormone therapy on growth velocity and weight gain in children with Prader-Willi syndrome. Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM 1996;9:393-400.
28. Aycan Z, Bas VN. Prader-Willi syndrome and growth hormone deficiency. Journal of clinical research in pediatric endocrinology 2014;6:62-7.
29. Wolfgram PM, Carrel AL, Allen DB. Long-term effects of recombinant human growth hormone therapy in children with Prader-Willi syndrome. Current opinion in pediatrics 2013;25:509-14.
30. Dykens EM, Cassidy SB, King BH. Maladaptive behavior differences in Prader-Willi syndrome due to paternal deletion versus maternal uniparental disomy. Am J Ment Retard 1999;104:67-77.
31. Miller JL, Goldstone AP, Couch JA, Shuster J, He G, Driscoll DJ, Liu Y, Schmalfuss IM. Pituitary abnormalities in Prader-Willi syndrome and early onset morbid obesity. Am J Med Genet A 2008;146A:570-7.
32. Diene G, Mimoun E, Feigerlova E, Caula S, Molinas C, Grandjean H, Tauber M, French Reference Centre for PWS. Endocrine disorders in children with Prader-Willi syndrome--data from 142 children of the French database. Hormone research in paediatrics 2010;74:121-8.
33. Festen DA, de Weerd AW, van den Bossche RA, Joosten K, Hoeve H, Hokken-Koelega AC. Sleep-related breathing disorders in prepubertal children with Prader-Willi syndrome and effects of growth hormone treatment. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:4911-5.
34. Priano L, Grugni G, Miscio G, Guastamacchia G, Toffolet L, Sartorio A, Mauro A. Sleep cycling alternating pattern (CAP) expression is associated with hypersomnia and GH secretory pattern in Prader-Willi syndrome. Sleep medicine 2006;7:627-33.

35. Stevenson DA, Anaya TM, Clayton-Smith J, Hall BD, Van Allen MI, Zori RT, Zackai EH, Frank G, Clericuzio CL. Unexpected death and critical illness in Prader-Willi syndrome: report of ten individuals. Am J Med Genet A 2004;124A:158-64.
36. Angulo MA, Butler MG, Cataletto ME. Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. J Endocrinol Invest 2015;38(12):1249-63.
37. Roof E, Stone W, MacLean W, Feurer ID, Thompson T, Butler MG. Intellectual characteristics of Prader-Willi syndrome: comparison of genetic subtypes. Journal of intellectual disability research : JIDR 2000;44 (Pt 1):25-30.
38. Grugni G, Crino A, Bedogni G, Cappa M, Sartorio A, Corrias A, Di Candia S, Gargantini L, Iughetti L, Pagano C, Ragusa L, Salvatoni A, Spera S, Vettor R, Chiumello G, Brambilla P. Metabolic syndrome in adult patients with Prader-Willi syndrome. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD 2013;23:1134-40.
39. Sinnema M, Maaskant MA, van Schrojenstein Lantman-de Valk HM, Boer H, Curfs LM, Schrander-Stumpel CT. The use of medical care and the prevalence of serious illness in an adult Prader-Willi syndrome cohort. European journal of medical genetics 2013;56:397-403.
40. Whittington JE, Holland AJ, Webb T, Butler J, Clarke D, Boer H. Population prevalence and estimated birth incidence and mortality rate for people with Prader-Willi syndrome in one UK Health Region. J Med Genet 2001;38:792-8.
41. Einfeld SL, Kavanagh SJ, Smith A, Evans EJ, Tonge BJ, Taffe J. Mortality in Prader-Willi syndrome. Am J Ment Retard 2006;111:193-8.
42. Tauber M, Diene G, Molinas C, Hebert M. Review of 64 cases of death in children with Prader-Willi syndrome (PWS). Am J Med Genet A 2008;146:881-7.
43. Schrander-Stumpel CT, Curfs LM, Sastrowijoto P, Cassidy SB, Schrander JJ, Fryns JP. Prader-Willi syndrome: causes of death in an international series of 27 cases. Am J Med Genet A 2004;124A:333-8.
44. Lionti T, Reid SM, Rowell MM. Prader-Willi syndrome in Victoria: mortality and causes of death. Journal of paediatrics and child health 2012;48:506-11.
45. Eiholzer U. Deaths in children with Prader-Willi syndrome. A contribution to the debate about the safety of growth hormone treatment in children with PWS. Horm Res 2005;63:33-9.
46. Eiholzer U, Nordmann Y, L'Allemand D. Fatal outcome of sleep apnoea in PWS during the initial phase of growth hormone treatment. A case report. Horm Res 2002;58 Suppl 3:24-6.
47. Grugni G, Livieri C, Corrias A, Sartorio A, Crinò A, Diabetology GOSGotISoPEa. Death during GH therapy in children with Prader-Willi syndrome: description of two new cases. J Endocrinol Invest 2005;28:554-7.

48. Craig ME, Cowell CT, Larsson P, Zipf WB, Reiter EO, Albertsson Wikland K, Ranke MB, Price DA, Board KI. Growth hormone treatment and adverse events in Prader-Willi syndrome: data from KIGS (the Pfizer International Growth Database). Clin Endocrinol (Oxf) 2006;65:178-85.

49. Nagai T, Obata K, Tonoki H, Temma S, Murakami N, Katada Y, Yoshino A, Sakazume S, Takahashi E, Sakuta R, Niikawa N. Cause of sudden, unexpected death of Prader-Willi syndrome patients with or without growth hormone treatment. Am J Med Genet A 2005;136:45-8.

50. Lindgren AC, Hellstrom LG, Ritzen EM, Milerad J. Growth hormone treatment increases CO(2) response, ventilation and central inspiratory drive in children with Prader-Willi syndrome. European journal of pediatrics 1999;158:936-40.

51. Katz-Salamon M, Lindgren AC, Cohen G. The effect of growth hormone on sleep-related cardio-respiratory control in Prader-Willi syndrome. Acta paediatrica 2012;101:643-8.

52. Al-Saleh S, Al-Naimi A, Hamilton J, Zweerink A, Iaboni A, Narang I. Longitudinal evaluation of sleep-disordered breathing in children with Prader-Willi Syndrome during 2 years of growth hormone therapy. The Journal of pediatrics 2013;162:263-8 e1.

53. Spiga F, Walker JJ, Gupta R, Terry JR, Lightman SL. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: Glucocorticoid dynamics: insights from mathematical, experimental and clinical studies. The Journal of endocrinology 2015;226:T55-66.

54. Dhom G. The prepuberal and puberal growth of the adrenal (adrenarche). Beitrage zur Pathologie 1973;150:357-77.

55. Mesiano S, Jaffe RB. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. Endocrine reviews 1997;18:378-403.

56. Goto M, Piper Hanley K, Marcos J, Wood PJ, Wright S, Postle AD, Cameron IT, Mason JI, Wilson DI, Hanley NA. In humans, early cortisol biosynthesis provides a mechanism to safeguard female sexual development. The Journal of clinical investigation 2006;116:953-60.

57. Narasaka T, Suzuki T, Moriya T, Sasano H. Temporal and spatial distribution of corticosteroidogenic enzymes immunoreactivity in developing human adrenal. Molecular and cellular endocrinology 2001;174:111-20.

58. Schiebinger RJ, Albertson BD, Cassorla FG, Bowyer DW, Geelhoed GW, Cutler GB, Jr., Loriaux DL. The developmental changes in plasma adrenal androgens during infancy and adrenarche are associated with changing activities of adrenal microsomal 17-hydroxylase and 17,20-desmolase. The Journal of clinical investigation 1981;67:1177-82.

59. Gell JS, Carr BR, Sasano H, Atkins B, Margraf L, Mason JI, Rainey WE. Adrenarche results from development of a 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase-deficient adrenal reticularis. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:3695-701.
60. Miller WL. Androgen synthesis in adrenarche. Reviews in endocrine & metabolic disorders 2009;10:3-17.
61. White PC. Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls. The Journal of clinical investigation 2006;116:872-4.
62. Topor LS, Asai M, Dunn J, Majzoub JA. Cortisol stimulates secretion of dehydroepiandrosterone in human adrenocortical cells through inhibition of 3betaHSD2. J Clin Endocrinol Metab 2011;96:E31-9.
63. Dickerman Z, Grant DR, Faiman C, Winter JS. Intraadrenal steroid concentrations in man: zonal differences and developmental changes. J Clin Endocrinol Metab 1984;59:1031-6.
64. Voutilainen R, Riikonen R, Simell O, Perheentupa J. The effect of ACTH therapy on serum dehydroepiandrosterone, androstenedione, testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone in infants. Journal of steroid biochemistry 1987;28:193-6.
65. Mermejo LM, Elias LL, Marui S, Moreira AC, Mendonca BB, de Castro M. Refining hormonal diagnosis of type II 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency in patients with premature pubarche and hirsutism based on HSD3B2 genotyping. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:1287-93.
66. Voutilainen R, Jaaskelainen J. Premature adrenarche: Etiology, clinical findings, and consequences. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology 2015;145:226-36.
67. Williams RM, Ward CE, Hughes IA. Premature adrenarche. Archives of disease in childhood 2012;97:250-4.
68. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. Archives of disease in childhood 1970;45:13-23.
69. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. Archives of disease in childhood 1969;44:291-303.
70. Beccuti G, Ghizzoni L. Normal and Abnormal Puberty. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, et al., eds. Endotext. South Dartmouth (MA); 2000.
71. Voutilainen R, Jaaskelainen J. Premature adrenarche: Etiology, clinical findings, and consequences. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology 2015;145C:226-36.
72. Ghizzoni L, Gasco V. Premature pubarche. Hormone research in paediatrics 2010;73:420-2.

73. Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG, Hasemeier CM. Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the Pediatric Research in Office Settings network. Pediatrics 1997;99:505-12.

74. Saenger P, Reiter EO. Premature adrenarche: a normal variant of puberty? J Clin Endocrinol Metab 1992;74:236-8.

75. Rosenfield RL, Rich BH, Lucky AW. Adrenarche as a cause of benign pseudopuberty in boys. The Journal of pediatrics 1982;101:1005-9.

76. Lucky AW, Rich BH, Rosenfield RL, Fang VS, Roche-Bender N. Bioactive LH: a test to discriminate true precocious puberty from premature thelarche and adrenarche. The Journal of pediatrics 1980;97:214-6.

77. Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. Nucleic acids research 1994;22:3181-6.

78. Lappalainen S, Utriainen P, Kuulasmaa T, Voutilainen R, Jaaskelainen J. Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in children with premature adrenarche. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:1304-9.

79. Roldan MB, White C, Witchel SF. Association of the GAA1013-->GAG polymorphism of the insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) gene with premature pubarche. Fertility and sterility 2007;88:410-7.

80. Morris AH, Reiter EO, Geffner ME, Lippe BM, Itami RM, Mayes DM. Absence of nonclassical congenital adrenal hyperplasia in patients with precocious adrenarche. J Clin Endocrinol Metab 1989;69:709-15.

81. Dacou-Voutetakis C, Dracopoulou M. High incidence of molecular defects of the CYP21 gene in patients with premature adrenarche. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:1570-4.

82. Auchus RJ. The Classic and Nonclassic Congenital Adrenal Hyperplasias. Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists 2014:1-25.

83. Lindholm J. The insulin hypoglycaemia test for the assessment of the hypothalamic--pituitary--adrenal function. Clin Endocrinol (Oxf) 2001;54:283-6.

84. Plumpton FS, Besser GM. The adrenocortical response to surgery and insulin-induced hypoglycemia in corticosteroid-treated and normal subjects. The British journal of surgery 1968;55:857.

85. Berneis K, Staub JJ, Gessler A, Meier C, Girard J, Muller B. Combined stimulation of adrenocorticotropin and compound-S by single dose metyrapone test as an outpatient procedure to assess hypothalamic-pituitary-adrenal function. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:5470-5.
86. Steiner H, Bähr V, Exner P, Oelkers PW. Pituitary function tests: comparison of ACTH and 11-deoxy-cortisol responses in the metyrapone test and with the insulin hypoglycemia test. Exp Clin Endocrinol 1994;102:33-8.
87. Gonc EN, Kandemir N, Kinik ST. Significance of low-dose and standard-dose ACTH tests compared to overnight metyrapone test in the diagnosis of adrenal insufficiency in childhood. Horm Res 2003;60:191-7.
88. Wallace I, Cunningham S, Lindsay J. The diagnosis and investigation of adrenal insufficiency in adults. Annals of clinical biochemistry 2009;46:351-67.
89. Tordjman K, Jaffe A, Grazas N, Apter C, Stern N. The role of the low dose (1 microgram) adrenocorticotropin test in the evaluation of patients with pituitary diseases. J Clin Endocrinol Metab 1995;80:1301-5.
90. Mayenknecht J, Diederich S, Bahr V, Plockinger U, Oelkers W. Comparison of low and high dose corticotropin stimulation tests in patients with pituitary disease. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:1558-62.
91. Hiller-Sturmhofel S, Bartke A. The endocrine system: an overview. Alcohol health and research world 1998;22:153-64.
92. Forssman H, Hagberg B. Prader-Willi Syndrome in Boy of Ten with Prediabetes. Acta paediatrica 1964;53:70-8.
93. Rudd BT, Chance GW, Theodoridis CG. Adrenal response to ACTH in patients with Prader-Willi syndrome, simple obesity, and constitutional dwarfism. Archives of disease in childhood 1969;44:244-7.
94. Stevenson DA, Anaya TM, Clayton-Smith J, Hall BD, Van Allen MI, Zori RT, Zackai EH, Frank G, Clericuzio CL. Unexpected death and critical illness in Prader-Willi syndrome: report of ten individuals. Am J Med Genet A 2004;124A:158-64.
95. de Lind van Wijngaarden RF, Otten BJ, Festen DA, Joosten KF, de Jong FH, Sweep FC, Hokken-Koelega AC. High prevalence of central adrenal insufficiency in patients with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:1649-54.
96. de Lind van Wijngaarden RF, Joosten KF, van den Berg S, Otten BJ, de Jong FH, Sweep CG, de Weerd AW, Hokken-Koelega AC. The relationship between central adrenal insufficiency and sleep-related breathing disorders in children with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:2387-93.

97. Butler MG, Brandau DT, Theodoro M, Garg U. Cortisol levels in Prader-Willi syndrome support changes in routine care. Am J Med Genet A 2009;149A:138-9.
98. Connell NA, Paterson WF, Wallace AM, Donaldson MD. Adrenal function and mortality in children and adolescents with Prader-Willi syndrome attending a single centre from 1991-2009. Clin Endocrinol (Oxf) 2010;73:686-8.
99. Nyunt O, Cotterill AM, Archbold SM, Wu JY, Leong GM, Verge CF, Crock PA, Ambler GR, Hofman P, Harris M. Normal cortisol response on low-dose synacthen (1 microg) test in children with Prader Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2010;95:E464-7.
100. Farholt S, Sode-Carlsen R, Christiansen JS, Østergaard JR, Høybye C. Normal cortisol response to high-dose synacthen and insulin tolerance test in children and adults with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2011;96:E173-80.
101. Corrias A, Grugni G, Crinò A, Di Candia S, Chiabotto P, Cogliardi A, Chiumello G, De Medici C, Spera S, Gargantini L, Iughetti L, Luce A, Mariani B, Ragusa L, Salvatoni A, Andrulli S, Mussa A, Beccaria L, (SIEDP/ISPED) ObotSGfGOotISoPEaD. Assessment of central adrenal insufficiency in children and adolescents with Prader-Willi syndrome. Clin Endocrinol (Oxf) 2011.
102. Barbara DW, Hannon JD, Hartman WR. Intraoperative adrenal insufficiency in a patient with prader-willi syndrome. Journal of clinical medicine research 2012;4:346-8.
103. Grugni G, Beccaria L, Corrias A, Crino A, Cappa M, De Medici C, Di Candia S, Gargantini L, Ragusa L, Salvatoni A, Sartorio A, Spera S, Andrulli S, Chiumello G, Mussa A, Genetic Obesity Study Group of the Italian Society of Pediatric E, Diabetology. Central adrenal insufficiency in young adults with Prader-Willi syndrome. Clin Endocrinol (Oxf) 2013;79:371-8.
104. K. Kromeyer-Hauschild MW, D.Kunze, F. Geller, H. C.Geiß, V.Hesse, A. von Hippel, U. Jaeger, D.Johnsen, W.Korte, K.Menner, G. Müller, J.M.Müller, A. Niemann-Pilatus, T.Remer, F. Schaefer, H.-U.Wittchen, S. Zabransky, K.Zellner, A. Ziegler, J.Hebebrand. Perzentile für den Body-Mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. Monatsschr Kinderheilkd 2001;149:807-18.
105. Tzortzi C, Proff P, Redlich M, Aframian DJ, Palmon A, Golan I, Muessig D, Wichelhaus A, Baumert U. Cortisol daily rhythm in saliva of healthy school children. International dental journal 2009;59:12-8.
106. Katsumata M, Hirata K, Inagaki H, Hirata Y, Kawada T. [Evaluation of new saliva collection device for determination of salivary cotinine, cortisol, dehydroepiandrosterone and testosterone concentrations]. Nihon eiseigaku zasshi Japanese journal of hygiene 2009;64:811-6.

107. Labor Berlin, 2015. (Accessed at http://www.laborberlin.com/leistungsverzeichnis.html?k=8&ue1=178&u=2497&index=.)
108. Kulle AE, Welzel M, Holterhus PM, Riepe FG. Implementation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for eight adrenal C-21 steroids and pediatric reference data. Hormone research in paediatrics 2013;79:22-31.
109. Kushnir MM, Rockwood AL, Roberts WL, Pattison EG, Owen WE, Bunker AM, Meikle AW. Development and performance evaluation of a tandem mass spectrometry assay for 4 adrenal steroids. Clinical chemistry 2006;52:1559-67.
110. Kulle AE, Riepe FG, Melchior D, Hiort O, Holterhus PM. A novel ultrapressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of androstenedione, testosterone, and dihydrotestosterone in pediatric blood samples: age- and sex-specific reference data. J Clin Endocrinol Metab 2010;95:2399-409.
111. Pires da Rocha MC, Figueiredo de Martino MM, Grassi-Kassisse DM, Luiz de Souza A. Stress among nurses: an examination of salivary cortisol levels on work and day off. Revista da Escola de Enfermagem da U S P 2013;47:1194-201.
112. Tecles F, Fuentes-Rubio M, Tvarijonaviciute A, Martinez-Subiela S, Fatjo J, Ceron JJ. Assessment of stress associated with an oral public speech in veterinary students by salivary biomarkers. Journal of veterinary medical education 2014;41:37-43.
113. Devos J, Weselake SV, Wevrick R. Magel2, a Prader-Willi syndrome candidate gene, modulates the activities of circadian rhythm proteins in cultured cells. Journal of circadian rhythms 2011;9:12.
114. Nyunt O, Cotterill AM, Archbold SM, Wu JY, Leong GM, Verge CF, Crock PA, Ambler GR, Hofman P, Harris M. Normal cortisol response on low-dose synacthen (1 microg) test in children with Prader Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2010;95:E464-7.
115. de Lind van Wijngaarden RF, Otten BJ, Festen DA, Joosten KF, de Jong FH, Sweep FC, Hokken-Koelega AC. High prevalence of central adrenal insufficiency in patients with Prader-Willi syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:1649-54.
116. Simard J, Moisan AM, Morel Y. Congenital adrenal hyperplasia due to 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Delta(5)-Delta(4) isomerase deficiency. Seminars in reproductive medicine 2002;20:255-76.
117. Simard J, Ricketts ML, Gingras S, Soucy P, Feltus FA, Melner MH. Molecular biology of the 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta5-delta4 isomerase gene family. Endocrine reviews 2005;26:525-82.

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Relative Konzentrationslevel von DHEAS und Cortisol in der menschlichen Fetalzone und der postnatalen Nebennierenrinde (Grafik aus White: Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls[61]) 13
Abbildung 2: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Regulationsachse mit Angriffspunkten der verschiedenen Funktionstests (bearbeitete Grafik nach Hiller-Sturmhöfel et al.[91]) 18
Abbildung 3: Funktionsweise Metapyron 26
Abbildung 4: Cortisol-Tagesprofil aus dem Speichel 32
Abbildung 5: ACTH-Konzentration während des Metapyron-Test 33
Abbildung 6: Cortisol-Konzentration während des Metapyron-Test 34
Abbildung 7: Korrelation Steroidbestimmung im venösen und kapillären Blut 37
Abbildung 8: Nächtliches Multisteroidprofil eines Patienten ohne vorherige Metapyrongabe 38
Abbildung 9: Nächtliches Multisteroidprofil eines Patienten nach Metapyrongabe 38
Abbildung 10: Nächtliches Cortisol-Profil aller Patienten ohne Metapyrongabe 40
Abbildung 11: Nächtliches Cortisol-Profil aller Patienten nach Metapyrongabe 40
Abbildung 12: Nächtliches 11-Deoxycorticosteron-Profil aller Patienten ohne Metapyrongabe 41
Abbildung 13: Nächtliches 11-Deoxycorticosteron-Profil aller Patienten nach Metapyrongabe 41
Abbildung 14: Nächtliches 11-Deoxycortisol-Profil aller Patienten ohne Metapyrongabe 42
Abbildung 15: Nächtliches 11-Deoxycortisol-Profil aller Patienten nach Metapyrongabe 42
Abbildung 16: Steroidogenese (Grafik aus Simard et al.[116]) 56

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nebennierenfunktionstests 16
Tabelle 2: Kohortenbeschreibung 31
Tabelle 3: Prämature Pubarche 36
Tabelle 4: Prämature Adrenarche 36
Tabelle 5: Steroidhormonlevel der verschiedenen Altersgruppen 43
Tabelle 6: Steroidhormonlevel bezogen auf den Referenzbereich nach Alter 44
Tabelle 7: 17-OH-Pregnenolon-Level bezogen auf den Referenzbereich nach Tanner-Stadium 45
Tabelle 8: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Mädchen nach Alter 45
Tabelle 9: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Jungen nach Alter 46
Tabelle 10: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Mädchen nach Tanner-Stadium 46
Tabelle 11: Androstendion-, Testosteron- und Dihydrotestosteron-Werte bezogen auf den Referenzbereich für Jungen nach Tanner-Stadium 47
Tabelle 12: Relationen der Steroidhormone 48
Tabelle 13: Vergleich vorhergehender Studien mit den Ergebnissen dieser Arbeit bzgl. der (partiellen) Nebennierenrindeninsuffizienz 51
Tabelle 14: Enzymaktivität der 3ß-Hydroxysteroiddehydrogenase 55

9. Abkürzungsverzeichnis

PWS	Prader-Willi-Syndrom
BMI	Body mass index
REM	rapid eye movement (Schlafphase)
UPD	uniparenterale Disomie
CYP21	Steroid-21-Hydroxylase
ITT	Insulin-Toleranztest
p.o.	per os
HPA axis	hypothalamus pituitary adrenal axis
CRF	case report form
HPLC	high pressure liquid chromatography
USA	United States of America
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
MW	Mittelwert
SD	Standardfehler
MD	Median
LDST	low dose synacthen test
HDST	high dose synacthen test

Maßeinheiten

nmol	Nanomol
pmol	Picomol
µg	Mikrogramm
l	Liter
dl	Deziliter
ml	Milliliter
IE	Internationale Einheiten
mg	Milligramm
kg	Kilogramm
min	Minuten
cm	Zentimeter
m	Meter
SDS	Standard Deviation Scores

Laborparameter

CRH	corticotropin releasing hormone
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
GH	growth hormone = Wachstumshormon
LH	luteinisierendes Hormon
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
TSH	Thyreoida stimulierendes Hormon
IGF-I	Insulin-like growth factor-I
DHEAS	Dehydroepiandrostendionsulfat
DHEA	Dehydroepiandrostendion
DOC	11-Deoxycorticosteron
17-OH-Preg	17-Hydroxypregnenolon
17-OHP	17-Hydroxyprogesteron
DHT	Dihydrotestosteron

R-HOMA	Homeostasis Model Assessment
BP-3	Binding protein

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Julia Krafft, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Nebennierenrindenfunktion bei Kindern mit Prader-Willi-Syndrom“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.
Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -*www.**icmje**.org*) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.
Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Berlin, den 30.09.2016 Julia K. Krafft, geb. Trinschek

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen
keine

Berlin, den 30.09.2016 Julia K. Krafft, geb. Trinschek

11. Lebenslauf

Julia Katharina Krafft, geb. Trinschek

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

12. Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei allen, die mich bei der Erstellung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.
PD Dr. Susanna Wiegand danke ich für das Überlassen des Themas und die Förderung dieser Arbeit, und ganz besonders für ihre Hilfestellung und ihr Vorbild bei der Arbeit mit „unseren“ Kindern mit Prader-Willi-Syndrom (die sehr viel Freude gemacht hat!).
Bei Professor Dr. Heiko Krude möchte ich mich für das Interesse an dieser Arbeit bedanken, die klärenden Gespräche und die Unterstützung bei Fragen der Organisation.
Ohne Dr. Nele Alder-Baerens wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen, ihr danke ich für die Analyse der Steroidhormone aus dem Trockenblut, ihre Geduld bei Problemen des Alltags und ihre Hilfe beim Verständnis der Vorgänge bei der Analyse der Steroidhormone.
Ich danke allen Mitarbeitern der pädiatrischen Endokrinologie des Virchow Klinikums für die gute Zusammenarbeit.
Ganz besonders möchte ich mich bei der Studienstiftung des Deutschen Volkes bedanken, deren finanzielle Unterstützung während meines gesamten Studiums und während meiner Doktorarbeit vieles erst möglich gemacht hat.
Mein besonderer Dank gilt auch meinem jetzigen Chef, Herrn PD Dr. Dirk Hartmann, der mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit ganz außergewöhnlich unterstützt hat durch unermüdlichen Ansporn und dadurch, dass er mir etwas sehr kostbares zur Verfügung gestellt hat: Zeit.
Auch meiner Familie möchte ich danken, ganz besonders meinen Eltern, die mich immer, und ganz besonders in den schwierigen Zeiten meines Studiums so wunderbar liebevoll unterstützt haben.
Und ganz besonders danke ich auch meinem Mann, der immer für mich da ist und mich auf jede nur denkbare Weise unterstützt.