

- Introduction and review of clinical and laboratory indications. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 214-226.
9. Baumgartner MR, Poll-The BT, Verhoeven NM, Jakobs C, Espeel M, Roels F, Rabier D et al. Clinical approach to inherited peroxisomal disorders: a series of 27 patients. *Ann Neurol* 1998; 44: 720-730.
  10. Rinaldo P, Raymond K, Al-Odaib A, Bennett MJ. Clinical and biochemical features of fatty acid oxidation disorders. *Current Opinion in Pediatrics* 1998; 10: 615-621.
  11. Verrotti A, Fuselli P, Pallotta R, Chiarelli F. Hypoglycemia in childhood: a clinical approach. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1998; 11(suppl.1): 147-152.
  12. Holtrop S, van Gennip AH, Trijbels JMF, Duran M. Metabole ziekten. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1998; 23: 284-286.
  13. Blau N, Blaskovics ME, Duran M. Simple tests in urine and blood. In: *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosing of Metabolic Diseases* (Blau N, Blaskovics ME, Duran M, eds.). London. Chapman & Hall Medical. 1996; 3-11.
  14. De Jong JGN, Wevers RA, van den Berg CJM, Liebrand-van Sambeek MLF, van Rens AAET, Roelofs HGM. Diagnostiek van lysosomale stapelingsziekten. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 13-27.
  15. Wevers RA, Grünewald S, Huijben K, Smeitink JAM, de Rijk-van Andel JF. Congenitale defecten in de glycosylering: het CDG-syndroom. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 4-13.
  16. Hyland K. Neurochemistry and defects of biogenic amine neurotransmitter metabolism. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 353-363.
  17. Braütigam C, Wevers RA, Jansen RJT, Smeitink JAM, de Rijk-van Andel JF, Gabreëls FJM, Hoffmann GF. Bio-

chemical hallmarks of tyrosine hydrolase deficiency. *Clin Chem* 1998; 44: 1897-1904.

18. Hoffmann GF, Surtees RAH, Wevers RA. Cerebrospinal fluid investigations for neurometabolic disorders. *Neuropediatrics* 1998; 29: 59-71.

### Summary

*Critical evaluation of diagnosing inborn errors of metabolism. Ruitenbeek W, Jong J de, Heijs WMJ and Trijbels JMF. Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 31-37.*

Both the clinical and (bio)chemical picture of inborn errors of metabolism is very heterogeneous. The physician will preselect the patients, suspected to suffer from a metabolic disease, and the metabolic laboratory has to perform the chemical diagnostics in an adequate way. Important is that the correct body fluids are offered, combined with all available adequate clinical information. Which analyses have to be performed depends on the clinical context. Clinical-chemical analyses also play an important role in the starting phase of the diagnostic procedure. Several inborn errors of metabolism have been included, and the informative clinical-chemical studies and correct type of body fluid(s) are mentioned. In the majority of patients a urine and serum sample will be required for adequate screening. Besides giving indications about these aspects the importance of exchange of information between the various applying and executing specialists is underlined. These various aspects are important for improving the quality and efficiency of the chemical analyses for detection and follow-up of patients suffering from an inborn error of metabolism.

*Keywords: inborn errors of metabolism; metabolic diagnos-*

*Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 37-43

## De waarde van het steroidprofiel in urine bij de diagnostiek en behandeling van endocriene stoornissen van gonaden en bijnier

C.M.G. THOMAS<sup>1</sup> en B.J. OTTEN<sup>2</sup>

Aan de hand van enkele illustratieve voorbeelden uit de Nijmeegse Universitaire Kinderkliniek gaat dit artikel in op de interpretatie die deze kliniek geeft aan het urinaire steroidprofiel bij de diagnostiek en behandeling van kinderen met endocriene stoornissen van gonaden en bijnier. Bepaling van individuele steroiden behorend tot de 17-ketogene steroiden en 17-hydroxycorticoiden levert een informatief urinair steroidprofiel op, waarvan de diagnostische waarde echter sterk afhangt van een adequate indicatie voor dit onderzoek. De belangrijkste indicatie is de klinische verdenking op overproductie van androgenen afkomstig uit de bijnieren zich uitend in pseudo-pubertas praecox op kinderleeftijd en in onregelmatige cyclus, hirsutisme of infertiliteit bij oudere adolescen-

ten. Het steroidprofiel kan ook specifieke enzymdeficiënties in de synthese van bijniersteroiden helpen detecteren, maar heeft beperkte waarde voor de diagnose syndroom van Cushing (omdat de karakteristieke verhoogde uitscheiding van cortisol- en cortisonderivaten ook voorkomt bij patiënten met alimentaire adipositas), evenals voor het aantonen van een verlaagde androgeenexcretie op kinderleeftijd (altijd laag).

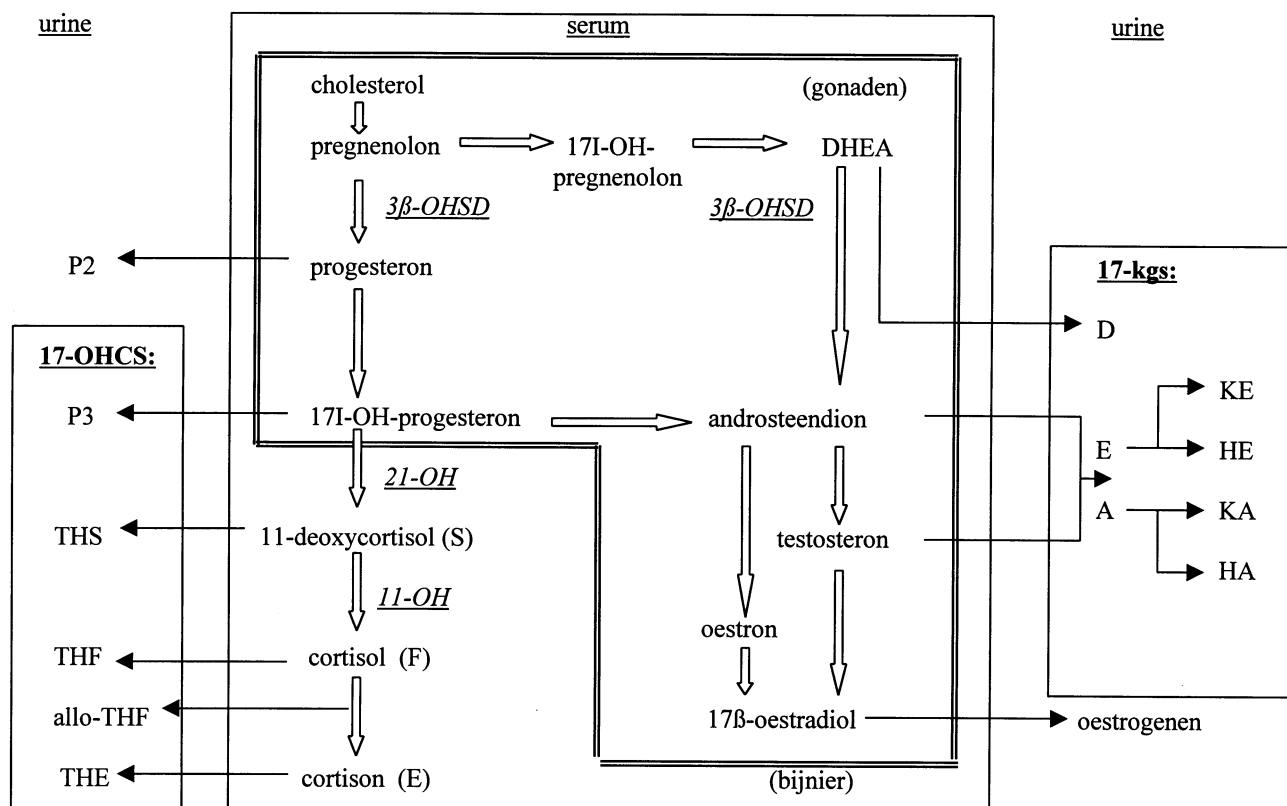
*Trefwoorden: urinair steroidprofiel; overproductie van androgenen; enzymdeficiëntie; congenitale adrenale hyperplasie; syndroom van Cushing; polycysteus ovariumsyndroom*

Zowel internist, gynaecoloog als kinderarts worden in de dagelijkse praktijk geregeld geconfronteerd met klinische problemen die mogelijk wijzen op een endocriene stoornis in de productie van steroidhormonen (1,2,3). Dit betreft meestal de verdenking op een te vroege of overmatige productie van androgenen, al dan niet gebaseerd op aantoonbare specifieke enzym-

*Afdeling Obstetrie-Gynaecologie en Afdeling Chemische Endocrinologie<sup>1</sup> en Afdeling Kindergeneeskunde<sup>2</sup>, Academisch Ziekenhuis Nijmegen, St.Radboud*

Correspondentie: Dr. C.M.G. Thomas, Academisch Ziekenhuis Nijmegen St.Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

**Tabel 1.** De synthese van steroiden in de bijnier en gonaden en verdeling over serum en urine



**Tabel 1.** Betekenis van de in tabel 1 gehanteerde afkortingen

<i>17-kgs</i>	<i>17-ketogene steroiden in urine</i>
A	androsteron
E	etiocholanolon
D	dehydroepiandrosteron
KA	11-ketoandrosteron
KE	11-ketoetiocholanolon
HA	11-hydroxyandrosteron
HE	11-hydroxyetiocholanolon
<i>17-OHCS</i>	<i>17-hydroxycorticoiden in urine</i>
THS	tetrahydrometaboliët van 11-deoxycortisol
THF	tetrahydrometaboliët van cortisol
allo-THF	allo-tetrahydrometaboliët van cortisol
THE	tetrahydrometaboliët van cortison
P3	pregnaantriol
(S)	11-deoxycortisol (compound-S)
(F)	cortisol (compound-F)
(E)	cortison (compound-E)
P2	pregnaandiol
<i>3β-OHSD</i>	<i>3β-hydroxysteroiddehydrogenase</i>
<i>11-OH</i>	<i>11-hydroxylase</i>
<i>21-OH</i>	<i>21-hydroxylase</i>

deficiënties als oorzaak van de afwijking. Uitsluitend afgaand op klinische waarnemingen is het niet mogelijk te differentiëren tussen de diverse mogelijkheden. Gericht laboratoriumonderzoek is dan ook noodzakelijk om de differentiële diagnose te kunnen uitwerken.

Zowel door de gonaden als de bijnier worden een groot aantal androgene steroiden geproduceerd. Glo-

baal worden ze onderverdeeld in 17-ketogene steroiden en 17-hydroxycorticoiden. Beide groepen kunnen in de urine door middel van een groepsreactie worden bepaald. Daarnaast is het ook mogelijk in de urine de individuele steroidconcentraties te meten. Een andere optie is bepaling van de afzonderlijke steroiden in bloed (plasma, serum) of speeksel met behulp van specifieke radioimmunochemische methoden na chromatografische voorzuivering van het specimen. Deze metingen geven een nauwkeurig beeld van de concentratie van één hormoon voor het tijdstip waarop het specimen werd verkregen. Bij het zoeken naar een antwoord op een enkelvoudige, goed gedefinieerde vraagstelling is deze benaderingswijze zeer bruikbaar. Dikwijls zijn echter de klinische vraagstellingen aanzienlijk complexer en zal de onderzoeker informatie moeten hebben over meer dan één steroidconcentratie. Bovendien vertonen de meeste steroiden uit de bijnier een aanzienlijk dagnachtritme. Het kan dan ook zinnvoller zijn de laboratoriumdiagnostiek niet te beperken tot het meten van één of meer steroiden op enkele tijdstippen van de dag, maar het totale spectrum aan steroiden in de 24-uursurine te bepalen. Het volgende overzicht bespreekt aan de hand van enkele voorbeelden uit de Nijmeegse Universitaire Kinderkliniek de specifieke indicaties en beperkingen van dit zogenaamde steroidprofiel, zoals dit aldaar wordt gehanteerd en geïnterpreteerd.

#### Het steroidprofiel in de urine

De bepaling van het urinaire steroidprofiel is gebaseerd op capillaire gaschromatografie met vlam-ionisatie-

**Tabel 2.** Symptomatologie van 21-hydroxylasedeficiëntie

Leeftijd	Geslacht	Klinische symptomatologie	Steroidprofiel
Neonataal	V	Intersex (+ M. Addison)	Specifiek neonataal patroon; soms P3 niet verhoogd
	M	M. Addison (+ pseudopylorusstenose)	idem
Prepuberaal	V	Pseudopubertas praecox	Mild klassiek 21 HD profiel (zie figuur 1)
	M	Pseudopubertas praecox	idem
Volwassen	V	Clitoromegalie, hirsutisme cyclusstoornissen infertiliteit, PCO-like syndroom	Mild klassiek 21 HD profiel PCO-index > 3,0
	M	Infertiliteit ?	–

21 HD: 21-hydroxylasedeficiëntie

detectie (4,5) van een aantal 17-ketogene steroïden (17-kgs) en de 17-hydroxycorticoiden (17-OHCS)\*.

Voorafgaand aan gaschromatografie en vlam-ionisatiedetectie worden de urinemonsters met 3 M acetaat/boorzuurbuffer op pH 4,6 gebracht en gecentrifugeerd. Twee 5 ml porties van elk urinemonster worden gebruikt voor bepaling van de aanwezige steroïden waarbij aan één van beide samples 10 µg van elk te bepalen steroïd als interne standaard wordt toegevoegd. Dan worden de geglucuronideerde en gesulfateerde (=geconjugeerde) steroïden in het urinemonster enzymatisch gehydrolyseerd (20 uur bij 50°C) met *Helix pomatia* door het daarin aanwezige  $\beta$ -glucuronidase en arylsulfatase en worden de aldus verkregen vrije (gedeconjugeerde) steroïden tweemaal geëxtraheerd met dichloormethaan. Na wassen en drogen wordt het dichloormethaanextract onder stikstof drooggedampt en worden de ketogroepen omgezet in methoximederivaten met methoxamine-hydrochloride in pyridine (2%-MOX, 2 uur bij 90°C). Daarna wordt het preparaat gesilyleerd met *N*-trimethylsilylimidazol (TSIM) onder vorming van *o*-methyloxime-trimethylsilylether (MO-TMS). Na verwijdering van TSIM resten worden de samples in dichloormethaan opgenomen en in de autosampler van de gaschromatograaf gebracht.

Tabel 1 geeft een overzicht van de dertien steroïdcomponenten die individueel worden bepaald, evenals van de "groepsbepaling" van 17-kgs en 17-OHCS welke worden verkregen door sommatie van de individueel bepaalde steroïden behorend tot deze groepen. Van de 17-kgs worden achtereenvolgens het androsteron (A), etiocholanolon (E), dehydroepiandrosteron (D), 11-ketoandrosteron (KA), 11-ketoetiocholanolon (KE), 11-hydroxyandrosteron (HA) en 11-hydroxyetiocholanolon (HE) bepaald. Daarnaast worden van de 17-OHCS de urinaire tetrahydro (TH)-metabolieten van 11-deoxycortisol (compound-S) en van cortisol (compound-F) en cortison (compound-E) bepaald; respectievelijk THS, THF, allo-THF en THE. Tot

\*: 17-OHCS omvatten alle steroïden met een dihydroxyketongroep in de C20-21-zijketen, met name dus cortisol, cortison, 11-deoxycortisol (compound-S) en hun metabolieten. De 17-kgs omvatten niet alleen steroïden met een dihydroxyketongroep in de zijketen, maar ook steroïden met een glycerolgroep of een 17:20 glycolgroep.

deze groep behoort ook het pregnaantriol (P3), het urinaire uitscheidingsproduct van 17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron (17OHP), echter niet het pregnaandiol (P2), de urinaire metaboliet van progesteron. De uitslag wordt vergeleken ten opzichte van referentiewaarden welke werden vastgesteld door Weykamp et al. (5) in een in 24 laboratoria in Nederland uitgevoerde multicentrische studie. De referentiewaarden werden vastgesteld voor beide geslachten in zes leeftijdscategorieën: 0-3 maanden, 4 maanden-12 jaar, 13-16 jaar, 17-50 jaar, 51-70 jaar en ouder dan 70 jaar.

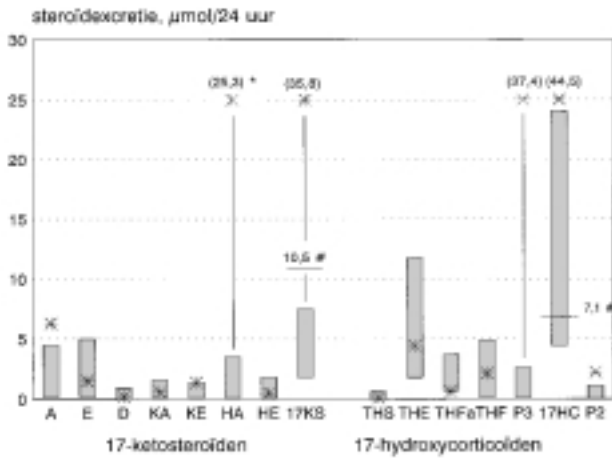
In het urinaire steroïdprofiel vormen de 17-kgs het totaal aan uitgescheiden androgenen. Enkele androgenen (waaronder testosteron) worden niet mee gemeten omdat deze lipofiele steroïden niet in de urine worden uitgescheiden. A en E zijn de belangrijkste metabolieten en vormen een maat voor de androgene status. Zij geven geen specifieke aanwijzingen voor de aard van de aandoening, maar bij volwassenen kunnen zeer lage concentraties duiden op een insufficiëntie van de bijnier (indien dit samengaat met zeer lage 17-OHCS), of op een hypoandrogene status bij de man.

De groep van de 17-OHCS bevat de excretieproducten van de volgende componenten: Cortisol (compound-F), de voorstadia van cortisol (met name 17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron en 11-deoxycortisol, ofwel compound-S), en een metaboliet van cortisol (cortison, ofwel compound-E). Als maat voor de cortisolproductie worden in de urine de fracties THF + allo-THF en THE gemeten. Van de specifieke voorstadia van cortisol zijn met name de excretieproducten van 17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron en 11-deoxycortisol (respectievelijk de fracties P3 en THS) van belang bij de diagnostiek van het adrenogenitaal syndroom (AGS).

### Indicaties voor bepaling van het steroïdprofiel

#### Globale indicaties

- De zekerheid waarmee het steroïdprofiel antwoord kan geven op een klinische vraagstelling hangt af van de aard van het te onderzoeken ziektebeeld.
- Bij een specifieke vraag naar het al dan niet bestaan van bijvoorbeeld een 21-hydroxylase deficiëntie bij een patiënt verdacht van het adrenogenitaal syndroom (AGS), kan met grote mate van zekerheid de diagnose gesteld worden op geleide



**Figuur 1.** Voorbeeld van een steroidprofiel bij een 5-jarige jongen met pseudo-pubertas praecox wegens een 21-hydroxylasedeficiëntie.

van een verhoging van specifieke steroiden in het profiel. In tegenstelling hiermee kan een steroidprofiel bij vrouwen met een op het polycysteus ovariumsyndroom gelijkend beeld en verdenking op overproductie van androgenen weliswaar karakteristieke informatie opleveren zonder dat dit leidt tot een oorzakelijke eindconclusie, noch informeert over de precieze herkomst van de overmaat aan androgenen.

- Een derde categorie wordt gevormd door excretiepatronen die slechts indicatief zijn voor een bepaalde diagnose. Een voorbeeld hiervan is het vaststellen van een totale lage excretie van steroiden. Bij volwassenen kunnen extreem lage excreties bijdragen aan de ondersteuning van de klinische diagnostiek van een aanwezige hypofunctie. In tegenstelling tot de situatie bij volwassenen behoort het op deze wijze aantonen van een hypofunctie bij kinderen nagenoeg tot de onmogelijkheden wegens het op deze leeftijd fysiologisch

voorkomen van lage steroidexcreties. Omgekeerd is bij de diagnostiek van het syndroom van Cushing het steroidprofiel slechts een matig conclusief hulpmiddel, aangezien ook patiënten met alimentaire adipositas een verhoogde excretie van glucocorticoiden kunnen vertonen (6).

### Congenitale Adrenale Hyperplasie (CAH)

**21-hydroxylasedeficiëntie.** De belangrijkste indicatie voor het bepalen van een urinair steroidprofiel is de verdenking op bijnierhyperplasie. Bij de congenitale vorm leidt dit tot het klinisch beeld van het adrenogenitaal syndroom (AGS). Een dergelijke enzymdeficiëntie kan zich op diverse manieren presenteren, afhankelijk van de ernst van het defect en de leeftijd van presentatie. Tabel 2 geeft een overzicht van de voorkomende vormen, die meestal worden veroorzaakt door een steroid 21-hydroxylasedeficiëntie. Klinisch presenteren deze beelden zich zeer divers, afhankelijk van de ernst van de aandoening en de leeftijd van de patiënt. Op neonatale leeftijd betreft het kinderen met ambigue genitalia externa ("intersex"), waarbij 90% van de vrouwelijke neonaten een aantoonbare 21-hydroxylasedeficiëntie heeft. Bij oudere kinderen is sprake van pseudo-pubertas praecox, zich uitend in een versnelde groei, een voorsprong in skeletleeftijd en incomplete ontwikkeling van de secundaire geslachtskenmerken. De symptomatologie in de puberteit en de volwassen leeftijd betreft met name vrouwen met een overmaat aan androgenenproductie, zich uitend in hirsutisme en cyclusafwijkingen.

Figuur 1 en tabel 3 geeft een voorbeeld van een steroidprofiel bij een 5-jarige jongen met pseudo-pubertas praecox wegens een 21-hydroxylasedeficiëntie. Het meest specifieke kenmerk is de verhoging van P3, de metaboliet van 17OHP, dat zelf in het steroidprofiel wordt teruggevonden op de plaats van "HA".

**Tabel 3.** Samenvatting van de resultaten van de urinaire steroidprofielen van de figuren 1-4

Symbool Zie tabel 1	Excretie, µmol/24 uur Figuur 1	Excretie, µmol/24 uur Figuur 2	Excretie, µmol/24 uur Figuur 3	Referentie 3 mnd-12 jaar (Figuren 1-3)	Excretie, µmol/24 uur Figuur 4	Referentie 13-16 jaar Figuur 4
<i>17-ketosteroiden</i>						
A	6,3 +	0,7	16,3 ++	0,2 - 4,5	21,8 ++	1,9 - 11,8
E	1,5	0,4	1,0	0,2 - 5,0	13,2 +	1,7 - 10,3
D	0,2	0,2	<0,1	0 - 0,9	<0,1	0,1 - 2,0
KA	0,6	0,6	0,4	0,1 - 1,6	1,0	0,2 - 1,7
KE	1,4	0,4	<0,1	0,1 - 1,4	3,0 +	0,3 - 1,7
HA*	25,3 +++	0,3	<0,1	0,1 - 3,5	15,3 ++	0,8 - 4,8
HE	0,5	0,3	<0,1	0,1 - 1,8	2,2	0,3 - 2,6
17-kgs(#) tot.	35,8(10,5)+	2,9	17,7 ++	1,8 - 7,5	56,5 ++	7,5 - 30,5
<i>17-OHcort.ster.</i>						
THS	<0,1	<0,1	34,1 +++	0 - 0,6	1,6 +	0,1 - 1,2
THE	4,4 (-)	8,0	<0,1 -	1,8 - 11,8	14,6 +	4,4 - 11,6
THF	0,6 (-)	9,5 +	<0,1 -	0,7 - 3,7	11,8 +	1,7 - 6,4
aTHF	2,1	0,1	1,2	0,1 - 4,9	5,8	1,0 - 5,8
P3	37,4 +++	7,0 +	1,6	0,1 - 2,6	3,0	0,9 - 4,1
17-OHCS(#) tot.	44,5(7,1)++	24,6	36,9 ++	4,4 - 24	36,8 ++	8,8 - 23,8
P2	2,2 +	2,2 +	<0,1	0 - 1,1	3,2	0,3 - 8,0

#: gecorrigeerd; \*: HA is 17 OHP; +: verhoogd; -: relatief laag

(HA en 17OHP zijn in onze analytische procedure niet te onderscheiden vanwege hun gelijke retentietijden. Dit probleem kan echter ondervangen worden door gecombineerde toepassing van gaschromatografie en massaspectrometrie (1,3).) De overmatige productie van androgenen, verantwoordelijk voor het klinisch beeld, wordt weerspiegeld door de voor de leeftijd relatief verhoogde excretie van A en soms van E (met A in de regel hoger dan E). Als maatstaf voor de overproductie van androgenen geldt de totale excretie van de 17-kgs die in dit voorbeeld buitensporig hoog is (35,8  $\mu\text{mol}/24$  uur). Dit wordt veroorzaakt door de daarbij ten onrechte meegerekende hoge bijdrage die het 17OHP (25,3  $\mu\text{mol}/24$  uur) daarin levert wegens het samenvallen van 17OHP en het androgeen HA. Correctie voor deze vals-positieve verhoging van de 17-kgs levert een voor de leeftijd te hoge totale excretie op van 10,5  $\mu\text{mol}/24$  uur. Ook is deze totale excretie van 17-kgs meer in overeenstemming met de excreties van de individuele androgenen, mede gelet op de leeftijd van vijf jaar bij een gehanteerd referentiebereik geldend voor jongens van 3 maanden tot 12 jaar (5).

De relatief lage concentraties van THF en THE zijn indicatief voor de verminderde cortisolexcretie en completeren het beeld. Het totaal aan 17-OHCS als maat voor de glucocorticoiden bedraagt na correctie voor P3 slechts (44,5 – 37,4 =) 7,1  $\mu\text{mol}/24$  uur, en is daarmee laagnormaal voor de gehele leeftijdscategorie van het gehanteerde referentiebereik.

Bij lichtere vormen van 21-hydroxylasedeficiëntie is het mogelijk dat de P3 excretie niet of nauwelijks verhoogd is omdat de 17OHP concentratie in het serum slechts gedurende een gedeelte van de dag verhoogd is. In dat geval kan in de ochtendurine een bepaling van 17OHP worden uitgevoerd.

Bij neonaten is beschreven dat ondanks hoge waarden van 17OHP de excretie van P3 niet verhoogd hoeft te zijn, hetgeen waarschijnlijk wordt veroorzaakt door een onvoldoende omzettingsvermogen van de lever. In die gevallen kan ondanks een aanwezige 21-hydroxylasedeficiëntie toch een normale P3 excretie gevonden worden.

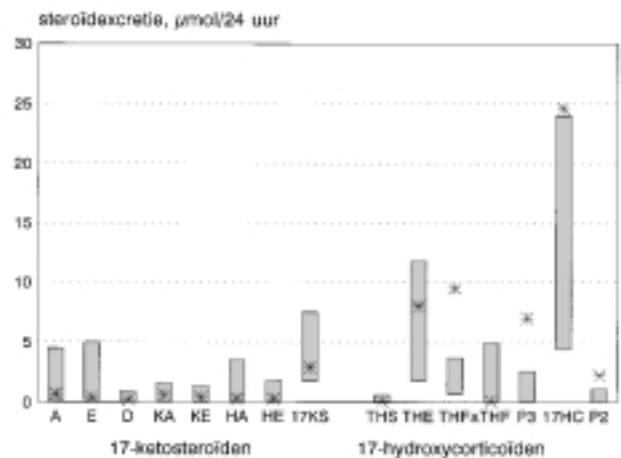
*Controle van behandeling bij CAH.* Het steroidprofiel kan ook een bijdrage leveren aan monitoren van de behandeling van CAH met hydrocortison. Bij het gebruik hiervan dient echter het biochemisch na te streven doel goed te zijn gedefinieerd. Volledige normalisatie van de excretie van P3 leidt in het algemeen tot overbehandeling en dient dan ook te worden vermeden. Het primaire doel is normalisatie -op kinderleeftijd is dat onderdrukking- van de androgeenproductie. Daarbij dient de P3-excretie (licht) verhoogd te worden gelaten als teken van een niet totaal onderdrukte bijnier. Een voorbeeld van een dergelijke situatie is weergegeven in figuur 2 en tabel 3, waarbij de uitscheiding van THF en THE het gevolg is van uitscheiding van het toegediende hydrocortison, eventueel na omzetting in E.

*Andere vormen van bijnierhyperplasie.* Twee andere specifieke stoornissen in de cortisolsynthese betreffen

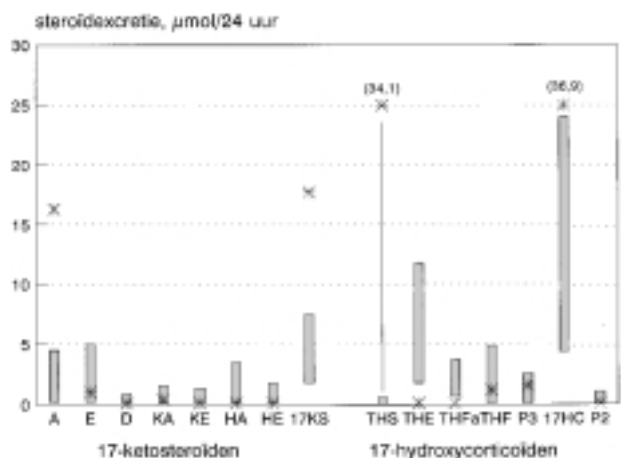
de 11-hydroxylasedeficiëntie en de 3 $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenasedeficiëntie. Meestal is het beloop veel milder en de frequentie van voorkomen is slechts een paar procent van de 21-hydroxylasedeficiëntie.

Bij de 11-hydroxylasedeficiëntie (figuur 3 en tabel 3) vindt men specifiek een verhoging van THS en verlaagde waarden voor THF en THE. Correctie van de totale excretie van 17-OHCS (36,9  $\mu\text{mol}/24$  uur) met de overmatige excretie van THS (34,1  $\mu\text{mol}/24$  uur) resulteert inderdaad in een uitermate lage totale excretie van de cortisolderivaten (2,8  $\mu\text{mol}/24$  uur). Analog aan de 21-hydroxylase vorm zijn ook de concentraties van A en soms van E verhoogd, hetgeen resulteert in een sterk verhoogde excretie van de 17-kgs, de maatstaf voor de hyperandrogene status.

Bij de 3 $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenasedeficiëntie is vooral de excretie van DHEA (D) verhoogd. Ook hierbij kunnen vooral op jonge leeftijd problemen in de diagnostiek optreden. Bij onvoldoende sulfatering van D hoeft een sterk verhoogde serumconcentratie



**Figuur 2.** Voorbeeld van een steroidprofiel bij de patiënt uit figuur 1 met een 21-hydroxylasedeficiëntie onder behandeling met hydrocortison. De metabolieten hiervan worden teruggevonden in de THE en THF excreties. De onderdrukte androgeenexcretie met nog licht verhoogde P3-excretie duidt op een optimale instelling.



**Figuur 3.** Voorbeeld van een steroidprofiel bij een 3-jarige jongen met hyperplasie van de bijniere wegens een 11-hydroxylasedeficiëntie.

van D niet altijd te leiden tot een extreme excretie van D, waardoor de diagnose niet kan worden gesteld met behulp van het steroidprofiel.

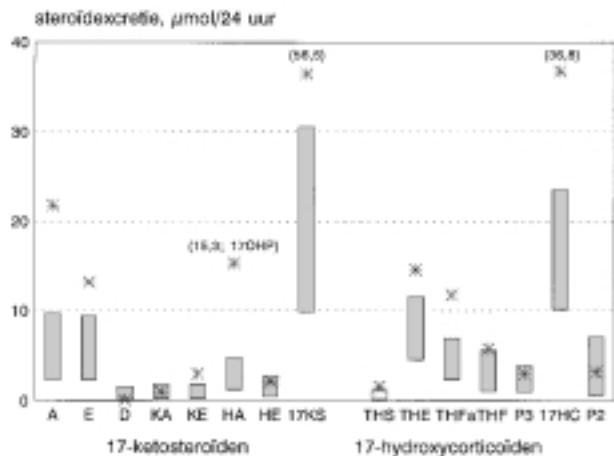
#### Stoornissen in de secretie van cortisol

Verhoogde excreties van THE en THF duiden op een toegenomen uitscheiding van metabolieten van cortisol en kunnen daarmee een indicatie zijn voor hypercortisolisme (Morbus Cushing). Patiënten met adipositas blijken echter ook dikwijls verhoogde THE en THF excreties te vertonen, zodat dan het steroidprofiel in de differentiële diagnose geen uitsluitsel kan geven. Aanvullend onderzoek dient te bestaan uit het aantonen van een mogelijk ontbrekend cortisolritme en/of de onvoldoende mogelijkheid tot suppressie van de bijnier met dexamethason.

Een lage excretie van alle bijniersteroiden (zowel 17-kgs als 17-OHCS) is suggestief voor een aanwezige hypofunctie van de bijnier. Op kinderleeftijd is de normale excretie van de androgenen en de cortisol-metabolieten zeer laag of zelfs nauwelijks aantoonbaar, zodat de waarde van het steroidprofiel zeer beperkt is voor de diagnose Morbus Addison. Hetzelfde geldt ook voor de diagnostiek van androgeendeficiëntie in de puberale leeftijdscategorie, waarbij bijvoorbeeld een jongen van ruim 14 jaar die nog geheel prepuberaal is, als uiting daarvan een uitermate vlakke excretie van ketogene steroiden kan vertonen zonder dat er sprake is van bijnierpathologie. In deze leeftijdscategorie dient het steroidprofiel, ter vermindering van een foutieve beoordeling, dan ook in nauwe relatie tot de klinische situatie geïnterpreteerd te worden. Op volwassen leeftijd ligt dit minder stringent, aangezien de excretie van de androgenen A en E en van THE en THF veel hoger is, waardoor het mogelijk is bij lage waarden van deze urinaire metabolieten de aanwezigheid van een bijnierinsufficiëntie te overwegen. Aanvullend onderzoek van een cortisoldagritme met een bepaling van ACTH in het plasma en eventueel nog een synacthentest moet dan leiden tot de definitieve diagnose.

#### Hyperandrogene status bij de vrouw

Het klassieke voorbeeld van een hyperandrogene status bij de vrouw is het syndroom van Stein-Leventhal (polycysteus ovariumsyndroom) met adipositas, hirsutisme, amenorroe en polycysteuze ovaria. Dit syndroom wordt veroorzaakt door de verhoogde productie en omzetting van androgenen, hetgeen echter ook tot uiting kan komen in minder klassieke symptomen. Ongewenste infertiliteit gepaard gaand met een onregelmatige cyclus en hirsutisme is een indicatie voor het verrichten van nader onderzoek naar een mogelijke overproductie van androgenen, waarbij het steroidprofiel een goed hulpmiddel kan zijn. Dikwijls openbaart een dergelijk beeld zich reeds in de puberteit, vooral bij meisjes die relatief vroeg menarche hebben. Daarna ontwikkelt zich al spoedig een blijvende oligo- tot amenorroe en geleidelijk ontstaat dan ook hirsutisme. Uiteindelijk mondt dit uit in het complete beeld van het Stein-Leventhal syndroom. Een klassiek voorbeeld van een steroidprofiel bij een dergelijke patiënt is weergegeven in figuur 4. Opvallend



**Figuur 4.** Voorbeeld van een steroidprofiel bij een 13-jarig meisje met het complete beeld van het syndroom van Stein-Leventhal.

zijn de hoge excreties van de androgenen A, E en HA, evenals de verhoogde excretie van de cortisol-metabolieten THE en THF, waarschijnlijk als gevolg van de meestal bestaande adipositas. Geen van de genoemde androgenen vertoont specifieke excretiepatronen. Deze parameters zijn ook vervat in de zogenaamde PCO-index ( $= 0,09 [A + E + HA] + A/E$ ) die een maat is voor de hyperandrogene status (2,4). Voor waarden groter dan 3 (in figuur 4 is de PCO-index gelijk aan 6,2) kan een hyperandrogene status als zeer waarschijnlijk beschouwd worden en dient de oorzaak nader onderzocht te worden. Het klinisch beeld van PCO moet gedifferentieerd worden van de volwassen vorm van een 21-hydroxylasedeficiëntie (of eventueel een 11-hydroxylase- of een 3β-hydroxysteroiddehydrogenasedeficiëntie). Bij vergelijking van de steroidprofielen van figuur 4 en tabel 3 (PCO, waarbij het aangegeven referentiebereik van de leeftijdscategorie 13-16 jaar nauwelijks afwijkt van het bereik geldend voor normale volwassen vrouwen) wordt duidelijk dat de differentiatie geen problemen zal opleveren, gelet op de niet sterk verhoogde waarden van THS en P3. Als er geen specifieke steroiden in het profiel verhoogd zijn, geeft dit bij deze hyperandrogene status geen uitsluitsel over de herkomst van de overproductie van de androgenen. Dit dient nader onderzocht te worden, waarbij meestal zal blijken dat de overproductie van de ovariële herkomst is.

#### Discussie

In de dagelijkse praktijk van de endocriene diagnostiek wordt de bepaling van het steroidprofiel in urine wisselend gewaardeerd. Ondanks de veelheid aan informatie over nogal wat steroiden blijkt het diagnostische rendement van het steroidprofiel in de urine in hoge mate te worden bepaald door de nauwkeurigheid van de indicatie waarvoor het wordt aangevraagd. Meestal betreft de enig juiste indicatie de vraag of er sprake is van een overmatige productie van androgenen en welke oorzaak hieraan ten grondslag ligt. In de dagelijkse praktijk gaat het vooral om twee afzonderlijke groepen van patiënten.

De eerste categorie betreft kinderen waarbij op basis van klinische symptomen zoals de aanwezigheid van

pubesbehandling, acne of andere tekenen van overmatige androgeenactiviteit, verdenking bestaat op een voor de leeftijd overmatige androgeenproductie, waarvan de herkomst niet reeds door eenvoudig klinisch onderzoek kan worden verklaard. Zo is er in principe geen indicatie voor het bepalen van een steroidprofiel bij een meisje met pubertas praecox, waarbij borstontwikkeling op de voorgrond staat en de pubesbehandling een begeleidend verschijnsel is. Hetzelfde geldt voor een te vroeg intredende puberteit bij een jongen, waarvan op basis van de grootte van de testikels al duidelijk is dat de oorsprong van de androgenen primair daarin gezocht dient te worden. In beide gevallen ligt de nadruk op een vroegtijdige activering van de hypothalamische-hypofysaire-gonadale as, zodat het onderzoek primair daarop gericht zal dienen te zijn. Duidelijke indicaties voor het urinaire steroidprofiel zijn dus kinderen met vroegtijdige pubesbehandling zonder borstontwikkeling bij meisjes of testikelvergroting bij jongens. Een dergelijke klinische situatie pleit voor een geïsoleerde overproductie van androgenen van niet-gonadale oorsprong en vormt bij uitstek een indicatie voor het urinaire steroidprofiel.

Een tweede categorie wordt gevormd door volwassen vrouwen waarbij op basis van klinische verschijnselen, zoals onregelmatige cyclus, infertiliteit, abnormale vetverdeling, overmatige beharingpatronen et cetera, de verdenking bestaat op een overmatige productie van androgenen in het kader van een ziektebeeld gelijkend op het polycysteus ovariumsyndroom. In het merendeel van deze gevallen zal het steroidprofiel slechts aan kunnen duiden dat er sprake is van een overmatige productie van androgenen. Het steroidprofiel zal geen duidelijkheid kunnen verschaffen over de herkomst (ovarium, bijnier) van de androgenen, zodat nader onderzoek is geïndiceerd. (Een uitzondering hierop vormt de groep van patiënten met een zogenaamde "late onset" 21-hydroxylasedeficiëntie, naast andere vormen van bijnierhyperplasie, die alle op basis van een specifiek patroon van steroidexcretie herkenbaar zijn.) Bij de indicatie PCO zijn slechts op één tijdstip uitgevoerde bepalingen van androgenen in bloed in eerste instantie zeker niet superieur aan het steroidprofiel. Immers, bij deze ziektebeelden dient in het algemeen een onderscheid gemaakt te worden tussen de vrije hormoonspiegels en aan specifiek-bindende eiwitten gebonden steroidconcentraties, waarvan slechts de vrije concentratie een actieve hormoonwerking heeft. Dit vormt een beperking voor de bepaling van de totale steroidconcentraties in plasma of serum, nog afgezien van het vóórkomen van een dagnachtritme voor een aantal hormonen, hetgeen eveneens de toepassing van serumbeoordelingen bemoeilijkt.

Een andere indicatie voor het urinaire steroidprofiel is mogelijk de diagnostiek van het syndroom van Cushing. Daarbij moet worden bedacht dat de uitscheiding van metaboliëten van cortisol en cortison ook verhoogd zijn bij patiënten met een (eenvoudige) adipositas. In het algemeen zal het steroidprofiel dan ook geen onderscheid kunnen aanbrengen tussen beide ziektebeelden.

Als diagnosticum voor een te lage steroidproductie

heeft het steroidprofiel duidelijk beperkingen. Op kinderleeftijd zijn de meeste excreties van steroiden te laag om verlaagde concentraties op deze wijze aan te kunnen tonen. Bij volwassen mannen met een aanwijzing in de richting van hypogonadisme verdient de bepaling van testosteron in het serum veruit de voorkeur. Bij vrouwen met verdenking op onvoldoende ovariële of adrenale androgeenproductie kan toepassing van het urinaire steroidprofiel worden overwogen.

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat, ofschoon het steroidprofiel in urine zeker zijn beperkingen heeft, het in de endocrinologische praktijk reeds gedurende lange tijd een uitstekend hulpmiddel is in de diagnostiek van geïsoleerde overproductie van androgenen van niet-gonadale oorsprong.

#### Literatuur

1. Wolthers BJ, Kraan GPB, van der Molen JC, Nagel GT, Rouwe CW, Lenting F, Boersma ER. Urinary steroid profile of a newborn suffering from pseudohypoadosteronism. *Clin Chim Acta* 1995; 236: 33-43.
2. Malunowicz EM, Ginalska-Malinowska M, Romer TE, Ruszczynska-Wolska A, Dura M. Heterogeneity of urinary steroid profiles in children with adrenocortical tumors. *Horm Res* 1995; 44: 182-188.
3. Honour JW, Brook CGD. Clinical indications for the use of urinary steroid profiles in neonates and children. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 45-54.
4. Shackleton CHL, Taylor NF, Honour JW. An atlas of gas chromatographic profiles of neutral urinary steroids in health and disease. Packard-Becker publication number AR/GC/1.80/E, Delft, The Netherlands: Packard-Becker BV, 1980, 84 pp.
5. Weykamp CW, Penders TJ, Schmidt NA, Borburgh AJ, van de Calseyde JF, Wolthers BJ. Steroid profile for urine: Reference values. *Clin Chem* 1989; 35: 2281-2284.
6. Honour JW. The investigation of adrenocortical disorders. *J Intern Fed Clin Chem* 1994; 6: 154-158.
7. Declercq JA, van de Calseyde JF. Polycystic ovarian disease: Diagnosis, frequency and symptoms in a general gynaecological practice. *Br J Obstet Gynaecol* 1977; 84: 380-385.

#### Summary

*The value of the urinary steroid profile in the diagnosis and treatment of children with endocrine disorders of gonads and adrenal origin. Thomas CMG and Otten BJ. Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 37-43.

Based on some illustrative cases from the Nijmegen University Paediatric Clinic this paper describes our interpretation of the urinary steroid profile, an appreciated method of investigation in the diagnosis and treatment of children with endocrine disorders of gonads and adrenal origin. The diagnostic success of the urinary steroid profile, however, mainly depends on the strictness of its indication, i.e., a clinical history of overproduction of androgens from adrenal origin, as is the case with pseudo-pubertas praecox in childhood, and cycle irregularity, hirsutism and infertility in older adolescent girls.

Steroid profiling is also useful in detecting specific enzyme deficiencies in the synthesis of adrenal steroids. However, the urinary steroid profile has limited value in diagnosing Cushing's syndrome because its characteristic elevations of cortisol and cortisone metabolites can also be found in cases of alimentary obesity. It also cannot be used in demonstrating a decreased androgen production in childhood, because the urinary androgen excretion of children is generally low.

**Keywords:** urinary steroid profile; overproduction of androgens; enzyme deficiency; congenital adrenal hyperplasia; Cushing's syndrome; polycystic ovary syndrome.