

Journal of Chromatography, 146 (1978) 381—391

Biomedical Applications

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

CHROMBIO. 207

PROFILE BEI CHRONISCHEN ERKRANKUNGEN

I. STEROIDPROFILUNTERSUCHUNGEN BEI URAMIE

HELGA LUDWIG und GERHARD SPITELLER

*Organisch-Chemisches Institut der Universität, Tammannstr. 2, 3400 Göttingen (B.R.D.)
und Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität, Am Birkengut, 8580 Bayreuth (B.R.D.)*

und

DIETER MATTHAEI und FRITZ SCHELER

Medizinische Klinik der Universität, Neues Klinikum, Robert-Koch-Strasse 40, 3400 Göttingen (B.R.D.)

(Eingegangen am 13. März 1978)

SUMMARY

Profiles in chronic diseases. I. Investigations of steroid profiles in uremia

Steroid profiles of hemofiltrates of uremic patients contain as main steroids the sulfates of 11β -hydroxyetiocholanolone, 11-ketoetiocholanolone, 11β -hydroxyandrosterone and 11-ketoandrosterone. In blood of uremic patients androstenediol is the main steroid of the sulfate fraction, while in blood of healthy persons dehydroepiandrosterone sulfate is the main steroid. The gradual decrease of the kidney function is characterized by an increase of 11-oxigenated androstane conjugates in urine.

EINFÜHRUNG

Biologische Flüssigkeiten sind ausserordentlich komplex zusammengesetzt. Überdies kommen die einzelnen Verbindungen in extrem unterschiedlichen Mengenverhältnissen vor, die eine auch nur halbquantitative Erfassung sehr erschweren. Analytische Untersuchungen z.B. mit der Radioimmunoassay-methode konzentrieren sich daher vorzugsweise auf die Erfassung solcher Stoffe, deren Auftreten als Stoffwechselmetabolite bereits bekannt ist. Verbindungen, die unbekannt sind oder als Stoffwechselprodukte nicht erwartet werden, entgehen dem Nachweis.

Die Kombination Glaskapillargaschromatographie—Massenspektrometrie ermöglicht uns heute eine Übersicht über einige Gruppen biologisch interessanter Verbindungen (Steroide, Säuren und Amine) zu erhalten und Abweichungen gegenüber der Norm zu erkennen, falls sich eine Krankheit in einer Änderung des relativen Verhältnisses einzelner Komponenten dieser erfassbaren Substanzklassen niederschlägt.

Diese Analysenmethode scheint uns insbesondere für die Untersuchung chronischer Erkrankungen von Bedeutung zu sein, die häufig mit einer Änderung im Stoffwechselgeschehen verbunden sind. Einige sind vielleicht erst durch eine Stoffwechseländerung bedingt. Mit Sicherheit darf eine Änderung des Stoffwechselgeschehens bei Urämikern angenommen werden, da in diesem Fall bei vollständigem Ausfall der Nieren die schädlichen Stoffe durch Hämodialyse [1, 2] oder nach der neuen Methode der Hämofiltration [3] aus dem Körper entfernt werden müssen.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, durch Untersuchungen der Komponenten des Hämodialysats und des Blutes urämischer Patienten Hinweise auf angehäufte Schadstoffe zu erhalten [4]. Auch die Kombination Gaschromatographie—Massenspektrometrie (GC—MS) wurde zu derartigen Untersuchungen eingesetzt. Jänne et al. [5] fanden mit Hilfe dieser Methode im Blut von Urämikern und Gesunden das 3α -Hydroxy-5-androsten-17-on-sulfat und stellten darüber hinaus fest, dass es im Blut nierenkranker in erhöhter Menge vorhanden war. Von anderen Arbeitsgruppen wurden hauptsächlich Zucker und Säuren untersucht [6, 7].

Die Hauptschwierigkeit, Profile solcher Patienten zu erhalten, lag in der notwendigen Anreicherung der Proben, die in Filtraten und Dialysaten in extrem hoher Verdünnung vorhanden sind: bei der Hämofiltration werden ca. 20 l, bei der Dialyse 120 l Flüssigkeitsvolumen umgesetzt.

Die Erfahrungen, die wir in früheren Arbeiten bei der Untersuchung biologischer Flüssigkeiten gewonnen haben [8, 9], mussten auch eine Analyse von Plasma und Hämofiltratproben urämischer Patienten, besser als es bisher gelang, ermöglichen. Die ersten Ergebnisse erforderten auch die Untersuchung von Urinproben solcher Patienten, die noch fähig waren, Harn auszuschcheiden. Über den Gesamtkomplex solcher Untersuchungen soll hier berichtet werden.

PROBENMATERIAL

Insgesamt wurden 14 Hämofiltrate (5 von urämischen Frauen, 7 von urämischen Männern, 2 von nierengesunden Kontrollpersonen), 4 Plasmapools von Urämikern (2 von Männern, 2 von Frauen), 20 Plasmaproben Nierengesunder, 14 Urinproben von Patienten mit eingeschränkten Nierenfunktionen (7 Männern, 7 Frauen) und 20 Urinproben nierengesunder Kontrollpersonen untersucht.

AUFARBEITUNG [8]

Hämofiltrat

Methode A. Jeweils 2 l Hämofiltrat wurde unmittelbar nach der Abnahme über eine XAD-4-Säule gegeben [10]. War eine Aufarbeitung von frischem

Hämofiltrat nicht möglich, so wurde es in der Kühltruhe bei -10° gelagert. Die XAD-Säule (50×4 cm I.D., 300 g Füllmaterial) wurde mit 500 ml physiologischer Kochsalzlösung und dann mit 200 ml Wasser gewaschen und der organische Extrakt mit 500 ml Methanol eluiert.

Die Steroide wurden an eine Sephadex-LH-20-Säule [20×1 cm, 8 g Füllmaterial; Laufmittelsystem, Methanol-Chloroform (1:1), dem 0.01 Mol NaCl zugesetzt war] in Glucuronide (0–25 ml) und Sulfate (25–100 ml; Laufmittel: Methanol) fraktioniert [11]. Die Konjugatfraktionen wurden mit 25 ml 0.5 M Acetatpuffer bei pH 4.7 mit 0.3 ml Helicase enzymatisch verseift [12] und die freigesetzten Steroide nach Horning und Pfaffenberger zuerst zweimal mit jeweils 50 ml Methylenchlorid und dann mit 50 ml Essigester extrahiert [13]. (1 ml Helicase enthält 100,000 Einheiten β -Glucuronidase und 50,000 Einheiten Arylsulfatase).

Anschliessend wurden die Säuren an DEAP-LH-20 abgetrennt [20×1 cm, 10 g Füllmaterial; Laufmittel, Methanol-Wasser-Chloroform (9:2:1), 17–40 ml] [14].

Zur Entfernung unpolarer Verbindungen wurde die Probe an Kieselgel chromatographisch gereinigt [200 mg Füllmaterial in Benzol aufgeschlämmt; Laufmittel (a) Benzol-Essigester (95:5); (b) Essigester], wobei unpolare Verbindungen zuerst mit 30 ml Benzol-Essigester entfernt und die Steroide dann mit 30 ml Essigester eluiert wurden [15].

Ein Teil des organischen Extraktes, in Abhängigkeit vom eingesetzten Ausgangsvolumen und Einstellung der Geräte, wurde in einem Schmelzpunktröhrchen mit N-Trimethylsilyl-N-methyl-trifluoracetamid versetzt und unter Luftabschluss 24 h bei Raumtemperatur belassen. Die entstandenen Trimethylsilylether der Steroide wurden ohne weitere Aufarbeitung in einem Gaschromatographen oder in der GC-MS-Kombination analysiert.

Zur vollständigen Erfassung der Corticosteroide wurden auch die Methoximethylsilylether hergestellt [16]: Dazu wurde ein anderer Teil des organischen Extraktes (siehe oben) in einem Schmelzpunktröhrchen mit 20 ml einer gesättigten Lösung von Methoxylamin in Pyridin versetzt. Die Lösung wurde 15 min auf 75° erwärmt und dann im Vakuum eingedampft. Nach Zugabe von 5 ml N-Trimethylsilyl-N-methyl-trifluoracetamid wurde die Reaktionsmischung unter Luftabschluss 2 h bei 100° erhitzt und dann ohne weitere Reinigung in der Kombination analysiert.

Methode B. Stark wasserlösliche Steroide oder Steroidkonjugate wie Corticosteroide werden von der XAD-Säule beim Nachwaschen mit Wasser teilweise entfernt [17]. Da wir klären wollten, ob derartige Verluste auch bei einem Verzicht auf die XAD- und Sephadextrennung auftreten, wurde wie folgt aufgearbeitet:

2 l Hämofiltrat wurden mit Natriumacetat und Eisessig auf pH 4.7 und auf eine Pufferkonzentration von 0.5 Mol/l gebracht. Zu der Lösung wurden 10 ml Helicase hinzugefügt und bei 37° drei Tage verseift. Die freigesetzten Steroide wurden nach Horning und Pfaffenberger [13] extrahiert, zusätzlich wurden basische Verbindungen mit zweimal 50 ml 0.1 N HCl, die 0.5 Mol NaCl enthielt, entfernt. Säuren wurden an DEAP-LH-20 [14], Cholesterin an Lipidex[®]-5000 [20×1 cm, 10 g Füllmaterial; Laufmittel; Methanol-Wasser-Chloroform (9:2:1), 0–30 ml] entfernt [18]. Die Probe wurde an-

schliessend an Kieselgel gereinigt [15] und derivatisiert.

Trennungsgang B hat den Vorteil, bei kleinerem Gesamtverlust und weniger Trennstufen schneller durchgeführt werden zu können, aber den Nachteil, dass die Steroidfraktion noch sehr viele Beimengungen enthält. Das Verfahren lässt sich daher nur anwenden, wenn die biologische Probe nahezu frei von Eiweiss ist. Eine auffällige Änderung der Zusammensetzung des Steroidprofils wurde nicht festgestellt.

Neuere Untersuchungen in unserem Arbeitskreis ergaben [19], dass nach der enzymatischen Verseifung beim Ausschütteln der Steroide mit organischen Lösungsmitteln und Nachwaschen mit wässrigen Lösungen erhebliche Verluste an Corticosteroiden auftreten. Diese Verluste manifestieren sich in den in dieser Arbeit reproduzierten Profilen, ändern jedoch nichts am Verhältnis der Androstane, das sich bei der Urämie entscheidend ändert.

Blutplasma

Zur Isolierung der Steroidsulfate aus Blutplasma wurden Volumina von 30–250 ml eingesetzt. Vor Verwendung der XAD-Säule wurde das Plasma mit physiologischer Kochsalzlösung auf das 10-fache verdünnt, um ein Ausfallen von Eiweiss zu vermeiden. Dann wurde analog wie bei der Aufarbeitung der Hämofiltrate verfahren (Methode A).

Urin

Die Urinsteroide wurde nach der Aufarbeitungsvorschrift von Horning und Pfaffenberger gewonnen [13]. Die eingesetzten Flüssigkeitsmengen betragen 20–100 ml.

Verwendete Geräte

Gaschromatograph. Gaschromatograph Carlo Erba 2300 mit Glaskapillarsäulen ausgerüstet. Glaskapillarsäule nach statischer Methode mit SE-30-Film belegt [20, 21]. Injektortemperatur: 275°; Detektor: Flammenionisation (FID); Temperaturprogramm: 150–300°, 2°/min; Split: 1/20; Durchflussgeschwindigkeit (Helium): 2 ml/min.

Gaschromatograph–Massenspektrometer-Kombinationen. (1) CH-7 (Varian-MAT) mit gepackter Säule; Säule mit 3% SE-30 auf Supelcoport 100–120 mesh; Injektortemperatur 270°. Temperaturprogramm: 200–300°, 4°/min; Durchflussgeschwindigkeit (Helium): 20 ml/min. Separator: Biemann-Watson (zweistufig); Ionisierungsenergie: 70 eV. Die Kombination wurde mit einem Computer (Spectrosystem 100 MS; Varian 620/L) gekoppelt. (2) LKB 2091-Gerät mit Glaskapillarsäule (nach statischer Methode mit SE-30 belegt). Injektortemperatur: 275°; Temperaturprogramm: 150–300°, 2°/min; Durchflussgeschwindigkeit: 5 ml/min; Ionisierungsenergie: 70 eV. Registrierung des TIC bei 20 eV; LKB 2130-Datensystem mit PDP-11-05 Computer der Firma Digital Equipment.

Säulenmaterialien

XAD-4 (Serva, Heidelberg, B.R.D.); Sephadex-LH-20 (Pharmacia, Uppsala, Schweden); DEAP-LH-20 hergestellt aus Sephadex-LH-20 nach Almé und

Nyström [14]; Lipidex®-5000 (Packard, Zürich, Schweiz); Kieselgel (0.05–0.2 mm Durchmesser; E. Merck, Darmstadt, B.R.D.).

Chemikalien

Referenzsteroid: Makor (Jerusalem, Israel), Merck, Sigma (München, B.R.D.). Helicase: Boehringer (Mannheim, B.R.D.). N-Trimethylsilyl-N-methyl-trifluoracetamid: Macherey & Nagel (Düren, B.R.D.). Methoxyamin · HCl: Serva.

Retentionsindices

Die Retentionsindices der Steroidtrimethylsilylether wurden an dem Carlo-Erba-Gaschromatographen mit den oben angegebenen Daten unter Zusatz einer Mischung geradkettiger, unverzweigter Kohlenwasserstoffe von C₁₆H₃₄ bis C₃₆H₇₄ gemessen. Die Retentionsindices der Steroidtrimethylsilylether wurden auf die Kohlenwasserstoffe, zwischen denen der Peak des Trimethylsilylethers jeweils lag, bezogen.

Artefaktbildung

Corticosteroide werden thermisch aber auch beim Stehen in Lösungsmitteln leicht zu 17-Ketosteroiden abgebaut beziehungsweise in D-Homosteroide umgelagert [22]. Um eine derartige Artefaktbildung ermitteln zu können, wurden jeweils 17 mg der Corticosteroide Tetrahydrocortisol und Tetrahydrocortison in 100 ml Hämofiltrat als Matrix zugesetzt und der gesamte Trennungsgang durchgeführt. Der mögliche Abbau der Corticosteroide wurde dünnschicht- und gaschromatographisch sowie mit der GC-MS-Kombination verfolgt. Die Artefaktbildung unter den gewählten Bedingungen betrug im gesamten Trennungsgang ca. 2%.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Fig. 1 zeigt das Glaskapillargaschromatogramm der Steroidsulfatfraktion aus Hämofiltrat eines männlichen Urämikers. Die Nummern über den Peaks in allen Gaschromatogrammen entsprechen den in der Tabelle I angeführten Steroiden, die durch Massenspektren und Retentionsindices identifiziert werden konnten. In Klammern stehen die Trivialnamen der Steroide. Steroidsulfatfraktionen aus den Hämofiltraten weiblicher Probanden lieferten ähnliche Profile.

Da das Hämofiltrat auch als "Primärharn" bezeichnet wird, sollte die Steroidzusammensetzung entweder Urin- oder Blutsteroidprofilen Nierengesunder ähnlich sein. Denkbar war auch eine Mischung beider Profile. Entgegen diesen Erwartungen enthalten die Hämofiltrate nur relativ kleine Mengen an Dehydroepiandrosteron, dem Hauptsteroid der Sulfatfraktion im Blut Nierengesunder, und an Androsteron und Etiocholanolon, den Hauptausscheidungs metaboliten des Dehydroepiandrosterons im Urin Gesunder.

Als Hauptsteroid findet man im Hämofiltrat von Urämikern dagegen 11β-Hydroxyandrosteron und -etiocholanolon und 11-Ketoandrosteron und -etiocholanolon, die im Blut und Urin Nierengesunder nur in kleiner Menge vorhanden sind [23, 24].

Diese Befunde stehen im Einklang mit einer weit zurückliegenden Unter-

TABELLE I

NAMEN UND RETENTIONSINDICES DER IN DEN CHROMATOGRAMMEN GETRENN-
TEN STEROIDTRIMETHYLSILYLETHER

Nr.	Name des Steroids	Retentionsindex
1	3 α -Hydroxy-5-androsten-17-on	2450
2	3 α -Hydroxy-5 α -androstan-17-on (Androsteron)	2472
3	3 α -Hydroxy-5 β -androstan-11,17-dion (11-Ketoetiocholanolon)	2499
P	Diäthylphthalat	2510
4	3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on (Dehydroepiandrosteron)	2550
5	3 α , 17 β -Dihydroxy-5 β -androstan	2560
6	3 α -Hydroxy-5 β -androstan-11,17-dion (11-Ketoetiocholanolon)	2566
7	3 β -Hydroxy-5 α -androstan-17-on (Epiandrosteron)	2570
2'	Enolether von 2	2566
3'	Enolether von 3	2570
4'	Enolether von 4	2620
8	3 β ,17 β -Dihydroxy-5-androsten (Androstendiol)	2638
9	3 β ,17 β -Dihydroxy-5 α -androstan	2644
10	3 α ,11 β -Dihydroxy-5 α -androstan-17-on (3-Trimethylsilylether) (11 β -Hydroxyandrosteron)	2652
11	3,16-Dihydroxyandrostan-17-on	2652
6'	Enolether von 6 (3,17-di-Trimethylsilylether)	2660
12	3 α ,11 β -Dihydroxy-5 β -androstan-17-on (3-Trimethylsilylether) (11 β -Hydroxyetiocholanolon)	2664
13	3 α -Hydroxy-5 α -androstan-11,17-dion (3,17-di-Trimethylsilyl- ether) (11-Ketoandrosteron)	2668
14	Dihydroxyandrostanon	2684
15	3,16,17-Trihydroxyandrostan	2688
12'	Enolether von 12 (3,11-di-Trimethylsilylether)	2698
16	3 α ,18-Dihydroxyandrostan-17-on	2706
17	3 β -Hydroxy-5-pregnen-20-on (Pregnenolon)	2708
18	3 β ,16 α -Dihydroxy-5-androsten-17-on (16 α -Hydroxydehydro- epiandrosteron)	2735
19	3,16,17-Trihydroxyandrostan	2758
20	3,16,17-Trihydroxyandrostan	2764
21	3 α ,20 α -Dihydroxy-5 β -pregnan (Pregnandiol)	2766
22	3 β ,16 β ,17 α -Trihydroxy-5-androsten	2783
23	3 β ,20 α -Dihydroxy-5-pregnen (Pregnendiol)	2837
24	3 β ,16 α ,17 β -Trihydroxy-5-androsten (Androstentriol)	2870
25	3,16,17-Trihydroxyandrosten	2880
26	3,20-Dihydroxypregnan	2891
27	3,16,20-Trihydroxy-5-pregnen	2905
28	3 α ,17 α ,20 α -Trihydroxy-5 β -pregnan (Pregnantriol)	2948
29	3,17,20-Trihydroxypregnan	2968
30	3 β ,17 α ,20 α -Trihydroxy-5-pregnen	3012
31	3,17,20-Trihydroxypregnan-11-on	3030
32	3,11,17,20-Tetrahydroxypregnan	3102
33	3 α ,17 α ,21-Trihydroxy-5 β -pregnan-11,20-dion (Tetrahydrocortison)	3110
34	3 α ,17 α ,21-Trihydroxy-5 α -pregnan-11,20-dion (α -Tetrahydrocortison)	3123
35	3 β -Hydroxy-5-cholesten (Cholesterin)	3138
36	3 α ,11 β ,17 α ,21-Tetrahydroxy-5 β -pregnan-20-on (Tetrahydrocortisol)	3142
37	3 α ,11 β ,17 α ,21-Tetrahydroxy-5 α -pregnan-20-on (α -Tetrahydrocortisol)	3175

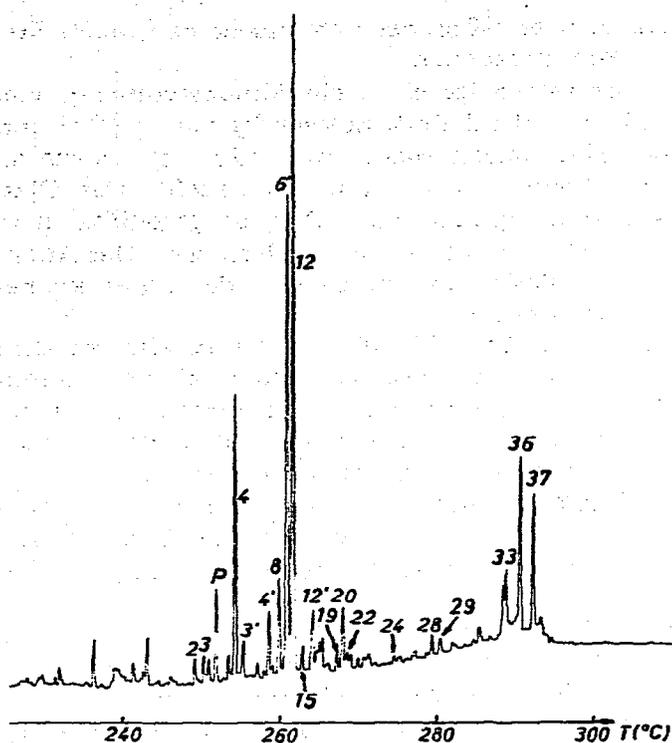


Fig. 1. Glaskapillargaschromatogramm der Steroidtrimethylsilylether der Sulfatfraktion aus Hämofiltrat eines Urämikers. 30 m Glaskapillarsäule, SE-30; Temperaturprogramm: 150–300°, 2°/min.

suchung von Savard [25], der nach Aufarbeitung von 100 l Dialysat papierchromatographisch diese vier Steroide nachgewiesen hat. Offenbar geriet diese Beobachtung jedoch bald in Vergessenheit.

Die 11-oxidierten Androstane sind Abbauprodukte von Corticosteroiden [25–27]. Die Corticosteroide Tetrahydrocortison, α -Tetrahydrocortison, Tetrahydrocortisol und α -Tetrahydrocortisol wurden im Blut von Urämikern mit Radioimmunoassaymethoden in 10-fach erhöhter Menge gefunden, dagegen wurde im Urin von Nierenkranken nur 1/10 der normalen Ausscheidungsrate nachgewiesen. Der Befund wurde theoretisch zu deuten versucht [28]. Diese Corticosteroide wurden ebenfalls im Dialysat von Savard [25] identifiziert, auch er fand eine auffällig geringe Konzentration.

Bemerkenswerterweise sind im Hämofiltrat hauptsächlich Steroide mit hydriertem B-Ring vorhanden, während im Plasma Steroide mit Δ -5-Doppelbindung vorherrschen. In dieser Hinsicht gleichen die Hämofiltratsteroide eher Urinsteroiden, bei denen ebenfalls B-Ring-gesättigte Steroide überwiegen.

Die Glucuronidfraktionen enthalten ebenfalls als Hauptsteroide in Stellung 11 sauerstoffsubstituierte Androstane. Freie Steroide lassen sich mit unserem Untersuchungsverfahren im Hämofiltrat ohne erhebliche Vergrößerung des Ausgangsvolumens nicht nachweisen, ihre Konzentrationen liegen unterhalb unserer Erfassungsgrenze.

Die von allen Erwartungen stark abweichende Zusammensetzung der Ste-

roidfraktionen des Hämofiltrats liess es wünschenswert erscheinen, auch Steroidplasmaprofile von Urämikern zu untersuchen.

Da die Aufnahme eines Plasmasteroidprofils ein Mindestvolumen von 20–30 ml Plasma, entsprechend 40–60 ml Blut, notwendig macht [29] und Urämikern die Abnahme dieser Blutmengen nicht zuzumuten ist, wurde jeweils Plasma von Männern und Frauen gepoolt und untersucht. Das Gaschromatogramm des Patientenpools (Fig. 2) zeigt gegenüber dem Steroidprofil des gesunden Mannes (Fig. 3) drastische Änderungen. Der Anteil des Dehydroepiandrosterons ist im Patientenpool gleich oder sogar kleiner als der seines Metaboliten, des Androstendiols.

Um abzuklären, ob Änderungen des Steroidstoffwechsels bereits vor dem völligen Versagen der Nierenfunktionen festgestellt werden können, untersuchten wir Urinsteroidprofile von Patienten mit eingeschränkten Nierenfunktionen in verschiedenen Krankheitsstadien. Einige dieser Patienten wurden bereits hämofiltriert, waren aber noch in der Lage, Urin abzapfen.

Je nach fortgeschrittenem Krankheitszustand weisen die Steroidprofile dieser Patienten einen Anstieg 11-oxidierter Androstane auf (Fig. 4). Die Ausscheidungsrate von Androsteron und Etiocholanolon ist demgegenüber rückläufig.

Auffällig ist bei männlichen Patienten das Verhältnis von Androsteron zu Etiocholanolon: Während normale Männer, von wenigen Ausnahmen abgesehen, eine deutlich grössere Ausscheidung von Androsteron als Etiocholanolon zeigen und dies als geradezu charakteristisch gewertet wurde [13], fanden wir in 5 von 7 untersuchten Fällen ein Ausscheidungsverhältnis von Androsteron zu Etiocholanolon, wie man es sonst nur bei gesunden Frauen findet [13]. Einer der beiden Patienten, die eine "normale" Androsteron–Etiocholanolon-Ausscheidung zeigten, befand sich erst im Anfangsstadium der Krankheit. Auch bei nierenkranken Frauen wurde eine Erhöhung des Etiocholanolonspiegels im Urin gegenüber Gesunden beobachtet.

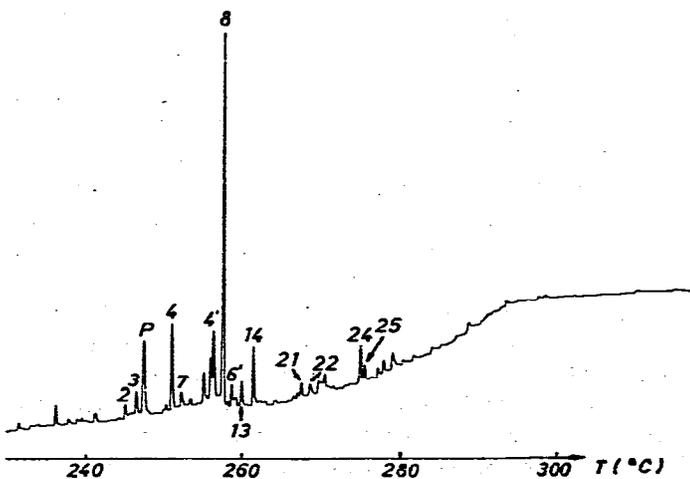


Fig. 2. Gaschromatogramm der Steroidtrimethylsilylether der Sulfatfraktion aus Plasma männlicher Urämiker. GC-Bedingungen wie in Fig. 1.

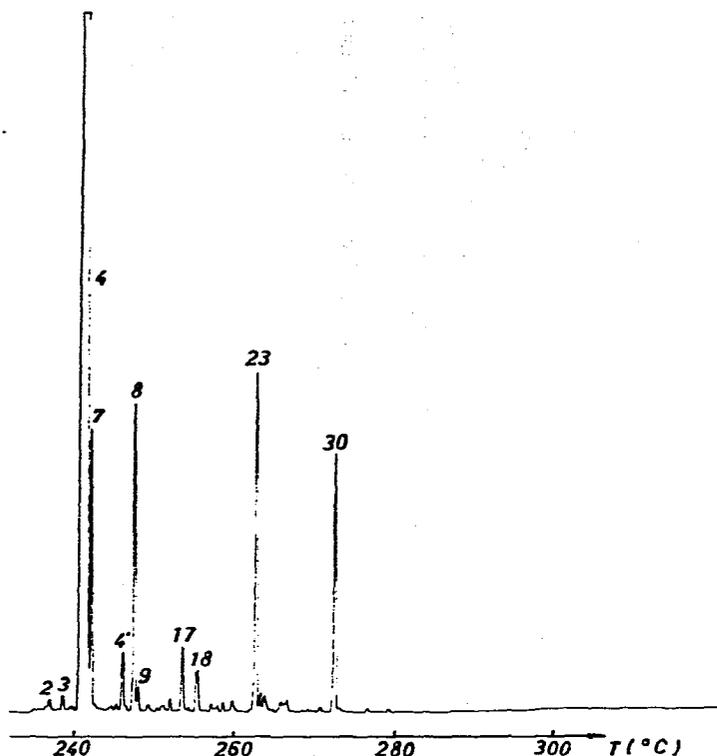


Fig. 3. Gaschromatogramm der Steroidtrimethylsilylether der Sulfatfraktion aus Plasma eines gesunden Mannes. GC-Bedingungen wie in Fig. 1.

DANK

Diese Arbeit wurde aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft, des Fonds der Chemischen Industrie und der Robert-Pfleger-Stiftung gefördert. Herrn Dr. J. Reiner danken wir für die Herstellung der Glaskapillarsäulen und Herrn M. Glaessner für zahlreiche Messungen an der Kombination Gaschromatograph-Massenspektrometer.

ZUSAMMENFASSUNG

Steroidprofile der Sulfatfraktionen aus Hämofiltrat von Urämikern enthalten als Hauptsteroid 11 β -Hydroxyetiocholanolon, 11-Ketoetiocholanolon, 11 β -Hydroxyandrosteron und 11-Ketoandrosteron. Im Blut von Urämikern ist Androstendiol Hauptsteroid der Sulfatfraktion, während im Blut Gesunder Dehydroepiandrosteron Hauptsteroid ist. Allmähliches Nierenversagen zeigt sich durch einen Anstieg der 11-oxidierten Androstankonjugate im Urin.

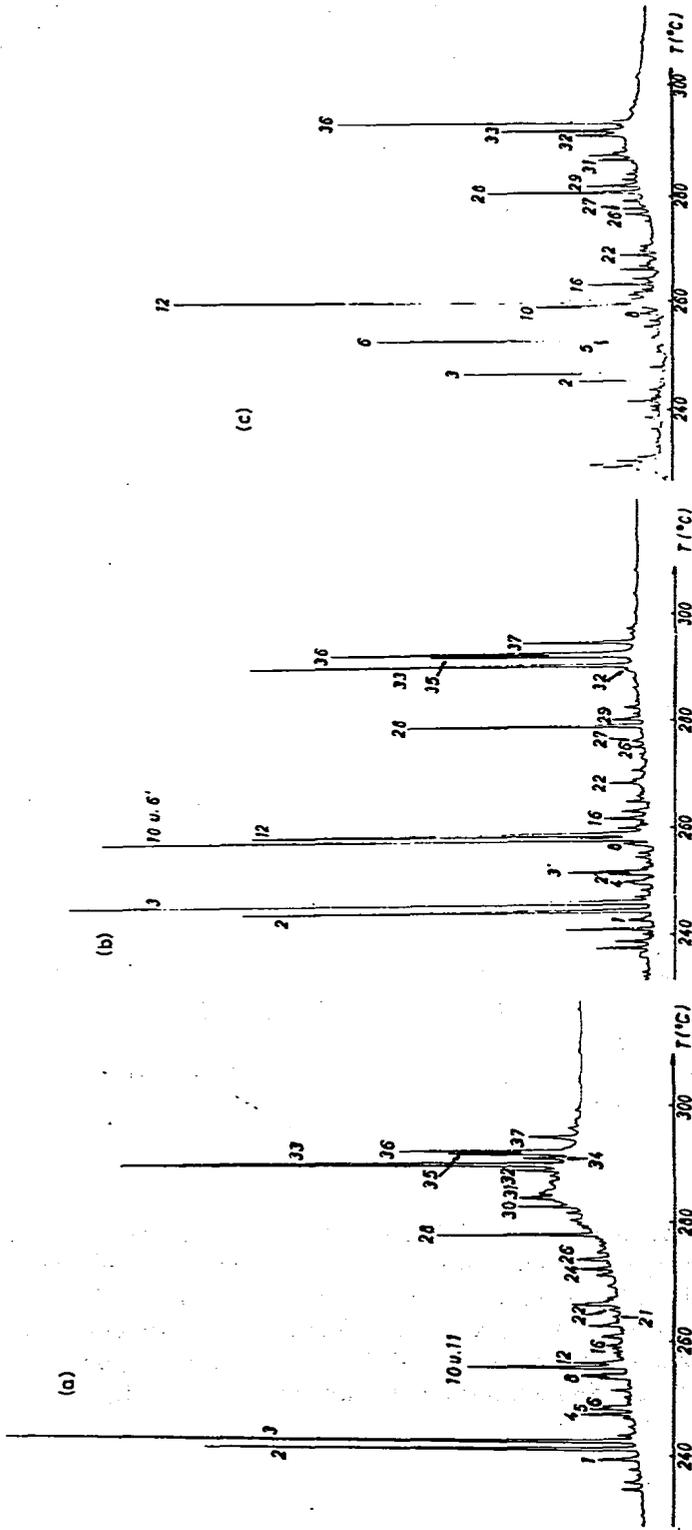


Fig. 4. Gaschromatogramme der Steroidtrimethylsilyl ether der Steroide aus Urin männlicher Patienten mit eingeschränkten Nierenfunktionen. GC-Bedingungen wie in Fig. 1. (a) Anfangsstadium; (b) fortgeschrittenes Stadium; (c) unmittelbar vor Hämofiltration.

LITERATUR

- 1 C.L. Hampers, E. Schupack, E.G. Lowrie und J.M. Lazarus, Long-Term Hemodialysis, Grune and Stratton, New York, London, 1973.
- 2 G.L. Bailey, Hemodialysis — Principles and Practice, Academic Press, New York, London, 1972.
- 3 F. Scheler und H.V. Henning, Hämofiltration, Düstri-Verlag, München-Deisenhofen, 1977.
- 4 H.A. Feldman und J. Singer, *Medicine*, 54 (1974) 345.
- 5 O. Jänne, T. Laatikainen, J. Vaihno und R. Vihko, *Steroids*, 13 (1968) 121.
- 6 F.W. Bultitude und S.J. Newham, *Clin. Chem.*, 21 (1975) 1239.
- 7 T.L. Masimore und H. Veening, *J. Chromatogr.*, 143 (1977) 247.
- 8 H. Ludwig, J. Reiner und G. Spitteller, *Chem. Ber.*, 110 (1977) 217.
- 9 J. Reiner und G. Spitteller, *Monatsh. Chem.*, 106 (1975) 1415.
- 10 H.L. Bradlow, *Steroids*, 11 (1968) 265.
- 11 J. Sjövall, K. Sjövall und R. Vihko, *Steroids*, 11 (1968) 703.
- 12 C.G. Beling, *Acta Endocrinol. Suppl. (Copenhagen)*, 79 (1963) 46.
- 13 C.D. Pfaffenberger und E.C. Horning, *J. Chromatogr.*, 112 (1975) 581.
- 14 B. Almé und E. Nyström, *J. Chromatogr.*, 59 (1971) 45.
- 15 R. Vihko und O. Jänne in R. Scholler (Herausgeber), *Gas Chromatography of Hormone Steroids, Proceedings of the Round Table Conference, Paris 1967*.
- 16 J.P. Thenot und E.C. Horning, *Anal. Lett.*, 5 (1972) 21.
- 17 M. Matsui, M. Hakozaki und Y. Kinuyama, *J. Chromatogr.*, 115 (1975) 625.
- 18 M. Axelsson und J. Sjövall, *J. Steroid Biochem.*, 5 (1974) 733.
- 19 P. Pfeifer und G. Spitteller, unveröffentlicht.
- 20 J. Bouche und M. Verzele, *J. Chromatogr.*, 6 (1968) 501.
- 21 J. Reiner, *Dissertation, Universität Göttingen, Göttingen, 1978*.
- 22 M. Spitteller-Friedmann und G. Spitteller, *Org. Mass Spectrom.*, 2 (1969) 901.
- 23 G.W. Oertel, *Fortschr. Med.*, 80 (1962) 291.
- 24 E.C. Horning, W.L. Gardiner und C.W. Brooks, *Proceedings of the 2nd International Congress on Hormone Steroids, Mailand 1966, 1967*.
- 25 K. Savard, *Ciba Found. Colloq. Endocrinol.*, 11 (1957) 252.
- 26 J. Bush und V.B. Mahesh, *Biochem. J.*, 71 (1959) 705.
- 27 D.K. Fukushima, H.L. Bradlow, L. Hellman, B. Zumoff und T.F. Gallagher, *J. Biol. Chem.*, 235 (1960) 2246.
- 28 E. Englert, H. Brown, D.G. Willardson, S. Wallach und E.L. Simons, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 18 (1958) 36.
- 29 H. Ludwig und G. Spitteller, unveröffentlicht.