



19.06.2015

## AGS / second tier Steroid-Profilng

H.-W. Schultis



## **Adrenogenitales Syndrom (AGS):**

adrenal: die Nebenniere betreffend ("ad" lat. bei; "ren" lat. Niere);

genital: die Geschlechtsorgane betreffend

Angelsächsisch:

## **Congenitale adrenale Hyperplasie (CAH):**

Congenital: angeboren

adrenal: die Nebenniere betreffend

Hyperplasie: Vergrößerung (bei schweren Fällen sind die Nebennieren schon bei der Geburt deutlich vergrößert)

**Inzidenz: ca. 1 : 15000**

**Heterozygotenfrequenz von ca. 1:55  
d.h. ca. 2% der Bevölkerung sind Überträger!**

**Inzidenz nicht klassisches AGS: 1:1000**



Inzidenz: 1 : 15800 (homozygote Fälle 2008, klass. AGS)

Heterozygotenfrequenz von ca. 1:55  
d.h. ca. 2% der Bevölkerung sind Überträger!

Inzidenz nicht klassisches AGS: 1:1000

## Unterteilung nach der Klinik:

- klassisches AGS mit Salzverlust
- klassisches einfach virilisierendes AGS
- nicht klassisches (late onset) AGS



Fließende Übergänge je  
nach Restaktivität des  
betroffenen Enzyms

## Genetik:

**Manigfaltig: Genkonversionen, Deletionen, Punktmutationen  
homozygot, compound-heterozygot**



## Recall Raten:

**Tabelle 3 : Recallraten und gefundene Fälle für Deutschland 2012 N= 674.926\***

Krankheiten	Recall ≥36h		Recall <36h		Recall <32SSW		Recall gesamt	nicht im Screening gefunden	bestätigte Fälle
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	(%)	n	n
Hypothyreose	457	0,07	348	4,01	48	0,59	0,13	5 <sup>a</sup>	205
AGS	2098	0,32	360	4,14	541	6,65	0,44	1 <sup>b</sup>	48
Biotinidase- mangel	156	0,02	9	0,10	20	0,25	0,03		37
klassische Galaktosämie	221	0,03	5	0,06	8	0,10	0,03		9
PKU/HPA	210	0,03	16	0,18	33	0,41	0,04		126
MSUD	68	0,01	1	0,01	5	0,06	0,01		5
MCAD	130	0,02	4	0,05	3	0,04	0,02		62
LCHAD	53	0,01	0		2	0,02	0,01		7
VLCAD	173	0,03	3	0,03	6	0,07	0,03		7
CPT I-Mangel	10	0,0015	0		0				0
CPT II-Mangel	33	0,01	0		0				0
CAT-Mangel	0		0		0				0
GA I	180	0,03	2	0,02	10	0,12	0,03		5
IVA	53	0,01	0		9	0,11	0,01		5
<b>Gesamt</b>	<b>3842</b>	<b>0,58</b>	<b>748</b>	<b>8,61</b>	<b>685</b>	<b>8,42</b>	<b>0,78</b>	<b>6</b>	<b>516</b>

\* Erstscreening gesamt: n= 674.926; Erstscreening ≥ 36h und ≥ 32SSW n=658.107; Erstscreening < 36h n=8.686; Erstscreening < 32SSW n=8.133

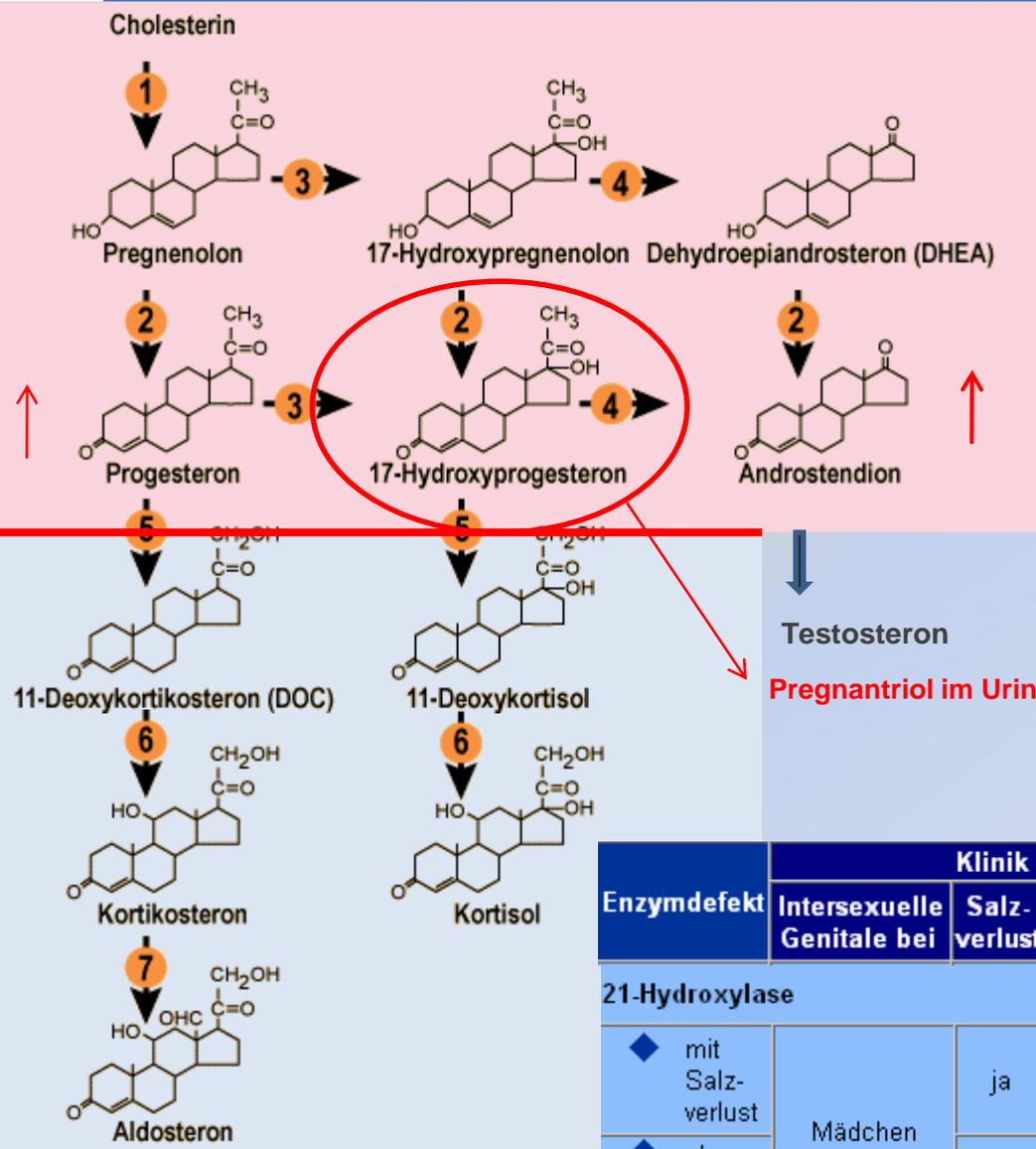
<sup>a</sup> alle Frühgeborene unter 32 SSW

<sup>b</sup> Mutation: I172N



### **Ursachen der hohen Recall Rate mit erhöhtem 17-OH-Progesteron:**

- **Passager niedrige Aktivität der 11 $\beta$ -Hydroxylase bei Frühgeborenen**
- **Stress, Infektionen**
- **Hyperbilirubinämie, verminderte Nierenfunktion**
- **Kreuzreaktivitäten der Immunoassays (insbesondere 17-OH-Pregnenolon bei niedriger 3 $\beta$ -OH-Dehydrogenase Aktivität / Inhibition durch mütterliche Östrogene)**

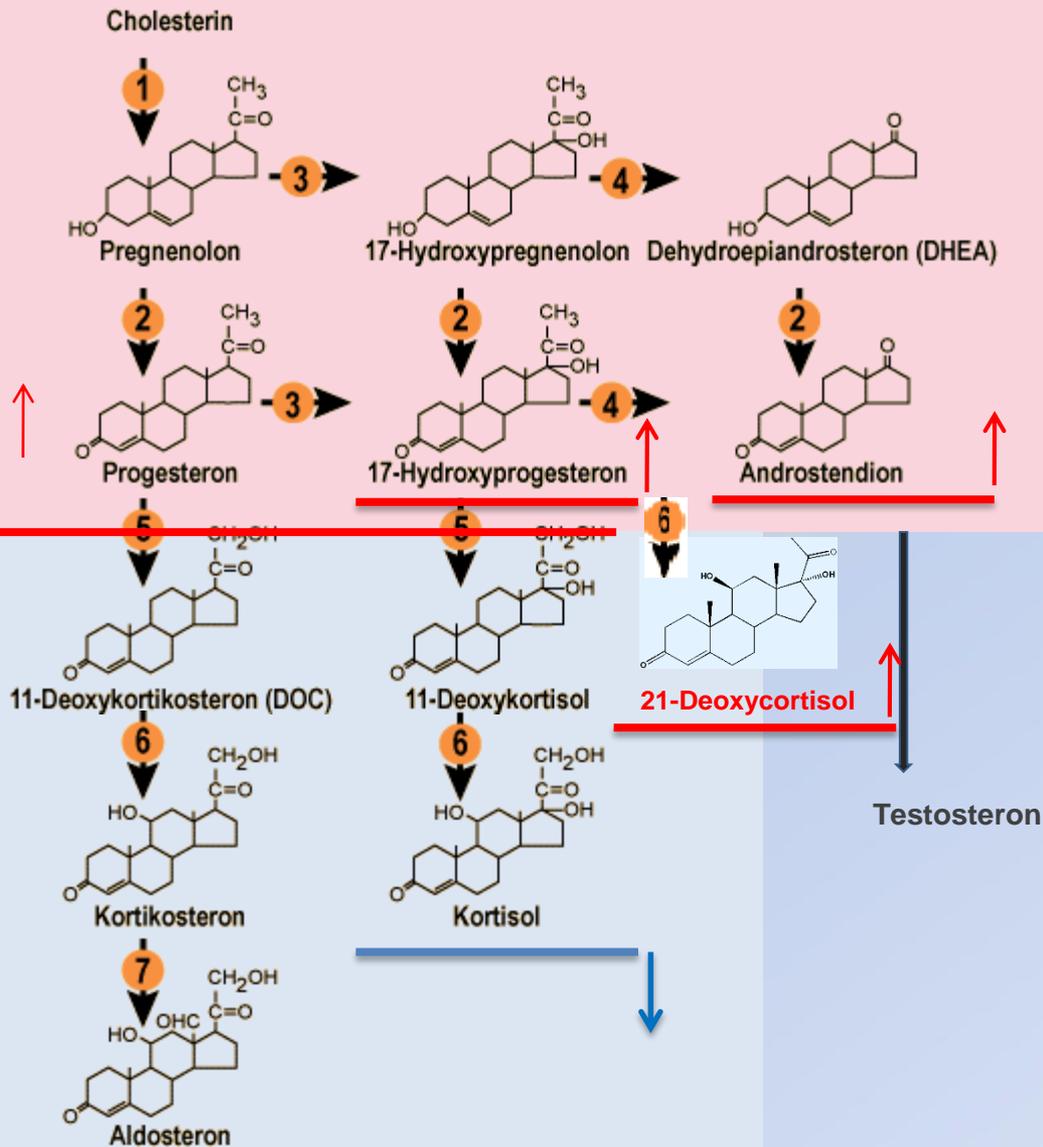


1. Hydroxylase/Desmolase (P450 scc)
2. 3β-OH-Dehydrogenase/Δ<sup>5</sup>Δ<sup>4</sup>-Isomerase
3. 17α-Hydroxylase
4. C17-20-Lyase
- 5. 21-Hydroxylase**
6. 11β-Hydroxylase
7. 18-Hydroxylase; 18-OH-Dehydrogenase, 18-Aldehyd-Synthetase

Testosteron  
**Pregnantriol im Urin**

Enzymdefekt	Klinik			Labor		
	Intersexuelle Genitale bei	Salz-verlust	postnatale Virilisierung	Plasmasteroide erhöht	Plasmasteroide erniedrigt	Urinsteroide erhöht

21-Hydroxylase							
◆ mit Salz-verlust	Mädchen	ja	ja	<a href="#">17-Hydroxy-Progesteron</a>	<a href="#">Aldosteron</a>	Pregnantriol	6p
◆ ohne Salz-verlust		nein		<a href="#">Androstendion</a> <a href="#">Testosteron</a>	<a href="#">Cortisol</a>		



1. Hydroxylase/Desmolase (P450 scc)
2.  $3\beta$ -OH-Dehydrogenase/ $\Delta^5\Delta^4$ -Isomerase
3.  $17\alpha$ -Hydroxylase
4. C17-20-Lyase
- 5. 21-Hydroxylase**
- 6.  $11\beta$ -Hydroxylase**
7. 18-Hydroxylase; 18-OH-Dehydrogenase, 18-Aldehyd-Synthetase



## Analyte:

- Cortisol (Int. Std.: Cortisol D4)
- 21 Desoxycortisol (Int. Std.: 21 DOC D8)
- 11 Desoxycortisol (Int. Std.: 11 DOC D2)
- Desoxycorticosteron (Int. Std.: 17 OHP D8)
- Androstendion (Int. Std.: 17 OHP D8)
- 17 OH Progesteron (Int. Std.: 17 OHP D8)

## Vorbereitung:

- 2 x 4,7 mm TB Spots mit 200 µl Methanol (mit int. Stds) 30 min schütteln
- Überstand abtrennen und eindampfen, mit 75 µl Acetonitril/0,1 % Ameisensäure 20 min aufnehmen

## Messung:

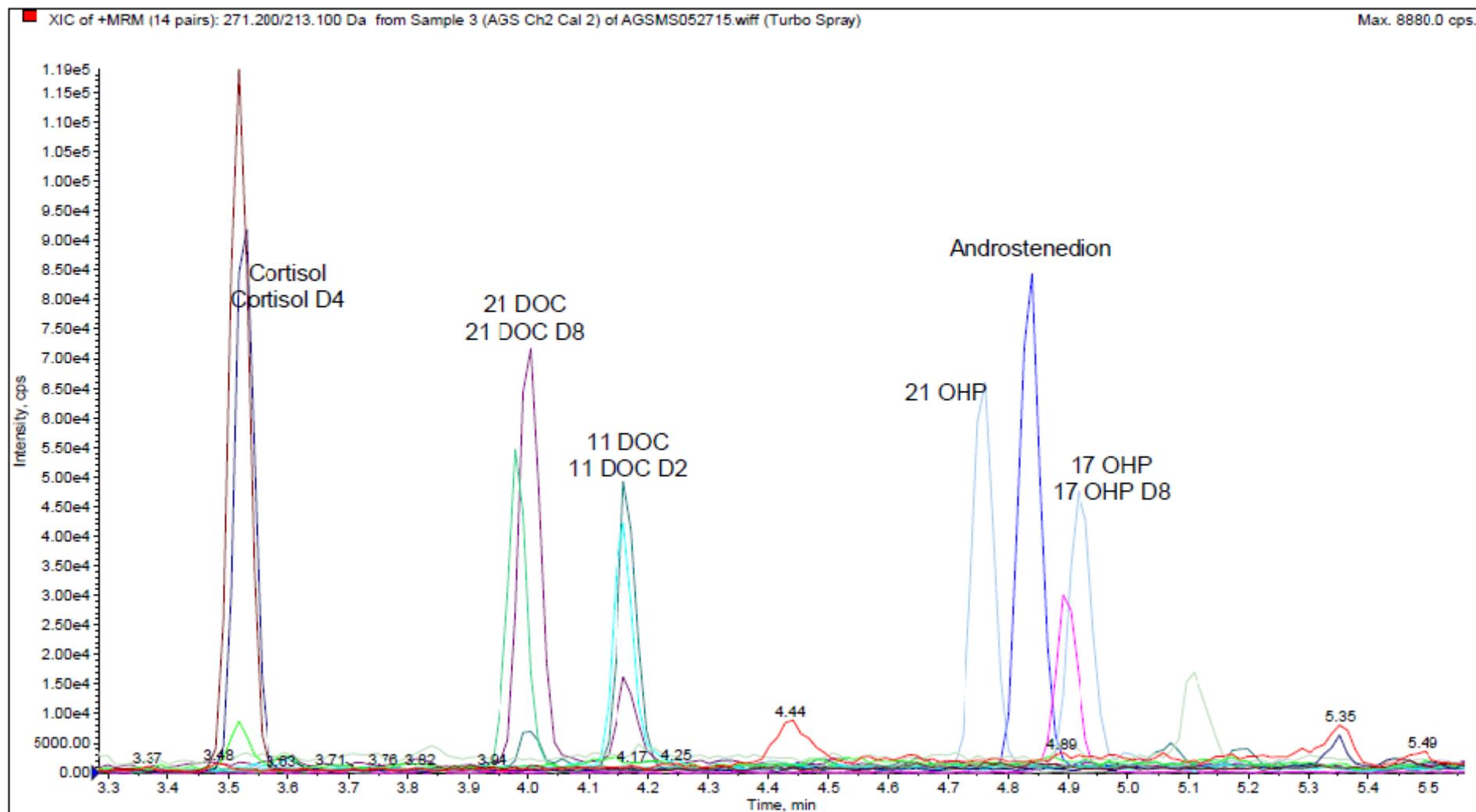
- Agilent 1100 binäre Pumpe, HTC Pal Sampler, AbSciex API4500 MSMS
- Gradient 0,1 %ige Ameisensäure / Acetonitril 90% auf 40 % in 5 min, 4 min Reequilibrierung
- C12 Reversed Phase Säule Phenomenex.



Analyst Version: 1.6.2

\*GaPM 4500 QTRAP S# BI22811402

Acq. File: AGSMS052715.wiff





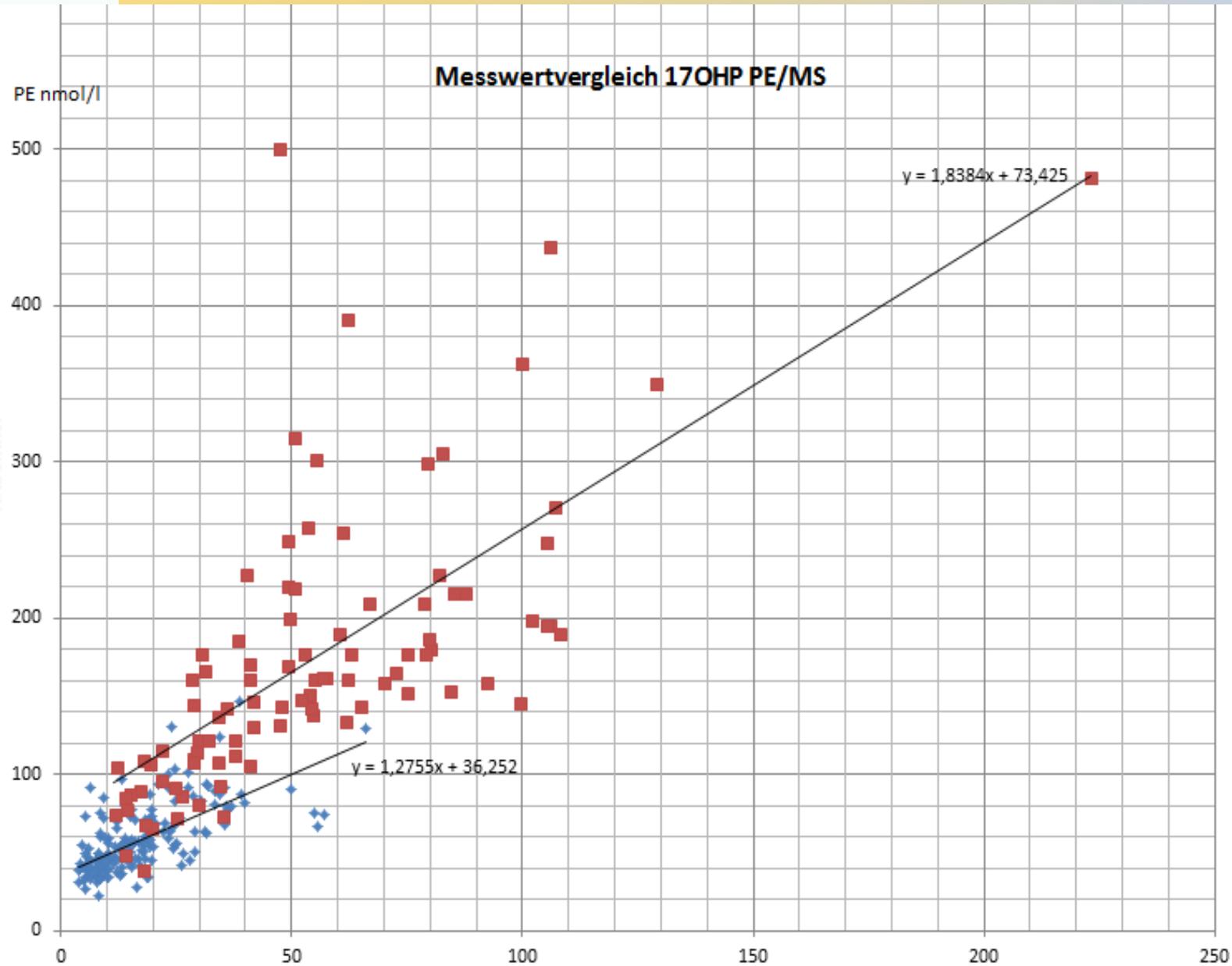
Zur Auswertung wurden Recalls mit **erhöhtem** 17-OH-Progesteron (immunologisch) herangezogen (Weiden, Berlin, Dresden, Magdeburg und Greifswald, bislang ca. 400 Kinder, davon 21 best. Fälle).

Einteilung in fünf Gruppen:

1. Reifgeborene Kinder, Steroide-Profil unauffällig, Diagnose (konfirmative Diagnostik): kein AGS **richtig negativ**
2. Unreifgeborene Kinder, Steroide-Profil unauffällig, Diagnose (konfirmative Diagnostik): kein AGS **richtig negativ**
3. Steroide-Profil auffällig, Diagnose (konfirmative Diagnostik): AGS  
Erstkarte bzw. Kontrollkarte im Verlauf (auch behandelt) **richtig positiv**
4. Steroide-Profil unauffällig, Diagnose (konfirmative Diagnostik): AGS ! **falsch negativ**
5. Steroide-Profil auffällig, Diagnose (konfirmative Diagnostik): kein AGS **falsch positiv**



## Messwertvergleich 17OHP PE/MS

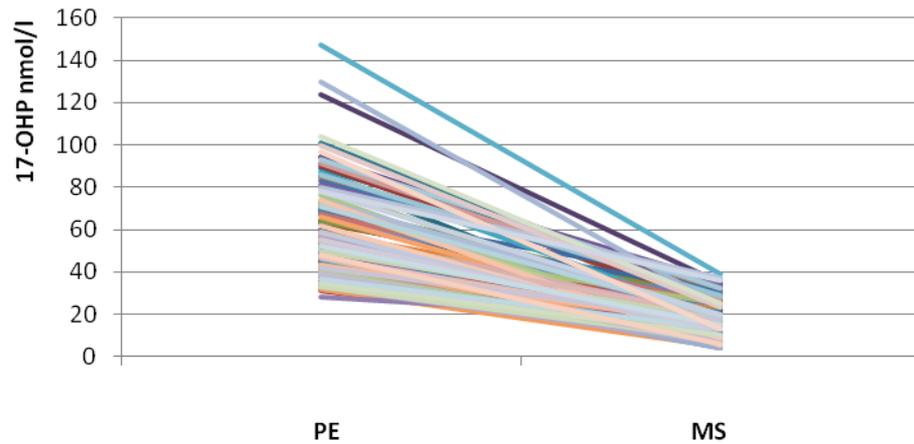


- ◆ PE auff Reif
- PE auff < 32SSW
- Linear (PE auff Reif)
- Linear (PE auff < 32SSW)

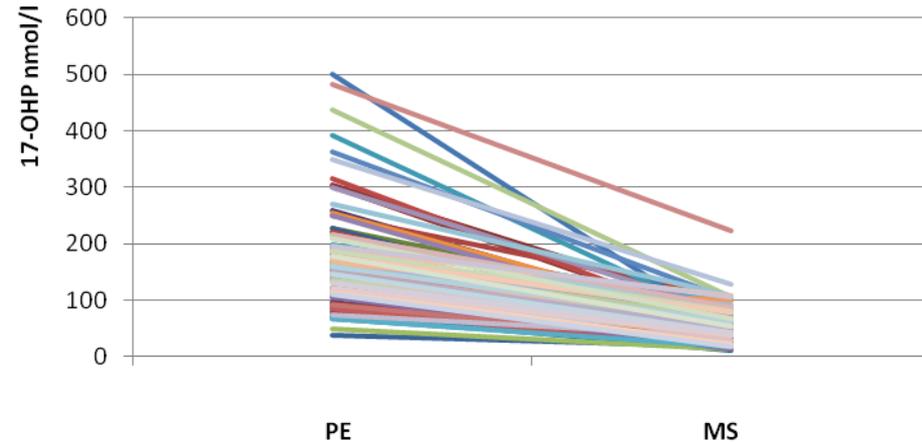
MS nmol/l



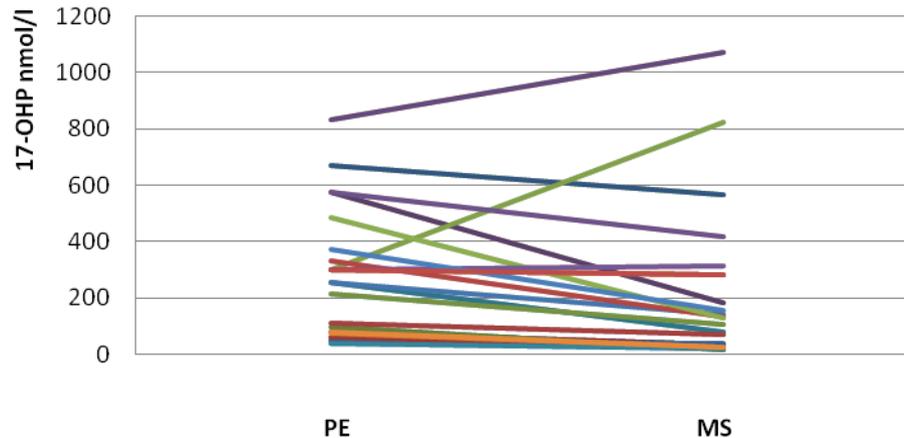
### Nicht bestätigte Fälle, > 32 SSW

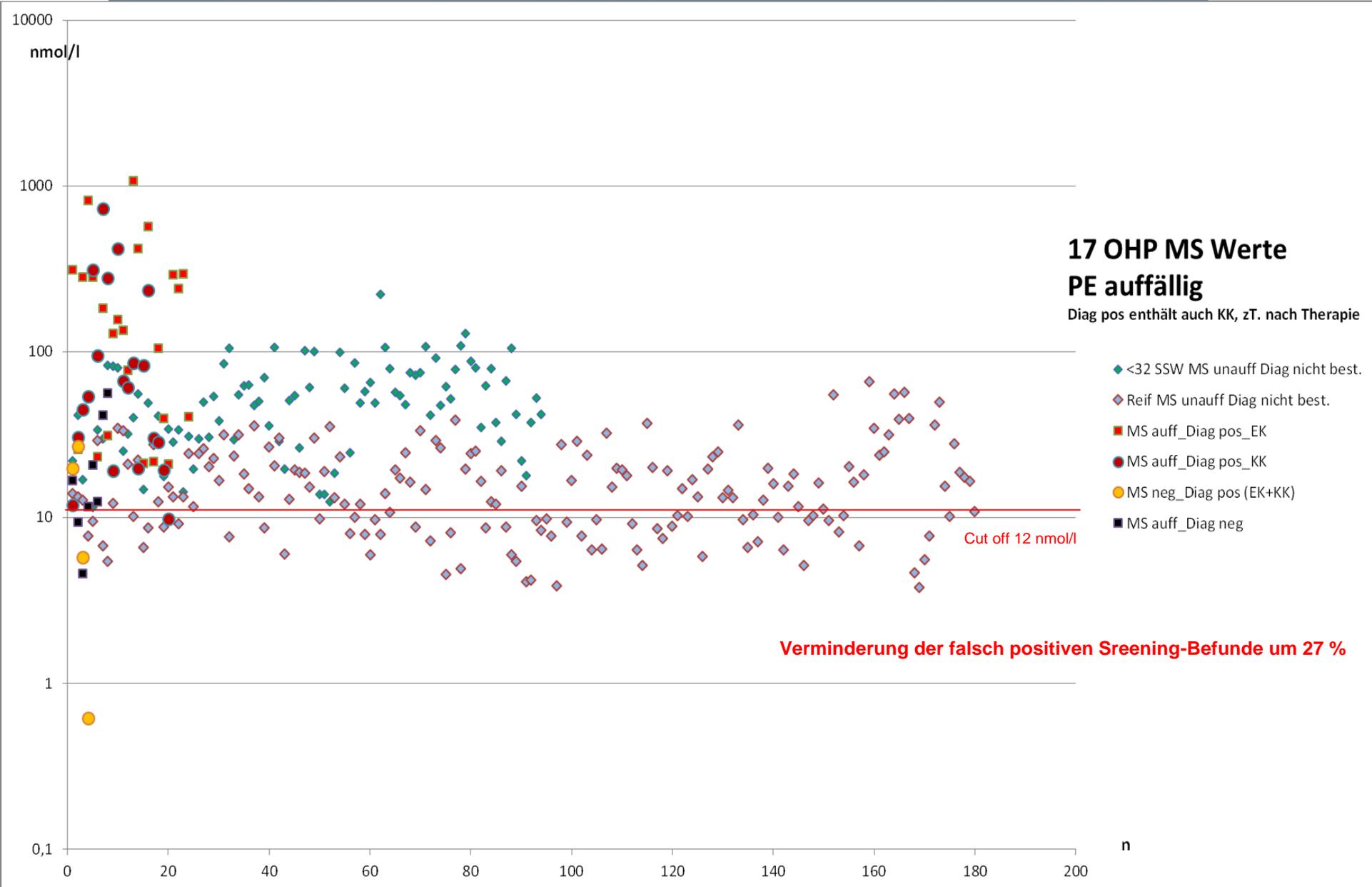


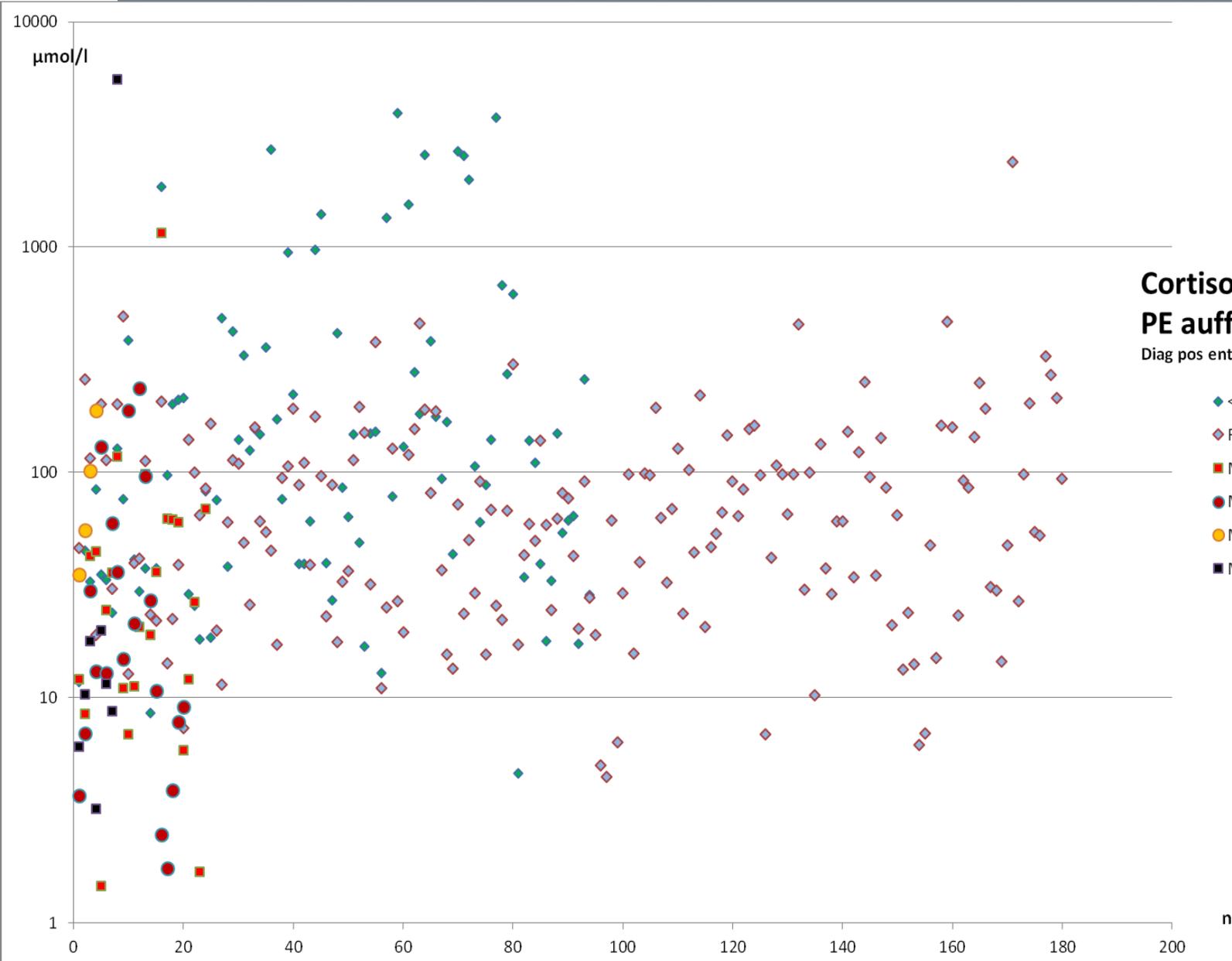
### Nicht bestätigte Fälle, < 32 SSW



### Bestätigte Fälle



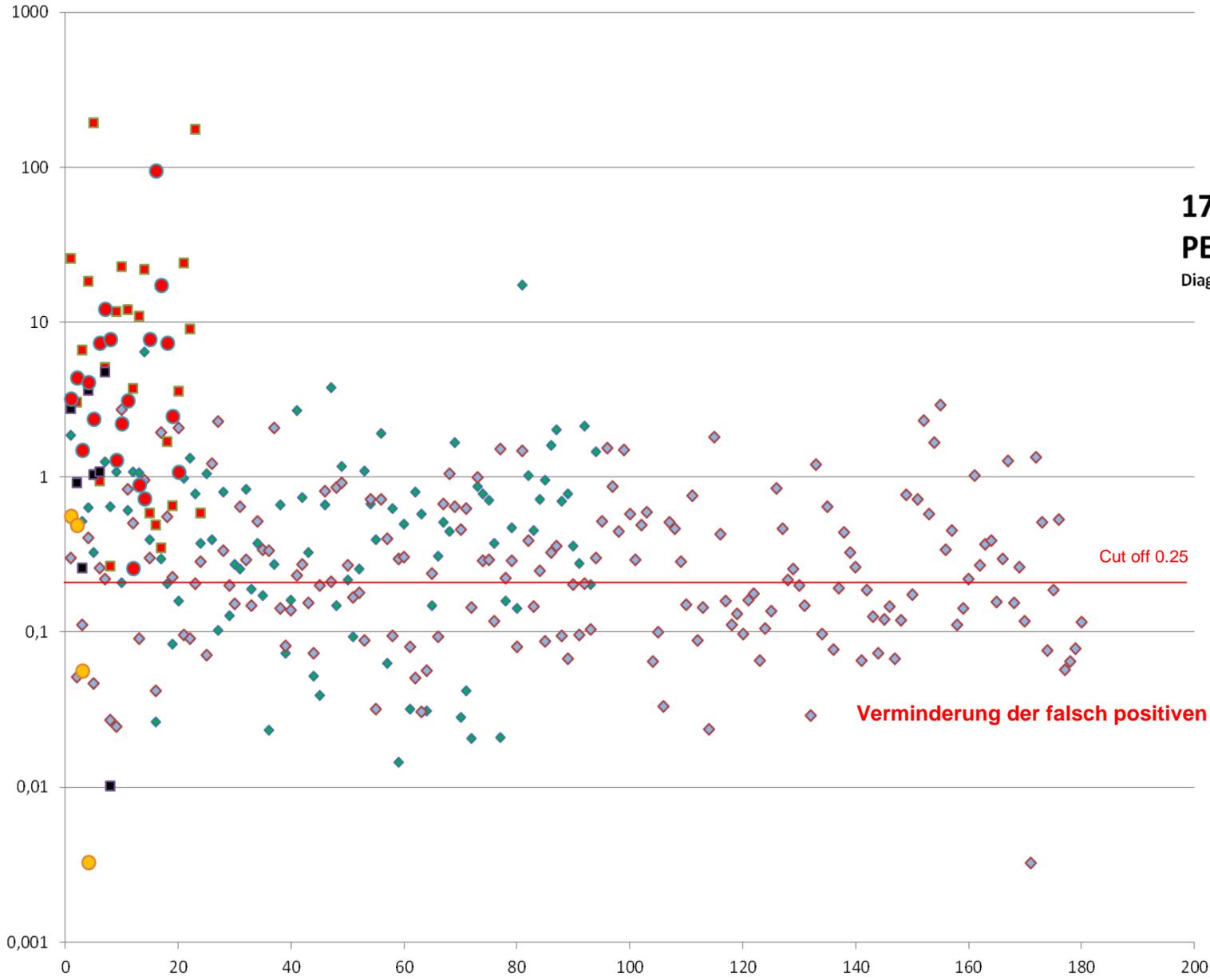




### Cortisol MS Werte PE auffällig

Diag pos enthält auch KK, zT. nach Therapie

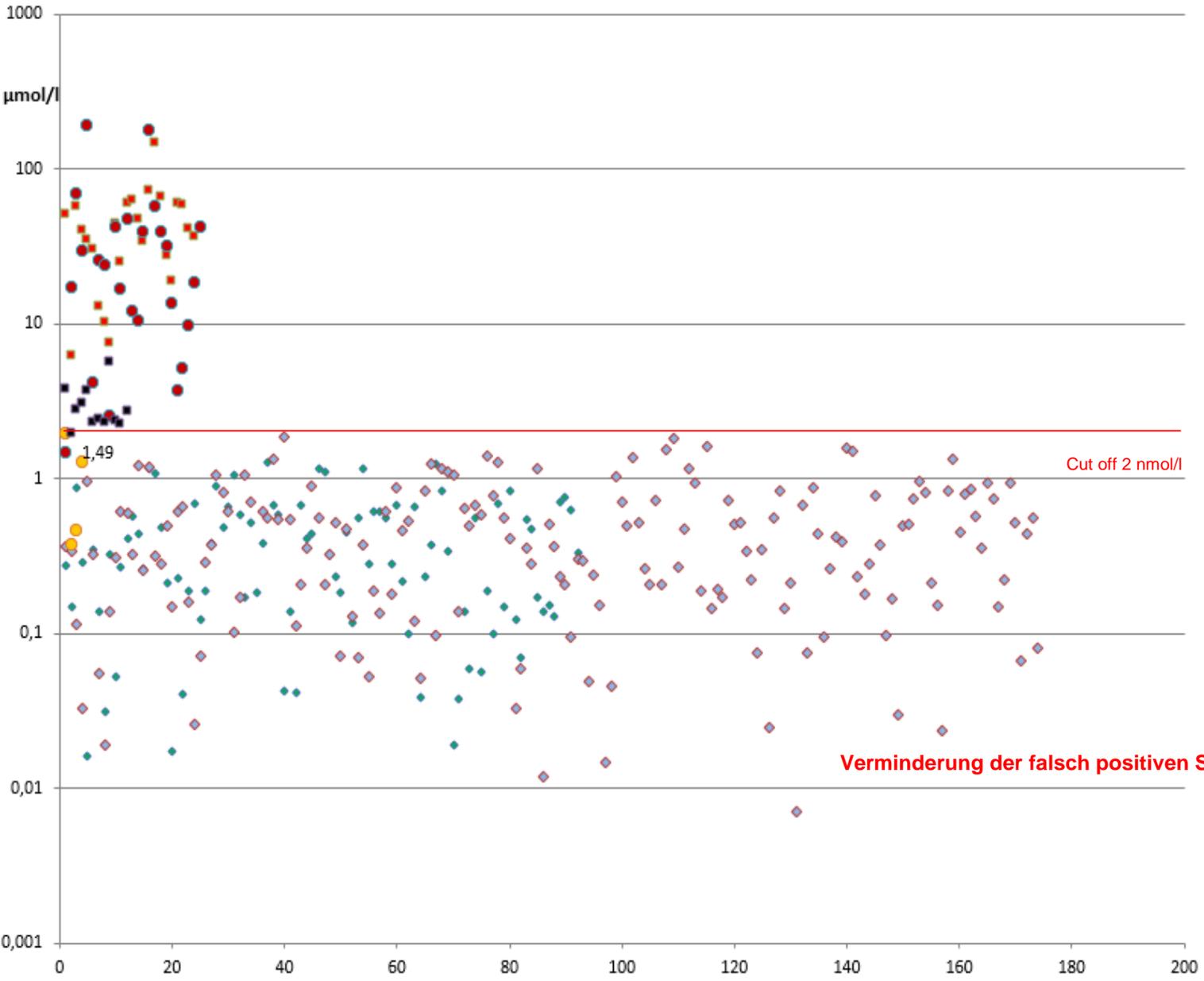
- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◇ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos\_EK
- MS auff\_Diag pos\_KK
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag neg



**17OHP / Cort**  
**PE auffällig**  
Diag pos enthält auch KK, zT. nach Therapie

- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◆ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos
- MS auff\_Diag neg
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag pos\_KK

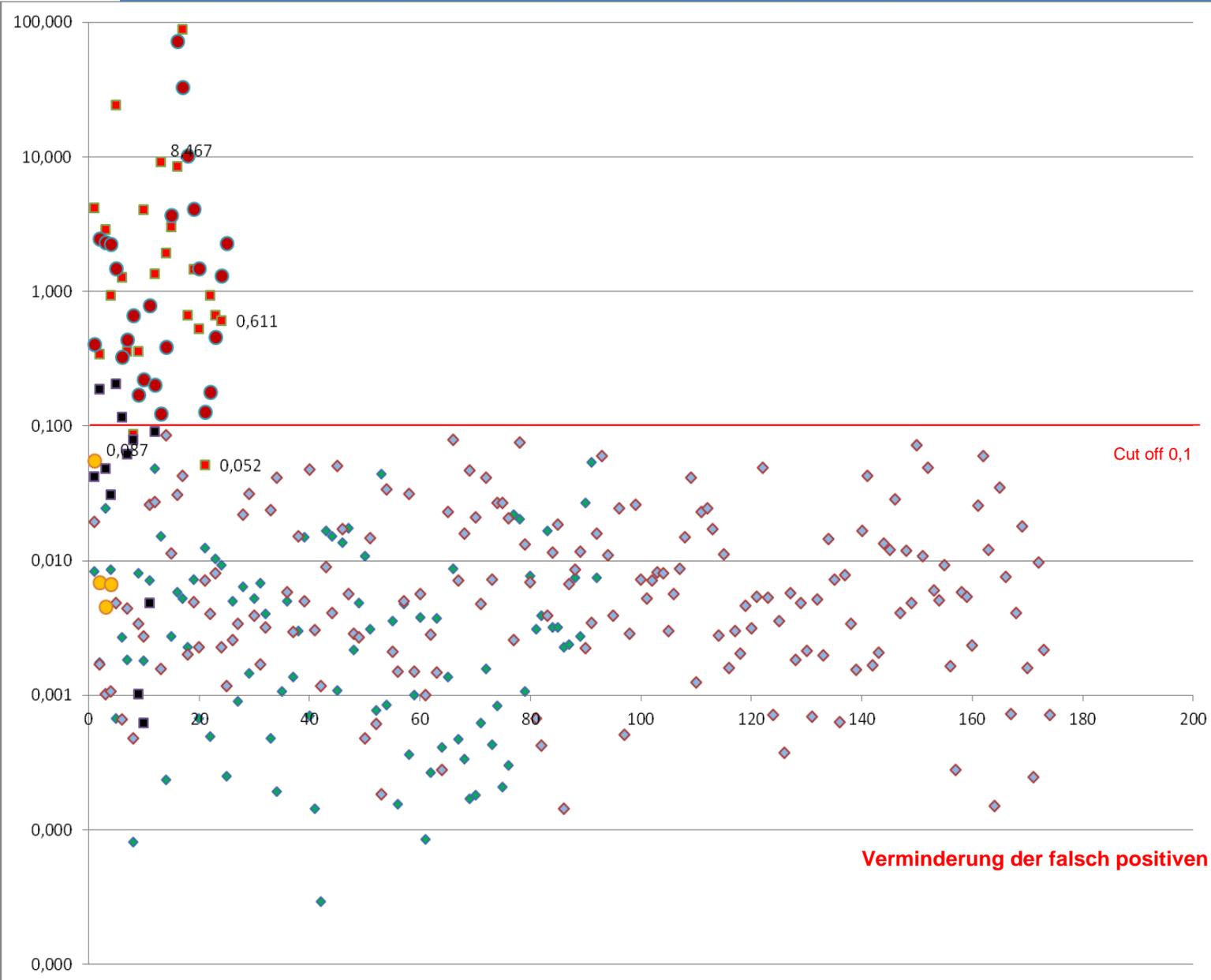
**Verminderung der falsch positiven Screening-Befunde um 39 %**



## 21 DOC MS Werte PE auffällig

- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◇ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos EK
- MS auff\_Diag pos\_KK
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag neg

**Verminderung der falsch positiven Screening-Befunde um 96 %**

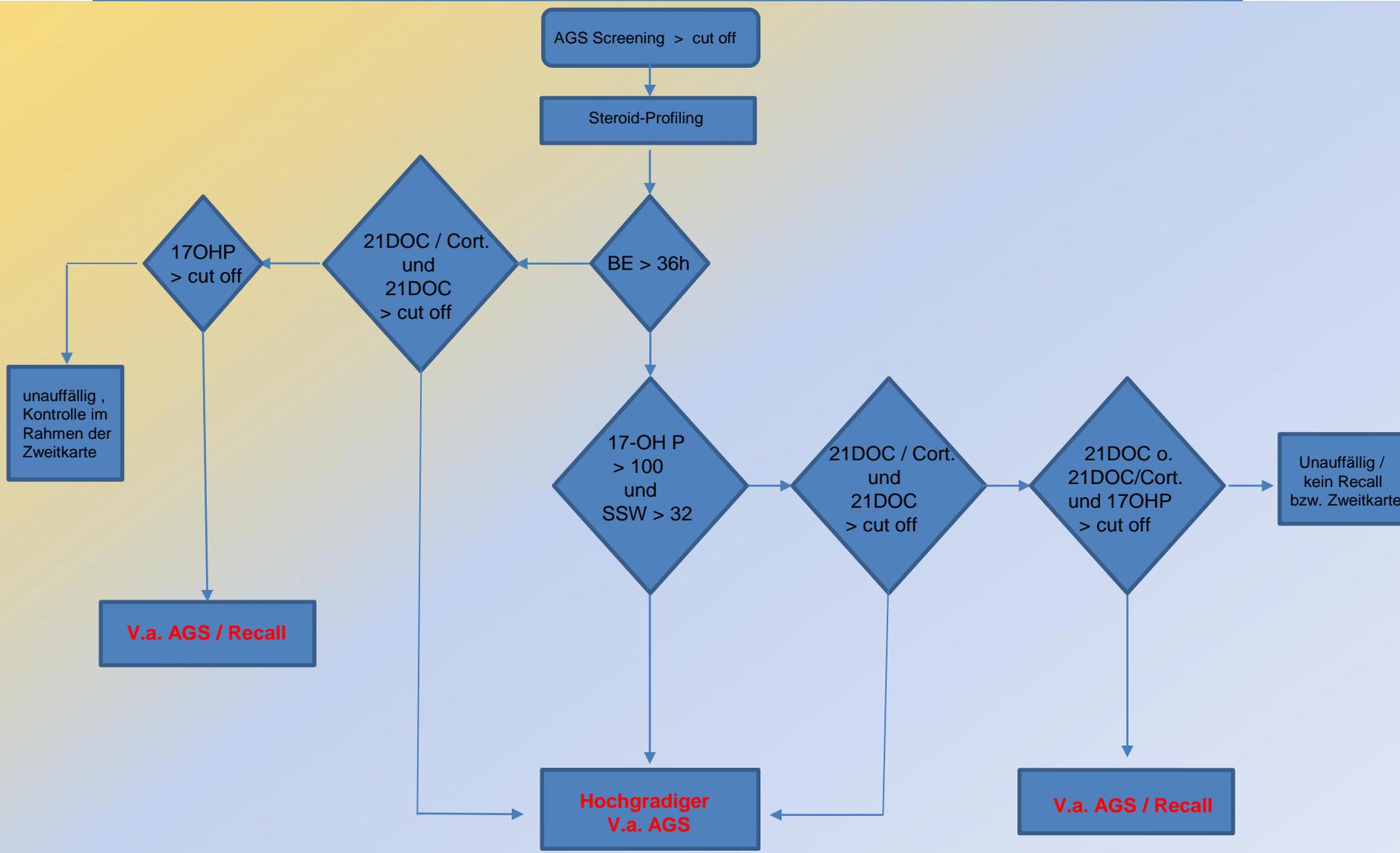


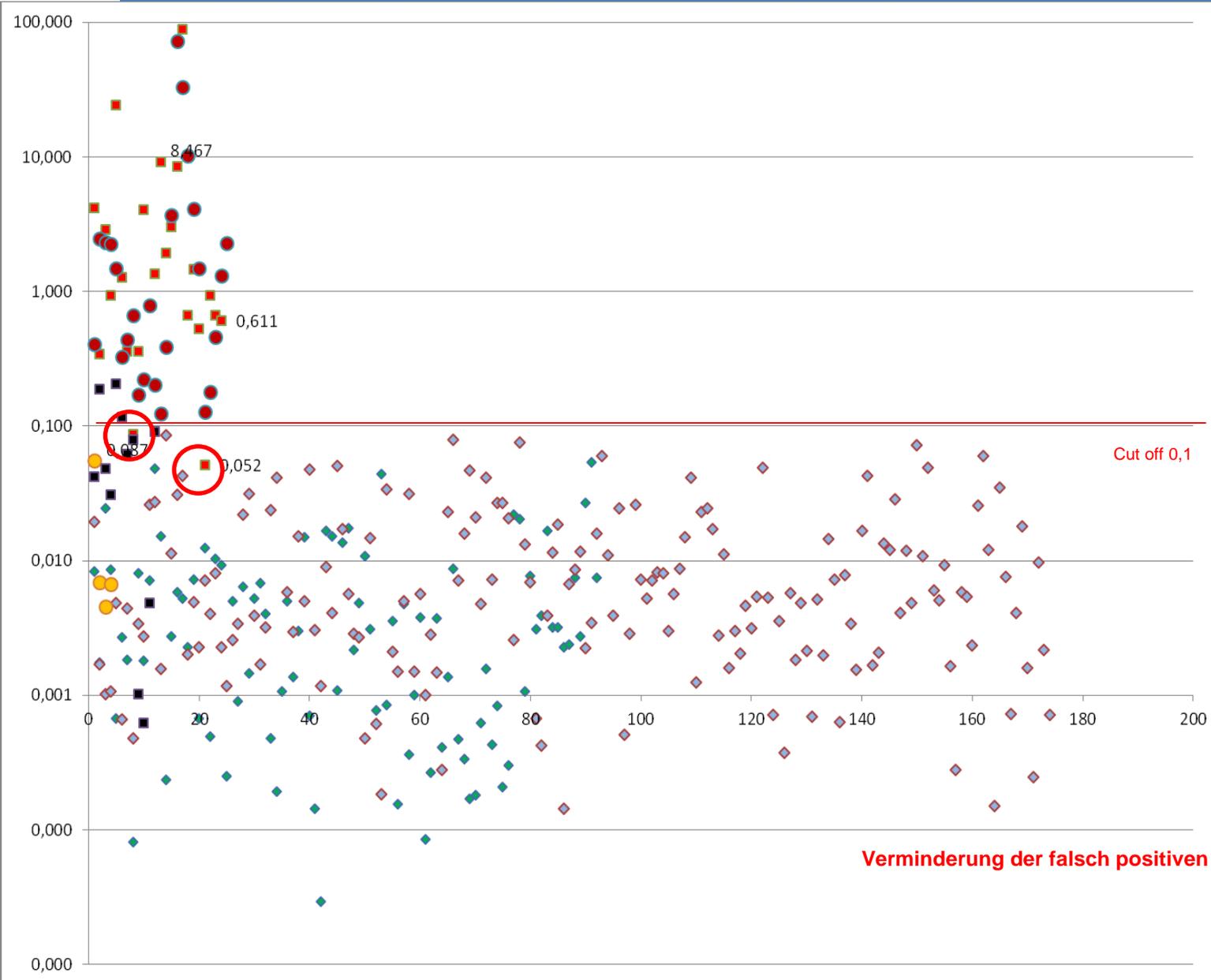
## 21DOC / Cort PE auffällig

- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◇ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos\_EK
- MS auff\_Diag pos\_KK
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag neg

**Verminderung der falsch positiven Sreening-Befunde um 98%**

n





### 21DOC / Cort PE auffällig

- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◆ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos\_EK
- MS auff\_Diag pos\_KK
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag neg

Verminderung der falsch positiven Sreening-Befunde um 99 %



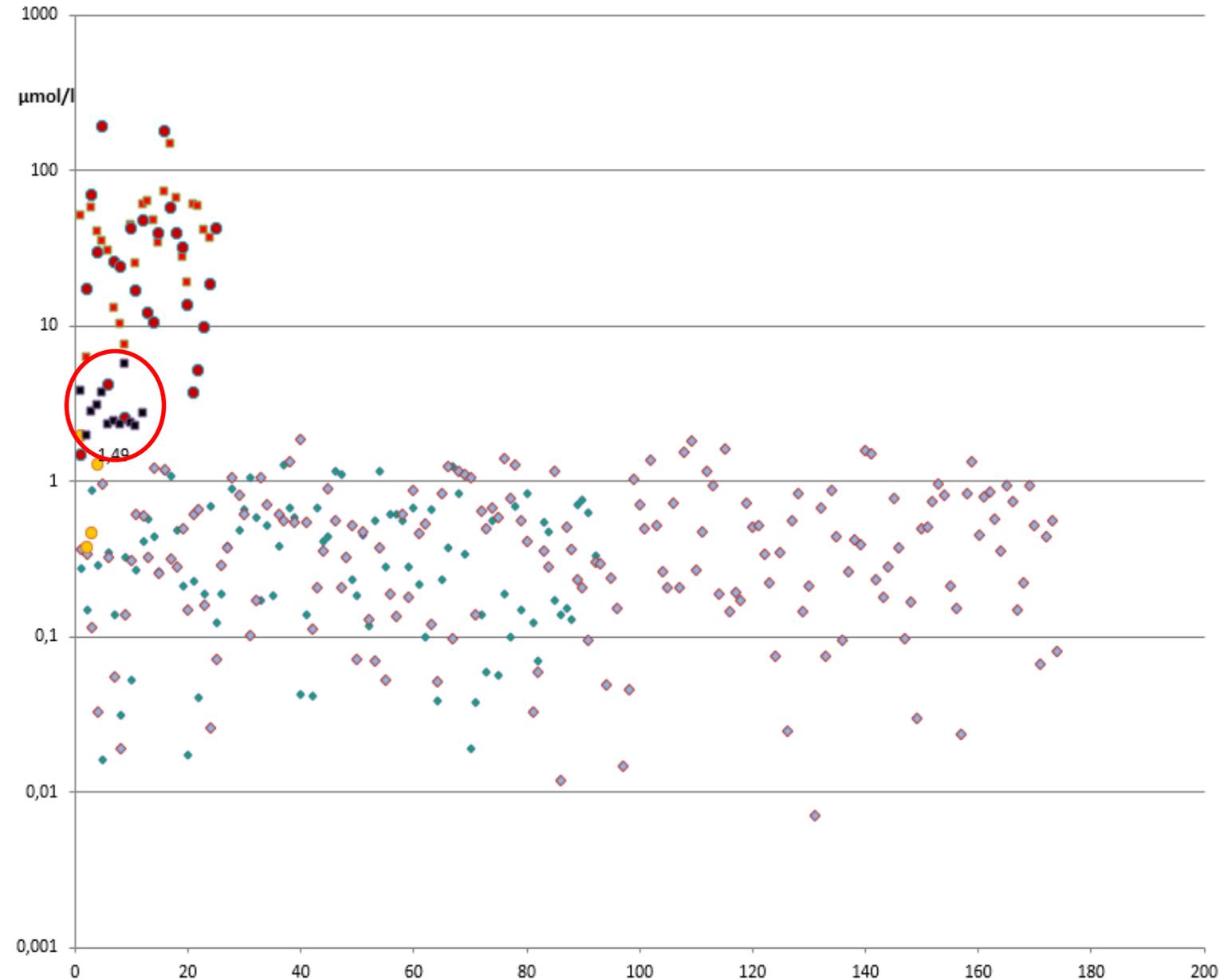
Daten zu den „falsch negativen“ 21-DOC / Cortisol Ratio

Bem	SSW	17OHP PE	17OHPMS	Cort	21DOC	11DOC	ANDR	21DOC/Cort	17OHPMS+Andr/Cort	17OHPMS/Cort
22 h	Reif	670	567	1160	59,9	6,65	376	0,052	0,813	0,489
49 h	Reif	77	31,2	117	10,2	2,2	18,1	0,087	0,421	0,267



## 21 DOC MS Werte PE auffällig

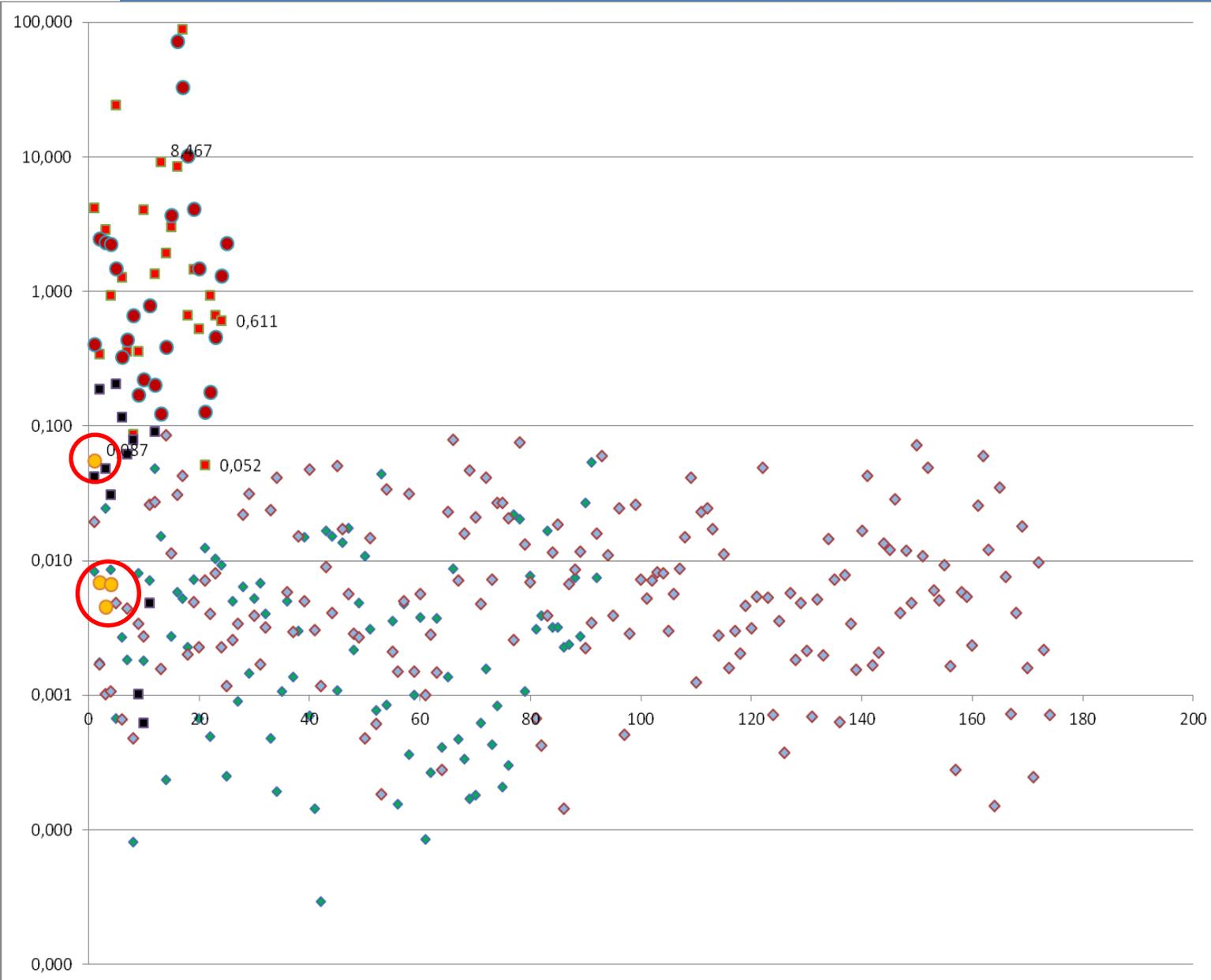
- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◇ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos EK
- MS auff\_Diag pos\_KK
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag neg





## Daten zu den „falsch positiven“ Auswertungen

SSW	17OHP PE	17OHPMS	Cort	21DOC	11DOC	ANDR	21DOC/Cort	17OHP+Andr/Cort	17OHPMS/Cort	Beurt
Reif	41,2	26,3	91	3,83	8,55	18,7	0,042	0,495	0,289	Verdacht
Reif	32	9,41	10,3	1,93	1,62	1,22	0,187	1,032	0,914	Verdacht
Reif	34	19,1	58,6	2,81	1,68	2,3	0,048	0,365	0,326	Verdacht
Reif	86	28,8	98,2	3,05	5,91	9,31	0,031	0,388	0,293	Verdacht
Reif	35	4,61	17,8	3,65	0,664	7,51	0,205	0,681	0,259	Verdacht
Reif	62	20,7	19,9	2,32	8,93	4,14	0,117	1,248	1,040	Verdacht
Früh	108	28,8	39,1	2,41	6,86	9,81	0,062	0,987	0,737	Verdacht
Reif	36	12,8	28,9	2,3	3,64	8,3	0,080	0,730	0,443	Verdacht
Früh	131	56,4	5570	5,65	29,1	7,63	0,001	0,011	0,010	Verdacht
Früh	209	78,5	3770	2,34	53,1	16	0,001	0,025	0,021	Verdacht
Reif	129	66,1	467	2,27	14,8	22,8	0,005	0,190	0,142	Verdacht
Reif	55	4,65	30	2,71	1,56	6,31	0,090	0,365	0,155	Verdacht



## 21DOC / Cort PE auffällig

- ◆ <32 SSW MS unauff Diag nicht best.
- ◇ Reif MS unauff Diag nicht best.
- MS auff\_Diag pos\_EK
- MS auff\_Diag pos\_KK
- MS neg\_Diag pos (EK+KK)
- MS auff\_Diag neg

n

**Daten zu den falsch negativen Steroid-Profil-Auswertungen:**

ID	Bem	SSW	Diagnose	17OHPMS	Cort	21DOC	11DOC	ANDR	21DOC/Cort
1302056	2,3 h	Reif	bestätigt	19,8	35,3	1,95	0,857	8,22	0,055
11_1416521_EK_D	0,8 h	Reif	bestätigt	26,9	55,1	0,378	2,53	2,29	0,007
11_1416616_KK_D	41,8 h	Reif	bestätigt	5,79	102	0,467	4,01	3,54	0,005
11_1416679_KK_D	3,7 t	Reif	bestätigt	0,62	188	1,26	0,843	0,307	0,007

- 1. Kind: 17-OH-Prog. Auffällig (Immun. Und MS), aber 21-Deoxycortisol und Quotient < cut off  
aber: Abnahme 2,3 Stunden nach der Geburt !**
- 2. Kind: Diagnose pränatal (Mutter AGS unter Cortisol-Behandlung)**
  - 1. Blutabnahme unmittelbar nach der Geburt**
  - 2. Blutabnahme bereits unter Behandlung**
  - 3. Blutabnahme bereits unter Behandlung**

Vielen Dank für die Unterstützung:

- Marina Stopsack / Dresden
- Jeannette Klein, Oliver Blankenstein / Berlin
- Cornelia Müller / Greifswald
- Sabine Rönicke / Magdeburg
  
- Rainer Hampel mit Team / Weiden

Besten Dank für Ihre Aufmerksamkeit