



„Steroidprofile“: diagnostische Fingerabdrücke endokriner Erkrankungen

Das neue Steroidlabor am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin

Foto: Rolf Wegst

Von Stefan A. Wudy und
Michaela Hartmann

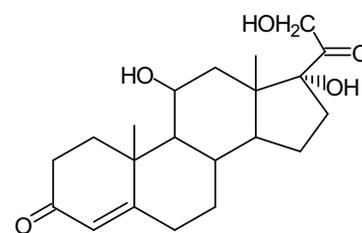
Im Januar 2001 hat in der Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie (Leiter: Prof. Dr. Ludwig Gortner) am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin ein neu etabliertes Labor seine Tätigkeit aufgenommen. Sein Profil bietet für die Bereiche Forschung und Entwicklung, aber auch als klinische Serviceeinrichtung eine bundesweit einzigartige endokrinologische Analytik an, nämlich die Identifizierung und Quantifizierung von Steroiden oder Steroidhormonen mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie.

Die Wissenschaft von den Hormonen und ihren Wirkungen wird *Endokrinologie* genannt. Das hormonelle System umfaßt sämtliche, vom Organismus selbst hergestellte Wirkstoffe, die an der Regelung und Steuerung von Lebensprozessen wesentlich beteiligt sind. *Hormone* (griech. Horman = antreiben, in Bewegung setzen) sind neben den Nerven das zweite Steuerungssystem im menschlichen Körper. Hormone sind chemische Verbindungen, die bereits in sehr geringer Konzentration wirken. Die meisten Hormone werden in besonderen sogenannten innersekretorischen Drüsen (endokrinen Drüsen) gebildet, als Botenstoffe in das Blut abgegeben („innere Sekretion“) und von diesem an ihre Wirkorte – meist bestimmte Organe – befördert. Nach erfolgter Wirkung können sie in der Leber abgebaut bzw. in unwirksame Formen umgewandelt oder durch die Nieren ausgeschieden werden. Sowohl ein Mangel als auch eine Überproduktion von Hormonen können zu charakteristischen Krankheiten führen. Der therapeutische Einsatz von Hormonen, wie z.B. Insulin oder Cortisol, kann lebensrettend sein.

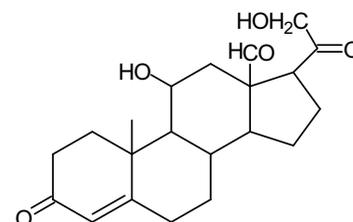
Nach ihrem chemischen Aufbau lassen sich Hormone in drei Grup-

pen einordnen. Abkömmlinge von Aminosäuren, wie das Stresshormon Adrenalin oder das Schilddrüsenhormon Thyroxin, sowie Eiweißhormone (Peptid- oder Proteohormone) wie das Bauchspeicheldrüsenhormon Insulin sollen nicht Gegenstand dieser Betrachtung sein. Zu der dritten Gruppe von Hormonen, den *Steroidhormonen*, zählen insbesondere die Hormone der Nebennierenrinde, der Keimdrüsen, d.h. Hoden (Testes) oder Eierstöcke (Ovarien), und des Mutterkuchens, der Plazenta (Abb. 1). Ihre Biosynthese verläuft über die Stufen des Squalens, Cholesterins und Pregnenolons. In der Nebennierenrinde werden unter Steuerung des in der Hirnanhangdrüse (Hypophyse) gebildeten Proteohormons ACTH (Adrenocorticotropes Hormone, Corticotropin) etwa 50 Corticosteroide (Kortikoide) gebil-

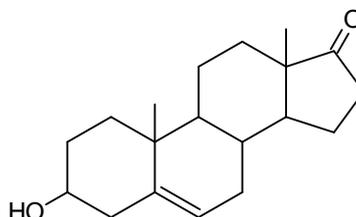
det. Nach ihrer biologischen Wirkung lassen sich die Nebennierenrindenhormone in drei Gruppen einteilen: 1) Glucocorticoide, 2) Mineralocorticoide und 3) Androgene. Die lebenswichtigen *Glucocorticoide* sind nicht nur, wie der Name sagt, an der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels beteiligt, sie beeinflussen auch den Fett- und Eiweißstoffwechsel. Dabei wirken sie teilweise synergistisch, teilweise anta-



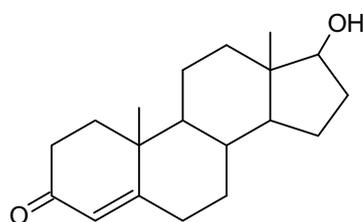
Cortisol



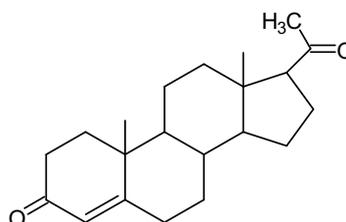
Aldosteron



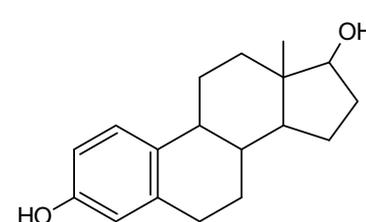
DHEA



Testosteron



Progesteron



Östradiol

Abb. 1: Strukturformeln von Steroidhormonen. Das Steroidgrundgerüst besteht aus einem Cyclopentanoperhydrophenanthren-Ringsystem, kann an den Positionen C18 und C19 anguläre Methylgruppen sowie an C17 eine Seitenkette tragen. Mineralokorticoide und Glucocorticoide sind seitenkettentragende Steroidhormone mit je 21 C-Atomen. Dargestellt sind die Hauptvertreter Cortisol und Aldosteron. Die männlichen Hormone – dargestellt sind Dehydroepiandrosteron (Nebenniere) und Testosteron (Hoden) – sind Abkömmlinge des „Androstans“ (19 C-Atome, an C17 keine Seitenkette). Die weiblichen Hormone sind zum einen sogenannte Gestagene (21 C-Atome, Hauptvertreter Progesteron) sowie Derivate des Östrans (18 C-Atome mit aromatischem Ring A und fehlender angulärer Methylgruppe an C10, Hauptvertreter Östradiol).



Stefan A. Wudy war während seines Studiums der Humanmedizin an der Universität Ulm Stipendiat des Bayerischen Staates. Er wurde 1986 bei Prof. Dr. Janos Homoki mit einer Arbeit über die gaschromatographische Bestimmung von Harnsteroid „summa cum laude“ promoviert. An der Universitätskinderklinik Ulm trat er in die Abteilung von Prof. Dr. Walter M. Teller ein, absolvierte seine Ausbildung zum Facharzt für Kinderheilkunde und spezialisierte sich in pädiatrischer Endokrinologie und Diabetologie (Prof. Dr. Eberhard Heinze). Für etwa zwei Jahre führten ihn Forschungsstipendien DFG zu Cedric H. L. Shackleton, Ph.D., D. Sc. am Children's Hospital Oakland Research Institute (Oakland, Kalifornien, USA) um neue steroidanalytische Methoden mittels Massenspektrometrie zu entwickeln. Seine Forschungsprojekte werden seit über zehn Jahren kontinuierlich von der DFG gefördert. 1997 wurde ihm an der Universität Ulm die *venia legendi* für Pädiatrie verliehen. Im Jahr 2000 wechselte er an die Justus-Liebig-Universität Gießen und leitet seither den Schwerpunkt pädiatrische Endokrinologie und Diabetologie. 2001 erhielt er den Jürgen Bierich Preis. 2003 erfolgte die Ernennung zum apl. Professor.

Foto: Rolf Wegst

gonistisch zum Insulin und Wachstumshormon. Sie nehmen beim Streß eine zentrale Rolle ein. Hauptvertreter der Glucocorticoide ist das Cortisol. Die Sekretionsrate von Cortisol beträgt ca. 15 bis 40 mg/Tag. Die *Mineralocorticoide* – wichtigstes natürliches Mineralocorticoid beim Menschen ist Aldosteron – regulieren das Gleichgewicht der Blutsalze Natrium und Kalium. Die tägliche Sekretionsrate von Aldosteron beträgt ca. 100 µg/Tag. Interessanterweise schüttet die Nebenniere des weiteren das schwache männliche Hormon (Androgen) Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEAS) aus und zwar mit ca. 15 mg/Tag in relativ hohen Mengen. Die Bedeutung dieses Hormons liegt weitgehend noch im unklaren und wird derzeit stark beforscht. Wahrscheinlich besitzt es besondere Bedeutung für Alterungsprozesse und Modulation des Immunsystems.

Zu den Geschlechts- oder *Sexualhormonen* gehören die Hormone

der Keimdrüsen. Die Gesamtheit der männlichen Geschlechtshormone bezeichnet man als Androgene, bei den weiblichen Geschlechtshormonen unterscheidet man die *Östrogene* (brunsterzeugende Stoffe; Hauptvertreter Östradiol; Produktionsrate zyklusabhängig zw. 0,04 und 0,20 mg/Tag) von den *Gestagenen* (schwangerschaftserhaltende Stoffe; Hauptvertreter Progesteron; Produktionsrate zyklusabhängig zw. 4,2 und 42 mg/Tag). Östrogene und Gestagene regulieren nahezu alle Vorgänge der Reproduktion bei der Frau und bewirken – wie die Androgene beim Mann – die Ausprägung der sekundären weiblichen Geschlechtsmerkmale.

Störungen im menschlichen Steroidhormonstoffwechsel

Störungen, die entweder durch das Fehlen oder durch eine überhöhte Produktion von Steroidhormonen bedingt sind, zählen zu den häu-

figsten endokrinologischen Krankheitsbildern. Viele davon manifestieren sich bereits im Kindes- und Jugendalter.

Unter Nebennierenrindenunterfunktion versteht man die teilweise oder vollständige Unterfunktion der Nebennierenrinde. Beim sogenannten *Morbus Addison* führen chronische Prozesse über Jahre hinweg zu einer Zerstörung der Nebennierenrinde. Zur Gruppe der Erkrankungen mit Unterfunktion der Nebennierenrinde kann man auch die angeborenen Enzymdefekte der Cortisolbiosynthese rechnen. Im deutschen Sprachraum wird – wenig glücklich und von Betroffenen oft stigmatisierend erlebt – die Bezeichnung *Adrenogenitales Syndrom (AGS)* verwendet, im englischen Sprachgebrauch hat sich die Bezeichnung „congenital adrenal hyperplasia (CAH, kongenitale Nebennierenhyperplasie)“ durchgesetzt. Am häufigsten ist hierbei das Enzym 21-Hydroxylase betroffen. Jede 50. Person in unserer Bevölke-



Abb. 2: TA Yvonne Schmitz beim Endschrift in der Präparation der Proben zur Harnsteroidprofilanalyse mittels GC-MS. Die derivatisierten Extrakte werden gelchromatographisch an Lipidex 5000 Mini-Säulen gereinigt.



Michaela Hartmann studierte Chemie an der Universität Ulm. Schon während dieser Zeit vertiefte sie bei Prof. Dr. Ballschmitter ihre Studien auf dem Gebiet der instrumentellen Analytik. Ihre Diplomarbeit über Röntgenstrukturanalyse metallorganischer Komplexe fertigte sie bei Prof. Dr. Thewalt an. Anschließend arbeitete sie als Doktorandin im Steroidlabor (Prof. Dr. Janos Homoki, Priv.-Doz. Dr. Stefan Wudy) der Universitätskinderklinik Ulm (Direktor Prof. Dr. Walter M. Teller) auf dem Gebiet der Steroidhormonbestimmung mittels Gaschromatographie sowie Gaschromatographie-Massenspektrometrie. 2002 wurde sie an der Universität Ulm bei Priv.-Doz. Dr. Stefan Wudy zum Dr. biol. hum. mit einer Arbeit über die Bestimmung von Leitmetaboliten der Cortisolbiosynthese aus Blutplasma mittels GC/MS promoviert. Zuvor war sie im Jahre 2000 ebenfalls an die Justus-Liebig-Universität gewechselt, hatte beim Aufbau des Steroidlabors am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin wertvolle Unterstützung geleistet und arbeitet seither in diversen Forschungsprojekten mit.

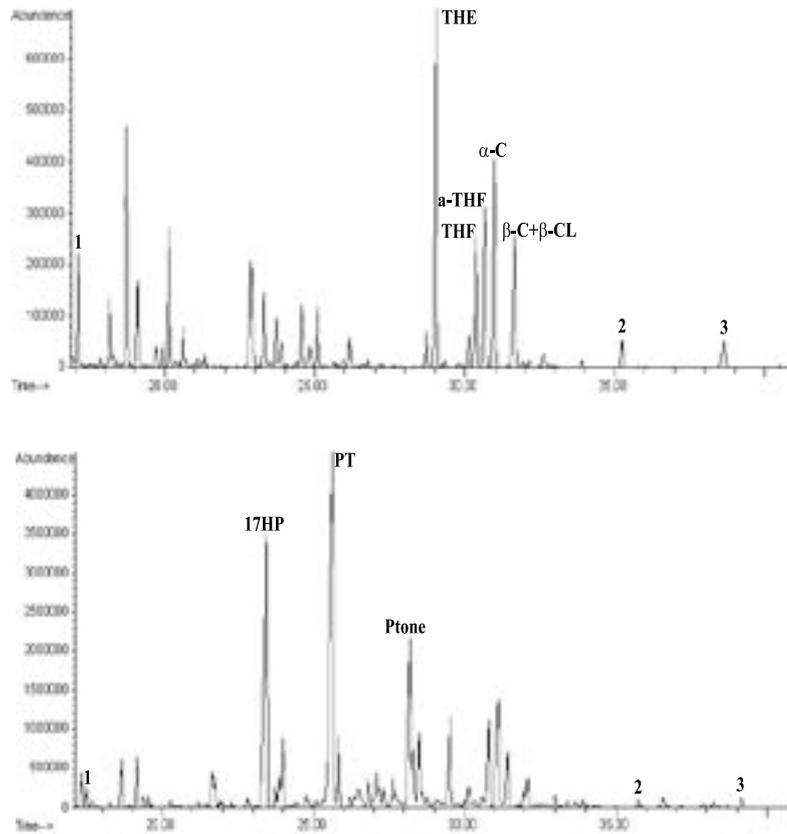


Abb. 3A und 3B: Harnsteroidprofilanalyse mittels GC-MS im „full scan modus“ bei einem gesunden präpubertären Jungen (A) und einem gleichaltrigen Patienten mit klassischem 21-Hydroxylasemangel (B). Dargestellt sind die Chromatogramme der Totalionenströme, welche Gaschromatogrammen ähneln und die Auftrennung in verschiedene Peaks zeigen. Den einzelnen Peaks können die entsprechenden Steroidmetabolite über die zugehörigen Massenspektren zugeordnet werden. Beim Gesunden findet sich eine niedrige Ausscheidung von Androgenmetaboliten, es dominieren die Cortisolmetaboliten (THE, Tetrahydrocortison; THF, Tetrahydrocortisol; α -THF, 5 α -Tetrahydrocortisol; α -C, α -Cortol; α - u. β -CL, α - und β -Cortolon). Diese Metaboliten sind beim 21-Hydroxylase-Mangel nicht oder kaum nachweisbar, dafür sind vorherrschend die diagnostisch beweisenden Steroidmetaboliten (Abbauprodukte des Leithormons 17 α -Hydroxyprogesteron: PT, Pregnantriol; PTone, 11-Ketopregnantriol; 17HP, 17 α -Hydroxypregnanolon5 α). 1, 2 und 3 bezeichnen interne Standards.

zung weist ein defektes und ein intaktes Gen auf, d.h. ist heterozygoter, gesunder Genträger und damit Überträger der Erkrankung. Das Zusammentreffen zweier defekter Gene führt zur Erkrankung. Eines von etwa 7000 Neugeborenen ist davon betroffen. Der Block in der Steroid-Biosynthese (Defekt des Enzyms 21-Hydroxylase) ist mit einem Mangel an Cortisol und in schweren Fällen auch an Aldosteron verbunden. Der Cortisolmangel führt über eine vermehrte Ausschüttung des hypothalamischen Steuerungshormons ACTH zu einer vermehr-

ten Stimulation und reaktiven Vergrößerung der Nebennierenrinde sowie einer erhöhten Produktion von Steroidhormonen vor dem Enzymdefekt. Hierbei werden auch vermehrt Androgene gebildet. Aufgrund einer bereits im Mutterleib stattfindenden vermehrten Androgenproduktion können chromosomal weibliche AGS-Neugeborene schon bei Geburt ein vermännlichtes äußeres Genitale (bei intaktem weiblichen inneren Genitale) aufweisen. Es kann daher vorkommen, daß weibliche AGS-Neugeborene fälschlicherweise bei der Ge-

burt als Knaben verkannt und registriert werden. Ferner kann es – aufgrund des Aldosteronmangels – bei Neugeborenen beiden Geschlechts in den ersten Lebenswochen zu einer lebensgefährlichen Salzverlustkrise kommen, die sich mit den Symptomen Trinkschwäche, Erbrechen, Austrocknung und zunehmender Apathie manifestiert. Bei nichterkannten AGS-Patienten kann sich ab dem Kleinkindesalter ein zu frühes Auftreten von Pubertätszeichen zeigen (Pseudopubertas praecox). Späte Formen des AGS können sich auch noch im jugendlichen- und Erwachsenenalter manifestieren, wobei sie meist nur beim weiblichen Geschlecht aufgrund der Symptomatik (vermehrte Körperbehaarung vom männlichen Typ, Regelstörungen, Fertilitätsprobleme) auffallen.

Eine erhöhte Sekretion von Cortisol durch die Nebennierenrinde wird allgemein als *Cushing-Syndrom* bezeichnet. Es ist selten, kann aber in jedem Lebensalter auftreten. Typischerweise bestehen eine stammbetonte Fettsucht mit Vollmondgesicht, dünner Haut, Bluthochdruck, Neigung zu Diabetes mellitus und – bei Kindern – ein vermindertes Wachstum. Daneben können Tumoren der Nebennierenrinde auch isoliert Androgene, Östrogene oder Mineralokorticoide produzieren. Eine gesteigerte Sekretion von Aldosteron durch die Nebennieren wird als *Conn-Syndrom* bezeichnet. Des Weiteren gehen bestimmte, seltene Formen von Bluthochdruck mit Störungen im Stoffwechsel der Steroidhormone einher.

Analytik von Steroidhormonen: Stellenwert und Problematik

Eine zuverlässige Hormonanalytik stellt – auch im Zeitalter der Molekularbiologie – nach wie vor eine unerläßliche diagnostische Säule bei der Abklärung hormoneller Krankheitsbilder dar. Es gibt aber nicht nur „diagnostische“ Indikationen zur Messung von Hormonen. Neben klinischen Parametern erlaubt die Beurteilung der Verläufe

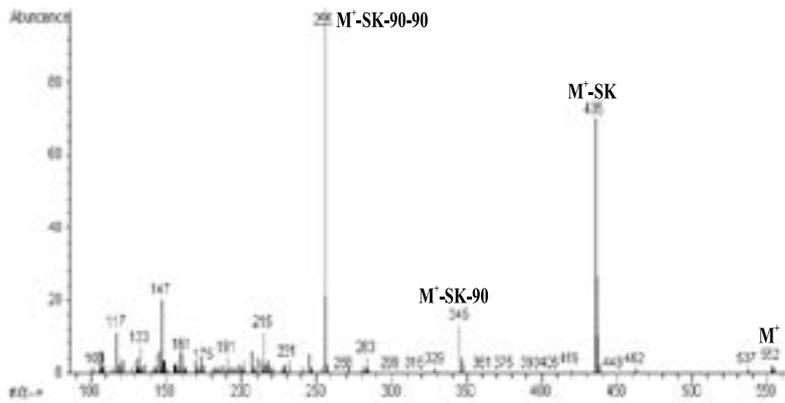


Abb. 4: Massenspektrum (GC-MS-Kopplung, Elektronenstoßionisation 70 eV) von Pregnantriol (PT) als Methyloxim-Trimethylsilyl-Derivat. PT ist Metabolit des 17-Hydroxyprogesterons. Der Peak bei m/z 552 entspricht dem Molekülion (M^+). Wichtige Fragmente entstehen durch Verlust der Seitenkette (m/z 435: $M^+ - 117$) sowie durch sequentielle Verluste von Trimethylsilanolgruppen (m/z 345: $M^+ - 117 - 90$; m/z 255: $M^+ - 117 - 90 - 90$) an den Positionen funktioneller Gruppen.

von Hormonkonzentrationen auch die therapeutische Überwachung („monitoring“) vieler hormoneller Erkrankungen. Steroidhormonbestimmungen werden gegenwärtig fast ausschließlich nach dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion mittels Immunoassays durchgeführt. Gerade die sogenannte direkten Immunoassays sind schnell und einfach durchzuführen und ermöglichen einen hohen Probendurchsatz.

Diesen Vorteilen stehen jedoch auch nicht zu übersehende Nachteile gegenüber. Zum einen erlaubt ein Immunoassay immer nur die Bestimmung eines bestimmten Hormons. Die Bestimmung mehrerer Hormone erfordert daher oft ein hohes Probenvolumen, was nachteilig bei kleinen Kindern ist. Die Besonderheiten des kindlichen Steroidhormonstoffwechsels führen

bei kommerziell erhältlichen Immunoassays aufgrund von Kreuzreaktivität oftmals zu grotesk verfälschten Ergebnissen mit der Folge von Fehldiagnosen und Fehlbehandlungen. Über erhebliche Spezifitätsprobleme bei der Steroidhormonanalyse im Plasma wurde vor allem in der Neonatalperiode und frühen Säuglingszeit berichtet.

Das neu etablierte Steroidlabor am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin verfügt über besondere analytische Techniken, um Steroidhormone mit derzeit höchster Spezifität zu messen. Mittels *Gaschromatographie-Massenspektrometrie* (GC-MS) ist es dem Team um Prof. Dr. Wudy möglich, Steroidhormone in Körperflüssigkeiten wie Serum (Plasma) oder Harn – aber auch aus anderen Körperflüssigkeiten und -geweben – zu bestimmen. Analytische Verfahren, die auf dem physikalisch-chemischen Prinzip der Massenspektrometrie beruhen, stellen derzeit in der qualitativen und quantitativen Steroidanalytik die Methoden mit der höchsten Spezifität dar. In der Qualitätskontrolle wird diese Technik als sogenannter „Goldstandard“ eingesetzt, um *Referenzmethoden* zur Verifizierung von Steroidimmunoassays zu schaffen. Diese Technik der Steroidhormonanalytik wird weltweit nur von wenigen Laboratorien beherrscht.

Bei der Kopplungstechnik Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) werden – im Gegensatz zu den klassischen Detektoren der Gaschromatographie wie z.B. dem Flammenionisationsdetektor – direkte, strukturbezogene Daten der zu analysierenden Substanzen erhalten. Die *Gaschromatographie* übernimmt die Aufgabe, die Substanzen aus dem Probengemisch aufzutrennen. Für Steroide besitzt sie die höchste Trennstärke von allen chromatographischen Verfahren. Identifizierung und Quantifizierung der betreffenden Steroide erfolgen mittels der *Massenspektrometrie*, welche strukturelle Information über die untersuchten Substanzmoleküle liefert. Ein wichtiger Schwerpunkt des Labors liegt auf dem Sektor der Entwicklung von massenspektrometrischen Verfahren zur Steroidhormonbestimmung. Auf diesem Gebiet konnte unsere – seit über zehn Jahren kontinuierlich von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderte Arbeitsgruppe – Pioniararbeit leisten. Die zu entwickelnden Methoden sollten nicht nur als Forschungsmethoden eingesetzt werden, sondern auch für den Einsatz in der klinischen Routine verwendbar sein.

Qualitative und quantitative Harnsteroidanalyse mittels GC-MS

Bei der Multisteroidanalyse mittels GC-MS aus Harn handelt es sich um ein *hochspezifisches* und *rasches* Analysenverfahren (Abb. 2). Aus der Konstellation eines Spektrums von etwa 50 verschiedenen Harnsteroiden („*Harnsteroid-Profil*“) können – abgesehen von wenigen Ausnahmen – praktisch alle Störungen im humanen Steroidstoffwechsel *nichtselektiv* diagnostiziert werden (Abb. 3A und B sowie Abb. 4). Die Technik erlaubt auch die Bestimmung und Identifizierung von seltenen Steroiden, für die keine Immunoassays existieren. Gerade für die pädiatrische Endokrinologie bietet diese Technik den zusätzlichen Vorteil, *nichtinvasiv* zu sein: Harn ist einfach zu gewin-

JUSTUS-LIEBIG-
UNIVERSITÄT
GIESSEN

Prof. Dr. med. Stefan A. Wudy

Pädiatrische Endokrinologie/Diabetologie/Adipositas
Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie
Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
Feulgenstraße 12
35392 Gießen
Tel.: 0641/99-43400
Fax: 0641/99-43419
e-mail: Stefan.Wudy@paediat.med.uni-giessen.de

nen. Steroidbestimmungen aus z.B. über 24 Stunden gesammelten Harnproben erlauben die Ermittlung von Steroidproduktionsraten und gewährleisten als zeitlich integrale Parameter auch eine exzellente Therapiekontrolle.

Aus den aufgeführten Gründen bietet das Steroidlabor auch einen regionalen und überregionalen Service für klinische Steroiddiagnostik an und ist bei schwierigen differentialdiagnostischen oder steroidanalytischen Problemen ein – weltweit – gesuchter Ratgeber. Wichtig ist, daß mittels GC-MS die endgültige, d.h. konfirmative Diagnostik des Adrenogenitalen Syndroms bereits in der Neonatalperiode möglich ist. Dieser Aspekt erfährt besondere Bedeutung im Kontext des neugeordneten Hessischen Neugeborenen-Screening und führt zu einer engen Kooperation mit dem Screening-Zentrum Hessen, das sich in derselben Abteilung des Zentrums für Kinderheilkunde und Jugendmedizin befindet.

Plasmasteroidanalytik

Ausgehend von der Harnsteroidprofilanalyse übertrugen wir den Gedanken des „profiling“ auf das menschliche Plasma und entwickelten neue, klinisch einsetzbare Methoden zur simultanen Quantifizierung diagnostischer Leithormone des menschlichen Steroidstoffwechsels. Die Bestimmung von Steroidhormonen aus menschlichem Plasma stellt ein schwieriges Unterfangen dar, da ihre Konzentrationen – vor allem bei Frauen und Kindern – in meist sehr niedrigen Bereichen liegen. Die massenspektrometrische Quantifizierung von Steroidhormonen im Plasma wurde daher erst mit der Einführung des „selected ion monitoring“ (SIM, Massenfragmentographie) möglich. Als interne Standards werden mit *stabilen Isotopen* markierte Analoga der zu messenden Hormone

(Analyten) zugegeben. Die hierbei erforderlichen Synthesen wurden größtenteils von unserer Arbeitsgruppe selbst durchgeführt. Dieses Analysenprinzip wird als *Isotopenverdünnungs-/Gaschromatographie-Massenspektrometrie* (ID/GC-MS) bezeichnet. Unser

derzeitiger Stand der Entwicklung erlaubt die simultane Bestimmung von neun Leitsteroiden des menschlichen Steroidstoffwechsels in einem sogenannten „*Plasma-Steroidprofil*“ (Abb. 5 und Abb. 6). Die Bestimmung aller dieser Steroid-

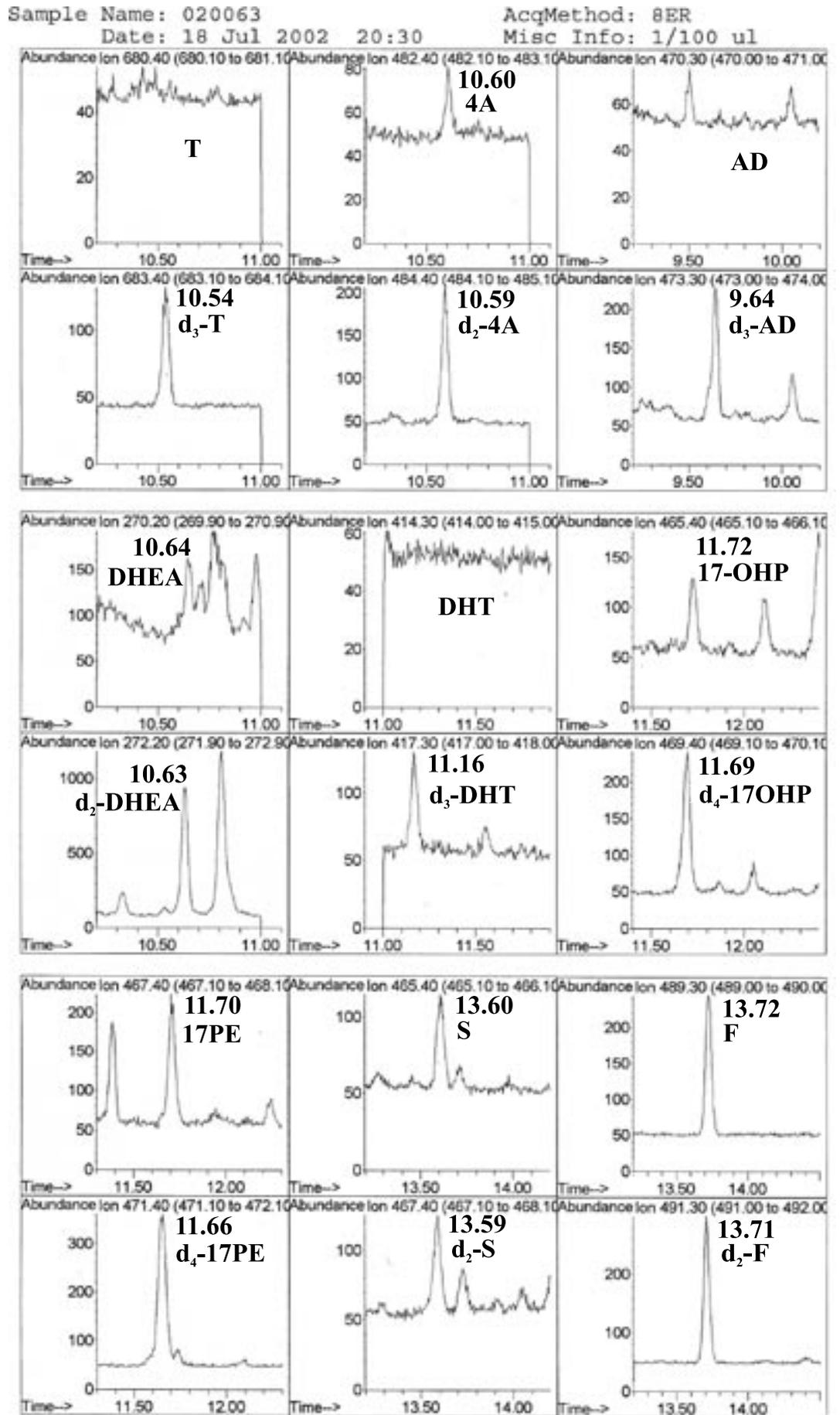


Abb. 5: Beispiel eines Plasmasteroidprofils mittels Isotopenverdünnungs-/Gaschromatographie-Massenspektrometrie. Analyt und stabilisotop(Deuterium-)markierter korrespondierender Interner Standard sind paarweise übereinandergestellt. Derzeit können aus 0,5 ml Plasma simultan folgende Steroidhormone bestimmt werden: Testosteron (T), 4-Androstendion (4A), Androstandiol (AD), Dehydroepiandrosteron (DHEA), Dihydrotestosteron (DHT), 17-Hydroxyprogesteron (17OHP), 17-Hydroxypregnenolon (17PE), 11-Desoxycortisol (S) sowie Cortisol (F).



Abb. 6: Auswertung der GC-MS-Befunde und gemeinsame Diskussion im Team: Diplom-Chemikerin Dr. Michaela Hartmann (rechts) und Prof. Dr. Stefan Wudy.

mungen bieten die Chance einer komplementären Analysenmethode mit der derzeit höchsten Spezifität. Leider ist bei der aktuellen Generation der weitgehend automatisiert erfolgenden direkten Immunoassays ein deutlicher Qualitätsverlust gegenüber der früheren Generation von Immunoassays, in denen Chromatographieschritte vorgeschaltet waren, festzustellen. Es bleibt nur zu hoffen, daß diese Entwicklung, die durch eine einseitig an den Kosten orientierte Diskussion begünstigt wurde, baldmöglichst wieder zugunsten steigender analytischer Qualität korrigiert wird. Für die Zukunft ist zu erwarten, daß die – teilweise auch rechtlich – geforderte und erreichbare Sicherheit bei der Detektion von Substanzen in zunehmend mehr Bereichen das Massenspektrometer den einzig möglichen Detektor werden läßt. •

hormone ist bereits ab einem Probenvolumen von 0,5 ml Plasma möglich. Vergleiche mit immunologischen Bestimmungsmethoden zeigen, daß unsere Hormonkonzentrationen bei Neugeborenen und jungen Säuglingen deutlich niedriger liegen. Insbesondere interferieren hier kreuzreagierende Steroide der Fötalzone der Nebenniere erheblich mit den Antikörpern der Immunoassays.

Steroidanalytik mittels Massenspektrometrie: Ausblick

Neben den beeindruckenden Fortschritten auf molekularbiologischem Gebiet darf nicht übersehen werden, daß sich auch auf dem Gebiet der instrumentellen Analytik revolutionierende Veränderungen ergeben haben. Die „biomedizinische Massenspektrometrie“ hält derzeit breiten Einzug auf praktisch allen Gebieten der „life sciences“.

Neben methodischen Entwicklungen unterhält unsere Arbeitsgruppe eine weitreichende interdisziplinäre Zusammenarbeit mit weiteren nationalen oder internationalen Arbeitsgruppen, wie Chemikern, Rechtsmedizinern, Ernährungswissenschaftlern, internistischen Endokrinologen, aber auch mit der Industrie (Auftragsanalytik). Soeben konnte ein umfangreiches Projekt zur Untersuchung von Reifungsprozessen der Nebennierenrinde und deren Auswirkung auf den kindlichen Knochenstoffwechsel beendet werden. Hierbei zeigte sich, daß doch manches, bereits für unumstößlich gehaltene Lehrbuchwissen über die Funktion der Nebennierenrinde künftig mit einem Fragezeichen versehen werden muß.

Allgemein empfehlen wir massenspektrometrische Steroidbestimmungen immer dann, wenn bei immunologischen Untersuchungsmethoden Probleme durch Matrixeffekte oder Kreuzreaktivität zu erwarten sind. Massenspektrometrische Steroidbestim-