



## LabTOPs

Wissenswertes aus der Laboratoriumsmedizin

9. Ausgabe – Januar 2011  
Redaktion : Elke Schernikau

Zentralinstitut für Klinische Chemie  
und Laboratoriumsmedizin  
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. E. Wieland)

## Überwachung der Digitalistherapie – eine einfache Angelegenheit?

Prof. Dr. med. E. Wieland

### (Neu-) Standardisierung von Wachstumshormon (hGH, STH) in der endokrinologischen Labor-Diagnostik

OÄ Anja Effenberger-Klein

## Überwachung der Digitalistherapie – eine einfache Angelegenheit?

Die wichtigsten Herzglykoside der Digitalisgruppe werden aus *Digitalis purpurea* und *Digitalis lanata* isoliert. Von den Digitalisglykosiden sind vor allem Digoxin (z.B. Lanicor, Digacin, Lenoxin) Digoxin-Derivate (z.B. Lanitop, Novodigal) und Digitoxin (z.B. Digimed, Digimerck) für die Therapie der Herzinsuffizienz im klinischen Einsatz

Die Ausscheidung erfolgt bei Digoxin zu etwa 60% renal mit einer Halbwertszeit von 1,5 Tagen, bei Digitoxin renal (ca. 35%) und biliär, wobei die Wiederaufnahme im Darm (enterohepatischer Kreislauf) zu einer Halbwertszeit von 7 Tagen führt. Digoxin und Digitoxin werden in der Leber zu verschiedenen deutlich weniger wirksamen Metaboliten umgewandelt, wobei aus Digitoxin zu ca. 7-10% Digoxin entsteht. Therapeutische Konzentrationen werden bei Digitoxin in der Regel erst nach 4-6 Wochen, bei Digoxin nach 8-10 Tagen erreicht. Die Digoxindosis muss bei einer Niereninsuffizienz angepasst werden. Dagegen ist bei einer Niereninsuffizienz für Digitoxin keine Dosisanpassung notwendig. Die Konzentration der Herzglykoside ist im Myokard wesentlich höher als im Serum oder Plasma (Digoxin 25-35:1, Digitoxin 5-6:1) und wegen einer stark unterschiedlichen Rezeptordichte im Myokard besteht ein interindividuell stark variabler Digitalisbedarf.

Da die Wirkstärke der Herzglykoside durch viele Medikamente sowie schwankende Elektrolytkonzentrationen beeinflusst werden kann und sie darüber hinaus nur eine geringe therapeutische Breite besitzen, sollte ihr Einsatz in individueller Dosierung unter Blutspiegelkontrolle (TDM) erfolgen. Die Messung im Labor erfolgt mit Immunoassays. Die Bestimmung sollte für Digoxin frühestens sechs Tage, für Digitoxin vier bis fünf Wochen nach Beginn der Therapie im Steady State erfolgen. Die therapeutischen Bereiche beziehen sich auf die Blutentnahme unmittelbar vor der nächsten Dosis (Talspiegel) bzw. frühestens 8-24h nach der letzten Einnahme des Medikaments (Verteilungsphase abgeschlossen) und sind in Tabelle 1 dargestellt:

**Tabelle 1 Therapeutische Bereiche (Serum/Plasma).**

Digitalisglykosid	Therapeutischer Bereich
Digoxin	0,9 – 2,0 ng/ml
Digitoxin	9 – 25 ng/ml

Die stark unterschiedlichen therapeutischen Bereiche spiegeln die großen Unterschiede in der Dosierung wider, die bei Digitoxin ca. 10-fach höher liegt. Da sich die Wirkung der Herzglykoside klinisch nicht ganz einfach feststellen lässt, wird häufig der Blutspiegel zu oft kontrolliert. Solch ein Routinemonitoring bei

stabilen Patienten unter Langzeittherapie ist nicht sinnvoll. Die Indikationen zur Bestimmung von Digitalisglykosiden sind in Tabelle 2 zusammengefasst:

**Tabelle 2: Indikationen zur Bestimmung von Digoxin und Digtoxinkonzentrationen im Serum/Plasma**

- Beginn der Therapie
- Verdacht auf Intoxikation
- Hochrisikopatienten (z.B. Hypokaliämie)
- Dosisanpassung von Digoxin bei Niereninsuffizienz
- Fehlende Wirkung trotz adäquater Dosis (Malabsorption, Non-Compliance)
- Verdacht auf Medikamenteninteraktionen (z.B. Kalziumantagonisten, Tetracycline, Phenobarbital, Sympathikomimetika, Diuretika, Chinidin, Verapamil, Amiodaron, Diltiazem, usw.)
- Schwangerschaft
- Schilddrüsenerkrankungen (Hypo- und Hyperthyreose)
- Überprüfung der individuellen Pharmakokinetik

Bei der Messung im Labor gilt es einige Punkte zu beachten, da auch die bei uns verwendeten Immunoassays eine Kreuzreaktion sowohl zu endogenen als auch zu exogenen Substanzen zeigen.

Wichtig ist die **korrekte Anforderung der Analyse**, da es zu Kreuzreaktionen kommt. Besonders wichtig ist dies für die Digoxinmessung, da Digitoxin in allen Immunoassays eine variable Kreuzreaktion von 5-20% zeigt und unter Digitoxintherapie viel höhere Glykosidkonzentrationen im Blut zu finden sind als unter einer Digoxintherapie. So können unter einer Digitoxintherapie mit Digoxinimmunoassays therapeutische Digoxinkonzentrationen vorgespiegelt werden, während die Digitoxinkonzentration schon toxische Bereiche (>30 ng/ml) erreicht hat. Darüber hinaus wird Digitoxin, wie bereits erwähnt, zu einem geringen Teil zu Digoxin metabolisiert.

Weitere exogene Ursachen für falsch hoch gemessene Digitaliskonzentrationen sind Inhaltsstoffe von pflanzlichen Arzneimitteln wie den Extrakten aus der afrikanischen Uzara-Wurzel, dem sibirischen Ginseng oder der dem chinesischen Dan Shen. In den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts wurden, ähnlich wie für die Opiate die Endorphine, zum ersten Mal endogene digitalisartige Substanzen beschrieben. An diese digoxin- oder digitoxinähnlichen immunreaktiven Faktoren (DLIF) muss man vor allem bei Patienten mit Niereninsuffizienz, Leberinsuffizienz, bei Schwangeren und bei Neugeborenen mit unplausibel hohen Digitaliskonzentrationen im Serum/Plasma denken. Nach der Behandlung einer Digitalisintoxikation mit FAB-Antikörperfragmenten sind die meisten Immunoassayergebnisse für Digoxin und Digitoxin mindestens für die nächsten 10 Tage ebenfalls falsch hoch.

#### Tabelle 4 Ursachen für falsche erhöhte Digitaliswerte

- Kreuzreaktion von Digoxinassays mit Digitoxin
- Kreuzreaktion von Digitoxinassays mit Digoxin
- Kreuzreaktionen mit anderen Digitalisglykosiden oder Glykosidmetaboliten
- Kreuzreaktion mit Inhaltsstoffen pflanzlicher Arzneimittel (z.B. Uzara, Ginseng, Dan Shen)
- Kreuzreaktion mit anderen Medikamenten
- Kreuzreaktion zu endogenen Faktoren (DLIF)
- Therapie mit Digitalis-Antikörperfragmenten

Kreuzreaktion gibt es auch zu anderen Digitalisglykosiden wie z.B. Acetyldigoxin und Acetyldigitoxin sowie zu Metaboliten (z.B. Dihydrodigoxin). Da vom Reagenzienhersteller nie das gesamte Spektrum möglicher kreuzreagierender Substanzen getestet werden kann, kommt es auch gelegentlich zu bisher nicht beschriebenen Interaktionen in den Assays z.B. mit anderen Medikamenten. Bei unplausiblen Ergebnissen wenden Sie sich bitte an unser Speziallabor für TDM und Toxikologie (Frau Dr. M. Shipkova, Herr Dr. T. Plecko), Tel: 34854 oder 34826.

Prof. Dr. Eberhard Wieland

## (Neu-) Standardisierung von Wachstumshormon (hGH, STH) in der endokrinologischen Labor-Diagnostik

### Physiologie und Pathophysiologie:

➤ Wachstumshormon (human Growth Hormon=hGH, somatotropes Hormon=STH) wird in den somatotropen („eosinophilen“ Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) gebildet. Die Freisetzung wird hypothalamisch durch das zugehörige Releasing Hormon (GHRH) stimuliert und durch Somatostatin inhibiert. Die wesentliche Funktion in der Körperperipherie ist die Stimulation der IGF-1-Synthese (insulin-like growth faktor- 1, früher Somatomedin C) in den Hepatozyten.

➤ hGH wird vom HVL in 2 Hauptformen sezerniert, zu 90% als 22 kD-Form mit 191 Aminosäuren und zu 5-10% als 20 kD-Form mit 176 Aminosäuren. Die 22 kD-Form hat als Monomer die höchste biologische Wirksamkeit, die biologische Wirksamkeit der 20 kD-Form ist nicht genau bekannt, wird allerdings als geringer eingestuft. Von der 22 kD-Form werden in geringen Anteilen noch post-translational modifizierte Formen mit voller biologischer Wirksamkeit gebildet sowie eine 17 kD-Kurzform mit ausgeprägterer anti-insulinärer Wirksamkeit.

➤ Ca. 10% der sezernierten bzw. modifizierten hGH-Formen lagern sich im Plasma als Di-bis Pentamere zusammen, wobei auch 22 kD/20 kD-Heterodimere vorkommen. Die Oligomere

haben eine geringere somatotrope aber höhere laktogene Aktivität.

Die Plasma-Halbwertszeit liegt für monomeres 22 kD-hGH bei ca. 10 Minuten, für die Oligomere bei ca. 18 Minuten.

➤ Die Wirkung an den Effektorzellen erfolgt über membran-gebundene Rezeptorproteine, die durch das hGH (zwei Rezeptorbindungsstellen) dimerisiert werden. Die Rezeptoren werden von den Zellen regelmäßig abgeworfen und kursieren in Fragmenten als sog. GHBP (growth hormone binding proteins) im Plasma. Ca. 40-60% der zirkulierenden hGH-Formen sind an solche GHBP gebunden.

➤ Diagnostisch spielt die Bestimmung von hGH vor allem im Rahmen von Verlaufsmessungen bei Stimulations- oder Suppressionstests eine Rolle, da aufgrund der kurzen Halbwertszeit und pulsatilen (v.a. nächtlichen) Sekretion spontane Einzelwertbestimmungen nur wenig aussagekräftig sind.

➤ Haupt-Indikationen für die Labor-Diagnostik sind:

1. V.a. Wachstumshormon-Mangel (Minderwuchs im Kindesalter, V.a. partielle oder totale HVL-Insuffizienz, z.B. im Rahmen von Tumoren, Blutungen oder Traumen)
2. V.a. hGH-sezernierendes HVL-Adenom (Akromegalie im Erwachsenenalter bzw. ausgeprägter Hochwuchs im Kindes- und Jugendalter)

### Bestimmung im Labor:

➤ **Immunoassays:** Die klassische Routine-Bestimmungsmethode für Proteohormone ist der zweiseitige Antigen-Capture-Immunoassay („Sandwich-Assay“) wobei ein Antikörper festphasen-gebunden als Fänger dient und der andere den Marker für die Detektion trägt, wobei sich bei den Markern im Laufe der letzten 10-20 Jahre die Non-Isotopen-Methoden (EIA, ELISA, LEIA, LIA uvm.) gegenüber dem ursprünglichen RIA durchgesetzt haben.

Bei den Antikörpern werden sowohl monoklonal/monoklonale als auch monoklonal/polyklonale Paare eingesetzt.

➤ **Immunfunktionelle Assays:** Bei diese Assays werden als Fänger und Detektor anstelle der Antikörper Epitope des Membranrezeptors eingesetzt, was eine wesentlich höhere Spezifität bewirkt, da fast ausschließlich die biologisch aktive monomere 22 kD-Form erfaßt wird. Allerdings waren und sind diese Assays nicht kommerziell als Routinemethoden verfügbar.

➤ **Standardisierung:** Hauptproblem der Standardisierung war in der Vergangenheit das eingangs erwähnte physiologische Gemisch der hGH-Formen mit unterschiedlicher biologischer Aktivität. Je nach Antikörper wurden die Unterformen unterschiedlich miterfasst, so dass das Festlegen einheitlicher Bewertungsgrenzen für Stimulations- und Suppressionstests

äußerst schwierig war und teilweise für jeden Assay-Hersteller andere Grenzwerte galten. Die Vergleichbarkeit der Assays war schlecht, auch bei Verwendung formal desselben Standards.

Als Standards sind verschiedene Referenzpräparationen sowohl nativer als auch rekombinanter Herkunft im Einsatz. Die jeweilige Gegenüberstellung von Massenkonzentration (ng/ml) und Aktivität (µIU/ml) ist wie folgt:

- Pituitary-RP 66/217 → 1 ng ≅ 2,0 µIU
- WHO IRP 80/505 → 1 ng ≅ 2,6 µIU
- NIAMDD-hGH-RP1 → 1 ng ≅ 2,3 µIU
- WHO IRP 88/624 → 1 ng ≅ 3,0 µIU (nominal!)
- WHO NIBSC 2<sup>nd</sup> IS 98/574 → 1 ng ≅ 3,0 µIU

Während es sich bei den erstgenannten Standards um native Präparationen handelt, sind die beiden letztgenannten rekombinante Standards mit reinem monomeren 22 kD-hGH.

Da die IRP 88/624 bei genauer Überprüfung im immunfunktionellen Assay eine Aktivität von ca. 3,6 µIU/ng gezeigt hat, ist heute die WHO NIBSC 2<sup>nd</sup> IS 98/574 als Referenzpräparation für Immunoassays der allgemein empfohlene Standard, womit auch die Vergleichbarkeit der Assays untereinander gewährleistet werden kann.

Das Labor des Klinikums Stuttgart setzt bereits seit 2 Jahren einen Assay mit dieser Standardisierung ein, **die Werteangabe auf dem Laborbefund erfolgt im Moment allerdings als Rückrechnung auf den vielerorts noch gebräuchlichen alten Standard WHO IRP 80/505 !**

Die Umrechnungsformel lautet:

**WHO NIBSC 98/574  $\times$  1,393 = WHO IRP 80/505**

Referenzwerte:	IRP 80/505	2 <sup>nd</sup> IS 98/574
< 1 Jahr (basal)	2-10	1,4-7 ng/ml
> 1 Jahr (basal)	< 7	< 5 ng/ml
nach Stimulation	> 7 (10)	> 5 ng/ml
nach Suppression	< 1 (2)	< 0,7 ng/ml

Hintergrund der Rückrechnung sind veraltete aber teilweise noch gültige Bewertungsgrenzen v.a. für Stimulationstests im Rahmen der Minderwuchs-Diagnostik (Exercisetest, Arginin-Infusionstest, Insulin-Hypoglykämietest, Clonidintest), die sich am 80/505 orientieren. Ein Minderwuchs ist danach bei einem Anstieg im auf  $\geq 7$  ng/ml unwahrscheinlich, bei  $\geq 10$  ng/ml ausgeschlossen. Wünschenswert wäre daher eine aktualisierte Bewertung der Stimulationstests, damit der inzwischen gut standardisierten und reproduzierbaren Labordiagnostik auch offiziell auf dem Befund Rechnung getragen werden kann!

*OÄ Anja Effenberger-Klein*

Die Zusammenstellung aller Inhalte wurde mit Sorgfalt vorgenommen. Eine Haftung, auch für eventuelle Fehler, kann nicht übernommen werden.