

4. Ruf J, Carayon P, Lissitzky S. Various expression of a unique anti-human thyroglobulin antibody repertoire in normal state and autoimmune disease. *Eur J Immunol* 1985; 15: 268-72.

#### Summary

*Thyroglobulin in the external quality control programs, and first results of a harmonisation experiment. Lentjes EGWM. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 28-32.*

Thyroglobulin (Tg) is a large protein of 660 kDa, containing many carbohydrate side chains. This is why Tg has so many antibody-binding places. In the external quality-assessment schemes this effect is translated in a large variability in results

between the methods. Results can differ by a factor of 3 to 4 and sometimes more. Of course, the variability within a method is much smaller. Tg plays an important role in the detection of a recurrence, or of thyroid tissue remnants, in patients having differentiated thyroid carcinoma, after treatment with thyroidectomy and <sup>131</sup>I-ablation therapy. In many guidelines cut-off values are used for Tg, despite the variability between methods. A survey was conducted to try to find a commutable harmonisation sample, which could be used to reduce the inter-assay variability. A total of 17 laboratories participated in this survey. Results are described.

*Keywords: thyroglobulin; quality control program; harmonisation*

*Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 32-38*

## IGF-1 en IGF-BP3. Leeftijdsafhankelijke referentiewaarden en methode verschillen

B.E.P.B. BALLIEUX

Insulineachtige groeifactor 1 (IGF-1) is de belangrijkste mediator van de biologische acties van groeihormoon. Het is voor meer dan 80% gebonden aan het bindende eiwit IGF-BP3. De serumconcentraties zijn sterk leeftijdsafhankelijk en stijgen vooral sterk gedurende de puberteit en dalen vanaf de volwassen leeftijd gestadig tot op oudere leeftijd. Vanwege deze leeftijdsafhankelijkheid is het lastig om goede referentiewaarden vast te stellen. Ook is de tussenmethodevariatie van de bepalingen van beide eiwitten groot. Voor de juiste klinische interpretatie zijn goede SD-scores nodig per leeftijdscategorie. Er zijn een aantal studies voor referentiewaarden vanaf geboorte tot ouder dan 70. De verschillen tussen die curves laten zich deels verklaren door deze methodenverschillen. Echter er zijn ook verschillen in de vorm en de spreiding van de SD-grenzen, die met name lijken te wijzen op verschillen in statistische benadering en de leeftijdsverdeling van de gebruikte populaties.

*Trefwoorden: IGF-1, IGF-BP3, referentiewaarden, LMS-methode*

Het bestaan van een groeihormoon(GH-)afhankelijke serumfactor, die de werking van GH medieert op weefselniveau, was al in 1957 gepostuleerd (1). Deze

serumfactor stimuleerde de inbouw van 35S-sulfaat in kraakbeenweefsel van de rat en werd toen 'sulfation factor' genoemd. Later kreeg dit eiwit de naam somatomedine C (2). Ook bleek, dat deze 'sulfation factor' overeen kwam met één eiwit van een groep van serumeiwitten met insulineachtige activiteit, die later de namen IGF-I en IGF-II kregen (3). IGF-1 wordt kwantitatief gezien het meest geproduceerd in de lever onder invloed van GH. Echter ook para/auto-criene productie in diverse weefsels, waaronder het bot, speelt een belangrijke rol. De relatieve bijdrage van de endocriene en para/auto-criene route is nog steeds een bron van onderzoek (4-6). IGF-1 wordt geproduceerd onder invloed van GH en heeft zelf een negatieve feedback op de GH-productie, zowel op hypothalaam als hypofysair niveau (7).

IGF-1 heeft een molecuulgewicht van 7,5 kDa en is in de circulatie voor 80% gebonden aan het bindende eiwit IGF-BP3. In combinatie met een zuur-instabiel eiwit (ALS) vormt het een complex van 150 kDa. Minder dan 1% van het IGF-1 is als vrij IGF-1 in de circulatie aanwezig. De overige 20% is gebonden aan andere IGF-bindende eiwitten. Het vrije IGF-1 heeft een zeer korte biologische halfwaardetijd, terwijl het 150-kDa-complex een halfwaardetijd van ongeveer 20 uur heeft. Proteolytische activiteit van serineproteïnases en matrix-metalloproteïnases, waaronder PSA, kan lokaal IGF-1 vrij maken van het complex, waar het dan kan binden aan IGF-receptoren en zijn biologische activiteit uitoefenen (8).

IGF-1 komt in vrijwel alle weefsels tot expressie, maar de IGF-1 in de circulatie is voornamelijk afkomstig van de lever. De regulatie van de auto/para-criene route van IGF-1 is waarschijnlijk ook onder

*Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, LUMC*

Correspondentie: dr.ir. B.E.P.B. Ballieux, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, LUMC, Postbus 9600, 2300 RC Leiden.

E-mail: bballieux@lumc.nl

invloed van GH, maar in de foetale periode is er ook GH-onafhankelijke expressie van IGF-1. Baby's met een volledige GH-deficiëntie of -ongevoeligheid worden in het algemeen met een normale lengte en gewicht geboren en ontwikkelen pas in hun eerste jaar een groeiachterstand. Deze patiëntengroep heeft behalve hun kleine lengte verder weinig klachten. Dit geldt wel voor een aantal patiënten met een homozygote IGF-1-deficiëntie. Deze zeer zeldzame patiënten worden met een ernstige groeiachterstand geboren en vertonen daarnaast microcefalie, mentale retardatie en doofheid (9, 10).

### **Klinische toepassing van de analyse van IGF-1 in serum**

De bepaling van IGF-1 en IGF-BP3 heeft een aantal belangrijke klinische toepassingen. IGF-1 en in mindere mate IGF-BP3 zijn primair betrokken bij het stellen van de diagnose GH-deficiëntie (GHD). In het verleden is wel geclaimd, dat het meten van IGF-BP3 een betere sensitiviteit heeft dan IGF-1 voor de diagnose GH-deficiëntie. De concentratie van IGF-BP3 is ongeveer een factor 10 hoger dan die van IGF-1 in serum (uitgedrukt in gewichtseenheden) en daarom mogelijk nauwkeuriger te meten dan IGF-1. Met de huidige assays speelt dit probleem niet meer en is ook de -2SD-grens van IGF-1 bij kinderen nog goed meetbaar. Nationale en internationale consensusrichtlijnen voor de diagnostiek bij kleine lengte geven duidelijk de rol van IGF-1 aan (11, 12). Een IGF-1 < 2SD onder het gemiddelde van het referentiewaarde interval voor de leeftijd van de patiënt heeft een sterke voorspellende waarde voor GHD en leidt tot verder onderzoek middels GH-stimulatietesten (13, 14). Hierbij dienen wel andere oorzaken voor groeiachterstand, zoals hypothyreoïdie, coeliakie of emotionele deprivatie, eerst uitgesloten worden (11, 12). Naar aanleiding van de recente ontrafeling van diverse genetische factoren die betrokken zijn bij te kleine lengte, is een flowchart opgesteld. Deze is gebaseerd op de resultaten van IGF-1, GH-stimulatietesten en lichamelijk onderzoek en geeft richting aan het genetische onderzoek in individuele patiënten (15). Wanneer therapie met recombinant-groei-hormoon wordt ingezet, worden therapietrouw en -dosering middels IGF-1 en IGF-BP3 vervolgd. Hogere IGF-1-concentraties resulteren in sterkere groei. De groei-respons in kinderen met idiopatische kleine gestalte op hogedosis-recGH-therapie ( $6,0 \text{ IU/m}^2$ ) is direct gecorreleerd aan de IGF-1-respons (16). Voor inhaal-groei, maximale groei in puberteit en onderhoudsdosering worden daarom verschillende targetwaarden voor IGF-1 gehanteerd (17, 18). Een voorgesteld model van Park en Cohen voor de gefaseerde recombinant-GH(recGH)-dosering in kinderen wordt weergegeven in tabel 1 (18). IGF-1 heeft recentelijk een nog belangrijkere rol gekregen in de monitoring van de behandeling van acromegalie met de introductie van de GH-receptorantagonist pegvisomant. Doordat niet de groeihormoonproductie in het hypofyseadenoom wordt geremd maar de effecten van GH op de receptor, kunnen de therapeutische effecten alleen op basis van IGF-1 vastgesteld worden. Eerdere richtlijnen

voor behandeling van acromegalie hanteerden een GH-niveau <  $2 \mu\text{g/l}$  als biochemische behandeltarget. De huidige therapiedoelen zijn gebaseerd op titratie van pegvisomant tot normalisatie van de IGF-1 (uitslag < +2SD) bereikt wordt, of een maximale dosis van 40 mg/dag (19, 20).

Er bestaat veel discussie over de rol die IGF-1 speelt in het ontstaan van maligniteiten. IGF-1 heeft een anti-apoptotische werking en stimuleert de groei van cellen, en IGF-BP3 zou juist een apoptotische werking hebben (21, 22). Een verhoogd IGF-1 lijkt geassocieerd te zijn met een verhoogd risico op niet-familiaire colorectale adenomen en mogelijk ook prostaat- en borstkanker (23, 24). Er wordt geconcludeerd dat hoog IGF-1 waarschijnlijk geen nieuwe maligniteiten veroorzaakt, maar wel de uitgroei bevordert. Hierbij lijkt de verhouding tussen IGF-1 en IGF-BP3 een rol te spelen. Hoog IGF-1 in combinatie met een laag IGF-BP3 lijkt een extra verhoogd risico te geven (22). Het is mogelijk, dat de proteolytische activiteit van PSA lokaal IGF-1 vrijmaakt en hiermee de groei van prostaatcarcinoom-voorlopercellen stimuleert.

### **Leeftijdsafhankelijke referentiewaarden voor IGF-1 en IGF-BP3**

Als gevolg van de sterke leeftijdsafhankelijkheid van IGF-1 en IGF-BP3 is het tijdrovend en kostbaar om goede referentiewaarden voor deze bepalingen vast te stellen. Omdat vrijwel alle richtlijnen en protocollen uitgaan van SD-scores voor IGF-1 en IGF-BP3, is het van groot belang dat de grenzen van de referentiewaardencurves uitgedrukt worden in SD-scores. De door de leverancier geleverde waarden waren in eerste instantie vaak van beperkte waarde voor kinderen, door kleine aantallen en grove leeftijdscategorieën. Recentelijk zijn diverse uitgebreide referentiewaarden studies gepubliceerd waarin ook kinderpopulaties nauwkeurig zijn geanalyseerd. Van belang hierbij is, dat de verdeling rondom het leeftijdsafhankelijk gemiddelde voor IGF-1 niet normaal is (25). Voor IGF-BP3 wordt een dergelijke scheve verdeling niet in alle gevallen gevonden (26).

Een van de eerste grondige studies gaat uit van een statistische benadering, die al met succes op groei-parameters was toegepast. Deze LMS-methode beschrijft afzonderlijk een leeftijdsafhankelijke curve voor het gemiddelde, de mate van transformatie en de standaarddeviatie van de getransformeerde waarden. (27, 28). Voor de optimalisering van deze curves kunnen de statistische vrijheidsgraden van elk van die drie curves gevarieerd worden. Deze methode is toegepast op een dataset verkregen met behulp van eigen RIA's voor IGF-1 en IGF-BP3 (25). Andere groepen hebben voor IGF-1 gekozen voor een vaste machtttransformatie met exponent 0,4 of 0,5 (29, 26). In de ene publicatie zijn door de getransformeerde data middels polynomiale fitting de gemiddelden en de 1- en 2-SD-curves gefit en vervolgens zijn die resultaten weer teruggetransformeerd (29). In de andere publicatie is alleen de polynomiale regressielijn door de gemiddelden gefit en zijn de 1- en 2-SD-grenzen van de residuale variatie hier omheen gebruikt, waarna

alles terug is getransformeerd (26). Hierbij is dus sprake van een vaste, leeftijdsonafhankelijke variatiecoëfficiënt, met een scheve verdeling rondom de berekende gemiddelden. Een referentiewaardenstudie voor de Immulite-IGF-1- en -IGF-BP3-methode van de firma DPC geeft alleen P95- en P5-waarden (30). In het vervolg van dit artikel worden deze curves met elkaar vergeleken middels een aantal kengetallen (zie figuur 1). Deze vergelijking is alleen mogelijk als ook de onderlinge methodenvergelijkingen meegenomen worden in de overwegingen.

### Standaardisatie en methodenvergelijkingen voor IGF-1 en IGF-BP3

Voor IGF-1 bestaat al enige tijd de WHO-internationale standaard 87/518. Alle hier genoemde commerciële assays zijn volgens opgave van de leveranciers op deze standaard gekalibreerd. Het is echter bekend, dat de zuiverheid van dit preparaat slechts 44% is en dat het toegekende gewichtsgehalte hoger is dan gemeten middels kwantitatieve aminozuuranalyse (31). Voor het juist meten van IGF-1 is het ook noodzakelijk, dat IGF-1 eerst wordt gedissocieerd van zijn bindende eiwitten. Hiervoor zijn verschillende methoden beschreven, die uitgaan van zure pre-incubatie met overmaat toegevoegd IGF-2 om alle bindingsplaatsen te bezetten, of een zure extractie door precipitatie van bindende eiwitten met zure ethanol en neutralisatie van het supernatant. Ook zijn meer bewerkelijke chromatografische scheidingen beschreven (32). De geautomatiseerde methoden van DPC en Nichols maken beide gebruik van de eerste methode. Dit is mogelijk door hoge specificiteit van de antistoffen voor IGF-1.

Eigen vergelijkingen met verse patiëntensera tussen de DPC-methoden (zowel Immulite 1, Immulite 2000 als Immulite 2500) en de Nichols Advantage gaven zeer goed vergelijkbare resultaten (resultaten niet getoond). De uitslagen van externe kwaliteitscontroles laten 1,2 maal hogere uitslagen zien voor de Nichols Advantage ten opzichte van DPC. Mogelijk spelen verschillen in monsterbehandeling en toevoegingen aan de rondzendmonsters hierbij een rol. De resultaten van de eigen RIA van het WKZ in Utrecht, gebruikt in de studie van Rikken et al. (25), zijn destijds vergeleken met de Nichols Advantage en op basis van de goede overeenkomst van de uitslagen zijn bij overgang naar de Advantage deze referentiewaarden aangehouden (persoonlijke communicatie J. van Doorn, WKZ). Voor de DSL-IRMA worden 1,5 maal hogere uitslagen gevonden in externe kwaliteitsrondes ten opzichte van de DPC Immulite.

Voor IGF-BP3 is nog geen goede standaardisatie gerealiseerd. Dientengevolge zijn de verschillen in meetmethoden ook veel groter. DPC en DSL refereren op verschillende wijze naar hetzelfde standaardmateriaal, zijnde NIBSC 93/560. Dit is een specifieke batch recombinant niet-geglycosyleerd IGF-BP3, geproduceerd door de (inmiddels niet meer bestaande) firma Celtrix Pharmaceuticals, Santa Clara, CA, USA. De Nichols Advantage-assay is gestandaardiseerd op geglycosyleerd recombinant IGF-BP3. De

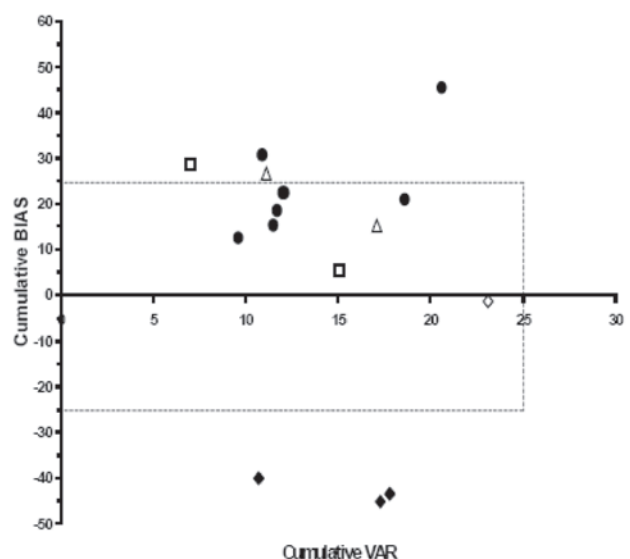
eigen RIA van het WKZ maakte gebruik van een eigen, uit serum gezuiverd IGF-BP3-preparaat. Voor het meten van IGF-BP3 is geen voorincubatie noodzakelijk.

Een methodevergelijking van het VUMC met normale sera gaf een relatie tussen de DSL-IRMA en de Advantage van:  $DSL \times 0,5405 = Advantage$ . Ook vonden zij een goede overeenkomst tussen de Advantage en de eigen RIA van het WKZ (persoonlijke communicatie dr. H. Dijkstra). In een eigen methodenvergelijking tussen de Immulite 2500 van DPC en de RIA van het WKZ werden 1,5 maal hogere waarden gevonden voor de Immulite. Er is in Nederland geen externe kwaliteitscontrole voor IGF-BP3. Het jaaroverzicht 2005 van de sectie 'Peptide Hormones' van de Engelse externe kwaliteitsrondzendingen (UK NEQAS) laat een grote tussenmethodenvariabiliteit zien, waarbij ook de negatieve bias van de Nichols Advantage-assay ten opzichte alle andere methoden opvalt (zie figuur 2). Het rapport concludeert als volgt: "The variability between methods can be attributed to differences in antibody specificity and particularly assay calibration. The lack of an international reference preparation has led to manufacturers using different sources of IGF-BP-3 as their calibration material. Until an international reference preparation is available, there will be no improvement in IGF-BP-3 assay standardisation." (persoonlijke communicatie met G. Wark, UK NEQAS).

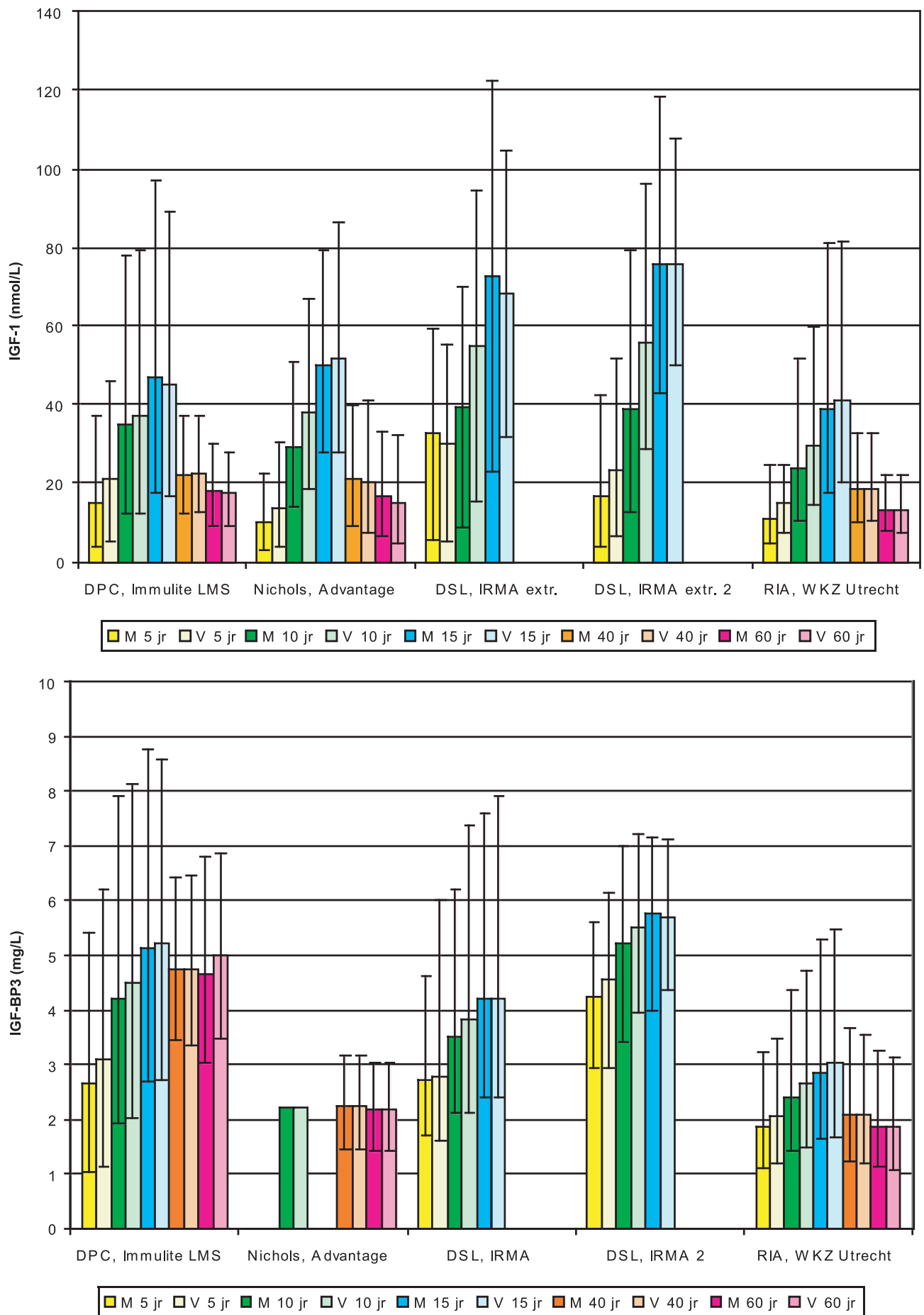
### Vergelijking referentiewaarden en discussie

Bovengenoemde verschillen weerspiegelen zich in de opgegeven en gepubliceerde referentiewaarden voor de diverse methoden. In figuur 2 is een overzicht van een aantal (arbitraire) kengetallen, zijnde de gemiddelden en bijbehorende +2SD- en -2SD-grenzen voor de leeftijden 5, 10, 18 en 40 en 60 jaar.

Voor IGF-1 zijn 3 studies bekend met volledige referentiewaardencurves van pasgeboren tot  $\pm 80$  jaar. De



**Figuur 2.** Jaaroverzicht IGF-BP3 2005 van de sectie 'Peptide Hormones' van de UK NEQAS. De Nichols Advantage heeft duidelijk een sterk negatieve bias t.o.v. de overige methoden. ● DPC Immulite 2000 (8); △ DPC Immulite (2); □ DSL IRMA (2); ◆ Nichols Advantage (3); ◇ Nichols-RIA (1).



**Figuur 1.** Vergelijking van de referentiewaarden van IGF1 en IGF-BP3 van diverse methoden op basis van een aantal kengetallen (zie legenda). De 'error bars' geven de -2SD- en +2SD-grenzen aan (1 nmol/l IGF-1 = 1 ng/ml x 0,13).



studie van Rikken et al. is reeds hierboven genoemd en is gebaseerd op eigen RIA's voor IGF-1 en IGF-BP3 en curvefitting met de LMS-methode. De data van de DPC-methode (30) zijn door professor Elmlinger ter beschikking gesteld voor heranalyse met behulp van de LMS-methode, gebruik makend van het programma 'Growth Analyser 3.5' (27, 28, 33). De studie op de Nichols Advantage door Brabant et al. maakt gebruik van een vaste transformatie tot de macht 0,4 om de scheefheid van de verdeling van de resultaten van de IGF-1 rondom de leeftijdsgerelateerde gemiddelden te compenseren. Daarnaast zijn twee curves voor de kinderleeftijd beschreven met de DSL-IRMA met zure ethanolextractie, de ene zonder referentie op de website van DSL (34), de ander in een Turkse studie (26). Zowel deze studie als de eigen data van DSL zijn opgenomen in figuur 1. De curves van de DPC-methode en de Nichols-methode ontkopen elkaar niet veel. Alleen bij jonge kinderen lijkt de DPC-methode hogere waarden en een grotere spreiding te geven. De WKZ-curve ligt iets lager dan beide andere curves, maar heeft een vergelijkbare vorm als de Nichols-curve. De DSL-referentiewaarden voor kinderen zijn duidelijk hoger dan de overige curves. Voor IGF-BP3 zijn in de literatuur geen gegevens bekend over referentiewaarden voor de Advantage. In de tabel is wel de LMS-bewerking van data van het VUMC voor volwassenen opgenomen (data ter beschikking gesteld door prof. M. Blankenstein). In overeenstemming met de Engelse externe rondzendingen worden veel lagere referentiewaarden gevonden voor de Advantage dan voor DPC en DSL. De referentiewaarden voor de eigen RIA van het WKZ komen goed overeen met die van de Advantage. Er lijkt nog significant verschil te bestaan tussen de twee curves voor de DSL-methode. De curve voor de DPC-methode ligt hier ongeveer tussenin. Blijkbaar zijn de belangrijkste verschillen tussen de IGF-BP3-assays veroorzaakt door kalibratie van de standaard op geglycosyleerd of niet geglycosyleerd referentiemateriaal. Alle genoemde studies geven min of meer een goede statistische benadering van de SD-grenzen, die echter op de LMS-methode na geen rekening houden met leeftijdsafhankelijke verschillen in de scheefheid van de verdeling. In de praktijk verschilt dit niet wezenlijk van de LMS-methode, omdat in de uiteindelijke berekeningen van Rikken et al. ook gerekend is met een vaste transformatiefactor (constante L) (data niet getoond).

Alle IGF-1-curves laten een sterke stijging zien in de eerste 15 levensjaren, waarna een langzamere daling tot het levenseinde zichtbaar is. De breedte van de SD-grenzen bij de kinderen variëren echt aanzienlijk en lijken deels het gevolg van tekortkomingen in de polynomiale curve-fitting (zie bijvoorbeeld de IGF-1-curve voor meisjes op de DSL-website) (34). In geval van de DPC-data lijkt ook het lage aantal data in de leeftijdscategorie 2-6 jaar mee te spelen. Daarnaast is een deel van deze sera afkomstig uit een niet-westers land (Roemenië). Eventuele suboptimale voedingsstatus in deze studiegroep kan een negatief effect op de IGF-1-waarden hebben.

In alle gevallen, waarbij de individuele data weergegeven zijn in de grafiek, lijkt een substantieel aantal waarden in de piek van de IGF-1-curves buiten de 2SD-curve te vallen. Ook is uit eigen ervaring gebleken, dat kinderen die worden behandeld met recGH, tijdens de puberteit met hun IGF-1 vaak ver boven de 2SD-grens uitstijgen bij ongewijzigde dosering (resultaten niet getoond). Waarschijnlijk is dit het gevolg van een scheve verdeling in de puberteit dan bij andere leeftijden. Dit hindert de follow-up van GH-therapie bij adolescenten. IGF-1-waarden > 2SD lijken in die leeftijd dan ook geen directe reden te zijn voor aanpassing van de dosering. De IGF-BP3-curves geven minder extreme stijging en daling te zien. Toch wordt in de studie van Rikken et al. geconcludeerd dat IGF-1 beter onderscheid maakt tussen idiopatische kleine gestalte en groeihormoondeficiëntie. Mogelijk zou een grotere vrijheidsgraad voor de L-parameter in de LMS-analyse de klinische waarde van de IGF-1-bepaling nog verder verbeteren.

Er bestaat in Nederland een groeiende behoefte aan goed gedefinieerde referentiewaarden voor IGF-1 en IGF-BP3, die door alle groeicentra gehanteerd kunnen worden. Dit is mogelijk omdat van de 30 laboratoria die resultaten voor IGF-1 inzenden in de externe kwaliteitsrondzendingen, 23 laboratoria gebruik maken van de Immulite van DPC. Daarnaast zijn er nog 5 laboratoria die werken met de IRMA van DSL en twee met eigen RIA's. Een dergelijke situatie bestaat ook voor IGF-BP3, hoewel daar in Nederland geen externe kwaliteitsrondzending voor bestaat en daarmee een exacte stand van zaken lastig te achterhalen is. De door DPC geleverde referentiewaarden kennen ondanks LMS-berekening toch een aantal tekortkomingen, die hierboven reeds genoemd zijn. Met name de grote spreiding in de kinderleeftijd lijkt niet in overeenstemming te zijn met alle overige studies.

**Tabel 1.** Voorstel voor een gefaseerde GH-dosering in GH-deficiënte kinderen voor inhaalgroei, onderhoud, puberteitsspurten en overgang naar volwassenheid

Behandelfase	Inhaalgroei	Onderhoud	Puberteit	Transitie
Behandeldoel	Maximaliseren van lengte	Handhaven groei	Optimaliseren eindlengte	In stand houden van botkwaliteit en lichaamssamenstelling
IGF-1-SD-score	+2- tot +3SD	-1- tot +1SD, tenzij groei onvoldoende, dan +2SD	+1- tot +2SD, +2- tot +3SD als kleine lengte persisteert	0- tot +1SD

\*Aangegeven wordt de gewenste IGF-1 SD score. Uit Park & Cohen 2004 (18)

Het is mijn persoonlijke mening dat het zeer wenselijk zou zijn een nieuwe referentiewaardenstudie op te zetten in Nederland, uitgaande van zowel kinderen als volwassenen van zowel Nederlandse als allochtone afkomst. Middels een goede methodenvergelijking kunnen de data, die met de Immulite verkregen worden, ook bruikbaar gemaakt worden voor de overige methoden. Wellicht kan naar analogie van het harmonisatiemodel dat voor de groeihormoonbepaling is toegepast (zie artikel van A. Ross, elders in dit nummer), zelfs tot volledige harmonisatie overgegaan worden van alle laboratoria, met één landelijke referentiewaarden curve.

#### Opmerking achteraf

Tijdens het verzamelen van de data die ten grondslag liggen aan dit overzicht, is de firma Nichols Diagnostics opgehouden te bestaan. Daarmee vervalt dus ook de bruikbaarheid van de curves die door Brabant et al. zijn geconstrueerd. Voor de volledigheid zijn deze data wel in dit overzicht gelaten, omdat veel laboratoria zijn overgegaan naar een andere methode en op zoek zijn geweest naar toepasbare referentiewaarden.

#### Literatuur

- Salmon WD, Jr., Daughaday WH. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med* 1957; 49: 825-36.
- Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD, Jr., Brande JL van den, Wyk JJ van. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature* 1972; 235: 107.
- Hintz RL, Rinderknecht E. Somatomedin-C shares the carboxy-terminal antigenic determinants with insulin-like growth factor-I. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 672-3.
- Ohlsson C, Sjogren K, Jansson JO, Isaksson OG. The relative importance of endocrine versus autocrine/paracrine insulin-like growth factor-I in the regulation of body growth. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 541-3.
- Sjogren K, Liu JL, Blad K, Skrtic S, Vidal O, Wallenius V et al. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 7088-92.
- Wallenius K, Sjogren K, Peng XD, Park S, Wallenius V, Liu JL et al. Liver-derived IGF-I regulates GH secretion at the pituitary level in mice. *Endocrinology* 2001; 142: 4762-70.
- Berelowitz M, Szabo M, Frohman LA, Firestone S, Chu L, Hintz RL. Somatomedin-C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary. *Science* 1981; 212: 1279-81.
- Clemmons DR. Insulin-like growth factor binding proteins and their role in controlling IGF actions. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997; 8: 45-62.
- Walenkamp MJ, Kamp HJ van der, Pereira AM, Kant SG, Duyvenvoorde HA van, Kruithof MF et al. A variable degree of intrauterine and postnatal growth retardation in a family with a missense mutation in the insulin-like growth factor I receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3062-70.
- Walenkamp MJ, Karperien M, Pereira AM, Hilhorst-Hofstee Y, Doorn J van, Chen JW et al. Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2855-64.
- Muinck Keizer-Schrama SM de. Consensus 'diagnostiek kleine lichaamslengte bij kinderen'. *Ned Tijdschr Geneesk* 1998; 142: 2519-25.
- Society GR. Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Growth Hormone (GH) Deficiency in Childhood and Adolescence: Summary Statement of the GH Research Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3990-3.
- Boquete HR, Sobrado PG, Fideleff HL, Sequera AM, Giaccio AV, Suarez MG et al. Evaluation of diagnostic accuracy of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 in growth hormone-deficient children and adults using ROC plot analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4702-4708.
- Clemmons DR. Quantitative measurement of IGF-I and its use in diagnosing and monitoring treatment of disorders of growth hormone secretion. *Endocr Dev* 2005; 9: 55-65.
- Stattin P, Bylund A, Rinaldi S, Biessy C, Dechaud H, Stenman UH et al. Plasma insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding proteins, and prostate cancer risk: a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1910-7.
- Kamp GA, Zwinderman AH, Doorn J van, Hackeng W, Frolich M, Schonau E et al. Biochemical markers of growth hormone (GH) sensitivity in children with idiopathic short stature: individual capacity of IGF-I generation after high-dose GH treatment determines the growth response to GH. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002; 57: 315-25.
- Park P, Cohen P. Insulin-like growth factor I (IGF-I) measurements in growth hormone (GH) therapy of idiopathic short stature (ISS). *Growth Horm IGF Res* 2005; 15 Suppl A: S13-S20.
- Park P, Cohen P. The role of insulin-like growth factor I monitoring in growth hormone- treated children. *Horm Res* 2004; 62 Suppl 1: 59-65.
- Lely AJ van der, Hutson RK, Trainer PJ, Besser GM, Barkan AL, Katznelson L et al. Long-term treatment of acromegaly with pegvisomant, a growth hormone receptor antagonist. *Lancet* 2001; 358: 1754-9.
- 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.
- Jenkins PJ. Cancers associated with acromegaly. *Neuroendocrinology* 2006; 83: 218-23.
- Jenkins PJ, Mukherjee A, Shalet SM. Does growth hormone cause cancer? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 64: 115-21.
- Rehnan AG, Egger M, Minder C, O'Dwyer ST, Shalet SM, Zwahlen M. IGF-I, IGF binding protein-3 and breast cancer risk: comparison of 3 meta-analyses. *Int J Cancer* 2005; 115: 1006-7.
- Rehnan AG, Zwahlen M, Minder C, O'Dwyer ST, Shalet SM, Egger M. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Lancet* 2004; 363: 1346-53.
- Rikken B, van Doorn J, Ringeling A, van den Brande JL, Massa G, Wit JM. Plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II and IGF-binding protein-3 in the evaluation of childhood growth hormone deficiency. *Horm Res* 1998; 50: 166-76.
- Bereket A, Turan S, Omar A, Berber M, Ozen A, Akbenlioglu C et al. Serum IGF-I and IGFBP-3 levels of Turkish children during childhood and adolescence: establishment of reference ranges with emphasis on puberty. *Horm Res* 2006; 65: 96-105.
- Cole TJ, Green PJ. Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood. *Stat Med* 1992; 11: 1305-19.
- Cole TJ. The LMS method for constructing normalized growth standards. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44: 45-60.
- Brabant G, von zur MA, 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.

30. Elmlinger MW, Kuhnel W, Weber MM, Ranke MB. Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 654-64.
31. 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.
32. Ranke MB, Feldt-Rasmussen U, Bang P, Baxter RC, Camacho-Hubner C, Clemmons DR et al. How should insulin-like growth factor I be measured? A consensus statement. *Horm Res* 2001; 55 Suppl 2: 106-9.
33. Ballieux BEPB. IGF-1 and IGF-BP3 reference values using LMS method. In: Dutch Growth Foundation, editor. *Growth Analyser 3. Application*. PO Box 23068, 3001 KB, Rotterdam, The Netherlands, 2006.
34. [www.dslabs.com/docs/techlit/core\\_literature/Igf\\_I\\_Nomogramgirls.Pdf](http://www.dslabs.com/docs/techlit/core_literature/Igf_I_Nomogramgirls.Pdf)

## Summary

*IGF-1 and IGF-BP3. Age dependent reference values and method differences. Ballieux BEPB. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 32-38.*

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) is the most important mediator of the biological actions of growth hormone (GH). More than 80% of IGF-1 is bound to IGF-binding protein 3 (IGF-BP3). The concentration of both proteins is strongly age-related with steep increase before and during puberty and a gradual decrease from 20 years of age until old age. This age dependency is a challenge for the establishment of reference values. For the correct clinical interpretation, SD scores are necessary for each age. Several studies have reported reference-value curves for both proteins. The differences between these studies are mostly explained by differences in calibration, although differences in the statistical approach and in the populations used may also be responsible for the observed differences.

*Keywords: IGF-1; IGF-BP3; reference values; LMS method*

*Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 38-42*

## Gemeten en berekend vrij testosteron

H.A. ROSS

Meet- en berekeningsmethoden voor serum-vrij-testosteron worden in het kort besproken, waarbij de conclusie getrokken wordt, dat indien over betrouwbare testosteron- en SHBG-bepalingen kan worden beschikt, het voor routinedoeleinden beter is om vrij testosteron te berekenen, dan met een commerciële immunoassay te werken. Vanzelfsprekend hangt de kwaliteit van het resultaat af van de kwaliteit van de hierbij gebruikte totaaltestosteron- en SHBG-bepalingen. Voor de desondanks bestaande verschillen is een rekenprogramma gedistribueerd waarbij gepoogd wordt het effect van deze verschillen te verkleinen. Vanwege de twijfelachtige kwaliteit van de meeste testosteronimmunoassays in het lage concentratiegebied, moet routinematig meten bij vrouwen voornamelijk afgeraden worden.

De waarde van de toepassing van gemeten of berekend vrij testosteron voor de detectie van hypoandrogenisme bij de oudere man hangt af van het feit of hier van een relevante klinische entiteit sprake is.

*Trefwoorden: testosteron*

De relatie tussen totaal en vrij testosteron (Te en FTe) wordt volgens de wet van de massawerking bepaald

---

*Universitair Medisch Centrum Nijmegen St Radboud, Afd. Chemische Endocrinologie.*

Correspondentie: dr. H.A. Ross, 479 Afd. Chemische Endocrinologie, UMC St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen  
E-mail: a.ross@ace.umcn.nl

door concentratie en affiniteit van de belangrijkste testosteronbindende eiwitten in serum, sexhormoonbindend globuline (SHBG) en albumine. Ook wordt Te door CBG gebonden, maar dit is kwantitatief van weinig belang. In 1981 publiceerden Dunn en Nisula (1) een uitgebreide simulatiestudie waarin de verdeling van de 21 belangrijkste natuurlijk in serum voorkomende steroïden over de bindende eiwitten CBG, SHBG en albumine werd beschreven. Hoewel de berekeningen in deze studie gebaseerd waren op schattingen van evenwichtsconstanten, die veelal niet onder werkelijk fysiologische omstandigheden waren gemeten, komt toch een globaal goed hanteerbaar geheel naar voren. Wanneer concentratie en affiniteit van de bindende eiwitten, alsmede de totale testosteronconcentratie bekend zijn, moet het vrije testosteron m.b.v. een uit de wet van de massawerking afgeleide formule te berekenen zijn. Vermeulen, Södergard en Emadi-Konjin (2-4) gebruikten allen in feite dezelfde, hierop gebaseerde formule, alleen met gebruik van verschillende schattingen van de betreffende evenwichtsconstanten.

### Meting van FTe

Om berekend en gemeten FTe te kunnen vergelijken moeten zowel de meting als de gebruikte waarden voor de evenwichtsconstanten juist zijn. Meetmethoden (exclusief directe immunoassays) voor vrij Te zijn samengevat in tabel 1. Hierbij moet opgemerkt worden, dat 'evenwichtsdiagnose' of 'ultrafiltratie' niet zonder meer garant staat voor een betrouwbare meting. Bij evenwichtsdiagnose is men er zich vaak niet