

Molekulargenetische Diagnostik bei Hyperandrogenämie, Hirsutismus, Fertilitätsstörungen oder Adrenogenitalem Syndrom (AGS)

Steroid-21-Hydroxylase (CYP21B, MIM 201910)
3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase (3 β -HSD, MIM 201810)
Steroid-11 β -Hydroxylase (CYP11B1, MIM 202010)
StAR-Gen (MIM 600617)

Indikationen für AGS-Diagnostik (21-Hydroxylase)

- Neugeborene mit Virilisierung (Klitorishypertrophie), intersexuellem Genitale oder Salzverlustsyndrom
- Differentialdiagnostik bei erhöhtem 17OH-Progesteron im AGS-Neugeborenencreening
- Pränataldiagnostik des AGS
- Geschwister und Partner von AGS-Indexpatienten (besonders bei Kinderwunsch)
- Patientinnen mit Hyperandrogenämie (Hirsutismus, Fertilitätsstörungen, Oligo- bzw. Amenorrhoe, PCO-Syndrom, prämaturer Pubarche) nach endokrinologischer Differentialdiagnostik

Klinische Formen des AGS (21-Hydroxylase Gendefekt):

- klassischer 21-Hydroxylasedefekt
mit Salzverlust
ohne Salzverlust (einfach virilisierend)
- nicht-klassischer 21-Hydroxylasedefekt
late-onset AGS
- (symptomatisches) heterozygoten AGS

Pathophysiologie und klinische Bedeutung

Enzymdefekte der Steroidbiosynthese der Nebennierenrinde sind eine häufige Ursache der Hyperandrogenämie und ihrer klinischen Folgeerscheinungen. Für einige dieser Störungen sind heute die genetischen Ursachen bekannt. Durch Funktionsuntersuchungen (z.B. ACTH-Test, Dexamethason-Suppressionstest, GnRHa-Test) kann eine Verdachtsdiagnose für den zugrunde liegenden Defekt gestellt werden. Die molekulargenetische Diagnostik ermöglicht dann den Nachweis von Mutationen in verschiedenen Genen der Steroidhormonsynthese.

Die wichtigste Ursache der adrenalen Hyperandrogenämie sind Gendefekte **der 21-Hydroxylase** (CYP21B-Gen). Das **klassische adrenogenitale Syndrom (AGS)** kommt in Mitteleuropa mit einer Häufigkeit von 1:7000 – 1:15000 vor. Es wird autosomal rezessiv vererbt. Bei Verdacht auf eine Schwangerschaft mit homozygotem (klassischem) AGS besteht die Möglichkeit einer **Pränataltherapie** mit Dexamethason. Die Pränataltherapie des AGS ist immer noch eine experimentelle Therapie. Wichtig sind der rechtzeitige Behandlungsbeginn (bis zur 6. SSW, spätestens 10. SSW) und die Vorbereitung der genetischen **Pränataldiagnostik** durch Untersuchung von Indexfall und Eltern. Die **Chorionbiopsie** (10.-11. SSW) ermöglicht eine frühzeitige Diagnosestellung, um unnötige Behandlungen gesunder bzw. männlicher Feten zu vermeiden. Die Pränataldiagnostik kann auch nach Amniozentese erfolgen.

Das nicht-klassische (late-onset) AGS tritt in Mitteleuropa mit einer Häufigkeit von ca. 1:25 - 1:200 auf. Die klinische Symptomatik kann bereits vor der Pubertät nachweisbar sein (prämatüre Adrenarche bzw. Pubarche, Großwuchs, akzeleriertes Knochenalter, leichte Klitorishypertrophie) oder sich erst in der Pubertät bzw. bei erwachsenen Frauen entwickeln (Hirsutismus, Akne, Seborrhoe, temporärer Haar- ausfall, Stirnglatze, Klitorishypertrophie, Oligo- bzw. Amenorrhoe, Infertilität). Bei Patientinnen mit klinischen Symptomen einer **Hyperandrogenämie** und **Fertilitätsstörungen** werden **heterozygote Mutationen** des CYP21B-Gens mit einer Häufigkeit von bis zu 30% (im Vergleich zu 2% in einer gesunden Kontrollpopulation) beschrieben. Über ähnliche Häufigkeiten dieses Gendefektes wurde auch bei Kindern mit prämatürer Pubarche bzw. prämatürer Adrenarche berichtet. Inwieweit Mutationen der 21-Hydroxylase kausal an der Entstehung der sehr unterschiedlichen klinischen Symptomatik einer Hyperandrogenämie beteiligt sind, ist bisher nicht geklärt. Eine relativ milde adrenale Hyperandrogenämie ist aber zumindest als Verstärkungsfaktor bei anderen Erkrankungen (z.B. PCO-Syndrom) anzusehen.

Bei Mutationsnachweis im Erwachsenenalter und bestehendem Kinderwunsch ist auch die Untersuchung des Partners notwendig.

Die Genotyp-Phänotyp-Korrelation der verschiedenen AGS-Formen zeigt eine große Variabilität, so daß jeder Fall individuell im Zusammenhang der klinischen Befunde, Hormonwerte und der genetischen Diagnostik bewertet werden muß. Bisher wurden **über 50 Mutationen im CYP21B-Gen** beschrieben. Die genetische Diagnostik muß deshalb durch **vollständige Gensequenzierung** erfolgen.

Bei **Kinderwunsch** ist auch eine genetische Untersuchung des Partners notwendig. Die Heterozygotenfrequenz für alle Formen des AGS liegt in Mitteleuropa bei mindestens 1:50, sie ist in Südeuropa wesentlich häufiger.

Mit der Einführung des **AGS-Neugeborenen Screenings** durch Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron (17OH-P) aus Trockenblut am 3.-5. Lebenstag sind häufiger erhöhte 17OH-P Spiegel abzuklären. In 80% der Fälle handelt es sich um Frühgeborene mit physiologisch erhöhtem 17OH-P in den ersten Lebenswochen. Eine schnelle Abklärung ist durch die zusätzliche Bestimmung von 21-Desoxycortisol möglich. Der Assay ist allerdings nur in wenigen Speziallaboratorien verfügbar. Bei klinischer Symptomatik (Klitorishypertrophie, intersexuelles Genitale, Gedeihstörung, Salzverlustsyndrom) ist neben einer hormonellen Differentialdiagnostik (17OH-P, Testosteron, ACTH, Renin usw.) innerhalb weniger Tage eine molekulargenetische Diagnostik möglich.

Nach ACTH-Stimulation finden sich häufig (bis zu 40% der Patientinnen mit Hyperandrogenämie) Hinweise auf einen **3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase-Defekt** (erhöhtes 17OH-Pregnenolon und/oder DHEA). Genetische Defekte des 3 β -HSD Typ-II Gens sind aber sehr selten (< 1% der Patientinnen mit Hyperandrogenämie). Der pathologische Anstieg von 17OH-Pregnenolon und DHEA beruht wahrscheinlich auf einer Hemmung des Enzyms in der Nebennierenrinde auf Proteinebene. Ob in diesen Prozeß andere Gene (z.B. Transkriptionsfaktoren) einbezogen sind, ist noch nicht geklärt.

Die anderen Enzymdefekte (**11 β -Hydroxylase, StAR-Gen**) sind extrem selten. Eine molekulargenetische Untersuchung führen wir nur nach Rücksprache durch. Differentialdiagnostisch kann durch eine Multisteroidanalyse aus Urin mittels GC-MS der Enzymdefekt in fast allen Fällen erfasst werden.

Methode:

DNA-Extraktion; PCR, vollständige DNA-Sequenzierung der entsprechenden Gene des Steroidmetabolismus

Untersuchungsmaterial:

2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

für Pränataldiagnostik - Chorionzottenbiopsie, Fruchtwasser oder kultivierte Amnionzellen

Dauer der Untersuchung:

ca. 4 Wochen

Pränataldiagnostik ca. 1 Woche

Mutationsnachweis auf der Basis einer Verdachtsdiagnose (Klinik, basale Hormonspiegel, Stimulationsteste)

Enzym bzw. Gen	Hormonbefunde
21-Hydroxylase (CYP21B)	<p><u>homozygot (klassisches AGS):</u> 17OH-P bereits basal massiv erhöht (> 2000 ng/dl) Altersabhängige Normwerte bei Neugeborenen beachten</p> <p><u>homozygot (late onset):</u> 17OH-Progesteron basal > 200 ng/dl, nach ACTH > 1000 ng/dl</p> <p><u>heterozygot:</u> 17OH-Progesteron nach ACTH > 300 ng/dl; 21-Desoxycortisol nach ACTH > 45 ng/dl (Nachweis von Gendefekten bei ca. 30% der Patientinnen)</p>
3β-Hydroxysteroiddehydrogenase (3β-HSD)	DHEA und 17OH-Pregnenolon nach ACTH-Stimulation massiv erhöht
11β-Hydroxylase (CYP11B1)	DOC und 11-Desoxycortisol nach ACTH-Stimulation erhöht evtl. Hypertonie und Virilisierung
17α-Hydroxylase (CYP17)	DOC und Corticosteron erhöht; Cortisol und Testosteron erniedrig Molekulargenetik nur nach individueller Rücksprache
StAR Protein (Steroidogenic acute regulatory protein) Lipoidhyperplasie der NNR	alle Steroidhormone und Metabolite erniedrig (z.T. in den ersten Lebensmonaten noch relativ normale Werte) Molekulargenetik nur nach individueller Rücksprache

ACTH-Test und Molekulargenetik des AGS:

- Die Bestimmung von 17OH-Progesteron (und 17OH-Pregnenolon, DHEA) nach ACTH-Stimulation ermöglicht **nicht** den sicheren Ausschluß bzw. Nachweis von Gendefekten der 21-Hydroxylase
der 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase (HSD3B2)
Im Vergleich mit molekulargenetischen Untersuchungen liefert der ACTH-Test bei Patientinnen mit Hyperandrogenämie bzw. PCO-Syndrom in ca. 20-30% der Fälle falsch positive und in ca. 10% falsch negative Ergebnisse.
- Bei Patientinnen mit Hyperandrogenämie, Hirsutismus, Fertilitätsstörungen, polycystischen Ovarien **und Kinderwunsch** sollte deshalb eine molekulargenetische Untersuchung des 21-Hydroxylasegens durchgeführt werden.
- Bei (heterozygotem) Mutationsnachweis muß auch der **Partner** der Patientin molekulargenetisch untersucht werden.
- Die Familie muß sowohl gynäkologisch-endokrinologisch als auch **humangenetisch** beraten werden.
- In dieser Beratung muß die Indikation zur **Pränataltherapie und Pränataldiagnostik** gestellt werden.

Voraussetzungen für die Pränataltherapie und Pränataldiagnostik des AGS

- Nachweis des Gendefektes (vollständige Genanalyse) beim Indexfall (AGS) und den Eltern oder heterozygoter (klassischer) Gendefekt bei beiden Partnern.
- Ausschluß von Kontaminationen der Chorion(Amion)-DNA
- Humangenetische Beratung
- Endokrinologische Beratung und Therapieführung
- Therapiebeginn vor der 6. - (9.) SSW

Literatur - Hyperandrogenämie, AGS

Joint LWPES/ESPE CAH Working Group. Consensus statement on 21-Hydroxylase deficiency from the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Pediatric Endocrinology (2002) J Clin Endocrinol Metab 87: 4048-4053

New MI et al. Prenatal diagnosis for congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies (2001) J Clin Endocrinol Metab 86: 5651-5657

White PC and Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-Hydroxylase deficiency (2000) Endocrine Reviews 21: 245-291

Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency (2001) Endocrinol Metab Clinics North America 30: 31-59

Lutfallah C et al. Newly proposed hormonal criteria via genotypic proof for type II 3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase deficiency (2002) J Clin Endocrinol Metab 87: 2611-2622

Kalantaridou SN and Chrousos GP. Monogenic disorders of puberty (2002) J Clin Endocrinol Metab 87: 2481-2494

Bachega TAS et al. Variable ACTH-stimulated 17-Hydroxyprogesterone values in 21-Hydroxylase deficiency carriers are not related to the different CYP21 gene mutations (2002) J Clin Endocrinol Metab 87: 786-790

Witchel SF et al. Candidate gene analysis in premature pubarche and adolescent hyperandrogenism (2001) Fertil Steril 75: 724-730

Dacou-Voutetakis C and Dracopoulou M. High incidence of molecular defects of the CYP21 gene in patients with premature adrenarche (1999) J Clin Endocrinol Metab 84: 1570-1574

Die angegebene Literatur können Sie per Fax oder E-mail in unserem Labor anfordern. **Stand 02/2005**