

Pädiatrisches Labor/
Pediatric Laboratory Medicine

Redaktion: K.P. Kohse

Labordiagnostik bei Wachstumshormon-assoziierten Erkrankungen

Biochemical diagnosis of growth hormone related diseases

Martin Bidlingmaier*

Endokrinologisches Labor, Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Klinikum der Universität München, München, Deutschland

Zusammenfassung

Die Krankheitsbilder des Wachstumshormonmangels und des Wachstumshormonexzesses imponieren klinisch unterschiedlich vor und nach dem Abschluss des Längenwachstums. Stets jedoch bilden die Messung der zirkulierenden Konzentrationen von Wachstumshormon und Insulinartigem Wachstumsfaktor I (Insulin-like growth-factor I, IGF-I) die Basis der laborchemischen Diagnostik. Mit den Immunoassays stehen praktikable, sensitive und meist auch spezifische Methoden zur Messung beider Hormone zur Verfügung. Trotzdem bestehen nach wie vor gravierende Diskrepanzen zwischen den Messergebnissen verschiedener Assays. Diese Diskrepanzen sind vor allem bedingt durch Unterschiede in der Isoformspezifität der Assays, die Verwendung unterschiedlicher Standardpräparationen sowie die Interferenz von Bindungsproteinen. Die methodenbedingten Unterschiede in den Messergebnissen erschweren die allgemeine Anwendung publizierter diagnostischer Entscheidungsgrenzen. Auf einer interdisziplinären Konsensuskonferenz unter Beteiligung der Growth Hormone Research Society, der IGF Society, und der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) wurden die bestehenden Probleme analysiert und mögliche Strategien zu einer Verbesserung der Vergleichbarkeit der Messergebnisse verschiedener GH- und IGF-I-Assays aufgezeigt. Derzeit bleibt jedoch in der klinischen Praxis die Anwendung methodenspezifischer, an gut charakterisierten Kollektiven gewonnener Referenzbereiche unabdingbar.

*Korrespondenz: Dr. med. Martin Bidlingmaier, Endokrinologisches Labor, Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Klinikum der Universität München, Ziemssenstraße 1, 80336 München, Deutschland
Tel.: +49-89-5160-2277
Fax: +49-89-5160-4457
E-Mail: martin.bidlingmaier@med.uni-muenchen.de

Schlüsselwörter: Akromegalie; Endokrinologisches Labor; Harmonisierung; Hypophysentumore; Immunoassays; Wachstumshormonmangel.

Abstract

The symptoms of growth hormone deficiency and growth hormone excess manifest themselves clinically in different ways, before and after the completion of longitudinal growth. Always, however, biochemical diagnostics is based on the measurement of circulating concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor I (IGF-I). Immunoassays are practical, sensitive, and mostly specific methods for measuring either hormone. Still, there are serious discrepancies between the measured results of different assays. These discrepancies are mainly due to differences in the isoform specificity of assays, the use of different standard preparations, as well as the interference of binding proteins. The method-related differences in measured results make the general application of published diagnostic decision limits more difficult. At an interdisciplinary consensus conference, with the participation of the Growth Hormone Research Society, the IGF Society, and the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), the existing problems were analyzed and possible strategies were highlighted to improve the comparability of the measured results of different GH and IGF-I assays. Currently, however, the use of method-specific reference ranges obtained from well-characterized cohorts continues to be essential in clinical practice.

Keywords: acromegaly; endocrine laboratory; growth hormone deficiency; harmonization; immunoassays; pituitary tumors.

Einleitung

Wachstumshormon [engl. growth hormone (GH), auch somatotropes Hormon (STH) oder Somatotropin] ist ein von der Hypophyse sezerniertes Protein, dessen Wirkung über die Bindung an einen spezifischen, membranständigen Rezeptor der Zielzellen vermittelt wird. Im Organismus gibt es

einerseits direkte Effekte des Wachstumshormons, andererseits solche, die über den hauptsächlich in der Leber, in geringerem Umfang jedoch auch lokal in unterschiedlichen Geweben gebildeten Mediator, Insulinartiger Wachstumsfaktor I (Insulin-like growth-factor I, IGF-I) vermittelt werden [1]. Am bekanntesten ist sicherlich die namensgebende Wirkung auf das Wachstum der langen Röhrenknochen, die aber im Wesentlichen einen indirekten, IGF-I-vermittelten Effekt darstellt. Auch nach Abschluss des Längenwachstums bleibt Wachstumshormon ein wichtiger Regulator einer Vielzahl von Stoffwechselfvorgängen [2]. Insbesondere die starke lipolytische Wirkung stellt einen direkten GH-Effekt dar, ferner gibt es direkte Effekte auf den Glukosestoffwechsel (diabetogen), die Niere (Wasserretention) sowie das Immunsystem. Die anabolen Effekte auf die Muskulatur wie auch insgesamt die zellproliferative Wirkung scheinen dagegen eher über IGF-I vermittelt.

Wachstumshormon ist keine homogene Substanz, sondern besteht aus einer Vielzahl von molekularen Isoformen. Neben einer aus 191 Aminosäuren bestehenden, 22 kDa großen Hauptform ist vor allem eine kleinere 20 kDa-Isoform bedeutsam, bei der im Loop zwischen Helix 1 und Helix 2 des GH-Moleküls die Aminosäuren 32 bis 46 fehlen. Es gibt weitere Isoformen und Fragmente, zudem kommen die Isoformen als Homo- und Heterodimere und –multimere vor [3]. Die Hauptisoformen scheinen sehr ähnliche physiologische Wirkungen zu haben, in der Pharmakotherapie eingesetzt wird jedoch nur reines, rekombinant hergestelltes 22 kDa-Wachstumshormon.

Die hypophysäre GH-Sekretion steht unter der Kontrolle übergeordneter hypothalamischer Zentren, die stimulierende (GHRH, Growth Hormone Releasing Hormone) und inhibierende (Somatostatin) Faktoren ausschütten. Zudem wurde kürzlich gezeigt, dass auch das von Zellen der Magenschleimhaut gebildete Hormon Ghrelin die Wachstumshormonsekretion steigert. Während die physiologische Relevanz der hypothalamischen Kontrolle der GH-Sekretion klar gezeigt ist, scheint Ghrelin jedoch hauptsächlich GH-unabhängige Funktionen zu haben. Die Ausschüttung von Wachstumshormon erfolgt pulsatil, wobei normalerweise die meisten Sekretionspeaks während des nächtlichen Schlafs erfolgen. Tagsüber ist GH beim Erwachsenen zu 60%–80% aller Zeitpunkte nicht messbar. Frauen zeigen insgesamt etwas höhere mittlere GH-Konzentrationen als Männer. Stimuliert wird die GH-Sekretion durch körperliche Belastung und Stress, aber auch durch längeres Fasten, während sie durch Nahrungsaufnahme, insbesondere durch orale Glukosezufuhr physiologischerweise supprimiert wird.

Bei der Frau wird die pulsatile hypophysäre GH-Sekretion mit fortschreitender Schwangerschaftsdauer zunehmend durch eine tonische Sekretion einer weiteren GH-Variante, des sogenannten plazentaren Wachstumshormons, ersetzt [4]. Dieses wird von den Synzytiotrophoblasten der Plazenta gebildet und ausschließlich in die maternale Zirkulation sezerniert. Es unterscheidet sich vom hypophysären GH nur durch wenige Aminosäuren, so dass es in den meisten GH-Assays kreuzreagiert. Eine spezifische Messung des

plazentaren Wachstumshormons ist nur mit speziellen Assays möglich [5]. Die physiologische Bedeutung dieser plazentaren GH-Sekretion, die bislang nur beim Menschen nachgewiesen wurde, ist unklar. Prinzipiell bindet es an denselben Rezeptor wie das hypophysäre GH und hat auch dieselben somatogenen und metabolischen Aktivitäten. Eine Bedeutung für die Umstellung des mütterlichen Stoffwechsels hin zu der Nährstoffversorgung des Feten wird diskutiert. Klar ist, dass das Ansteigen des tonisch sezernierten plazentaren Wachstumshormons für den in der Schwangerschaft beobachteten Anstieg des IGF-I verantwortlich ist.

Klinisches Bild und Pathogenese

Erkrankungen der Wachstumshormon-IGF-I-Achse wirken sich naturgemäß im Kindesalter anders aus als beim Erwachsenen.

Vor dem Schluss der Epiphysenfugen führen sowohl der GH-Mangel als auch der GH-Exzess durch die drastische GH-Wirkung auf das Längenwachstum zu charakteristischen Störungen des Wachstums mit resultierendem Minder- bzw. Hochwuchs (Gigantismus). Daher stehen hier zunächst die Messung der Körpergröße sowie die Berechnung der Wachstumsgeschwindigkeit im Vordergrund. Über eine Röntgenaufnahme erfolgt die Bestimmung des Skeletalters nach Greulich/Pyle oder nach Tanner/Whitehouse. Gerade im Kindesalter ist es entscheidend, andere mögliche Ursachen eines Minder- oder Hochwuchses auszuschließen, bevor eine Festlegung auf die Diagnose Wachstumshormonmangel oder Wachstumshormonexzess erfolgt. Hierbei kommen viele andere endokrinologische Störungen (z.B. Gonadenachse, Steroidbiosynthesedefekte) aber auch Syndrome in Frage. Auch Mangelernährung, Malabsorptionssyndrome etc. beeinflussen stark das Längenwachstum. Es ist wichtig sich zu vergegenwärtigen, dass eigentlich jede dauerhafte gesundheitliche Störung im Kindesalter sich auch auf das Längenwachstum auswirkt. Eine Auflistung möglicher Differentialdiagnosen bei Minderwuchs findet sich in Tabelle 1. Neben entsprechenden Guidelines internationaler Fachgesellschaften [6] existieren Guidelines der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (DGE) und der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ) [7, 8].

Tabelle 1 Mögliche Differenzialdiagnosen bei Minderwuchs mit erniedrigtem IGF-I.

Hypothyreose
Hypogonadismus
konstitutionelle Entwicklungsverzögerung
psychosozialer Minderwuchs
akute/chronische Mangelernährung
Zöliakie, chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
Leberfunktionsstörungen
Adipositas
schlecht eingestellter Diabetes
sekundäre Wachstumshormonresistenz

Nach Abschluss des Längenwachstums stehen beim Erwachsenen mit Wachstumshormonmangel eher unspezifische Symptome sowie die metabolischen Konsequenzen im Vordergrund. Tritt bei Erwachsenen nach dem Schluss der Epiphysenfugen ein Wachstumshormonexzess auf, so kommt es zu teilweise entstellenden Veränderungen der knorpeligen Anteile des Skelettsystems mit Vergrößerung von Händen, Füßen, des Kieferknochens sowie der Ohren. Diese Akromegalie genannte Erkrankung ist jedoch auch mit Größenänderungen innerer Organe (z.B. Kardiomegalie) sowie ungünstigen metabolischen Konsequenzen verbunden. Eine Auflistung häufiger Symptome findet sich in Tabelle 2. Auch für die Wachstumshormonassoziierten Erkrankungen beim Erwachsenen sei auf die entsprechenden Guidelines der internationalen Fachgesellschaften verwiesen [10, 11].

Pathophysiologisch sind angeborene von erworbenen Formen des Wachstumshormonmangels zu unterscheiden. Erstere werden meist bereits im Kindes- und Jugendalter diagnostiziert. Neben anatomischen Fehlbildungen (z.B. Aplasie der Adenohypophyse, Mittelliniendefekte) sind ursächlich vor allem genetische Störungen [12] zu nennen. Diese können die hypothalamische Regulation (GHRH-Rezeptormutation), das GH-Gen selber (isolierter GH-Mangel) oder auch Gene betreffen, die zu einem multiplen hypophysären Hormonausfall führen (z.B. PIT-1 oder PROP1). Nicht mit einem GH-Mangel assoziiert, jedoch klinisch ebenfalls als Störungen des Längenwachstums auffällig, werden Genmutationen, die zu einer GH-Resistenz führen. Hier wäre der GH-Rezeptordefekt (Laron-Syndrom) zu nennen, aber auch Mutationen, die zu Störungen von Synthese und Wirkung von IGF-I führen [13, 14]. Erworbene Formen des GH-Mangels können im Kindesalter auf geburts-traumatische Verletzungen, Infektionen oder aber auf ZNS-Tumore zurückgehen. Daneben ist an den GH-Mangel in Folge von Operationen oder Bestrahlung zu denken. Beim erworbenen GH-Mangel im Erwachsenenalter stehen ursächlich Hypophysentumoren, seltener auch Craniopharyngeome oder andere ZNS-Erkrankungen wie Schädel-Hirn-Traumata oder Subarachnoidalblutungen im Vordergrund [15].

Der Wachstumshormonexzess wird – unabhängig vom Alter – fast immer durch ein Adenom der Hypophyse verursacht [16]. Diese Adenome bestehen aus somatotropen

Zellen, wobei Mischtumoren z.B. mit laktotropen Zellen vorkommen. Extreme Raritäten sind die ektope GHRH-Produktion (z.B. beim Karzinoid oder beim kleinzelligen Bronchialkarzinom), noch seltener wird eine ektope Sekretion von Wachstumshormon beobachtet. Aufgrund des meist langsamen Wachstums der Hypophysenadenome sowie der im Erwachsenenalter lange Zeit sehr unspezifischen Symptomatik wird die Akromegalie leider nach wie vor erst viele Jahre nach Krankheitsbeginn diagnostiziert. Oft führen erst Sehstörungen aufgrund der Kompression des chiasma opticum durch das Adenom, kompressionsbedingte Ausfälle anderer hypophysärer Achsen oder eine massive Veränderung der Physiognomie zu einer entsprechenden spezifischen Diagnostik [9].

Labordiagnostik

Die laborchemische Diagnostik bei Verdacht auf Erkrankungen der Wachstumshormon/IGF-I-Achse ist komplex und beinhaltet spezifische Probleme, die mit der hohen biologischen Variabilität der gemessenen Parameter einerseits, mit methodenspezifischen Problemen heutiger Messverfahren andererseits zu tun haben. Es sei vorab ausdrücklich betont, dass Laborbestimmungen hier nur bei klar belegtem klinischen Verdacht in definierten Patientengruppen mit ausreichender Sensitivität und Spezifität zur Diagnosefindung beitragen können. Der umgekehrte Weg – z.B. ein breites Screening nur auf „niedrige IGF-I-Werte“ – ist nicht empfohlen und auch nicht zielführend, da angesichts der Seltenheit eines echten Wachstumshormonmangels die Mehrzahl der eventuell außerhalb des Referenzbereichs liegenden Laborergebnisse nicht in Zusammenhang mit therapiebedürftigen Störungen der Wachstumshormonsekretion stehen dürften.

In aller Regel wird für die Diagnose wachstumshormonassoziierten Erkrankungen die laborchemische Bestimmung von Wachstumshormon und IGF-I benötigt. Wie unten beschrieben, ergeben sich aus den Konzentrationen beider Hormone durchaus unterschiedliche, oft komplementäre Informationen [17]. Insgesamt wird jedoch oft zunächst IGF-I bestimmt und erst bei auffälligem Befund ein entsprechender Funktionstest der GH-Sekretion durchgeführt. Aufgrund der Invasivität und der möglichen Nebenwirkungen der GH-Stimulationsteste wird ein derartiges Vorgehen bei Kindern sogar empfohlen [7]. Trotzdem ist es wichtig in Erinnerung zu behalten, dass diskrepante Befunde zwischen GH und IGF-I-Werten vorkommen [18], beide Hormone auch unabhängig voneinander reguliert werden können. Zum Monitoring der Therapie beim GH-Mangel wird oft nur noch IGF-I bestimmt, dagegen wird die mögliche klinische Relevanz diskrepanter Befunde von GH und IGF-I auch beim Therapiemonitoring der Akromegalie weiter diskutiert [19, 20].

Wachstumshormon (Growth Hormone, GH)

Nach wie vor ist die Messung von Wachstumshormon in Blutproben zentraler Bestandteil der Diagnostik des GH-Mangels oder – Exzesses. Aufgrund der pulsatilen Sekretion

Tabelle 2 Symptome bei der Akromegalie (nach [9]).

Akrenvergrößerung	100%
Zyklusstörungen	80%
Hypertrichose (Frauen)	70%
Hyperhidrosis und Seborrhoe	60%–80%
Schlafapnoesyndrom	60%–75%
Amenorrhoe	50%–70%
Kopfschmerzen	55%
Gelenkbeschwerden	53%–76%
Echokardiographische Veränderungen	50%–80%
Gestörte Glukosetoleranz	50%
Hypertonus	20%–60%
Karpaltunnelsyndrom	35%–50%
Sehstörungen (Chiasmasyndrom)	20%

von Wachstumshormon ist allerdings zur Diagnostik wachstumshormonassoziierter Erkrankungen in aller Regel ein dynamischer Test notwendig. Dies gilt ganz sicher für die Diagnostik des Wachstumshormonmangels – nachdem physiologischer Weise GH zu den meisten Zeitpunkten des Tages GH nicht messbar niedrig ist, wird eine basale, einzelne Bestimmung der GH-Konzentration in den Guidelines explizit nicht empfohlen. Jedoch ist auch beim Verdacht auf eine Akromegalie in vielen Fällen eine einzelne GH-Bestimmung nicht ausreichend, um das Vorliegen der Erkrankung sicher auszuschließen.

Beim Verdacht auf einen GH-Mangel kommen verschiedene Stimulationstests zum Einsatz. Hierbei werden im Kindesalter als Testsubstanzen Arginin, Clonidin, Glukagon oder Insulin verwendet. Der sehr potente Insulin-Hypoglykämie-Test kommt aufgrund möglicher Nebenwirkungen in vielen pädiatrischen Zentren jedoch seltener zum Einsatz als in der Erwachsenenendokrinologie. Beim Insulin-Hypoglykämie-Test muss eine ausreichende, symptomatische Hypoglykämie erreicht werden, um eine reproduzierbar starke Stimulation der GH-Sekretion sicherzustellen. Auch GHRH – insbesondere in Kombination mit Argininin beim Erwachsenen ein gut validierter, sehr potenter Stimulus der GH-Sekretion [21] – kommt aufgrund einer geringeren Sensitivität für die primäre Diagnostik des Wachstumshormonmangels im Kindesalter selten zum Einsatz. Der dynamische Test der Wahl zum Ausschluss oder Beweis einer pathologischen Mehrsekretion von Wachstumshormon ist der orale Glukose-Toleranz-Test (OGTT). Hierbei wird nach oraler Zufuhr einer Glukoselösung (75 g oder 100 g) über 2 Stunden mehrfach Blut für die Bestimmung von Wachstumshormon abgenommen. Physiologischerweise fällt Wachstumshormon nach oraler Glukosezufuhr stark ab, bei der autonomen GH-Sekretion durch ein Hypophysenadenom ist dieser Abfall vermindert oder gar nicht zu beobachten.

Zur Beurteilung der Stimulations- oder Suppressionsteste werden bestimmte Entscheidungsgrenzen (cut-off-Werte) herangezogen. Sinkt GH im OGTT unter einen bestimmten Wert, gilt die Akromegalie als unwahrscheinlich, steigt GH nach Stimulation z.B. mit GHRH-Arginin über einen bestimmten Wert, gilt der Wachstumshormonmangel als ausgeschlossen. So wird oft angenommen, dass im Kindesalter ein Wachstumshormonmangel ausgeschlossen ist, wenn die GH-Konzentration nach Stimulation über 10 ng/mL ansteigt. Beim Erwachsenen sind niedrigere Grenzen etabliert, ein schwerer Wachstumshormonmangel gilt oft als belegt, wenn GH nach Stimulation nicht über 3 ng/mL ansteigt. Allerdings sind solche in vielen Publikationen kolportierten, traditionellen Entscheidungsgrenzen oft bezüglich ihrer Herkunft und damit ihrer Validität schwer nachvollziehbar [22]. Dies ist nicht nur deshalb ein Problem, weil bei Wachstumshormon eine große biologische Variabilität besteht, und sowohl individuelle Faktoren wie Körperfettanteil als auch der verwendete Stimulus einen entscheidenden Einfluss auf die Wachstumshormonsekretion und damit auf die erreichbare maximale Sekretion haben. Traditierte Entscheidungsgrenzen sind auch deshalb oft unzutreffend, weil sich die verwendete Messmethode für Wachstumshormon geändert

hat und verschiedene Wachstumshormonassays sehr schlecht übereinstimmende Ergebnisse hervorbringen [23, 24]. Dies zeigen nicht nur etliche Publikationen [25–27], sondern auch die verschiedenen Ringversuche. Diese methodenbedingten Unterschiede in den gemessenen Konzentrationen hängen mit der Messtechnik, aber auch mit dem Analyten selbst zusammen:

In der klinischen Routinediagnostik kommen zur Messung von Wachstumshormon-Konzentrationen durchweg Immunoassays zum Einsatz. Bedingt durch die oben erwähnte molekulare Heterogenität von Wachstumshormon werden bei der Messung – abhängig von der Spezifität der im jeweiligen Assay verwendeten Antikörper – nun jeweils unterschiedliche Teilspektren des „Gesamtwachstumshormons“ erkannt. Für viele in der klinischen Routinediagnostik eingesetzte Methoden ist das Spektrum der von den jeweiligen Antikörpern erkannten GH-Isoformen nicht bekannt. Es konnte gezeigt werden, dass die Vergleichbarkeit zwischen den Ergebnissen verschiedener kommerziell verfügbarer GH-Assays mit dem zunehmenden Einsatz von sehr spezifischen monoklonalen Antikörpern in Sandwichassays eher schlechter wurde als zu Zeiten, in denen hauptsächlich polyklonale Antiseren in kompetitiven Assays zum Einsatz kamen [28]. Es sei hier erwähnt, dass die unterschiedliche Spezifität der Antikörper natürlich auch zum Tragen kommt, wenn „ungewöhnliche“ Isoformen von Wachstumshormon in einer Probe vorhanden sind. Man denke hier z.B. an das oben beschriebene plazentare GH oder aber an den GH-Rezeptorantagonisten Pegvisomant [29], der zur Behandlung der Akromegalie eingesetzt wird, aufgrund der hohen strukturellen Homologie zum Wildtyp-GH aber in vielen Assays interferiert.

Auch die Verwendung unterschiedlicher Referenzpräparationen zur Kalibrierung der Assays trägt erheblich zu den diskrepanten Ergebnissen bei. Mit Assays, die noch mit der alten, aus Hypophysenextrakten gewonnenen Referenzpräparation 80/505 kalibriert sind, erhält man in aller Regel deutlich höhere Messergebnisse als mit Assays, die mit den neuen, rekombinanten Präparationen kalibriert sind. Als ersten Schritt hin zu einer besseren Standardisierung der GH-Assays wird daher inzwischen von vielen Fachgesellschaften klar die einheitliche Verwendung der rekombinanten Referenzpräparation 98/574 gefordert [22, 30, 31]. Dass eine derartige Vereinheitlichung des Standards zu einer signifikanten Verbesserung der Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Assays führt, wurde erfolgreich in Japan gezeigt [32].

Ein weiterer Grund für die teilweise sehr schlechte Vergleichbarkeit von Messergebnissen unterschiedlicher GH-Assays ergibt sich daraus, dass ca. 50% des zirkulierenden GH an ein hochaffines Wachstumshormonbindungsprotein gebunden ist. Dieses Bindungsprotein (GHBP) entspricht der extrazellulären Domäne des GH-Rezeptors. Abhängig von den Epitopen der verwendeten Antikörper kann es nun zu einer negativen Interferenz dieses Bindungsproteins im Assay kommen. Dies wurde bereits für frühere, manuelle Assays gezeigt [33], und es ist sehr wahrscheinlich, dass die sehr kurzen Inkubationszeiten bei neuen, automatisierten Assays die Anfälligkeit für derartige Interferenzen eher erhöht.

Wie bereits erwähnt, wären aufgrund der massiven Diskrepanzen zwischen den Messergebnissen verschiedener GH-Assays [34] eigentlich methodenspezifische cut-off-Werte zur Interpretation der Testergebnisse nötig. Es scheint klar, dass historische, publizierte Entscheidungsgrenzen, die teilweise noch mit kompetitiven Radioimmunoassays unter Verwendung polyklonaler Antiseren ermittelt wurden, sicherlich nicht geeignet sind, um mit modernen Messverfahren gewonnene Ergebnisse korrekt zu interpretieren [35]. Die entsprechenden Guidelines verschiedener Fachgesellschaften erwähnen diese methodischen Limitationen daher auch. Nachdem vom Ergebnis der Messung von Wachstumshormon gegebenenfalls die Entscheidung zu einer lebenslänglichen, teuren und invasiven Therapie abhängt, ist besondere Vorsicht bei der Interpretation geboten. Doch die Forderung nach methodenspezifischen Referenzbereichen zur Beurteilung dynamischer Tests stößt in der Praxis auf Schwierigkeiten – nicht nur im pädiatrischen Bereich, wo entsprechende Studien an gesunden Kindern kaum vertretbar erscheinen. Daher ist es für die Laboratorien wichtig, traditionelle Entscheidungsgrenzen durch geeignete Maßnahmen für die aktuell eingesetzten GH-Assays nutzbar zu machen [34].

Inzwischen wurden Methoden zur Messung von GH mit massenspektrometrischen Verfahren publiziert [36]. Derartige Verfahren sind jedoch derzeit weder sensitiv genug, um die sehr niedrigen Konzentrationen aus den zur Verfügung stehenden Probenvolumina messen zu können, noch sind sie aufgrund der schwierigen Aufbereitung der Proben, der Kosten und des Gesamtaufwandes für die Routinediagnostik geeignet.

Insulinartiger Wachstumsfaktor I (Insulin-like growth-factor I, IGF-I)

Der wesentliche Unterschied zwischen der Messung von Wachstumshormon und der Messung von IGF-I besteht darin, dass die Wachstumshormonkonzentration direkt die hypophysäre Hormonsekretion widerspiegelt, während die zirkulierende Konzentration von IGF-I die GH-Wirkung an den – vor allem hepatischen – Zielzellen wiedergibt [1]. IGF-I wird nicht pulsatil sezerniert und hat eine wesentlich längere Halbwertszeit als Wachstumshormon, weshalb die IGF-I-Konzentrationen kaum kurzfristigen Schwankungen unterliegen. Es eignet sich daher gut als pharmakodynamischer Marker der GH-Wirkung. Allerdings wird die zirkulierende Konzentration von IGF-I auch erheblich durch andere Faktoren wie z.B. Ernährung, Lebererkrankungen, Nierenerkrankungen etc. beeinflusst.

Die Messung von IGF-I wird technisch heutzutage ebenfalls fast ausschließlich mit Immunoassays durchgeführt [37]. Massenspektrometrische Verfahren sind publiziert und – aufgrund der relativ hohen IGF-I-Serumkonzentrationen – auch schon in klinisch relevanten Konzentrationsbereichen anwendbar [38]. Allerdings ist ihr Einsatz auf wenige Laboratorien weltweit beschränkt, in der Praxis spielen diese Methoden noch keine Rolle.

Einige Probleme der weit verbreiteten IGF-I-Assays ähneln denen der GH-Assays [23]: Viele Methoden sind nach

wie vor mit einer schlecht charakterisierten, wenig reinen Referenzpräparation kalibriert [39], obwohl klinische wie labormedizinische Fachgesellschaften den Einsatz der neuen rekombinanten Referenzpräparation 02/254 fordern [22]. Für IGF-I sind 6 hochaffine Bindungsproteine beschrieben, von denen insbesondere das IGFBP-3 aufgrund seiner hohen Konzentration im Serum eine erhebliche Herausforderung für die Messverfahren darstellt. Die IGF-Bindungsproteine unterliegen massiven Schwankungen aufgrund einer ganzen Reihe physiologischer Regulationsmechanismen, was das Problem der Interferenz in Immunoassays bei bestimmten Patientengruppen deutlicher werden lässt als bei Normalpersonen. Vergleiche verschiedener IGF-I-Assays bei gesunden Probanden haben daher für die Situation bei Patientenproben oft keine Aussagekraft [40]. Eine „Umrechnung“ von IGF-I-Konzentrationen zwischen verschiedenen kommerziell verfügbaren Assays ist daher obsolet. Hersteller von IGF-I-Assays sollten darlegen, mit welcher Methode in ihren Assays die Interferenz der Bindungsproteine verhindert wird. Als Goldstandard gilt heutzutage eine Ansäuerung der Probe, um die IGF/IGFBP-Komplexe aufzubrechen, gefolgt von der Zugabe exzessiver Konzentrationen von IGF-II, das ebenfalls an die Bindungsstellen bindet und so die Reaggregation von IGF-I mit den Bindungsproteinen verhindert [41].

Die Interpretation von IGF-I-Werten erfordert unbedingt methodenspezifische Referenzbereiche. Die Erstellung guter Referenzbereiche für IGF-I ist jedoch sehr aufwändig [42], da es einer starken Altersabhängigkeit unterliegt. Zudem müssen für Kinder zwischen 6 und 18 Jahren auch geschlechtsspezifische Referenzbereiche erstellt werden. Bei Erwachsenen wurde zwar in verschiedenen Studien gezeigt, dass es einen gewissen statistisch in großen Kohorten nachweisbaren Einfluss von Geschlecht und auch ethnischer Herkunft gibt. Es besteht jedoch Konsens, dass diese Einflussfaktoren klinisch kaum relevant sind und daher bei Erwachsenen auch einheitliche Referenzbereiche für Männer und Frauen verwendet werden könnten [22]. Verschiedene Studien konnten jedoch zeigen, dass die Qualität der Referenzbereiche entscheidend von der Größe des zugrundeliegenden Referenzkollektivs abhängt. Die Verwendung von Referenzbereichen, die entweder nicht methodenspezifisch oder aber an zu kleinen Kollektiven erstellt wurden, führt daher immer wieder zu klinischen Fehlinterpretationen [43]. Die Laboratorien sollten daher von den Herstellern der IGF-I-Assays Auskunft über Größe und genaue Charakterisierung der den methodenspezifischen Referenzbereichen zugrundeliegenden Referenzkollektive verlangen.

Qualitätssicherung

Neben dem Mitführen von kommerziell erhältlichen Kontrollseren – die idealerweise unabhängig vom Hersteller sein sollten – kann das Labor durch das Mitführen von Pools aus Patientenseren wichtige zusätzliche Informationen zur Qualität der Assays und zur Chargenkonstanz erhalten: Kommerzielle Kontrollproben unterscheiden sich hinsichtlich der Matrix häufig von echten Serumproben, und enthalten oft

gespikete, rekombinante Proteine. Mit solchen Proben können z.B. mögliche Probleme der Bindungsproteininterferenz nur unzureichend kontrolliert werden, da diese Proben oft gar keine oder nur sehr niedrig konzentriert Bindungsproteine enthalten bzw., durch die Zugabe von rekombinantem Protein, einen hohen Anteil freien Proteins. Die Teilnahme an entsprechenden Ringversuchen sollte selbstverständlich sein. Es ist jedoch zu beachten, dass die Konzentrationsbereiche der Ringversuchsproben wie die der kommerziellen Kontrollmaterialien nicht immer an den klinisch kritischen Entscheidungsgrenzen liegen [22]. Daher empfiehlt es sich gegebenenfalls, durch geeignete Patientenpools die Stabilität der Messergebnisse in diesen Bereichen zu überwachen.

Fazit

Die laboranalytische Bestimmung der zirkulierenden Konzentrationen von Wachstumshormon und IGF-I ermöglicht es, einerseits die sekretorische Funktion der Hypophyse, andererseits die Wachstumshormonwirkung an Zielzellen zu untersuchen. Die Pulsatilität der Wachstumshormonausschüttung limitiert die Aussagekraft der Messung in Einzelproben stark, weshalb dynamische Funktionstests der GH-Sekretion notwendig sind. Die IGF-I-Konzentration unterliegt kaum kurzfristigen Schwankungen und eignet sich daher als Marker der GH-Sekretion über einen längeren Zeitraum. Aufgrund der erheblichen methodenbedingten Diskrepanzen der Ergebnisse von GH- und IGF-I-Assays verschiedener Hersteller sind methodenspezifische Referenzbereiche unerlässlich. Zudem ist zu beachten, dass IGF-I-Werte nur anhand alters- und im pädiatrischen Bereich auch geschlechtsspezifischer Referenzbereiche sinnvoll interpretiert werden können.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine wirtschaftlichen oder persönlichen Interessenkonflikte bestehen.

Literatur

1. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 2001;22:53–74.
2. Moller N, Jorgensen JO. Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. *Endocr Rev* 2009;30:152–77.
3. Baumann G. Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins. *Endocr Rev* 1991;12:424–49.
4. Igout A, Van Beeumen J, Frankenne F, Scippo ML, Devreese B, Hennen G. Purification and biochemical characterization of recombinant human placental growth hormone produced in *Escherichia coli*. *Biochem J* 1993;295:719–24.
5. Wu Z, Bidlingmaier M, Friess SC, Kirk SE, Buchinger P, Schiessl B, et al. A new nonisotopic, highly sensitive assay for the measurement of human placental growth hormone: development and clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:804–11.
6. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH Research Society. *GH Research Society. J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3990–3.
7. Binder G. Diagnostik des Wachstumshormonmangels im Kindes- und Jugendalter. <http://www.uni-duesseldorf.de/AWMF/II/2008>.
8. Hauffa BP, Binder G. Hochwuchs. <http://www.uni-duesseldorf.de/AWMF/II/2011>.
9. Molitch ME. Clinical manifestations of acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1992;21:597–614.
10. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with growth hormone deficiency: summary statement of the Growth Hormone Research Society Workshop on Adult Growth Hormone Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:379–81.
11. Biochemical assessment and long-term monitoring in patients with acromegaly: statement from a joint consensus conference of the Growth Hormone Research Society and the Pituitary Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3099–102.
12. Mullis PE. Genetics of growth hormone deficiency. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007;36:17–36.
13. Laron Z. The essential role of IGF-I: lessons from the long-term study and treatment of children and adults with Laron syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4397–404.
14. Savage MO, Burren CP, Blair JC, Woods KA, Metherell L, Clark AJ, et al. Growth hormone insensitivity: pathophysiology, diagnosis, clinical variation and future perspectives. *Horm Res* 2001;55:32–5.
15. Webb SM, Strasburger CJ, Mo D, Hartman ML, Melmed S, Jung H, et al. Changing patterns of the adult growth hormone deficiency diagnosis documented in a decade-long global surveillance database. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:392–9.
16. Melmed S. Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2009;119:3189–202.
17. Alexopoulou O, Bex M, Abs R, T'Sjoen G, Velkeniers B, Maiter D. Divergence between growth hormone and insulin-like growth factor-I concentrations in the follow-up of acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:1324–30.
18. Freda PU. Monitoring of acromegaly: what should be performed when GH and IGF-I levels are discrepant? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;71:166–70.
19. Freda PU, Nuruzzaman AT, Reyes CM, Sundeen RE, Post KD. Significance of “abnormal” nadir growth hormone levels after oral glucose in postoperative patients with acromegaly in remission with normal insulin-like growth factor-I levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:495–500.
20. Melmed S, Colao A, Barkan A, Molitch M, Grossman AB, Kleinberg D, et al. Guidelines for acromegaly management: an update. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1509–17.
21. Aimaretti G, Corneli G, Razzore P, Bellone S, Baffoni C, Arvat E, et al. Comparison between insulin-induced hypoglycemia and growth hormone (GH)-releasing hormone+arginine as provocative tests for the diagnosis of GH deficiency in adults. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1615–8.
22. Clemmons DR. Consensus Statement on the Standardization and Evaluation of Growth Hormone and Insulinlike Growth Factor Assays. *Clin Chem* 2011.
23. Pokrajac A, Wark G, Ellis AR, Wear J, Wieringa GE, Trainer PJ. Variation in GH and IGF-I assays limits the applicability of international consensus criteria to local practice. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67:65–70.
24. Bidlingmaier M, Freda PU. Measurement of human growth hormone by immunoassays: current status, unsolved problems and clinical consequences. *Growth Horm IGF Res* 2010;20:19–25.

25. Popii V, Baumann G. Laboratory measurement of growth hormone. *Clin Chim Acta* 2004;350:1–16.
26. Hauffa BP, Lehmann N, Bettendorf M, Mehls O, Dorr HG, Partsch CJ, et al. Central reassessment of GH concentrations measured at local treatment centers in children with impaired growth: consequences for patient management. *Eur J Endocrinol* 2004;150:291–7.
27. Hauffa BP, Lehmann N, Bettendorf M, Mehls O, Dorr HG, Stahnke N, et al. Central laboratory reassessment of IGF-I, IGF-binding protein-3, and GH serum concentrations measured at local treatment centers in growth-impaired children: implications for the agreement between outpatient screening and the results of somatotropic axis functional testing. *Eur J Endocrinol* 2007;157:597–603.
28. Seth J, Ellis A, Al-Sadie R. Serum growth hormone measurements in clinical practice: an audit of performance from the UK National External Quality Assessment scheme. *Horm Res* 1999;51:13–9.
29. Trainer PJ, Drake WM, Katznelson L, Freda PU, Herman-Bonert V, van der Lely AJ, et al. Treatment of acromegaly with the growth hormone-receptor antagonist pegvisomant. *N Engl J Med* 2000;342:1171–7.
30. Trainer PJ, Barth J, Sturgeon C, Wieringa G. Consensus statement on the standardisation of GH assays. *Eur J Endocrinol* 2006;155:1–2.
31. Ranke MB, Orskov H, Bristow AF, Seth J, Baumann G. Consensus on how to measure growth hormone in serum. *Horm Res* 1999;51:27–9.
32. Tanaka T, Tachibana K, Shimatsu A, Katsumata N, Tsushima T, Hizuka N, et al. A nationwide attempt to standardize growth hormone assays. *Horm Res* 2005;64(Suppl 2):6–11.
33. Hansen TK, Fisker S, Hansen B, Sorensen HH, Christiansen JS, Jorgensen JO, et al. Impact of GHBP interference on estimates of GH and GH pharmacokinetics. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;57:779–86.
34. Muller A, Scholz M, Blankenstein O, Binder G, Pfaffle R, Korner A, et al. Harmonization of growth hormone measurements with different immunoassays by data adjustment. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1135–42.
35. Markkanen H, Pekkarinen T, Valimaki MJ, Alfthan H, Kauppinen-Makelin R, Sane T, et al. Effect of sex and assay method on serum concentrations of growth hormone in patients with acromegaly and in healthy controls. *Clin Chem* 2006;52:468–73.
36. Arsene CG, Henrion A, Diekmann N, Manolopoulou J, Bidlingmaier M. Quantification of growth hormone in serum by isotope dilution mass spectrometry. *Anal Biochem* 2010;401:228–35.
37. Frystyk J, Freda P, Clemmons DR. The current status of IGF-I assays – a 2009 update. *Growth Horm IGF Res* 2010;20:8–18.
38. Bredehoft M, Schanzer W, Thevis M. Quantification of human insulin-like growth factor-I and qualitative detection of its analogues in plasma using liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2008;22:477–85.
39. Quarmby V, Quan C, Ling V, Compton P, Canova Davis E. How much insulin-like growth factor I (IGF-I) circulates? Impact of standardization on IGF-I assay accuracy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1211–6.
40. Chestnut RE, Quarmby V. Evaluation of total IGF-I assay methods using samples from type I and type II diabetic patients. *J Immunol Methods* 2002;259:11–24.
41. Blum WF, Ranke MB, Bierich JR. A specific radioimmunoassay for insulin-like growth factor II: the interference of IGF binding proteins can be blocked by excess IGF-I. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1988;118:374–80.
42. Brabant G, von zur Muhlen A, Wuster C, Ranke MB, Kratzsch J, Kiess W, et al. Serum insulin-like growth factor I reference values for an automated chemiluminescence immunoassay system: results from a multicenter study. *Horm Res* 2003;60:53–60.
43. Massart C, Poirier JY. Serum insulin-like growth factor-I measurement in the follow-up of treated acromegaly: comparison of four immunoassays. *Clin Chim Acta* 2006;373:176–9.