

# 17-OH-Progesteron

## im Serum und Speichel



<b>1. Einleitung</b> .....	<b>3</b>
1.1. Physiologie des 17-OH-Progesteron .....	3
1.2. Adrenogenitales Syndrom .....	3
1.2.1. <i>Typische Symptome beim Adrenogenitalen Syndrom (2)</i> .....	3
1.2.2. <i>Therapieüberwachung</i> .....	4
<b>2. 17-OH-Progesteron ELISA im Serum (RE52071)</b> .....	<b>6</b>
2.1. Normalwerte für Serum .....	6
2.2. Alters- und Tageszeitabhängigkeit .....	6
2.3. Abklärung von positiven Proben.....	9
2.4. IBL International 17-OH-Progesteron ELISA für Serum und Plasma .....	10
2.5. Methodenvergleich mit Referenzmethoden.....	11
2.5.1. <i>Methodenvergleich mit der LC-MS</i> .....	11
2.5.2. <i>Methodenvergleich mit der GC-MS</i> .....	12
<b>3. 17-OH-Progesteron Saliva ELISA (RE52271)</b> .....	<b>13</b>
3.1. Normalwerte im Speichel .....	13
3.2. Alter- und Geschlechtsabhängigkeit.....	13
3.3. Tageszeitabhängigkeit .....	14
3.4. Menstruationszyklus.....	16
3.5. IBL International 17-OH-Progesteron ELISA für Speichel .....	17
3.6. Methodenvergleich mit der Referenzmethode LC-MS.....	18
<b>4. Literatur</b> .....	<b>19</b>

# 1. Einleitung

## 1.1. Physiologie des 17-OH-Progesteron

17-Hydroxy-Progesteron (17-OH-P), ein C21-Steroid, wird zum größten Teil in der Nebennierenrinde aus Progesteron gebildet. Beim gesunden Mann entsteht 17-OH-P als Vorstufe der Testosteronbiosynthese in nicht unerheblichem Maße auch in den Testes. Bei der gesunden Frau wird 17-OH-P zusätzlich zu einem geringen Anteil als Vorstufe des Estradiols im Ovar synthetisiert.

17-OH-P ist funktionell ein Precursor bei der Biosynthese von Steroiden; es ist ein Zwischenprodukt im Syntheseweg der cortikalen Steroide Cortisol und Aldosteron. Die synthetisierten Hormone werden direkt in die Blutbahn abgegeben und zirkulieren hier zum überwiegenden Teil gebunden an Trägerproteinen. 17-OH-P ist im Plasma kaum an SHBG, zu ca. 41% an CBG und mit ca. 55% locker an Albumin gebunden (1). Gebundene Steroidhormone sind biologisch inaktiv.

## 1.2. Adrenogenitales Syndrom

Klinische Bedeutung erlangt das 17-OH-P als Leitsteroid bei der Diagnostik und der Therapieüberwachung des congenitalen adrenogenitalen Syndroms (AGS) (2). Unter AGS werden mehrere vererbte enzymatische Defekte bei der Cortisol-Biosynthese in der Nebennierenrinde zusammengefasst. Allen Defekten gemeinsam ist, dass Cortisol nur mit Hilfe einer vermehrten ACTH-Produktion und einer daraus folgenden Hyperplasie der Nebennierenrinde in einem ausreichenden Maße produziert werden kann.

Bei der am häufigsten auftretenden Form des AGS unterbleibt aufgrund eines Defektes der 21-Hydroxylase ein Syntheseschritt, wodurch es zu einem massiven Anstieg des 17-OH-P und zu verminderter Cortisol-Bildung kommt. Die unzureichende Feedback-Hemmung des übergeordneten Regulationszentrums durch Cortisol führt zu einer chronisch gesteigerten Sekretion von ACTH, wodurch die Nebennierenrinde hyperplastisch wird und übermäßig Steroide produziert, die nicht C21-hydrolysiert werden. Es entstehen große Mengen an Androgenen (Androstendion, Testosteron), welche zur Störung der geschlechtlichen Differenzierung und zur klinischen Symptomatik der Virilisierung beitragen (3). Ist neben der Cortisol- auch die Aldosteronproduktion gestört, so kann dies unbehandelt zu schweren Entgleisungen des Flüssigkeitshaushaltes kommen und damit bei Neugeborenen rasch zum Tode führen. Man spricht bei der Mitbeteiligung des Aldosteronsyntheseweges von einem AGS mit Salzverlustsyndrom.

In Abhängigkeit vom Schweregrad des Enzymdefektes können die Symptome des AGS mit der Pubertät oder später auftreten oder bei Frauen erst im Rahmen der Kinderwunschbehandlung diagnostiziert werden (late-onset-AGS).

### 1.2.1. Typische Symptome beim Adrenogenitalen Syndrom (2).

Inadäquate Glucocorticoidproduktion:

- Müdigkeit, Apathie, verminderte Stresstoleranz.
- Hypoglykämie, erhöhte Infektneigung.
- Addisonähnliche Krisen.
- Hyperplasie der Nebennierenrinde.

**Inadäquate Mineralocorticoidproduktion:**

- Hyponatriämie, Hyperkaliämie.
- Salzverlustsyndrom.
- metabolische Azidose.
- Blutdruckabfall.

**Vermehrte Androgenproduktion:****Pränatal:**

- Virilisierung des äußeren weiblichen Genitals.

**Postnatal:**

- Pseudopubertas praecox bei beiden Geschlechtern.
- akzelerierendes Knochenalter.
- erhöhtes Wachstum.

Da AGS eine der häufigsten angeborenen Erkrankungen mit einer Inzidenz von weltweit ca. 1:12.000 ist (4), kann die Diagnostik bereits mit einem Neonatal-Screening beginnen, indem 17-OH-P aus einem getrockneten Blutropfen bestimmt wird. Als Bestätigungstest ist die Bestimmung von 17-OH-P im Serum akzeptiert. Auch für spätere Diagnostik hat sich die Bestimmung von 17-OH-P im Serum etabliert. Unbehandelte Patienten mit AGS haben 2- bis mehr als 1000fach erhöhte 17-OH-P-Spiegel.

**1.2.2. Therapieüberwachung**

Die Behandlung des AGS basiert auf der bedarfsgerechten Substitution der zu wenig gebildeten Hormone. Als Glucocorticoide kommen Hydrocortison, nach Abschluss des Längenwachstums auch Prednison oder Dexamethason zum Einsatz. Die Dosierung beträgt in etwa 15 bis 20 mg/Hydrocortison pro m<sup>2</sup> Körperoberfläche. Sie wird in der Regel auf 3 Dosen pro Tag aufgeteilt, wobei ca. 50% morgens verabreicht werden, der Rest mittags und abends.

Als Mineralocorticoid werden 0,025 bis 0,1 mg/d Fludrocortison (Astonin H) verabreicht. In den ersten Lebensmonaten wird zusätzlich bei Vorliegen eines Salzverlustsyndroms eine Substitution von NaCl empfohlen.

Ein Problem bei der Betreuung von AGS-Patienten ist, wie so oft bei chronisch kranken Kindern und Jugendlichen, die zum Teil mangelnde Mitarbeit der Patienten. Es muss viel Überzeugungsarbeit geleistet werden, um Eltern und Patienten von einer zuverlässigen Tabletteneinnahme und regelmäßigen ambulanten Verlaufskontrollen zu überzeugen. Die Angst der Kinder vor der schmerzhaften Blutabnahme kann eine Stressbelastung bedeuten, die zu falsch hohen 17-OH-P-Werten führt. Die Folgen einer unzureichenden Therapie sind den Patienten oft nicht bewusst, da sie keinen akuten Leidensdruck verspüren, sondern diesen erst oft zu einem viel späteren Zeitpunkt wahrnehmen. Ferner sind unzureichend substituierte Patienten in akuten Stresssituationen gefährdet und können sogar versterben.

Als Alternative wird die Bestimmung von 17-OH-P im Speichel vor allem für die Therapiekontrolle und die individuelle Dosierung in zunehmendem Maße eingesetzt.

Im Speichel von AGS-Patienten sind ebenso wie im Serum die 17-OH-P-Werte deutlich erhöht und können weit mehr als das 100fache der 17-OH-P-Werte der Population der Gesunden erreichen.

Ausgehend von umfangreichen Beobachtungen an den untersuchten Patienten mit unterschiedlichem Wachstumsverhalten wurden Richtwerte im Speichel zur Beurteilung der klinischen Einstellung definiert. Die drei Situationen mit zu starker, ausreichender und ungenügender Suppression der Nebennierenrinde nach (5) sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

Tab. 1: Referenzangaben von 17-OH-P im Morgen-, Mittags- und Abendspeichel (pg/mL) in Abhängigkeit von der Suppression der Nebennierenrinde von Kindern mit AGS (1-17 Jahre) nach (5).

Suppression der Nebennierenrinde	17-OH-P im Speichel (pg/mL)		
	früh	mittags	abends
zu stark	<200	<100	<50
gut	200 – 1000	100 – 300	50 – 100
zu gering	>1000	>300	>100

Die Erfassung der 17-OH-P-Menstruationsrhythmik sollte ein zusätzliches Kriterium für die optimale Einstellung der Corticoidtherapie bei AGS-Patientinnen mit Kinderwunsch sein.

Die 17-OH-P-Konzentrationen im Speichel von AGS-Patientinnen zeigen Verläufe, die nicht mit denen normaler Zyklen vergleichbar sind (6). Ein Unterschied zwischen postmenstrueller und prämenstrueller Hälfte des Zyklus ist nicht vorhanden. Die Werte liegen innerhalb großer Schwankungsbreiten auf hohem Niveau. Damit liegen die Konzentrationen im Speichel der AGS-Patientinnen während des gesamten Zyklus weit über dem lutealen Niveau gesunder Probandinnen.

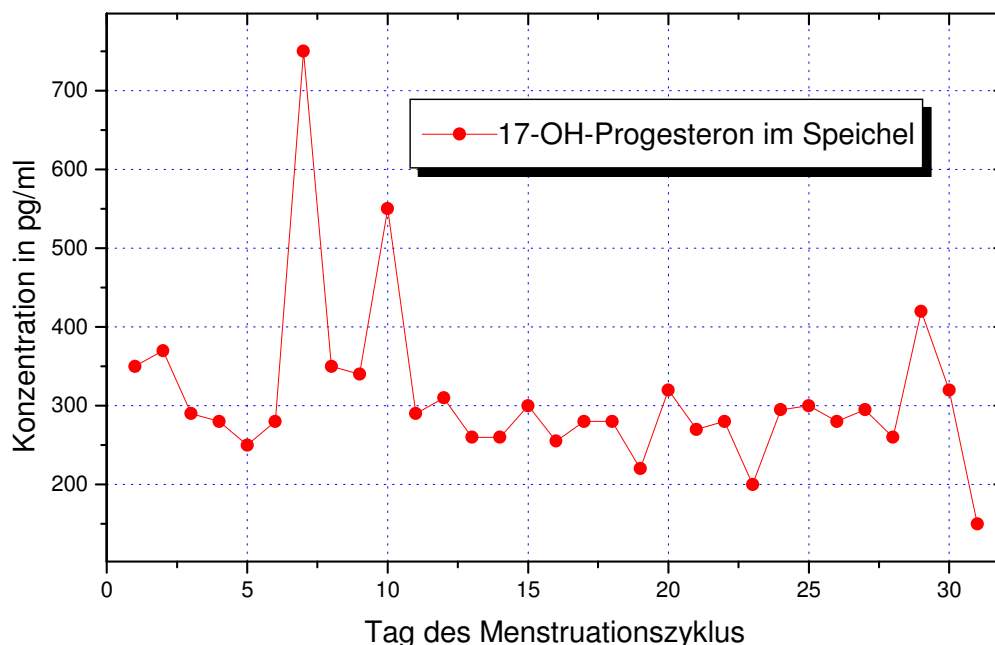


Abb.1: Verlauf der morgendlichen 17-OH-Progesteron-Konzentration im Speichel junger AGS-Patientinnen (N=10) während des Menstruationszyklus (Mittelwerte), nach (6). Das Ziel der Therapie liegt nach Höpffner (7) darin, die Dosierung so zu steuern, dass die 17-OH-P-Werte im Speichel während des Menstruationszyklus unter 600 pmol/L (200 pg/mL) gemessen werden.

## 2. 17-OH-Progesteron ELISA im Serum (RE52071)

### 2.1. Normalwerte für Serum

Die 17-OH-P-Konzentration im Serum ist abhängig vom Lebensalter, Tageszeit, Geschlecht, Phase des Menstruationszyklus und vom Vorliegen einer Schwangerschaft. Auch physischer und psychischer Stress beeinflussen die normalen 17-OH-P-Werte.

### 2.2. Alters- und Tageszeitabhängigkeit

Die 17-OH-P-Konzentration nimmt in den ersten Lebensmonaten ab (Abb. 2) und verändert sich im Laufe der Kinderjahre kaum (Abb. 3). Es sind keine geschlechtsspezifischen Unterschiede vorhanden (Tab. 2):

Tab. 2: 17-OH-Progesteron-Konzentrationen im Serum von gesunden Jungen und Mädchen (1 Monat bis 8 Jahre). Die Werte wurden mit dem IBL ELISA, Kat.-Nr. RE52071 gemessen.

Geschlecht	Männlich	Weiblich
Anzahl (n)	124	98
Median (ng/mL)	0.29	0.34
5%- Perzentile (ng/mL)	0	0
95%- Perzentile (ng/mL)	2.79	1.97

In der Pubertät kommt es zu einem Anstieg des 17-OH-P, der bei Mädchen ein bis zwei Jahre früher beginnt als bei Jungen. Im Vergleich zum Kindesalter liegen die pubertären Werte ca. 1,5mal höher.

Die folgenden Grafiken zeigen die 17-OH-P-Konzentrationen von Klein- und von Schulkindern (Abb. 2 und Abb. 3)

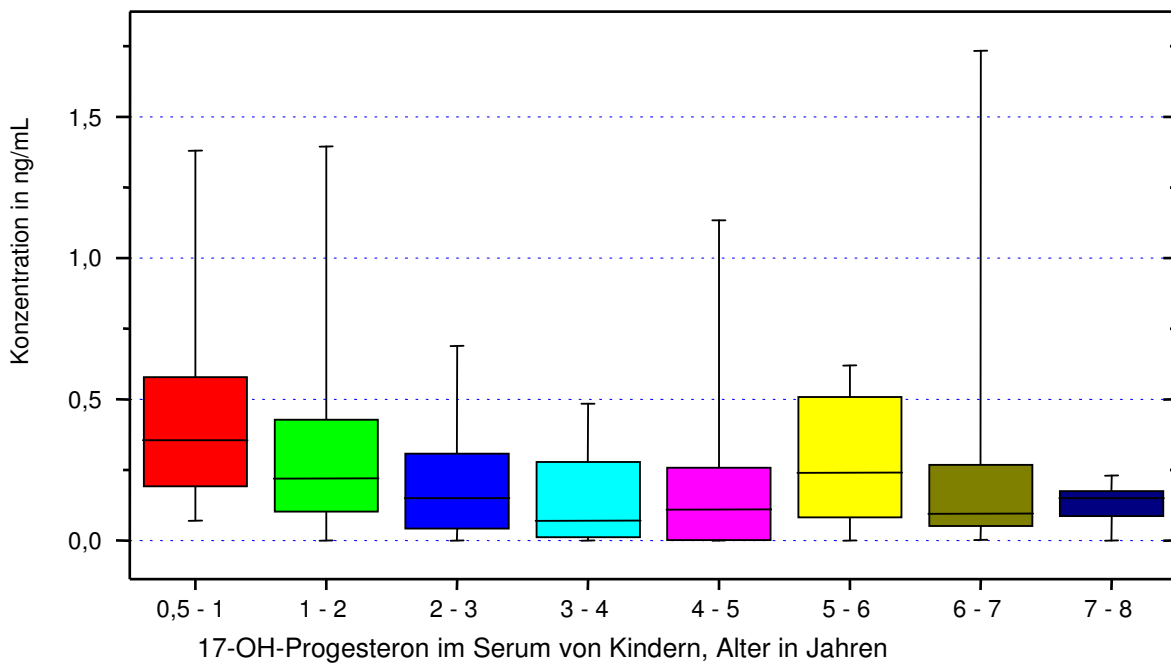
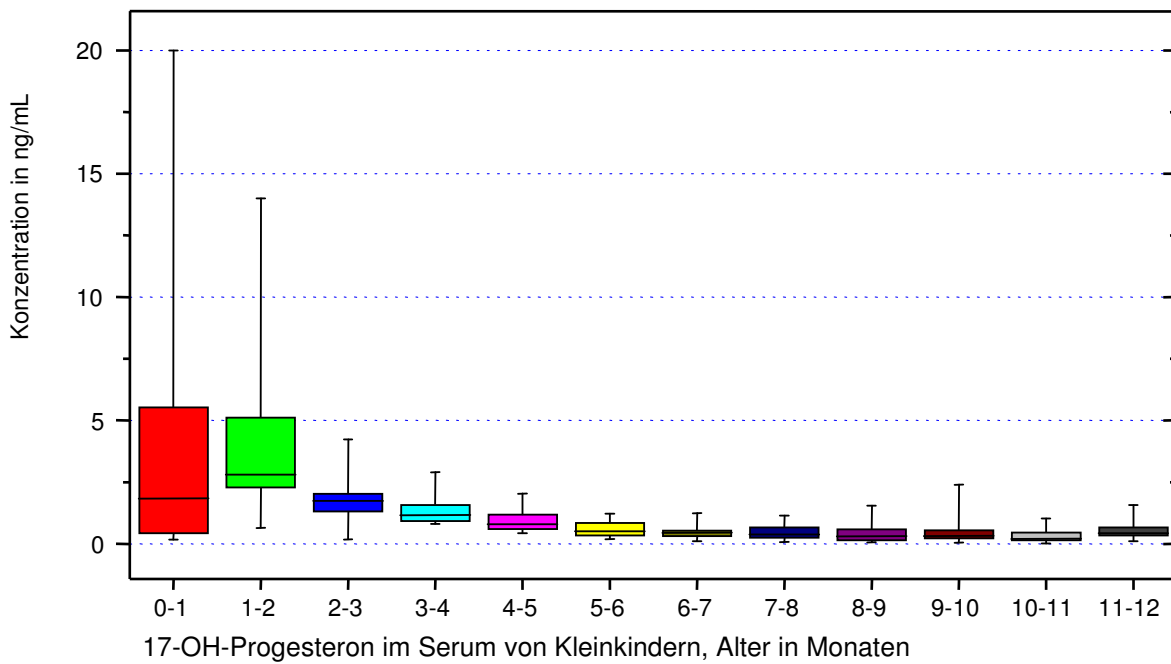


Abb. 2 und 3: Altersabhängigkeit der 17-OH-Progesteron-Konzentrationen im Serum von 195 gesunden Kleinkindern (bis zu 1 Jahr alt) und von gesunden 139 Kindern (1 bis 8 Jahre alt). Darstellung im Box-Whisker-Diagramm. Median, 25-75% Perzentile (Box), 10-90% Perzentile (Linie). Die Werte wurden gemessen mit dem IBL ELISA, Kat.-Nr. RE52071.

Bei jungen männlichen Erwachsenen werden ca. 3- bis 5mal höhere Werte gemessen als bei Jungen, allerdings mit deutlichen Schwankungen. Im Laufe des Lebensalters nimmt die 17-OH-P-Konzentration im Serum ab. Pirke et al. (8) untersuchten in einer Studie insgesamt 80 gesunde Männer zwischen 19 und 93 Jahren, welche in 2 Altersgruppen unterteilt wurden. Deren Vergleich ergab einen altersbedingten 17-OH-P-Abfall um 47,5%. Während die jüngeren Probanden (n=45, 19-54 Jahre) eine mittlere 17-OH-P Konzentration von 1,39 ng/mL aufwiesen, betrug der Hormonspiegel in der älteren Gruppe (n=35, 68-93 Jahre) nur noch 0,73 ng/mL. Seeland (9) fand mit zunehmendem Lebensalter einen statistisch hochsignifikanten altersbedingten 17-OH-P-Abfall um 0,03 ng/mL pro Jahr.

Die 17-OH-P-Konzentration im Serum von jungen gesunden Frauen ist ebenso wie bei Männern deutlich höher als die der Mädchen und abhängig von der Phase des Menstruationszyklus. In der Lutealphase werden 2- bis 3mal höhere Werte als in der Follikelphase gemessen.

Im Verlaufe der Schwangerschaft steigt 17-OH-P deutlich an.

Die mit dem IBL 17-OH-Progesteron-ELISA ermittelten Normalbereiche sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Tab. 3: 17-OH-P-Normalwerte im Serum, gemessen mit dem IBL ELISA, Kat.-Nr. RE52071

17-OH-Progesteron		Anzahl (n)	Median (ng/mL)	5% - 95% Perzentile (ng/mL)
Neugeborene (0 - 10 Tage)		11	1,28	0,29 - >20
Kinder	1 – 6 Monate	73	1,29	0,34 - 4,66
	6 – 12 Monate	110	0,36	0,08 - 1,26
	1 – 8 Jahre	139	0,17	0,00 - 0,82
Männer		48	0,7	0,2 - 1,4
Frauen	Follikuläre Phase	16	0,4	0,3 - 0,9
	Lutealphase	16	0,8	0,3 - 2,5
	Schwangere, 3. Trimester	51	9,7	2,8 - 13,2

Für 17-OH-P ist ein Tagesrhythmus mit höheren Werten am Morgen und Abnahme der Konzentrationen während des Tagesverlaufes bekannt. Serumproben sollten daher am Morgen gewonnen werden.

In allen Altersgruppen (Ausnahme Kleinstkinder bis zu etwa 6 Monate) wurden 17-OH-P-Werte unterhalb von 3,2 ng/mL gefunden.

Unmittelbar nach der Geburt werden sehr hohe 17-OH-Progesteron-Werte gemessen, die, wie Literaturdaten zeigen, schnell zurückgehen (10):

Tab. 4: 17-OH-P-Werte im Serum (NS = Nabelschnurblut) nach der Geburt (10).

Zeit	Ns. venös	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	4 d	7 d	2w–2m
(ng/mL)	32,9	6,6	5,9	4,0	2,0	0,9	0,8	0,9	0,8

### 2.3. Abklärung von positiven Proben

Ein AGS-Verdacht kann oft erst durch Verlaufskontrolle und ansteigende 17-OH-P-Werte geäußert werden. Aus diesem Grund sollte die 17-OH-P-Konzentrationen immer im gleichen Labor und mit gleicher Methodik gemessen werden.

Anhaltend hohe 17-OH-P-Werte sollten in Folgeuntersuchungen (17-OH-P nach Extraktion, Urinsteroide, ACTH-Test bzw. molekular-genetische Analysen) abgeklärt werden. Artificielle Konzentrationserhöhungen können durch hydrophile Konjugate von Steroidhormonen bedingt sein.

Therapeutische Konsequenzen sollten nicht allein aufgrund der mit einem Test ermittelten Werte getroffen werden, sondern nur unter Berücksichtigung aller klinischen Beobachtungen und weiterer diagnostischer Mittel (11).

Folgendes Extraktionsprotokoll kann empfohlen werden:

- 150 µL Probe (Serum oder Plasma) auf den Boden von Glasröhrchen pipettieren.
- 1,5 mL eines Ethylacetat-Hexan-Gemisches (3:2-Volumenanteile) zugeben (Qualität der Lösungsmittel: spektroskopisch rein).
- 60 sec vortexen, dann stehen lassen bis sich die Phasen getrennt haben.
- 1 mL der organischen Phase (obere Schicht) abtrennen und unter einem Luft- oder Stickstoffstrom zur Trockne eindampfen.
- 100 µL Null-Standard zugeben und bei Raumtemperatur mindestens 30 Minuten auf einem Schüttler (200 rpm) inkubieren oder während der Inkubation mehrfach schütteln.

Die Untersuchung der Seren von 135 gesunden Kleinstkindern ergab die folgenden Normalbereiche, gemessen mit dem IBL 17-OH-Progesteron-ELISA, Kat.-Nr. RE52071:

	17-OH-Progesteron im Serum					
	ohne Extraktion			mit Extraktion		
Alter in Monaten	0 - 1	1 - 6	6 - 12	0 - 1	1 - 6	6 - 12
Anzahl	8	46	81	8	46	81
Median (ng/mL)	0,68	1,17	0,38	0,53	0,42	0,13
5%-Perzentile (ng/mL)	0,19	0,40	0,06	0,11	0,11	0,05
95%-Perzentile (ng/mL)	>20	3,08	1,11	18,83	0,91	0,55

Tab. 5: 17-OH-Progesteron-Normalbereiche im Serum von Kleinstkindern, mit und ohne Extraktion, gemessen mit dem IBL 17-OH-Progesteron-ELISA, Kat.-Nr. RE52071.

## 2.4. IBL International 17-OH-Progesteron ELISA für Serum und Plasma

In Folgenden sind wesentliche Testcharakteristika des 17-OH-Progesteron ELISA für Serum und Plasma zusammengefasst.

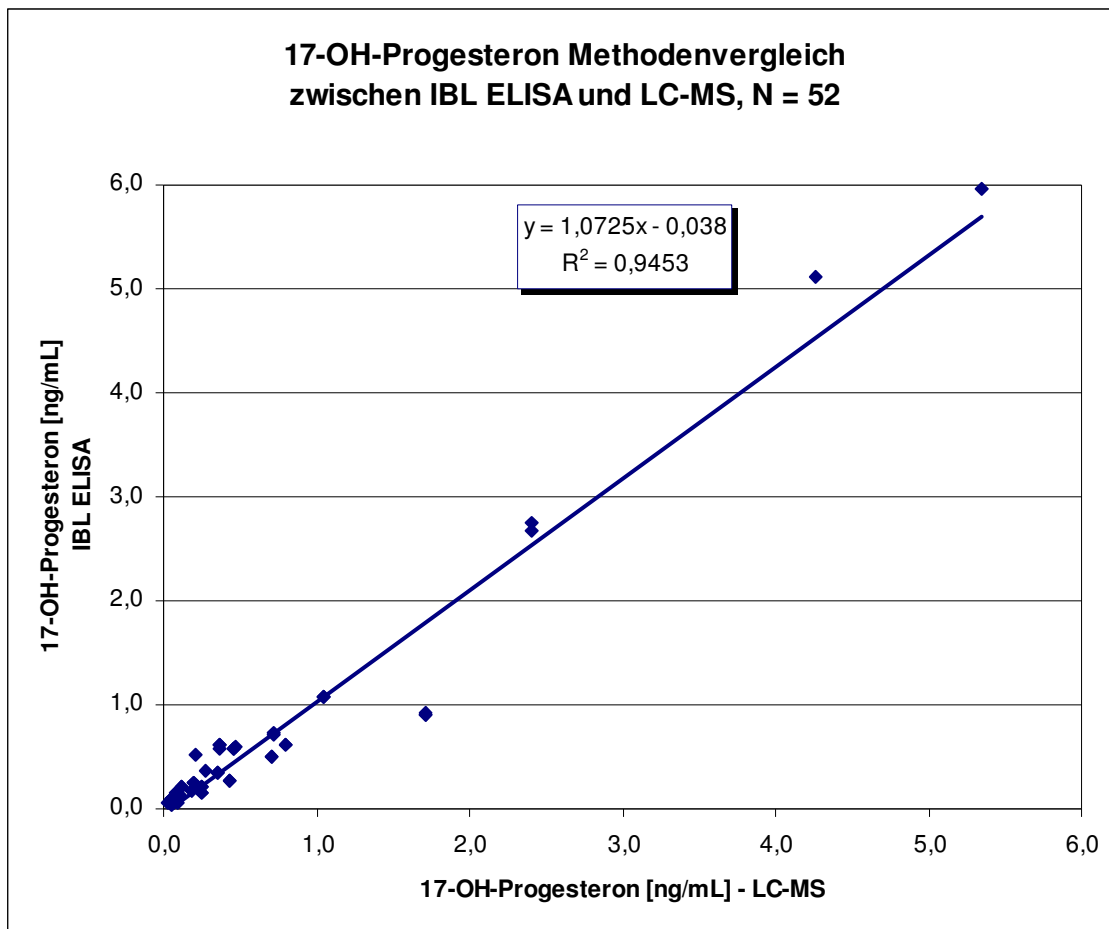
<b>Prinzip:</b>	Kompetitiver Enzymimmunoassay		
<b>Zweck:</b>	Quantitative Bestimmung von gesamtem 17-OH-Progesteron im Serum und im EDTA-Plasma		
<b>Zertifizierung:</b>	CE-Kennzeichnung und FDA 510(k) exempt		
<b>Format:</b>	12 Mikrotiter-Strips mit jeweils 8 abbrechbaren Wells		
<b>Probe:</b>	25 µL Serum oder EDTA-Plasma		
<b>Standards:</b>	7 Standards gebrauchsfertig 0; 0,15; 0,5; 1,5; 3,0; 7,5; 20,0 ng/mL		
<b>Inkubation:</b>	60 min (Raumtemperatur, Schüttler) 30 min (Raumtemperatur)		
<b>Substrat:</b>	Tetramethylbenzidin (TMB)		
<b>Erwartete Werte:</b>		<u>5% - 95% Perzentile</u>	
	Kinder:	1 – 6 Monate	0.34 – 4.7 ng/mL
		6 – 12 Monate	0.08 – 1.3 ng/mL
		1 – 8 Jahre	0.0 – 0.82 ng/mL
	Männer		0.2 – 1.4 ng/mL
	Frauen	follikuläre Phase	0.3 – 0.9 ng/mL
		lutealphase	0.3 – 2.5 ng/mL
		schwanger(3.Trimenon)	2.8 – 13.2 ng/mL
<b>Sensitivität:</b>	0,03 ng/mL		
<b>Präzision:</b>	Intra-assay:	2,8 – 4,9 %	bei 2,44 – 11,4 ng/mL
	Inter-assay:	5,8 – 9,2 %	bei 0,26 – 5,74 ng/mL
<b>Spezifität:</b>	Kreuzreaktivität (Abraham-Methode)		
		17-OH-Pregnenolon	1,7 %
		Progesteron	1,4 %
		11-Desoxycortisol	1,3 %
<b>Kontrollen:</b>	2 Kit-Kontrollen		
<b>Kat.-Nr.:</b>	RE 52071		

## 2.5. Methodenvergleich mit Referenzmethoden

### 2.5.1. Methodenvergleich mit der LC-MS

52 Seren von Kindern mit und ohne AGS wurden in einem unabhängigen Labor mit dem IBL ELISA und einer LC-MS/MS-inhouse-Methode gemessen.

Die nachfolgende Graphik zeigt, dass die mit dem IBL ELISA ermittelten Werte sehr gut mit der LC-MS Methode korrelieren:

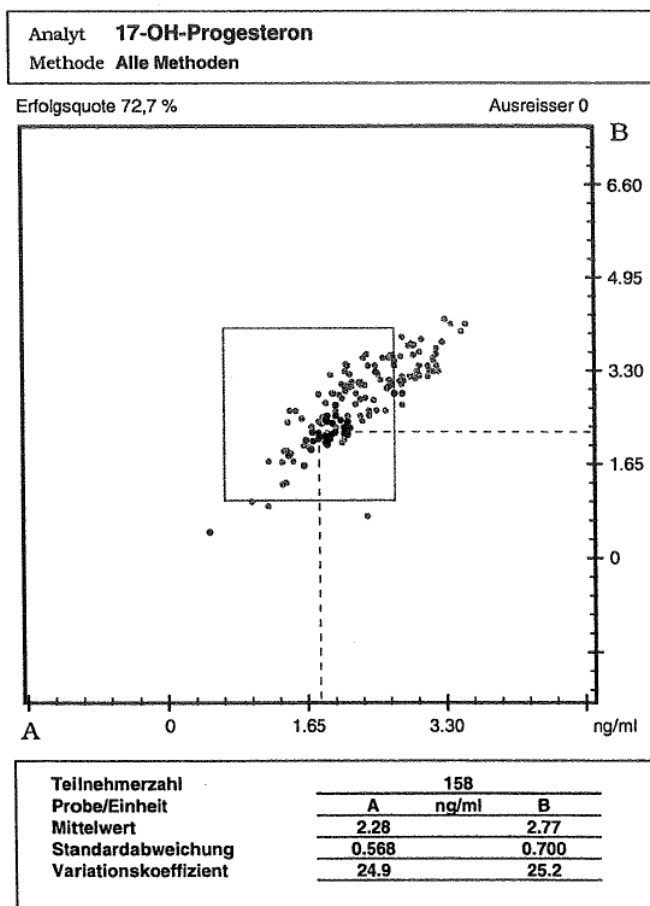


### 2.5.2. Methodenvergleich mit der GC-MS

Außerdem nimmt IBL regelmäßig u. a. an den Ringversuch der Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKL) mit dem IBL 17-OH-P ELISA teil. Die Proben werden mit der Referenzmethode GC-MS verglichen und dies ermöglicht, die richtige Kalibrierung unseres Assays stets zu überprüfen.

Der Reagenzienschlüssel für IBL ist die Nummer 41, der Methodeschlüssel für den ELISA die Nummer (M) 2.

Trotz hoher Teilnehmerzahl ist meistens eine relative geringe Streuung unserer Teilnehmer festzustellen. Dieses spricht für die Stabilität und Reproduzierbarkeit unseres Assays.



**Probe A (RMW = 1.69 ng/ml)**

M	Kit	N	Min	16.P	50.P	84.P	Max	0	1.65	3.3
Alle	158	0.500	1.73	2.17	2.93	3.55				
1	36	3	1.20	1.47		1.84				
1	41	4	1.42	2.06		2.28				
1	44	17	1.60	2.05	2.70	2.94	3.12			
1	52	3	1.36	1.62		3.37				
1	53	13	2.05	2.05	2.19	2.39	2.64			
1	99	11	1.88	1.94	2.13	2.53	2.78			
1	111	41	1.90	2.31	2.89	3.20	3.55			
1	143	4	1.39	1.47		1.69				
2	35	8	2.10	2.12	2.31	2.45	2.49			
2	41	34	0.500	1.72	1.92	2.15	2.80			
2	111	3	1.66	1.19		1.40				
11	99	5	1.45	1.53		2.15				

**Probe B (RMW = 2.53 ng/ml)**

M	Kit	N	Min	16.P	50.P	84.P	Max	0	1.65	3.3	4.95	6.6
Alle	158	0.460	2.10	2.87	3.49	4.22						
1	36	3	1.70	1.85		2.09						
1	41	4	1.88	2.95		3.09						
1	44	17	2.40	2.76	3.54	3.75	3.77					
1	52	3	1.69	1.99		4.13						
1	53	13	0.740	2.87	3.10	3.41	3.53					
1	99	11	2.74	2.78	3.05	3.32	3.56					
1	111	41	2.20	2.68	3.20	3.72	4.13					
1	143	4	1.70	1.86		1.95						
2	35	8	2.10	2.21	2.50	2.59	2.60					
2	41	34	0.460	2.02	2.21	2.50	3.28					
2	111	3	0.920	1.60		1.92						
11	99	5	2.59	2.60		3.40						

Andere Kits (Anzahl):  
1 13(1), 1 43(2), 1 49(1), 1 76(1), 2 42(2), 2 76(1), 2 99(1), 4 44(1), 4 111(1), 7 99(1).

Die Abweichung Ihrer Ergebnisse vom Median des zugehörigen Unterkollektives (Kit) beträgt: A -6.10 %      B -0.23 %

Hormonbestimmung Gruppe 1, HM03/08

### 3. 17-OH-Progesteron Saliva ELISA (RE52271)

#### 3.1. Normalwerte im Speichel

Im Speichel wird freies 17-OH-P in einem mehr als 10fach tieferen Messbereich gefunden als das gesamte 17-OH-P im Serum. Serum- und Speichelwerte von Probanden korrelieren miteinander. Insbesondere dann, wenn Probanden mit deutlich pathologisch erhöhten Werten in den Vergleich einbezogen werden, sind die Korrelationsdaten sehr gut.

Krüger (12) fand bei der Untersuchung von 207 Serum-Speichel-Paaren, die im normalen und im pathologischen Bereich von 0-15 ng/mL Serumkonzentration lagen, folgenden Zusammenhang:

Serum = 28,8 x Speichel - 0,4; R=0,98; n =207

#### 3.2. Alter- und Geschlechtsabhängigkeit

Zwei Studien wurden mit Speichelproben von 129 augenscheinlich gesunden Kindern (6 - 12 Jahre), 132 Männern (21 - 70 Jahre alt) und 252 nicht schwangeren Frauen mit regulärem Menstruationszyklus (21-50 Jahre alt) durchgeführt.

Die Speichelproben wurden vormittags entnommen, gefroren bei -20°C und mit dem IBL 17-OH-P ELISA (RE52271) gemessen.

Folgende Werte ergaben sich:

Tab. 6: Zusammenfassung der Normalwerte für 17-OH-P in Morgenspeichel von gesunden Kindern und Erwachsenen (pg/mL), gemessen mit dem IBL 17-OH-Progesteron Saliva ELISA (RE52271)

	Alter (Jahre)		Mittelwert	S.D.	Bereich 5 - 95%
Kinder	6 – 12	N = 129	16,9 pg/mL	9,5 pg/mL	3,0 – 32,9 pg/mL
Frauen	21 – 50	Follikelphase: N = 124	22,0 pg/mL	11,1 pg/mL	8,2 – 41,1 pg/mL
		Lutealphase: N = 128	51,2 pg/mL	17,3 pg/mL	28,1 – 84,8 pg/mL
Männer	21 – 70	N = 152	24,9 pg/mL	12,6 pg/mL	10,6 – 54,8 pg/mL

Bei Erwachsenen steigen die 17-OH-P-Werte im Speichel an. Frauen zeigen darüber hinaus die zu erwartenden Unterschiede in Abhängigkeit des Menstruationszyklus (10).

### 3.3. Tageszeitabhängigkeit

Die folgende Abbildung (modifiziert nach (12)) zeigt die circadiane Rhythmik der 17-OH-P-Konzentration im Speichel mit Maxima am Morgen und Minima am Abend.

Konzentrationsunterschiede bis zu 70% wurden im Laufe des Tages beobachtet. Die Werte der Männer bewegen sich dabei zwischen denen der Frauen in den beiden Menstruationszyklus-Hälften.

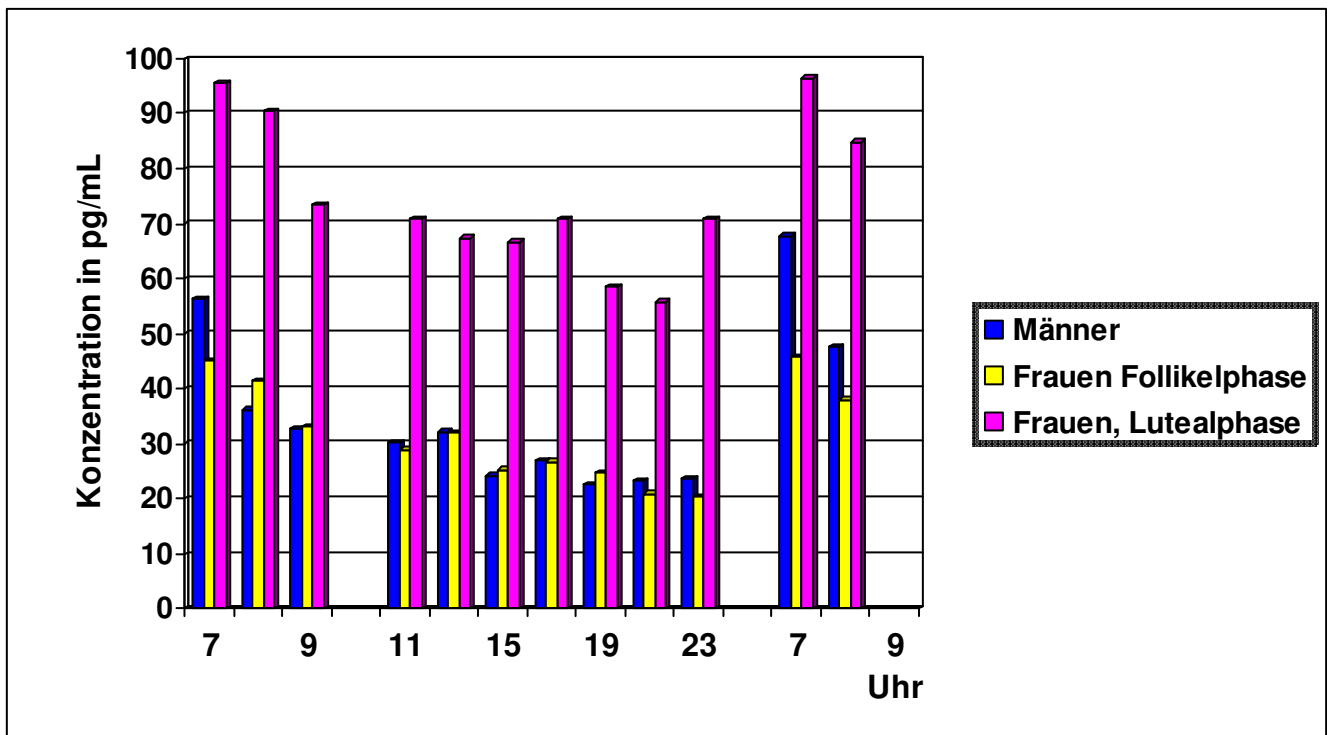


Abb. 4: Mittelwert der 17-OH-P-Konzentrationen in pg/mL. Tagesprofile im Speichel erwachsener Probanden (8 Männer; 8 Frauen, menstruelle Follikelphase; 6 Frauen, menstruelle Lutealphase), modifiziert nach (12).

Die höchsten Konzentrationen wurden stets am Morgen um 7 oder 8 Uhr gemessen.

Für gesunde Kinder wurden die folgenden tageszeitabhängigen Messwerte ermittelt (5):

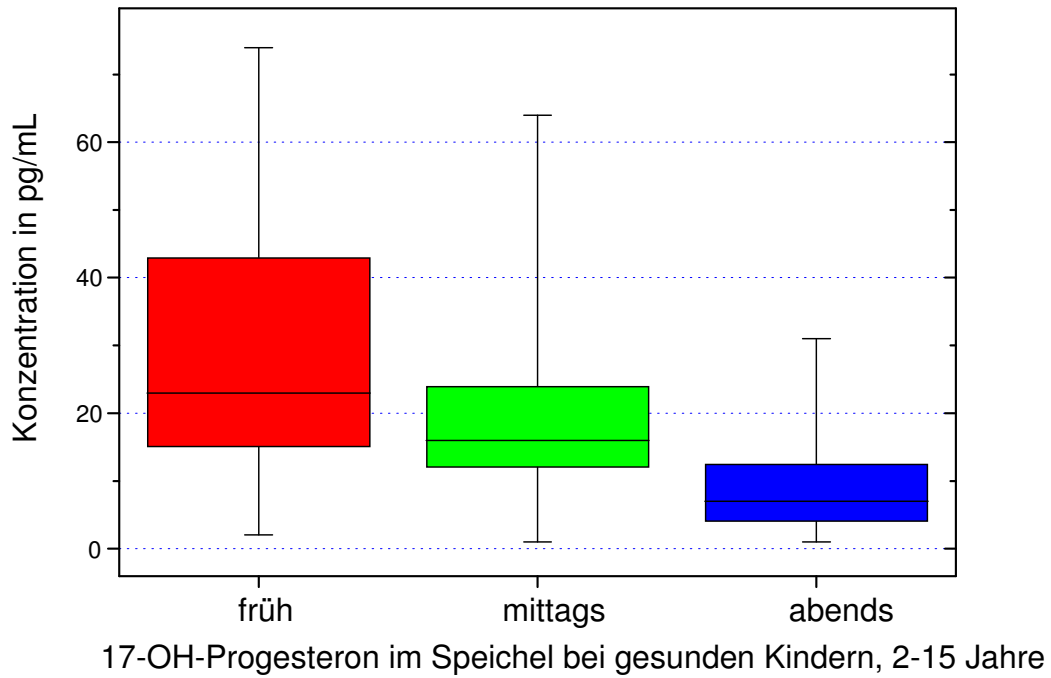


Abb. 5: 17-OH-P im Morgen-, Mittags- und Abendspeichel bei gesunden Kindern von 1 bis 15 Jahren (N=72), nach (5).

### 3.4. Menstruationszyklus

Ein ausgeprägter biphasischer Verlauf ist bei der 17-OH-P-Konzentration im Speichel während des Menstruationszyklus gesunder junger Frauen festzustellen. Signifikant niedrige Werte wurden während der folliculären Phase im Vergleich zur lutealen Phase gemessen. Nach einem Anstieg der 17-OH-P-Konzentration zwischen Tag 16 und 18 fielen die Werte ab, die am Tag 28 wieder den Bereich der Follikelphase erreichten (6):

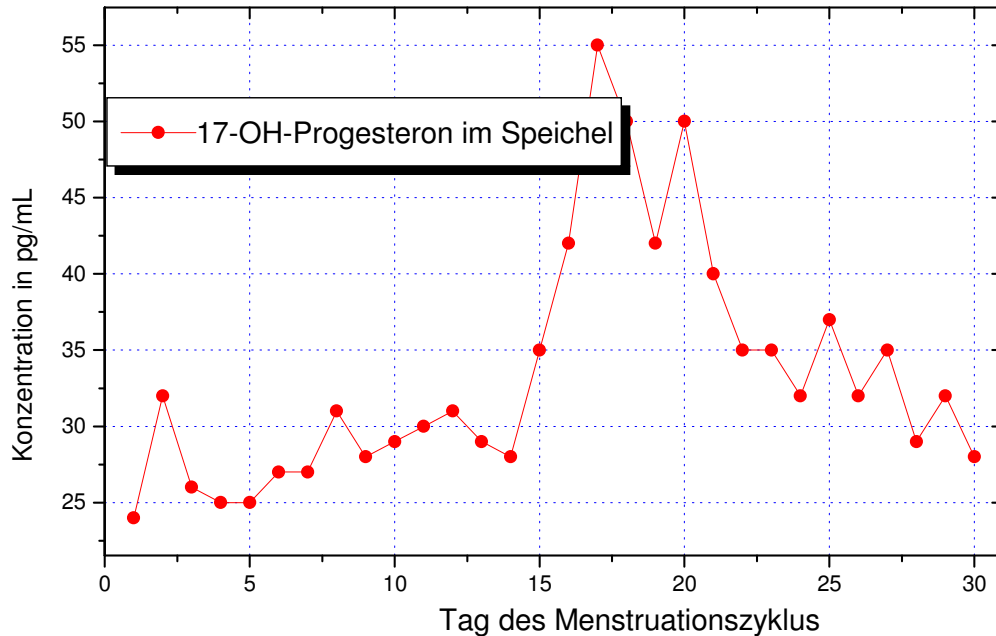


Abb. 6: Verlauf der morgendlichen 17-OH-Progesteron-Konzentration im Speichel gesunder junger Frauen (N=30) während des Menstruationszyklus (Mittelwerte), modifiziert nach (6).

### 3.5. IBL International 17-OH-Progesteron ELISA für Speichel

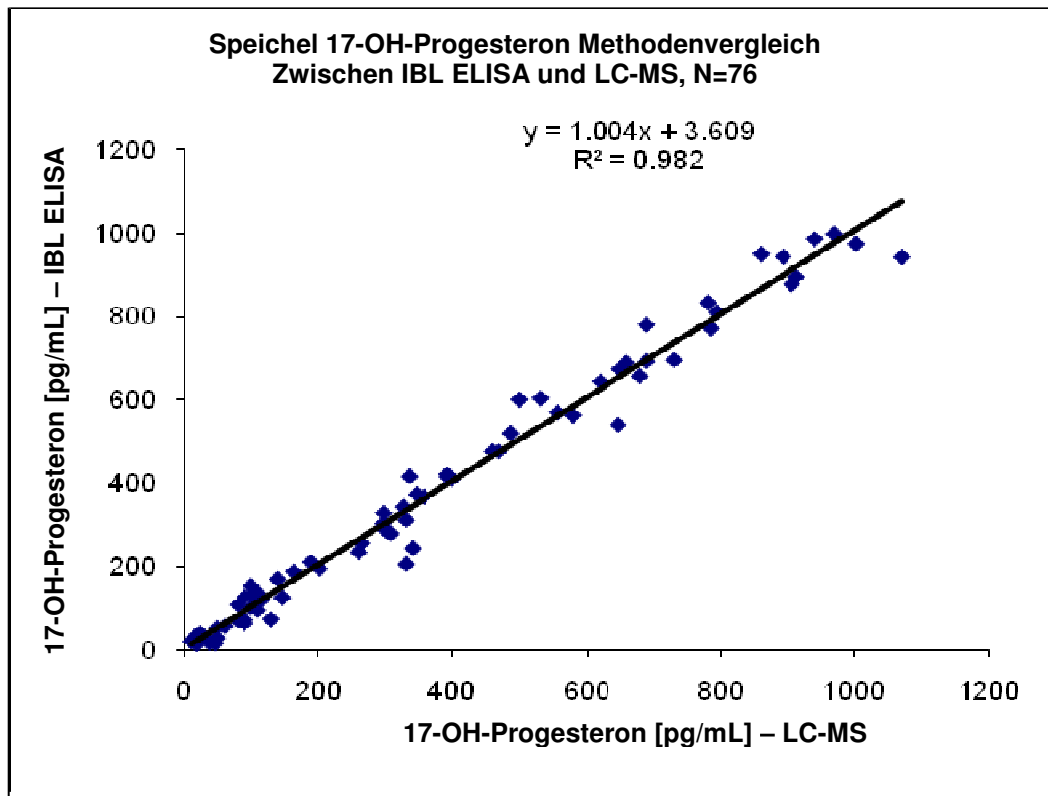
Im Folgenden sind wesentliche Testcharakteristika des 17-OH-Progesteron ELISA für Speichel zusammengefasst.

<b>Prinzip:</b>	Kompetitiver Enzymimmunoassay		
<b>Zweck:</b>	Quantitative Bestimmung von aktivem freien 17-OH-Progesteron im Speichel		
<b>Zertifizierung:</b>	CE-Kennzeichnung		
<b>Format:</b>	12 Mikrotiter-Strips mit jeweils 8 abbrechbaren Wells		
<b>Probe:</b>	25 µL Speichel		
<b>Standards:</b>	8 Standards gebrauchsfertig 0, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 pg/mL		
<b>Inkubation:</b>	60 min (Raumtemperatur) 15 min (Raumtemperatur)		
<b>Substrat:</b>	Tetramethylbenzidin (TMB)		
<b>Erwartete Werte:</b>			<u>5% - 95% Percentile</u>
	Kinder	6 – 12 Jahre	3.0 – 32.9 pg/mL
	Männer	21 – 70 Jahre	10.6 – 54.8 pg/mL
	Frauen	follikuläre Phase	8.2 – 41.1 pg/mL
		lutealphase	28.1 – 84.8 pg/mL
<b>Sensitivität:</b>	3 pg/mL		
<b>Spezifität:</b>	Kreuzreaktivität (Abraham-Methode)		
		11-Desoxycortisol	1,4 %
		Progesteron	1,2 %
<b>Kontrollen:</b>	2 Kit-Kontrollen		
<b>Automation:</b>	automatisierbar		
<b>Kat.-Nr.:</b>	RE 52271		

### 3.6. Methodenvergleich mit der Referenzmethode LC-MS

Eine Studie wurde parallel mit dem IBL 17-OH-Progesteron Saliva ELISA und der Referenzmethode LC-MS anhand von 76 Speichelprobanden von gesunden Erwachsenen und AGS-Patienten durchgeführt.

Die mit dem IBL ELISA ermittelte Werte korrelieren sehr gut mit der LC-MS:



## 4. Literatur

1. Dunn, J.F., Nisula, B.C., Rodbart, D: Transport of steroid hormones: Binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globuline and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *J.Clin.Endocrin.Metabol* 53(1), 58-68, 1981
2. Dörr, H.G., Sippell, W.G., Adenogenitales Syndrom (AGS) mit 21-Hydroxylase-Defekt. *Monatsschr. Kinderheilk.* 141, 609-621, 1993
3. Bidlingmaier, F. Pathobiochemie und klinisch-chemische Diagnostik der Organ- und Systemerkrankungen. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, Greiling H, Gressner A.M., Schattauer 1995
4. Pang, S., Wallace, M.A., Hofman, L., et al., Worldwide experiences in newborn screening for classic adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics*, 81, 866-870, 1988
5. Plattig, B., Speichel-17-Hydroxyprogesteron bei Kindern mit Adrenogenitalem Syndrom und 21-Hydroxylase-defekt: Bedeutung für die Therapieüberwachung, Dissertation Erlangen-Nürnberg, 2004
6. Gröschl, M., Zur Verwendung von Speichel für die nichtinvasive Steroidanalytik im Kindes- und Jugendalter unter besonderer Berücksichtigung der Therapiekontrolle des adrenogenitalen Syndroms mit 21-Hydroxylasedefekt., Dissertation Erlangen-Nürnberg 2001
7. Höpfner et al., Pregnancies in patients with congenital adrenal hyperplasia with complete or almost complete impairment of 21-hydroxylase activity. *Fertil. Steril.* 81, 1314-1321, 2004.
8. Pirke et al in (9)
9. Seeland, U., Pathogenetische und klinische Bedeutung von 17 $\alpha$ -OH-Progesteron und seiner Metabolite bei gesunden Männern und Patienten mit erektiler Dysfunktion, Dissertation, Homburg/Saar, 2003
10. Sippell, W.G., Dörr, H.G., Bidlingmaier, F., Knorr, D., Plasma levels of aldosterone, corticosterone, 11-desoxycortisone, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, Cortisol and cortisone during infancy and childhood. *Pediatr. Res.* 14, 39-46, 1980
11. Dörr, H.G., Nennstiel-Ratzel, U., AGS-Screening Neugeborenen-Screening auf das Adrenogenitale Syndrom mit 21-Hydroxylase-Defekt. *Kinderärztliche Praxis* 76, 284-291, 2005.
12. Krüger, C., Radioimmunologische Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron in nicht extrahierten Speichel und dessen Bedeutung für die Therapiekontrolle des Adrenogenitalen Syndroms (21-Hydroxylasedefekt), Dissertation Göttingen, 1990

Version 5

MG/06.05.2010