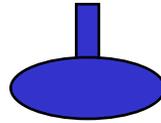
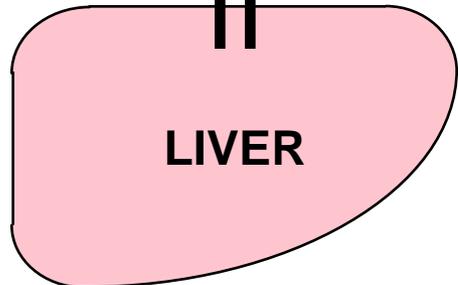


PITUITARY



Growth Hormone (GH)



LIVER



IGF-1 + IGFBPs



BLOOD

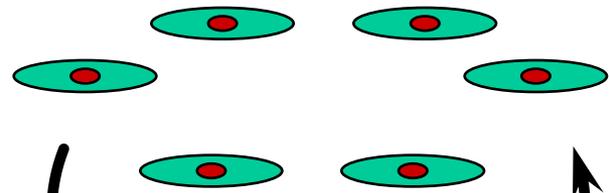


TARGET TISSUES

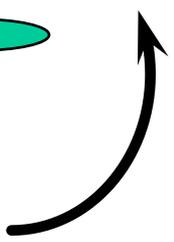
NUTRITIONAL FACTORS



OTHER TISSUES



IGF-1 + IGFBPs



Principales causes de déficit en GH (GHD)

- **Anomalies moléculaires** (GH-N; Récepteur du GRF ; Pit-1 ; Prop-1...)
- **Malformation hypothalamo-hypophysaire (HH)**
: anomalie de la ligne médiane ; hypoplasie HH ; syndrome d'interruption de la tige pituitaire.
- **Tumeurs et conséquence des TTT des tumeurs**
(craniopharyngiome ; gliome des voies optiques ; astrocytome malin ; conséquences d'une irradiation de la région HH)
- **Infiltration, inflammation de la région HH**
(histiocytose ; infections ; sarcoïdose...)
- *Idiopathique*

GH :

**sécrétion pulsatile et 1/2 vie courte =>
dosage sur prélèvement “isolé”
non informatif en général**

**Pour le diagnostic de GHD, nécessité de
pratiquer des tests de stimulation.**

(arginine, ornithine, clonidine, L-Dopa, insuline,
glucagon, propranolol, betaxolol
arginine-insuline; glucagon-propranolol;
glucagon-betaxolol...)

Pédiatrie

**GHD si aucun “pic” $\geq 20 \mu\text{U/mL}$
lors de 2 tests consécutifs dont l’un doit être
un test « couplé »**

(dérivé de la valeur seuil historique de 10 ng/mL .

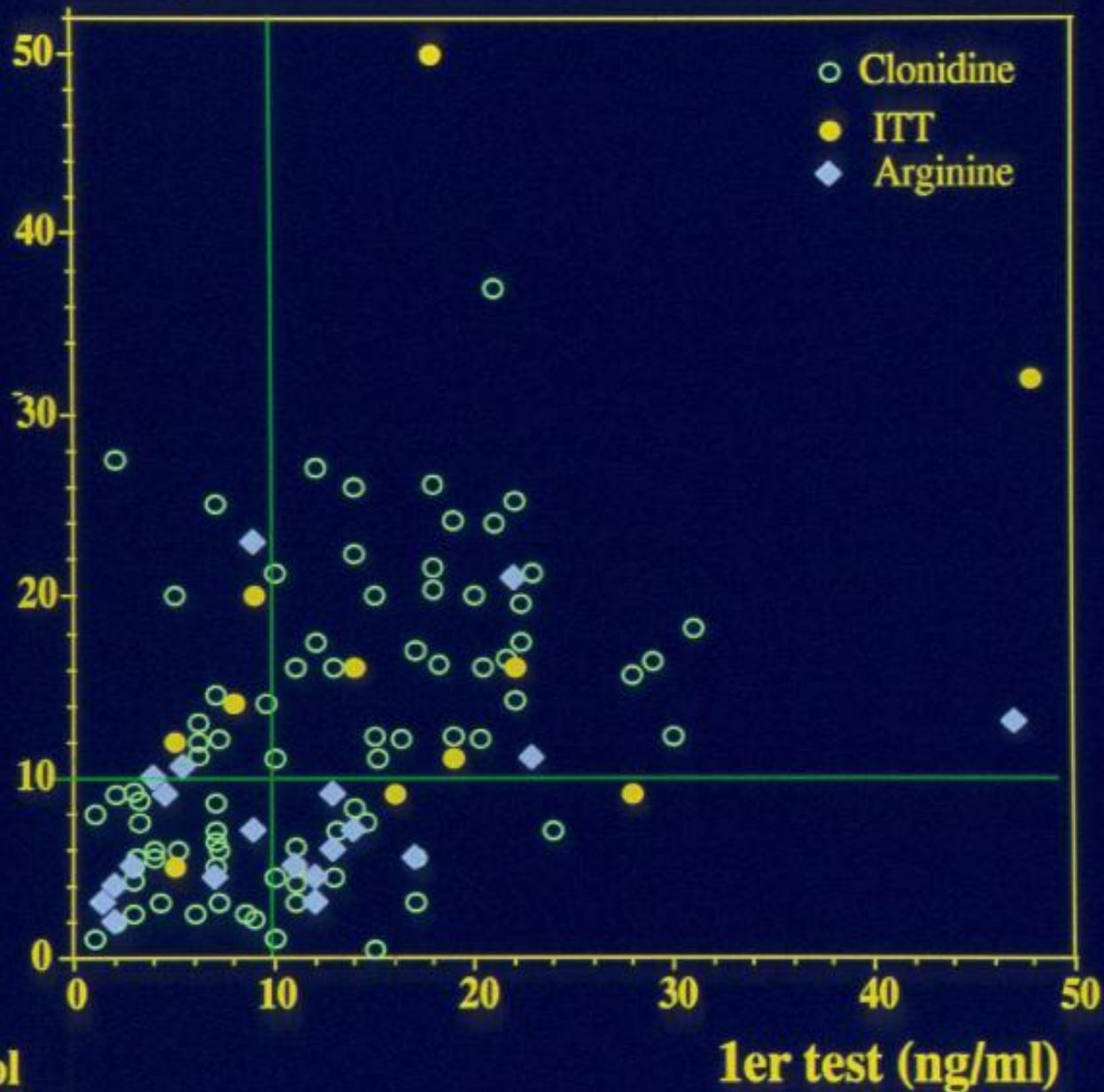
Diagnostic inscrit au Journal Officiel)

Notion de :

**- GHD complet =
pic $< 10 \mu\text{UI/mL}$**

**- GHD « partiel » =
pic entre 10 et $20 \mu\text{UI/mL}$**

2ème test (ng/ml)



Zadik *et al*

J Clin Endocrinol

Metab, 1990, 71: 1127

Diagnostic controversy : the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited

**Rosenfeld R, Albertsson-Wikland K, Cassorla F et al
J Clin Endocrinol Metab 1995; 80 : 1532-40.**

**Les tests de stimulation utilisés avec la valeur-seuil
« traditionnelle » ont une très bonne sensibilité pour
le diagnostic de GHD (mais on sait maintenant que cette
sensibilité n'est pas de 100%) mais une très mauvaise
spécificité.**

**Les différents tests de stimulation n'ont (probablement)
pas la même « puissance »**

Rocchiccioli P et coll. Acta Paediatr 1993; 82: 245-248

**Et pourtant la valeur seuil est la même quel que soit le
test de stimulation utilisé !**

Le pic GH est négativement corrélé à la masse grasse

Bonert et al. J Clin Endocrinol metab 2004 ; 89 : 3397-3401.

**Et pourtant la valeur seuil est la même quel que soit
l'IMC du patient !**

Endocrinologie « adultes »

Seuls les GHD « sévères » sont traités.

Test de référence = ITT

Cut-off = 3 μ g/L (9 mU/L)

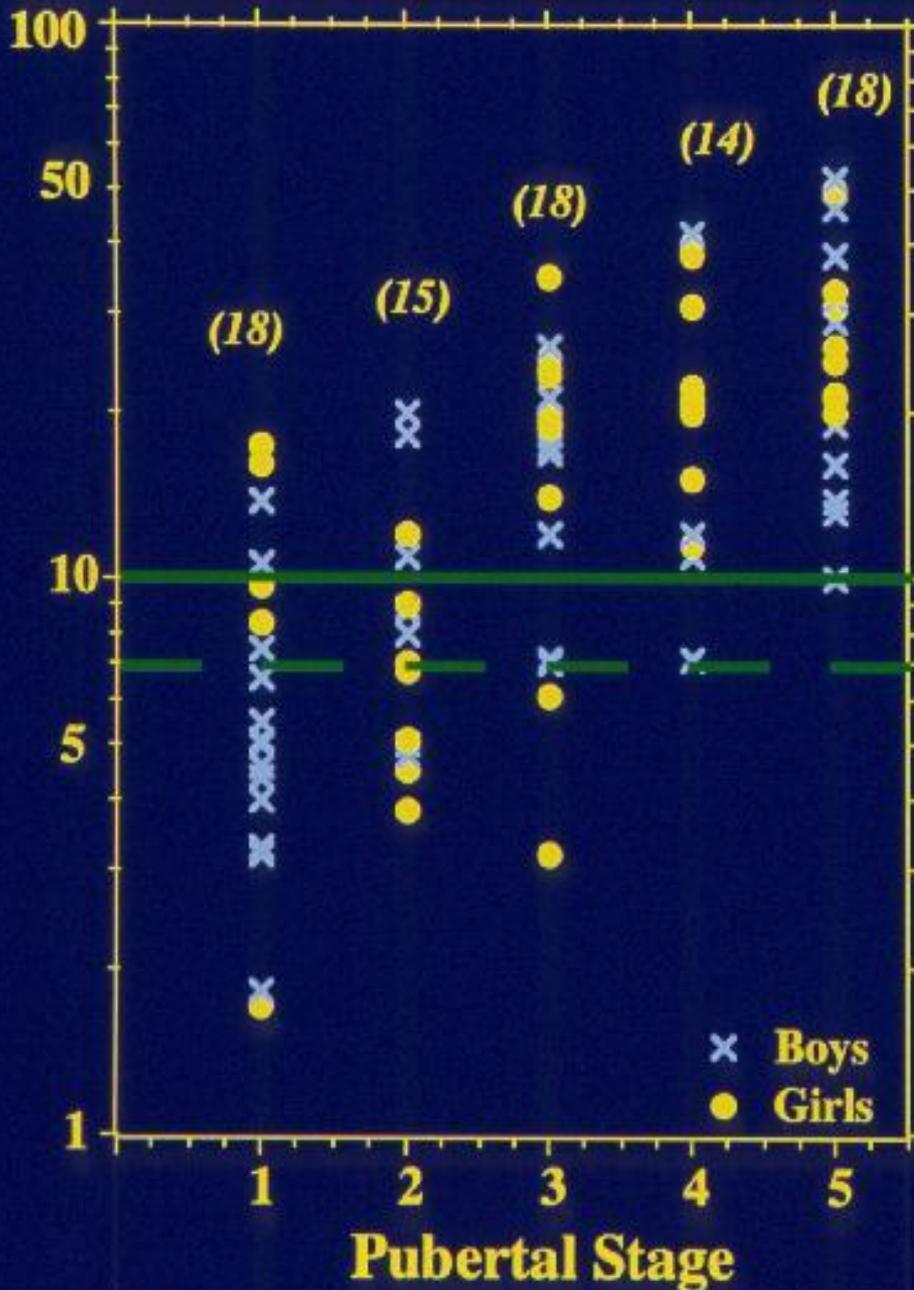
Cut-off aussi utilisé pour test glucagon

Pour le test GH-RH + Arginine, des cut-offs pour le GHD ont été établis et validés en fonction du BMI :

- Pic GH < 11 μ g/L pour des BMI < 25 kg/m²**
- Pic GH < 8 μ g/L pour des BMI entre 25 et 30 kg/m²**
- Pic GH < 4 μ g/L pour des BMI > 30 kg/m²**

Ken Ho on behalf of the 2007 GH deficiency consensus workshop participants. European Journal of Endocrinology 2007 ; 157:695-700

GH Peak (ng/ml)



Et pourtant
la valeur seuil est
la même quel que
soit l'âge et le stade
pubertaire

Marin *et al*, 1994
J Clin Endocrinol
Metab, 79 : 537-541

La valeur seuil est de 20 μ UI/mL

quel que soit :

le dosage de GH utilisé

**(alors que les différents dosages
de GH peuvent donner des valeurs
différentes [?])**

Concentrations moyennes de GH des 72 pools sériques

Immunotech :	16.2 mUI/L
Access :	18.4 mUI/L
Tosoh-Bioscience :	20.5 mUI/L
Cis Bio :	12.0 mUI/L
DPC Immulite :	23.1 mUI/L
DiaSorin :	19.2 mUI/L
Nichols Advantage :	20.6 mUI/L
Brahms IRMA :	18.9 mUI/L
Perkin Elmer Delfia :	14.7 mUI/L

*Les différences entre techniques sont # constantes
sur toute la gamme des valeurs*

Explications possibles pour ces discordances :

- Problèmes de spécificité

- Problèmes de standardisation / étalonnage

Recommandations du groupe SFBC (Ann Biol Clin, 2004 ; 62 : 155-163)

- A partir du 2ème trimestre 2004, tous les dosages de GH devront être **étalonnés contre le standard 98/574**
- Il est conseillé aux industriels d'utiliser de la GH recombinante 22 kDa comme étalon de travail
- L'effet « matrice » constaté devrait inciter les industriels à utiliser su sérum humain sans GH pour diluer le standard international lors de la « recalibration »
- Les résultats devront être maintenant rendus en **μUI/mL** et non plus en ng/mL
- Les **prélèvements doivent être faits sur tubes secs**. La GH doit être mesurée sur sérum et non plus sur plasma

Consensus statement on the standardization of GH assays

P Trainer, J Barth, C Sturgeon, G Wieringa.

European Journal of Endocrinology (2006) 155 : 1-2

Résultat du contrôle de qualité (obligatoire) de l'Afssaps pour les dosages de GH (opérations de 2009)

Technique	Industriel commercialisant le kit	09GH1 (mU/L)	09GH2 (mU/L)	n
hGH IRMA	BRAHMS France	//	22,5	1
HGH-CTK IRMA	DiaSorin	3,5	27,7	5
hGH-RIACT	Cis BioInternational	2,8	25,4	10
IRMA GH	Beckman-Coulter	2,8	21,0	4
AIA Pack hGH	TOSOH Bioscience	3,9	28,0	6
hGH DELFIA	PERKIN-ELMER	2,5	22,4	1
Access UltrasensitiveGH	Beckman-Coulter	2,7	20,6	14
LIAISON hGH	DiaSorin	3,1	23,8	15
GH Immulite 2000	DPC-Siemens	3,8	27,3	28

Notion de coefficient de variation (CV) analytique et d'incertitude de mesure

**On mesure (par exemple) 10 fois l'analyte =>
on obtient 10 valeurs différentes.**

$$\mathbf{CV = \acute{E}cart\text{-}type/moyenne}$$

**Pour dire que deux valeurs sont vraiment différentes,
il faut que la différence soit (#) > 2CV**

**En supposant un CV de 5% pour le dosage de la GH =>
18 n'est pas différent de 20
22 n'est pas différent de 20**

**Consensus statement on the standardization and evaluation
of growth hormone and IGF-I assays**

D Clemmons (corresponding author); *Clin Chem* 2011

Pour les dosages de GH :

-préanalytique (sérum)

-calibré contre IS 98/574 (1 mg = 3 UI) attention effet « matrice »

-spécifique de GH 22 kDa (sinon donner % croisement pour 20kDa)

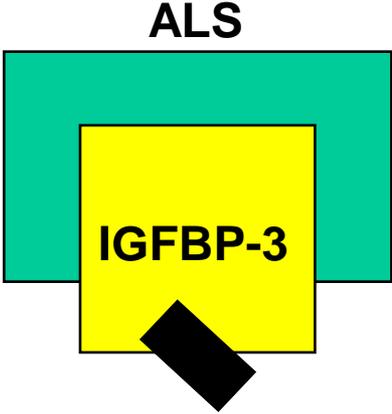
-évaluer interférence GH-BP

-LD # 0.05 µg/L (20%CV)

-résultats en masse (µg/L)

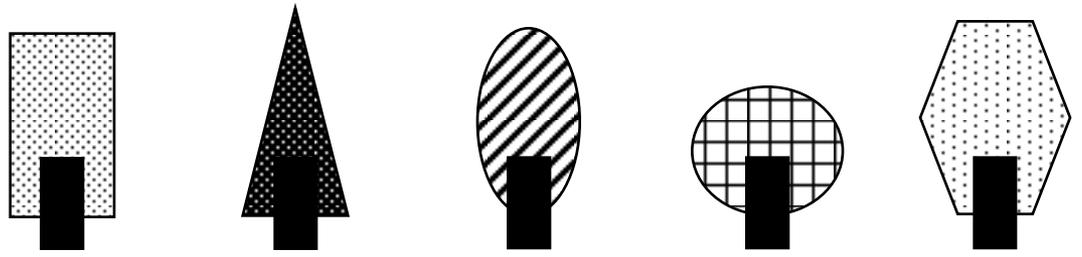
-contrôle de qualité sur « vrais » sérums »

IGF- I BINDING PROTEINS (IGFBPs)



IGF-I

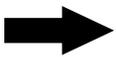
150 Kd COMPLEX
Long $t_{1/2}$



IGFBP-1 IGFBP-2 IGFBP-4 IGFBP-5 IGFBP-6

30 Kd COMPLEX
Short $t_{1/2}$

BIOLOGICAL ACTIONS



- Control tissue availability and degradation
- Modulate the presentation of IGF to the receptor
- Prolong the IGF-I $t_{1/2}$ in circulation

Dosages d'IGF I

Problème technique majeur : séparation IGF I / IGFBP

- Filtration sur gel

Méthode de référence. Longue et compliquée à appliquer en « grande routine »

- Extraction acide-éthanol

Beaucoup plus simple que la filtration sur gel, mais n'élimine pas toutes les IGFBP dans toutes les situations.

Amélioration grâce à une étape de « cryoprécipitation »

Importance +++ de l'affinité de l'anticorps

- Déplacement de l'IGF I par un excès d'IGF II

Méthode simple et rapide mais de qualité inégale.

Intérêt majeur pour l'automatisation

Attention à la spécificité vis-à-vis d'IGF II et à la quantité d'IGF II ajoutée.

**Jusqu'à une période récente, tous les kits étaient calibrés
contre le **SI 87/518****

Mais

**Ce standard est composé d'IGF I « méthionylé » (71 aa, PM 7780
au lieu de 70 aa, PM 7649) et est mal purifié (*Quarmby. JCEM 1998*)**

=>

les valeurs mesurées sont trop hautes

Nouveau **SI IS 02/254 WHO maintenant disponible.**

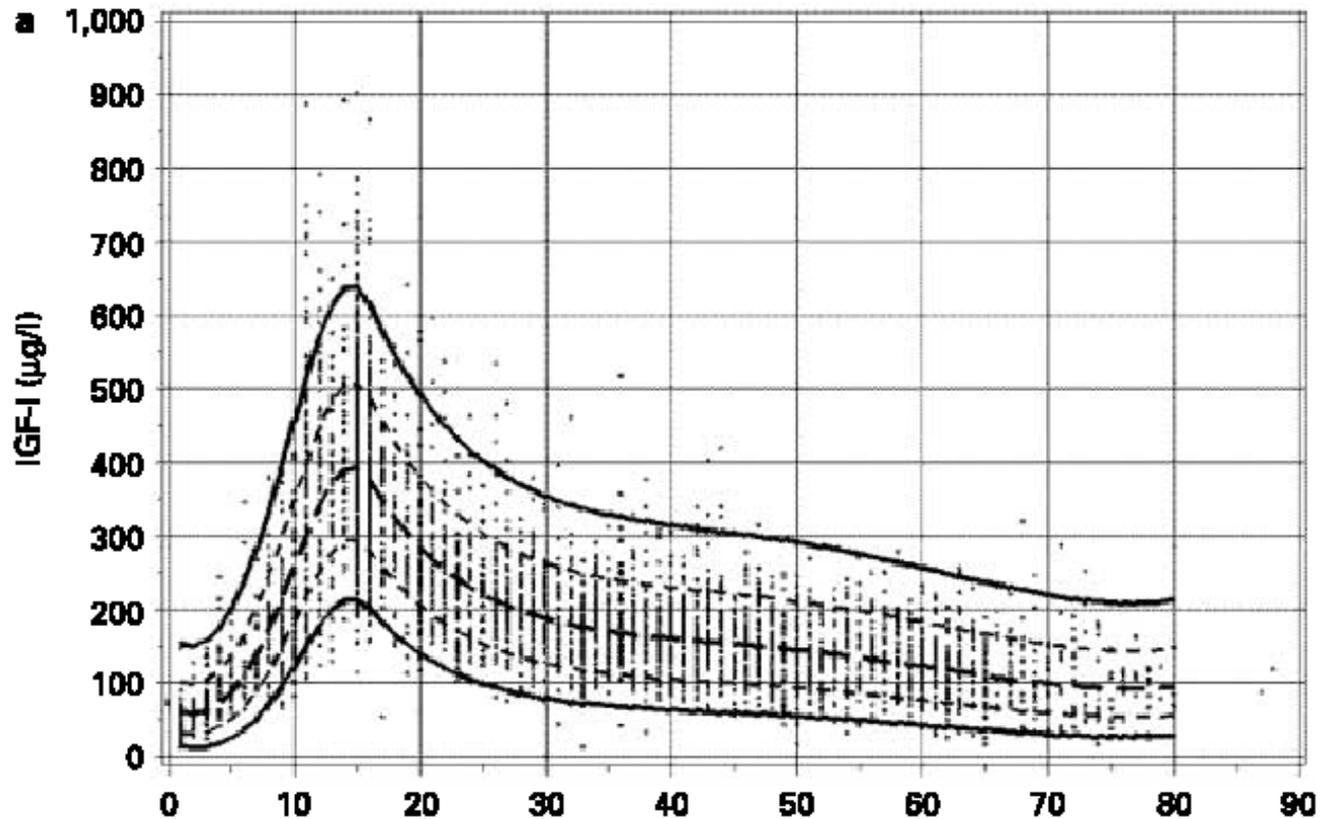
**Quand les kits sont calibrés contre ce nouveau SI,
les valeurs sont plus basses qu'avec l'ancienne calibration**

**Aujourd'hui, les dosages d'IGF I ne sont pas tous standardisés
contre le même SI**

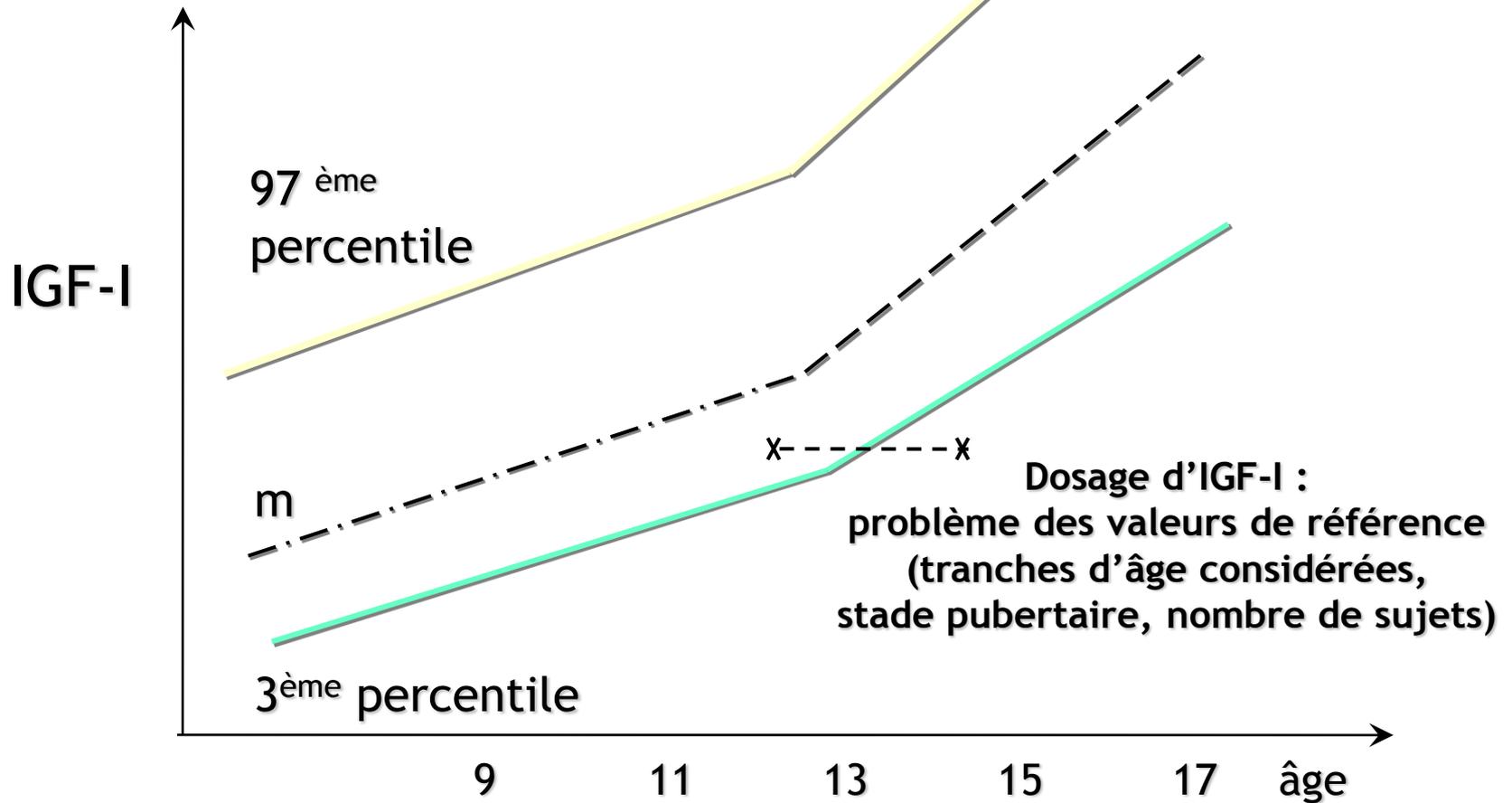
**(en France facteur 2 possible entre les valeurs mesurées avec
certains kits)**

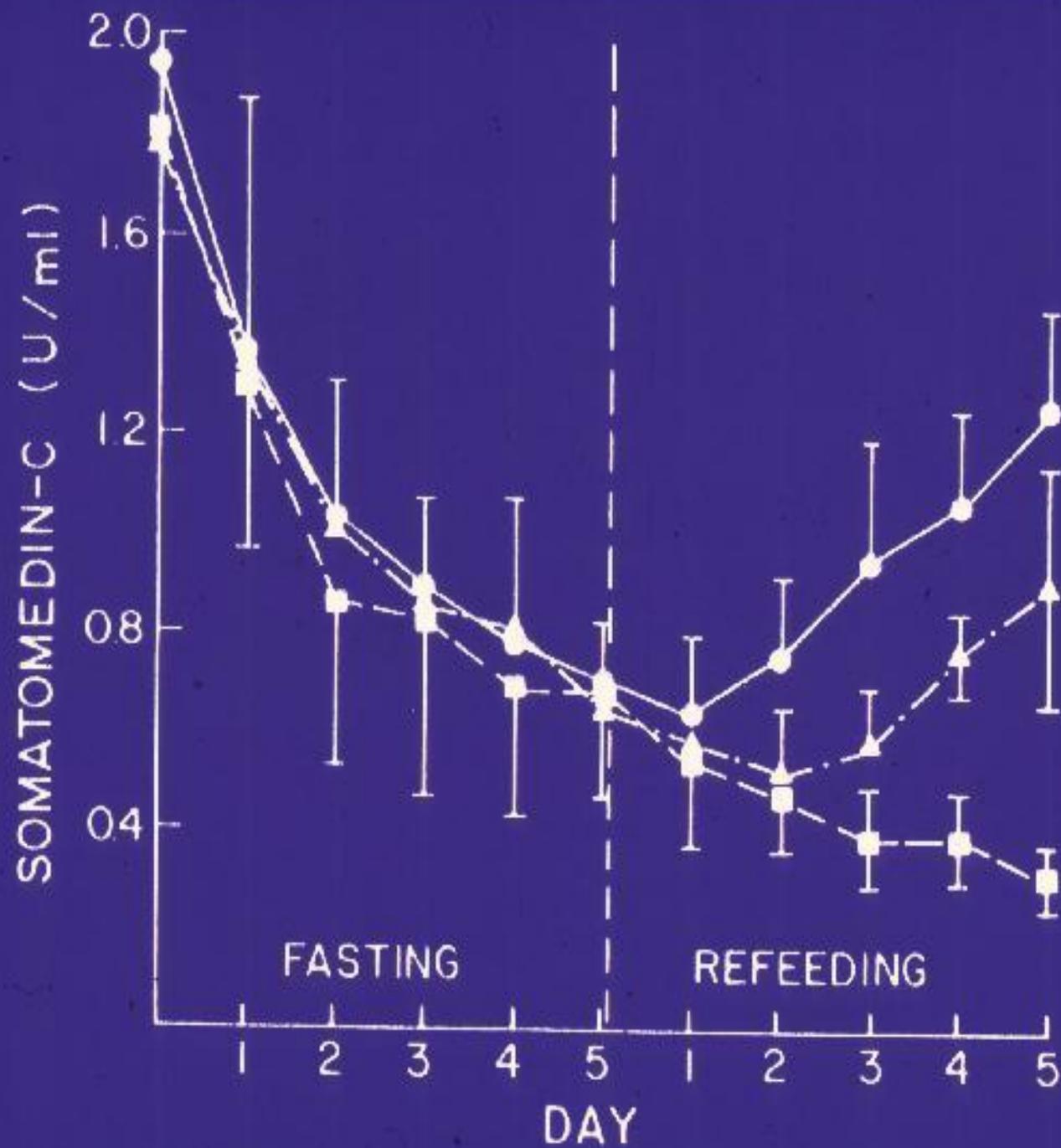
Serum Insulin-Like Growth Factor I Reference Values for an Automated Chemiluminescence Immunoassay System: Results from a Multicenter Study

Georg Brabant^a Alexander von zur Mühlen^a Christian Wüster^b Michael B. Ranke^c
Jürgen Kratzsch^d Wieland Kiess^d Jean-Marie Ketelslegers^e Lars Wilhelmsen^f
Lena Hulthén^f Bernhard Saller^g Anders Mattsson^g Jürgen Wilde^h Rudolf Schemer^h
Peter Kannⁱ On behalf of the German KIMS Board



Exemple : ralentissement de la vitesse de croissance chez un garçon de 14 ans 6/12
Stade pub = Tanner 1 (âge osseux \approx 11 ans)





Dosages d'IGF I

Problème des valeurs de référence

**nombre de sujets, tranches d'âge,
critères et mode de recrutement**

**Exemple de valeurs de référence en ng/mL: médiane (5ème-95ème percentile)
de 2 laboratoires utilisant la même technique de dosage d 'IGF I**

Labo 1

17-20 ans : 342 (214-562)

21-25 ans : 228 (130-376)

26-30 ans : 184 (110-275)

31-35 ans : 173 (110-273)

36-45 ans : 145 (100-247)

46-55 ans : 127 (82-222)

56-65 ans : 115 (77-219)

Labo 2

17-20 ans : 350 (210-800)

20-50 ans : 280 (100-400)

> 50 ans : 180 (70-300)

Valeurs de référence d'IGF I :

Pour une même technique de dosage, elles dépendent de la population de référence recrutée.

En effet, en dehors de l'âge, de la taille, et du stade pubertaire, les concentrations d'IGF I sont liées à de nombreux facteurs (poids, taille, IMC, tabac, café, apports caloriques et protidiques, TTT/E2,...sexe ?)

Une solution pour simplifier (?) la comparaison des concentrations d'IGF I mesurées avec différentes techniques ou chez des patients d'âge/stade pubertaire différent : expression en Z-score

Si distribution gaussienne : $x-m/ DS$

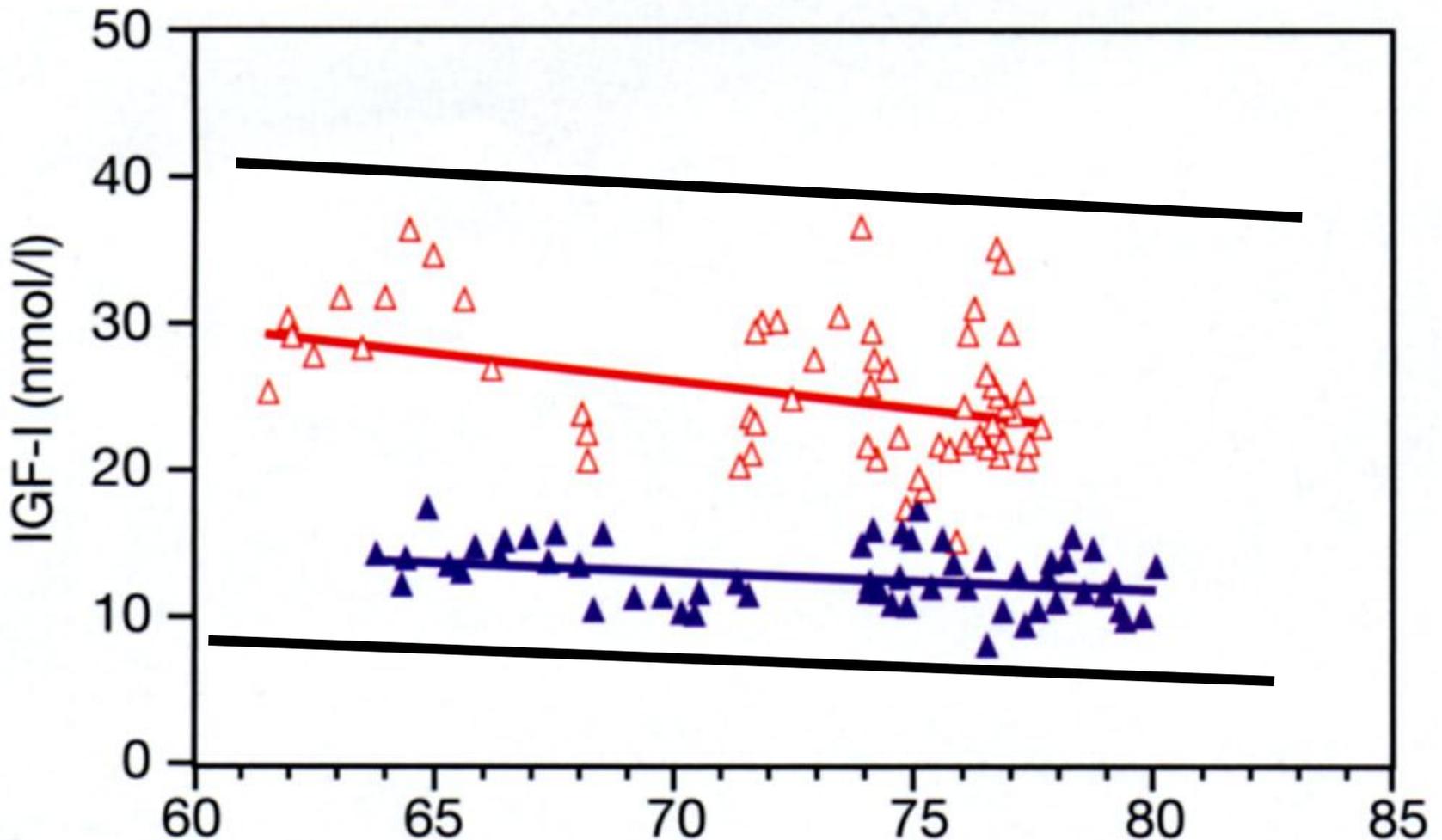
La distribution des concentrations d'IGF I dans la population de référence n'est pas gaussienne.

Avec certaines techniques (pas toutes !), distribution gaussienne après transformation log

Le mode de calcul des Z-score n'est pas le même dans toutes les études.

Il utilise des équations qui dépendent de la population de référence.

Attention à la notion de valeur normale individuelle (ou personnelle) et de variabilité intra-individuelle



Consensus statement on the standardization and evaluation of growth hormone and IGF-I assays

D Clemmons (corresponding author); *Clin Chem* 2011

Pour les dosages d'IGF-I :

- préanalytique (sérum, centrifuger, congeler dans les 2 heures)**
 - calibré contre IS 02/254**
- séparation des IGF-BPs validée dans des conditions « extrêmes »
(IRC, acromégalie, diabète, hépatopathie, RCIU...)**
 - donner corrélation versus chromatographie gel**
 - définition claire de la population de référence**
 - résultats en masse ($\mu\text{g/L}$) et Z-score (?!)**
- intégrer la variabilité intra-individuelle dans l'interprétation**
 - contrôle de qualité sur « vrais » sérums »
(développer, à l'échelon international, un « set » de sérums »
de référence de concentrations variées et avec des concentrations
variées d'IGFBPs)**

« Measurements of IGF-binding protein (IGFBP)-3 levels do not provide substantial additional information regarding reponsiveness to GH »

**The IGF-I / IGFBP3 ratio:
An index of “free” IGF-I ???
*Relation with cancer risk ???***

- Pendant l'enfance, tous les GHD sont (peuvent être) traités

- Chez l'adulte, seuls les GHD sévères sont traités

- Pendant la période de « transition », les GHD sévères sont traités, mais la définition de « GHD sévère » prend en compte les particularités de la sécrétion de GH/IGF I à cette période.

=>

Tous les ados traités par GH pendant l'enfance doivent être réévalués lorsque la croissance et le développement pubertaire sont terminés.

Ré-évaluation de l'axe GH/IGF I pendant la « transition »

2 groupes de patients

1-Forte probabilité de GHD sévère

(avec ou sans autre déficit hormonal hypophysaire) :

-cause génétique identifiée,

-anomalie de la région hypothalamo-hypophysaire (par ex PSIS),

-tumeur de la région hypothalamo-hypophysaire,

-irradiation crânienne

2- Faible probabilité de GHD sévère

Tous les autres patients

GHD diagnostiqué pendant l'enfance - Puberté et croissance terminée

Arrêter GH pendant un mois au moins

Forte probabilité de GHD sévère

Dosage d'IGF I

$\leq -2\text{SDS} \Leftrightarrow$
Confirmation du
Diag de GHD

$> -2\text{SDS} \Rightarrow$
Faire test de
stimulation

Pic GH
bas

Pic GH
normal

Redémarrer
TTT GH

Reconsidérer
le diag de
GHD

Faible probabilité de GHD sévère

Test de stimulation de la GH
et dosage d'IGF I

Pic GH et
IGFI bas

Pic GH et
IGFI Nx

Résultats
discordants

Ne plus suivre sauf
si risque d'une autre
endocrinopathie

Redémarrer
TTT GH

Suivi

Pendant la période de transition, que veut dire :

-Pic GH bas

**<5 ng/mL (15 mUI/L)
avec ITT ou glucagon**

-IGF I \leq -2SDS



**\leq limite inférieure de la normale pour l'âge
(c'est-à-dire le 2,5 ème percentile)**

-IGF I entre 0 et +2 SDS



**Entre la médiane et la limite supérieure des normes pour l'âge
(c'est-à-dire entre le 50 ème et le 97,5 ème percentile)**

Suivi biologique sous traitement par hGH

« IGF-I measurement is at present the best biochemical marker of GH responsiveness and is mandatory as a safety marker. The GH dose should be adjusted to achieve IGF I levels within but not exceeding the upper normal range (IGF I SDS 0 to +2). Serum IGF I should be monitored every 6 months »

Merci pour votre attention

