

**Variabilität der Konzentration von IGF-I:
Einfluss auf die Aussagekraft der Messung
von IGF-I als biochemischer Marker der
Krankheitsaktivität bei Patienten mit
Akromegalie**

Miriam Stützel

Ludwig-Maximilians-Universität, München

2009

**Aus der Medizinischen Klinik- Innenstadt
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Vorstand: Prof. Dr. M Reincke

**Variabilität der Konzentration von IGF-I: Einfluss auf
die Aussagekraft der Messung von IGF-I als
biochemischer Marker der Krankheitsaktivität bei
Patienten mit Akromegalie**

**Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**Vorgelegt von
Miriam Stützel
aus Schorndorf**

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. J. Schopohl

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Detlef Kunze

Prof. Dr. Matthias F.Bauer

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. M. Bidlingmaier

Dekan: Prof. Dr. Dr.h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 08.10.2009

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	7
Abbildungsverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	9
1 Einleitung.....	11
1.1 Forschungsvorhaben: IGF-I als biochemischer Marker für Akromegalie?.....	11
1.2 Komponenten der somatotropen Achse.....	12
1.2.1 Humanes Wachstumshormon	12
1.2.1.1 Biologische Wirkungen von Wachstumshormon	13
1.2.2 IGF-I	14
1.2.2.1 Biologische Wirkungen von IGF-I	15
1.2.3 Schematische Darstellung des GH-IGF-Regelkreises	17
1.2.4 IGFBP-3.....	18
1.2.5 Krankheitsbild der Akromegalie.....	19
1.2.5.1 Klinik der Akromegalie	19
1.2.5.2 Diagnostik.....	20
1.2.5.3 Therapie	21
1.3 Messverfahren für Eiweißhormone	22
1.3.1 Kompetitiver Immunoassay.....	22
1.3.2 Immunometrischer Assay	22
1.3.3 Spezifische Probleme der Messung von IGF-I.....	23
1.4 Einflussgrößen und Störfaktoren	24
1.4.1 Einflussgrößen	24
1.4.2 Störfaktoren	25
1.5 Bedeutung der Untersuchung: Stellenwert der Messung von IGF-I	25
2 Zielsetzung.....	27
3 Patienten, Material und Methoden	29
3.1 Studienteilnehmer	29
3.1.1 Gesunde Probanden	29
3.1.2 Patientengruppen	30
3.2 Studienprotokoll	31

3.2.1	Patienten/ Probandensuche	31
3.2.2	Patienten/ Probandeninformation und Einverständniserklärung	32
3.2.3	Risiken und Maßnahmen	33
3.2.4	Studiendesign.....	33
3.3	Labormessungen/Assaymethoden	35
3.3.1	Probensammlung	35
3.3.2	Untersuchungsparameter	35
3.3.2.1	Messungen von hGH	36
3.3.2.2	Messungen von IGF-I.....	36
3.3.2.3	Messungen von IGFBP-3	37
3.3.2.4	Messungen des Blutzuckers.....	37
3.3.3	Erhebung anthropometrischer und anamnestischer Angaben.....	37
3.4	Statistik	40
4	Ergebnisse.....	42
4.1	Tagesprofil bei Gesunden und Patienten mit Akromegalie	43
4.2	Jahresprofil von IGF-I bei gesunden Probanden	45
4.2.1	Jahresprofil IGF-I nach Geschlecht bei gesunden Probanden.....	46
4.2.2	Jahresprofil IGF-I nach Altersgruppen bei gesunden Probanden.....	48
4.2.3	Jahresprofil IGF-I nach Altersgruppen und Geschlecht	50
4.2.4	IGF-I im Jahresprofil, gegliedert in Sommer und Winter	52
4.2.4.1	IGF-I nach Geschlecht, gegliedert in Sommer und Winter	54
4.2.4.2	IGF-I nach Alter, gegliedert in Sommer und Winter.....	54
4.3	Jahresprofil von IGFBP-3	55
4.3.1	Jahresprofil IGFBP-3 nach Geschlecht bei gesunden Probanden	56
4.3.2	Jahresprofil IGFBP-3 nach Altersgruppen bei gesunden Probanden	58
4.3.3	IGFBP-3 im Jahresprofil, gegliedert nach Jahreszeiten.....	60
4.3.3.1	IGFBP-3 nach Alter, gegliedert in Sommer und Winter	62
4.3.3.2	IGFBP-3 nach Geschlecht, gegliedert in Sommer und Winter.....	63
4.4	OGTT bei Gesunden und bei Patienten mit Akromegalie oder PCO- Syndrom.....	64
4.4.1	IGF-I beim OGTT.....	64
4.4.2	Blutzucker und HOMA.....	66
4.4.3	Blutzucker beim OGTT	67

4.4.4	IGF-I und Blutzucker beim OGTT	67
4.4.4.1	IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Gesunde)	68
4.4.4.2	IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Akromegale).....	68
4.4.4.3	IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Frauen mit PCO)	69
4.4.4.4	Korrelation IGF-I und Blutzucker	70
4.4.4.5	IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Akromegale nach Geschlecht)	71
4.5	Resümee der Profile.....	74
4.6	IGF-I und BMI.....	76
4.7	IGF-I und Kontrazeptiva.....	77
4.8	IGF-I und Nikotinkonsum	77
5	Diskussion	79
5.1	Fragestellung der Arbeit	79
5.2	Methodische Limitationen der Studien.....	81
5.3	Diskussion der eigenen Ergebnisse	84
5.3.1	Tagesprofil	84
5.3.2	Jahresprofil	85
5.3.3	OGTT.....	88
5.3.3.1	OGTT und Blutzucker:	89
5.3.3.2	OGTT und Glukosetoleranzstörung	90
5.3.4	IGF-I und Alter	90
5.3.5	IGF-I und Pille	91
5.3.6	IGF-I und BMI.....	92
5.3.7	IGF-I und Rauchen	93
6	Zusammenfassung	95
	Literaturverzeichnis	97
	Anhang	108
	Danksagung.....	118
	Lebenslauf	119

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Biometrische Daten und Geschlecht der drei Kollektive	42
Tabelle 2. Varianzanalyse IGF-I im Tagesprofil (n=28).....	45
Tabelle 3. Varianzanalyse IGF-I im Jahresprofil nach Geschlecht (n=14).....	48
Tabelle 4. Varianzanalyse IGF-I im Jahresprofil nach Altersgruppen (n=14).....	50
Tabelle 5. IGF-I, Altersgruppen, Geschlecht und Jahreszeiten (n=14).....	53
Tabelle 6. Varianzanalyse IGF-I nach Jahreszeit und Geschlecht (n=14)	54
Tabelle 7. Varianzanalyse IGF-I nach Jahreszeit und Alter (n=14).....	55
Tabelle 8. Varianzanalyse IGFBP-3 im Jahresprofil nach Geschlecht (n=14).....	58
Tabelle 9. Varianzanalyse IGFBP-3 im Jahresprofil nach Altersgruppen (n=14)	60
Tabelle 10. IGFBP-3, Altersgruppen, Geschlecht und Jahreszeiten (n=14)	62
Tabelle 11. Varianzanalyse IGFBP-3 nach Altersgruppen und Jahreszeit (n=14).....	62
Tabelle 12. Varianzanalyse IGFBP-3 nach Geschlecht und Jahreszeit (n=14).....	63
Tabelle 13. MW-Differenzen IGF-I im OGTT, Vergleich Nüchternwert (n=57).....	65
Tabelle 14. MW-Differenzen IGF-I im OGTT, Vergleich zu vorangehendem Wert	66
Tabelle 15. HOMA-Index der 3 Kollektive (n=57).....	67
Tabelle 16. Mittelwertsvergleich IGF-I im OGTT bei Männern und Frauen	74
Tabelle 17. BMI in den verschiedenen Kollektiven	76
Tabelle 18. Kontrazeptiva und IGF-I	77
Tabelle 19. Rauchen und IGF-I	78

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Schematische Darstellung des GH-IGF-Regelkreises.....	17
Abbildung 2. IGF-I im Tagesprofil(MW und SF, n=28).....	44
Abbildung 3. IGF-I im Jahresprofil (MW und SF, n=14).....	46
Abbildung 4. Jahresprofil IGF-I nach Geschlecht (MW und SF, n=14).....	47
Abbildung 5. Jahresprofil IGF-I nach Altersgruppen (MW und SF, n=14).....	49
Abbildung 6. Jahresprofil IGF-I bei Männern, altersabhängig (MW und SF, n=7).....	51
Abbildung 7. Jahresprofil IGF-I bei Frauen, altersabhängig (MW und SF, n=7).....	52
Abbildung 8. IGF-I in Abhängigkeit von den Jahreszeiten.....	53
Abbildung 9. IGFBP-3 im Jahresprofil (MW und SF, n=14).....	56
Abbildung 10. Jahresprofil IGFBP-3 nach Geschlecht (MW und SF, n=14).....	57
Abbildung 11. Jahresprofil IGFBP-3 nach Altersgruppen (MW und SF, n=14).....	59
Abbildung 12. IGFBP-3, Jahreszeiten und Geschlecht.....	61
Abbildung 13. IGF-I beim OGTT in den 3 Subkollektiven (MW und SF, n=57).....	64
Abbildung 14. IGF-I und BZ beim OGTT (Gesunde ,MW und SF, n=14).....	68
Abbildung 15. IGF-I und BZ beim OGTT (Akromegale, MW und SF, n=14).....	69
Abbildung 16. IGF-I und BZ beim OGTT (PCO, MW und SF, n=29).....	70
Abbildung 17. Korrelation von IGF-I und Blutzucker beim OGTT.....	71
Abbildung 18. IGF-I und BZ beim OGTT (akromegale Männer,MW und SF,n=7).....	72
Abbildung 19. IGF-I und BZ beim OGTT (akromegale Frauen,MW und SF,n=7).....	73

Abkürzungsverzeichnis

Ag	Antigen
Ak	Antikörper
ALS	Acid labile Subunit (Säurelabile Untereinheit)
BMI	Body Mass Index
BZ	Blutzucker
CI	Confidential Interval (Konfidenzintervall)
CO₂	Kohlendioxid
Cps	Counts per second
DNA	Desoxyribonucleidacid (Desoxyribonucleinsäure)
RNA	Ribonucleidacid (Ribonucleinsäure)
GHD	Growth Hormone Deficiency (Wachstumshormon-Mangel)
GH-RH	Growth Hormone Releasing Hormone
hGH	human Growth Hormone (humanes Wachstumshormon)
hGH-N	human Growth Hormone-Norm (humanes hypophysäres Wachstumshormon)
hGH-V	human Growth Hormone-Variant (humanes plazentares Wachstumshormon)
hGHBP	human Growth Hormone binding protein (humanes Wachstumshormon-Bindungsprotein)
hGHR	human Growth Hormone Receptor (humanes Wachstumshormon-Rezeptor)
HHA	Hypothalamus-Hypophysenachse
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HVL	Hypophysenvorderlappen
IRMA	Immunradiometrischer Assay
IGF-I	insulin-like growth factor I (insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I)
IGFBP-3	insulin-like growth factor binding protein (insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor-Bindungsprotein)

LLN	Lower Limit of Normal (5. Perzentile)
Max	Maximum
Min	Minimum
MRT	Magnetresonanztomographie
MTA	Medizinisch Technische Assistentin
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
OGTT	Oraler Glukose Toleranz Test
p	(Wahrscheinlichkeit)
PC	Personal Computer
PCO	Polycistic ovary (Polyzystisches Ovar)
PMT	Photoverstärker
RIA	Radioimmunoassay
SD	Standarddeviation (Standardabweichung)
SE	Standarderror (Standardfehler)
SF	Standardfehler
SMS	Somatostatinanaloga
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
Std	Standard
STH	Somatotropes Hormon (= hGH)
ULN	Upper Limit of Normal (95. Perzentile)
WHO	World Health Organisation

1 Einleitung

1.1 Forschungsvorhaben: IGF-I als biochemischer Marker für Akromegalie?

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Variabilität der Serumkonzentration des insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor I (Insulin-like growth factor-I, IGF-I). Es wird untersucht, inwiefern die Konzentration von IGF-I durch verschiedene Faktoren wie zum Beispiel Alter, Geschlecht oder kurzfristige Glukosezufuhr beeinflusst wird. Zum anderen wird erforscht, ob IGF-I einer intra-individuellen Schwankung über den Tag bzw. das Jahr unterliegt. Mit dieser Erhebung soll die Aussagekraft von IGF-I-Werten als biochemischer Marker für die Krankheitsaktivität bei Patienten mit Akromegalie überprüft werden.

Traditionell wurde die Krankheitsaktivität von Patienten mit Akromegalie hauptsächlich durch die Messung von Wachstumshormon (human Growth Hormon, hGH) selbst, insbesondere mittels hGH-Suppression durch Glucosegabe, kontrolliert. Hierbei galt eine Suppression von hGH unter einen Wert von 2.5 µg/L nach Gabe von 75 g Glucose (sogenannter oraler Glukose-Toleranz-Test, OGTT) als gesund oder – bei akromegalen Patienten – als „sicher“. Bedingt durch neuere, sensitivere Messverfahren wurden neuerdings auch niedrigere cut-off-Werte von unter 1.0 bis unter 0.3 µg/L festgelegt (Barkan, 2004; Ferone et al., 2004; Freda et al., 2003).

Seit einiger Zeit wird jedoch zunehmend die Erhebung von IGF-I-Werten zur Ermittlung und Kontrolle des Krankheitsbildes eingesetzt.

IGF-I vermittelt die meisten der physiologischen Wirkungen von hGH. Im Gegensatz zu hGH hat IGF-I eine deutlich längere Halbwertszeit. Zudem ist die Sekretion von IGF-I nicht wie die hypophysäre hGH-Sekretion pulsatil, sondern eher tonisch. Daher wird die Messung des von IGF-I in der endokrinologischen Diagnostik häufig zur indirekten Beurteilung der hypophysären Sekretion von hGH herangezogen (Chandrashekar und Bartke, 2003; Strasburger und Bidlingmaier, 2005). Dies ist insbesondere bei Diagnostik und Verlaufskontrolle der Akromegalie, welche von permanentem hGH-Exzess, meist durch hGH-produzierende Adenome der Hypophyse geprägt ist, sowie des hGH-Mangels von Bedeutung. Der dauerhafte hGH-Exzess bei akromegalen Patienten führt zu dauerhaft

erhöhten Konzentrationen von IGF-I. Im Gegensatz dazu führt der hGH-Mangel bei hypophyseninsuffizienten Patienten zu erniedrigten IGF-I-Spiegeln.

Auf Grund dieses unmittelbaren Zusammenhangs zwischen Wachstumshormon und IGF-I, mit der Entwicklung von sensitiveren und spezifischeren Bestimmungsverfahren für IGF-I und damit der Verbesserung der Messungen und mit der Einführung des Wachstumshormon-Rezeptor-Antagonisten Pegvisomant in die Therapie der Akromegalie – in dessen Gegenwart die hGH-Messung keine Aussagekraft mehr hat - wird heutzutage verstärkt empfohlen, IGF-I als Richtwert für Diagnostik und Krankheitsverlauf heranzuziehen (Brabant, 2003; Thorner, 2004; von Werder, 2005).

1.2 Komponenten der somatotropen Achse

In Abhängigkeit von der hypophysären Sekretion von Wachstumshormon (hGH) wird in peripheren Zellen – hauptsächlich in der Leber – IGF-I gebildet. Diese beiden Faktoren zählen zu den wichtigsten Triebkräften, die somatisches Wachstum und Skelettwachstum kontrollieren. Sie beeinflussen außerdem – wie unten beschrieben- sowohl agonistisch als auch antagonistisch zahlreiche Stoffwechselprozesse und spielen somit eine große Rolle bei der Regulierung des Energiehaushaltes im menschlichen Körper, die wiederum für Wachstum und Entwicklung unentbehrlich ist (Timsit et al., 1992; Jehle et al., 1998), (Ueland, 2005; Kimbrough et al., 1991).

Auf Stimulation der Zelle durch hGH und IGF-I wird ein Netzwerk von Kinasen in Gang gesetzt, die die biologische Antwort vermitteln und diese über parakrine und autokrine Wirkmechanismen weitergeben (Sabharwal und Varma, 1996).

1.2.1 Humanes Wachstumshormon

Das humane Wachstumshormon (hGH), auch Somatotropes Hormon (STH) genannt, ist ein Polypeptid aus 191 Aminosäuren und wird im Hypophysenvorderlappen gebildet. Der Mensch verfügt über zwei Gene für das Wachstumshormon: hGH-N und hGH-V. Das Genprodukt für hGH-V wird in der Plazenta, hGH-N in der Hypophyse exprimiert. Beide liegen auf Chromosom 17.

Die Regulation der Bildung und Freisetzung von GH geschieht hauptsächlich über die beiden Hypothalamushormone GHRH (Growth Hormon Releasing Hormon) und Somatostatin (Jones et al., 1995; Miyachi et al., 1993). Von der Adenohypophyse aus wird hGH in einem zirkadianen Rhythmus in den Blutkreislauf abgegeben. 2/3 der pulsatilen Sekretion finden in der Schlafperiode statt. Die biologische Wirkung des hGH wird über den hGH-Rezeptor vermittelt. Eine verkürzte Form dieses Rezeptors, das so genannte GH-Bindungsprotein (GHBP) zirkuliert zusätzlich im Blut und verlängert die Halbwertszeit von hGH, welche ca. 15-20 Minuten beträgt. Die vielfältigen Wirkungen des somatotropen Hormons auf den Organismus betreffen sowohl anabole, wachstumsfördernde als auch metabolische Effekte (Wüster et al. 2001, Jaffe et al., 2002; Shetty und Duthie, 1995).

1.2.1.1 Biologische Wirkungen von Wachstumshormon:

Das Wachstumshormon stellt gemeinsam mit IGF-I den wichtigsten hormonellen Botenstoff für die Entwicklung des Knochenlängenwachstums dar. Tierversuche und die Behandlung von Wachstumshormon-defizienten Patienten haben gezeigt, dass die Einnahme von Wachstumshormon eine Proliferation von Chondrozyten, Osteoblasten und Osteoklasten bewirkt und somit das longitudinale Knochenwachstum stimuliert (Biermasz et al., 2005; Weiss et al., 2002). Des Weiteren sind vielfältige Wirkungen auf den Stoffwechsel zu vermerken. Anders als bei den proliferativen Effekten sind diese Wirkungen nicht über IGF-I vermittelt, sondern durch das hGH-Molekül selbst induziert. Es beeinflusst den Fettstoffwechsel durch Stimulation der Lipolyse, der Ketogenese, der Synthese der freien Fettsäuren und durch Modulation der Cholesterin-Synthese (Zuliani et al., 1989).

Auf den Kohlehydratstoffwechsel hat hGH zwei unterschiedliche Effekte: einen insulin-ähnlichen und einen insulin-antagonistischen. Sie sind abhängig von der Dauer der Einwirkung. Kurzfristige Erhöhung des Hormons bewirkt eine vermehrte Glukoseaufnahme in der Zelle und eine Anregung der Gluconeogenese (insulin-ähnlich), während langfristig die Aufnahme von Glucose gehemmt wird und eine verstärkte hepatische Glykogenolyse und Induktion von Insulinresistenz eine diabetogene Wirkung zur Folge hat (insulin-antagonistisch) (Rose und Clemmons, 2002).

Die Proteinsynthese im Skelettmuskel wird gesteigert und die Größe von Skelettmuskelfasern und Muskelmasse nehmen zu. Den gleichen Effekt kann man ebenso

am Herzmuskel beobachten, dessen Ventrikelwand sich unter Einfluss von hGH verstärkt. Zudem sind die stimulierende Wirkung auf die Herzfunktion und das Herz-Kreislauf-System insgesamt, sowie das Immunsystem und die Inhibition des programmierten Zelltodes hervorzuheben (Florini et al., 1996; Lombardi et al., 1997). Außerdem stimuliert hGH die Synthese und Freisetzung von IGF-I und dessen wichtigsten Bindungsproteinen, IGFBP-3 und ALS, welche im Blut zirkulieren.

Die zusätzliche Synthese von IGF-I und IGFBP-3 in Tumorzellen, Niere und Plazenta ist hGH-unabhängig (Mauras und Haymond, 2005; Weiss et al., 2002; Rose und Clemmons, 2002; Ho et al., 1996).

1.2.2 IGF-I

Der insulinähnliche Wachstumsfaktor I (Insulin-like Growth Factor- 1, IGF-I), früher auch Somatomedin C genannt ist ein Polypeptid aus 70 Aminosäuren mit einem Gesamtgewicht von 7600 Dalton, dessen Struktur Ähnlichkeiten mit dem Proinsulin aufweist und auf Chromosom 12 transkribiert wird. Es wird als peripherer Mediator des hypothalamisch-hypophysären Regelkreises in Abhängigkeit von hGH sowohl in der Leber und in Muskelzellen, aber auch in der Hypophyse, Hypophysenadenomen und einer Vielzahl von anderen Geweben gebildet und mit autokriner und parakriner Wirkung sezerniert (Jaffe et al., 2001; Frost und Lang, 2003). Neben hGH werden auch der Einfluss von Thyreoid- und andere Steroidhormone als Mediator der IGF-I Produktion angenommen (Pollak et al., 1992). Im Blut kommt es nur in geringen Maße in freier Form vor, meistens ist es an die Bindungsproteine 1 bis 6 (IGFBP 1 bis 6) gekoppelt, deren Bindung entscheidend für die Wirkung des Serum-IGF-I ist (Klauwer D, 1997). Das hauptsächliche Trägerprotein ist das IGFBP-3, welches die Halbwertszeit von IGF-I im Blut verlängert und dessen biologische Wirkung in vitro erhöht (Van Doorn et al., 1999).

Die Signalübertragung erfolgt über den IGF-I Rezeptor und die Aktivierung einer Kaskade von Kinasen und Proteinen. Dieser Rezeptor bindet mit hoher Affinität IGF-I und ist für das longitudinale Knochenwachstum von großer Bedeutung (Baserga et al., 1997).

Entgegen der klassischen Somatomedin-Hypothese, nachdem die hypophysäre Wirkung auf das Knochenwachstum über das in der Leber produzierte IGF-I reguliert wird, gilt heutzutage autokrin und parakrin gebildetes IGF-I als entscheidender Faktor des

postnatalen Wachstums (Le Roith et al., 2001). Das in der Leber gebildete IGF-I zirkuliert im Blut und übt negative Rückkopplung auf die hGH-Sekretion in der Hypophyse aus (Daughaday, 2000). Dieser Serum-Pool spielt bei der IGF-vermittelten Wirkung auf verschiedene Stoffwechselprozesse eine wichtige Rolle (Coulson et al., 1991; Clemmons, 2004).

1.2.2.1 Biologische Wirkungen von IGF-I

IGF-I wirkt als starkes Mitogen für normale und abnormale Zellen. Durch seine Aktivität wird die Proliferationsneigung erhöht und die Apoptoserate verringert.

Unter aktiver Stimulation mittels IGF-I kann sowohl eine zunehmende DNA/RNA-Synthese und die Verbesserung der Erythropoese beobachtet werden, als auch eine Verstärkung der zellulären Differenzierung und des Ionenflusses in der Zelle (Le Roith, 1996). Der Wachstumsfaktor reguliert in Verbindung mit dem Wachstumshormon Prozesse des Knochenstoffwechsels wie Entwicklung, Remodeling und Heilung. Er vermittelt die osteoinduktive Wirkung mechanischen Stresses auf die Knochenstruktur und stimuliert Zellteilung und Matrixsynthese in Knorpel- Knochen- Sehnen- und Muskelzellen. Weiterhin übt IGF-I durch seine Wirkung auf Chondrozyten der Wachstumsfuge einen regulierenden Effekt auf die enchondrale Ossifikation aus. Anzunehmen ist, dass der Wachstumsfaktor diesen Vorgang auch während der Frakturheilung beeinflusst (Yakar et al., 2002). IGF-I vermittelt systemische Effekte von Hormonen und besitzt mehrfache insulinähnliche Eigenschaften, wie zum Beispiel die Stimulation der Lipolyse, der zellulären Glukoseaufnahme und des Kohlenhydratstoffwechsel. Außerdem kann unter Einfluss von IGF-I auch eine Zunahme des renalen Blutflusses, der glomerulären Filtrationsrate und der Kreatinin-Clearance, sowie der gesamten Nierengröße beobachtet werden (Hirschberg und Kopple, 1989). Des Weiteren ist er an der Immunmodulation im Thymus beteiligt (Sabharwal und Varma, 1996). Es werden jedoch nicht nur proliferative Wirkungen des Faktors beschrieben, sondern auch inhibitorische: Zum einen hemmt IGF-I durch einen Feedback-Mechanismus die Synthese und Sekretion von Wachstumshormon in der Hypophyse (Daughaday, 2000; Chen et al., 2005). Zum anderen supprimiert es die Sekretion von Insulin und C-Peptid-Sekretion (Plockinger et al., 1993; Breidert et al., 1995).

IGF-I scheint außerdem in Zusammenhang mit Karzinomen eine Rolle zu spielen. In den vergangenen Jahren wurde in mehreren großen Studien gezeigt, dass es eine deutliche Assoziation gibt zwischen der Höhe der IGF-I-Spiegel und der Inzidenz bestimmter Tumoren (insbesondere Mamma- und Colonkarzinome) (Le Roith, 1996; Pollak et al., 1992).

1.2.3 Schematische Darstellung des GH-IGF-Regelkreises

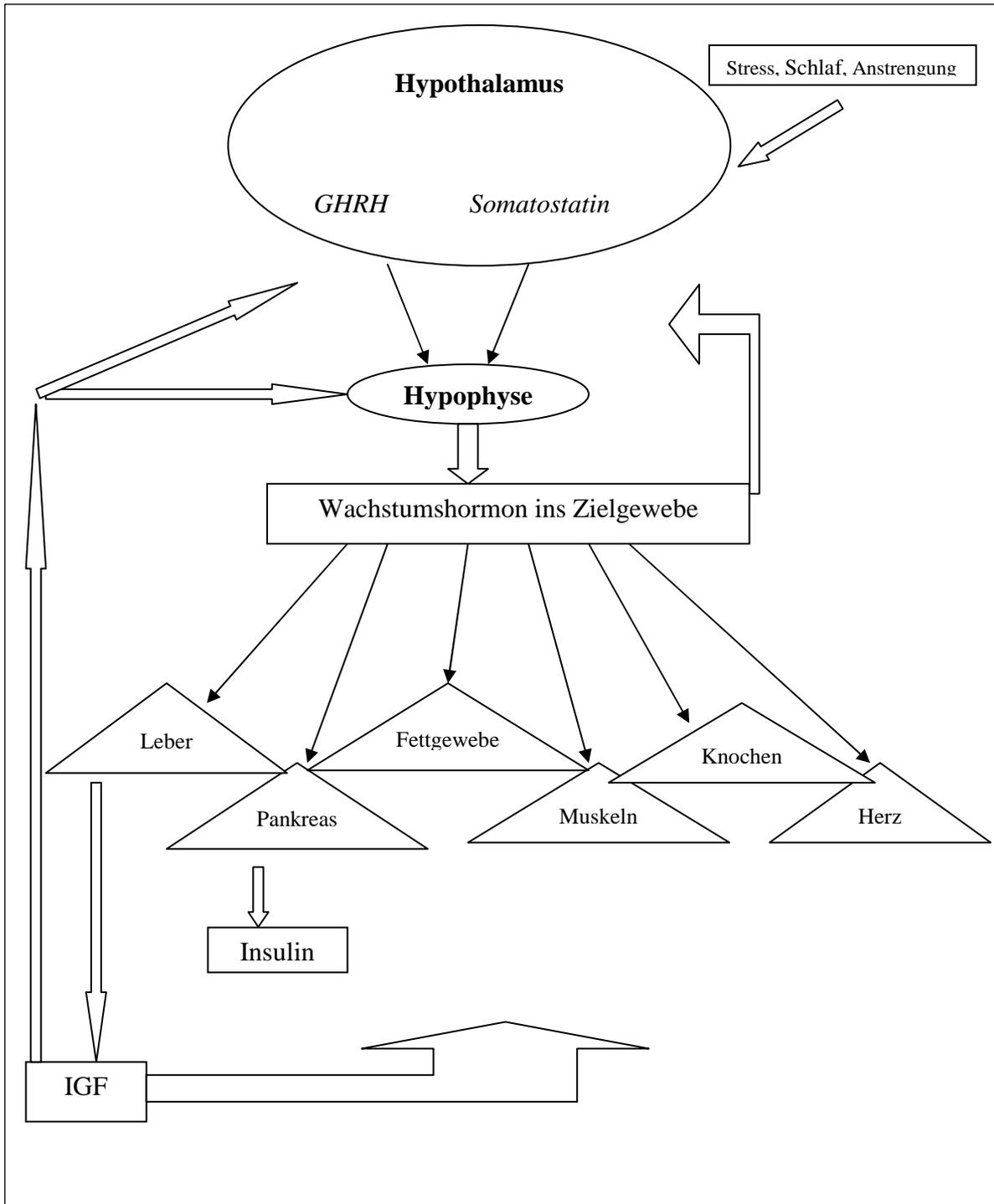


Abbildung 1. Schematische Darstellung des GH-IGF-Regelkreises

Der Hypothalamus bildet unter anderem die beiden Hormone Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) und Somatostatin. Durch GHRH wird die Freisetzung von hGH aus der vorderen Hypophyse stimuliert, durch Somatostatin wird sie gehemmt.

Größtenteils gekoppelt an ein Bindungsprotein (hGH-BP), zirkuliert hGH im Kreislauf und bindet an spezifischen Rezeptoren der Leberzellen. Diese Interaktion mit den Rezeptoren aktiviert innerhalb der Zelle die Synthese von IGF-I und IGF-I-Bindungs-Protein 3 (IGFBP-3), welches das wichtigste Transportprotein von IGF-I darstellt. Ein weiteres Transportprotein, die säurelabile Untereinheit (Acid Labile Subunit, ALS), bildet mit IGF-I und IGFBP-3 einen Dreierkomplex (150kD), durch den IGF-I zu seinen Zielzellen transportiert wird. Durch die Übertragung von IGF-I auf membranständige Rezeptoren (IGF-R) wird eine Kaskade intrazellulärer Reaktionen ausgelöst, die für Teilung und Reifung der Zellen verantwortlich sind. Weiterhin regt hGH durch zusätzliche direkte Bindung an Rezeptoren auf Zielzellen die lokale Bildung von IGF-I in diesen an.

1.2.4 IGFBP-3

Der im Blut zirkulierende IGF-I ist zu 90 Prozent an eines von sechs verschiedenen IGF-Bindungsproteinen (IGFBP 1-6) gebunden, die in Serum und Zellen in unterschiedlichen Konzentrationen vorkommen. IGFBP-3 ist das bedeutendste und am besten untersuchte Bindungsprotein für IGF-I. IGF-I und IGFBP-3 liegen als ein tertiärer Komplex von 140 kD mit einem weiteren Protein, der Säurelabilen Untereinheit (acid-labile subunit, ALS) vor (Van Doorn et al., 2001). Durch diese Bindung hat IGF-I eine längere Verweildauer im Blut. Da es als Komplex die Gefäßmembran nicht durchdringen kann, wird seine Halbwertszeit auf 12-16 Stunden verlängert. Dagegen haben die zirka 20%, die an einen kleineren Komplex von 40-50 kD gebunden sind, der die Gefäßmembran durchdringen kann, lediglich eine Halbwertszeit von etwa 30 Minuten. Die Verbindung von IGF-I mit IGFBP-3 und ALS erfüllt somit die Funktion eines zirkulierenden IGF-Speichers (Boisclair et al., 2001). Um die Gefäßmembran zu passieren und an seinen Rezeptor gebunden werden zu können, muss IGF-I durch spezifische Proteasen aus dem tertiären Komplex abgespalten werden (Fukuda et al., 2002). Diese Proteolyse ist in katabolen Situationen wie bei einer malignen Tumorerkrankung, aber auch bei Schwangerschaft und Stoffwechselkrankheiten erhöht (Van Doorn et al., 2001).

Die Konzentration von IGFBP-3 im Blut steht in direktem Verhältnis mit der des IGF-I. Sie ist erhöht bei verstärkter Stimulation durch hGH, wie zum Beispiel bei der Akromegalie und erniedrigt durch Erkrankungen wie Leberzirrhose, Diabetes mellitus oder Unterernährung (Chen et al., 2004; Lewitt et al., 2000; Morrison et al., 2001).

Die Regulation des IGFBP-3-Spiegels findet durch das Wachstumshormon und die Konzentration von zirkulierendem IGF-I statt. Die Messung von IGFBP-3 ist somit ein weiterer nützlicher Marker bei der Diagnostik von Wachstumshormon-Mangel (Growth Hormon Deficiency, GHD) und Akromegalie (Owen und Roberts, 2005).

1.2.5 Krankheitsbild der Akromegalie

Die Akromegalie ist eine seltene Erkrankung. Sie entsteht im Rahmen eines somatotropen Adenoms des Hypophysenvorderlappens (HVL) mit vermehrter und unkontrollierter Produktion von Wachstumshormon (hGH). Die Inzidenz liegt bei etwa 4-5 Erkrankungen/Million/ Jahr, die Prävalenz bei 40-70 Patienten pro eine Million Einwohner und die Verteilung auf beide Geschlechter ist nahezu gleichmäßig (Guillemin et al., 1982). hGH-sezernierende Adenome stellen rund 20% aller Hypophysentumore dar (primäre Akromegalie). In weniger als 1% der Fälle wird eine sekundäre Akromegalie beschrieben. Hier ist die vermehrte Wachstumshormon-Sekretion Folge einer übermäßigen Produktion von Growth Hormon Releasing Hormon (GHRH) durch einen Tumor des Hypothalamus oder aber ektop durch andere Tumoren, die zu einer Hyperplasie der Wachstumshormon-produzierenden Zellen in der Hypophyse führen (von Werder et al., 1985; Barkan et al., 1988b). Aufgrund der Seltenheit der Krankheit und der zunächst diskreten äußerlichen Veränderungen kommt es meist erst mehrere Jahre nach Beginn der Erkrankung zur Diagnosestellung und eine kurative Therapie ist oft nicht mehr möglich. Während die Akromegalie bei früher Diagnose gut behandelbar ist, führt sie unbehandelt – oder zu spät behandelt - zu einer schlechten Prognose mit hoher Ko-Morbidität und verkürzter Lebensdauer (Bengtsson et al., 1989; Katznelson, 2005).

1.2.5.1 Klinik der Akromegalie

Der auffälligste Effekt des Wachstumshormons ist gewiss die Stimulation des Knochenlängenwachstums. Manifestiert sich das Krankheitsbildes während des Heranwachsens und somit vor dem Schluss der Epiphysenfugen, entwickelt sich ein Hochwuchs (Gigantismus). Bleibt eine frühzeitige Diagnose und Behandlung aus, so können Menschen bis zu 2,70 m groß werden (De Herder, 2004). Nach dem Epiphysenfugenschluss ist ein Wachstum der langen Röhrenknochen nicht mehr möglich und es kommt infolge appositionellen Knochenwachstums vor allem im Bereich der Akren

zu äußerlichen Veränderungen (Ueland et al., 2002; Lieberman et al., 1992). Augenscheinlich wird dies nicht nur durch Größenzunahme von Händen, Füßen und Zunge, sondern auch durch charakteristische Veränderungen der Gesichtszüge, wie zum Beispiel der Verdickung der Mandibula und des Jochbogens, einer Protrusion der Augenbrauenwülste und der Verbreiterung von Kinn und Nase. Durch den hGH-Überschuss werden sowohl anabole, als auch katabole Wirkungen des Wachstumshormons verstärkt. Neben dem äußerlichen Umbau finden sich auch an inneren Organen vielfältige Verwandlungen. Die klinischen Erscheinungen erstrecken sich von Größenzunahmen des Herzens, der Leber, des Darms und anderen Organen über Veränderungen von Haut, Haarfollikeln und Schweißdrüsen bis hin zu Erkrankungen des Nervensystems (Baumann, 1987; Braham et al., 2002). Abhängig von der Größe verursacht das somatotrope Hypophysenadenom auch lokale Komplikationen wie Sehstörungen, Kopfschmerzen und Störungen der Sensibilität aufgrund der Kompression benachbarter Strukturen. Bei zusätzlicher Verdrängung von endokrin aktiven Zellen der Hypophyse, kann der Tumor Regulationsstörungen anderer Hypophysenachsen zur Folge haben. Beispiele hierfür sind Zyklusstörungen, Amenorrhoe, sekundärer Hypogonadismus und Hyperprolaktinämie (Katznelson, 2005). Weitere Folgeerkrankungen der Akromegalie sind arterieller Hypertonus, Herzerkrankungen, Niereninsuffizienz, Gelenkserkrankungen und Stoffwechselstörungen wie eine gestörte Glukosetoleranz und ein Insulin-resistenter Diabetes mellitus. Die Lebenserwartung kann sich infolgedessen um zirka 10 Jahre reduzieren (Colao et al., 2004; Bondanelli et al., 2005).

1.2.5.2 Diagnostik

Die Diagnosesicherung erfolgt über den Nachweis einer ungenügenden Supprimierbarkeit der Sekretion von hGH durch einen oralen Glukose-Toleranz-Test. (OGTT). Im Februar 1999 wurden auf einer internationalen Consensus Konferenz in Cortina d'Ampezzo (Italien) neue Kriterien für die Einschätzung einer erfolgreichen Therapie einer Akromegalie definiert. Demnach gilt ein hGH Suppression auf $<1,0 \mu\text{g/L}$ im OGTT nach einer Gabe von 75g Glukose als gesund bzw. „kontrolliert“ (von Werder, 2005). Die Bestimmung des hGH-abhängigen insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor IGF-I dient zusätzlich als Screening-Test und gewinnt mit der Entwicklung von sensitiven und spezifischen Bestimmungsverfahren für IGF-I immer mehr an Bedeutung (Barkan, 2004; Clemmons, 2004). Die konventionelle Röntgenaufnahme des Schädels, die bei

ausgedehnten Tumoren knöcherne Veränderungen im Bereich der Sella turcica, des Sinus frontalis und anderen Bereiche des Schädelknochens zeigen kann, wurde durch die wesentlich sensitivere Magnetresonanztomographie (MRT) abgelöst (Katznelson, 2005).

1.2.5.3 Therapie

Bisher stehen der Medizin drei maßgebliche Therapieformen zur Verfügung: die transspheoidale Adenektomie, die Strahlentherapie und die medikamentöse Behandlung. Obwohl die Therapiemöglichkeit in erster Wahl die transspheoidale selektive Ektomie des Hypophysenadenoms ist (Fahlbusch et al., 2005), benötigen immer noch 50-60% der Adenome eine weitere Behandlung mittels Strahlentherapie und/ oder Medikation. Die Bestrahlung ist weiterhin sekundäre Therapie-Option. Nachteile sind die Behandlungsdauer über einen längeren Zeitraum, die Beschädigung gesunden Gewebes der Hypothalamus-Hypophysen-Achse (HHA) unter Einwirkung der Strahlung und die mangelnde Normalisierung des IGF-I-Spiegels (Resmini et al., 2005). Zusätzlich zur konventionellen Bestrahlung wird die „stereotaktische Radiochirurgie“ mittels eines Linearbeschleunigers oder einer Cobalt-Bestrahlungseinheit („Gamma-Knife“) verwendet, die eine effektive, gezielte Bestrahlung mit größtmöglicher Schonung des angrenzenden Gewebes darstellt (Ganz et al., 1993; Gutt et al., 2005). Auch die medikamentöse Therapie hat in der Behandlung der Akromegalie eine große Bedeutung. Die seit den Siebziger Jahren verwendeten, oral applizierbaren Dopaminagonisten wurden aufgrund von Nebenwirkungen und insgesamt unbefriedigender Wirksamkeit weitgehend durch Somatostatinanaloga (SMS) abgelöst. Somatostatinanaloga senken nicht nur die hGH-Sekretion des Adenoms, sondern reduzieren die Größe des Tumors, sodass oft eine operative Therapie ermöglicht oder erleichtert wird (Barkan et al., 1988a; Jorgensen et al., 2005). Eine neue Entwicklung ist ein hGH-Antagonist (Pegvisomant), der durch gezielte Blockierung des hGH-Rezeptors die peripheren Effekte des Wachstumshormons verhindert. Im Gegensatz zu Somatostatinanaloga unterdrückt Pegvisomant nicht die Aktivität des Adenoms, sondern verhindert zielgerecht die Bindung des GH-Moleküls an seinen Rezeptor. Aufgrund der hohen Spezifität hat das Medikament bislang wenige Nebenwirkungen aufgewiesen und sich als sehr effektiv in der Behandlung der Akromegalie gezeigt (Jorgensen et al., 2005).

1.3 Messverfahren für Eiweißhormone

Die Konzentration von Hormonen im Blut ist meist sehr gering. Zur Bestimmung sind hochspezifische Verfahren notwendig, die das spezielle Hormon erkennen und mit Hilfe eines Markers die Konzentration in ein messbares Signal übersetzt. Seit den späten Siebzigern verwendete man in der klinischen Praxis größtenteils Radioimmunoassays (RIA) und Immunradiometrische Assays (IRMA) (Elmlinger et al., 2005), bei denen markierte Antikörper verwendet werden, die sich spezifisch an antigene Determinanten des Hormons binden. Als Marker dienen Isotope wie ^{125}Jod und Tritium, Fluoreszenzfarbstoffe, chemiluminisente Stoffe oder Enzyme, die Reaktionen katalysieren.

1.3.1 Kompetitiver Immunoassay

Dieser Assaytyp basiert auf einem Verdrängungsprinzip. Eine begrenzte Menge markierten Antigens (Hormons) konkurriert mit dem Hormon aus der Patientenprobe um eine bestimmte Anzahl von Antikörper-Bindungsstellen. Bei niedriger Hormonkonzentration in der Patientenprobe bindet viel markiertes Hormon, bei hoher Konzentration nur wenig an den Antikörper. Nach Abtrennung des freien markierten Hormons durch Präzipitation mit einem zweiten Antikörper folgt die Messung der Radioaktivität des Antigen-Antikörper-Komplexes. Die Höhe des Markersignals steht im umgekehrten Verhältnis zu Hormon-Serumkonzentration, welche so über Standardkurven quantifiziert werden kann (Ranke et al., 2001; Van Doorn et al., 1999). Je nach Art des verwendeten Markers nennt man die Assays Radioimmunoassay (RIA), Fluoreszenzimmunoassay (FIA), Chemoluminiszenzassay (CLIA), Enzymimmunoassay (EIA)

1.3.2 Immunometrischer Assay

Beim immunometrischen Assay ist ein Antikörper an eine Festphase (Kunststoff) gekoppelt, welcher das zu messende Hormon der Serumprobe binden kann. Anschließend wird ein zweiter, markierter Antikörper hinzugegeben, der sich an ein räumlich getrenntes Epitop des Hormons bindet („Sandwich-Technik“). Die Signalintensität der gebundenen markierten Antikörper, die im direkt proportionalen Verhältnis zur Hormonkonzentration

steht, wird gemessen. Im Gegensatz zum kompetitiven Assay zeichnen sich Sandwichassays oft durch höhere Sensitivität und – da zwei Epitope identifiziert werden – höhere Spezifität aus (Ranke et al., 2001).

1.3.3 Spezifische Probleme der Messung von IGF-I

Die herkömmlichen Assay-Methoden warfen bei der Messung von IGF-I jedoch einige Probleme auf, vor allem bedingt durch die oben beschriebene Komplexbildung von IGF-I mit verschiedenen Bindungsproteinen. Diese Bindungsproteine überdecken Teile der Moleküloberfläche und somit Epitope, die in den Assays eingesetzte Antikörper gegen IGF-I erkennen würden. Somit können – abhängig von den Epitopen der im jeweiligen Assay verwendeten Antikörper - komplexierte IGF-I-Moleküle der Messung „entzogen“ werden. Verschieden Techniken wurden entwickelt, um die IGF-I/BP3/ALS-Komplexe aufzuspalten. Nach wie vor jedoch sind viele Methoden auf dem Assaymarkt verfügbar, die nur eine unzureichende Aufspaltung des IGF-I/ IGFBP-3 – Komplexes ermöglichen. Starke methodenbedingten Unterschiede führen dazu, dass Messergebnisse verschiedener IGF-I-Assays oftmals kaum vergleichbar sind. Daher sind methodenspezifische Referenzbereiche von großer Bedeutung. Letztendlich zeigte sich, dass Assays, die mit einer Kombination einer Ansäuerung der Probe (Säure-Ethanol-Fällung) mit der Zugabe eines Überschusses an IGF-II (ein nicht von den IGF-I-Antikörpern erkanntes, jedoch an die Bindungsproteine bindendes Molekül) arbeiten, den anderen Verfahren überlegen sind (Clemmons, 2001). Durch diese Messverfahren konnten die Sensitivität und Spezifität der Bestimmungen von Insulin-like growth factor I (IGF-I) erhöht, sowie die Variabilität zwischen den verschiedenen Assays verringert werden. Die Aussagekraft für eine Diagnoseerhebung und Verlaufskontrollen von Erkrankungen der hGH/IGF-I-Achse konnte somit deutlich verbessert werden (Barkan, 2004).

Heutzutage werden zunehmend nicht-isotopische, automatisierte Assays zur Hormonbestimmung entwickelt und genutzt, bei denen einerseits die Verlässlichkeit die von manuellen Assays erreicht bzw. übersteigt, andererseits Radioaktivität vermieden wird und zusätzlich Messungen innerhalb einer Stunde abgeschlossen werden können, wodurch auch Kosten eingespart werden (Elmlinger et al., 2005). Im Rahmen der hier vorliegenden Studie wurde für alle Messungen das vollautomatisierte Immulite-System verwendet. Es handelt sich um einen immunometrischen Chemilumineszenz-Assay, der eine

automatisierte Variante eines auf dem Prinzip des IGF-II-Displacement basierenden Sandwich-Assays darstellt. Das Hormon der Serumprobe wird zunächst – nach Ansäuerung und Zugabe von IGF-II - an einen polyklonalen Antikörper gebunden, der mit alkalischer Phosphatase konjugiert ist. Während der Inkubationszeit von weniger als 60 Minuten bei 37°C werden der Probe nun paramagnetische Kugeln zugegeben, die mit einem zweiten, monoklonalen Anti-IGF-I-Antikörper beschichtet sind. Der Komplex aus dem ersten, mit alkalischer Phosphatase markierten Antikörper und dem Hormon aus der Probe bindet nun an diese antikörperbeschichteten Kugeln. Je mehr Hormon sich in der Patientenprobe befindet, umso mehr Immunkomplexe entstehen. Beim Waschschrift, der ungebundene Antikörper sowie andere Matrixkomponenten entfernt, werden die Komplexe durch einen Magneten am Boden des Gefäßes festgehalten. Nach Aktivierung der Enzymvermittelten Chemilumineszenzreaktion wird das Signal gemessen, das – wie oben beschrieben – bei Sandwichassays der Hormonkonzentration proportional ist (Elmlinger et al., 2005; Owen und Roberts, 2005).

1.4 Einflussgrößen und Störfaktoren

Grundsätzlich werden in der Präanalytik unabhängig vom Analyten zwei Arten von Einflüssen unterschieden, die das Analyseergebnis verändern können: Einflussgrößen und Störfaktoren.

1.4.1 Einflussgrößen

Der Begriff Einflussgröße beschreibt Veränderungen in-vivo und ist unabhängig vom Analyseverfahren. Einflussgrößen sind immer probanden- bzw. patientenbezogen und liegen bereits vor der Probenentnahme vor. Sie werden differenziert in beeinflussbare (Ernährung, Fasten, Medikamenteneinnahme, Körpergewicht, Temperatur, körperliche Ertüchtigung, psychischer Stress, Rauchen und Drogen) und nicht beeinflussbare Einflussgrößen (Geschlecht, Alter, Rassenzugehörigkeit, genetische Merkmale, circadiane oder saisonale Schwankungen, Gravidität).

1.4.2 Störfaktoren

Störfaktoren indessen führen zu In-vitro-Veränderungen einer Messgröße und treten im Gegensatz zu den Einflussgrößen zeitlich gesehen während oder nach der Probengewinnung ein. Das Messergebnis entspricht nicht der In-vivo-Konzentration des Analyten. Störfaktoren sind weitgehend vermeidbar. Sie werden unterteilt in körpereigene und körperfremde Störfaktoren. Körpereigene Störfaktoren können das Messergebnis der Analysereaktion verändern, zum Beispiel durch Antikoagulantien, Hämolyse, Hyperbilirubinämie und Hyperlipoproteinämie. Körperfremde Störfaktoren sind Stoffe, die vor oder nach Blutentnahme in die Probe gelangen und diese verunreinigen oder fehlerhafte Handhabung des Materials, zum Beispiel bei Aufbewahrung und Transport, so dass die Bestimmung des Blutbestandteils gestört ist.

Der Fokus meiner Untersuchungen richtet sich auf den Bereich der Einflussgrößen, die die Analyse der Wachstumshormon-IGF-I-Achse beeinflussen können, denn die Kenntnis dieser Größen ist für eine gute Labordiagnostik mit Angabe der richtigen Referenzwerte äußerst sinnvoll (Strasburger et al., 2001). Durch verschiedene Studien ist zwar bekannt, dass Faktoren wie Alter, Body Mass Index (BMI), Ernährung und Bewegung grundsätzlich einen Einfluss auf die zirkulierende IGF-I-Konzentration haben (Koziris et al., 1999; Eliakim et al., 2001). Jedoch ist die intra-individuelle Variabilität von IGF-I bei Gesunden und Akromegalen unzulänglich definiert. Es gibt kaum Studien, die den Einfluß von kurzfristigen präanalytischen Faktoren wie akuter Nahrungsaufnahme, aber auch den Einfluß von Tages- oder Jahreszeit auf die Aussagekraft von IGF-I als biochemischen Indikator der hGH-Sekretion untersuchen.

1.5 Bedeutung der Untersuchung:

Stellenwert der Messung von IGF-I

Die Validität der Bestimmungsmethoden für IGF-I konnte in den letzten Jahren durch die Einführung neuer Messtechniken deutlich verbessert werden (Paisley und Trainer, 2004). Allerdings bestehen nach wie vor große Wissenslücken im Bereich der Präanalytik sowie der Normwerte. Da die IGF-I-Konzentration von Faktoren wie Alter, Geschlecht, ethnischer Herkunft, Ernährungszustand etc. stark beeinflusst wird (Busby et al., 1988),

(Slattery et al., 2005), sind für eine klinisch sinnvolle Interpretation der Messergebnisse normative Daten an definierten Kollektiven unerlässlich.

Für die im endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik - Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München verwendete Methode zur Bestimmung von IGF-I wurden 2004 in einer umfangreichen Studie an über 1500 gesunden Personen Referenzwerte erstellt (Elmlinger et al., 2004). Neben diesen Querschnittsdaten existieren aber bis heute kaum Angaben über die intra-individuellen Schwankungen der IGF-I-Konzentration. Die wenigen publizierten Untersuchungen sind durchweg mit älteren, teilweise störanfälligen und unpräzisen Messmethoden durchgeführt worden (Gelandner et al., 1999; Skjaerbaek et al., 2000). Eine präzisere Erhebung und somit verbesserte Interpretation dieser biologischen Schwankungen ist für Diagnostik und Krankheitsverlauf bei akromegalischen Patienten von großer Wichtigkeit.

Pegvisomant, ein Wachstumshormon-Rezeptor-Antagonist, zeigte sich in der Behandlung der Akromegalie als sehr effektiv (Colao et al., 2006). Die Benutzung von Pegvisomant stellt jedoch auch eine neue Herausforderung für bisherige Untersuchungs- und Labormethoden zur Ermittlung der Krankheitsaktivität dar (Thorner, 2004). Zum einen unterscheidet sich Pegvisomant, eine Mutation des Wachstumshormons nur durch 9 Aminosäuren vom aus der Hypophyse sezernierten hGH-Molekül und die meisten Immunoassays unterscheiden nicht zwischen den beiden Molekülen, so dass Untersuchungen von hGH-Konzentrationen hinfällig werden. Zum anderen reflektiert die hGH-Konzentration aufgrund des pharmakologischen Mechanismus von Pegvisomant (Blockade des hGH-Rezeptors) nicht mehr die aktuelle Krankheitsaktivität. Studien, die spezifisch in der Hypophyse gebildetes hGH ohne Kreuz-Reaktion mit Pegvisomant gemessen haben (Thorner et al., 1999), zeigten eine endogene Erhöhung des hGH-Spiegels unter Therapie. Auf Grund dessen ist IGF-I der Schlüsselfaktor bei der Bestimmung einer effektiven Behandlung von Pegvisomant. Sowohl für die adäquate Anpassung der Dosis von Pegvisomant, als auch für die Langzeitüberwachung von Patienten ist die Verlässlichkeit von IGF-I-Messungen und korrekte Interpretation der Werte ausgesprochen bedeutsam (Paisley und Trainer, 2004).

2 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die intra-individuelle Variabilität von biochemischen Markern der somatotropen Achse - gemessen mit einem modernen, automatisierten Verfahren - in für die alltägliche klinische Praxis relevanten Situationen bzw. Zeiträumen zu untersuchen, um eine Aussage über die Verlässlichkeit dieser Marker bezogen auf die Krankheit Akromegalie treffen zu können.

Hierzu wurden sowohl bei Gesunden, als auch an Akromegalie erkrankten Patienten und an Patientinnen mit polyzystischen Ovarien (PCO-Syndrom) verschiedene Untersuchungen durchgeführt, die folgende Fragestellungen beantworten sollten:

1. Ist die Tageszeit der Blutentnahme wichtig? Wie verändern sich die IGF-I-Konzentrationen über den typischerweise für Blutentnahmen genutzten Zeitraum von 8:00 bis 15:00?
2. Wie ändern sich intra-individuell die IGF-I-Werte über das Jahr? Gibt es einen Einfluss der Jahreszeit?
3. Muss der Patient zur Blutabnahme für eine IGF-I-Bestimmung nüchtern sein? Wie reagieren die IGF-I-Werte?

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen dienten folgende drei Teilstudien:

1. Ein Tagesprofil mit stündlicher Blutentnahme
2. Ein Jahresprofil mit monatlicher Blutentnahme
3. Ein oraler Glukosetoleranztest (OGTT)

Akromegale Patienten sollten im ersten und dritten Studienteil als Vergleichsgruppe zu den gesunden Probanden mit untersucht werden.

Patienten mit Akromegalie erkranken sehr häufig an Störungen des Glukosestoffwechsels (Skjaerbaek et al., 2000; Fukuda et al., 2001). Um zu untersuchen, ob mögliche Auffälligkeiten in der intra-individuellen Variabilität der IGF-I-Werte nach oraler Glukosebelastung akromegalie-spezifisch oder Resultat der gestörten Glukosetoleranz selbst sind, wurden im dritten Studienteil eine Gruppe von Patientinnen mit polyzystischen

Ovarien (PCO), deren Störungen des Glukosestoffwechsels nicht durch eine Akromegalie bedingt sind, mit untersucht (Taponen et al., 2003; Schofl et al., 2002).

Zusätzlich zu den IGF-I-Konzentrationen wurden in allen Proben zwei weitere Parameter bestimmt, die ebenfalls zur Therapiekontrolle bei Patienten mit Akromegalie oder hGH-Mangel eingesetzt werden: hGH selbst und das zum IGF-I/IGFBP-3/ALS-Ternärkomplex gehörenden IGF Bindungsprotein 3 (IGFBP-3).

Für diese Parameter sind ebenfalls noch keine sicheren Daten zu intra-individuellen Variabilität sowie zu möglichen Störfaktoren bekannt.

3 Patienten, Material und Methoden

3.1 Studienteilnehmer

Im Zusammenhang mit dieser Studie wurden insgesamt 57 Teilnehmer für drei unterschiedliche Gruppen rekrutiert:

Gruppe A: 14 gesunde Personen, bei denen keine Stoffwechselerkrankung bekannt war

Gruppe B: 14 Patienten mit Akromegalie

Gruppe C: 29 Patientinnen mit PCO-Syndrom

3.1.1 Gesunde Probanden

Die Gruppe der gesunden Probanden bestand aus sieben männlichen und sieben weiblichen Personen kaukasischer Herkunft im Alter von 22 bis 48 Jahren (Mittelwert, MW: 31 Jahre).

Die Standardbefragung beinhaltete die Erhebung von:

- Alter
- Körpergröße
- Gewicht
- Rauchverhalten
- Zyklustag
- Einnahme von Kontrazeptiva
- Eintrittsalter der Menarche
- Medikamenteneinnahme
- Milchkonsum

Es wurden folgende Einschlusskriterien definiert:

- Volle Zustimmungsfähigkeit, schriftliche Zustimmung
- Alter über 18 Jahre
- Kaukasische Herkunft

Es wurden folgende Ausschlusskriterien definiert:

- Vorbestehende schwere Erkrankungen (auch Störungen des Glukosestoffwechsels)
- Medikation (Ausnahme: Schmerzmittel, Schilddrüsenhormonsubstitution, Kontrazeptiva)
- Schwangerschaft
- Alkohol- oder Drogenmissbrauch
- Ausgeprägtes Unter- bzw. Übergewicht (BMI < 18 bzw. > 30 m/kg²)

3.1.2 Patientengruppen

Die Gruppe B bestand aus 14 Patienten, die an Akromegalie erkrankt sind, die Gruppe C aus 29 Patientinnen mit einem PCO-Syndrom.

Folgende anamnestische Daten wurden durch Befragung der Patienten und aus den Krankenunterlagen aufgenommen:

- Alter
- Größe
- Gewicht
- Dauer der Erkrankung
- Bisherige Behandlung
- Medikamenteneinnahme
- Krankheitsstatus (kontrolliert/ noch aktiv))

Es wurden folgende Einschlusskriterien definiert:

- Volle Zustimmungsfähigkeit, schriftliche Zustimmung
- Alter über 18 Jahre
- Klinisch und laborchemisch gesicherte Diagnose einer Akromegalie bzw. eines PCO-Syndroms
- Kaukasische Herkunft

Es wurden folgende Ausschlusskriterien definiert:

- Schwangerschaft
- Alkohol- oder Drogenmissbrauch

3.2 Studienprotokoll

3.2.1 Patienten/ Probandensuche

Die Studie begann im März 2005 mit der Rekrutierung der Probanden und Patienten. Die Gruppe der gesunden Personen wurde per Aushang in der Universität gesucht. Die Gruppe der Patienten mit Akromegalie entstammt dem Patientenkollektiv, welches innerhalb der Ambulanz der Medizinischen Klinik Innenstadt betreut wird. Die Patientinnen mit PCO wurden in Zusammenarbeit mit der Frauenklinik in der Maistraße, PD Dr. Kupka, rekrutiert.

Die Studie bestand aus drei Abschnitten:

1. Zirkadiane Variabilität der IGF-I-Konzentrationen (Studienteil 1), bei dem die Gruppe der Gesunden und die der Akromegalen untersucht wurden
2. Variabilität der IGF-I-Konzentrationen über ein Jahr (Studienteil 2), bei dem nur die Gruppe der Gesunden untersucht wurde
3. Oraler Glukose-Toleranz Test (Studienteil 3) bei dem alle drei Probandengruppen teilnahmen

Mit der Teilnahme an der Studie waren weder für die Patienten noch für die gesunden Probanden irgendwelche individuellen Vorteile vorhersehbar verbunden. Alle Maßnahmen waren für die Probanden rein studienbedingt.

Für die teilnehmenden Patienten entstand keinerlei studienbedingter Aufwand, da ein oraler Glukose-Toleranz-Test einen routinemäßigen Bestandteil der Diagnostik und Therapiekontrolle sowohl für Patientinnen mit PCO als auch für Patienten mit Akromegalie darstellt.

Auch die zur Untersuchung der zirkadianen Variabilität der IGF-I-Konzentrationen verwendeten so genannten „hGH-Profile“ mit stündlicher Abnahme von Blutproben über einen Zeitraum von bis zu 8 Stunden waren für Patienten mit Akromegalie Teil der erweiterten Routinediagnostik und Therapiekontrolle in unserer Ambulanz.

Daher konnten in dieser Patientengruppe für die Untersuchung von IGF-I und anderen hGH-abhängigen Faktoren Reste der Blutproben, die normalerweise im Labor anfallen, verwendet werden.

3.2.2 Patienten/ Probandeninformation und Einverständniserklärung

Jeder Teilnehmer wurde zunächst mündlich durch einen Arzt der Klinik ausführlich über Vorhaben, Ablauf der Studie und Risiken aufgeklärt. Mit freiwilliger Erklärung ihrer Teilnahme durch Unterzeichnung einer Einverständniserklärung wurden sie in die Studie eingeschlossen.

Die gemäß den Richtlinien bzw. Vorschlägen der Ethikkommission erstellte Patienten- bzw. Probandeninformation und Einverständniserklärung befindet sich im Anhang.

Nach Unterzeichnung folgten ein Anamnesegespräch und eine körperliche Untersuchung.

Mit den gesunden Kontrollpersonen wurden nun die Termine für jeden einzelnen Studienteil festgelegt, bei denen ihnen in regelmäßigen Abständen Blut abgenommen wurde. Eine zusätzliche diagnostische Maßnahme war ein oraler Glukose-Toleranz-Test mit 75 g Glukose.

3.2.3 Risiken und Maßnahmen

Die mit Teilnahme an der Studie verbundenen Risiken waren ausgesprochen gering: Jede Blutentnahme – auch durch erfahrene Ärzte – beinhaltet prinzipiell das Risiko der Hämatombildung sowie einer Entzündung. Die jeweilig entnommene Menge Blut (maximal 40,5 ml über 8 Stunden) stellt nach ärztlichem Ermessen kein Risiko dar. Die orale Zufuhr einer konzentrierten Glukoselösung (75 g) birgt das Risiko einer reaktiven Hypoglykämie. Dieses Ereignis ist auch bei gesunden Personen möglich, in der Regel transient und durch Nahrungsaufnahme leicht beherrschbar.

Alle Blutentnahmen sowie der orale Glukose-Toleranz-Test wurden unter ärztlicher Aufsicht in den dafür vorgesehenen Einrichtungen der Medizinischen Klinik durchgeführt. Eine engmaschige Blutzucker-Kontrolle im Funktionsraum erlaubte ein rasches Erkennen einer eventuellen Hypoglykämie und somit entsprechende Intervention.

Es wurden keine Medikamente verabreicht oder besondere Therapien notwendig. Keiner der Probanden hat die Untersuchungen abgebrochen.

Ein Abbruch der Studie war vorgesehen, wenn

- eines oder mehrere der Ausschlusskriterien nachträglich eingetreten wäre
- Einschlusskriterien sich nachträglich als nicht erfüllt erwiesen hätten
- sonstige Kontraindikationen für den Glukose-Toleranz-Test oder Blutentnahmen überhaupt aufgetreten wären (z.B. schwere Anämie)

Es stand jedem Teilnehmer frei, die Studie ohne Angabe von Gründen vorzeitig zu verlassen bzw. seine Einwilligung zurückzuziehen.

Von der Norm abweichende Laborkonstellationen bzw. Glukosestoffwechselstörungen, die durch die diagnostischen Maßnahmen bei den gesunden Probanden zufällig entdeckt wurden, wurden den Probanden umgehend mitgeteilt und die entsprechende medizinische Betreuung in die Wege geleitet:

3.2.4 Studiendesign

Die Studie bestand für die gesunden Teilnehmer aus folgenden drei Teilen:

Teil 1. Zirkadiane Variabilität von hGH, IGF-I und IGFBP-3:

Die Probanden bzw. Patienten wurden für 8:00 Uhr am Untersuchungstag in den Funktionsraum der Klinik einbestellt. Nach klinischer Untersuchung wurde eine Verweilkanüle in eine Unterarmvene eingebracht und durch Infusion physiologischer Kochsalzlösung offen gehalten. Aus dieser Verweilkanüle wurde stündlich 4,5 ml Blut durch eine Serummonovette entnommen (von 8:00 – 15:00 Uhr insgesamt acht Monovetten). Die gewonnenen Serumproben wurden 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert, abesert, beschriftet und bei -20°C bis zur Messung gelagert.

Teil 2. Variabilität von hGH, IGF-I und IGFBP-3 über das Jahr:

In der Zeit von Mitte April 2005 bis Ende Mai 2006 wurden die Probanden zu regelmäßigen monatlichen Visiten in die endokrinologische Ambulanz der Klinik einbestellt. Nach Aktualisierung der Anamnese und Dokumentation von Veränderungen und Zyklustag der weiblichen Teilnehmer wurde ihnen 4,5 ml Blut entnommen. (insgesamt 12 Serummonovetten über das Jahr verteilt) Zusätzlich wurde eine klinische Untersuchung durchgeführt. Das Blut wurde wie in Teil 1 beschrieben bearbeitet und eingefroren.

Teil 3. Oraler Glukose-Toleranz-Test mit 75 g Glukose:

Die Probanden bzw. Patienten wurden für 8:00 Uhr am Untersuchungstag nüchtern in den Funktionsraum der Klinik einbestellt. Nach klinischer Untersuchung und Erhebung der Anamnese wurde eine Verweilkanüle in eine Unterarmvene eingebracht und durch langsame Infusion physiologischer Kochsalzlösung offen gehalten. Aus dieser Verweilkanüle wurde vor oraler Aufnahme von 75 g Glukose ein Basalwert entnommen. Weitere Blutentnahmen folgten 30, 60, 120 und 180 Minuten nach Trinken der Glukoselösung. Der Test erfolgte im Funktionsraum der Medizinischen Klinik Innenstadt unter standardisierten Bedingungen (genaues Einhalten von Blutabnahmeverfahren und -zeiten, Ruhestuhl, im Test routinierte MTAs).

Abgenommen wurde je Abnahmezeitpunkt eine 4,5 ml Serummonovette. Aus dieser wurde mittels Mikropipette 20 µl Vollblut in eine Hämolyatlösung pipettiert und an das Zentrallabor der Medizinischen Klinik weitergeleitet, das dann die Bestimmung der Blutglukose und des Insulinwertes vornahm.

Die einzelnen Serumproben wurden wie in Teil 1 beschrieben bearbeitet und eingefroren.

An rein studienbedingten Blutentnahmen ergaben sich somit für die gesunden Probanden 5 x 4,5 ml im oralen Glukose-Toleranz-Test (gesamt: 22,5 ml), 8 x 4,5 ml über 8 Stunden im Studienteil 1 (gesamt: 36 ml) und 12 x 4,5 ml über 1 Jahr im Studienteil 2 (gesamt: 54 ml).

3.3 Labormessungen/Assaymethoden

3.3.1 Probensammlung:

Die Blutentnahme mittels einer 4,5 ml Serummonovette erfolgte aus einem peripheren venösen Gefäß am Unterarm des Probanden.

Hierzu diente ein steriles Blutabnahmeset mit Flügelkanüle und Anschlussschlauch mit Multiadapter von Sarstedt.

Nach Entnahme wurden die Monovetten zunächst 20 min bei Raumtemperatur stehengelassen und im Anschluss bei 3000 Umdrehungen pro Minute (+4°C) über 10 Minuten zentrifugiert.

Das dadurch als Überstand erhaltene Serum wurde abpipettiert, in Cryo-Röhrchen von NUNC aliquotiert, beschriftet und bis zur endgültigen Analyse bei einer Temperatur von -20°C gelagert.

3.3.2 Untersuchungsparameter

hGH, IGF und IGFBP-3 wurden aus Serum bestimmt. Alle Proben wurden zunächst gesammelt und dann in einer Messreihe mit Reagenzien jeweils derselben Charge gemessen.

Für die Bestimmung von hGH, IGF I und IGFBP-3 wurde ein automatisiertes chemiluminiszendes Assaysystem (IMMULITE, Diagnostic Products Corp., Los Angeles, CA, USA) (Babson et al., 1991) verwendet.

Die Messungen erfolgten im endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik - Innenstadt auf dem IMMULITE 2000.

Wie viele Assays, die zurzeit in klinischem Gebrauch sind, waren der Assay für hGH zum Zeitpunkt der Messung gegen den internationalen hypophysären Standard 80/505 (NIBSC), der Assay für IGF I gegen die 1. Internationale Referenzpräparation 87/518 (NIBSC) und der Assay für IGFBP-3 gegen die Präparation 93/560 (NIBSC) kalibriert.

3.3.2.1 Messungen von hGH

Die Festphase (Kugel) ist mit einem monoklonalen Maus-anti-hGH-Antikörper beschichtet. Das Reagenz enthält Alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm), die an einen polyklonalen Kaninchen-anti-hGH konjugiert ist. Das Reagenz und hGH aus der Probe (erforderliche Menge: 25µl Serum) werden gemeinsam mit der mit Anti-hGH-Antikörper beschichteten Kugel 30 min bei 37°C inkubiert, um einen Antikörper-Sandwich-Komplex zu bilden, indem sich das hGH-Molekül sowohl an den monoklonalen als auch den polyklonalen Antikörper bindet. Je mehr hGH sich in der Patientenprobe befindet umso mehr Immunkomplexe entstehen. Unkonjugiertes Enzymkonjugat wird anschließend durch einen Zentrifugal-Waschschritt entfernt. Zuletzt wird ein Chemilumineszenz-Substrat (200 µl) zur Kugel hinzugefügt, welches von der an der Kugel gebundenen alkalischen Phosphatase in ein instabiles Zwischenprodukt umgesetzt wird und bei Zerfall ein Photon aussendet. Dieses Messsignal wird mit Hilfe eines Photoverstärkers (PMT) gemessen. Die ausgesendete Lichtmenge ist direkt proportional zur Menge der gebundenen alkalischen Phosphatase und damit auch zur Menge an hGH in der Serumprobe. Das Lumineszenzsignal wird in counts per second (cps) gemessen. Es wird mit Hilfe einer Eichkurve in die korrespondierende Konzentration an hGH umgewandelt und ausgedruckt.

3.3.2.2 Messungen von IGF-I

Da die quantitative Ermittlung von IGF-I durch das Vorliegen von säurelabilen Komponenten und Bindeproteinen erschwert ist, ist eine Säurebehandlung notwendig um IGF-I freizusetzen und eine exakte Bestimmung zu gewährleisten. Die Vorbehandlung der Proben (erforderliche Menge: 20 µl Serum) wird während eines automatischen Verdünnungsschrittes mit dem Faktor 10 auf dem Gerät bewerkstelligt. Das Teströhrchen enthält eine Kugel, die diesmal mit einem monoklonalen IGF-I-Antikörper beschichtet ist. Probe und Reagenz werden in die Küvette pipettiert. Das Reagenz enthält einen polyklonalen IGF-I-Antikörper, der mit alkalischer Phosphatase konjugiert ist. Es folgt eine Inkubation von 60 min bei 37°C. Während der Inkubation wird das IGF-I-Molekül

aus der Serumprobe an die Kugel-Matrix gebunden. Gleichermaßen bindet das Molekül an das mit alkalischer Phosphatase markierte anti-IGF-I aus dem Reagenz. (Sandwich-Assay). Je mehr IGF-I sich in der Probe befindet umso mehr Immunkomplexe entstehen. In den nachfolgenden Waschsritten wird das ungebundene Material aus der Küvette entfernt. Durch Zugabe von luminogenem Substrat (200 µl) wird auch hier ein Messsignal im Verhältnis zum gebundenen Enzym gebildet, welches nach 5 Minuten mit Hilfe eines Photoverstärker (PMT) gemessen werden kann.

3.3.2.3 Messungen von IGFBP-3

Zunächst erfolgt eine Vorbehandlung in Form einer automatischen Verdünnung auf dem Gerät mit dem Faktor 100. Das erforderliche Serumvolumen beträgt 20 µl. Die Kugel des Teströhrchens ist in diesem Fall mit monoklonalen Anti-IGFBP-3-Antikörpern beschichtet. Das Reagenz welches mit der Serumprobe in die Küvette pipettiert wird enthält wiederum einen mit alkalischer Phosphatase konjugierten monoklonalen Maus-anti-IGFBP-3-Antikörper. Die Inkubationszeit beträgt 30 Minuten bei 37°C, in der sich ebenso ein Antikörper-Sandwich-Komplex zwischen dem IGFBP-3-Molekül und den Antikörpern bildet. Wie bei den beiden zuvor beschriebenen Assays folgt daraufhin die Waschprozedur für die Entfernung des ungebundenen Materials und die Zugabe von luminogenem Substrat für die Emission eines Lichtsignals, welches im proportionalen Verhältnis zur IGFBP-3-Konzentration gemessen werden kann.

3.3.2.4 Messungen des Blutzuckers

Die Messung des Blutzuckers wurde mit dem Glucoseanalyzer EcoSolo vorgenommen.

Zu Beginn wurde das Gerät mit einem Standardgefäß kalibriert. Nach einer Messung von drei Kontrollproben erfolgte die eigentliche Messung aus Vollblut.

Aus venösem Blut wurden mit einer Mikrokapillarpipette 20 µl in 2 ml Probengefäße gegeben, gemischt und im Glucoseanalyzer gemessen.

3.3.3 Erhebung anthropometrischer und anamnestischer Angaben

Folgende Angaben wurden standardmäßig erhoben und auf dem Studienlaufzettel dokumentiert (siehe Anhang 1) bzw. als Parameter errechnet.

Probandengruppe:

Das Alter (in Jahren), die Körpergröße (in cm) und das Gewicht (in kg) jedes einzelnen Probanden wurden zu Beginn der Studie protokolliert.

Der BMI (Body-Mass-Index) wurde berechnet, indem das Gewicht der Person durch die Körpergröße im Quadrat dividiert wurde.

Das Rauchen wurde kategorisiert in Packyears: die Anzahl der Jahre des Rauchens mit durchschnittlich 20 Zigaretten pro Tag.

Hormoneinnahme: Die Einnahme wurde berücksichtigt im Bezug auf die aktuelle Substitution und die bisherige Zeitdauer der Einnahme.

Regelmäßige Medikamenteneinnahme wurde durch Angabe von Präparat, Zeitdauer und Dosierung dokumentiert.

Der Milchkonsum wurde in ml/Tag angezeigt und eingeteilt in „keine“, „unter 150 ml“, „über 150ml Milch/Tag“.

Das Eintrittsalter der Menarche wurde aufgenommen und in die beiden Kategorien „früh“ (unter 13 Jahre) und „spät“ (über 13 Jahre) unterteilt.

Der HOMA (Homeostasis Model Assessment)-Index wurde berechnet mit der Formel:

$$\text{HOMA-Index} = \text{Insulin (nüchtern, } \mu\text{U/ml)} \times \text{Blutzucker (nüchtern, mg/dl)} / 405$$

Zu jedem einzelnen Blutentnahmetag wurden aktuelle Veränderung der Angaben und der gegenwärtige Zyklustag, gerechnet ab dem ersten Tag der monatlichen Blutung notiert.

Patientengruppen:

Es wurden von beiden Patientengruppen Angaben über Alter, Gewicht, Körpergröße und die aktuelle Medikamenteneinnahme aus Krankenakten übernommen. BMI und HOMA-Index wurden, wie oben angegeben, für jeden Patienten errechnet. Bei der Gruppe der Akromegaliepatienten wurde zusätzlich vermerkt, welche bisherige Behandlung stattfand: ob eine Operation oder Bestrahlung durchgeführt wurde und wenn ja, wann und ob eine aktive oder kontrollierte Erkrankung vorliegt. Von einer kontrollierten Erkrankung wird gesprochen, wenn der hGH-Wert sich durch die Therapie im Normbereich (unter 1,0 $\mu\text{g/L}$)

im OGTT) befindet und die „aktiven“ Symptome (Schwitzen, Kopfschmerzen, Weichteilschwellung) fehlen.

Bei den Patientinnen mit PCO-Syndrom dagegen konnten zusätzlich das Eintrittsalter der Menarche, die Hormoneinnahme, das Zyklusgeschehen und eine mögliche Virilisierung, wie zum Beispiel Haarausfall, Akne und Verstärkung des männlichen Behaarungstyps aus den Akten erhoben werden. Eintrittsalter der Menarche und Hormoneinnahme wurden gemäß den Angaben der Gruppe der Gesunden kategorisiert. Das Zyklusgeschehen wurde eingeteilt in „normal“, „unregelmäßig“ und „keine Regelblutung“, die Virilisierung in „ja“ und „nein“.

Das Rauchverhalten konnte bei Akromegalie-Patienten, der Milchkonsum und der aktuelle Zyklustag der Blutentnahme konnte bei beiden Patientengruppen nicht aus den Akten entnommen werden.

Liste der Geräte:

- Immulite 2000, Fa. DPC Biermann (Bad Nauheim, Deutschland)
- Zentrifuge CR422, Fa. Jouan (Unterhaching, Germany)
- Glucoseanalyzer EcoSolo, Fa. Care diagnostica (Moellersdorf, Österreich)

Liste der Reagenzien und Materialien:

- Serummonovetten 4,7 ml Z-Gel 51588, Fa. Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland)
- Abnahmesystem Multifly No. 85.1638.035, Fa. Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland)
- Cryoröhrchen 1,8 ml, Fa. NUNC (Roskilde, Dänemark)
- Mikrokapillarpipetten, 20µl, Fa. Care diagnostica (Moellersdorf, Österreich)
- Probengefäße 2 ml, Fa. Care diagnostica (Moellersdorf, Österreich)
- Glucose Standard cups 12 mmol/l, Fa. Care diagnostica (Moellersdorf, Österreich)
- Kontrollgefäße Carecontrol Level I und II, Fa. Care diagnostica (Moellersdorf, Österreich)

- Dextro OGT (75 g Glukose, 300 ml), Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Deutschland)
- NaCl 0,9 % Infusionslösung, Braun (Melsungen, Deutschland)
- Kurzzzeituhr, Labor Schubert & Weiss GmbH (München, Deutschland)

Liste der kommerziellen Kits:

- HGH Kit Bestell-Nr. L2KGH 2, bestehend aus HGH Kugel-Container, HGH Reagenz-Container, HGH Kalibratoren A+B, Fa DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim
- IGF-I Kit Bestell-Nr. L2 KGF 2, bestehend aus IGF-I Kugel-Container, IGF-I Reagenz-Container, IGF-I Kalibratoren A+B, IGF-I Probendiluent, Fa. DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim
- IGFBP-3 Kit: Bestell-Nr. L2 KGB 2, bestehend aus IGFBP-3 Kugel-Container, IGFBP-3 Reagenz-Container, IGFBP-3 Kalibratoren A+B, IGFBP-3 Probendiluent, Fa. DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim

IGF- Kontrollmodul Bestell-Nr. LGCOCM, Fa. DPC Biermann GmbH

Substrat Bestell-Nr. L2SUBM, Fa. DPC Biermann GmbH

Waschpuffer Bestell-Nr. L2PWSM, Fa. DPC Biermann GmbH

Reinigungsmodul Bestell-Nr. L2KPM, Fa. DPC Biermann GmbH

Reaktionsgefäße Bestell-Nr. L2RXT, Fa. DPC Biermann GmbH

In-Line Filter Bestell-Nr. L2WF, Fa. DPC Biermann GmbH

CO2- Säulen Bestell-Nr. L2CO, Fa. DPC Biermann GmbH

3.4 Statistik

Die Aufbereitung und die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte auf einem IBM-kompatiblen PC mit den Computerprogrammen Microsoft Excel (Fa. Microsoft) und SPSS for Windows[®] 9.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

Bei metrischen Variablen wurden der Mittelwert mit Standardabweichung (SD) und Standardfehler, der Median sowie Maximum und Minimum berechnet. Mittelwertsdifferenzen werden zusammen mit dem Standardfehler (SF) der Differenz angegeben.

Zur graphischen Darstellung der relativen Konzentration metrischer Variablen wurden mit Hilfe der Programme Microsoft Excel und SPSS for Windows Linien oder Boxplots gebildet. Im Boxplot erscheinen die Lage des Medians, das untere und obere Quartil sowie die Extreme der Messwerte. In Liniendiagrammen werden Mittelwert und Standardfehler (SF) der Differenz zum Mittelwert dargestellt. Zur Darstellung der Korrelation zwischen IGF-I und Blutzucker wurde ein Streudiagramm mit Regressionsgerade erstellt.

Zum Vergleich der Mittelwerte von IGF-I, Blutzucker oder IGFBP 3 zwischen verschiedenen Subkollektiven wurde der doppelte t-Test benutzt. Zum Vergleich der Mittelwerte zwischen verschiedenen Stufen eines Faktors wurde der t-Test für abhängige Stichproben benutzt.

Die Stabilität von IGF-I über verschiedene Messzeitpunkte, der Einfluss von Geschlecht, Jahreszeit und Alter sowie von Interaktionseffekten auf die Varianz bzw. Stabilität von IGF-I und IGFBP3 wurde mittels der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung geprüft (ANOVA). Die Varianzanalyse ist eine Methode zum Prüfen der Nullhypothese mehrerer gleicher Gruppenmittelwerte in der Grundgesamtheit. Dabei wird die für die Gruppenmittelwerte geschätzte Stichprobenvarianz mit derjenigen innerhalb der Gruppen verglichen. Vor der Varianzanalyse wurde geprüft, ob die Fehlervarianz in verschiedenen Subgruppen homogen ist. Für den Fall einer Varianzhomogenität wurde die Varianzanalyse ohne Gewichtung gerechnet, falls keine Varianzhomogenität bestand, mit Gewichtung.

Der Zusammenhang zwischen Blutzucker und IGF-I wurde in einer linearen Regressionsanalyse geprüft.

In der vorliegenden Arbeit werden Werte ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.05$ als statistisch signifikant und Werte ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.01$ als hochsignifikant eingestuft. Werte ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.1$ werden als Trend zur Signifikanz charakterisiert (Kreienbrock und Schach, 1997; Hürseler und Zimmermann, 2001).

4 Ergebnisse

Zur Untersuchung kamen 57 Versuchsteilnehmer. Sie waren durchschnittlich $30,54 \pm 1,9$ (Bereich: 19-48) Jahre alt, waren durchschnittlich $171,7 \pm 3,1$ Meter (Bereich: 1,55-2,08) groß, hatten ein Gewicht von $70,4 \pm 3,8$ kg (Bereich: 50-105) und hatten einen durchschnittlichen Body Mass Index von $23,7 \pm 1$ (Bereich: 18,4-35,0).

Sie setzten sich zusammen aus 14 gesunden Probanden (jeweils sieben Männer und Frauen), 14 Patienten mit Akromegalie (jeweils sieben Männer und Frauen) und 29 Frauen mit PCO-Syndrom.

Die nach Geschlechtern differenzierten biometrischen Daten verteilten sich wie in Tabelle 1 angegeben:

			<i>Männlich</i>		<i>Weiblich</i>
		<i>N</i>	<i>Mittelwert ± SF</i>	<i>N</i>	<i>Mittelwert ± SF</i>
<i>Gesunde</i>	<i>Alter (Jahre)</i>	7	$30,4 \pm 3,1$	7	$31,6 \pm 2,9$
	<i>Gewicht (kg)</i>	7	$72,2 \pm 3,3$	7	$59,9 \pm 3$
	<i>Größe (cm)</i>	7	$179,1 \pm 3,3$	7	$166,7 \pm 2,4$
	<i>BMI (kg/qm²)</i>	7	$22,1 \pm 0,1$	7	$21,7 \pm 1,3$
<i>Akromegale</i>	<i>Alter (Jahre)</i>	7	$31,1 \pm 3,1$	7	$35,7 \pm 3,2$
	<i>Gewicht (kg)</i>	7	$94,3 \pm 3,7$	7	$73,7 \pm 3,4$
	<i>Größe (cm)</i>	7	$190,3 \pm 4,1$	7	$169,9 \pm 3,6$
	<i>BMI (kg/qm²)</i>	7	$25,4 \pm 0,6$	7	$25,7 \pm 0,7$
<i>PCO</i>	<i>Alter (Jahre)</i>		,	29	$28,9 \pm 0,7$
	<i>Gewicht (kg)</i>		,	29	$65,6 \pm 2,2$
	<i>Größe (cm)</i>		,	29	$166,4 \pm 1,7$
	<i>BMI (kg/qm²)</i>		,	29	$23,6 \pm 0,7$

Tabelle 1. Biometrische Daten und Geschlecht der drei Kollektive

Die gesunden Probanden wurden des Weiteren daraufhin befragt, ob und welche Mengen pro Zeit (packyears) sie rauchten, ob und in welchen Mengen sie Milch konsumierten und ob und für welche Zeit Frauen hormonelle Kontrazeptiva benutzten.

Von den gesunden Probanden waren ausschließlich Männer Raucher (n=4, 57,1 %), mit durchschnittlich $3,9 \pm 1,6$ packyears.

Milch wurde von sechs der sieben Männer mit durchschnittlich $200,0 \pm 41,5$ ml/Tag, von allen sieben Frauen mit durchschnittlich $100 \pm 53,6$ ml/Tag konsumiert.

Sechs der sieben gesunden weiblichen Probanden (85,7 %) verwendeten hormonelle Kontrazeptiva.

Bei den Patienten mit Akromegalie wurde ihre bisherige Behandlung dokumentiert: Von den 14 Akromegalie-Patienten waren elf operiert, vier davon waren zusätzlich bestrahlt und fünf Patienten zusätzlich medikamentös behandelt (vier Patienten mit Somatostatinanaloga, ein Patient mit dem hGH-Antagonisten Pegvisomant).

Laut Krankenakte galten elf der Patienten als „kontrolliert“ (hGH-Nadir-Wert im OGTT unter $1,0 \mu\text{g/L}$), während drei Patienten unter die Kategorie „nicht kontrolliert“ fielen (hGH-Nadir-Wert über $1,0 \mu\text{g/L}$)

Unter den Patientinnen mit PCO-Syndrom waren vier aktuelle Raucherinnen. Keine von ihnen nahm zum Zeitpunkt der Untersuchung hormonelle Kontrazeptiva ein.

Zur Überprüfung von Variabilität bzw. Stabilität der Variabilität wurden zunächst das Tages- und Jahresprofil von IGF-I bei gesunden Probanden und Patienten mit Akromegalie bestimmt.

4.1 Tagesprofil bei Gesunden und Patienten mit Akromegalie

Bei sämtlichen gesunden Probanden und Patienten mit Akromegalie wurde die zirkadiane Verteilung der IGF-I-Konzentration im Blut in jeweils einstündigen Abständen von 8:00 bis 16:00 Uhr bestimmt. Dabei ergaben sich folgende Verteilungen (Abb.2):

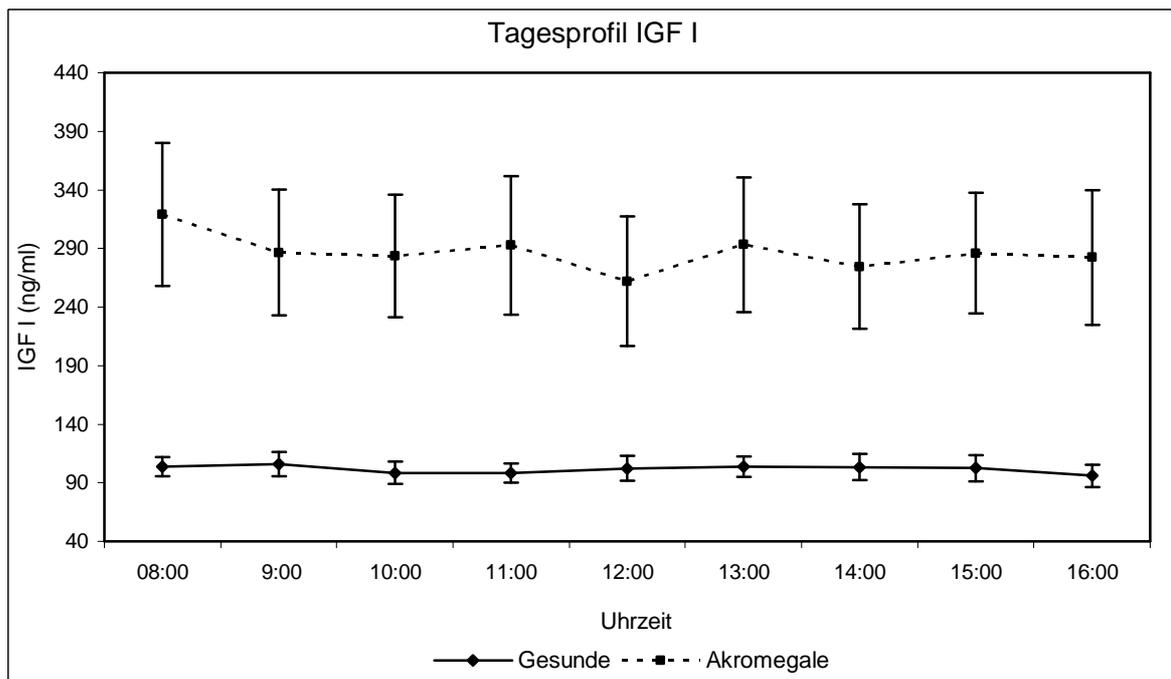


Abbildung 2. IGF-I im Tagesprofil (MW und SF, n=28)

Bei gesunden Probanden lag die Serumkonzentration von IGF-I durchschnittlich bei $102,38 \pm 9,79$ ng/dl und schwankte zwischen $98,5 \pm 8,3$ ng/dl (Minimum um 11:00 Uhr) und $106 \pm 10,3$ ng/dl (Maximum um 9:00 Uhr). Akromegale hatten über den gesamten Tag einen wesentlich höheren Serumspiegel von IGF-I ($287,23 \pm 55,47$ ng/dl). Er schwankte zwischen durchschnittlich $262,1 \pm 55,2$ ng/dl (Minimum um 12 Uhr) und $319,3 \pm 61$ ng/dl (Maximum um 8:00 Uhr).

Zur statistischen Überprüfung der Konstanz der Mittelwerte im Tagesprofil bei gesunden Probanden und Patienten mit Akromegalie wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen durchgeführt (Tab. 2). Der Plot der Residuen gegen den Typ wies auf eine Varianz-Inhomogenität zwischen Gesunden und Akromegalien hin. Aufgrund dessen wurde das Modell in gewichteter Form gerechnet.

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>161</i>	<i>51.81</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Krankheitsstatus</i>	<i>1</i>	<i>23</i>	<i>16.41</i>	<i>0.0005</i>
<i>Zeit</i>	<i>7</i>	<i>161</i>	<i>0.44</i>	<i>0.88</i>
<i>Interaktion Krankheitsstatus:Zeit</i>	<i>7</i>	<i>161</i>	<i>1.10</i>	<i>0.36</i>

Tabelle 2. Varianzanalyse IGF-I im Tagesprofil (n=28)

Die Ergebnisse zeigen, dass der Krankheitsstatus (Akromegalie) im zweifaktoriellen Design einen statistisch signifikanten Einfluss auf IGF-I hat ($F(1;23)=16.21$; $p=0.0005$), dass also Akromegale und Gesunde signifikant unterschiedlich hohe IGF-I-Werte aufweisen. Unter Betrachtung des Mittelwertes wird deutlich, dass Akromegalie-Patienten über den gesamten Tag hinweg einen signifikant höheren Serumspiegel von IGF-I haben als Gesunde. Ein signifikanter Haupteffekt findet sich jedoch nicht für die Zeit ($F(7;161)=0.44$; $p=0.88$), d.h. der IGF-I-Wert schwankt nicht signifikant im Tagesverlauf. Es zeigte sich kein Interaktionseffekt zwischen Krankheitsstatus und Zeit bezogen auf IGF-I ($F(7;161)=1.10$; $p=0.36$). Dies zeigt, dass sich die zeitliche Schwankung der Serumkonzentration von IGF-I bei Gesunden und Akromegalen im Tagesprofil nicht signifikant voneinander unterscheidet.

4.2 Jahresprofil von IGF-I bei gesunden Probanden

Des Weiteren wurde ein Jahresprofil mit monatlichen Messungen der IGF-I-Konzentration über 12 Monate bei gesunden Probanden erstellt. Es ergab sich das in Abbildung 3 dargestellte Bild:

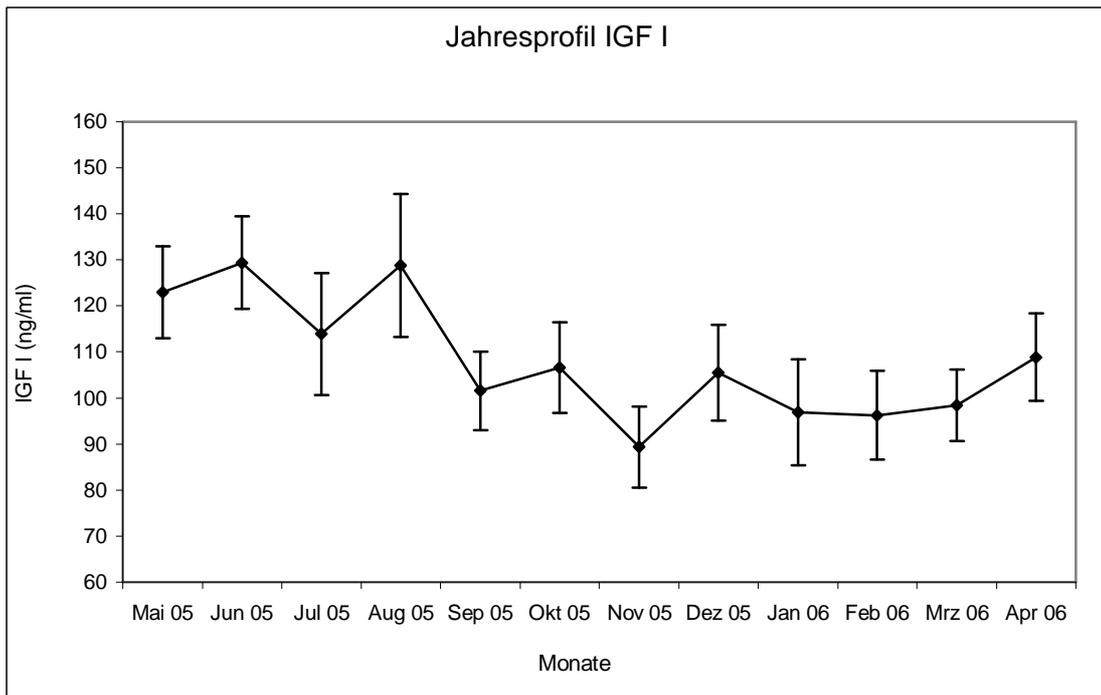


Abbildung 3. IGF-I im Jahresprofil (MW und SF, n=14)

In dem Kollektiv der 14 gesunden Probanden zeigten sich während 12 Monaten deutliche Schwankungen des Mittelwerts von IGF-I um den Jahresmittelwert von $108,2 \pm 7,8$ ng/dl. Er schwankte zwischen $89,4 \pm 8,8$ ng/dl (Minimum im November 2005) und $129,4 \pm 10,1$ ng/dl (Maximum im Juni 2005).

4.2.1 Jahresprofil IGF-I nach Geschlecht bei gesunden Probanden

Differenziert man das Jahresprofil von IGF-I nach Geschlechtern ergibt sich folgende Verteilung (Abb. 4):

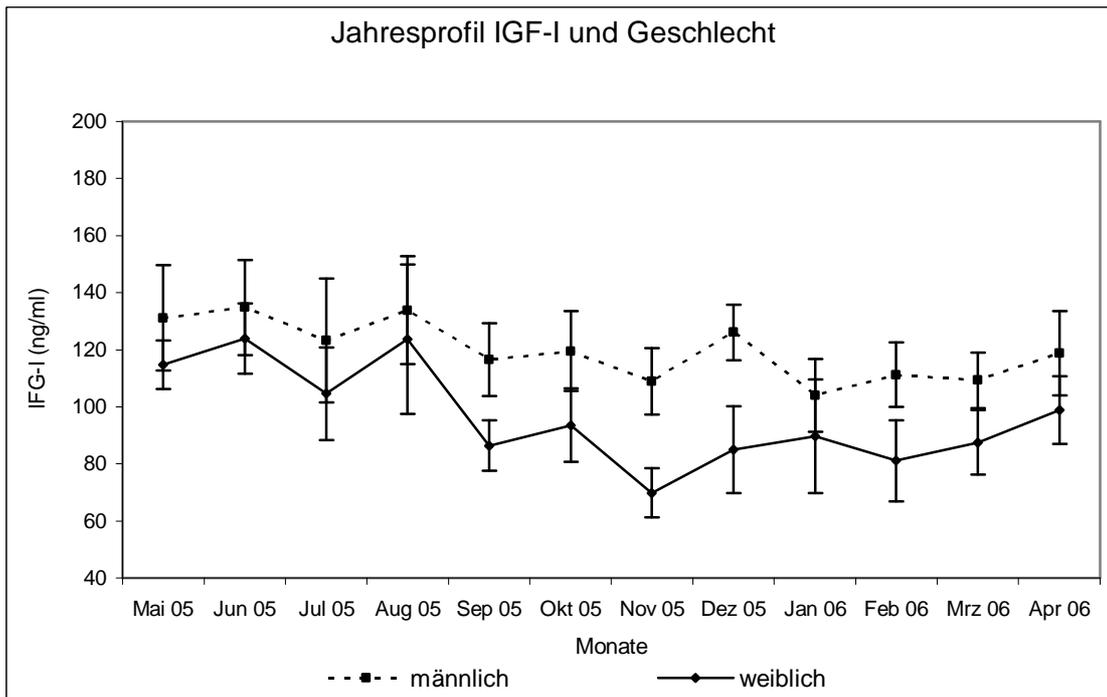


Abbildung 4. Jahresprofil IGF-I nach Geschlecht (MW und SF, n=14)

In den beiden Subkollektiven von jeweils 7 gesunden Männern und Frauen zeigten sich in der Abbildung während 12 Monaten deutliche Schwankungen des Mittelwerts von IGF-I. In einem parallelen Profil lag er bei Männern tendenziell höher als bei Frauen (Mittelwert der Männer übers Jahr: $131,2 \pm 17,8$ ng/dl, Mittelwert der Frauen übers Jahr: $114 \pm 8,6$ ng/dl). Bei Männern schwankte er zwischen $104,1 \pm 14,7$ (Minimum im Januar 2006) und $134,8 \pm 16,6$ ng/dl (Maximum im August 2005). Bei Frauen schwankte er zwischen $69,8 \pm 8,5$ (Minimum im November 2005) und $124,0$ ng/dl $\pm 12,3$ (Maximum im August 2005).

Zur statistischen Überprüfung der Konstanz der Mittelwerte im Jahresprofil bei gesunden Probanden wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit den Faktoren Geschlecht und Zeit durchgeführt (Tab.3)

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>132</i>	<i>224.06</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Geschlecht</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>2.57</i>	<i>0.13</i>
<i>Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>2.81</i>	<i>0.0025</i>
<i>Interaktion Geschlecht: Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>0.43</i>	<i>0.94</i>

Tabelle 3. Varianzanalyse IGF-I im Jahresprofil nach Geschlecht (n=14)

Die Ergebnisse zeigen, dass das Geschlecht im zweifaktoriellen Design keinen statistisch signifikanten Einfluss auf IGF-I hat ($F(1;12)=2.57$; $p=0.13$), dass also Männer und Frauen sich in der Höhe des IGF-I nicht signifikant unterscheiden. Ein signifikanter Haupteffekt findet sich jedoch für den Faktor Zeit ($F(11;132)=2.81$; $p=0.0025$), das heißt, IGF-I schwankt signifikant über das Jahr. Der Interaktionseffekt zwischen Geschlecht und Zeit ist nicht signifikant ($F(11;132)=0.43$; $p=0.94$), was bedeutet, dass sich die Schwankung bei Männern und Frauen im Jahresprofil nicht signifikant unterscheidet.

4.2.2 Jahresprofil IGF-I nach Altersgruppen bei gesunden Probanden

Zur Beurteilung des Einflusses des Alters der Probanden auf den Serumspiegel von IGF-I wurden zwei Subkollektive von gesunden Probanden mit einem Alter ≤ 30 Jahre ($n=7$) und > 30 Jahre ($n=7$) gebildet. Abbildung 5 stellt den IGF-I-Verlauf der beiden Altersgruppen über das Jahr dar:

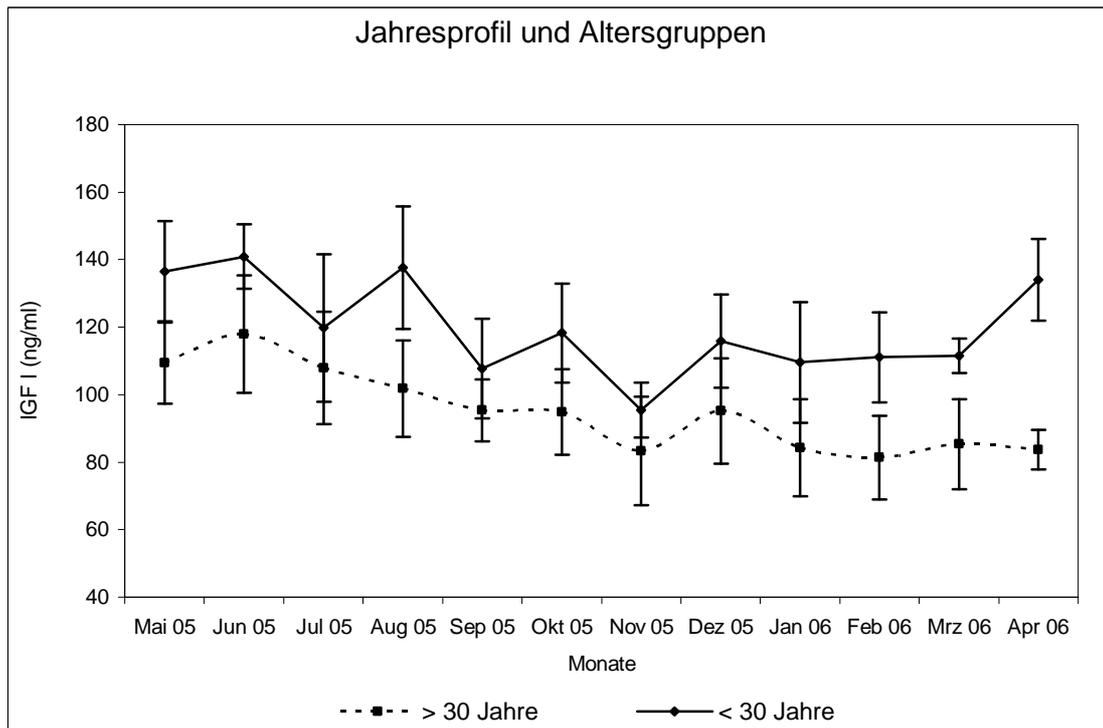


Abbildung 5. Jahresprofil IGF-I nach Altersgruppen (MW und SF, n=14)

Die Mittelwerte von IGF-I waren bei den gesunden Probanden aus der jüngeren Altersgruppe stets höher als bei den Älteren (Mittelwert der unter 30 jährigen übers Jahr: $136,4 \pm 15$ ng/dl, Mittelwert der über 30 jährigen übers Jahr: $109,5 \pm 12,2$ ng/dl). In dem Subkollektiv ≤ 30 Jahre schwankte er zwischen $95,4 \pm 8,2$ ng/dl (Minimum im November 2005) auf $140,9 \pm 9,6$ ng/dl (Maximum im Juni 2005). In der Altersgruppe > 30 lag der Serumwert für IGF-I zwischen $81,4 \pm 12,4$ ng/dl (Minimum im Februar 2006) und $117,9 \pm 17,5$ ng/dl (Maximum im Juni 2005).

Zur statistischen Überprüfung der Konstanz der Mittelwerte im Jahresprofil bei gesunden Probanden der beiden Altersgruppen ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit dem Faktor Alter in zwei Gruppen durchgeführt (Tab.4):

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>132</i>	<i>238.63</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Alter</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>3.52</i>	<i>0.09</i>
<i>Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>2.89</i>	<i>0.002</i>
<i>Interaktion Alter: Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>0.76</i>	<i>0.68</i>

Tabelle 4. Varianzanalyse IGF-I im Jahresprofil nach Altersgruppen (n=14)

Die Ergebnisse zeigen, dass das Alter im zweifaktoriellen Design keinen statistisch signifikanten Einfluss auf IGF-I hat ($F(1;12)=3.52$; $p=0.09$). Jedoch zeigt sich mit $p=0.09$ ein Trend, dass das Alter einen Effekt auf den Serumspiegel von IGF-I hat. Ein hochsignifikanter Haupteffekt findet sich erneut für den Faktor Zeit ($F(11;143)=2.88$; $p=0.002$). Auch hier lassen die Serumkonzentrationen von IGF-I bezogen auf die zeitliche Schwankung in beiden Kollektiven signifikante Differenzen über das Jahr hinweg erkennen. Es zeigte sich kein Interaktionseffekt zwischen Alter und Zeit: ($F(11;132)=0.76$; $p=0.68$), d.h. die Jahresschwankung besteht unabhängig vom Alter.

4.2.3 Jahresprofil IGF-I nach Altersgruppen und Geschlecht

Zur näheren Veranschaulichung eines Effekts des Alters auf den IGF-I-Spiegel wurden die Messwerte von IGF-I bei beiden Geschlechtern separat nach Altersgruppen differenziert. Es ergab sich folgendes Bild (Abb. 6 und 7):

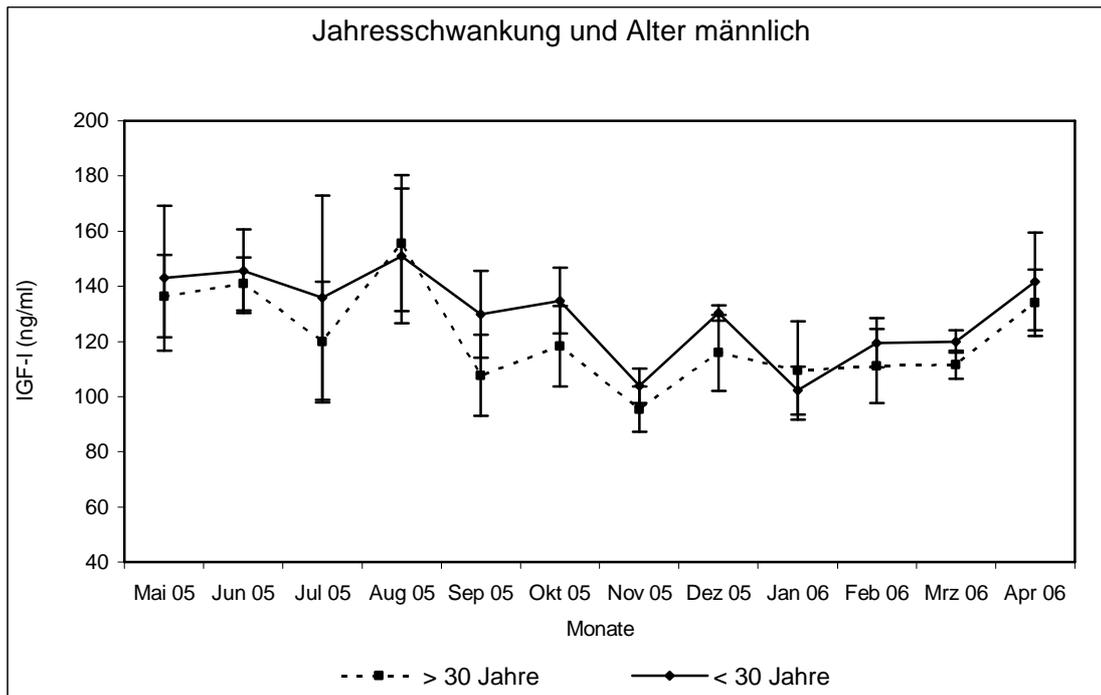


Abbildung 6. Jahresprofil IGF-I bei Männern, altersabhängig (MW und SF, n=7)

Männer ≤ 30 Jahre hatten eine durchschnittliche IGF-I-Konzentration von $129,8 \pm 14,9$ ng/dl. Sie schwankte zwischen $102,2 \pm 8,6$ (Minimum im Januar 2006) und $151 \pm 24,4$ ng/dl (Maximum im Juni 2005). Männer ≥ 30 Jahre hatten eine durchschnittliche IGF-I-Konzentration von $106,5 \pm 24,6$ ng/dl. Sie schwankte zwischen $88,2 \pm 7,9$ ng/dl (Minimum im April 2006) und $120,6 \pm 36,2$ ng/dl (Maximum im Juni 2005).

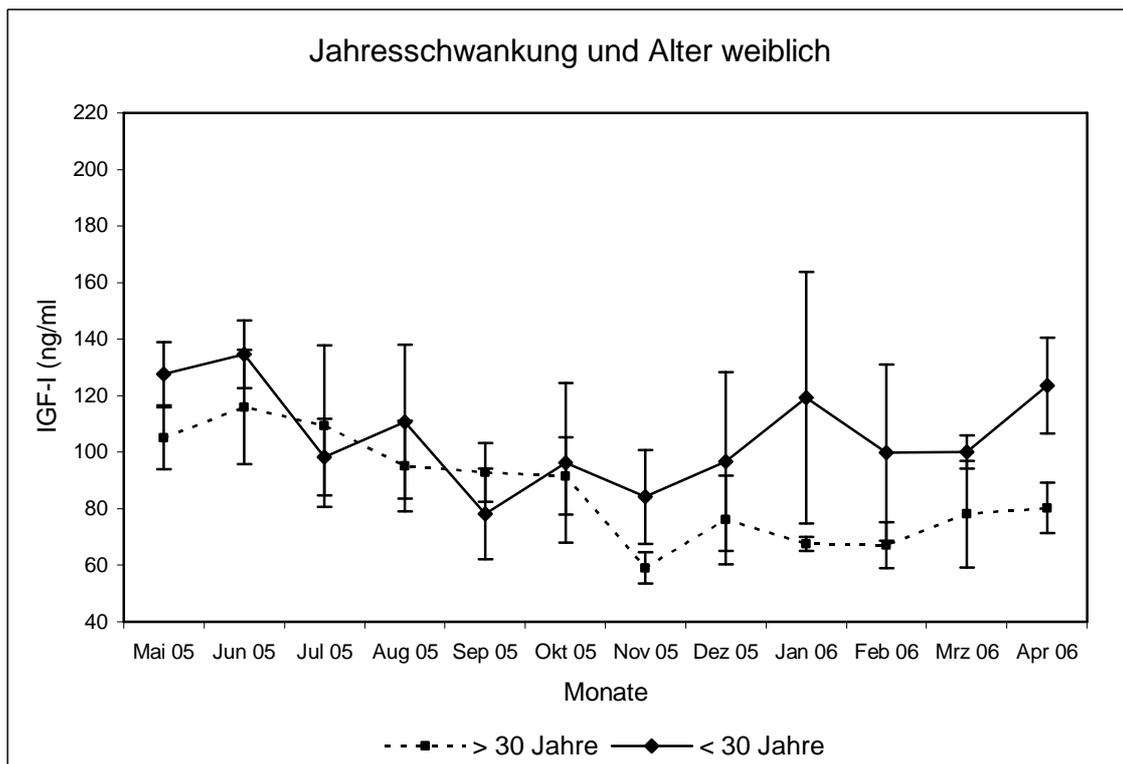


Abbildung 7. Jahresprofil IGF-I bei Frauen, altersabhängig (MW und SF, n=7)

Frauen ≤ 30 Jahre hatten eine durchschnittliche IGF-I-Konzentration von $110,1 \pm 23,5$ ng/dl. Sie schwankte zwischen $84,2 \pm 16,6$ (Minimum im November) und $161,9 \pm 54,6$ ng/dl (Maximum im August 2005). Frauen ≥ 30 Jahre hatten eine durchschnittliche IGF-I-Konzentration von $86,5 \pm 13,3$ ng/dl. Sie schwankte zwischen $59,1 \pm 5,6$ ng/dl (Minimum im November 2005) und $116 \pm 20,2$ (Maximum im Juni).

Von einer statistischen Überprüfung der Varianz wurde aufgrund der geringen Stichprobenstärke abgesehen.

4.2.4 IGF-I im Jahresprofil, gegliedert in Sommer und Winter

Im Weiteren wurde untersucht, ob die Jahreszeit einen Einfluss auf die Serumkonzentration von IGF-I bei gesunden Probanden hat. Zur Verdeutlichung möglicher Zusammenhänge wurden für den Winter die Mittelwerte der Messwerte von 12-05 bis 2-06, für Sommer die Mittelwerte der Messwerte von 6-05 bis 8-05 von IGF-I berechnet.

Dabei ergab sich folgendes Ergebnis (Abb. 8):

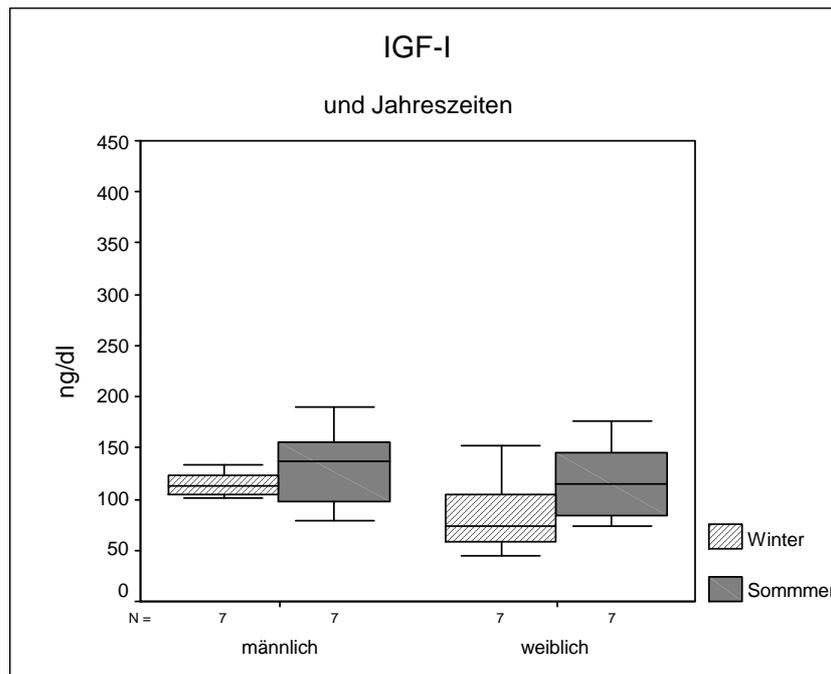


Abbildung 8. IGF-I in Abhängigkeit von den Jahreszeiten

Männer hatten während der Sommerzeit einen durchschnittlichen IGF-I-Serumspiegel von $130,6 \pm 26,5$ (Median: 136,3), Frauen von $117,4 \pm 16,9$ (Median: 114,5). Während der Wintermonate hatten Männer einen durchschnittlichen Serumspiegel von IGF-I von $113,1 \pm 16,9$ (Median: 113,7), Frauen von $85,3 \pm 22,3$ (Median 73,9).

Bezogen auf das nach Jahreszeiten und Geschlecht bzw. Alter differenzierte Profil der Serumkonzentration von IGF-I zeigen sich folgende Werte (Tab. 5):

		<i><= 30 Jahre</i>		<i>> 30 Jahre</i>	
		<i>Mittelwert ± SF</i>	<i>Median</i>	<i>Mittelwert ± SF</i>	<i>Median</i>
Männlich	Sommer	144,1 ± 25,6	147,5	112,5 ± 27,5	94,6
	Winter	117,3 ± 6,8	119	109,2 ± 27,1	102
Weiblich	Sommer	131,6 ± 26,7	119	106,8 ± 21,6	89,7
	Winter	105,3 ± 35,8	105	70,3 ± 8,8	67,8

Tabelle 5. IGF-I, Altersgruppen, Geschlecht und Jahreszeiten (n=14)

Es wird deutlich, dass in beiden Altersgruppen bei beiden Geschlechtern eine Differenz der Mittelwerte zwischen Sommer und Winter besteht. Die Serumkonzentration von IGF-I ist in allen Subkollektiven jeweils im Sommer höher als im Winter.

4.2.4.1 IGF-I nach Geschlecht, gegliedert in Sommer und Winter

Zur statistischen Überprüfung der Wechselwirkungen der Mittelwerte zwischen Sommer und Winter bei gesunden Probanden wurde erneut eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit dem Faktor Geschlecht durchgeführt (Tab.6):

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>178.98</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Geschlecht</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>1.72</i>	<i>0.21</i>
<i>Jahreszeit</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>5.95</i>	<i>0.016</i>
<i>Interaktion Geschlecht:Jahreszeit</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>0.03</i>	<i>0.86</i>

Tabelle 6. Varianzanalyse IGF-I nach Jahreszeit und Geschlecht (n=14)

Die Ergebnisse zeigen, dass das Geschlecht im zweifaktoriellen Design keinen statistisch signifikanten Einfluss auf IGF-I hat ($F(1;12)=1.72$; $p=0.21$). Ein signifikanter Haupteffekt findet sich für die Jahreszeit ($F(1;69)=6.04$; $p=0.0165$), was bedeutet, dass die Jahreszeit einen Einfluss auf die Höhe von IGF-I hat. Wie Tabelle 5 zeigt, liegt der IGF-I Wert im Sommer höher als im Winter. Der Interaktionseffekt zwischen Geschlecht und Jahreszeit ist nicht signifikant ($F(1;68)=0.03$; $p=0.86$), die Schwankung zwischen Sommer und Winter unterscheidet sich bei Männern und Frauen statistisch nicht signifikant.

4.2.4.2 IGF-I nach Alter, gegliedert in Sommer und Winter

Des Weiteren wurde zur statistischen Überprüfung der Schwankung von IGF-I zwischen Sommer und Winter bei gesunden Probanden eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit dem Faktor Alter ($\leq / > 30$ Jahre) durchgeführt (Tab.7)

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>196.61</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Alter</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>3.08</i>	<i>0.11</i>
<i>Jahreszeit</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>5.95</i>	<i>0.02</i>
<i>Interaktion Alter:Jahreszeit</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>0.005</i>	<i>0.94</i>

Tabelle 7. Varianzanalyse IGF-I nach Jahreszeit und Alter (n=14)

Die Ergebnisse zeigen, dass das Alter im untersuchten Kollektiv im zweifaktoriellen Design keinen statistisch signifikanten Einfluss auf IGF-I hat ($F(1;12)=3.08$; $p=0.1049$). Ein signifikanter Haupteffekt findet sich wiederum für die Jahreszeit ($F(1;69)=6.04$; $p=0.0165$), was bedeutet, dass die Serumkonzentration von IGF-I einer signifikanten Schwankung zwischen Sommer und Winter unterliegt. Anhand der Mittelwerte ist sichtbar, dass die Serumwerte im Sommer höher waren als im Winter (Tab.5). Die Schwankung zwischen Sommer und Winter unterscheidet sich zwischen den beiden Altersgruppen statistisch nicht signifikant (Interaktionseffekt $F(1;68)=0.005$; $p=0.94$).

4.3 Jahresprofil von IGFBP-3

Im Weiteren wurde ein Jahresprofil der IGFBP-3 Konzentrationen von gesunden Probanden erstellt. Hierbei soll untersucht werden, ob sich die bei IGF-I entdeckte Jahresschwankung auch in dessen Bindungsproteinen zeigt. Es ergibt sich folgende Verteilung von IGFBP-3 über das Jahr (Abb. 9):

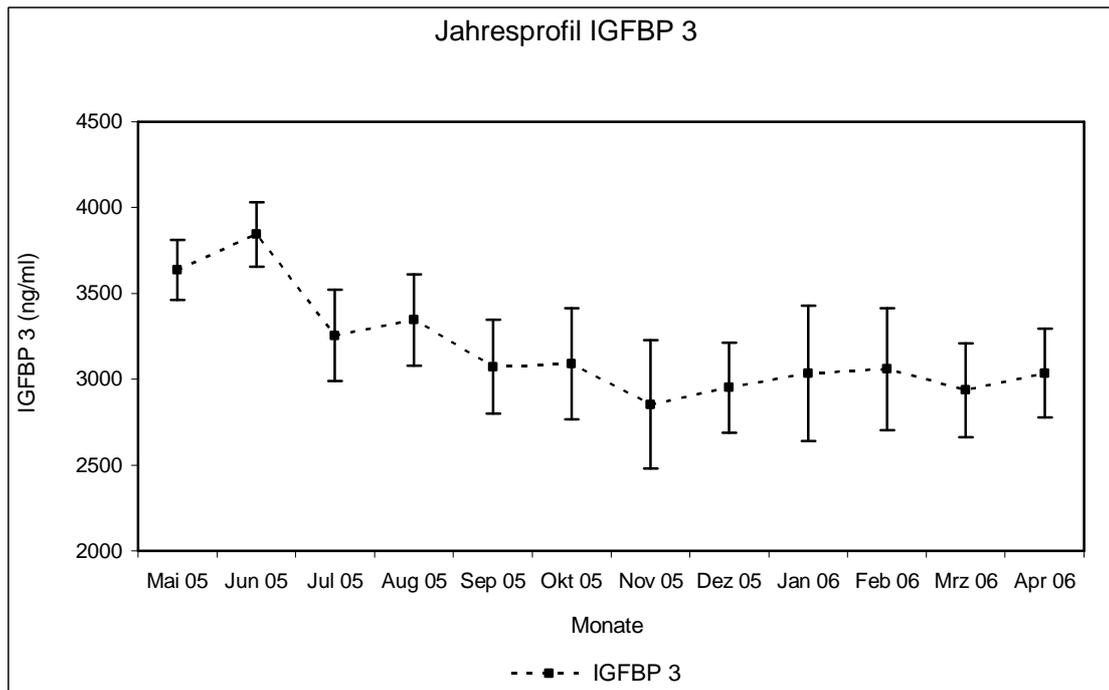


Abbildung 9. IGFBP-3 im Jahresprofil (MW und SF, n=14)

In dem Kollektiv der 14 gesunden Probanden schwankte der Mittelwert der IGFBP-3-Konzentrationen während 12 Monaten um einen Jahresmittelwert von $3176,9 \pm 192,7$ ng/ml. Er lag mit $3637,1 \pm 176,3$ im Mai 2005 und $3843,6 \pm 186,6$ im Juni 2005 am höchsten, die niedrigste Durchschnittskonzentration wurde mit $2852,1 \pm 373,8$ ng/dl im November 2005 gemessen.

4.3.1 Jahresprofil IGFBP-3 nach Geschlecht bei gesunden Probanden

Um den Einfluss des Geschlechts der Probanden auf den Serumspiegel von IGFBP-3 zu beurteilen, wurde das Jahresprofil abermals in zwei Subkollektive – männlich/ weiblich – differenziert. Dabei ergibt sich folgende Verteilung (Abb. 10):

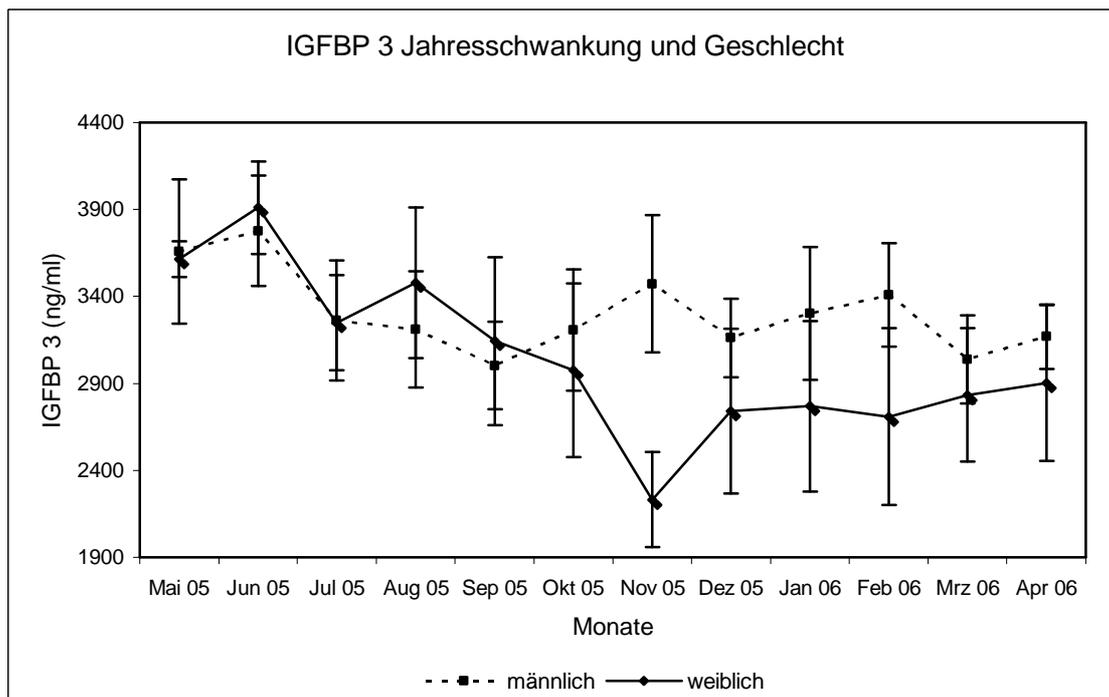


Abbildung 10. Jahresprofil IGFBP-3 nach Geschlecht (MW und SF, n=14)

In den beiden Subkollektiven von je 7 gesunden Männern und Frauen zeigten sich in der Abbildung während 12 Monaten Schwankungen des Mittelwerts von IGFBP-3. Bei Männern schwankte IGFBP-3 zwischen $3002,8 \pm 251,5$ (Minimum im September 2005) und $3777,1 \pm 317,2$ ng/dl (Maximum im Juni 2005). Bei Frauen schwankte die IGFBP3-Konzentration zwischen $2231,4 \pm 273,8$ (Minimum im November 2005) und 3910 ng/dl $\pm 266,1$ (Maximum im Juni 2005).

Zur statistischen Überprüfung der Konstanz der Mittelwerte im Jahresprofil bei gesunden Probanden wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit den Faktoren Geschlecht und Zeit durchgeführt (Tab.8):

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>132</i>	<i>260.15</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Geschlecht</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>0.43</i>	<i>0.52</i>
<i>Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>1.68</i>	<i>0.08</i>
<i>Interaktion Geschlecht: Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>0.85</i>	<i>0.59</i>

Tabelle 8. Varianzanalyse IGFBP-3 im Jahresprofil nach Geschlecht (n=14)

Die Ergebnisse zeigen erneut, dass das Geschlecht im zweifaktoriellen Design keinen statistisch signifikanten Einfluss auf IGFBP-3 hat ($F(1;12)=0.43$; $p=0.5227$), dass also Männer und Frauen im untersuchten Kollektiv sich in der Höhe des IGFBP-3 nicht signifikant unterscheiden. Der Interaktionseffekt zwischen Geschlecht und Zeit ist nicht signifikant ($F(11;132)=0.85$; $p=0.5951$), die Schwankung von IGFBP-3 im Jahresprofil sind bei Männern und Frauen nicht signifikant unterschiedlich. Zwar findet sich in dieser nach Geschlechtern getrennten Analyse auch kein signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit ($F(11;132)=1.68$; $p=0.0839$), jedoch zeigt sich ein Trend ($p=0.08$), dass die Jahreszeit einen Einfluss auf die Höhe von IGFBP-3 hat.

4.3.2 Jahresprofil IGFBP-3 nach Altersgruppen bei gesunden Probanden

Zur Beurteilung des Einflusses des Alters der Probanden auf den Verlauf der IGFBP-3-Serumspiegel über das Jahr wurden zwei Subkollektive von gesunden Probanden mit einem Alter ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre gebildet. Dabei ergab sich folgendes Bild (Abb. 11):

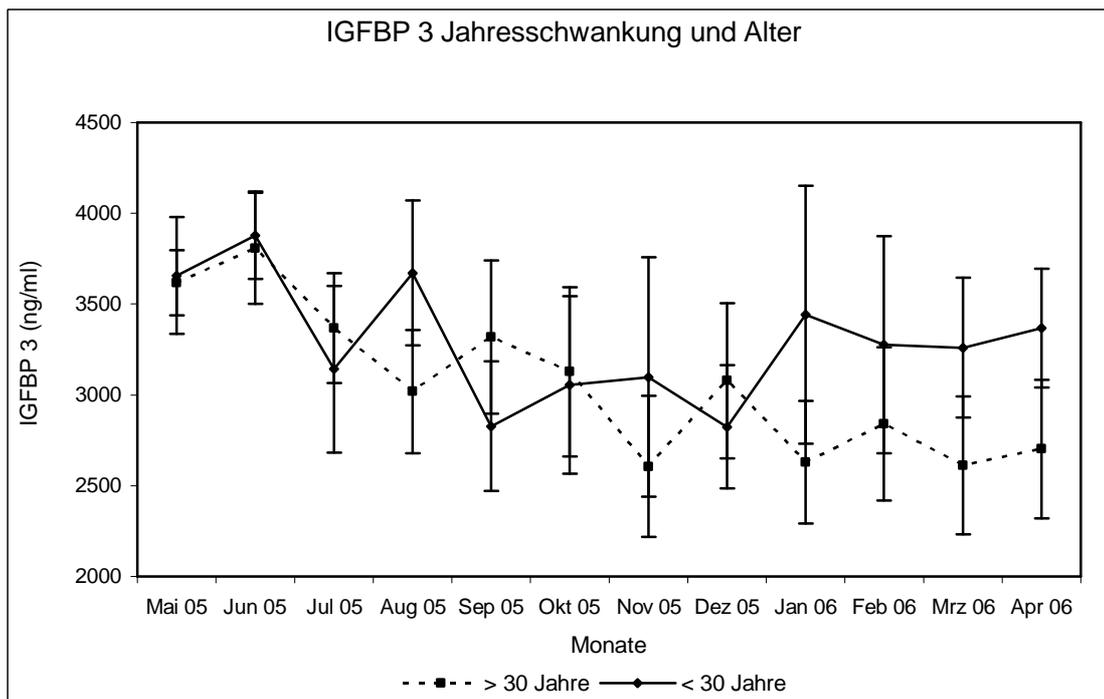


Abbildung 11. Jahresprofil IGFBP-3 nach Altersgruppen (MW und SF, n=14)

In den beiden Subkollektiven von je über 30 und unter 30 Jahre alten Probanden schwankten die Werte von IGFBP-3 während 12 Monaten, und zwar um einen Jahresmittelwert von $3291,4 \pm 440,3$ ng/dl bei den unter 30 jährigen und um $3060,7 \pm 362,4$ ng/dl bei den über 30 jährigen. In dem Subkollektiv ≤ 30 Jahre schwankte IGFBP-3 zwischen $2822,9 \pm 339,3$ ng/dl (Minimum im Dezember 2005) und $3878,6 \pm 240,1$ ng/dl (Maximum im Juni 2005). In der Altersgruppe > 30 Jahre lag der Serumwert für IGFBP-3 zwischen $2605,7 \pm 388,4$ ng/dl (Minimum im November 2005) und $3808,6 \pm 305,5$ ng/dl (Maximum im Juni 2005).

Das Ergebnis der statistischen Überprüfung der Varianzen der Mittelwerte im Jahresprofil bei gesunden Probanden in den beiden Altersgruppen ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre, durchgeführt mithilfe einer zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit den Faktoren Alter und Zeit, zeigt sich in folgender Tabelle (Tab. 9):

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>132</i>	<i>258.20</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Alter</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>0.34</i>	<i>0.57</i>
<i>Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>1.69</i>	<i>0.08</i>
<i>Interaktion Alter: Zeit</i>	<i>11</i>	<i>132</i>	<i>0.91</i>	<i>0.53</i>

Tabelle 9. Varianzanalyse IGFBP-3 im Jahresprofil nach Altersgruppen (n=14)

Erneut wurde kein Hinweis auf einen Haupteffekt des Alters gefunden ($F(1;12)=0.34$; $p=0.5704$). Zudem zeigte sich kein Interaktionseffekt von Alter und Zeit ($F(11;132)=0.91$; $p=0.53$). Dies bedeutet, dass das Alter im untersuchten Kollektiv keinen Einfluss auf den IGFBP-3 Spiegel hat, und sich zudem die Jahresschwankung in beiden Altersgruppen ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre nicht unterscheidet. Für den Faktor Zeit ($F(11;132)=1.69$; $p=0.0818$) präsentiert sich zwar ebenfalls kein signifikanter Effekt auf die IGFBP-3-Konzentration im Jahresverlauf, jedoch weist erneut der Trend von $p=0.08$ darauf hin, dass der IGFBP-3 Spiegel im Jahresverlauf schwankt.

4.3.3 IGFBP-3 im Jahresprofil, gegliedert nach Jahreszeiten

Des Weiteren wurde untersucht, ob sich die beobachteten Schwankungen der IGFBP-3-Konzentrationen mit den Jahreszeiten in Zusammenhang stehen und ob dies bei Männern und Frauen gleichermaßen der Fall ist. Zur Verdeutlichung möglicher Zusammenhänge wurden wie beim IGF-I auch für IGFBP-3 für den Winter die Quersumme der Messwerte von 12-05 bis 2-06, für den Sommer die Quersumme der Messwerte von 6-05 bis 8-05 berechnet.

Dabei ergab sich folgendes Ergebnis (Abb. 12):

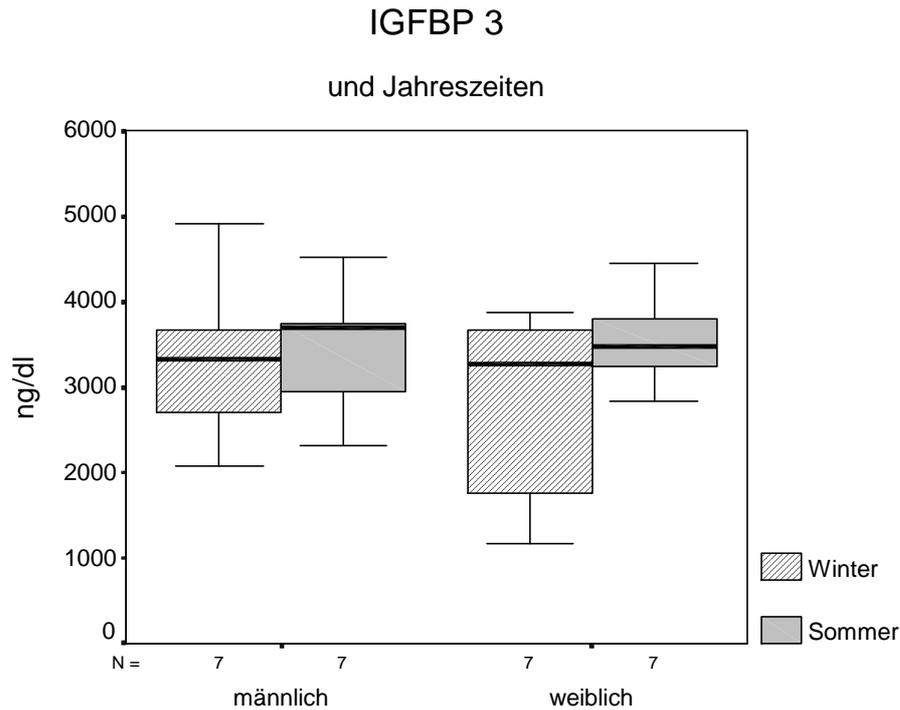


Abbildung 12. IGFBP-3, Jahreszeiten und Geschlecht

In der Boxplot-Darstellung wird deutlich sichtbar, dass trotz der relativ großen Streubreite der Werte die mediane Serumkonzentration auch von IGFBP-3 jeweils im Sommer höher war. Männer hatten während des Sommers einen durchschnittlichen IGFBP-3-Serumspiegel von $3416,2 \pm 289,0$ (Median: 3690,0), Frauen von $3546,2 \pm 203,2$ (Median: 3480,0). Während der Wintermonate hatten Männer einen durchschnittlichen Serumspiegel von IGFBP 3 von $3290,5 \pm 366,0$ (Median: 3316,7), Frauen von $2739,0 \pm 428,9$ (Median 3263,3).

Bezogen auf das nach Jahreszeiten und Geschlecht bzw. Alter differenzierte Jahresprofil der Serumkonzentration von IGFBP 3 zeigen sich folgende Werte (Tab. 10):

		<i><= 30 Jahre</i>		<i>> 30 Jahre</i>	
		<i>Mittelwert ± SF</i>	<i>Median</i>	<i>Mittelwert ± SF</i>	<i>Median</i>
Männlich	Sommer	<i>3542,2 ± 295,8</i>	<i>3693,3</i>	<i>2660,0 ± 236,2</i>	<i>2660,0</i>
	Winter	<i>3492,8 ± 360,8</i>	<i>3375,0</i>	<i>2076,7 ± 301,4</i>	<i>2076,7</i>
Weiblich	Sommer	<i>3769,2 ± 290,1</i>	<i>3800,0</i>	<i>3248,9 ± 208,2</i>	<i>3433,3</i>
	Winter	<i>2563,3 ± 689,7</i>	<i>2613,3</i>	<i>2973,3 ± 536,7</i>	<i>3262,3</i>

Tabelle 10. IGFBP-3, Altersgruppen, Geschlecht und Jahreszeiten (n=14)

Auch hier wird deutlich, dass in beiden Altersgruppen bei beiden Geschlechtern eine Differenz der Mittelwerte zwischen Sommer und Winter besteht. Die Serumkonzentration von IGFBP-3 ist in allen Subkollektiven im Sommer stets höher als im Winter.

4.3.3.1 IGFBP-3 nach Alter, gegliedert in Sommer und Winter

Das Ergebnis der statistischen Überprüfung der Varianzen der Mittelwerte im Jahresprofil bei gesunden Probanden in den beiden Altersgruppen ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre, durchgeführt mit Hilfe einer zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit den Faktoren Alter und Jahreszeit in zwei Gruppen, zeigt sich in folgender Tabelle (Tab. 11):

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Interzept	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>182.97</i>	<i>< 0.0001</i>
Alter	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>0.44</i>	<i>0.52</i>
Jahreszeit	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>1.39</i>	<i>0.24</i>
Interaktion Alter: Jahreszeit	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>3.23</i>	<i>0.08</i>

Tabelle 11. Varianzanalyse IGFBP-3 nach Altersgruppen und Jahreszeit (n=14)

Das Ergebnis der zweifaktoriellen Varianzanalyse zeigt auch bei Analyse der über die Winter- bzw. Sommermonate gemittelten Werte keinen signifikanten Effekt des Alters auf IGFBP-3 ($F(1;12)=0.44$; $p=0.5209$). Auch für den Faktor Jahreszeit selbst ($F(1;68)=1.39$; $p=0.2428$) lässt sich kein signifikanter Haupteffekt feststellen, was bedeutet, dass IGFBP-3 keiner signifikanten Schwankung zwischen Sommer und Winter unterliegt. Für den

Interaktionsfaktor Alter und Jahreszeit präsentiert sich zwar ebenso kein signifikanter Effekt ($F(1;68)=3.23$; $p=0.0769$), jedoch weist $p=0.08$ auf einen Trend hin, dass die Schwankungen zwischen Sommer und Winter sich zwischen den beiden Altersgruppen unterscheiden.

4.3.3.2 IGFBP-3 nach Geschlecht, gegliedert in Sommer und Winter

Zur statistischen Überprüfung der Wechselwirkungen der Mittelwerte zwischen Sommer und Winter bei gesunden Probanden wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit den Faktoren Geschlecht und Jahreszeit durchgeführt (Tab. 12):

	<i>Zähler des Freiheitsgrades</i>	<i>Nenner des Freiheitsgrades</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Interzept</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>178.57</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>Geschlecht</i>	<i>1</i>	<i>12</i>	<i>0.14</i>	<i>0.72</i>
<i>Jahreszeit</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>1.38</i>	<i>0.24</i>
<i>Interaktion Geschlecht: Jahreszeit</i>	<i>1</i>	<i>68</i>	<i>2.81</i>	<i>0.09</i>

Tabelle 12. Varianzanalyse IGFBP-3 nach Geschlecht und Jahreszeit ($n=14$)

Die Ergebnisse zeigen, dass das Geschlecht im zweifaktoriellen Design keinen statistisch signifikanten Einfluss auf IGFBP-3 hat ($F(1;12)=0.14$; $p=0.7167$). Auch für den Faktor Jahreszeit ($F(1;68)=1.38$; $p=0.2441$) findet sich hier kein signifikanter Haupteffekt auf die IGFBP-3-Konzentration. Der Interaktionseffekt zwischen Geschlecht und Jahreszeit ist zwar ebenfalls nicht signifikant ($F(1;68)=2.81$; $p=0.0983$), jedoch weist $p=0.098$ auf einen Trend hin, dass sich die Schwankungen zwischen Sommer und Winter zwischen Männern und Frauen unterscheiden. Dies würde zu der Darstellung im Boxplot (Abbildung 12) passen, bei der sich der Unterschied zwischen den IGFBP-3-Werten im Sommer und im Winter ja auch bei den Frauen deutlicher darzustellen scheint.

4.4 OGTT bei Gesunden und bei Patienten mit Akromegalie oder PCO-Syndrom

Mit dem oralen Glukose-Toleranz-Test sollte schließlich überprüft werden, ob kurzfristig nutritive Einflüsse die Stabilität bzw. Varianz der IGF-I-Konzentration verändern können. Hierbei sollten sowohl Patienten mit Akromegalie, die ja häufig eine gestörte Glukosetoleranz aufweisen, als auch Patientinnen mit PCO-Syndrom, die ebenfalls eine gestörte Glukosetoleranz aufweisen, jedoch an keiner Wachstumshormonassoziierten Erkrankung leiden, untersucht werden.

Es wurden in den drei Subkollektiven gleichzeitig sowohl die IGF-I-Konzentration als auch der Blutzuckerwert zunächst als Nüchternwert um 8:00 und in definierten zeitlichen Abständen nach Trinken einer Glukoselösung (75g) gemessen.

4.4.1 IGF-I beim OGTT

Es wurden folgende Mittelwerte von IGF-I und deren Standardfehler zu den Zeitpunkten 8:00 Uhr (Nüchternwert), 8:30, 9:00, 10:00 und 11:00 Uhr berechnet (Abb. 13):

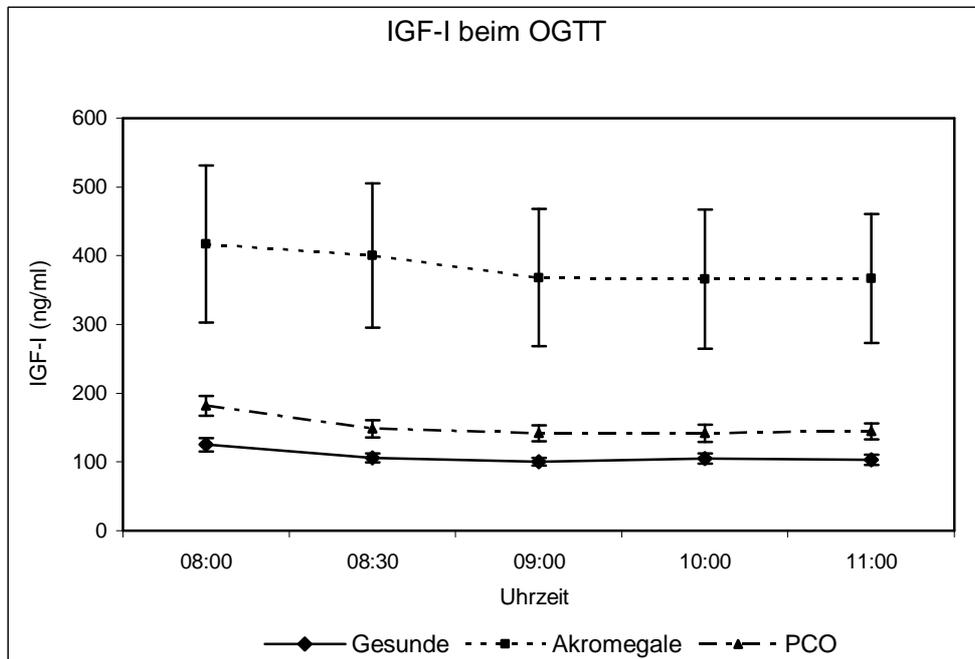


Abbildung 13. IGF-I beim OGTT in den 3 Subkollektiven (MW und SF, n=57)

Vom Ausgangswert von $125,1 \pm 9,7$ ng/dl beim OGTT um 8:00 Uhr sank IGF-I im Kollektiv der gesunden Probanden bis auf $103,2 \pm 5,9$ um 9:00 Uhr und veränderte sich in

der restlichen Zeit wenig. Im Kollektiv der Patienten mit Akromegalie lag er um 8:00 Uhr bei $416,8 \pm 114,7$ ng/dl und sank auf minimal $365,8 \pm 101,2$ um 10:00 Uhr. Im Kollektiv der 29 Frauen mit PCO lag er um 8:00 Uhr bei $181,8 \pm 14,6$ ng/dl und sank auf minimal $142,1 \pm 11,6$ um 10:00 Uhr.

Zur Überprüfung der Signifikanz wurde ein t-Test bei gepaarten Stichproben gerechnet. Es zeigten sich folgende Mittelwertsdifferenzen der einzelnen Messzeitpunkte gegenüber dem Nüchternwert in den drei Subkollektiven (Tab. 13):

	<i>Gesunde</i>		<i>Akromegale</i>		<i>PCO</i>	
<i>Messzeitpunkte</i>	<i>mittl. Differenz ± SF</i>	<i>p</i>	<i>mittl. Differenz ± SF</i>	<i>p</i>	<i>mittl. Differenz ± SF</i>	<i>p</i>
<i>8.00 – 8:30</i>	<i>19,2 ± 5,8</i>	<i>< 0.01</i>	<i>16,6 ± 16,1</i>	<i>n.s.</i>	<i>34,4 ± 4,5</i>	<i>< 0.01</i>
<i>8:00 – 9.00</i>	<i>24,9 ± 6,9</i>	<i>< 0.01</i>	<i>48,9 ± 16,2</i>	<i>< 0.01</i>	<i>37,0 ± 3,9</i>	<i>< 0.01</i>
<i>8.00 – 10.00</i>	<i>19,9 ± 6,0</i>	<i>< 0.01</i>	<i>51,0 ± 16,3</i>	<i>< 0.01</i>	<i>39,8 ± 5,4</i>	<i>< 0.01</i>
<i>8.00 – 11.00</i>	<i>21,8 ± 7,5</i>	<i>< 0.05</i>	<i>50,0 ± 22,5</i>	<i>< 0.05</i>	<i>37,3 ± 4,8</i>	<i>< 0.01</i>

Tabelle 13. MW-Differenzen IGF-I im OGTT, Vergleich Nüchternwert (n=57)

Bei Gesunden und bei Frauen mit PCO sank die Konzentration von IGF-I zu allen Messzeitpunkten nach der oralen Zufuhr von Glukose hochsignifikant ($p < 0.01$) oder signifikant ($p < 0.05$) ab. Bei Patienten mit Akromegalie war der Abfall der IGF-I-Konzentration gegenüber dem Ausgangswert erst nach 1 Stunde signifikant. In allen 3 Gruppen erreichten die IGF-I-Werte auch nach 3 Stunden nicht wieder den Ausgangswert.

Untersucht man die Mittelwerte auf eine Differenz jeweils zwischen den aufeinander folgenden Messzeitpunkten im t-Test bei gepaarten Stichproben, zeigten sich folgende Signifikanzen in den einzelnen Subkollektiven (Tab. 14):

	<i>Gesunde</i>		<i>Akromegale</i>		<i>PCO</i>	
<i>Messzeitpunkte</i>	<i>mittl. Differenz ± SF</i>	<i>p</i>	<i>mittl. Differenz ± SF</i>	<i>p</i>	<i>mittl. Differenz ± SF</i>	<i>p</i>
<i>8.00 – 8:30</i>	<i>19,2 ± 5,8</i>	<i>< 0.01</i>	<i>16,6 ± 16,6</i>	<i>n.s.</i>	<i>34,4 ± 4,5</i>	<i>< 0.01</i>
<i>8:30 – 9.00</i>	<i>5,7 ± 4</i>	<i>n.s.</i>	<i>32,2 ± 9,5</i>	<i>< 0.01</i>	<i>2,8 ± 3,8</i>	<i>n.s.</i>
<i>9.00 – 10.00</i>	<i>-5,0 ± 3,6</i>	<i>n.s.</i>	<i>2,1 ± 5,5</i>	<i>n.s.</i>	<i>2,3 ± 3,7</i>	<i>n.s.</i>
<i>10.00 – 11.00</i>	<i>2,0 ± 6,6</i>	<i>n.s.</i>	<i>-1,0 ± 12,8</i>	<i>n.s.</i>	<i>-2,5 ± 3,3</i>	<i>n.s.</i>

Tabelle 14. MW-Differenzen IGF-I im OGTT, Vergleich zu vorangehendem Wert

Ein hochsignifikantes Absinken der Konzentration von IGF-I konnte bei Gesunden und bei Frauen mit PCO nur jeweils eine halbe Stunde nach der oralen Zufuhr von Glukose festgestellt werden, im Kollektiv der Patienten mit Akromegalie nur zwischen 8:30 und 9:00 Uhr. Das heißt, dass der Abfall der IGF-I-Konzentrationen innerhalb der ersten Stunde nach Glukosebelastung sehr rasch erfolgt. In den darauf folgenden Messzeitpunkten unterschied sich die IGF-I-Konzentration nicht mehr signifikant.

4.4.2 Blutzucker und HOMA

Für die folgenden Untersuchungen des Blutzuckers gegenüber der IGF-I-Konzentration wurde zunächst bei allen drei Kollektiven eine mögliche Insulinresistenz überprüft. Sie wurde mit Hilfe des „Homeostasis Model Assessment“ untersucht. Der HOMA-Index wurde aus folgender Formel berechnet:

HOMA-Index = Insulin (nüchtern, μ U/ml) x Blutzucker (nüchtern, mg/dl) / 405. (Tab. 15):

		<i>HOMA-Index Mittelwert ± SF</i>
<i>Gesunde</i>	<i>8:00</i>	<i>1,2 ± 0,1</i>
<i>Akromegale</i>	<i>8:00</i>	<i>2,4 ± 0,2</i>
<i>PCO</i>	<i>8:00</i>	<i>2,4 ± 0,3</i>

Tabelle 15. HOMA-Index der 3 Kollektive (n=57)

Der Nüchternwert des HOMA-Index lag bei Gesunden unter der für eine Insulinresistenz kritischen Schwelle von 2,0, bei Akromegalen und Patientinnen mit PCO gab es mit einem HOMA-Index von 2,4 erwartungsgemäß einen Hinweis auf Insulinresistenz.

4.4.3 Blutzucker beim OGTT

In allen drei Kollektiven wurde parallel zur IGF-I-Konzentration der Blutzuckerwert bestimmt. Dieser stieg in allen drei Kollektiven 30 Minuten nach der oralen Aufnahme von 75 g Glukose zunächst hochsignifikant an (jeweils $p < 0,01$). Nach weiteren 30 Minuten sank die Blutzuckerkonzentration in allen drei Gruppen wieder ab und zeigte bis zum letzten Messzeitpunkt um 11:00 Uhr wiederum eine hochsignifikante Abnahme (jeweils $p = 0,01$). Der Anstieg des Blutzuckerspiegels als Reaktion auf die Glukosezufuhr und das darauf folgende Absinken entspricht in allen drei Probandengruppen einem physiologischen Verlauf (Green et al., 1997), es fand sich kein signifikanter Unterschied der höchsten erreichten Blutzuckerwerte. Zwar wurden die Insulinkonzentrationen nur basal bestimmt (siehe Berechnung des HOMA-Index), man muss jedoch annehmen, dass die zur Kontrolle der Blutzuckerkonzentration benötigte Insulinmenge in den Gruppen der Akromegalen sowie der Patientinnen mit PCO deutlich höher lagen als bei den Kontrollen.

4.4.4 IGF-I und Blutzucker beim OGTT

Im Weiteren sollte ein möglicher direkter Zusammenhang zwischen dem Blutzucker und der IGF-I-Konzentration untersucht werden. Es wurden zunächst zeitliche Profile beider Werte angefertigt und einander gegenübergestellt.

4.4.4.1 IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Gesunde)

Im Subkollektiv der gesunden Probanden zeigte sich folgende Verteilung von IGF-I und Blutzucker (BZ) beim OGTT (Abb. 14):

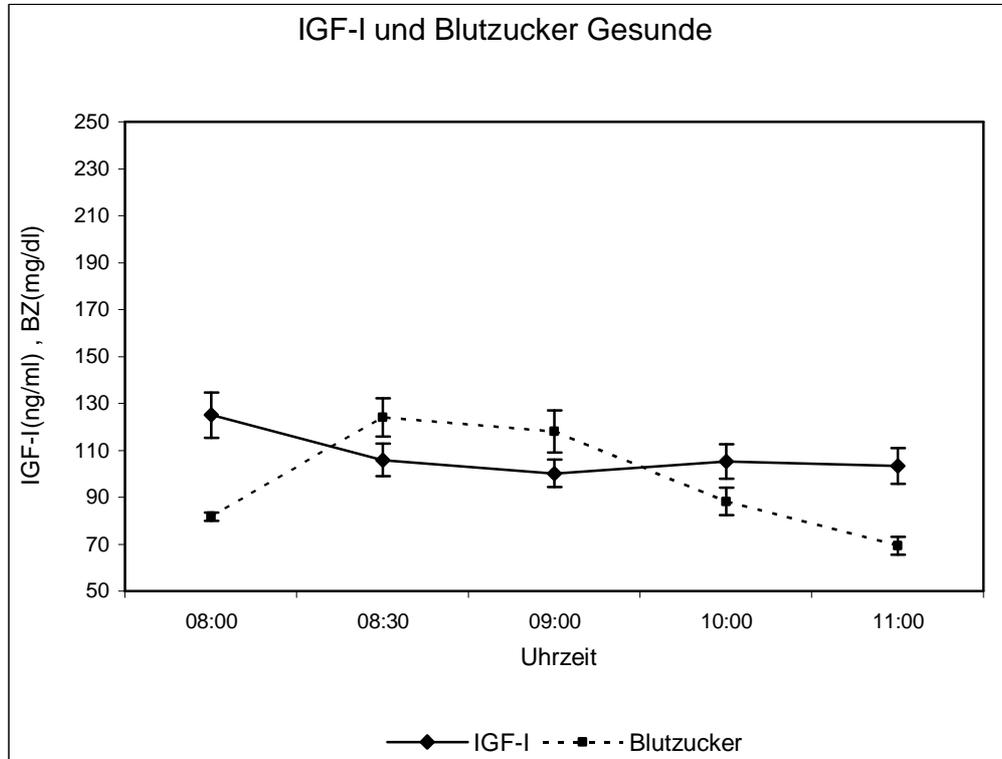


Abbildung 14. IGF-I und BZ beim OGTT (Gesunde, MW und SF, n=14)

Bei Gesunden sank der Wert von IGF-I von $125,1 \pm 9,7$ ng/ml bei Nüchternentnahme um 8:00 Uhr bis auf $103,3 \pm 7,6$ ng/dl um 11:00 Uhr. Gleichzeitig stieg der Blutzuckerspiegel von $81,8 \pm 1,8$ mg/dl auf $124,1 \pm 8,1$ mg/dl um 8:30 Uhr und sank bis auf $69,4 \pm 3,7$ mg/dl um 11:00 Uhr.

4.4.4.2 IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Akromegale)

Im Subkollektiv der an Akromegalie Erkrankten zeigte sich folgende Verteilung von IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Abb. 15):

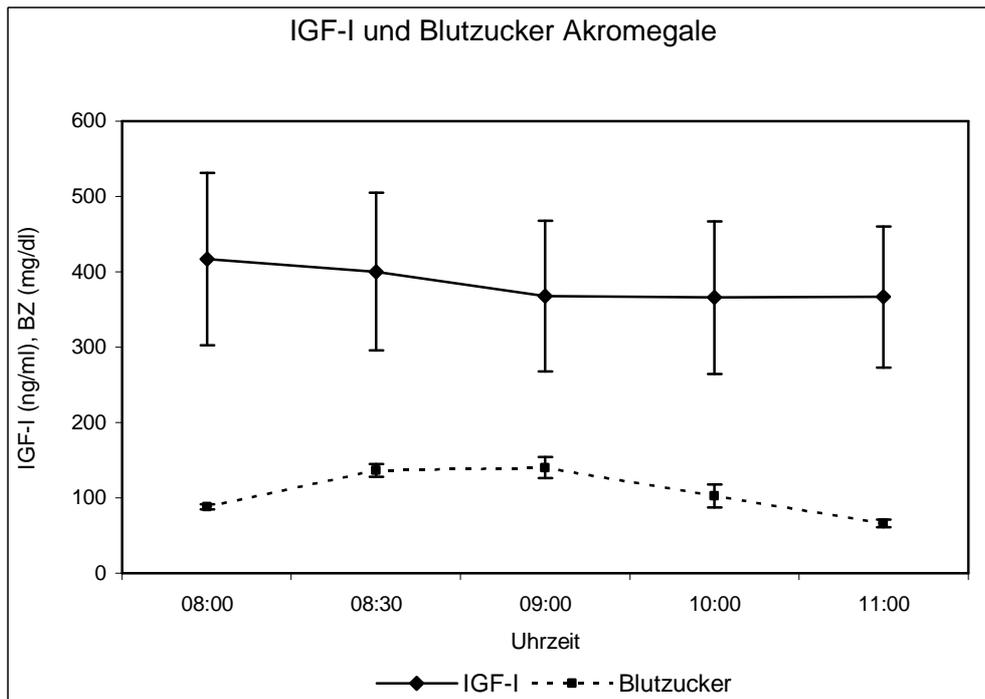


Abbildung 15. IGF-I und BZ beim OGTT (Akromegale, MW und SF, n=14)

Bei Patienten mit Akromegalie war der Serumspiegel von IGF-I gegenüber Gesunden um den Faktor 3,5 höher und sank von $416,8 \pm 114,4$ ng/ml bei Nüchternentnahme um 8:00 Uhr bis auf $366,8 \pm 93,6$ ng/dl um 11:00 Uhr.

Gleichzeitig stieg der Blutzuckerspiegel von $88,8 \pm 3,3$ mg/dl auf $139,9 \pm 14,1$ mg/dl um 9:00 Uhr und sank bis auf $66,1 \pm 5,2$ mg/dl um 11:00 Uhr.

4.4.4.3 IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Frauen mit PCO)

Im Subkollektiv der Frauen mit PCO zeigte sich folgende Verteilung von IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Abb. 16):

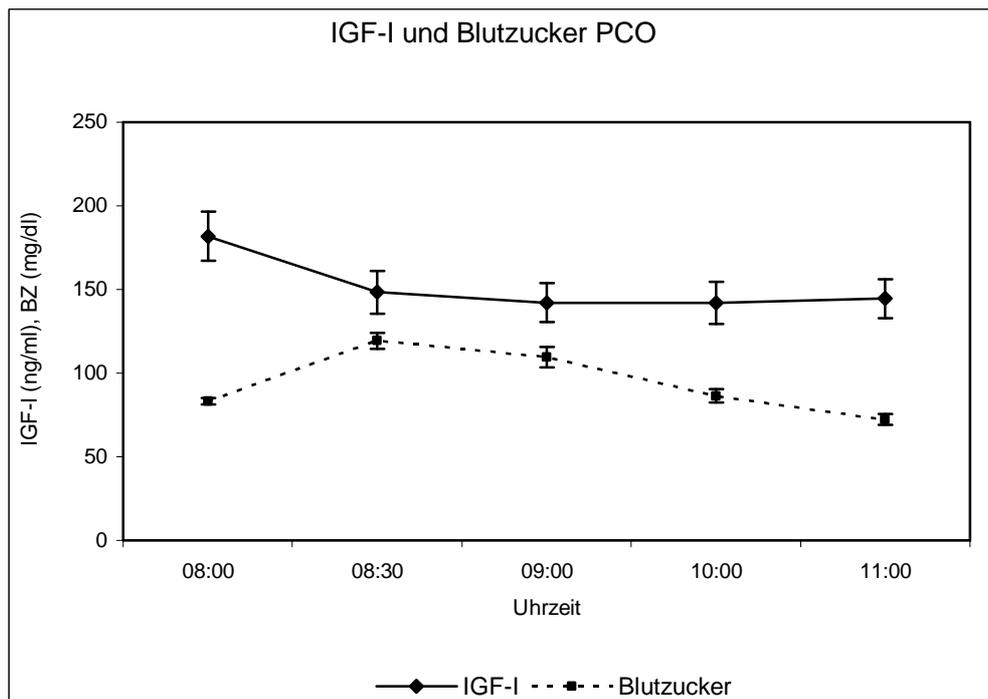


Abbildung 16. IGF-I und BZ beim OGTT (PCO, MW und SF, n=29)

Bei den 29 Frauen mit PCO sank der durchschnittliche Wert von IGF-I von $181,8 \pm 78,4$ ng/ml bei Nüchternentnahme um 8:00 Uhr bis auf $144,5 \pm 11,6$ ng/dl um 11:00 Uhr.

Gleichzeitig stieg der Blutzuckerspiegel von $83,3 \pm 1,9$ mg/dl auf $119,3 \pm 4,8$ mg/dl um 8:30 Uhr und sank bis auf $72,3 \pm 3,3$ mg/dl um 11:00 Uhr.

4.4.4.4 Korrelation IGF-I und Blutzucker

Zur Überprüfung einer Wechselbeziehung zwischen IGF-I dem Blutzuckerspiegel wurde für jedes Subkollektiv eine lineare Regressionsanalyse gerechnet.

Wenn man sämtliche Einzelmessungen von 8 Uhr (Nüchternwert) bis 11 Uhr mittelt, ergibt sich das Profil aus Abbildung 17:

IGF-I und BZ im OGTT

Mittelwerte 8-11 Uhr

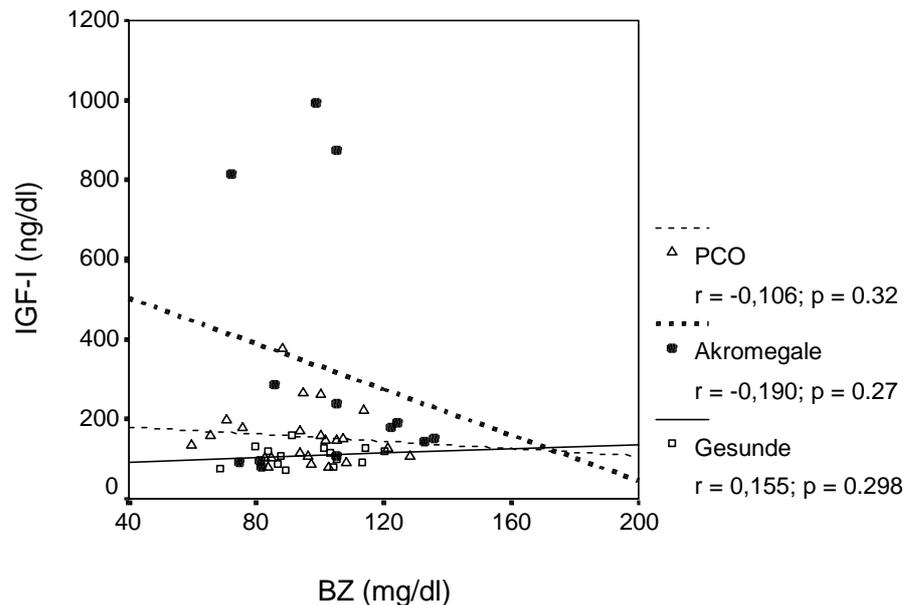


Abbildung 17. Korrelation von IGF-I und Blutzucker beim OGTT

An der Darstellung der Regressionsgeraden ist erkennbar, dass im Subkollektiv der Frauen mit PCO (Regressionskoeffizient $r=-0,106$; $p=0,316$) und bei Gesunden ($r=0,155$; $p=0,298$) keine statistische signifikante Korrelation zwischen dem Blutzuckerspiegel und der Serumkonzentration von IGF-I vorliegt. Im Subkollektiv der Patienten mit Akromegalie zeigt sich zwar ein deutlicherer Effekt. Die negative Korrelation zwischen Blutzucker und IGF-I ist jedoch bei einem Regressionskoeffizienten $r=-0,190$ ebenfalls gering, beruht hauptsächlich auf wenigen sehr hohen basalen IGF-I-Werten und ist nicht signifikant ($p=0,267$).

Zur näheren Untersuchung der Zusammenhänge zwischen IGF-I und Blutzucker bei Akromegalie-Patienten wurden die Messwerte von IGF-I erneut getrennt nach Geschlecht betrachtet.

4.4.4.5 IGF-I und Blutzucker beim OGTT (Akromegale nach Geschlecht)

Bei Männern mit Akromegalie ergab sich folgendes Bild (Abb. 18):

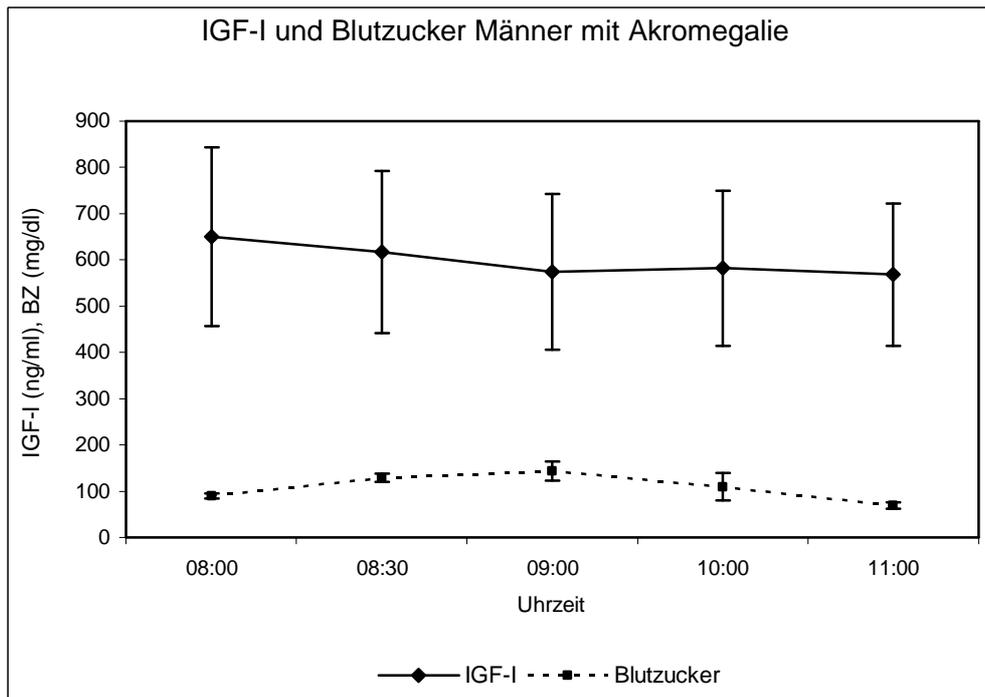


Abbildung 18. IGF-I und BZ beim OGTT (akromegale Männer, MW und SF, n=7)

Bei männlichen Patienten mit Akromegalie sank der Mittelwert von IGF-I von $650 \pm 193,7$ ng/ml bei Nüchternentnahme um 8:00 Uhr bis auf $568,1 \pm 153,8$ ng/dl um 11:00 Uhr.

Gleichzeitig stieg der Blutzuckerspiegel von $89,4 \pm 5,5$ mg/dl auf $143,1 \pm 20,8$ mg/dl um 9:00 Uhr und sank bis auf $69,3 \pm 7$ mg/dl um 11:00 Uhr.

Bei Frauen mit Akromegalie ergab sich folgendes Bild (Abb. 19):

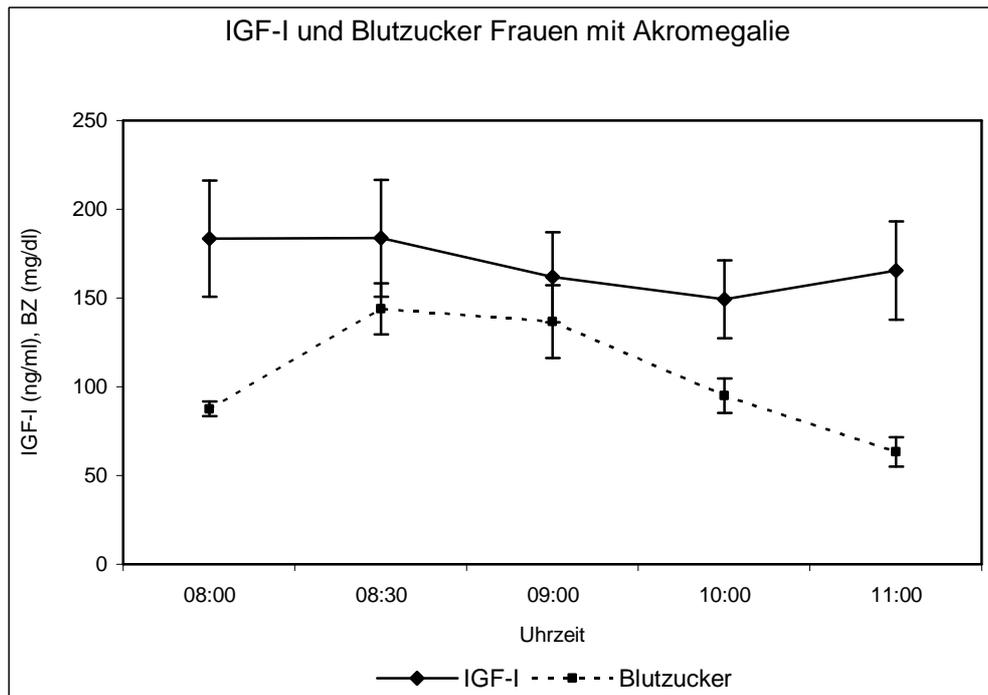


Abbildung 19. IGF-I und BZ beim OGTT (akromegale Frauen, MW und SF, n=7)

Bei weiblichen Patienten mit Akromegalie lag der Mittelwert von IGF-I bei Nüchternentnahme um 8:00 Uhr bei $183,6 \pm 32,7$ ng/dl und war damit um den Faktor 3,5 niedriger als bei Männern. Von dort sank er bis auf minimal $149,4 \pm 21,9$ ng/dl um 10:00 Uhr.

Gleichzeitig stieg der Blutzuckerspiegel von $87,6 \pm 4,3$ mg/dl auf $143,9 \pm 14,4$ mg/dl um 9:00 Uhr und sank bis auf $63,3 \pm 8,3$ mg/dl um 11:00 Uhr.

Zur Überprüfung dieser Mittelwertsdifferenzen zwischen männlichen und weiblichen Probanden im OGTT wurde ein t-Test gerechnet. Die Mittelwerte der IGF-I-Konzentration von Männer (MW= 598,2 ng/dl) und Frauen (MW= 168,8 ng/dl) waren basal und während des OGTT signifikant unterschiedlich ($p=0,05$).

Im Vergleich dazu wurden die Mittelwertsdifferenzen im Tagesprofil bei Akromegalen betrachtet und mit gesunden Probanden verglichen (Tab. 16).

		<i>männlich</i>	<i>weiblich</i>	<i>p</i>
<i>Akromegale</i>	<i>Tagesdurchschnitt IGF-I</i>	<i>233,0</i>	<i>397,1</i>	<i>n.s.</i>
	<i>Durchschnitt IGF-I im OGTT</i>	<i>598,2</i>	<i>168,8</i>	<i><0.05</i>
<i>Gesunde</i>	<i>Tagesdurchschnitt IGF-I</i>	<i>107,6</i>	<i>93,3</i>	<i>n.s.</i>
	<i>Durchschnitt IGF-I im OGTT</i>	<i>116,7</i>	<i>93,2</i>	<i>n.s.</i>

Tabelle 16. Mittelwertvergleich IGF-I im OGTT bei Männern und Frauen

Im Kollektiv der Patienten mit Akromegalie zeigte sich im OGTT ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte zwischen Männern und Frauen. In allen anderen Profilen war der Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Probanden nicht signifikant.

4.5 Resümee der Profile

Im Tagesprofil fanden sich in den beiden gemessenen Kollektiven weder bei gesunden Probanden noch bei Patienten mit Akromegalie signifikante Schwankungen des Serumspiegels von IGF-I.

Im Jahresprofil, welches nur bei gesunden Probanden gemessen wurde, fanden sich hochsignifikante Schwankungen der Serumkonzentration von IGF-I, die im Sommer im Schnitt um 24,5% höher lagen. Bei Differenzierung der Geschlechter zeigte sich, dass die IGF-I-Werte über das Jahr bei Männern im Durchschnitt etwa 20% höher waren als bei Frauen. Dennoch ergab der Interaktionseffekt zwischen Geschlecht und Jahreszeit, dass sich die bei beiden Geschlechtern nachweisbare Schwankung zwischen Sommer und Winter in ihrem Ausmaß untereinander statistisch nicht signifikant unterscheidet. ($p=0.86$). Gliedert man die Jahresschwankungen von IGF-I nach den Altersgruppen ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre auf, zeigten sich bei der jüngeren Altersgruppe stets höhere Werte. Statistisch ergab sich hier zwar keine Signifikanz, jedoch lässt ein Trend ($p=0.09$) die Vermutung zu, dass der bereits bekannte Einfluss des Alters auf die Serumkonzentration von IGF-I auch in dem untersuchten Normalkollektiv vorhanden ist. Zudem lässt sich in allen Subkollektiven ein hochsignifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit finden ($p=0.0025$ und $p=0.002$). Es ließen sich also in allen Untergruppen bezüglich der Jahreszeit hochsignifikante Schwankungen der Serumkonzentrationen von IGF-I über das Jahr hinweg erkennen.

In der zusammenfassenden Betrachtung der Jahresprofile nach „Sommer“ und „Winter“ bestätigt sich diese Schwankung als signifikant. Unterscheidet man das Jahresprofil in Sommer und Winter, finden sich signifikant höhere Mittelwerte von IGF-I im Sommer bei beiden Geschlechtern ($p=0.016$) und in beiden Altersgruppen ($p=0.017$).

Dieser Befund konnte in der Tendenz auch bei der Untersuchung der Konzentrationen des wichtigsten IGF-Bindungsproteins IGFBP-3 bestätigt werden: Auch hier ergaben sich Schwankungen der Mittelwerte über das Jahr hinweg. Zwar ließ sich bei der detaillierten Betrachtung unter Berücksichtigung von Altersgruppe und Geschlecht keine Signifikanz, immerhin aber ein Trend zu Schwankungen mit höheren Werten im Sommer feststellen. Bei der Gliederung des Jahresprofils in Sommer und Winter zeigte sich bei der nach Altersgruppe und Geschlecht getrennten Untersuchung in beiden Fällen im Interaktionsfaktor ein Trend zur Signifikanz. Die jahreszeitlichen Schwankungen scheinen sich also sowohl in beiden Altersgruppen ($p=0.077$), als auch bei Männer und Frauen ($p=0.098$) voneinander zu unterscheiden, wobei sich die stärkste Schwankung in der Gruppe der Frauen >30 Jahre findet.

Im OGTT wurde im Kollektiv der Gesunden und der Frauen mit PCO zu den ersten drei Messzeitpunkten nach oraler Glucosegabe (8:30,9:00,10:00 Uhr) eine hochsignifikante Absenkung von IGF-I gegenüber dem Nüchternwert festgestellt. Bei Patienten mit Akromegalie war dies (parallel zum etwas späteren Erreichen des Maximums der Blutzuckerspiegel) erst nach einer und zwei Stunden zu beobachten (9:00,10:00 Uhr). Nach drei Stunden war dieser Unterschied zum Ausgangswert bei den Gesunden und Akromegalen nur noch signifikant ($p<0.05$), bei Patientinnen mit PCO jedoch weiterhin hochsignifikant ($p<0.01$). Allerdings standen in dieser Gruppe auch besonders viele Patientinnen für die Untersuchung bereit ($n=29$). Bei der Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen Blutzucker und IGF-I-Serumkonzentration zeigte sich keine statistische signifikante Korrelation (Korrelationskoeffizient bei Frauen mit PCO $r=-0,106$; $p=0,316$, bei Gesunden $r=0,155$; $p=0,298$, bei Akromegalie-Patienten $r=-0,190$; $p=0,267$). Die Mittelwerte für IGF-I im OGTT wiesen bei den 14 Patienten mit Akromegalie, die für diesen Untersuchungsteil zur Verfügung standen, einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern mit deutlich höheren Werten bei den männlichen Patienten auf.

4.6 IGF-I und BMI

Des Weiteren sollte untersucht werden, ob die IGF-I-Konzentration sich in Abhängigkeit zum Body-Mass-Index verändert. Ohne weitere Differenzierung lag der BMI bei sämtlichen Probanden bei durchschnittlich $24,7 \pm 1 \text{ kg/m}^2$. Dieser Wert entspricht annähernd der von der World-Health-Organisation (WHO) definierten Grenze zwischen Normalgewicht ($<24,9 \text{ kg/m}^2$) und Übergewicht ($>24,9 \text{ kg/m}^2$).

Unterscheidet man die 3 Gruppen ergibt sich folgendes Bild (Tab. 17):

<i>Gesunde</i>	<i>21,9 ± 0,8</i>	<i>kg/m²</i>
<i>Akromegale</i>	<i>25,6 ± 0,8</i>	<i>kg/m²</i>
<i>PCO</i>	<i>23,7 ± 0,8</i>	<i>kg/m²</i>

Tabelle 17. BMI in den verschiedenen Kollektiven

Der Mittelwert der Gesunden und Patientinnen mit PCO lag laut WHO im Normbereich. Der Mittelwert der Akromegalen lag im Bereich einer Präadipositas. Bei der Berechnung der Mittelwertsdifferenzen zwischen den einzelnen Kollektiven durch einen t-Test mit gepaarten Stichproben war der BMI bei Patienten mit Akromegalie im Mittel hochsignifikant ($p < 0.01$) höher als in der Gruppe der gesunden Probanden und der Gruppe der Frauen mit PCO. Die Differenzen des BMI zwischen der Gruppe der Gesunden und der Gruppe der Frauen mit PCO waren nicht signifikant.

Zur Untersuchung des Einflusses des Body-Mass-Index auf den IGF-I-Spiegel wurden gemäß der Adipositas-Klassifikation der WHO zwei neue Subkollektive mit einem BMI $\leq 24,9$ (Normalgewichtige) bzw. einem BMI $> 24,9$ (Übergewichtige) gebildet. Im Gesamtkollektiv hatten 61,4 % ($n=35$) einen BMI $\leq 24,9$, 38,6 % ($n=22$) einen BMI $> 24,9$. Um das Verhältnis zum IGF-I-Wert zu untersuchen, wurde der basale IGF-I-Wert herangezogen, der beim ersten OGTT-Messzeitpunkt festgestellt wurde, da es sich zum einen um die Nüchternentnahme handelt, also nicht durch Nahrungszufuhr beeinflusst war und da dieser Wert zum anderen bei allen Probanden gemessen wurde. Zum Vergleich der IGF-I-Mittelwertsdifferenzen zwischen Übergewichtigen und Normalgewichtigen in den einzelnen Probandengruppen wurde ein t-Test mit gepaarten Stichproben gerechnet. Da für Gesunde das Kriterium „Übergewichtigkeit“ zum Ausschluss dieser Studie führte, konnte der Mittelwert zwischen Normalgewicht und Übergewicht nicht verglichen werden. Sowohl bei Akromegalie-Patienten ($p=0,5$), als auch bei den Patientinnen mit PCO-

Syndrom ($p=0,25$) zeigten sich keine signifikanten Mittelwertsdifferenzen der IGF-I-Werte zwischen Normalgewichtigen ($BMI < 24,9$) und Übergewichtigen ($BMI > 24,9$).

4.7 IGF-I und Kontrazeptiva

Nachdem der Gebrauch von hormonellen Kontrazeptiva nach Literaturdaten einen Einfluss auf die Blutspiegel von IGF-I haben kann, wurde dieser Aspekt bei den gesunden Probandinnen mit erfasst (Tab. 18):

			<i>Gültige n</i>	<i>Mittelwert ± SF</i>
<i>Kontrazeptiva</i>	<i>ja</i>	<i>Tagesdurchschnitt IGF-I</i>	<i>n=6</i>	<i>85,4 ± 11,7</i>
		<i>Jahresdurchschnitt IGF-I</i>	<i>n=6</i>	<i>98,9 ± 10,9</i>
		<i>Durchschnitt IGF-I im OGTT</i>	<i>n=6</i>	<i>99,3 ± 9</i>
	<i>nein</i>	<i>Tagesdurchschnitt IGF-I</i>	<i>n=1</i>	<i>73,7</i>
		<i>Jahresdurchschnitt IGF-I</i>	<i>n=1</i>	<i>83,0</i>
		<i>Durchschnitt IGF-I im OGTT</i>	<i>n=1</i>	<i>75,3</i>

Tabelle 18. Kontrazeptiva und IGF-I

Die erforderlichen Daten zum aktuellen Gebrauch von hormonellen Kontrazeptiva konnte nur von 7 gesunden Teilnehmerinnen der Studie erhoben werden. Danach benutzte nur eine der Frauen keine Kontrazeptiva. Somit waren die Daten nicht statistisch überprüfbar.

4.8 IGF-I und Nikotinkonsum

Des Weiteren wurde überprüft, ob Rauchen einen Einfluss auf den Blutspiegel von IGF-I hat. Dieser Gesichtspunkt wurde von Gesunden (4 Raucher, 8 Nichtraucher) im Tagesprofil, Jahresprofil und im OGTT und von PCO-Patientinnen (4 Raucherinnen, 19 Nichtraucherinnen) im OGTT erfasst (Tab. 19):

			<i>Gültige n</i>	<i>Mittelwert ± SF</i>
<i>Rauchen</i>	<i>ja</i>	<i>Tagesdurchschnitt IGF-I</i>	<i>4</i>	<i>84,6 ± 14</i>
		<i>Jahresdurchschnitt IGF-I</i>	<i>4</i>	<i>111,4 ± 17,3</i>
		<i>Durchschnitt IGF-I im OGTT</i>	<i>8</i>	<i>116,8 ± 9,5</i>
	<i>nein</i>	<i>Tagesdurchschnitt IGF-I</i>	<i>8</i>	<i>97,4 ± 11,2</i>
		<i>Jahresdurchschnitt IGF-I</i>	<i>8</i>	<i>114,1 ± 9,3</i>
		<i>Durchschnitt IGF-I im OGTT</i>	<i>27</i>	<i>134,8 ± 9,9</i>

Tabelle 19. Rauchen und IGF-I

In der Analyse mittels t-Test zeigt sich, dass die Mittelwertsdifferenzen in keinem Parameter zwischen Rauchern und Nichtrauchern signifikant waren.

5 Diskussion

5.1 Fragestellung der Arbeit

Für die Diagnose der Akromegalie sind neben der Erfassung der charakteristischen Veränderungen im physischen Erscheinungsbild der Patienten biochemische Kriterien entscheidend. Hierbei entwickelte sich die biochemische Diagnostik parallel zur Entwicklung von Radioimmunoassays, zunächst für hGH, später auch für die Familie von IGF-I bzw. für die zugehörigen Bindungsproteine. Neben der biochemischen Diagnose wird über die Messung dieser Hormone auch eine Verlaufskontrolle der Akromegalie möglich (Ferone et al., 2004). Nachdem über lange Zeit die Messung von hGH – weniger verlässlich in einer Einzelprobe, besser im Profil, am besten definiert jedoch nach oraler Glukosebelastung - im Vordergrund stand, gilt zunehmend auch die quantitative Messung der Konzentration von IGF-I im Serum als probates Mittel für den Nachweis hGH-assoziierter Erkrankungen. Hierbei scheint IGF-I eine geringere Sicherheit bei der Diagnose des hGH-Mangels bei Kindern und Erwachsenen zu bieten als in Diagnostik und Verlaufskontrolle der Akromegalie (Clemmons, 2005).

In manchen Studien werden aber die Messverfahren zur Quantifizierung der Hormone beziehungsweise die verwendeten „Schwellenwerte“ bei diagnostischen Tests, und auch die Referenzwerte für die Beurteilung der Krankheitsaktivität einer Akromegalie und im Hinblick auf einen Heilungserfolg als nicht ausreichend zuverlässig eingeschätzt (Endert et al., 2006; Pekic et al., 2006; Pokrajac-Simeunovic und Trainer, 2004).

Trotzdem werden in vielen Veröffentlichungen solche Patienten als „kontrolliert“ eingestuft, bei denen nach einem OGTT im Serum das hGH unterhalb des Schwellenwerts von 1,0 µg/L absinkt und die Konzentration von IGF-I im Normalbereich verbleibt (De Marinis et al., 2002; Johannson, 2004; Melmed et al., 2002)

Es finden sich aber durchaus Hinweise, dass etablierte Definitionen, wie z.B. die Cortina-Kriterien, nicht sicher ein Rezidiv der Krankheitsaktivität ausschließen können. Dies diagnostischen Unsicherheiten wie die Probleme beim Monitoring der Krankheitsaktivität kommen zu einem großen Teil daher, dass herkömmliche Messverfahren für hGH und IGF-I, mit denen viele der tradierten „Schwellenwerte“ für diagnostische Tests erstellt wurden, nicht ausreichend sensitiv und spezifisch waren. In der Literatur werden

Schwankungen von IGF-I daher hauptsächlich auf die ungenügende Zuverlässigkeit der Labormethodik und nicht auf eine biologische Variabilität zurückgeführt. Untersuchungen, die sich dieser Frage widmen, richten sich auf Methoden, die IGF-I von seinem Bindungsprotein trennt, um eine Inter- und Intra-Assay-Variabilität zu reduzieren (Clemmons, 2001; Clemmons, 2005). Zudem haben Einflussgrößen wie insbesondere das Alter der Patienten eine beträchtliche Einwirkung auf die Serumkonzentration aller Faktoren der hGH/IGF Achse (Webb et al., 2005). Insbesondere beim IGF-I ist eine sinnvolle Beurteilung der Werte nur mit guten altersadjustierten Referenzbereichen möglich, die jedoch leider nicht für viele Messverfahren in ausreichender Qualität zur Verfügung stehen. Seit der Entwicklung und Einführung neuer Messmethoden beschäftigten sich einige Studien mit der Ermittlung eines – jeweils methodenspezifischen - Normbereiches von IGF-I (Chen und Lin, 1999; Elmlinger et al., 2004). Obgleich IGF-I intraindividuell betrachtet als „relativ stabiler Marker“ des hGH-Sekretionsstatus gilt, gibt es nur sehr wenige Veröffentlichungen, die die kurz- bis mittelfristige Variabilität des Wachstumsfaktors IGF-I über in die Untersuchung mit einbeziehen. Zudem ist auch wenig über die kurzfristige Regulation der IGF-I-Konzentration, z.B. als Antwort auf Nahrungsaufnahme, bekannt.

Die vorgelegte Arbeit diskutiert auf Grundlage von eigenen klinischen Untersuchungen und bereits stattgefundenen Analysen, inwiefern die IGF-I-Konzentration intraindividuell stabil ist und somit als verlässlicher Marker für die Diagnostik und Verlaufskontrolle der Krankheit Akromegalie dienen kann.

Es wurden an verschiedenen Probandenkollektiven folgende Fragestellungen untersucht:

1. Schwankt die IGF-I-Konzentration über den Tag?
 - a) bei Gesunden
 - b) bei Akromegalen
2. Schwankt die IGF-I-Konzentration übers Jahr bei Gesunden?
 - a) Wie verhält sich IGF-I (bzw. dessen Variabilität) zum Geschlecht?
 - b) Wie verhält sich die IGF-I (bzw. dessen Variabilität) zum Alter?
 - c) Zeigt die Schwankung jahreszeitliche Unterschiede?

3. Zeigt sich eine eventuelle Schwankung von IGF-I über das Jahr in gleicher Weise auch in seinem Bindungsprotein IGFBP-3, und welche Rolle spielen hierbei Jahreszeit, Alter und Geschlecht?
4. Schwankt IGF-I während des OGTT? Ist somit eine Nüchternentnahme bei der Blutentnahme für die IGF-I- Bestimmung notwendig? Hierbei wurde zudem untersucht, ob sich ein direkter Zusammenhang zur Blutzuckerkonzentration findet, und zwar
 - bei Gesunden
 - bei Akromegalen
 - bei Frauen mit PCO-Syndrom (als Beispiel einer Erkrankung mit Störung der Glukosetoleranz ohne direkte Beteiligung der hGH/IGF-Achse)

Weiterhin wurden verschiedene Einflussgrößen als bekannte, mögliche störende Faktoren dokumentiert und in der Untersuchung berücksichtigt (Body-Mass-Index, Einnahme von Kontrazeptiva, Rauchgewohnheiten).

5.2 Methodische Limitationen der Studien

Bei der Durchführung von klinischen Studien ist es wichtig, dass am Anfang neben einer klar definierten Fragestellung ein entsprechendes, reproduzierbares Studiendesign steht, was die gewonnenen Ergebnisse nachvollziehbar macht und den Vergleich mit Ergebnissen anderer Studien zulässt. Zudem kommt einer geplanten Dokumentation eine entscheidende Rolle zu, da nur so eventuelle systematische oder unvorhergesehene methodische Fehler („bias“) identifiziert und ihr Einfluss auf die Studienergebnisse berücksichtigt bzw. ausgeschlossen werden kann.

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit kann festgehalten werden, dass die Vorgehensweise der einzelnen Studienabschnitte einem vorab strukturierten Protokoll folgte und die endokrinologischen wie insbesondere natürlich auch laborchemischen Untersuchungsmethoden während des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant gehalten wurden. Damit wurde auch eine gemeinsame Auswertung der prospektiv (Jahresprofil, Tagesprofil und OGTTs bei gesunden Probanden bzw. OGTTs bei

Patientinnen mit PCO) und retrospektiv (Tagesprofil und OGTTs bei Patienten mit Akromegalie) erhobenen Daten möglich. Zum zweiten fanden die Probenverarbeitung und alle Hormonbestimmungen unter gleichen Bedingungen im eigenen Labor statt, wurden mit denselben immunometrischen Chemiluminiszenz-Assays mit derselben Reagenziencharge gemessen und waren somit vergleichbar. Zum dritten wurden für die Analyse der nach Cortinakriterien als „geheilt“ oder „sicher“ geltende Standard eines hGH-Nadirs im OGTT unter ≤ 1 ng/ml bei der Beurteilung der Patienten mit Akromegalie verwendet (Endert et al., 2006).

Keiner der gesunden Probanden hat die Untersuchung zu irgendeinem Zeitpunkt abgebrochen. An jedem der Teilnehmer, auch bei den Patienten, konnte das für ihn vorgesehene Versuchsprotokoll komplett durchgeführt werden, es wurden keine Probanden aus der Studie ausgeschlossen.

Um den Vergleich zwischen den gesunden Probanden und akromegalen Patienten nach Möglichkeit exakt zu gestalten, wurde bei der Auswahl der Probanden darauf geachtet, zu den akromegalen Patienten jeweils eine Vergleichsperson mit möglichst analogen biometrischen Daten zu finden. Da absehbarer Weise insgesamt die Rekrutierung eher jüngerer Probanden gelingen würde, wurde von vorneherein auch ein eher junges Kollektiv der akromegalen Patienten für die Studie vorgesehen. Mit Hilfe von ausführlicher Befragung jedes einzelnen Probanden ließen sich denkbare Unterschiede und Einflussgrößen ermitteln.

Trotz dieser Versuche, methodisch eine größtmögliche Konstanz zu erreichen, müssen einige methodische Limitationen diskutiert werden, da sie für die Interpretation der Befunde sowie für die eventuelle Übertragung auf die klinische Praxis von Wichtigkeit sein könnten.

- Insgesamt wurden 57 Probanden untersucht. Insbesondere bei der Untergliederung nach Probanden- bzw. Patientengruppe sowie einer nach Alter und Geschlecht getrennten Analyse schränkt sich die Aussagekraft der Ergebnisse aufgrund sehr geringer Gruppenstärken ein.
- Die Altersverteilung von Patienten wie Probanden (19-48 Jahre) erfasst natürlich nicht alle Altersstufen. Insbesondere wird die Altersgruppe mit den stärksten Veränderungen der IGF-I-Werte, nämlich Kinder und Jugendliche um die Pubertät gar nicht

untersucht. Zudem stellt das Kollektiv der akromegalen Patienten wie oben erwähnt eine vergleichsweise junge Subgruppe der Akromegalen dar. Zusammen genommen mit einer beschränkten Fallzahl lassen sich daher nur eingeschränkt Aussagen zur Relevanz des Alters für die Befunde machen. Diese Limitation erklärt auch, warum sich die ja allgemein bekannte Tatsache des altersabhängigen Abfalls der IGF-I-Werte nur teilweise signifikant zeigen lässt. Nachdem bei Erwachsenen das Geschlecht sowieso nur einen sehr geringen Einfluss auf die Höhe der IGF-I-Werte hat, war zudem nicht zu erwarten, dass man geschlechtsspezifische Differenzen der absoluten Höhe der IGF-I-Werte bei einer Fallzahl von 7 Subjekten pro Gruppe erfassen kann. Dies war freilich auch nicht Ziel der Studie.

- Mit der vorliegenden Studie sollte auch der Einfluss von Nahrung auf die Serumkonzentration von IGF-I untersucht werden. Hierfür wurde aus Gründen der Standardisierung und um den Vergleich mit der Untersuchungssituation bei Akromegalen zu ermöglichen die orale Gabe von Glukose (OGTT) und nicht Voll-Nahrung verwendet. So kann allerdings die tatsächliche Glukoseutilisation aus Nahrung und der in vivo relevante Glukosespiegel von gesunden Probanden und an Akromegalie Erkrankten und seine Wirkung auf die IGF-I Synthese nur näherungsweise reproduziert werden. Natürlich könnten auch andere Nahrungsbestandteile potentiell Einfluss auf die IGF-I-Spiegel haben.
- Die anamnestische Datenerhebung war bei den Parametern „Gebrauch hormoneller Antikonzeptiva“ und „Rauchen“ nicht vollständig abzuschließen, da bei einigen Subjekten keine Angaben gemacht wurden. Bei der insgesamt schon geringen Fallzahl führte dies dazu, dass in diesen Fällen keine aussagekräftigen statistischen Analysen vorgenommen werden konnten (Kreienbrock und Schach, 1997; Hürseler und Zimmermann, 2001).

5.3 Diskussion der eigenen Ergebnisse

5.3.1 Tagesprofil

Es wurde ein Tagesprofil der Serumkonzentration von IGF-I in stündlichen Abständen von 8:00 bis 15:00 bei der gesunden und der akromegalen Probandengruppe erhoben. Dieser Zeitraum wurde gewählt, weil er den im klinischen Alltag am wahrscheinlichsten auftretenden Tageszeiten für die Abnahme von Blutproben zur IGF-I-Bestimmung entspricht (Öffnungszeiten von Praxen und Ambulanzen). Obwohl Einzelwerte im Kurvenverlauf der IGF-I-Spiegel bei den Patienten mit Akromegalie etwas deutlicher vom Mittelwert abwichen, waren die Schwankungen über den Tag hinweg in keinem der beiden untersuchten Kollektive statistisch signifikant. Die durchschnittliche IGF-I-Konzentration der akromegalen Patienten lag mit $287,2 \pm 55,5$ ng/ml jedoch wie erwartet hochsignifikant höher als der Durchschnittswert der gesunden Probanden, welcher $102,4 \pm 9,8$ ng/dl betrug ($p=0,0005$).

Unsere gemessenen Werte der IGF-I-Konzentrationen von gesunden Probanden liegen verglichen mit den publizierten Referenzwerten für den verwendeten Chemilumineszenzassay relativ niedrig, nämlich auf Höhe der negativen zweiten Standardabweichung. Sie befinden sich somit zwar noch im Rahmen der Durchschnittswerte, grenzen jedoch definitionsgemäß an die untere Norm (Elmlinger et al., 2004; Brabant et al., 2003). Der in der vorliegenden Studie verwendete automatisierte IMMULITE-IGF-I-Assay wird von Elmlinger et al. als reliables Verfahren bei der Diagnose und Verlaufskontrolle von Erkrankungen der hGH/IGF-Achse beschrieben und kommt in sehr vielen Routinelabors zum Einsatz. Von daher erschien es zunächst verwunderlich, dass das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Kollektiv von gesunden Probanden durchwegs relativ niedrige Werte zeigte. Jedoch ist zu berücksichtigen, dass nicht nur in unserem Labor zum Zeitpunkt der Messungen eher niedrige IGF-I-Werte auftraten, sondern dass dies auch von vielen Labors berichtet wurde, die die Methode verwenden und auch in den Ringversuchen der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie sich deutliche Chargenschwankungen für die Messmethode zeigen. Da nicht nur Sensitivität und Spezifität der Messverfahren entscheidend sind für die absolute Höhe der Messwerte, sondern natürlich auch die Präzision und Konstanz der Kalibration (Memed,

1999), scheint es fraglich, ob die von Elmlinger et al. seinerzeit publizierten Referenzbereiche für die derzeit verfügbare Version des Assays noch repräsentativ sind.

Für unsere Fragestellung ist die absolute Höhe der Messwerte für IGF-I jedoch von geringerer Bedeutung, da bei Analyse aller Proben aus der Studie mit einer Charge des Assays, also methodisch gleich bleibendem Messverfahren allenfalls der Bezug zur Norm, nicht aber die Variabilität zwischen den Proben beeinflusst wird.

Die Ergebnisse der Messung von Proben von Akromegalie-Patienten entsprechen wie erwartet den allgemeinen Angaben der Literatur, dass Personen mit dieser Krankheit generell höhere IGF-Konzentrationen aufweisen als gesunde Personen, häufig oberhalb der altersentsprechenden 97,5ten Perzentile (Elmlinger et al., 2004; Marzullo et al., 2001). Der Unterschied der Serumwerte zwischen dem gesunden und dem akromegalen Kollektiv war quantitativ erheblich größer als eventuelle Schwankungen innerhalb jedes einzelnen Kollektivs. Zudem zeigte die Analyse der IGF-I-Konzentrationen über den Tag hinweg, dass keine relevanten Schwankungen der IGF-I-Konzentration innerhalb des jeweiligen Kollektivs vorliegen.

5.3.2 Jahresprofil

Das Jahresprofil von IGF-I wurde nur bei gesunden Probanden gemessen. Hier wies die Verteilung der Werte verglichen mit dem Tagesprofil eine größere Variabilität auf: Im Gesamtkollektiv der gesunden Probanden fanden sich in der Kovarianzanalyse mit Messwiederholungen signifikante Schwankungen der Serumkonzentration von IGF-I über das Jahr. Daraufhin wurden Subkollektive entsprechend bekannter Einflussgrößen auf IGF-I nach Geschlecht und Alter gebildet. Bei Differenzierung der Geschlechter fand sich, dass die IGF-I-Werte über das Jahr bei Männern im Durchschnitt ungefähr 20% höher waren als bei Frauen. Die Aufgliederung der Schwankungen von IGF-I über das Jahr nach den Altersgruppen ≤ 30 Jahre und > 30 Jahre wies erwartungsgemäß im jüngeren Kollektiv tendenziell höhere Werte auf. Statistisch ließ sich jedoch sowohl für den Einfluss des Geschlechts auf IGF-I ($p=0.13$) als auch für den Einfluss des Alters ($p=0.09$) keine Signifikanz finden. Wohl aufgrund der geringen Probandenanzahl entsprechen die Ergebnisse daher nur tendenziell anderen statistischen Analysen über den Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Konzentration von IGF-I (Morimoto et al., 2005; Holmes et al., 2002; Johansson et al., 2004; Kaklamani et al., 1999).

Bezüglich der eigentlichen Fragestellung jedoch ist festzuhalten, dass sich in allen Subkollektiven deutliche Schwankungen von IGF-I über das Jahr hinweg finden. In beiden Analysen: Varianz im Jahresprofil nach Geschlecht und nach Alter präsentierte sich in der zweifaktoriellen Anova für Messwiederholungen ein hochsignifikanter Effekt des Faktors Zeit auf den IGF-I-Jahresspiegel ($p=0.0025$ und $p=0.002$). Um diese Schwankungen näher zu untersuchen, wurde zunächst eine weitere Grafik erstellt, in der das Jahresprofil erneut nach Geschlecht und Alter differenziert betrachtet werden konnte. In allen Gruppen zeigten sich im Winter niedrigere Werte als im Sommer. Daraufhin wurde das Jahresprofil in Winter (Dezember bis Februar) und Sommer (Juni bis August) gegliedert und in allen Subkollektiven erneut auf einen Zusammenhang zwischen der IGF-I-Konzentration und der Jahreszeit geprüft.

Eindrucksvollerweise bestätigte sich der optische Eindruck statistisch, es zeigte sich zwischen den Jahreszeiten eine deutliche Veränderung der IGF-I-Werte. Nach Zusammenfassung der Monatswerte aus dem Jahresprofil zu Sommer bzw. Winter, zeigten sich in allen Subkollektiven wesentlich höhere Mittelwerte von IGF-I im Sommer. Der Mittelwert der männlichen Probanden sank von $130,6 \pm 26,5$ ng/ml im Sommer auf einen Wert von $113,1 \pm 16,9$ ng/ml im Winter. Bei den weiblichen Probanden ließ sich dieser Unterschied noch deutlicher erkennen. Der durchschnittliche IGF-Wert von $117,4 \pm 16,9$ ng/ml sank auf $85,3 \pm 22,3$ ng/ml. In der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen bestätigte sich dieser Effekt der Jahreszeit auf IGF-I sowohl in der Untersuchung nach Geschlecht ($p=0.016$) als auch nach Altersgruppen ($p=0.017$) als signifikant.

Um diesem unerwarteten Phänomen der jahreszeitlichen Schwankung von IGF-I genauer nachzugehen, wurden zusätzlich die Werte von IGFBP-3, dem wichtigsten Bindungsprotein von IGF-I, betrachtet. IGFBP-3 wird ebenfalls hGH-abhängig vor allem in der Leber synthetisiert, die IGFBP-3-Konzentration bewegt sich bei vielen Erkrankungen parallel zu der von IGF-I. Die Varianzanalyse ergab bezüglich einer Schwankung der Mittelwerte von IGFBP-3 über das Jahr hinweg zwar kein signifikantes Ergebnis, dennoch konnte in beiden Analysen ein Trend zur Signifikanz festgestellt werden (Jahresprofil IGFBP-3, differenziert nach Geschlecht: $p=0.08$, differenziert nach Alter: $p=0.08$). Bei der Aufgliederung des Jahresprofils in Sommer und Winter ließ sich trotz tendenziell höherer Mittelwerte für IGFBP-3 im Sommer kein signifikanter Unterschied zwischen den Jahreszeiten verzeichnen. Es ergab sich in der Varianzanalyse

lediglich ein Trend, dass sich sowohl die beiden Altersgruppen $\leq/ > 30$ Jahre ($p=0.08$) als auch die beiden Geschlechter ($p=0.098$) bezogen auf die Differenz der IGFBP-3-Werte zwischen Sommer und Winter voneinander unterscheiden. Am deutlichsten erschien der Unterschied in der Gruppe der Frauen über 30.

Die für IGF-I gefundene Konzentrationsschwankung über das Jahr kann somit bei dessen Bindungsprotein IGFBP-3 statistisch nicht bestätigt werden, allenfalls tendenziell zeigt sich eine ähnliche Bewegung hin zu höheren Werten im Sommer. Berücksichtigt man dabei Forschungsergebnisse, nach denen der IGFBP-3-Serumsspiegel zur IGF-I-Konzentration in einer exponentiellen Korrelation steht, d.h., dass das Ansteigen von IGFBP-3 mit einer exponentiellen Zunahme von IGF-I zusammenfällt (Argente et al., 1993), ist es nicht verwunderlich, dass Phänomene, die sich bei IGF-I zeigen, bei dessen Bindungsproteinen nur andeutungsweise zu finden sind. Bezüglich der Variabilität sind in der Literatur, wie oben bereits erwähnt, zum IGF-I hauptsächlich Angaben zu finden, welche sich mit einer analytischen Variabilität beschäftigen (Clemmons, 2005). Eine Schwankung, die sich aus Messungenauigkeiten ergibt, ist allerdings im Rahmen unserer Studie, bei der alle Messungen in einer Serie mit derselben Methode durchgeführt wurden, nahezu auszuschließen.

Des Weiteren ist zu bedenken, dass die Fallzahl von 14 Probanden sicherlich noch zu gering ist, um eine allgemeingültige Aussage zu treffen. Dennoch lassen unsere Analysen über die IGF-Konzentrationen und die tendenzielle Bestätigung durch die IGFBP-3-Werte die Annahme zu, dass sich zwischen Sommer und Winter signifikante Unterschiede in der Serumkonzentration von IGF-I ergeben. Die Ursache dessen, konnte im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nicht geklärt werden. Allerdings sollte diesem Befund in einer weiterführenden Studie mit größerer Fallzahl nochmals nachgegangen werden. Insbesondere sollte überprüft werden, ob sich eine ähnliche Beobachtung auch bei Patienten mit Akromegalie machen lässt. Dies könnte bedeuten, dass Patienten mit Akromegalie im Winter eine scheinbar niedrigere Krankheitsaktivität ausweisen. Die Größenordnung der Unterschiede zwischen den höchsten sommerlichen IGF-I-Werten und den niedrigsten im Winter bei den gesunden Probanden ist jedenfalls durchaus ausreichend, übertragen auf Akromegale eine therapeutische Entscheidung in die eine oder andere Richtung zu beeinflussen.

5.3.3 OGTT

Der orale Glukosetoleranztest (OGTT) wurde mit allen Teilnehmern der drei Studiengruppen durchgeführt. Vergleicht man die IGF-I Profile der verschiedenen Probandenkollektive miteinander, weisen die Serumwerte der akromegalen Patienten wiederum wie erwartet stets signifikant höhere Ergebnisse gegenüber den anderen beiden Gruppen auf (Abb.13). Eine Differenzierung nach Geschlecht bei den Akromegalie-Patienten zeigt, dass in dem hier untersuchten Kollektiv männliche Patienten signifikant höhere IGF-I-Werte haben als weibliche, was jedoch am ehesten ein Artefakt der Patientenauswahl bei geringer Fallzahl sein dürfte als ein genereller Unterschied: In anderen, größeren Studien konnte jedenfalls ein ähnliche Beobachtung nicht durchgehend gemacht werden. Eden Engstrom et al. stellten zwar eine generell höhere Serumkonzentration von IGF-I bei akromegalen Männern als bei akromegalen Frauen fest (Eden Engstrom et al., 2002). Colao et al. und Freda et al., die das Niveau des Serumspiegels von Männern und Frauen mit Akromegalie in einem OGTT betrachteten, konnten indessen keine generelle Differenz zwischen den Geschlechtern verzeichnen. (Colao et al., 2005; Freda et al., 2001). Sicherlich spielt hierbei die genaue Zusammensetzung der jeweils untersuchten Patientengruppen hinsichtlich des Krankheitsstadiums, eingesetzter Therapien, Tumorgröße etc. eine entscheidende Rolle.

Betrachtet man hingegen den Verlauf des IGF-I-Serumspiegels nach Glukosebelastung, zeigen die drei Kollektive in unserer Untersuchung ein ähnliches Profil. Vom Ausgangswert um 8:00 Uhr morgens im nüchternen Zustand sank die IGF-I-Konzentration nach Glukosegabe in den folgenden Blutentnahmen zunächst ab. Im Kollektiv der Gesunden und der Frauen mit PCO wurde im Zeitraum von 8:00 bis 8:30, also innerhalb der ersten halben Stunde nach Glukosezufuhr, parallel zum Blutzuckeranstieg ein hochsignifikanter Abfall der IGF-I-Konzentration festgestellt ($p < 0,01$). Bei Kranken mit Akromegalie war dies nach einer Stunde zu beobachten, in dieser Gruppe fand sich auch der Gipfel der Blutzuckerwerte im Mittel erst nach einer Stunde. Die niedrigste Konzentration fand sich bei den Gesunden um 9:00 Uhr, bei den beiden Patientengruppen um 10:00 Uhr. Nach dem ersten hochsignifikanten Abfall von IGF-I nach einer halben bzw. einer Stunde änderte sich die Serumkonzentration in allen Gruppen nicht mehr signifikant. Gegenüber dem Nüchternwert zeigte sich zu allen Messzeitpunkten nach der oralen Zufuhr von Glukose eine signifikante bis hochsignifikante Absenkung des IGF-I-Wertes, im Beobachtungszeitraum kam es also nicht zu einem Wiederanstieg auf den

Ausgangswert. Zahlreiche Studien befassen sich mit der Regulation von hGH durch orale Zugabe von 75g Glukose mittels OGTT, und in einigen Studien wurde auch IGF-I untersucht. Unsere Feststellung, dass auch die IGF-I-Konzentration nach Gabe von Glukose rasch supprimiert wird, bestätigt Befunde aus der Literatur (Attanasio et al., 1999; Cannavo et al., 2000; Quabbe und Plockinger, 1989). Dieser Zusammenhang betont die metabolische Rolle von IGF-I. Letztendlich bleibt zu klären, ob angesichts dieser Befunde eine Nüchternabnahme für die Bestimmung von IGF-I vonnöten ist. Zumindest erscheint nach unseren Ergebnissen eine Standardisierung ratsam. Innerhalb der ersten Stunden nach stark zuckerhaltigen Mahlzeiten könnte es durchaus zu einer Fehlinterpretation von IGF-I-Werten kommen. Allerdings scheint der Einfluss der Nahrungsaufnahme lediglich bei der akuten, kontrollierten und massiven Zufuhr von Zucker ausgeprägter zu sein. Bei der Untersuchung der Tagesprofile – bei denen ja nicht durchgehend Nüchternabnahmen möglich waren – war jedenfalls keine systematische Schwankung über den Tag nachweisbar. Zudem gibt es auch Analysen, die einer IGF-I-Absenkung nach Glukosezufuhr widersprechen. Studien von Mauras und Slattery zum Beispiel bewerten den IGF-I-Abfall nach Glucosezufuhr als nicht signifikant (Mauras und Haymond, 2005; Slattery et al., 2005).

5.3.3.1 OGTT und Blutzucker

In der vorliegenden Untersuchung wurde auch die Wechselbeziehung zwischen der Konzentration von IGF-I und dem Blutzuckerspiegel genauer betrachtet. Dabei ergibt sich in unserer Untersuchung – wie oben bereits ausgeführt - zunächst ein inverser Verlauf der beiden Serumkonzentrationen. Bei hochsignifikantem Anstieg des Blutzuckers nach der oralen Aufnahme von 75g Glukose sinkt die IGF-I-Konzentration innerhalb der ersten halben Stunde, bzw. bei den Akromegalie-Patienten innerhalb der ersten Stunde hochsignifikant ab. Während jedoch die Zuckerspiegel in allen untersuchten Gruppen zum Ende der Untersuchung hin wieder auf Ausgangswerte abgefallen waren, blieben die IGF-I-Werte erniedrigt. Statistisch konnte keine signifikante Korrelation zwischen IGF-I und Blutzucker festgestellt werden.

5.3.3.2 OGTT und Glukosetoleranzstörung

Eine gestörte Glukosetoleranz beinhaltet entweder eine verminderte Insulinsensitivität oder eine erhöhte Insulinresistenz, sodass die Suppression der Glukoseproduktion ausbleibt und der Blutzucker nicht adäquat reguliert wird. (Baldelli et al., 2003; Yuen und Dunger, 2006). Die Krankheit Akromegalie ist häufig assoziiert mit einer Glukosetoleranzstörung, deren Ursache einer Insulinresistenz zugeschrieben wird. Das HOMA-Modell (Homeostasis Model Assessment) erlaubt mittels Berechnung eines Index aus Nüchtern-Glukose und Nüchtern-Insulin-Konzentration die Beurteilung der Insulinsensitivität und der Beta-Zell-Funktion (Kasayama et al., 2000). Eine weitere Erkrankung, bei der mittels HOMA-Berechnung häufig eine Insulinresistenz diagnostiziert wird, die jedoch nicht durch einer Störung der hGH-Sekretion verursacht wird, stellt das polyzystische Ovar-Syndrom dar. Dieses führt durch eine ovarielle Überproduktion von männlichen Hormonen zu einer Hyperandrogenämie. Die Fehlfunktion des Ovars hat eine Oligomenorrhoe bis hin zur Amenorrhoe oft in Verbindung mit Infertilität zur Folge (Nardo und Rai, 2001). Die Gruppe von Patientinnen mit PCO-Syndrom sollte in der vorliegenden Studie als Vergleichskollektiv zu den Patienten mit Akromegalie auf die Frage hin untersucht werden, ob mögliche Veränderungen von IGF-I im OGTT akromegalie-spezifisch sind oder die Folge einer Glukosetoleranzstörung selbst.

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen durch Berechnung des HOMA-Index sowohl bei den Akromegaliepatienten als auch den PCO-Patientinnen einen Hinweis auf eine Störung der Glukosetoleranz. Auch wenn im OGTT keine Pathologie im Verlauf des Glukosespiegels festgestellt werden kann, so muss vermutet werden, dass die Patienten deutlich höhere Insulinspiegel zur Aufrechterhaltung des normalen Blutzuckerverlaufs benötigen haben als die gesunden Probanden. Bezüglich der Suppression der IGF-I-Spiegel nach Glukosezufuhr zeigte sich jedoch kein Unterschied zwischen den 3 untersuchten Probanden- bzw. Patientengruppen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die IGF-I-Senkung unabhängig von den Insulinspiegeln bzw. der Glukosetoleranz auftritt.

5.3.4 IGF-I und Alter

Dass IGF-I sich in negativer Relation zum Alter verhält, ist seit langem bekannt und vielfach beschrieben (Morimoto et al., 2005; Holmes et al., 2002; Johansson et al., 2004; Kaklamani et al., 1999). Johansson et al, die sich in einer prospektiven Studie an 740

Frauen mit Einwirkungen auf Wachstumsfaktoren beschäftigen, bewerten das Alter als die bedeutungsvollste Einflussgröße der IGF-I-Konzentration im Blut. Normalerweise steigt der IGF-I-Spiegel bis zum Abschluss des Wachstums an, verläuft dann zunächst auf einem Plateau und sinkt mit zunehmendem Alter kontinuierlich ab. Dieser IGF-I-Abfall ist vergleichbar mit der altersbezogenen Absenkung des Wachstumshormonspiegels ($p=0,001$) und entspricht dem Verlauf der Funktionen, die beide Faktoren für das Körperwachstum haben (Morimoto et al., 2005). Eine weitere Studie an 272 gesunden Jugendlichen und Erwachsenen (Alter: 15-75 Jahre) beschreibt den Anstieg des Serumspiegels mit einem Gipfel in der Pubertät und darauf folgendem Abfall auf präpubertale Werte (Tiryakioglu et al., 2003). Obgleich an einer kleinen Zahl von Probanden durchgeführt, kann auch in unseren Untersuchungen die negative Korrelation zwischen Alter und IGF-I-Konzentration nachvollzogen werden. Bei den Probanden unter 30 Jahren zeigten sich über den gesamten Jahresverlauf stets deutlich höhere Werte im Vergleich zu den Probanden, die älter als 30 Jahre alt waren. Diese Differenz zeigte sich sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen gleichermaßen. Zudem zeigte sich in der Gegenüberstellung der beiden Geschlechter, dass der IGF-I-Spiegel bei unseren männlichen Probanden durchwegs höher lag als bei den weiblichen Teilnehmerinnen. Auch dieser Befund lässt sich in der Literatur wiederfinden. Während viele Studien sich isoliert mit einer Untersuchung von entweder Männern oder Frauen beschäftigen, stellen die, die beide Geschlechter untersuchen einen signifikanten Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Probanden fest, bei denen Männer fortwährend höhere IGF-I-Spiegel als Frauen aufwiesen (Kaklamani et al., 1999; Brabant, 2003; Morimoto et al., 2005).

5.3.5 IGF-I und Pille

Die niedrigere IGF-I-Konzentration bei Frauen wird in einigen Studien mit einer negativen Korrelation zwischen Östrogen und IGF-I in Verbindung gebracht. Frauen, die Östrogene zu sich nehmen, weisen generell niedrigere IGF-I-Spiegel auf als Frauen ohne Östrogenzufuhr. Besonders die Gabe von oralem Östrogen scheint den IGF-I-Spiegel zu senken (Brabant, 2003; Holmes et al., 2002). In der hier vorliegenden Studie nahmen 6 der 7 gesunden Frauen Kontrazeptiva, zwei davon eine transdermale Applikation (Nuvaring). Es konnten sowohl bei der Teilnehmerin ohne Kontrazeptiva, als auch bei den beiden Frauen mit transdermaler Applikation etwas niedrigere IGF-I-Werte im Vergleich zu den

Teilnehmerinnen, die die Pille einnahmen festgestellt werden, was zunächst überraschend erscheinen mag. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant und nicht zu jedem Zeitpunkt der Blutentnahme deutlich. Eine aussagekräftige Studie zu diesem Thema müsste sicherlich deutlich mehr Probandinnen untersuchen.

Angaben über die Einnahme von Kontrazeptiva von Patientinnen mit Akromegalie lagen nicht vor. Von den 29 Patientinnen mit PCO-Syndrom hatten 18 Frauen mehrere Jahre lang die Pille eingenommen. Zum Zeitpunkt unserer Untersuchung hatten jedoch diese Patientinnen die Einnahme bereits über längere Zeit beendet und keine der Teilnehmerinnen stand mehr unter hormonellem Einfluss. Dies ergab sich aus der Tatsache, dass das Kollektiv aus der Kinderwunschabteilung der Frauenklinik rekrutiert wurde und aus Frauen bestand, die aufgrund einer Androgenisierung infolge des PCO-Syndroms Schwierigkeiten hatten, schwanger zu werden. Um eine spätere Schwangerschaft zu ermöglichen, hatten alle PCO-Patientinnen ihre Verhütungsmittel abgesetzt.

Ob die Einnahme von Kontrazeptiva einen Einfluss auf den IGF-I-Spiegel hat, kann folglich in dieser Studie nicht beantwortet werden.

5.3.6 IGF-I und BMI

Die derzeitige Literatur, die sich mit Einflüssen auf Wachstumsfaktoren beschäftigt, kann größtenteils keine direkte Korrelation zwischen Body-Mass-Index (BMI) und IGF-I-Spiegel feststellen (Chan et al., 1998; Jernstrom et al., 2001; Goodman-Gruen und Barrett-Connor, 1997). Dennoch berichten einige Studien von einer negativen (Chang et al., 2002), (Morimoto et al., 2005; Veldhuis et al., 1995), andere von einer positiven (Teramukai et al., 2002) Relation des BMI zu IGF-I. Vermutlich beeinflusst der Body-Mass-Index den zirkulierenden IGF-I-Spiegel, da eine Adipositas die Wachstumshormon-Sekretion beeinflussen kann, die wiederum die hepatische IGF-I-Produktion reguliert (Jones und Clemmons, 1995). Umgekehrt geht Adipositas ebenfalls mit einem erhöhten Insulinspiegel einher und in Folge dessen mit einer höheren IGF-I-Bioverfügbarkeit (Giovannucci, 2001). Diese biologische Komplexität könnte die Ursache der unterschiedlichen Beobachtungen der Beziehung zwischen BMI und IGF-I darstellen (Lukanova et al., 2002).

In unserer Studie ergab sich – sicher anhand einer für diese Fragestellung auch nicht ausreichend großen Fallzahl - keine eindeutige Relation zwischen Body-Mass-Index und IGF-I-Spiegel. Die Mittelwertsdifferenzen, die für die beiden Subkollektive „Übergewichtige“ (BMI >24,9 kg/m²) und „Normalgewichtige“ (BMI < 24,9 kg/m²) errechnet wurden, waren in keiner Probandengruppe signifikant. Einschränkend ist jedoch hierbei zu erwähnen, dass das gesamte Kollektiv, gemäß der Adipositas-Klassifikation der WHO, keinen maßgeblich erhöhten BMI aufzeigte. Bis auf eine Person lagen alle Probanden in den Bereichen für Normalgewichtige (BMI = 19 bis 25 kg/m²) und Präadipositas (BMI = 25 bis 30 kg/m²). Im Kollektiv der Gesunden galt Übergewicht als Ausschlusskriterium, sodass von einer statistischen Untersuchung abgesehen wurde.

Entgegen unseren Erwartungen bestand kein signifikanter Unterschied des Body-Mass-Index zwischen der Gruppe der Gesunden und der Frauen mit PCO-Syndrom. Ihr Mittelwert befand sich im Bereich der Normgewichtigen. Der Zusammenhang zwischen Adipositas und PCO-Syndrom ist durch zahlreiche Studien gut belegt und die mit Adipositas einhergehende Insulinresistenz offenkundig (Pagotto et al., 2002; Schofl et al., 2002; Taponen et al., 2003). Mehr noch zählt Übergewicht, zusammen mit einer Hyperandrogenämie und polyzystisch vergrößerten Ovarien zu den drei wesentlichen Basisbefunden eines PCO-Syndroms (Wolf und Sterzik, 1998). Nichtsdestotrotz existiert nachweislich, obwohl bevorzugt adipöse Frauen davon betroffen sind, auch eine adipositasunabhängige Neigung zu Insulinresistenz bei PCO-Syndrom (Dunaif et al., 1989).

5.3.7 IGF-I und Rauchen

In der Literatur existieren unterschiedliche Aussagen zur Bedeutung des Rauchverhaltens auf den IGF-I-Spiegel. Einige Publikationen schildern eine inverse Korrelation zwischen Rauchen und IGF-I-Konzentration (Holmes et al., 2002; Landin-Wilhelmsen et al., 2004). Kaklamani et al. berichten dagegen von einer positiven Relation der beiden Faktoren. Wieder andere Untersuchungen konnten keine Korrelation feststellen (Goodman-Gruen und Barrett-Connor, 1997; Lukanova et al., 2006; Toniolo et al., 2000; Chang et al., 2002). Die geringe Stichprobengröße in zahlreichen dieser Studien verhinderte bisher eine eindeutige Beurteilung über den Einfluss des Rauchens auf IGF-I. Es bleibt unklar, ob die beobachteten Zusammenhänge ein direkter Effekt von Nikotin sind oder ob sie das

unterschiedliche Verhalten in der Nahrungsaufnahme zwischen Rauchern und Nichtrauchern widerspiegeln, die sich zum Beispiel in der Energiegewinnung, Nährstoffaufnahme oder Mineralienzufuhr äußern (Morimoto et al., 2005). Unsere Untersuchungen können diesbezüglich ebenfalls keine weitere Aufklärung bieten, da von den gesunden Probanden lediglich vier der männlichen Teilnehmer Raucher mit durchschnittlich $3,9 \pm 1,6$ packyears waren. Unter den 29 Patientinnen mit PCO-Syndrom gab es fünf Raucherinnen, ohne Angaben der zeitlichen Dauer. Von den Akromegalie-Patienten lagen keine Informationen vor. In der Varianzanalyse der gesunden Probanden waren die Mittelwertsdifferenzen in keinem Parameter zwischen Rauchern und Nichtrauchern signifikant und somit ließ sich in dieser Studie zunächst kein Zusammenhang zwischen Nikotinkonsum und IGF-I-Konzentration feststellen. Sicherlich kann anhand des begrenzten Datenmaterials jedoch keine endgültige Beurteilung darüber stattfinden. Hierfür benötigt es noch weiterer intensiverer Untersuchungen.

6 Zusammenfassung

Der Wachstumsfaktor IGF-I gehört zu den wichtigsten Parametern einer Untersuchung und Beurteilung von Störungen der Wachstumsachse. Für das Krankheitsbild der Akromegalie gilt er als bedeutsamer Parameter nicht nur bei der Diagnostik, sondern insbesondere auch bei der Verlaufskontrolle der Krankheit.

Mit der vorliegenden Studie sollte die Validität von IGF-I als Marker der Aktivität einer Akromegalie bzw. des Heilungserfolgs in Bezug auf intraindividuelle, kurz- bis mittelfristige Schwankungen der Serumkonzentration überprüft werden. Hierbei sollten zum einen intra-individuelle Schwankungen von IGF-I innerhalb eines Tages und innerhalb eines Jahres untersucht werden, zum anderen der Frage nachgegangen werden, inwiefern nutritive Einflüsse (OGTT) die Stabilität der IGF-I-Konzentration beeinflussen.

In einer prospektiv longitudinalen, klinischen Studie wurden 14 gesunde Probanden, 14 Akromegalie-Patienten und 29 Patientinnen mit PCO-Syndrom untersucht. In regelmäßigen Abständen wurde allen Probanden Blut abgenommen und anthropometrische Daten erfasst und eventuelle Besonderheiten notiert. Dies geschah im Rahmen von drei unterschiedlichen Teilstudien:

1. Ein Tagesprofil
2. Ein Jahresprofil
3. Ein oraler Glukose-Toleranz-Test

Die akromegalen Patienten hatten in allen Untersuchungen signifikant höhere IGF-I-Werte als die gesunden Probanden und PCO-Patientinnen. Dies konnte erwartet werden, zeigt aber auch grundsätzlich, dass die im Rahmen der Studienteile beobachteten Schwankungen der intraindividuellen IGF-I-Konzentration relativ klein sind im Verhältnis zu den bei aktiver Akromegalie auftretenden absoluten, sehr hohen IGF-I-Konzentrationen. Nur in den mittleren IGF-I-Werten während des OGTT zeigten sich bei Patienten mit Akromegalie signifikante Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern. Bei den gesunden Probanden fanden sich bei Männern und jüngeren Teilnehmern tendenziell höhere IGF-I-Werte als bei Frauen und älteren Probanden.

Im Tagesprofil ergaben sich weder bei Gesunden noch bei Patienten mit Akromegalie statistisch signifikante Schwankungen. Hingegen fand sich unmittelbar nach Glukosebelastung in allen drei Probanden- bzw. Patientengruppen ein Absinken der IGF-I-

Werte. Im Gegensatz zu den Blutzuckerwerten, die in allen drei Gruppen wieder auf Ausgangswerte absanken, blieben die IGF-I-Werte über den Beobachtungszeitraum erniedrigt. Dieser Effekt trat in allen drei Gruppen gleichermaßen auf und scheint somit unabhängig von der Insulinsensitivität zu sein.

Ein wesentlicher Befund dieser Arbeit war, dass sich innerhalb des regelmäßig über ein Jahr verfolgten Kollektivs von gesunden Probanden hochsignifikante Schwankungen der IGF-I-Konzentrationen finden. Bei näherer Betrachtung lässt sich zwischen Sommer und Winter ein signifikanter Unterschied der IGF-I-Werte verzeichnen. So präsentieren sowohl männliche als auch weibliche Probanden im Sommer signifikant höhere Werte als im Winter. Der Ursache konnte mit dieser Studie nicht auf den Grund gegangen werden. Es zeigte sich dennoch, dass IGF-I einer über die Erwartung hinausgehenden Variabilität unterliegt.

Bezogen auf die Frage, ob IGF-I ein zuverlässiger Marker für Akromegalie ist, lässt sich mit den vorliegenden Untersuchungsdaten zum einen sagen, dass man von einer Stabilität über ein Jahr hinweg nicht ausgehen kann, auch wenn die Frage hier nur an gesunden Probanden untersucht wurde. Zum anderen erscheint es, um eine möglichst objektive Aussage des IGF-I-Spiegels zu treffen, sinnvoll, eine Blutabnahme im Nüchternzustand vorzunehmen, da Ernährung oder zumindest akute Glukosezufuhr einen nicht unerheblichen Einfluss auf die IGF-I-Konzentration haben kann.

Obgleich also insgesamt die zirkulierenden IGF-I-Spiegel verglichen mit anderen kurzfristig regulierten Hormonen tatsächlich relativ stabil sind, sind dennoch potentielle kurz- und mittelfristige Einflussfaktoren zu berücksichtigen. Über die bekannten Effekte von Alter, Geschlecht, aber auch Malnutrition hinaus sollten wohl auch kurzfristige Nahrungsaufnahme sowie die beobachteten jahreszeitlichen Schwankungen berücksichtigt werden, um eine adäquate Interpretation der IGF-I-Werte vor dem Hintergrund ausreichend guter Referenzwerte zu ermöglichen.

Literaturverzeichnis

- Argente J., Barrios V., Pozo J., Munoz M.T., Hervas F., Stene M., M. H. (1993) Normative data for insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins, and growth hormone-binding protein in a healthy Spanish pediatric population: age and sex-related changes. *J Clin Endocrinol Metab.* 77(6): 1522-8.
- Attanasio R., Oppizzi G., Lodrini S., Dallabonzana D., Barausse M., Orlandi P., DaRe N., Cozzi R. (1999) Neurosurgery restores late GH rise after glucose-induced suppression in cured acromegalics. *Eur J Endocrinol.* 140(1): 23-8.
- Babson A.L., Olson D.R., Palmieri T., Ross A.F., Becker D.M., Mulqueen P.J. (1991) The IMMULITE assay tube: a new approach to heterogeneous ligand assay. *Clin Chem.* 37(9): 1521-2.
- Baldelli R., Battista C., Leonetti F., Ghiggi M.R., Ribaud M.C., Paoloni A., D'Amico E., Ferretti E., Baratta R., Liuzzi A., Trischitta V., Tamburrano G. (2003) Glucose homeostasis in acromegaly: effects of long-acting somatostatin analogues treatment. *Clin Endocrinol (Oxf).* 59(4): 492-9.
- Barkan A.L., Kelch R.P., Hopwood N.J., Beitins I.Z. (1988a) Treatment of acromegaly with the long-acting somatostatin analog SMS 201-995. *J Clin Endocrinol Metab.* 66(1): 16-23.
- Barkan A.L., Shenker Y., Grekin R.J., Vale W.W. (1988b) Acromegaly from ectopic growth hormone-releasing hormone secretion by a malignant carcinoid tumor. Successful treatment with long-acting somatostatin analogue SMS 201-995. *Cancer.* 61(2): 221-6.
- Barkan A.L. (2004) Biochemical markers of acromegaly: GH vs. IGF-I. *Growth Horm IGF Res.* 14(1): 97-100.
- Baserga R., Hongo A., Rubini M., Prisco M., Valentinis B. (1997) The IGF I receptor in cell growth, transformation and apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta.* 1332(F105-F126).
- Baumann G. (1987) Acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 16(3): 685-703.
- Bengtsson B.A., Brummer R.J., Eden S., Bosaeus I., Lindstedt G. (1989) Body composition in acromegaly: the effect of treatment. *Clin Endocrinol (Oxf).* 31(4): 481-90.
- Biermasz N.R., Hamdy N.A., Pereira A.M., Romijn J.A., Roelfsema F. (2005) Long-term maintenance of the anabolic effects of GH on the skeleton in successfully treated patients with acromegaly. *Eur J Endocrinol.* 152(1): 53-60.
- Boisclair Y.R., Rhoads R.P., Ueki I., Wang J., Ooi G.T. (2001) The acid-labile subunit (ALS) of the 150 kDa IGF-binding protein complex: an important but forgotten component of the circulating IGF system. *J Endocrinol.* 170(1): 63-70.

- Bondanelli M., Bonadonna S., Ambrosio M.R., Doga M., Gola M., Onofri A., Zatelli M.C., Giustina A., degli Uberti E.C. (2005) Cardiac and metabolic effects of chronic growth hormone and insulin-like growth factor I excess in young adults with pituitary gigantism. *Metabolism*. 54(9): 1174-80.
- Brabant G. (2003) Insulin-like growth factor-I: marker for diagnosis of acromegaly and monitoring the efficacy of treatment. *Eur J Endocrinol*. 148 Suppl 2(S15-20).
- Brabant G., von zur Muhlen A., Wuster C., Ranke M.B., Kratzsch J., Kiess W., Ketelslegers J.M., Wilhelmsen L., Hulthen L., Saller B., Mattsson A., Wilde J., Schemer R., Kann P. (2003) Serum insulin-like growth factor I reference values for an automated chemiluminescence immunoassay system: results from a multicenter study. *Horm Res*. 60(2): 53-60.
- Braham C., Betea D., Pierard-Franchimont C., Beckers A., Pierard G.E. (2002) Skin tensile properties in patients treated for acromegaly. *Dermatology*. 204(4): 325-9.
- Breidert M., Pinzer T., Wildbrett J., Bornstein S.R., Hanefeld M. (1995) Long-term effect of octreotide in acromegaly on insulin resistance. *Horm Metab Res*. 27(5): 226-30.
- Busby W.H., Snyder D.K., Clemmons D.R. (1988) Radioimmunoassay of a 26,000-dalton plasma insulin-like growth factor-binding protein: control by nutritional variables. *J Clin Endocrinol Metab*. 67(6): 1225-30.
- Cannavo S., Squadrito S., Finocchiaro M.D., Curto L., Almoto B., Vieni A., Trimarchi F. (2000) Goiter and impairment of thyroid function in acromegalic patients: basal evaluation and follow-up. *Horm Metab Res*. 32(5): 190-5.
- Chan J.M., Stampfer M.J., Giovannucci E., Gann P.H., Ma J., Wilkinson P., Hennekens C.H., Pollak M. (1998) Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study [see comments]. *Science*. 279(563-566).
- Chandrashekar V., Bartke A. (2003) The role of insulin-like growth factor-I in neuroendocrine function and the consequent effects on sexual maturation: inferences from animal models. *Reprod Biol*. 3(1): 7-28.
- Chang S., Wu X., Yu H., Spitz M.R. (2002) Plasma concentrations of insulin-like growth factors among healthy adult men and postmenopausal women: associations with body composition, lifestyle, and reproductive factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 11(8): 758-66.
- Chen H.S., Lin H.D. (1999) Serum IGF-I and IGFBP-3 levels for the assessment of disease activity of acromegaly. *J Endocrinol Invest*. 22(2): 98-103.
- Chen J.W., Hojlund K., Beck-Nielsen H., Sandahl Christiansen J., Orskov H., Frystyk J. (2005) Free rather than total circulating insulin-like growth factor-I determines the feedback on growth hormone release in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 90(1): 366-71. Epub 2004 Oct 27.
- Chen W., Salojin K.V., Mi Q.S., Grattan M., Meagher T.C., Zucker P., Delovitch T.L. (2004) Insulin-like growth factor (IGF)-I/IGF-binding protein-3 complex:

therapeutic efficacy and mechanism of protection against type 1 diabetes. *Endocrinology*. 145(2): 627-38. Epub 2003 Nov 14.

Clemmons D.R. (2001) Commercial assays available for insulin-like growth factor I and their use in diagnosing growth hormone deficiency. *Horm Res*. 55 Suppl 2(73-9).

Clemmons D.R. (2004) Role of insulin-like growth factor-I in diagnosis and management of acromegaly. *Endocr Pract*. 10(4): 362-71.

Clemmons D.R. (2005) Quantitative measurement of IGF-I and its use in diagnosing and monitoring treatment of disorders of growth hormone secretion. *Endocr Dev*. 9(55-65).

Colao A., Ferone D., Marzullo P., Lombardi G. (2004) Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocr Rev*. 25(1): 102-52.

Colao A., Pivonello R., Cappabianca P., Briganti F., Tortora F., Auriemma R.S., De Martino M.C., Marzullo P., Lombardi G. (2005) Effect of gender and gonadal status on the long-term response to somatostatin analogue treatment in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 63(3): 342-9.

Colao A., Pivonello R., Auriemma R.S., De Martino M.C., Bidlingmaier M., Briganti F., Tortora F., Burman P., Kourides I.A., Strasburger C.J., Lombardi G. (2006) Efficacy of 12-month treatment with the GH receptor antagonist pegvisomant in patients with acromegaly resistant to long-term, high-dose somatostatin analog treatment: effect on IGF-I levels, tumor mass, hypertension and glucose tolerance. *Eur J Endocrinol*. 154(3): 467-77.

Coulson V.J., Wass J.A., Abdulla A.F., Cotterill A.M., Holly J.M. (1991) Insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) in acromegaly. *Growth Regul*. 1(3): 119-24.

Daughaday W.H. (2000) Growth hormone axis overview--somatomedin hypothesis. *Pediatr Nephrol*. 14(7): 537-40.

De Herder W.W. (2004) Gigantism. A historical and medical view. *Ned Tijdschr Geneesk*. 148(52): 2585-2590.

De Marinis L., Zuppi P., Valle D., Mancini A., Bianchi A., Lauriola L., Pasquini P., Anile C., Maira G., Giustina A. (2002) A retrospective hormonal and immunohistochemical evaluation of 47 acromegalic patients: prognostic value of preoperative plasma prolactin. *Horm Metab Res*. 34(3): 137-43.

Dunaif A., Segal K.R., Futterweit W., Dobrjansky A. (1989) Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*. 38(9): 1165-74.

Eden Engstrom B., Burman P., Karlsson F.A. (2002) Men with acromegaly need higher doses of octreotide than women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 56(1): 73-7.

- Eliakim A., Scheett T.P., Newcomb R., Mohan S., Cooper D.M. (2001) Fitness, training, and the growth hormone-insulin-like growth factor I axis in prepubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(6): 2797-802.
- Elmlinger M.W., Kuhnel W., Weber M.M., Ranke M.B. (2004) 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.* 42(6): 654-64.
- Elmlinger M.W., Zwirner M., Kuhnel W. (2005) Stability of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein (IGFBP)-3 measured by the IMMULITE automated chemiluminescence assay system in different blood specimens. *Clin Lab.* 51(3-4): 145-52.
- Endert E., van Rooden M., Fliers E., Prummel M.F., Wiersinga W.M. (2006) Establishment of reference values for endocrine tests--part V: acromegaly. *Neth J Med.* 64(7): 230-5.
- Fahlbusch R., Keller B., Ganslandt O., Kreutzer J., Nimsky C. (2005) Transsphenoidal surgery in acromegaly investigated by intraoperative high-field magnetic resonance imaging. *Eur J Endocrinol.* 153(2): 239-48.
- Ferone D., Resmini E., Bocca L., Giusti M., Barreca A., Minuto F. (2004) Current diagnostic guidelines for biochemical diagnosis of acromegaly. *Minerva Endocrinol.* 29(4): 207-23.
- Florini J.R., Ewton D.Z., Coolican S.A. (1996) Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocr Rev.* 17(5): 481-517.
- Freda P.U., Landman R.E., Sundeen R.E., Post K.D. (2001) Gender and age in the biochemical assessment of cure of acromegaly. *Pituitary.* 4(3): 163-71.
- Freda P.U., Reyes C.M., Nuruzzaman A.T., Sundeen R.E., Bruce J.N. (2003) Basal and glucose-suppressed GH levels less than 1 microg/L in newly diagnosed acromegaly. *Pituitary.* 6(4): 175-80.
- Frost R.A., Lang C.H. (2003) Regulation of insulin-like growth factor-I in skeletal muscle and muscle cells. *Minerva Endocrinol.* 28(1): 53-73.
- Fukuda I., Hizuka N., Murakami Y., Itoh E., Yasumoto K., Sata A., Takano K. (2001) Clinical features and therapeutic outcomes of 65 patients with acromegaly at Tokyo Women's Medical University. *Intern Med.* 40(10): 987-92.
- Fukuda I., Hizuka N., Itoh E., Yasumoto K., Ishikawa Y., Murakami Y., Sata A., Takano K. (2002) Acid-labile subunit in growth hormone excess and deficiency in adults: evaluation of its diagnostic value in comparison with insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *Endocr J.* 49(3): 379-86.
- Ganz J.C., Backlund E.O., Thorsen F.A. (1993) The effects of Gamma Knife surgery of pituitary adenomas on tumor growth and endocrinopathies. *Stereotact Funct Neurosurg.* 61 Suppl 1(30-7).

- Gelander L., Blum W.F., Larsson L., Rosberg S., Albertsson-Wikland K. (1999) Monthly measurements of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 in healthy prepubertal children: characterization and relationship with growth: the 1-year growth study. *Pediatr Res.* 45(3): 377-83.
- Giovannucci E. (2001) Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. *J Nutr.* 131(11 Suppl): 3109S-20S.
- Goodman-Gruen D., Barrett-Connor E. (1997) Epidemiology of insulin-like growth factor-I in elderly men and women. The Rancho Bernardo Study. *Am J Epidemiol.* 145(11): 970-6.
- Green M.W., Elliman N.A., Rogers P.J. (1997) The effects of food deprivation and incentive motivation on blood glucose levels and cognitive function. *Psychopharmacology (Berl).* 134(1): 88-94.
- Guillemin R., Brazeau P., Bohlen P., Esch F., Ling N., Wehrenberg W.B. (1982) Growth hormone-releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly. *Science.* 218(4572): 585-7.
- Gutt B., Wowra B., Alexandrov R., Uhl E., Schaaf L., Stalla G.K., Schopohl J. (2005) Gamma-knife surgery is effective in normalising plasma insulin-like growth factor I in patients with acromegaly. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 113(4): 219-24.
- Hirschberg R., Kopple J.D. (1989) Effects of growth hormone and IGF-I on renal function. *Kidney Int Suppl.* 27(S20-6).
- Ho K.K., O'Sullivan A.J., Hoffman D.M. (1996) Metabolic actions of growth hormone in man. *Endocr J.* 43 Suppl(S57-63).
- Holmes M.D., Pollak M.N., Hankinson S.E. (2002) Lifestyle correlates of plasma insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 11(9): 862-7.
- Hürseler J., Zimmermann H.: (2001) *Statistische Prinzipien für medizinische Projekte.* 3. Auflage. Bern, Göttingen, Toronto. Verlag Hans Huber. 1-326.
- Jaffe C.A., Pan W., Brown M.B., DeMott-Friberg R., Barkan A.L. (2001) Regulation of GH secretion in acromegaly: reproducibility of daily GH profiles and attenuated negative feedback by IGF-I. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(9): 4364-70.
- Jaffe C.A., Turgeon D.K., Lown K., Demott-Friberg R., Watkins P.B. (2002) Growth hormone secretion pattern is an independent regulator of growth hormone actions in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 283(5): E1008-15.
- Jehle P.M., Jehle D.R., Mohan S., Bohm B.O. (1998) Serum levels of insulin-like growth factor system components and relationship to bone metabolism in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus patients. *J Endocrinol.* 159(2): 297-306.
- Jernstrom H., Chu W., Vesprini D., Tao Y., Majeed N., Deal C., Pollak M., Narod S.A. (2001) Genetic factors related to racial variation in plasma levels of insulin-like

growth factor-1: implications for premenopausal breast cancer risk. *Mol Genet Metab.* 72(2): 144-54.

- Johansson H., Baglietto L., Guerrieri-Gonzaga A., Bonanni B., Mariette F., Macis D., Serrano D., Sandri M.T., Decensi A. (2004) Factors associated with circulating levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in 740 women at risk for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 88(1): 63-73.
- Jones B.K., Monks B.R., Liebhaber S.A., Cooke N.E. (1995) The human growth hormone gene is regulated by a multicomponent locus control region. *Mol Cell Biol.* 15(12): 7010-21.
- Jones J.I., Clemmons D.R. (1995) Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr. Rev.* 16(3-34).
- Jorgensen J.O., Feldt-Rasmussen U., Frystyk J., Chen J.W., Kristensen L.O., Hagen C., Orskov H. (2005) Cotreatment of acromegaly with a somatostatin analog and a growth hormone receptor antagonist. *J Clin Endocrinol Metab.* 90(10): 5627-31.
- Kaklamani V.G., Linos A., Kaklamani E., Markaki I., Mantzoros C. (1999) Age, sex, and smoking are predictors of circulating insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor-binding protein 3. *J Clin Oncol.* 17(3): 813-7.
- Kasayama S., Otsuki M., Takagi M., Saito H., Sumitani S., Kouhara H., Koga M., Saitoh Y., Ohnishi T., Arita N. (2000) Impaired beta-cell function in the presence of reduced insulin sensitivity determines glucose tolerance status in acromegalic patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 52(5): 549-55.
- Katznelson L. (2005) Diagnosis and treatment of acromegaly. *Growth Horm IGF Res.* 15 Suppl A(S31-5).
- Kimbrough T.D., Sherman S., Ziegler T.R., Scheltinga M., Wilmore D.W. (1991) Insulin-like growth factor-I response is comparable following intravenous and subcutaneous administration of growth hormone. *J Surg Res.* 51(6): 472-6.
- Klauwer D B.W., Hanitsch S, Rascher W, Lee PD, Kiess W. (1997) IGF-I, -II, free IGF-I and IGFBP -1, -2, -3 levels in venous cord blood: relationship to birth-weight, length and gestational age in healthy newborns. *Acta Paediatr.* 86): 826-833.
- Koziris L.P., Hickson R.C., Chatterton R.T., Jr., Groseth R.T., Christie J.M., Goldflies D.G., Unterman T.G. (1999) Serum levels of total and free IGF-I and IGFBP-3 are increased and maintained in long-term training. *J Appl Physiol.* 86(4): 1436-42.
- Kreienbrock I., Schach S.: (1997) *Epidemiologische Methoden.* 3. Auflage. Stuttgart. Gustav Fischer Verlag. 1-250.
- Landin-Wilhelmsen K., Lundberg P.A., Lappas G., Wilhelmsen L. (2004) Insulin-like growth factor I levels in healthy adults. *Horm Res.* 62 Suppl 1(8-16).
- Le Roith D. (1996) Insulin-like growth factor receptors and binding proteins. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 10(1): 49-73.

- Le Roith D., Bondy C., Yakar S., Liu J.L., Butler A. (2001) The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev.* 22(1): 53-74.
- Lewitt M.S., Hazel S.J., Church D.B., Watson A.D., Powell S.E., Tan K. (2000) Regulation of insulin-like growth factor-binding protein-3 ternary complex in feline diabetes mellitus. *J Endocrinol.* 166(1): 21-7.
- Lieberman S.A., Bjorkengren A.G., Hoffman A.R. (1992) Rheumatologic and skeletal changes in acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 21(3): 615-31.
- Lombardi G., Colao A., Cuocolo A., Longobardi S., Di Somma C., Orio F., Merola B., Nicolai E., Salvatore M. (1997) Cardiological aspects of growth hormone and insulin-like growth factor-I. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 10(6): 553-60.
- Lukanova A., Soderberg S., Stattin P., Palmqvist R., Lundin E., Biessy C., Rinaldi S., Riboli E., Hallmans G., Kaaks R. (2002) Nonlinear relationship of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-I/IGF-binding protein-3 ratio with indices of adiposity and plasma insulin concentrations (Sweden). *Cancer Causes Control.* 13(6): 509-16.
- Lukanova A., Toniolo P., Zeleniuch-Jacquotte A., Grankvist K., Wulff M., Arslan A.A., Afanasyeva Y., Johansson R., Lenner P., Hallmans G., Wadell G., Lundin E. (2006) Insulin-like Growth Factor I in Pregnancy and Maternal Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*
- Marzullo P., Di Somma C., Pratt K.L., Khosravi J., Diamandis A., Lombardi G., Colao A., Rosenfeld R.G. (2001) Usefulness of different biochemical markers of the insulin-like growth factor (IGF) family in diagnosing growth hormone excess and deficiency in adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(7): 3001-8.
- Mauras N., Haymond M.W. (2005) Are the metabolic effects of GH and IGF-I separable? *Growth Horm IGF Res.* 15(1): 19-27.
- Melmed S. (1999) Confusion in clinical laboratory GH and IGF-I reports. *Pituitary.* 2(2): 171-2.
- Melmed S., Casanueva F.F., Cavagnini F., Chanson P., Frohman L., Grossman A., Ho K., Kleinberg D., Lamberts S., Laws E., Lombardi G., Vance M.L., Werder K.V., Wass J., Giustina A. (2002) Guidelines for acromegaly management. *J Clin Endocrinol Metab.* 87(9): 4054-8.
- Miyachi Y., Yakushiji F., Terazono T. (1993) [Synthesis and regulation of growth hormone secretion]. *Nippon Rinsho.* 51(10): 2585-91.
- Morimoto L.M., Newcomb P.A., White E., Bigler J., Potter J.D. (2005) Variation in plasma insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3: personal and lifestyle factors (United States). *Cancer Causes Control.* 16(8): 917-27.

- Morrison K.M., Wu Z., Bidlingmaier M., Strasburger C.J. (2001) Findings and theoretical considerations on the usefulness of the acid-labile subunit in the monitoring of acromegaly. *Growth Horm IGF Res.* 11 Suppl A(S61-3).
- Nardo L.G., Rai R. (2001) Metformin therapy in the management of polycystic ovary syndrome: endocrine, metabolic and reproductive effects. *Gynecol Endocrinol.* 15(5): 373-80.
- Owen W.E., Roberts W.L. (2005) Performance characteristics of the IMMULITE 2000 insulin-like growth factor binding protein-3 assay. *Clin Chim Acta.* 353(1-2): 141-5.
- Pagotto U., Gambineri A., Vicennati V., Heiman M.L., Tschop M., Pasquali R. (2002) Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 87(12): 5625-9.
- Paisley A.N., Trainer P.J. (2004) The challenges of reliance on insulin-like growth factor I in monitoring disease activity in patients with acromegaly. *Horm Res.* 62 Suppl 1(83-8).
- Pekic S., Doknic M., Miljic D., Joksimovic M., Glodic J., Djurovic M., Dieguez C., Casanueva F., Popovic V. (2006) Ghrelin test for the assessment of GH status in successfully treated patients with acromegaly. *Eur J Endocrinol.* 154(5): 659-66.
- Plockinger U., Liehr R.M., Quabbe H.J. (1993) Octreotide long term treatment of acromegaly: effect of drug withdrawal on serum growth hormone/insulin-like growth factor-I concentrations and on serum gastrin/24-hour intragastric pH values. *J Clin Endocrinol Metab.* 77(1): 157-62.
- Pokrajac-Simeunovic A., Trainer P.J. (2004) Pitfalls in the diagnosis of acromegaly. *Horm Res.* 62 Suppl 3(74-8).
- Pollak M.N., Huynh H.T., Lefebvre S.P. (1992) Tamoxifen reduces serum insulin-like growth factor I (IGF-I). *Breast Cancer Res Treat.* 22(1): 91-100.
- Quabbe H.J., Plockinger U. (1989) Dose-response study and long term effect of the somatostatin analog octreotide in patients with therapy-resistant acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 68(5): 873-81.
- Ranke M.B., Feldt-Rasmussen U., Bang P., Baxter R.C., Camacho-Hubner C., Clemmons D.R., Juul A., Orskov H., Strasburger C.J. (2001) How should insulin-like growth factor I be measured? A consensus statement. *Horm Res.* 55(Suppl 2): 106-9.
- Resmini E., Barreca A., Ferone D., Giusti M., Sidoti M., Minuto F. (2005) Effect of different therapeutic modalities on spontaneous GH secretion in acromegalic patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 63(3): 294-7.
- Rose D.R., Clemmons D.R. (2002) Growth hormone receptor antagonist improves insulin resistance in acromegaly. *Growth Horm IGF Res.* 12(6): 418-24.

- Sabharwal P., Varma S. (1996) Growth hormone synthesized and secreted by human thymocytes acts via insulin-like growth factor I as an autocrine and paracrine growth factor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(2663-2669).
- Schofl C., Horn R., Schill T., Schlosser H.W., Muller M.J., Brabant G. (2002) Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 87(10): 4607-10.
- Shetty K.R., Duthie E.H., Jr. (1995) Anterior pituitary function and growth hormone use in the elderly. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 24(2): 213-31.
- Skjaerbaek C., Frystyk J., Kaal A., Laursen T., Moller J., Weeke J., Jorgensen J.O., Sandahl Christiansen J., Orskov H. (2000) Circadian variation in serum free and total insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-II in untreated and treated acromegaly and growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf).* 52(1): 25-33.
- Slattery M.L., Baumgartner K.B., Byers T., Guiliano A., Sweeney C., Herrick J., Curtin K., Murtaugh M., Wolff R. (2005) Genetic, anthropometric, and lifestyle factors associated with IGF-1 and IGFBP-3 levels in Hispanic and non-Hispanic white women. *Cancer Causes Control.* 16(10): 1147-57.
- Strasburger C.J., Bidlingmaier M., Wu Z., Morrison K.M. (2001) Normal values of insulin-like growth factor I and their clinical utility in adults. *Horm Res.* 55 Suppl 2(100-5).
- Strasburger C.J., Bidlingmaier M. (2005) How robust are laboratory measures of growth hormone status? *Horm Res.* 64 Suppl 2(1-5).
- Taponen S., Martikainen H., Jarvelin M.R., Laitinen J., Pouta A., Hartikainen A.L., Sovio U., McCarthy M.I., Franks S., Ruokonen A. (2003) Hormonal profile of women with self-reported symptoms of oligomenorrhea and/or hirsutism: Northern Finland birth cohort 1966 study. *J Clin Endocrinol Metab.* 88(1): 141-7.
- Teramukai S., Rohan T., Eguchi H., Oda T., Shinchi K., Kono S. (2002) Anthropometric and behavioral correlates of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 in middle-aged Japanese men. *Am J Epidemiol.* 156(4): 344-8.
- Thorner M.O., Strasburger C.J., Wu Z., Straume M., Bidlingmaier M., Pezzoli S.S., Zib K., Scarlett J.C., Bennett W.F. (1999) Growth hormone (GH) receptor blockade with a PEG-modified GH (B2036-PEG) lowers serum insulin-like growth factor-I but does not acutely stimulate serum GH. *J Clin Endocrinol Metab.* 84(6): 2098-103.
- Thorner M.O. (2004) Acromegaly and serum insulin-like growth factor I. *Horm Res.* 62 Suppl 1(34-6).
- Timsit J., Savino W., Safieh B., Chanson P., Gagnerault M.C., Bach J.F., Dardenne M. (1992) Growth hormone and insulin-like growth factor-I stimulate hormonal function and proliferation of thymic epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 75(1): 183-8.

- Tiryakioglu O., Kadiolgu P., Canerolgu N.U., Hatemi H. (2003) Age dependency of serum insulin - like growth factor (IGF)-1 in healthy Turkish adolescents and adults. *Indian J Med Sci.* 57(12): 543-8.
- Toniolo P., Bruning P.F., Akhmedkhanov A., Bonfrer J.M., Koenig K.L., Lukanova A., Shore R.E., Zeleniuch-Jacquotte A. (2000) Serum insulin-like growth factor-I and breast cancer. *Int J Cancer.* 88(5): 828-32.
- Ueland T., Ebbesen E.N., Thomsen J.S., Mosekilde L., Brixen K., Flyvbjerg A., Bollerslev J. (2002) Decreased trabecular bone biomechanical competence, apparent density, IGF-II and IGFBP-5 content in acromegaly. *Eur J Clin Invest.* 32(2): 122-8.
- Ueland T. (2005) GH/IGF-I and bone resorption in vivo and in vitro. *Eur J Endocrinol.* 152(3): 327-32.
- Van Doorn J., Ringeling A.M., Shmueli S.S., Kuijpers M.C., Hokken-Koelega A.C., van Buul-Offers S.C., Jansen M. (1999) Circulating levels of human insulin-like growth factor binding protein-6 (IGFBP-6) in health and disease as determined by radioimmunoassay. *Clin Endocrinol (Oxf).* 50(5): 601-9.
- Van Doorn J., Cornelissen A.J., Van Buul-Offers S.C. (2001) Plasma levels of insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4) under normal and pathological conditions. *Clin Endocrinol (Oxf).* 54(5): 655-64.
- Veldhuis J.D., Liem A.Y., South S., Weltman A., Weltman J., Clemmons D.A., Abbott R., Mulligan T., Johnson M.L., Pincus S., et al. (1995) Differential impact of age, sex steroid hormones, and obesity on basal versus pulsatile growth hormone secretion in men as assessed in an ultrasensitive chemiluminescence assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 80(11): 3209-22.
- von Werder K., Losa M., Muller O.A. (1985) [Diagnostic and therapeutic aspects of growth-hormone releasing factor]. *Internist (Berl).* 26(5): 259-65.
- von Werder K. (2005) Biochemical evidence supporting the Cortina criteria. *J Endocrinol Invest.* 28(11 Suppl): 81-3.
- Webb S.M., Sucunza N., Barahona M.J. (2005) Biochemical evidence in favor of revising Cortina criteria. *J Endocrinol Invest.* 28(11 Suppl): 84-6.
- Weiss S., Baumgart R., Jochum M., Strasburger C.J., Bidlingmaier M. (2002) Systemic regulation of distraction osteogenesis: a cascade of biochemical factors. *J Bone Miner Res.* 17(7): 1280-9.
- Wolf A.S., Sterzik K. (1998) [Obesity--significance in adolescence and for reproduction]. *Zentralbl Gynakol.* 120(5): 210-22.
- Yakar S., Rosen C.J., Beamer W.G., Ackert-Bicknell C.L., Wu Y., Liu J.L., Ooi G.T., Setser J., Frystyk J., Boisclair Y.R., LeRoith D. (2002) Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J Clin Invest.* 110(6): 771-81.

Yuen K.C., Dunger D.B. (2006) Impact of treatment with recombinant human GH and IGF-I on visceral adipose tissue and glucose homeostasis in adults. *Growth Horm IGF Res.* 16 Suppl A(S55-61).

Zuliani U., Bernardini B., Catapano A., Campana M., Cerioli G., Spattini M. (1989) Effects of anabolic steroids, testosterone, and HGH on blood lipids and echocardiographic parameters in body builders. *Int J Sports Med.* 10(1): 62-6.

Anhang

Anhang 1

Studienlaufzettel

Anhang 2

Probandeninformation und Probandeneinwilligungserklärung

Anhang 3

Patienteninformation und Patienteneinwilligungserklärung

Anhang 1

Studienlaufzettel

Pat. Name:
Geb. Datum:
Studiennummer:

Aufklärung & Einwilligung	Datum	Sonstiges	Unterschrift

Blutentnahme	Datum	Sonstiges	Unterschrift
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
OGTT			
Tagesprofil			

Gewicht: _____

Größe: _____

Raucher Ja Nein

Diät _____

_____ wenn ja, wieviel Kilo und in welcher Zeit: _____

Medikamente: _____

Pille seit wann, wie lange?: _____

Zyklustag (ab erster Blutungstag!): _____

Anhang 2

Probandeninformation

Klinikum der Universität München
Medizinische Klinik – Innenstadt
Direktor: Prof. Dr. M. Reincke
Neuroendokrinologische Arbeitsgruppe

Dr. med. Martin Bidlingmaier

Klinikum der Universität München □ Medizinische
Klinik – Innenstadt
Ziemssenstraße 1 □ D-80336 München

Büro: 089/5160-2353

oder: 089/5160-2277

Fax: 089/5160-4457

e-mail: bidlingmaier@med.uni-muenchen.de

Variabilität der Konzentration von IGF-I: Einfluss auf die Aussagekraft der Messung von IGF-I als
biochemischer Marker der Krankheitsaktivität bei Patienten mit Akromegalie

Probandeninformation und Probandeneinwilligungserklärung

Liebe Probandin, lieber Proband,

Sie wurden von uns gefragt, ob Sie bereit sind als Probandin / Proband an einer wissenschaftlichen Studie teilzunehmen. Mit diesen Zeilen möchten wir Ihnen wichtige Informationen über diese Studie zukommen lassen.

Bitte lesen Sie die folgenden Informationen sorgfältig durch. Bitte wenden Sie sich bei Unklarheiten oder zusätzlichen Fragen an die / den für die Studie zuständige(n) Ärztin / Arzt.

Allgemeine Information

Durch diese Studie soll die Verlässlichkeit von speziellen Hormonmessungen (siehe unten) zur Kontrolle bestimmter Erkrankungen wissenschaftlich untersucht werden. In dieser Probandeninformation finden Sie Informationen über die gesamte Studie, die aus 3 Teilen besteht.

Als Probandin / Proband dürfen nur gesunde Personen teilnehmen. Sie sollten keine Medikamente regelmäßig einnehmen. Ausnahmen sind leichte Schmerzmittel (z.B. Aspirin) und Schilddrüsenhormone oder Jod. Sie sollen solche Medikamente lediglich dem Sie in der Studie betreuenden Arzt nennen.

Diese Studie wurde von einer unabhängigen Ethikkommission begutachtet und zustimmend bewertet.

Ihre Ärztin / Ihr Arzt wird Sie in einem ausführlichen Gespräch über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie aufklären und Sie über den zu erwartenden Nutzen und über die möglichen Risiken der Studie informieren.

Diese Studie wird zum Teil aus Mitteln des Forschungshaushalts der Universität und zum Teil durch Unterstützung durch die Firma Pharmacia GmbH finanziert.

Laboranalysen bei Wachstumshormonmangel oder –Überschuss

Wachstumshormon wird im Körper in der Hirnanhangdrüse (Hypophyse) gebildet. Es ist wichtig für das Wachstum von Kindern, jedoch hat es auch beim Erwachsenen wichtige Funktionen, z.B. im Eiweiß-, Zucker- und Fettstoffwechsel. Diese Wirkungen werden über einen zweiten Faktor, den „Insulinartigen Wachstumsfaktor I“, abgekürzt IGF-I vermittelt, dessen Bildung durch Wachstumshormon angeregt wird. Im Blut wird dieser Faktor von 2 Transporteiweißen gebunden: IGF Bindungsprotein 3 (IGFBP-3) und der säurelabile Untereinheit (ALS). Diese beiden Transporteiweiße werden ebenfalls durch Wachstumshormon reguliert.

Bei Erkrankungen, die mit einem Wachstumshormonmangel oder einem Überschuss von Wachstumshormon (Fachbegriff: Akromegalie) verbunden sind, geben die Messungen von IGF-I, IGFBP-3 und ALS im Labor dem Arzt wichtige Hinweise auf die Krankheitsaktivität. Zudem werden diese Messungen zur Therapieeinstellung verwendet.

Um beurteilen zu können, wie gut sich Laboranalysen für die Erkennung und Verlaufskontrolle von Erkrankungen eignen, muss man wissen, wie stark die gemessenen Hormone schon bei Gesunden oder Patienten mit anderen Erkrankungen schwanken können. Solche Schwankungen in der Hormonkonzentration im Blut können ganz natürlich sein (wie z.B. beim Monatszyklus der Frau), aber auch durch Faktoren wie Ernährung, körperliche Arbeit oder die Jahreszeit bedingt sein. Man muss diese Faktoren für jedes Hormon, das man in der Erkennung und Verlaufskontrolle von Erkrankungen im Labor messen lässt, untersuchen, da nur so eine richtige Beurteilung der Laborwerte möglich ist.

Zielsetzung der Studie

In dieser Studie soll nun untersucht werden, wie stark die Schwankungen der Konzentration von IGF-I, IGFBP-3 und ALS bei verschiedenen Patientengruppen bzw. bei gesunden Kontrollpersonen sind. Hierzu sollen 3 verschiedene Fragen beantwortet werden:

1. Wie stark schwanken die Blutkonzentrationen der 3 Substanzen in einem Individuum über einen Tag? Sollte daher morgens Blut entnommen werden, oder spielt die Tageszeit keine Rolle?
2. Wie stark Schwanken die Blutkonzentrationen der 3 Substanzen in einem Individuum über das Jahr? Gibt es einen Einfluss der Jahreszeit?
3. Wie verhalten sich die Blutkonzentrationen der 3 Substanzen nach Trinken einer Zuckerlösung (sogenannter „Oraler Glukose-Toleranz-Test“)? Ist die Reaktion der Konzentration bei gesunden Personen, bei Patientinnen mit PCO-Syndrom und bei Patientinnen und Patienten mit Akromegalie unterschiedlich?

Die Ergebnisse dieser Studie sollen es uns ermöglichen, Empfehlungen für die Blutentnahme bei Patienten, die an entsprechenden Erkrankungen leiden, zu erarbeiten. Zudem erfahren wir mehr über die Verlässlichkeit bzw. die Unsicherheit der Messung dieser Substanzen für die Diagnose von Erkrankungen und die Therapiekontrolle bei Wachstumshormonüberschuss (Akromegalie).

Ablauf der Studie / Untersuchungen

Zunächst wird sich ein Arzt / eine Ärztin mit Ihnen über diese Information und die Studie insgesamt unterhalten. Es ist sehr wichtig, dass Sie schriftlich Ihr Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme an dieser Studie erteilen, **bevor** die betreffenden Untersuchungen an Ihnen vorgenommen werden oder im Labor vorhandene Reste Ihrer Blutproben für Analysen verwendet werden.

Bevor Blutentnahmen sowie der Zuckerbelastungstest stattfinden, wird sich ein Arzt / eine Ärztin ausführlich mit Ihnen über Ihren Gesundheitszustand bzw. bei Patientinnen und Patienten über Ihre Krankheitsgeschichte unterhalten. Es wird auch eine kurze körperliche Untersuchung stattfinden (z.B. Blutdruckmessung, Messung von Gewicht- und Größe).

Die eigentlichen Untersuchungen der Studie gliedern sich in 3 Teile.

(a) Stündliche Blutentnahmen von 8:00 bis 15:00

Für die Blutentnahmen im Laufe des Tages wird Ihnen eine Plastikkanüle in eine Unterarmvene gelegt und durch Infusion von Kochsalzlösung offen gehalten. Aus der Kanüle wird nun zwischen 8:00 und 15:00 stündlich eine Blutprobe entnommen (insgesamt also 8 x 4,5 ml).

(b) Monatliche Blutentnahmen über ein Jahr

Für den zweiten Teil der Studie werden Sie gebeten, über 1 Jahr monatlich zur Abnahme einer Blutprobe (jeweils 4,5 ml) in unserer Ambulanz zu erscheinen.

(c) Oraler Glukose-Toleranz-Test

An einem weiteren Untersuchungstag wird ein Zuckerbelastungstest durchgeführt. Sie müssen für diese Untersuchung nüchtern sein. Es wird Ihnen wiederum eine Plastikkanüle in eine Unterarmvene gelegt und durch Infusion von Kochsalzlösung offen gehalten. Aus dieser Plastikkanüle erfolgen alle Blutentnahmen.

Nach Abnahme eines Ausgangswertes (4,5 ml Blut) werden Sie eine Zuckerlösung mit 75g Zucker zu trinken bekommen. Diese Zuckermenge ist in etwa 3-4 Semmeln oder in 0,7 l Coca-Cola enthalten. Anschließend wird Ihnen zu bestimmten Zeitpunkten Blut aus der Plastikkanüle entnommen (nach 30, 60, 120 und 180 Minuten jeweils 4,5 ml). Der Test dauert insgesamt ca. 3,5 Stunden und findet unter standardisierten Bedingungen im Funktionsraum der Medizinischen Klinik Innenstadt statt.

Für die teilnehmenden Patienten ist dieser Test Bestandteil des normalen Untersuchungsprogramms zur Erkennung und Verlaufskontrolle Ihrer Erkrankung. Sollte ein solcher Test bei Ihnen erst kürzlich erfolgt sein und die Blutproben noch in unserem Labor vorhanden sein, muss er nicht extra erneut durchgeführt werden. In diesem Falle bitten wir Sie lediglich um Ihr Einverständnis, aus diesen Resten der Blutproben noch weitere Hormonanalysen durchführen zu dürfen.

Blutuntersuchungen

Aus der entnommenen oder noch im Labor vorhandenen Blutprobe sollen im Rahmen dieser Studie die Konzentrationen von IGF-I, IGFBP-3 und ALS bestimmt werden. Beim Zuckerbelastungstest wird zusätzlich der Blutzucker sowie die Konzentration des zuckerregulierenden Hormons Insulin bestimmt.

Zusätzlich möchten wir Sie um Ihr Einverständnis bitten, eventuell verbleibende Reste der Blutproben aufbewahren und für zukünftige Messungen verwenden zu dürfen. Dies ist im Labor bei Einführung neuer Methoden oft wichtig, um Vergleichswerte zu bekommen. Selbstverständlich werden auch diese Reste der Blutproben nur den unten unter „Vertraulichkeit der Daten“ genannten Richtlinien verwendet.

Fragen zum Gesundheitszustand

Der betreuende Arzt wird Sie bei jedem Besuch über Ihren Gesundheitszustand befragen.

Risiken

Risiken der Untersuchung

Die routinemäßigen Blutentnahmen bei jedem Besuch stellen kein erhöhtes Risiko für eine Blutarmut dar. An der Injektionsstelle können vorübergehende Blutungen und Schmerzen sowie selten lokale allergische Reaktionen bzw. Entzündungen auftreten.

Risiken des orale Glukose-Toleranz-Tests

Das rasche Trinken von konzentrierter Zuckerlösung führt in sehr seltenen Fällen auch bei gesunden Personen zu einem Unterzucker. Dieses zunächst überraschend erscheinende Phänomen kann man dadurch erklären, dass der Körper auf die plötzlich sehr hohe Zuckerkonzentration im Blut reagiert und versucht, den Blutzucker wieder zu senken. Dabei kommt es nun in seltenen Fällen zu einer zu starken Senkung, was zu vorübergehendem Unterzucker führt. Normalerweise ist dieses Problem sehr einfach durch das Essen einer Semmel oder eines Apfels zu lösen. Natürlich wird bei dem oralen Glukose-Toleranz-Test Ihr Blutzucker regelmäßig kontrolliert, um Unterzucker rechtzeitig zu erkennen.

Nutzen

Als gesunder Proband haben Sie persönlich keinen vorhersehbaren Nutzen von der Teilnahme. Sollten bei den Laboruntersuchungen Auffälligkeiten gefunden werden, werden wir Sie natürlich sofort davon unterrichten.

Für Patientinnen mit PCO-Syndrom und Patientinnen und Patienten mit Akromegalie gehört der orale Glukose-Toleranz-Test zum routinemäßigen Untersuchungsprogramm bzw. zur Verlaufskontrolle Ihrer Erkrankung dazu, dieser Test wird nicht extra für die Studie durchgeführt. Die Blutentnahmen in den Studienteilen 1 und 2 erbringen für die Patienten und Patientinnen mit Akromegalie keinen besonderen Nutzen, da eigentlich eine halbjährliche bis jährliche Kontrolle der Blutwerte in den meisten Fällen ausreichend ist. Daher sind diese Blutentnahmen nur für diese Studie wichtig. Sie ermöglichen uns durch Ihre Teilnahme, die Qualität der labormedizinischen Untersuchungen zu erhöhen, was potentiell in Zukunft allen betroffenen Patienten zu Gute kommen wird.

Vorzeitiger Abbruch der Studie

Wie bei jeder klinischen Studie ist es möglich, dass diese Studie frühzeitig abgebrochen wird. Sollte dies der Fall sein, ist Ihre Zustimmung hierzu nicht erforderlich. Zudem können Sie von einer weiteren Studienteilnahme ohne Ihre Zustimmung ausgeschlossen werden, z.B. wenn es Ihnen nicht möglich ist, die vorgesehenen Untersuchungstermine wahrzunehmen oder die Studienanweisungen zu befolgen. Sie können auch aus der Studie ausgeschlossen werden, wenn bei Ihnen nachträglich Ausschlusskriterien auftreten, wie z.B. eine Schwangerschaft oder wenn Sie eine Erkrankung entwickeln, die eine weitere Studienteilnahme als zu riskant erscheinen lässt.

Freiwilligkeit der Teilnahme

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Studie ist freiwillig. Sie können Ihre Teilnahme jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen beenden. Sie haben jederzeit das Recht, alle wichtigen Informationen über die Studie einzuholen

Vertraulichkeit der Daten

Die personenbezogenen Daten und Informationen aus dieser Studie werden vertraulich behandelt. Die beteiligten Ärzte unterliegen selbstverständlich der ärztlichen Schweigepflicht.

Die im Rahmen der Studie erhobenen Daten werden in anonymisierter Form unter Einhaltung des Datenschutzes wissenschaftlich ausgewertet. Personenbezogene Daten werden nicht an Dritte weitergegeben. Nur vollständig anonymisiert werden die Daten für wissenschaftliche Veröffentlichung verwendet.

Probandengeld

Als Aufwandsentschädigung erhalten Sie als gesunder Proband / gesunde Probandin maximal 500 €. Diese Summe wird gezahlt, wenn alle 3 Studienteile vollständig abgeschlossen wurden und Sie alle Untersuchungstermine wahrgenommen haben.

Bei vorzeitigem Abbruch bzw. bei Ausscheiden aus der Studie – unabhängig davon, ob dies begründet oder unbegründet geschieht – werden anteilig die bis dahin absolvierten Studienteile honoriert.

Stand dieser Information

Diese Information berücksichtigt alle Umstände und Daten, die im April 2005 über die im Rahmen der Studie verwendeten Analyse- und Diagnoseverfahren bekannt waren. Sollten sich wesentliche Änderungen ergeben, wird Sie Ihre Ärztin / Ihr Arzt umgehend darüber informieren.

Für weitere Fragen zu der beschriebenen Studie steht Ihnen Ihre Ärztin / Ihr Arzt, Dr. med. Martin Bidlingmaier

Tel.: 089/5160 2277 zur Verfügung

.Klinikum der Universität München
Medizinische Klinik – Innenstadt
Direktor: Prof. Dr. M. Reincke
Neuroendokrinologische Arbeitsgruppe

Dr. med. Martin Bidlingmaier

Klinikum der Universität München □ Medizinische
Klinik – Innenstadt

Variabilität der Konzentration von IGF-I: Einfluss auf die Aussagekraft der Messung von IGF-I als
biochemischer Marker der Krankheitsaktivität bei Patienten mit Akromegalie

Einwilligungserklärung

Ich wurde von meiner Ärztin / meinem Arzt über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie aufgeklärt. Ich habe alle Punkte der Probandeninformation gelesen und verstanden. Alle mich interessierenden Fragen hat meine Ärztin / mein Arzt in für mich verständlicher Weise beantwortet. Über den Studienablauf, die Risiken, meine Rechte und Pflichten bin ich informiert worden. Ein Exemplar der Probandeninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten.

Ich erkläre mein Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Meine Teilnahme ist freiwillig und kann jederzeit von mir ohne Angaben von Gründen widerrufen werden, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen. Über die Modalitäten der Honorierung wurde ich informiert.

Ich bin mit der im Rahmen dieser klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten (Daten zu meiner Erkrankung und deren Verlauf) einverstanden. Ich bin mit der elektronischen Datenverarbeitung und wissenschaftlichen Auswertung der Krankheitsdaten in anonymisierter Form einverstanden.

.....
(Name, Vorname)

.....
(Geburtsdatum)

.....
(Ort, Datum)

.....
(Unterschrift Patientin / Patient)

ERKLÄRUNG DES ARZTES

Die Probandin / der Proband wurde von mir über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie aufgeklärt. Ein Exemplar der Probandeninformation und der Einverständniserklärung wurde der Probandin / dem Probanden ausgehändigt.

.....
Datum)

.....(Ort,
(Stempel und Unterschrift der Ärztin / des Arztes)

Dr. med. Martin Bidlingmaier, Tel.: 089/5160 2277, Fax: 089/5160 4457

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn PD Dr. med. J. Schopohl, der mir dieses Thema überließ und mir somit die Möglichkeit bot, einen Beitrag zur endokrinologischen Forschung zu liefern. Zudem durfte ich in seinem Labor und in der neuro-endokrinologischen Arbeitsgruppe der Medizinischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München das wissenschaftliche Arbeiten lernen.

Herrn Dr. Martin Bidlingmaier, der mit mir sowohl den theoretischen als auch den klinischen Teil plante, neue Ideen einbrachte, stets zur Diskussion der Ergebnisse anregte und schließlich jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Herrn PD Dr. med. Markus Kupka, der mir über die Kinderwunschambulanz der Frauenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München einen Einblick in die Klinik gewährte und durch seine Unterstützung maßgeblich dazu beitrug, dass Patientinnen mit PCO-Syndrom rekrutiert werden konnten.

Herrn Dr. Ulrich Winter und Fr. Theresia Faus-Keßler, die mir bei der Medizinischen Statistik und der Auswertung meiner Daten halfen.

Mein Dank gilt allen gegenwärtigen Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen der neuroendokrinologischen Arbeitsgruppe und der Ambulanz der Medizinischen Klinik Innenstadt: Brigitte Mauracher, Sarina Meurer, Juliane Ramisch, Rita Schwaiger, Lothar Spangler, Frau Baumann.

Zudem möchte ich meinen Probanden danken für ihre Bereitschaft, an dieser Studie teilzunehmen und für aktive Mitarbeit, die meine Arbeit erleichterte und unterstützte.

Vor allem bei meinen Eltern, Großeltern und Freunden, insbesondere Frau Agnes Nocon und Herrn Henrik Dammann möchte ich mich für Ihre tatkräftige Unterstützung und Toleranz im Bezug auf das Dauerthema Doktorarbeit bedanken.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Miriam Stützel
Geburtsdatum: 06.08.1974
Geburtsort: Schorndorf/ Rems-Murr-Kreis

Ausbildungsdaten:

Schulausbildung:	1981 - 1985	Dahlmann - Grundschule, Frankfurt
	1985 - 1994	Helmholtz - Gymnasium, Frankfurt
Berufsausbildung:	1995 - 1998	Ausbildung zur Physiotherapeutin in der Physiotherapieschule Friedrichsheim,
Studium:	Okt 2000	Studium der Humanmedizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main
	April 2004	Studienplatzwechsel an die Technische Universität München
	Seit April 2005	Doktorandin in der Endokrinologie der Ludwig-Maximilians-Universität; München
	2007 - 2008	Praktisches Jahr des Medizinstudiums an der Universitätsklinik Eppendorf, Hamburg
	Juni 2008	Approbation als Ärztin