

Journal of Chromatography, 145 (1978) 359–369

Biomedical Applications

© Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam — Printed in The Netherlands

CHROMBIO. 125

HARN-STEROIDPROFILE HIRSUTER FRAUEN

HERMANN-JOSEF EGGER*, JOSEF REINER und GERHARD SPITTELER**

Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Bayreuth, Bayreuth (B.R.D.)

und

RAINER HÄFFELE

Frauenklinik der Universität Göttingen, Göttingen (B.R.D.)

(Eingegangen am 1. August 1977)

SUMMARY

Urine steroid profiles of hirsute women

Steroid profiles of women suffering from idiopathic hirsutism show in more than 50% of the cases a 10–100 fold increase in the excretion of dehydroepiandrosterone (DHEA) compared with normal values.

The excretion of DHEA was reduced much more than that of other 17-ketosteroids if the adrenals (NNR) were suppressed by dexamethasone (DXM). Within one week they reached values at the compound noise level of the gas chromatograms. If the ovaries were stimulated with human chorionic gonadotropin during continued suppression of the NNR with DXM no increase of DHEA could be detected.

EINLEITUNG

Zur Diagnose von Steroidstoffwechselstörungen verwendet man neben dem Radioimmunoassay auch heute noch Gruppenbestimmungsmethoden, bei denen mit Hilfe eines Reagens alle Verbindungen erfasst werden, die eine bestimmte funktionelle Gruppe enthalten.

17-Ketosteroide werden beispielsweise im Harn nach der Methode von Vestergaard [1] analysiert. Zu dieser Gruppe von Verbindungen zählen Androsteron (A), Etiocholanolon (E), ihre 11 β -Hydroxyderivate (11-HA und 11-HE), Dehydroepiandrosteron (DHEA) und sein 16 α -Hydroxyderivat (16-DHEA). Diese Steroide liegen in sehr unterschiedlichen Mengenverhältnissen im Harn

*Institut für Toxikologie und Embryonalpharmakologie der Freien Universität Berlin, Garystrasse 1–9, 1 Berlin 33, B.R.D.

**Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Bayreuth, Postfach 3008, 8580 Bayreuth, B.R.D.: Korrespondenzautor.

vor. Beispielsweise übertrifft der Gehalt an A und E den an DHEA in der Regel um das 10–50-fache.

Da man nicht voraussetzen kann, dass bei einer Stoffwechselstörung die Ausscheidung aller 17-Ketosteroide im Harn in gleicher Weise ansteigt oder abfällt, eignet sich diese Gruppenbestimmungsmethode eigentlich nur dann zu Diagnosezwecken, wenn eine Änderung in der Ausscheidung der Hauptsteroiden A und E auftritt. Eine Veränderung in der Ausscheidung von Nebensteroidmetaboliten wird dagegen, selbst wenn diese in einer um ein Mehrfaches erhöhten Menge oder nur zu einem Bruchteil der Normalwerte ausgeschieden werden, kaum ins Gewicht fallen.

Dieser Nachteil ist radioimmunologischen Methoden nicht so zu eigen: Mit dem Radioimmunoassay kann man Steroidgruppen und auch einzelne Steroide erfassen. Der Radioimmunoassay hat aber einen anderen Nachteil: Man kann mit ihm nur solche Steroide analysieren, deren Gegenwart im Harn bekannt ist. Überdies werden aus zeitlichen Gründen nur solche Steroide erfasst, deren Bestimmung interessant und notwendig erscheint und für die daher ein spezifischer Radioimmunoassay entwickelt wurde. Steroide, die im Normalfall nicht gebildet werden oder deren Bedeutung für den Stoffwechsel als unwichtig erachtet wird und für die daher keine Bestimmungverfahren erarbeitet wurden, entziehen sich dem Nachweis.

Diese Lücke in den Nachweis- und Bestimmungsmethoden kann durch Verwendung der gaschromatographischen (GC) Analyse von Steroiden mit Glaskapillarsäulen geschlossen werden. Mit dieser Methode können alle Steroide in einer biologischen Flüssigkeit in einem Analysengang halbquantitativ erfasst werden [2–7]. Die so erhältlichen "Profile" geben ein Bild von der relativen Menge der ausgeschiedenen Steroide, so dass sich unterschiedliche Produktions- und Ausscheidungsraten erkennen lassen.

Die in den Gaschromatogrammen angezeigten Steroide können durch Messung von Retentionsindices und gleichzeitige Aufnahme von Massenspektren eindeutig identifiziert werden. Da die Ausscheidungsraten an Steroiden individuell und zeitlich unterschiedlich sind, sind Abweichungen von der Norm nur dann ein Hinweis auf Stoffwechselstörungen, wenn die Ausscheidungsrate bzw. Produktionsrate gegenüber üblichen Werten etwa um den Faktor 5 und grösser variieren. Abweichungen in dieser Grössenordnung (zwischen dem Faktor 10 und 100) haben wir in der Ausscheidung von DHEA bei Frauen mit idiopathischem Hirsutismus, der Bildung vermehrter Körperbehaarung der Frau ohne erkennbare Ursache, beobachtet. Darüber soll hier berichtet werden.

EXPERIMENTELLES

Auswahl der Patienten

Für die Untersuchung wurden 24 Patientinnen ausgewählt, die auf Grund der klinischen Hormonbestimmungen an idiopathischem Hirsutismus litten.

Durchführung des Dexamethason–Choriongonadotropin-Testes (DXM–HCG-Test)

Der DXM–HCG-Test wurde stationär in der Frauenklinik der Universität Göttingen durchgeführt, um alle Patientinnen unter gleichen Bedingungen

untersuchen und psychische Faktoren (z.B. Stress etc.) weitgehend ausschalten zu können [8].

Alle Patientinnen erhielten nach dreimaliger Bestimmung der Basiswerte vom 4. bis 9. Tag täglich 3×1.5 mg Dexamethason (Fortecortin[®], Merck) oral und zusätzlich vom 7. bis 9. Tag 5000 I.E. Choriogonadotropin (Primogonyl[®], Schering) i.v. Während des Untersuchungszeitraumes wurde täglich der 24 Stunden Urin gesammelt (Basiswert: 1. bis 3. Tag; Werte unter DXM-Medikation: 4., 5. und 6. Tag; Werte unter HCG-Behandlung und DXM-Medikation: 7., 8. und 9. Tag). Blutproben (20 ml Plasma) wurden am 2., 7., 9 und 10. Tag der Behandlung morgens um 8.00 Uhr entnommen. Alle Proben wurden bis zur Verarbeitung bei -18° aufbewahrt.

Hormonbestimmung

Die Hormonbestimmungen wurden im Hormonlabor der Frauenklinik der Universität Göttingen (Abteilung für klinische und experimentelle Endokrinologie, Leitung: Frau Prof. Dr. A. König) wie folgt ausgeführt. Urin: 17-Ketosteroide nach Vestergaard [1]; 17α -Hydroxycorticosteroide nach Appleby et al. [9]; Pregnantriol nach Fotherby und Love [10]; Plasma: 17β -Hydroxyandrogene durch Radioimmunoassay nach Ellendorff et al. [11].

Aufarbeitung der Urinproben zur GC-Analyse

Steroide liegen im Harn fast ausschliesslich in konjugierter Form vor. Die hohe Polarität der Konjugate macht eine direkte gaschromatographische Bestimmung nicht möglich, diese gelingt erst nach enzymatischer Spaltung und Derivatisierung.

Zu jeweils 50 ml Urin wurde 1.0 g Natriumacetat-Trihydrat gegeben und mit konz. Essigsäure der pH-Wert auf 4.5 eingestellt. 0.2 ml einer β -Glucuronidase-Arylsulfatase-Lösung, [Boehringer, Mannheim, B.R.D.; 1 ml enthielt 5.2 I.E. β -Glucuronidase (bestimmt bei 38° , Phenolphthaleinmonoglucuronid als Substrat) und 14 I.E. Arylsulfatase (bestimmt bei 25° , *p*-Nitrophenyl-sulfat als Substrat)] wurden zugefügt und 24 Stunden bei 37° (unter schwachem Rühren) inkubiert. Dann wurde mit einigen Tropfen konz. wässriger Natriumhydroxid-Lösung der pH-Wert auf 5.5 eingestellt, weitere 0.2 ml der β -Glucuronidase-Arylsulfatase-Lösung zugefügt und nochmals 24 Stunden bei 37° inkubiert [12].

Die hydrolysierten Steroide wurden nach Bradlow [13] an Amberlite XAD-2 wie folgt extrahiert. Die Säulen (600 X 20 mm) wurden mit 50 g feuchtem, frisch extrahiertem XAD-2 gefüllt und unmittelbar vor Gebrauch mit 200 ml 5% wäss. Natriumchloridlösung gewaschen. Dann wurde das Hydrolysat (50 ml) über die Säule gegeben (Tropfgeschwindigkeit 1 ml/min) und mit 75 ml Aqua dest. gewaschen; das Washwasser wurde verworfen. Die Lipophilen Bestandteile (freie Steroide, lipophile organische Säuren etc.) wurden anschliessend mit 200 ml Methanol eluiert; Blasen wurden durch Umschütteln entfernt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei einer maximalen Temperatur von 35° abgezogen. Der organische Rückstand wurde mit 15 ml Essigester aufgenommen und dreimal mit 10 ml Portionen wässriger 5%iger Natriumbicarbonat-Lösung—10%iger Natriumchlorid-Lösung ausgeschüttelt und

dreimal mit 10 ml gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die Essigesterfraktion wurde mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingedampft [12].

Darstellung der Trimethylsilyl-Enol-Trimethylsilyl-Ether (TMS-Enol-TMS-Ether).

Für die GC von Steroiden werden meist Methyloxim-TMS-Ether als Derivate nach Thenot und Horning [14] dargestellt. Diese Derivatisierungsmethode hat den Nachteil, dass dabei schwerflüchtiges Imidazol gebildet wird, das bei der GC-Analyse sehr breite Peaks gibt [15]. Zudem beobachtete Engel et al. [16] und Thenot und Horning [17] dass im Injektorblock und am Säulenansatz Artefakte gebildet werden können, die einen weiteren Reinigungsschritt wünschenswert erscheinen lassen [18,31]. Wir benutzten deshalb diese Derivatisierungsmethode nur in einzelnen Fällen und stellten TMS-enol-TMS-ether dar [20]. Der Rückstand des Steroid-Extraktes wurde mit 100 μ l Methanol aufgenommen; 10 μ l dieser Lösung wurden mit einer Mikroliterspritze in ein Glasröhrchen (2 \times 50 mm) gegeben und im Vakuum eingedampft. Nach Zugabe einiger Flitter wasserfreien Natriumacetats, 10 μ l N-Methyl-N-TMS-Trifluoroacetamids (MSTFA) und 10 μ l wasserfreien Pyridins als Lösungsmittel [21] wurden die Röhrchen zugeschmolzen und 24 h bei 60° oder 72 h bei Raumtemperatur gehalten. Unter diesen Bedingungen wurde quantitative Trimethylsilylierung auch der 17 α -Hydroxylgruppe (nicht aber der 11 β -Hydroxylgruppe) und Enolisierung von Ketogruppen mit Ausnahme der in Stellung 11 beobachtet. Das Reaktionsgemisch wurde ohne weitere Aufarbeitung für die GC-Analyse verwandt.

Glaskapillargaschromatographie

Die Glaskapillargaschromatogramme wurden an einem Carlo-Erba-Gaschromatographen Modell 2300 gemessen. Als Säulen wurden Dünnschichtglasskapillarsäulen von 25 m Länge und 0.3 mm Innendurchmesser verwendet. Als stationäre Phase diente SE-30. Die Säulen wurden aus Softglas mit einem Kapillarschneidgerät gezogen und nach der statischen Methode belegt. Die Säulen konnten mehrere Monate ohne merkliche Verminderung der Trennleistung und Veränderung der Methyleneinheiten verwendet werden.

GC-Bedingungen: Injektor- und Detektortemperatur, 280°, Split, 1:10; Trägergas, Helium; Flussgeschwindigkeit, 20–25 cm/sec bei 250°; Temperaturprogramm, 6 min isotherm bei 150°, dann programmiert mit 2°/min bis auf 300°, anschliessend 15 min isotherm bei 300°.

Bestimmung der Methyleneinheiten (MU-Werte)

Die MU-Werte wurden durch Koinjektion von geradzahigen *n*-Kohlenwasserstoffen (C₁₆–C₃₂) mit der Probe bei einem Temperaturprogramm von 1°/min und 200° Anfangstemperatur bestimmt. Unter diesen Bedingungen wurden die Kohlenwasserstoffe C₂₄–C₃₂ in nahezu gleichen Abständen eluiert.

Massenspektrometrie (MS)

Die Strukturen aller in den Abbildungen bezeichneten Steroide wurden durch Bestimmung der MU-Werte sowie durch Aufnahme der Massenspektren und

ergleich mit Spektren authentischer Proben (Ikapharm, Ramat-Gan, Israel und Schering, Berlin, B.R.D.) gesichert.

Die Massenspektren wurden mit einem LKB-Massenspektrometer 2091 aufgenommen, das mit dem LKB-GC-MS-Computersystem 2130 ausgerüstet war. Zur Trennung der Steroide wurden LKB-Glaskapillarsäulen (25 m, SE-30, mehr als 70.000 Böden) verwendet.

MS-Bedingungen: Separator- und Ionenquellentemperatur, 290°, Elektronenenergie, 20 eV zur Aufzeichnung des Totalionenstroms, 70 eV zur Registrierung der Massenspektren; Beschleunigungsspannung, 3.5 kV; Ionenstrom, 50 μ A.

Identifizierte Steroide

Die identifizierten Steroide, ihre Abkürzungen und die MU-Werte sind in Tabelle I aufgeführt.

ABELLE I

IDENTIFIZIERTE STEROIDE UND IHRE MU-WERTE

= Androstan; A'=Androsten; P=Pregnan; P'=Pregnen.

Abkürzung	Molekulargewicht	MU-Wert	Trivial Name	Systematischer Name
	338	24.00	<i>n</i> -Tetracosan	
OP	390	25.01	Dioctylphthalat	
	434	25.34	Androsteron	5 α -A-3 α -ol-17-on
	434	25.39	Etiocholanolon	5 β -A-3 α -ol-17-on
HEA	432	26.10	Dehydroepiandrosteron	5-A'-3 β -ol-17-on
KA	448	26.53	11-Ketoandrosteron	5 α -A-3 α -ol-11,17-dion
KE	448	26.45	11-Ketoetiocholanolon	5 β -A-3 α -ol-11,17-dion
HA	450	27.04	11-Hydroxyandrosteron	5 α -A-3 α ,11 β -diol-17-on
HE	450	26.95	11-Hydroxyetiocholanolon	5 β -A-3 α ,11 β -diol-17-on
DHEA	448	27.46	16 α -Hydroxy-dehydroepiandrosteron	5-A'-3 β ,16 α -diol-17-on
P	464	27.94	Pregnantriol	5 β -P-3 α ,20 α -diol
P'	552	28.20	Pregnantriol	5 β -P-3 α ,17 α ,20 α -triol
D	462	28.49	Pregnendiol	5-P'-3 β ,20 β -diol
T	522	28.67	Androstentriol	5-A'-3 β ,16 α ,17 β -triol
	654	30.68	Cortolon	5 β -P-3 α ,17 α ,20 α ,21-tetro-11-on
β	654	30.97	β -Cortolon	5 β -P-3 α ,17 α ,20 β ,21-tetro-11-on
THE	652	31.14	THE	5 β -P-3 α ,17 α ,21-triol-11,2-dion
	656	31.20	Cortol	5 β -P-3 α ,11 β ,17 α ,20 α ,21-pentol
β	656	31.36	β -Cortol	5 β -P-3 α ,11 β ,17 α ,20 β ,21-pentol
THF	654	31.44	THF	5 β -P-3 α ,11 β ,17 α ,21-tetro-20-on
THF	654	31.74	α -THF	5 α -P-3 α ,11 β ,17 α ,21-tetro-20-on

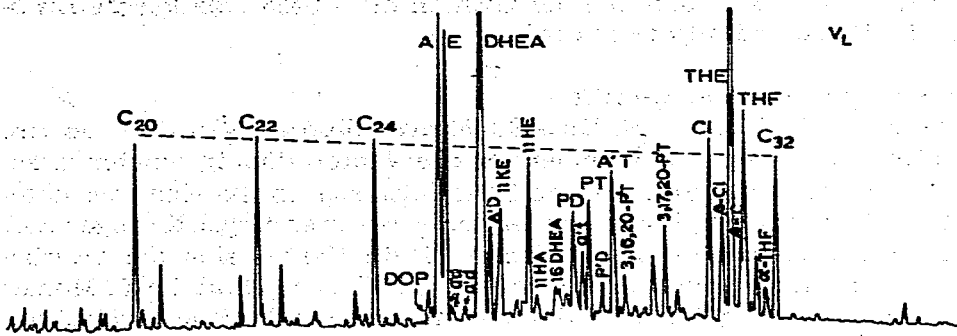


Fig. 2. Urinsteroidprofil einer 22-jährigen hirsuten Frau, Steroidausscheidung vor dem DXM-HCG-Test (10.-12. Tag des Cyclus).

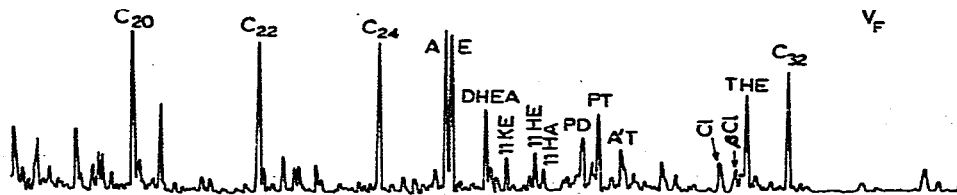


Fig. 3. Urinsteroidprofil derselben Frau (Fig. 2) bei Suppression der NNR durch DXM (3. Tag der DXM-Medikation).

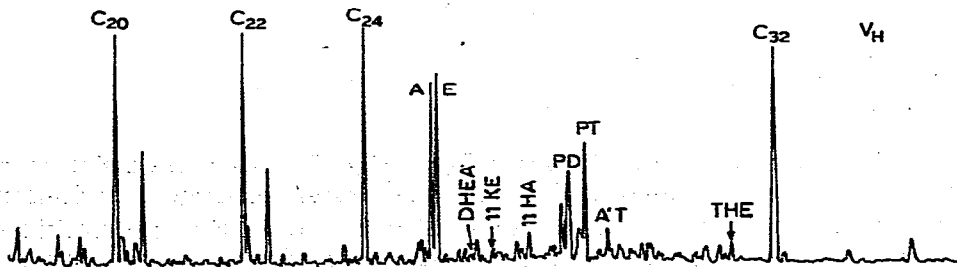


Fig. 4. Urinsteroidprofil derselben Frau (Fig. 2) bei Stimulierung der Ovarien durch HCG und gleichzeitiger Suppression der NNR durch DXM (6. Tag der DXM, 3. Tag der HCG-Medikation).

Gegenüber dem Profil vor dem Test (Fig. 2) geht unter DXM-Bremung der NNR (Fig. 3) die Ausscheidung von DHEA auf etwa ein Zehntel der Basalausscheidung zurück. Gleichzeitig ist ein deutlicher Abfall der Ausscheidung von Androgenen (A, E, 11-KE, 11-HA, A'T) und Corticosteroiden (Cl, β -Cl, THE, THF, β -Cl) zu sehen. Der Abfall an DHEA übertrifft den der anderen Androgene A und E bei weitem.

Die Stimulierung der Ovarien bei fortgesetzter Bremsung der NNR ist aus den Profilen schlecht erkennbar: In Fig. 4 ist die fortgesetzte Bremsung der NNR an der weiter verminderten Ausscheidung von DHEA, 11-KE, A'T und THE zu

erkennen, während die Stimulierung der Ovarien nur durch eine leichte Erhöhung von A, E, PD und PT angezeigt wird.

Beispiel eines abnormen Steroidprofils

Beschreibung der Patientin R.H. Eine 38-jährige adipöse Patientin (156 cm, 81.5 kg) beklagte sich über den in den letzten drei Jahren ständig zunehmenden Hirsutismus, Vertiefung der Stimme und Striae distensae im Bereiche des unteren Abdomens. Zusätzlich traten in den letzten 9 Monaten Regelstörungen auf.

Klinische Daten. Menarche mit 12 Jahren; 1965 Keilexcision der Ovarien (histologischer Befund: polycystische Ovarien). 1967 Fehlgeburt im 5. Monat; seit 1971 Diabetes mellitus. Bei der Röntgenuntersuchung der Sella turcica wurden keine pathologischen Veränderungen festgestellt.

Hormonspiegel (Tabelle II). Schon bei der Gruppenbestimmung der 17-Ketosteroide wurden extrem niedrige Werte gefunden, während die Ausscheidung von Corticosteroiden und die 17 β -Hydroxyandrogene im Plasma im Bereich der Norm lagen.

TABELLE II

HORMONSPIEGEL

Hormon	Tag (Medikament)		
	1-3	6(DXM)	9(DXM + HCG)
Plasma-17 β -Hydroxyandrogene (ng pro 100 ml)	76.2	20.0	40.0
Harn-17-keto-sterioide (mg pro Tag)	1.98	0.63	0.54
Harn-17 α -Hydroxycorticosterioide (mg pro Tag)	5.20	-	1.64

Steroidprofile. Das Steroidprofil dieser Frau (Fig. 5) unterschied sich in signifikanter Weise von allen anderen: Es zeigte eine extrem niedrige Ausscheidung von Androsteron und Etiocholanolon sowie 11 KE und 11 HE und niedrigere, aber normale Ausscheidungsraten für Corticosteroide oder Corticosteroidmetaboliten (Cortolon, THE, THF), Pregnandiol und Pregnantriol. Besonders auffällig war die extrem hohe Ausscheidung an 16 α -hydroxylierten Androstanen (16 DHEA und 16 β DHA), insbesondere an Androstentriol (A'). Solche Änderungen der Steroidprofile lassen sich mit konventionellen Steroidbestimmungsmethoden nicht erkennen, weil man zunächst gar nicht auf die Vermutung käme, nach derartigen Steroiden zu suchen. Sie werden erst offenkundig, wenn man die Gesamtsteroidfraktion untersucht.

Im Verlaufe des DXM-HCG-Testes ging die Ausscheidungsrate des Androstentriols sowie die der 17-Ketosteroide und Corticoide — wie erwartet — zurück (Fig. 6), während beim Stimulationstest (Fig. 7) eine geringe Steigung der Ausscheidungsrate an Pregnandiol und einiger unbekannter Stoffe, bei denen es sich nach Aussagen der Massenspektren nicht um Steroide handelte, zu beobachten war.

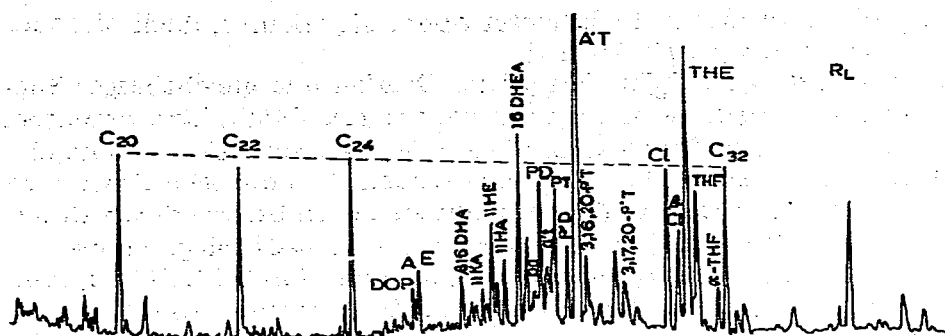


Fig. 5. Urinsteroidprofil der Patientin R.H. Steroidausscheidung vor dem DXM-HCG-Test.

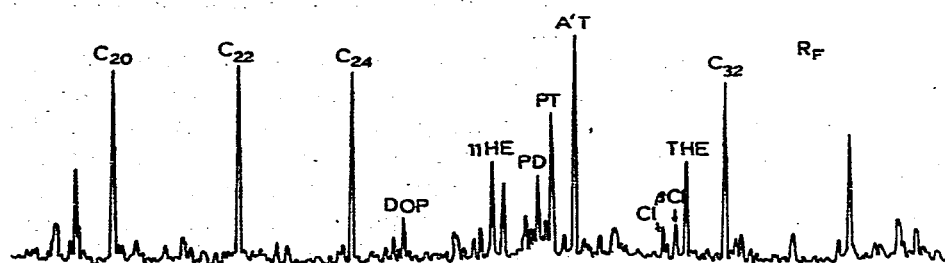


Fig. 6. Urinsteroidprofil der Patientin R.H. bei Suppression der NNR durch DXM (3. Tag der DXM-Medikation).

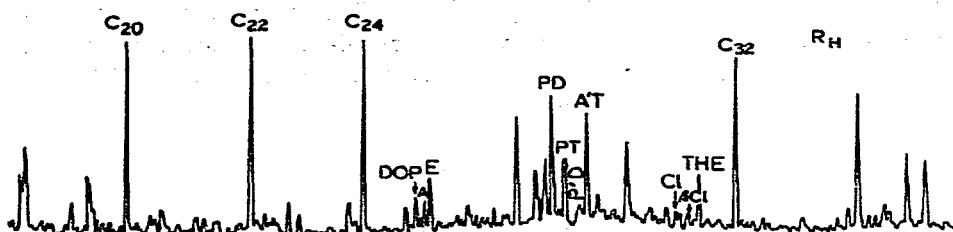


Fig. 7. Urinsteroidprofil der Patientin R.H. bei Stimulierung der Ovarien durch HCG und gleichzeitige Suppression der NNR durch DXM (6. Tag der DXM, 3. Tag der HCG-Medikation).

DISKUSSION

Die um das 10–100-fach erhöhte Ausscheidung an DHEA im Harn von mehr als 50% der von uns untersuchten Fälle von idiopathischem Hirsutismus scheint uns auf eine Funktionsstörung hinzudeuten und somit die Möglichkeit zu bieten, diese Fälle von Hirsutismus von anderen abzugrenzen. Damit könnte die Bestimmung von Dehydroepiandrosteron im Harn die Steroidbestimmungsmethoden im Blut [22] ergänzen, insbesondere deshalb, da die GC-Analyse relativ einfach ausführbar ist.

In diesem Zusammenhang erscheint es bemerkenswert, dass Gaschromatogramme, die von Harnproben hirsuter Frauen publiziert wurden, in manchen Fällen eine relativ starke Steigerung der DHEA-Ausscheidung erkennen lassen.

Diese wurden aber entweder nicht beachtet oder falls erkannt, doch nicht als charakteristisch angesehen [2, 12, 19, 23].

Die Beobachtung, dass bei Stimulierung der Ovarien und gleichzeitiger Suppression der NNR die DHEA Ausscheidung weiter stark abfällt, lässt vermuten, dass die Ovarien wohl nicht für die übermäßige DHEA Produktion verantwortlich sind, obwohl nach Goldzieher [24] eine scharfe Trennungslinie zwischen der Steroid Biosynthese in Ovar und NNR nicht zu ziehen ist, wie durch Untersuchungen von Givens et al. [25] und Blichert-Toft et al. [26] belegt wurde.

Auffallend ist der starke Rückgang der DHEA-Produktion bei DXM Suppression der NNR im Vergleich zu den anderen 17-Ketosteroiden wie A und E. Dies weist möglicherweise auf eine vorzugsweise Hemmung der Bildung des Faktors hin, der die DHEA-Produktion der NNR anregt. Dieser Faktor muss nicht identisch sein mit dem ACTH [27] worauf auch die ungleiche Abnahme der Steroidproduktion hindeuten könnte.

Während GC-Untersuchungen zur Erkennung von Fällen mit hoher DHEA Ausscheidung ausreichend erscheinen, erfordert die Steroididentifizierung bei ungewöhnlichen Profilen, wie im letzten Falle (Fig. 5–7) die Anwendung der Kombination Glaskapillar-GC—MS. In diesem Falle könnte eine Fehlfunktion der NNR vorliegen, worauf die geringe Produktion von A und E hindeutet. Möglicherweise wird relativ viel DHEA produziert, jedoch extrem schnell weiter umgesetzt. Androstentriol ist nämlich ein Metabolit von DHEA, der in der Nebennierenrinde und Lebergewebe gebildet wird [30]. Als mittlere Ausscheidungsrate wurde von Jänne 424 μg pro Tag [28] angegeben. Wenn man davon ausgeht, dass die 17-Ketosteroidausscheidung bei 1.98 mg pro Tag und die der 17-Hydroxycorticoide bei 5.2 mg pro Tag gefunden wurde, ergibt sich aus der Betrachtung der Gaschromatogramme, dass die Ausscheidung an Androstentriol über 10 mg pro Tag liegen muss. Auch 16α -Hydroxydehydroepiandrosteron ist ein Metabolit von DHEA.

DANK

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen. Ein weiterer Teil der Arbeit wurde aus Toto-Lotto-Mitteln unterstützt, dafür danken wir dem Land Niedersachsen.

ZUSAMMENFASSUNG

In über 50% der Fälle von idiopathischem Hirsutismus wurde eine im Vergleich zu Normalwerten um das 10–100fach erhöhte Ausscheidung von DHEA festgestellt. Die Dehydroepiandrosteronausscheidung fällt bei Suppression der Nebennierenrinde mit DXM viel stärker ab als die der anderen 17-Ketosteroide. Innerhalb einer Woche erreicht sie Werte, die unter der Nachweisgrenze liegen. Dagegen wurde bei Stimulation mit HCG unter fortlaufender Suppression mit DXM in keinem Fall ein Anstieg des DHEA beobachtet.

NOTIZ BEI DER KORREKTUR

Während der Drucklegung erschien eine Arbeit von Pal [29], in der die er-

höhte Ausscheidung an DHEA im Harn hirsuter Frauen spektralphotometrisch nachgewiesen wurde. Dadurch werden die hier niedergelegten Ergebnisse gestützt und ergänzt.

LITERATUR

- 1 P. Vestergaard, *Acta Endocrinol.*, 8 (1951) 193.
- 2 A.L. German, C.D. Pfaffenberger, J.P. Thenot, M.G. Horning und E.C. Horning, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 930.
- 3 K. Grob und G. Grob, *J. Chromatogr. Sci.*, 7 (1969) 584.
- 4 A.I.M. Keulemans in R. Scholler und M.F. Jayle (Herausgeber), *Gas Chromatography of Hormonal Steroids*, Gordon und Breach, Paris, New York, 1967.
- 5 J.A. Luyten und G.A.F.M. Rutten, *J. Chromatogr.*, 91 (1974) 393.
- 6 J. Reiner und G. Spiteller, *Monatsh. Chem.*, 106 (1975) 1415.
- 7 J.A. Völlmin, *Chromatographia*, 3 (1970) 233.
- 8 H. Ludwig, M. Spiteller, H.-J. Egger und G. Spiteller, *Isr. J. Chem.*, 16 (1977) 7.
- 9 J.I. Appleby, G. Gibson, J.K. Norymbersky und R.D. Stubbs, *Biochem. J.*, 60 (1955) 453.
- 10 K. Fotherby und D.N. Love, *J. Endocrinol.*, 20 (1960) 157.
- 11 F. Ellendorff, N. Parvizi, D.K. Pomerantz, A. Hartjen, A. König, D. Schmidt und F. Elsaesser, *J. Endocrinol.*, 67 (1975) 403.
- 12 C.D. Pfaffenberger und E.C. Horning, *J. Chromatogr.*, 112 (1975) 581.
- 13 H.L. Bradlow, *Steroids*, 11 (1968) 256.
- 14 J.P. Thenot und E.C. Horning, *Anal. Lett.*, 5 (1972) 21.
- 15 E.C. Horning in K.B. Eik-Nes und E.C. Horning (Herausgeber), *Gas Phase Chromatography of Steroids*, Springer, Berlin, 1968, p. 32ff.
- 16 L.L. Engel, A.M. Neville, J.C. Orr und P.R. Raggat, *Steroids*, 16 (1970) 377.
- 17 J.P. Thenot und E.C. Horning, *Anal. Lett.*, 5 (1972) 801.
- 18 M. Axelson und J. Sjövall, *J. Steroids Biochem.*, 5 (1974) 733.
- 19 J.F. van de Calseyde, R.J.H. Scholtis, N.A. Schmidt und C.J.J.A. Leijten, *Clin. Chim. Acta*, 38 (1972) 103.
- 20 E.M. Chambaz, G. De Faye und C. Madani, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1090.
- 21 E.M. Chambaz und E.C. Horning, *Anal. Biochem.*, 30 (1969) 7.
- 22 K. Demisch, W. Magnet, M. Neubauer und K. Schöffling, *Deut. Med. Wochenschr.*, 100 (1975) 1117.
- 23 W. Hoek und E.J. van Kampen, *Clin. Chim. Acta*, 19 (1968) 371.
- 24 J.W. Goldzieher, *Clin. Obstet. Gynecol.*, 16 (1973) 82.
- 25 J.R. Givens, R.N. Andersen, W.L. Wiser, S.A. Coleman und St.A. Fish, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38 (1974) 126.
- 26 M. Blichert-Toft, H. Vejlsted, H. Kehlet und R. Albrechtsen, *Acta Endocr.*, 78 (1975) 77.
- 27 C.D. Goodyer, G.St.G. Hall, G. Branchaud und C.J.P. Giroud, *Steroids*, 30 (1977) 407.
- 28 O. Jänne, *J. Steroid Biochem.*, 2 (1971) 33.
- 29 S.B. Pal, *Endokrinologie*, 70 (1977) 236.
- 30 E.E. Baulieu, C. Corpechot, F. Dray, R. Emilozzi, M.C. Lebeau, P. Mauvais-Jarvis und P. Robel, in G. Pincus (Herausgeber), *Recent Progress in Hormone Research*, Vol. XXI, Acad. Press, New York, p. 411.
- 31 C.H.L. Shackleton und W.J. Honour, *Clin. Chim. Acta*, 69 (1976) 267.