

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie  
Klinisches Institut, München  
Direktor: Prof. Dr. Dr. Florian Holsboer

**Effekte der medikamentösen Therapie  
bei Akromegalie *in vivo* und *in vitro***

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

vorgelegt von  
Christina Dimopoulou  
aus Thessaloniki  
2008

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Günter Karl Stalla

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. M. Vogeser  
Prof. Dr. F. Beuschlein

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Caroline Sievers

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 28.02.2008

*Meinen Eltern*

## **Inhaltsverzeichnis**

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	5
Abkürzungsverzeichnis.....	7
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>8</b>
1.1 Akromegalie.....	8
1.1.1 Definition und Epidemiologie.....	8
1.1.2 Pathophysiologie.....	8
1.1.3 Krankheitsbild.....	9
1.1.4 Diagnostisches Vorgehen.....	9
1.1.5 Prognose.....	10
1.1.6 Komorbiditäten.....	10
1.1.7 Therapeutische Möglichkeiten.....	11
1.1.7.1 Operation.....	13
1.1.7.2 Radiotherapie.....	13
1.1.7.3 Pharmakologische Therapie.....	13
1.1.7.3.1 Dopaminagonisten (DA) .....	13
1.1.7.3.2 Somatostatinanaloga (SA) .....	14
1.1.7.3.3 GH-Rezeptor-Antagonist (Pegvisomant).....	16
1.2 Aufgabenstellung – Zielsetzung.....	16
<b>2. Materialien und Methoden.....</b>	<b>18</b>
2.1 Klinischer Studienteil.....	18
2.1.1 Patienten.....	18
2.1.2 Methodik – Datenbank.....	18
2.1.3 Besonderheiten – Abweichungen.....	20
2.1.4 Beurteilung der Hypophysenfunktion bzw. – insuffizienz.....	21
2.1.5 Definitionen.....	22
2.1.6 Normwerte und Testkits.....	22
2.1.7 Datenverarbeitung und statistische Auswertung.....	23
2.2 <i>In vitro</i> Studienteil.....	23
2.2.1 Reagenten.....	23
2.2.2 Zellkultur.....	23
2.2.3 RNS-Extraktion und Reverse Transkriptase - Polymerase Ketten Reaktion.....	24
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>25</b>
3.1 Klinischer Studienteil.....	25

3.1.1 Beschreibung der Patientengruppe.....	25
3.1.2 Körperliche Untersuchung.....	26
3.1.3 Komorbiditäten.....	27
3.1.4 Patientenanzahl bei den verschiedenen Therapieoptionen.....	28
3.1.5 Therapien im Vergleich.....	30
3.1.5.1 Biochemische Kontrolle.....	30
3.1.5.2 Vergleich der Therapien in Bezug auf GH basal, GH/oGTT und IGF-1.....	32
3.1.5.3 Vergleich der Therapien in Bezug auf Metabolismusparameter.....	34
3.1.6 Therapieeffekte auf GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter...	37
3.1.7 Case Report eines therapieresistenten Akromegaliepatienten.....	44
3.2 <i>In vitro</i> Studienteil.....	45
3.2.1 Therapieeffekte auf die IGF-1 Produktion in HepG2 Zellen.....	45
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>47</b>
4.1 Klinischer Studienteil.....	47
4.1.1 Methoden.....	47
4.1.2 Postoperative Remissionsrate.....	48
4.1.3 Vergleich der medikamentösen Therapieoptionen.....	49
4.1.4 Effekte der DA auf GH und IGF-1.....	51
4.1.5 Metabolismusparameter.....	51
4.1.6 Nebenaspekte.....	53
4.2 <i>In vitro</i> Studienteil.....	56
4.2.1 Methoden.....	56
4.2.2 Effekte von Octreotid und SOM230 auf die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen..	57
4.2.3 Effekte von Cabergolin auf die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen.....	57
4.3 Ausblick.....	58
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>60</b>
<b>Anhang.....</b>	<b>62</b>
Literaturverzeichnis.....	62
Danksagung.....	69
Lebenslauf.....	70

## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

### Abbildungen

Abbildung 1: Regelkreis von GH und dessen Wirkung auf den Stoffwechsel.....	8
Abbildung 2: Therapeutischer Algorithmus bei Akromegalie.....	12
Abbildung 3: Transssphenoidale Operation bei Akromegalie.....	13
Abbildung 4: Strukturformel von Cabergolin.....	14
Abbildung 5: Strukturformel von Lanreotid.....	15
Abbildung 6: Aminosäuresequenz von Pegvisomant.....	16
Abbildung 7: Gesichtsfeldeinschränkungen bei Erstdiagnose und im Verlauf.....	25
Abbildung 8: Bildgebung bei Erstdiagnose und im Verlauf.....	25
Abbildung 9: Größe, Gewicht und BMI bei Erstdiagnose und unter Therapie.....	26
Abbildung 10: $R_{\text{sys}}$ , $R_{\text{dia}}$ und Puls bei Erstdiagnose und unter Therapie.....	26
Abbildung 11: Häufigkeit verschiedener Komorbiditäten.....	27
Abbildung 12: Präoperative medikamentöse Therapie.....	28
Abbildung 13: Behandlungsverlauf der 57 ausgewählten Patienten.....	29
Abbildung 14: Biochemische Kontrolle unter Therapie.....	30
Abbildung 15: GH basal unter Therapie.....	32
Abbildung 16: GH/oGTT unter Therapie.....	32
Abbildung 17: IGF-1 unter Therapie.....	33
Abbildung 18: Glukose unter Therapie.....	34
Abbildung 19: HbA1c unter Therapie.....	34
Abbildung 20: Cholesterin gesamt unter Therapie.....	35
Abbildung 21: Triglyzeride unter Therapie.....	35
Abbildung 22: Prolaktin unter Therapie.....	36
Abbildung 23: GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter nach OP.....	37
Abbildung 24: Langzeit Remission nach Radiatio.....	38
Abbildung 25: GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter unter Octreotid.....	39
Abbildung 26: GH basal, IGF-1 und Metabolismusparameter unter Lanreotid.....	40
Abbildung 27: GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter unter DA.....	41
Abbildung 28: IGF-1 und Metabolismusparameter unter Pegvisomant.....	42
Abbildung 29: GH basal, IGF-1 und Metabolismusparameter unter SA + DA.....	43
Abbildung 30: IGF-1 Verlauf unter Pegvisomant.....	44
Abbildung 31: IGF-1-Korrelation mit Pegvisomantdosis.....	44
Abbildung 32: Therapieeffekte auf die GH-Sekretion in somatotrophen Adenomen.....	45
Abbildung 33: RT-PCR für IGF-1 in menschlichen HepG2 Zellen.....	46

## **Tabellen**

Tabelle 1: Kriterien für die biochemische Kontrolle der Akromegalie.....	11
Tabelle 2: Patientendaten aus der Datenbank.....	19
Tabelle 3: Beurteilung der Hypophysenfunktion bzw. – insuffizienz.....	21
Tabelle 4: Normwerte und Herstellernachweis der gemessenen Größen.....	22
Tabelle 5: Patientenanzahl bei den verschiedenen Therapieoptionen.....	29
Tabelle 6: Biochemische Kontrolle abhängig von Tumorgröße und Therapie.....	31

## **Abkürzungsverzeichnis**

ADH: antidiuretisches Hormon

BMI: Body-Mass-Index

$\Delta\mu$ : Differenz des Mittelwertes

D1-D5: Dopaminrezeptorsubtypen 1-5

DA: Dopaminagonisten

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DNS: Desoxyribonukleinsäure

FCS: fötales Kalbserum

GAPDH: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

GH: Wachstumshormon

GHRH: Growth Hormone Releasing Hormone

GPCR: G-protein coupled receptor

HbA1c: glykiertes Hämoglobin A1c

HEPES: Buffersubstanz

HepG2: Hepatozyten aus der Zell-Linie HepG2

HHL: Hypophysenhinterlappen

HVL: Hypophysenvorderlappen

IGF-1: Insulin-like Growth Factor-1

KHK: koronare Herzkrankheit

MRT: Magnetresonanztomographie

oGTT: oraler Glukose Toleranz Test

OP: Operation

PCR: Polymerase Ketten Reaktion

RNS: Ribonukleinsäure

RR: Blutdruck

RT-PCR: Reverse Transkriptase- Polymerase Ketten Reaktion

SEM: Standardfehler des Mittelwertes

SMS: Somatostatin

SOM230: Pasireotid

SA: Somatostatinanalogon

SSTR1-SSTR5: Somatostatinrezeptorsubtypen 1-5

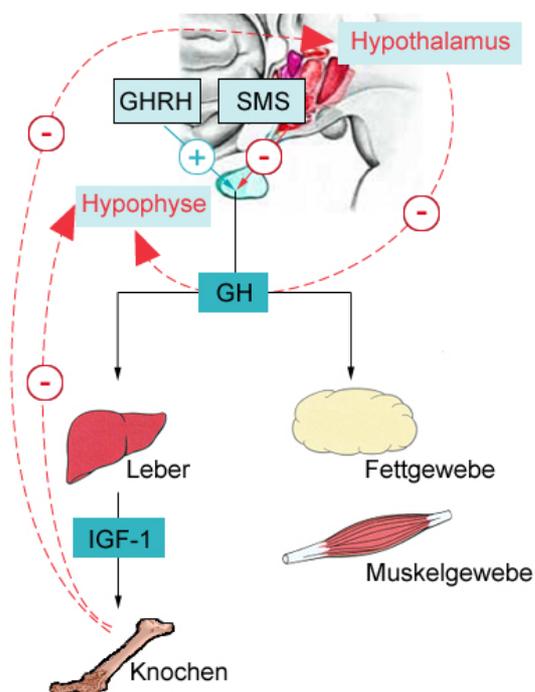
# 1. Einleitung

## 1.1 Akromegalie

### 1.1.1 Definition und Epidemiologie

Akromegalie (Synonym: Hyperpituitarismus) ist eine eher seltene endokrinologische Erkrankung, die mit einer Überproduktion von Wachstumshormon (GH) durch ein somatotrophes (GH-produzierendes) Adenom des Hypophysenvorderlappens (HVL) einhergeht. In Deutschland tritt sie mit einer Prävalenz von 4-7/100 000 und einer jährlichen Inzidenz von ca. 300 Erkrankungen auf (Reincke et al., 2006). Bezüglich der Auftretensrate von Akromegalie in beiden Geschlechtern gibt es keinen Unterschied. Die erste klinische Beschreibung von Akromegalie wird Marie und de Souza - Leite 1886 zugeschrieben, die eine Hypertrophie der Extremitäten einschließlich des Gesichtes, der Hände und der Füße beobachtet haben.

### 1.1.2 Pathophysiologie



**Abbildung 1:** Regelkreis von GH und dessen Wirkung auf den Stoffwechsel (aus [www.leben-mit-akromegalie.de](http://www.leben-mit-akromegalie.de)).

Die Wachstumshormonsekretion und -freisetzung aus dem HVL wird durch das im Hypothalamus gebildete GHRH (Growth Hormone Releasing Hormone) stimuliert und durch Somatostatin (SMS) inhibiert. GH wird pulsatil, vorwiegend in der Nacht freigesetzt. Hypoglykämie, körperliche Anstrengung und Stress bewirken ebenso eine GH-Ausschüttung. GH wirkt sowohl anabolisch und wachstumsfördernd als auch metabolisch, wobei es direkte und indirekte Effekte über die Produktion von IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1) in der Leber vermittelt. IGF-1 wirkt über die IGF-1-Rezeptoren in vielen Geweben des Organismus (Leber,

Knochen, Niere, Fett, Muskel, Auge, Gehirn, Herz) und hemmt die GH-Sekretion (negativer „Feed-back-Mechanismus“). Die GH- und IGF-1-vermittelten Effekte sind oft nur schwer zu unterscheiden.

### **1.1.3 Krankheitsbild**

Das klinische Bild der Akromegalie hängt vom Erkrankungsalter ab. Vor Abschluss des Längenwachstums (Epiphysenschluß) kommt es zum sogenannten Gigantismus bzw. hyperphysären Riesenwuchs; nach dem Verschluss der Epiphysenfugen kann ein Wachstum nur noch an den knöchernen Extremitäten (Nase, Finger, Zehen, Kinn, Jochbogen) und im Weichteilbereich stattfinden. Das Krankheitsbild reflektiert sowohl den Wachstumshormonexzess und die lokale Wirkung der wachsenden Tumormasse als auch die Hypophyseninsuffizienz. Der GH-Exzess führt zu Skelettveränderungen wie Vergrößerung der Extremitäten, Weichteilschwellungen, Prognathie, Arthropathie und Karpaltunnelsyndrom, zu Veränderungen der inneren Organe (Viszeromegalie) wie Kardiomegalie und Makroglossie, zu Hautveränderungen wie Hyperhidrosis und Hypertrichosis, zur arteriellen Hypertonie und zur Schlafapnoe. Außerdem können Depressionen oder Minderwertigkeitsgefühle vorkommen. Lokale Tumorsymptome schließen Kopfschmerzen und Gesichtsfeldausfälle bei Kompression des Chiasma opticum ein. Im Rahmen der endokrinen Störung können bei Frauen Amenorrhoe oder Galaktorrhoe, bei Männern Libido- und Potenzstörungen und unabhängig vom Geschlecht Hyperprolaktinämie, Typ 2 Diabetes mellitus, oder häufiger pathologische Glukosetoleranz, Nebennierenrinden- und Schilddrüsenfunktionsstörungen auftreten.

### **1.1.4 Diagnostisches Vorgehen**

Obwohl Akromegalie häufig eine Blickdiagnose des erfahrenen Endokrinologen darstellt, beträgt die mittlere Dauer bis zur Diagnosestellung durch die schleichende Veränderung und Seltenheit der Erkrankung 6.6 - 10.2 Jahre (Holdaway et al., 1999). Die Diagnostik beinhaltet die Bestimmung von GH basal und im oralen Glukose Toleranz Test (oGTT) und die Bestimmung von IGF-1. Zusätzlich muss eine Bildgebung (CT, MRT) zum Nachweis eines Hypophysenadenoms und ggf. bei

Makroadenomen eine augenärztliche Untersuchung zur Prüfung vom Gesichtsfeld und Visus durchgeführt werden.

### **1.1.5 Prognose**

Falls die Akromegalie unbehandelt bleibt, ist sie mit einem gegenüber der altersentsprechenden Vergleichsgruppe erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko, vor allem aufgrund der kardio- und zerebrovaskulären Komorbiditäten, assoziiert (Vitale et al., 2004).

### **1.1.6 Komorbiditäten**

Akromegalie ist mit verschiedenen kardiovaskulären, metabolischen, respiratorischen und psychiatrischen Komorbiditäten, sowie mit Erkrankungen des Bewegungsapparates, Malignomen und Kopfschmerzen assoziiert (Colao et al., 2004). Zu den häufigsten kardiovaskulären Komorbiditäten gehören Arrhythmien, Kardiomyopathie, zerebrovaskuläre Erkrankungen, arterieller Hypertonus, koronare Herzkrankheit (KHK) und Myokardinfarkt. Der Bewegungsapparat ist von der Akromegalie betroffen, indem die Patienten unter Arthralgien, Arthropathien und Karpaltunnelsyndrom leiden. Die metabolischen Komorbiditäten der Akromegalie schließen Typ 2 Diabetes mellitus, pathologische Glukosetoleranz und HVL-Insuffizienz ein. Die HVL-Insuffizienz kann entweder partiell oder komplett sein, wobei eine oder mehrere der folgenden Hypophysenachsen gestört sein können: kortikotroph, thyreotroph, gonadotroph, somatotroph. Eine Hypophysenhinterlappen (HHL)-Insuffizienz mit Diabetes insipidus centralis (Fehlen des antidiuretischen Hormons „ADH“) kann erst postoperativ auftreten. Außerdem kann es oft zu einer Struma nodosa und zur Begleithyperprolaktinämie kommen. Zu den respiratorischen Komorbiditäten gehören das Schlafapnoesyndrom sowie andere Lungenerkrankungen. Im Verlauf entwickeln akromegale Patienten oft psychiatrische Erkrankungen, Malignome und Kopfschmerzen.

### 1.1.7 Therapeutische Möglichkeiten

Die Mortalitätssenkung in den alters- und geschlechtsspezifischen Normbereich stellt das Primärziel der Therapie der Akromegalie dar (Giustina et al., 2000). Die biochemische Kontrolle besteht in der Analyse von GH und IGF-1, wobei die Kontrolle des GH den prädikativsten Survivalindex repräsentiert. Die Normalisierung des Hormonexzesses („biochemische Kontrolle der Akromegalie“) wurde nach den folgenden Kriterien definiert (Giustina et al., 2000; Brabant 2003; Freda 2003):

**Tabelle 1:** Kriterien für die biochemische Kontrolle der Akromegalie.

- Normalisierung des basalen GH unter 2,5 ng/ml
- Suppression von GH < 1 ng/ml im oGTT (bzw. < 0,5 ng/ml)
- IGF-1 innerhalb des alters- und geschlechtsspezifischen Normbereiches

Bei Patienten unter Therapie mit dem GH-Rezeptor-Antagonisten Pegvisomant wird nur der IGF-1-Wert als Parameter der biochemischen Kontrolle herangezogen (Growth Hormone Research Society, 2004).

Die Senkung der Morbidität sollte mit sicheren Therapien erfolgen. Die therapeutischen Maßnahmen umfassen die Operation als Therapie der ersten Wahl, die medikamentöse Therapie und die Strahlentherapie. Die medikamentöse Therapie kann sowohl präoperativ als auch postoperativ erfolgen. Im Rahmen der medikamentösen Therapie werden Dopaminagonisten (DA), Somatostatinanaloga (SA) und der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant oder eine Kombination zweier Medikamente eingesetzt.

Bei der Berücksichtigung der Therapieoptionen sollte darauf geachtet werden, dass der Patient sich nicht nur laborchemisch, sondern auch klinisch verbessert, die Hypophysenfunktion möglichst intakt bleibt oder ggf. substituiert wird und das Chiasma opticum geschützt wird.

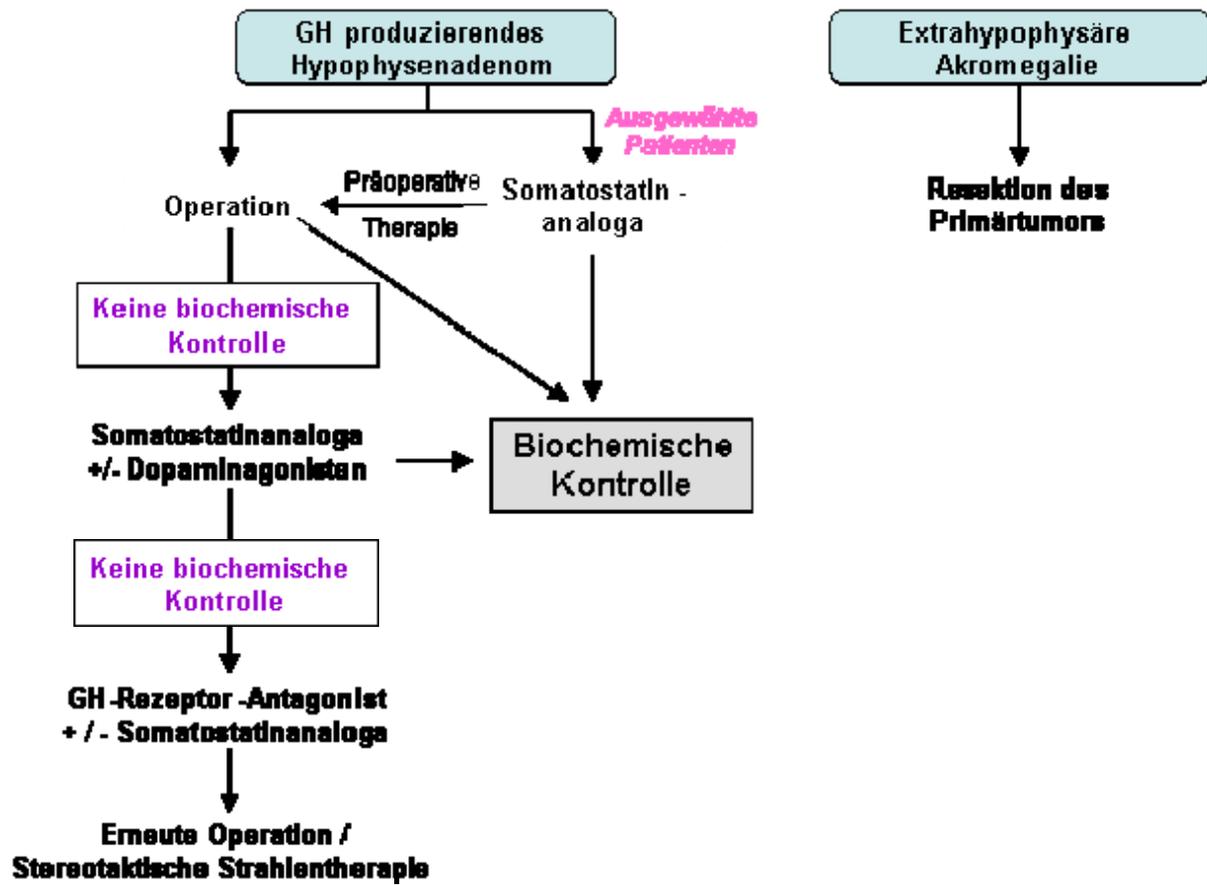
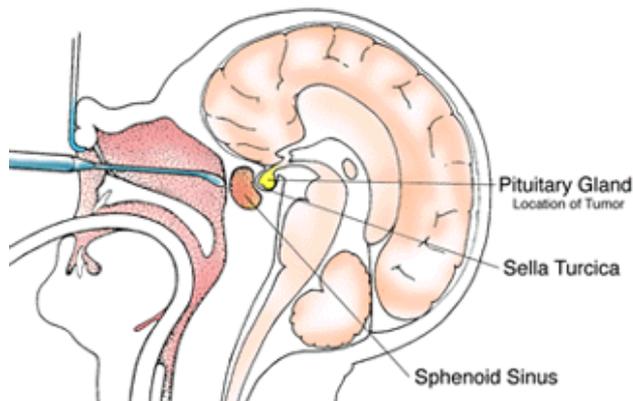


Abbildung 2: Therapeutischer Algorithmus bei Akromegalie (nach Melmed 2006).

### 1.1.7.1 Operation



**Abbildung 3:** Transsphenoidale Operation bei Akromegalie (aus [www.neurosurgery.ufl](http://www.neurosurgery.ufl)).

Die transsphenoidale Hypophysen-Operation stellt die Therapie der ersten Wahl dar. Tumorgroße und invasives Wachstum im Bereich des Sinus cavernosus sind entscheidende Parameter für den Erfolg des operativen Eingriffes. Die Effektivität der transsphenoidalen Operation hängt allerdings von der Expertise des Neurochirurgen ab (Melmed et al., 2002).

### 1.1.7.2 Radiotherapie

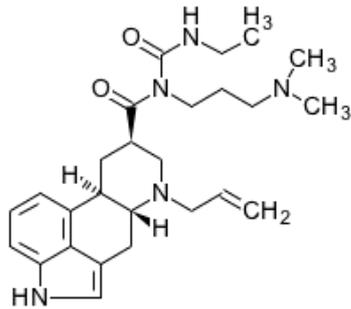
Die Strahlentherapie ist bei nicht-resezierbaren oder Residualadenomen, beim Versagen oder bei Unverträglichkeit der medikamentösen Therapie sowie auf Wunsch des Patienten indiziert. Sie kann auf konventionellem Wege (stereotaktisch fraktioniert), mit Gammaknife oder mit Cyberknife erfolgen.

Eine häufige Nebenwirkung, die bei 60 % der in der Hypophysenregion bestrahlten Patienten innerhalb von 5-10 Jahren auftritt, ist die partielle oder komplette Hypophyseninsuffizienz, die substitutionsbedürftig ist (Melmed et al., 2002).

### 1.1.7.3 Pharmakologische Therapie

#### 1.1.7.3.1 Dopaminagonisten (DA)

Dopaminagonisten wirken über den in der Hypophyse exprimierten D2-Rezeptor und stimulieren die GH-Sekretion in der gesunden Hypophyse, während sie bei den somatotrophen Adenomen die GH-Sekretion inhibieren.



**Abbildung 4:** Strukturformel von Cabergolin

Bromocriptin (Pravidel) war der erste DA, der therapeutisch eingesetzt wurde; er ist jedoch bei 20 % der Patienten mit gastrointestinalen und orthostatischen Nebenwirkungen verbunden. Cabergolin (Cabaseril, Dostinex) und Quinagolid (Norprolac) stehen als DA der 2. Generation zur Verfügung, haben eine längere Halbwertszeit und sind mit weniger Nebenwirkungen assoziiert. Cabergolin, ein relativ selektiver D2-Rezeptor-Agonist, gilt heute als Therapie-Standard.

Nur in 4-5 % der Patienten führen DA zu einer Reduktion der Tumormasse, dann allerdings auf bis zu 50 % der Ausgangsgröße. Aufgrund der oralen Applikation und des günstigen Preises ist ein Therapieversuch sinnvoll. Bevorzugt werden sie bei Patienten mit GH-PRL-Mischtumoren oder mit IGF-1-Werten unterhalb von 750 µg/L eingesetzt (Muller et al., 2004). Ihr Effekt auf den Glukosemetabolismus ist nicht bekannt (Colao et al., 1997).

#### 1.1.7.3.2 Somatostatinanaloga (SA)

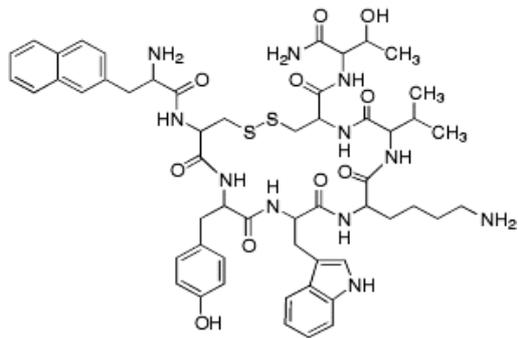
Somatostatin (SMS) inhibiert die Freisetzung von GH, Gastrin, Insulin und Glukagon; es bewirkt ebenso eine Vasokonstriktion im Splanchnikusbereich.

Octreotid (Sandostatin) und Lanreotid (Somatuline) sind synthetisch produzierte SA, die für die Somatostatinrezeptorsubtypen 2 und 5 (SSTR2, SSTR5) selektiv sind. Sie haben eine deutlich längere Halbwertszeit als das native SMS. Nach den ersten Präparaten, die mehrmals täglich s.c. injiziert werden mussten, gibt es derzeit Depotpräparate auf dem Markt (Sandostatin LAR, Somatuline Autogel), die in der Regel einmal im Monat injiziert werden. Verträglichkeit und Resistenz stellen eine Limitierung in der Anwendung dar.

Der antiproliferative Effekt von Octreotid in Hypophysentumorzellen wird durch die Inhibition des Tumor-Suppressor-Gens Zac1 vermittelt (Theodoropoulou et al., 2006).

Pasireotid (SOM230), ein neues SA mit hoher Affinität für die SSTR 1, 2, 3 und 5 supprimiert GH-Werte bei Patienten mit vorliegender Octreotid-Resistenz (van der Hoek et al., 2004).

Seit Ende der 80er Jahre werden SA für die Behandlung der Akromegalie angewendet. Sie werden als *präoperative*, *postoperative* oder *primäre* medikamentöse Therapie eingesetzt.



**Abbildung 5:** Strukturformel von Lanreotid.

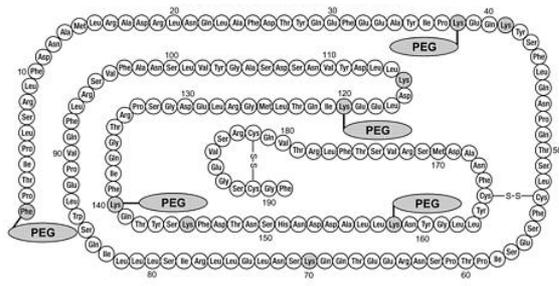
Eine *präoperative* Behandlung mit SA dient der Optimierung des Operationsergebnisses (Bevan et al., 2002; Losa et al., 2006). Der positive Effekt von SA auf die Tumorschrumpfung hat sich sowohl bei Mikro- als auch bei Makroadenomen in mehreren Studien bestätigt (Bevan 2005; Losa et al., 2006).

Eine medikamentöse *Primärtherapie* mit SA kann Patienten mit großen extrasellären Tumoren ohne zentrale Kompressionszeichen und Patienten, die den operativen Eingriff ablehnen oder nicht durchstehen können, angeboten werden (Newman et al., 1998; Sheppard 2003; Cozzi et al., 2006).

Die meisten Studien konnten bisher keinen signifikanten Effekt von SA auf die Glukosetoleranz zeigen (Sheppard 2003).

Aufgrund klinischer und präklinischer Daten könnte die Kombination von DA mit SA die therapeutische Effektivität steigern. Vor allem Patienten mit vorliegender SA Resistenz und Patienten mit GH-PRL-Mischtumoren könnten davon profitieren (Melmed 2006). Weitere Studien sind jedoch erforderlich.

#### 1.1.7.3.4 GH-Rezeptor-Antagonist (Pegvisomant)



**Abbildung 6:** Aminosäuresequenz von Pegvisomant.

biochemische Kontrolle der Akromegalie erreichten oder die eine medikamentöse Behandlung mit SA nicht toleriert haben.

In Bezug auf den Metabolismus scheint Pegvisomant keinen negativen Effekt auf die Insulinsekretion zu haben; es bewirkt jedoch potentiell einen günstigen Effekt auf einen bestehenden Diabetes mellitus (Clemmons et al., 2003).

### 1.2 Aufgabenstellung – Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, Therapiepraxis- und -modalitäten sowie die Therapieeffizienz bei Akromegalie in unserer Ambulanz am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München zu untersuchen und mit publizierten Daten zu vergleichen. Die Rationale der Studie basierte auf der Hypothese, dass die Therapien nicht nur zu einer Senkung von GH und / oder IGF-1 und zu unterschiedlichen Nebenwirkungen und Effekten auf das Tumolvolumen, sondern auch zu Veränderungen von Metabolismusparametern in verschiedenem Ausmaß führen können. Diese unterschiedlichen Wirkungen auf GH, IGF-1 und Metabolismusparameter sind möglicherweise als periphere Effekte der Medikation, also Effekte nicht nur auf das Adenom, sondern auch auf die Peripherie (IGF-1-Produktion in der Leber) und andere Organe zu erklären und könnten zukünftig die Grundlage eines veränderten therapeutischen Vorgehens darstellen.

Im ersten, klinischen Teil dieser Arbeit wurde die Therapieeffizienz primär anhand der biochemischen Consensus-Kriterien für die Kontrolle der Akromegalie (GH basal,

Der GH–Rezeptor-Antagonist Pegvisomant, blockiert die GH-Wirkung, indem es mit einer sehr hohen Affinität zum GH-Rezeptor bindet (Kopchick et al., 2002).

Pegvisomant ist bei Patienten indiziert, die mittels Operation, Strahlentherapie oder medikamentöser Therapie keine

GH/oGTT und IGF-1) evaluiert. Sekundär wurden Metabolismusparameter (Glukose, HbA1c, Cholesterin, Triglyzeride) analysiert, da sowohl die Erkrankung selbst als auch die Therapie Veränderungen dieser Metabolismusparameter verursachen können. Weiterhin wurde die Therapieeffizienz (Remission vs. keine Remission) sowie die GH/IGF-1-Senkung in Abhängigkeit von Therapieart, Alter, Geschlecht, Bildung, Gesichtsfeldeinschränkungen, Komorbiditäten und körperlichen Parametern (Größe, Gewicht, RR, Puls, BMI) der Patienten geprüft.

In einem zweiten, *in vitro* Teil wurden die Effekte der unterschiedlichen medikamentösen Therapien auf HepG2 Zellen bzw. die IGF-1-Produktion in der Leber untersucht. Hierzu gibt es bisher keine ausreichende Datenlage.

## **2. Materialien und Methoden**

### **2.1 Klinischer Studienteil**

#### **2.1.1 Patienten**

Wir führten eine retrospektive Datenanalyse durch, basierend auf den Krankenakten der Patienten, die mit der Diagnose Akromegalie oder Verdacht auf Akromegalie in der Neuroendokrिनologischen Ambulanz des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie in München zwischen Januar 1992 und März 2006 behandelt wurden. Dabei wurden ursprünglich 90 männliche und weibliche Patienten, 18 Jahre alt oder älter, mit dem elektronischen Ambulanzverwaltungsprogramm identifiziert. Von diesen Patienten wurden 57 in die Auswertung mit eingeschlossen, die eine bestätigte Akromegalie hatten und bei denen vollständige Daten in Bezug auf Diagnostik, Therapie und Verlauf vorlagen. Durchschnittlich wurden die Patienten nach Diagnosestellung alle 6-12 Monate regelmäßig nachuntersucht. Einschlusskriterium waren mindestens zwei Termine in der Ambulanz.

#### **2.1.2 Methodik – Datenbank**

Im Rahmen dieser retrospektiven Analyse wurde mittels Microsoft Excel (Windows 2000) eine Datenbank mit Daten von 57 akromegalen Patienten erstellt. Es wurden demographische Daten und krankheitsrelevante Parameter erfasst und miteinander verglichen.

Zunächst wurden Parameter bei Erstdiagnose und im Verlauf aufgenommen und miteinander verglichen. Diese enthielten jeweils GH- und IGF-1-Werte, als auch Tumorcharakteristika wie Bildgebung (Mikro- oder Makroadenom der Hypophyse) und Gesichtsfeldeinschränkungen.

Jeder Patient wurde mit mindestens einer oder mit einer Kombination der in Tabelle 2 genannten Therapiemöglichkeiten behandelt. Als Werte vor der jeweiligen Therapie wurden die Werte des letzten Besuches des Patienten in der Ambulanz, bevor die entsprechende Therapie eingeleitet wurde, angenommen. Als Werte am Ende der

jeweiligen Therapie wurden die Werte des insgesamt letzten Besuches des Patienten in der Ambulanz, wenn die Therapie fortgeführt wurde oder die Werte des letzten Besuches, bevor die entsprechende Therapie geändert wurde, angenommen. Fehlende Daten wurden als 'nicht bekannt' bezeichnet und von der statistischen Auswertung ausgenommen.

Zusätzlich wurden Parameter der körperlichen Untersuchung der Patienten wie Größe, Gewicht, Body-Mass-Index (BMI), Blutdruck (RR) und Puls bei Erstdiagnose und im Verlauf aufgeführt.

**Tabelle 2:** Patientendaten aus der Datenbank.

<p><b>1. Demographie</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nachname</li> <li>• Vorname</li> <li>• Geschlecht</li> <li>• Adresse</li> <li>• Telefonnummer</li> <li>• Geburtstag</li> <li>• Datum und Alter bei Erstdiagnose</li> </ul>
<p><b>2. Krankheitsrelevante Daten</b> (bei Erstdiagnose und im Verlauf)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GH (ng/ml)</li> <li>• IGF-1 (ng/ml)</li> <li>• Bildgebung (Mikro- oder Makroadenom)</li> <li>• Gesichtsfeldeinschränkungen</li> </ul>
<p><b>3. Therapieoptionen</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Präoperative medikamentöse Therapie</li> <li>• Operation</li> <li>• Radiatio</li> <li>• Somatostatinanaloga (Octreotid, Lanreotid)</li> <li>• Dopaminagonisten</li> <li>• GH-Rezeptor-Antagonist (Pegvisomant)</li> <li>• Kombinationstherapie (SA + DA)</li> </ul>
<p>Für jede einzelne Therapieart</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• maximale Dosis</li> <li>• Datum bei Beginn der Therapie</li> <li>• Dauer der Therapie (Monaten)</li> </ul>
<p><b>Biochemische Parameter</b> vor und am Ende jeder Therapie (ggf. vor Umstellung)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GH (ng/ml)</li> <li>• GH/oGTT (ng/ml)</li> <li>• IGF-1 (ng/ml)</li> </ul>

<p><b>Metabolische Parameter</b> vor und am Ende jeder Therapie (ggf. vor Umstellung)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glukose (ng/ml)</li> <li>• HbA1c (%)</li> <li>• Cholesterin gesamt (mg/dl)</li> <li>• Triglyzeride (mg/dl)</li> <li>• Prolaktin (ng/ml)</li> </ul>
<p><b>4. Diagnostizierte Komorbiditäten im Verlauf der Erhebung</b></p>	<p><b>Kardiovaskulär</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Arrhythmien</li> <li>• Kardiomyopathie</li> <li>• zerebrovaskuläre Erkrankungen</li> <li>• arterieller Hypertonus</li> <li>• koronare Herzkrankheit (KHK)</li> <li>• Myokardinfarkt</li> </ul>
	<p><b>Metabolisch</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Typ 2 Diabetes mellitus</li> <li>• pathologische Glukosetoleranz</li> <li>• HVL-Insuffizienz</li> <li>• HHL-Insuffizienz</li> </ul>
	<p><b>Respiratorisch</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Schlafapnoesyndrom</li> <li>• andere Lungenerkrankungen</li> </ul>
	<p><b>Sonstige</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Schilddrüsenerkrankungen</li> <li>• Hyperprolaktinämie</li> <li>• Psychiatrische Erkrankungen</li> <li>• Malignome</li> <li>• Kopfschmerzen</li> </ul>
<p><b>5. Körperliche Untersuchung</b> (bei Erstdiagnose und im Verlauf)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Größe (cm)</li> <li>• Gewicht (kg)</li> <li>• BMI</li> <li>• Blutdruck (mmHg)</li> <li>• Puls</li> </ul>

### 2.1.3 Besonderheiten – Abweichungen

Nach der präoperativen medikamentösen Therapie wurde die Remission nicht bewertet, da sie der Vorbereitung für die Operation (Reduktion der Tumorgöße, „Tumor Shrinkage“) und weniger der primären biochemischen Kontrolle der Akromegalie dient.

Bei der Bestrahlung wurden Werte nur vor der Therapie aufgenommen, weil die Effektivität dieser Therapie nur langfristig zu beurteilen ist und sie häufig zusätzlich dann noch mit einer weiteren medikamentösen Therapie kombiniert wurde.

### 2.1.4 Beurteilung der Hypophysenfunktion bzw. – insuffizienz

**Tabelle 3:** Beurteilung der Hypophysenfunktion bzw. – insuffizienz.

	Parameter der Untersuchung	Definition(en)
<i>Hypophysenvorderlappen</i>		
<b>Überprüfung der kortikotrophen Funktion</b>	Cortisol basal ACTH Stimulationstest *	< 194 µg/l nicht ausreichende Stimulierbarkeit von Cortisol (< 194 µg/l)
<b>Überprüfung der thyreotropen Funktion</b>	ft4, ft3, TSH	ft4 niedrig, ft3 meist normal, TSH niedrig bis normal (< 4,2 yU/ml)
<b>Überprüfung der gonadotropen Funktion</b>		
Männer	Testosteron, LH, FSH	Testosteron niedrig (< 12 nmol/l) bei inappropriat niedrigen LH, FSH
Frauen	Estradiol, LH, FSH	Neu eingetretene Amenorrhoe (premenopausal) oder Estradiol niedrig (postmenopausal) bei inappropriat niedrigen LH, FSH
<b>Überprüfung der somatotrophen Funktion</b>	IGF-1 GH basal GHRH/Arginin-Test *	IGF-1 für Alter und Geschlecht niedrig < 10 ng/ml bei Frauen < 1 ng/ml bei Männern nicht ausreichende Stimulierbarkeit von GH (< 9 ng/ml)
<b>Hyperprolaktinämie</b>	Prolaktin	Prolaktin für Alter und Geschlecht erhöht (> 25 ng/ml)
<i>Hypophysenhinterlappen</i>		
<b>Diabetes insipidus</b>	Plasma- und Urinosmolarität	Plasma- hoch und Urinosmolarität niedrig beim Durstversuch

\*: Wenn Stimulationstests durchgeführt wurden, basierte die endgültige Evaluierung auf das Ergebnis der Stimulation.

## 2.1.5 Definitionen

Klassifikation von Hypophysenadenomen nach Tumorgröße (Hardy 1979):

- < 1 cm Mikroadenom
- ≥ 1 cm Makroadenom
- > 4 cm Giant-Adenom

## 2.1.6 Normwerte und Testkits

**Tabelle 4:** Normwerte und Herstellernachweis der gemessenen Größen.

Hormon	Normwert	Testkit
Wachstumshormon (GH)	< 2,5 ng/ml	IMMULITE® 2500 Growth Hormone (hGH) Fa. DPC
GH/oGTT	< 1 ng/ml	IMMULITE® 2500 Growth Hormone (hGH) Fa. DPC
IGF-1	Je nach Alter-Geschlecht in ng/ml	Immulite® 2000 IGF-1 Fa. DPC
Glukose basal	55 - 115 mg/dl	GLU Fa. Roche
HbA1c	4,8 - 5,9 %	HBA1C II Produktpalette cobas® Fa. Roche
Cholesterin gesamt	90 - 220 mg/dl	CHOL Fa. Roche
Triglyzeride	< 200 mg/dl	TG Fa. Roche
Prolaktin	4,0 – 25,0 ng/ml	Prolaktin II Produktpalette cobas® Fa. Roche

Die für die vorliegende Studie verwendeten Assays sind als standardisierte Methoden zur Bestimmung der entsprechenden Werte anerkannt, sodass deren Verwendung sinnvoll und angemessen erschien.

## **2.1.7 Datenverarbeitung und statistische Auswertung**

Die Datenverarbeitung und statistische Auswertung der Ergebnisse wurde von der statistischen Abteilung des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie mittels SPSS (Statistical Package for Social Sciences) für Windows durchgeführt. Im Rahmen der deskriptiven Statistik wurde die Patientengruppe demographisch beschrieben, die Patienten nach den verschiedenen Therapien verteilt, die Therapien explorativ verglichen und die Therapieeffekte auf GH, GH/oGTT und IGF-1 auf explorativer Ebene untersucht. Dazu wurden die Häufigkeitsverteilung (frequency distribution), der Mittelwert (mean) und der Standardfehler des Mittelwertes (SEM) berechnet. Im Rahmen der inferentiellen Statistik wurden signifikante Unterschiede vor und unter Therapie bei den Parametern GH, GH/oGTT, IGF-1, Glukose, HbA1c, Cholesterin gesamt, Triglyzeride und Prolaktin geprüft. Diese Prüfung war allerdings nur bei den Therapien möglich, wo eine angemessene Anzahl von Patienten vor und nach der Therapie vorhanden war (Operation, Octreotid, Dopaminagonisten). Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurden die Unterschiede als signifikant betrachtet.

## **2.2 *In vitro* Studienteil**

### **2.2.1 Reagenten**

Zellkulturmaterialien wurden von Life Technologies (Karlsruhe, Deutschland), von Nunc (Wiesbaden, Deutschland) und von Sigma (St. Louis, MO) erworben. Octreotid (American Peptide Company) und SOM230 (Novartis Pharma AG, Basel, Schweiz) wurden in 0.01 M Essigsäure aufgelöst, um  $10^{-3}$  mol/L Stammlösungen herzustellen, die bei  $-20$  °C gelagert wurden. Für jedes Experiment wurde je ein neues Aliquot aufgetaut und verwendet.

### **2.2.2 Zellkultur**

Die HepG2 Zelllinien (American Type Culture Collection) wurden bei  $37$  °C,  $5$  %  $\text{CO}_2$  und  $95$  % Luftfeuchtigkeit kultiviert. Als Kulturmedium wurde DMEM eingesetzt, dem  $10\%$  fötales Kalbserum (FCS),  $2,2$  g/l  $\text{NaHCO}_3$ ,  $10$  mM HEPES,  $2$  nM Glutamin,  $2,5$

mg/l Amphotericin B und 105 U/l Penicillin-Streptomycin hinzugefügt wurde. Die Zellen ( $4 \times 10^5$ ) wurden mit Octreotid, SOM230 oder Cabergolin behandelt, die in 0.5 % FCS DMEM aufgelöst wurden. Zellen behandelt nur mit dem Medium, ohne Pharmakazusatz, wurden als Kontrolle verwendet. Die Behandlungszeit betrug - falls nicht anders angegeben - 20 h.

### **2.2.3 RNS-Extraktion und Reverse Transkriptase - Polymerase Ketten Reaktion**

Die RNS-Extraktion wurde nach der Guanidinium-Isothiozyanat-Phenolmethode durchgeführt. Um eine Kontamination durch genomische c-DNS auszuschließen, wurde zusätzlich eine PCR mit 1 µg RNS mit dem Primer GAPDH (housekeeping gene) durchgeführt. 1 µg RNS wurde revers transkribiert, indem zufällige Hexanukleotide verwendet wurden. Eine PCR wurde für IGF-1 und GAPDH durchgeführt (innere Kontrolle). Die Parameter für die IGF-1 und GAPDH Amplifikationen waren entsprechend 30 und 20 Zyklen, wobei jeweils jeder dieser Zyklen aus 1 min bei 94 °C, 60 °C und 72 °C bestand. Die PCR wurde unter exponentiellen Bedingungen durchgeführt. Negative Kontrollen für RT-PCR wurden ohne reverse Transkriptase oder Matrize durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Klinischer Studienteil

##### 3.1.1 Beschreibung der Patientengruppe

In dem Patientenkollektiv der 57 eingeschlossenen Akromegalen fanden sich 39 Frauen (68,4%) und 18 Männer (31,6%). Das durchschnittliche Alter der Patienten bei der Erstdiagnose betrug 47 Jahre, wobei die Frauen im Mittel 49 Jahre und die Männer 44 Jahre alt waren. Bei der Erstdiagnose betrugen die Mittelwerte für GH 23,3 ng/ml und für IGF-1 874,3 ng/ml. Im Vergleich zu den Männern hatten die Frauen im Mittel einen höheren basalen GH-Wert (24,8 ng/ml vs. 19,8 ng/ml) und einen niedrigeren IGF-1-Wert (798,3 ng/ml vs. 1007,3 ng/ml).

Bei der Erstdiagnose hatten 17 Personen (29,8 %) eine Gesichtsfeldeinschränkung, im Verlauf war dies bei 8 Personen (14,0 %) der Fall. Die Bildgebung bei der Erstdiagnose wies bei 27 Personen ein Makroadenom (47,4 %) und bei 5 Personen (8,8 %) ein Mikroadenom auf. Bei den übrigen 25 Personen wurden keine Angaben gemacht. Im Verlauf wiesen 21 Personen (36,8 %) einen Resttumor auf.

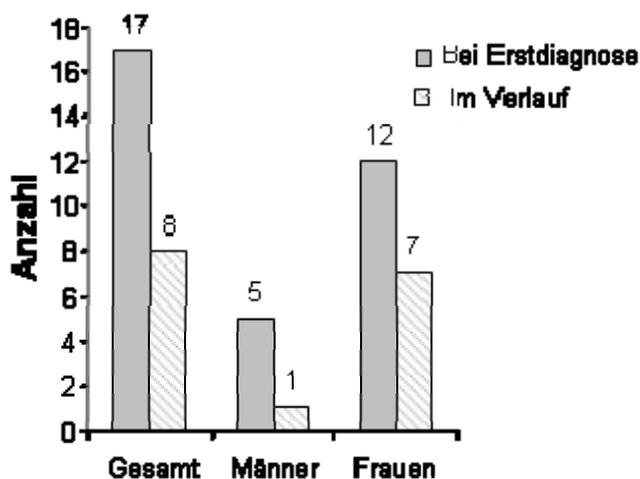


Abbildung 7: Gesichtsfeldeinschränkungen bei Erstdiagnose und im Verlauf.

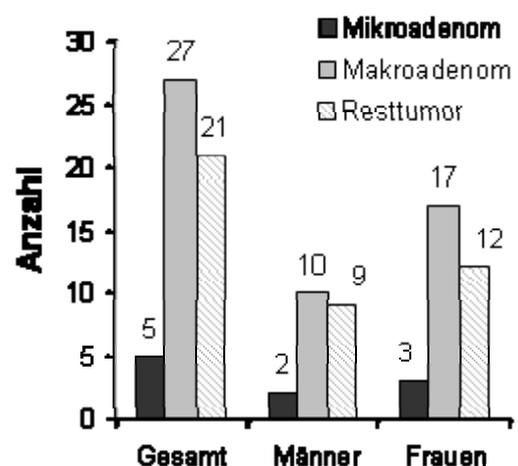


Abbildung 8: Bildgebung bei Erstdiagnose und im Verlauf.

### 3.1.2 Körperliche Untersuchung

Die Parameter der körperlichen Untersuchung (Größe, Gewicht, BMI) wiesen zwischen Erstdiagnose und unter Therapie keinen signifikanten Unterschied auf. Die Größe stieg im Mittel um 0,2 % ( $\Delta\mu$  0,27 cm), während das Gewicht um 0,1 % ( $\Delta\mu$  - 0,09 kg) und BMI um 0,4 % ( $\Delta\mu$  -0,1) sanken.

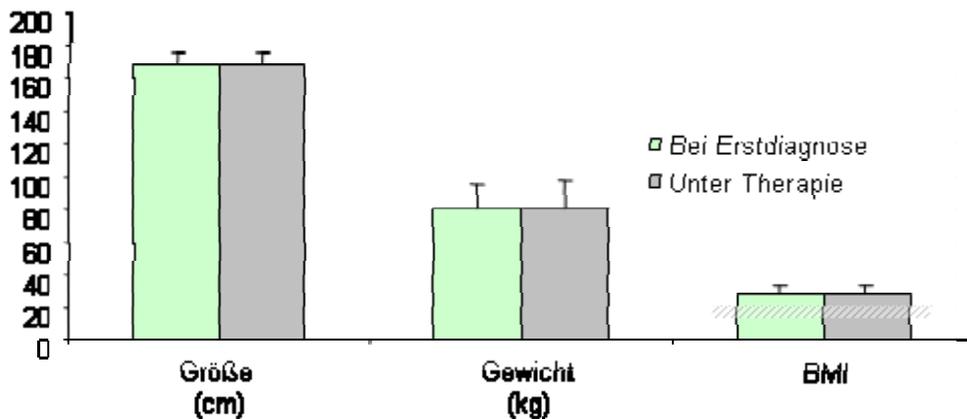


Abbildung 9: Größe, Gewicht und BMI bei Erstdiagnose und unter Therapie.

Der  Bereich stellt den Normbereich für BMI nach NIH (1998) dar.

Die Vitalparameter ( $R_{\text{sys}}$ ,  $R_{\text{dia}}$ , Puls) wiesen nach den durchgeführten Therapien ebenso keinen signifikanten Unterschied auf.  $R_{\text{sys}}$  sank im Mittel um 3,3 % ( $\Delta\mu$  -4,7 mmHg),  $R_{\text{dia}}$  um 6,5 % ( $\Delta\mu$  -6,0 mmHg) und Puls um 3,3 % ( $\Delta\mu$  -2,5).

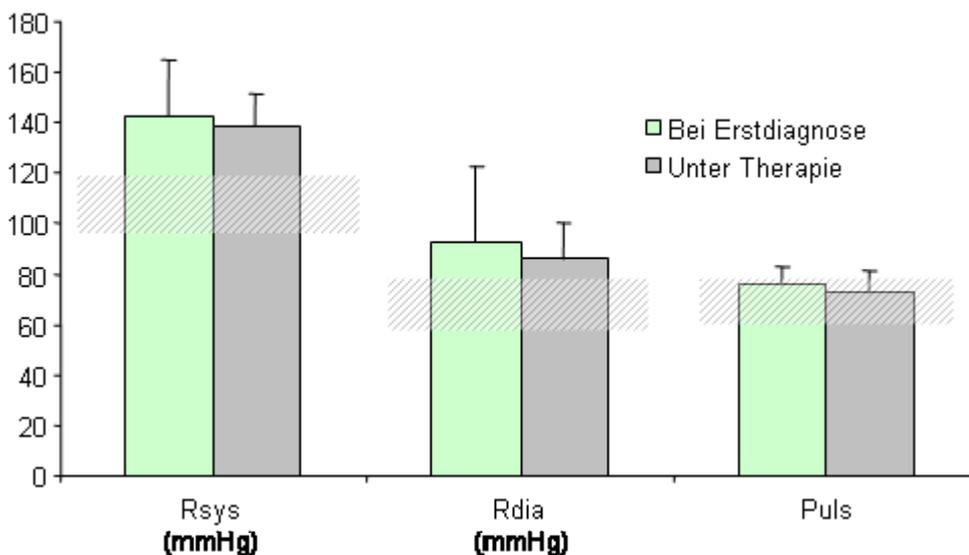


Abbildung 10:  $R_{\text{sys}}$ ,  $R_{\text{dia}}$  und Puls bei Erstdiagnose und unter Therapie.

Die  Bereiche stellen den entsprechenden Normbereich nach NIH (2003) dar.

### 3.1.3 Komorbiditäten

Die häufigste kardiovaskuläre Komorbidität war der arterielle Hypertonus, wobei 33 Patienten Blutdruckwerte oberhalb des Normbereiches hatten. Außerdem litten 4 Patienten an Arrhythmien im Verlauf ihrer Erkrankung, 4 Patienten hatten eine Kardiomyopathie, 4 Patienten eine zerebrovaskuläre Erkrankung, 3 Patienten eine koronare Herzkrankheit (KHK) und 1 Patient Z. n. einem Myokardinfarkt. Die häufigste Komorbidität des Bewegungsapparates war das Karpaltunnelsyndrom (23 Patienten). 8 Patienten litten unter Arthralgien und 8 Patienten unter Arthropathien. Die häufigste Komorbidität war die HVL-Insuffizienz (insgesamt 32 Patienten), wobei 25 Patienten eine partielle und 6 Patienten eine komplette HVL-Insuffizienz aufwiesen. Bezüglich der einzelnen Achsen wiesen 19 Patienten einen kortikotrophen, 17 Patienten einen thyreotropen, 25 Patienten einen gonadotropen und 6 Patienten einen somatotrophen Achsenausfall auf. 4 Patienten hatten eine zumindest transiente HHL-Insuffizienz (Diabetes insipidus). 25 Patienten wiesen eine pathologische Glukosetoleranz und 16 Patienten einen Typ 2 Diabetes mellitus auf. Schilddrüsenerkrankungen hatten insgesamt 38 Patienten und eine Hyperprolaktinämie 10 Patienten. Die häufigste respiratorische Komorbidität war das Schlafapnoesyndrom (10 Patienten). 2 Patienten hatten eine andere Lungenerkrankung.

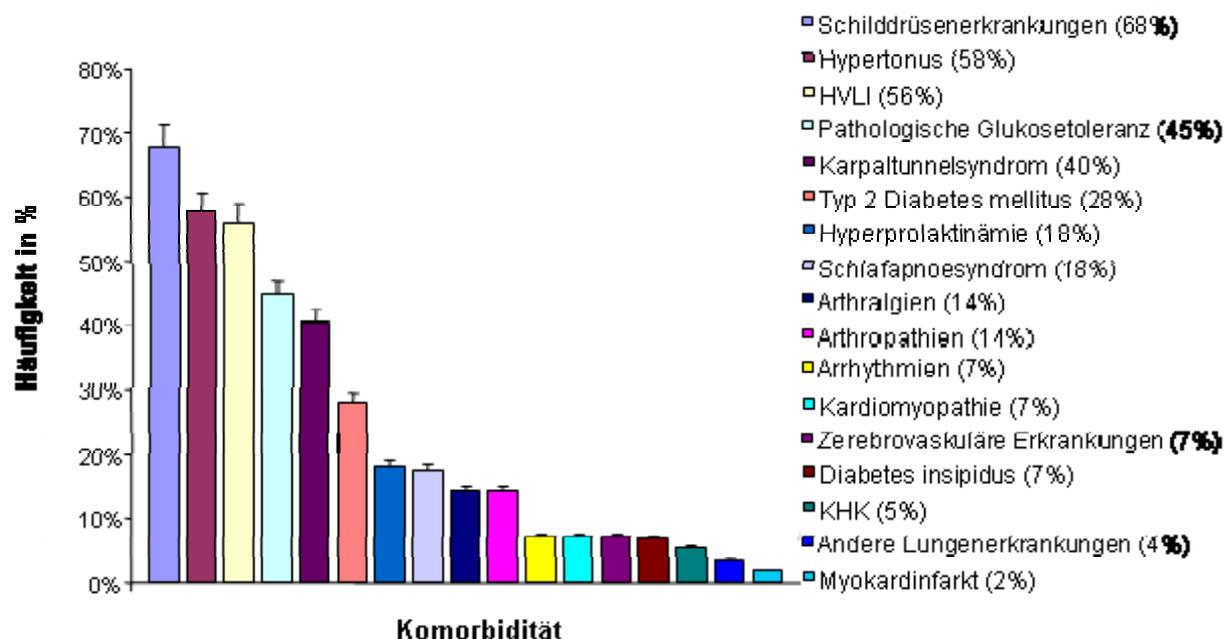
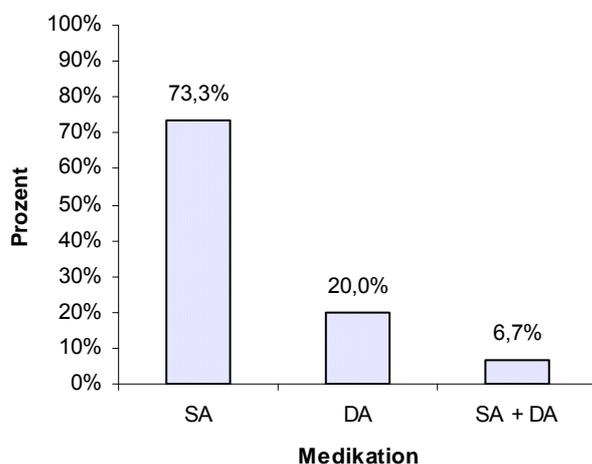


Abbildung 11: Häufigkeit verschiedener Komorbiditäten.

### 3.1.4 Patientenanzahl bei den verschiedenen Therapieoptionen

Zur Optimierung des Operationsergebnisses bekamen 15 von den 57 eingeschlossenen Patienten eine präoperative medikamentöse Therapie. 3 Patienten (20 %) davon wiesen in der Bildgebung bei Erstdiagnose ein Mikroadenom, 8 Patienten (53,3 %) ein Makroadenom auf. Bei 4 Patienten (26,7 %) war keine Größenangabe nachvollziehbar. Der Mittelwert für GH basal bei Erstdiagnose betrug 20,4 ng/ml und für IGF-1 836 ng/ml. 3 Patienten bekamen eine präoperative medikamentöse Therapie mit DA, 11 Patienten mit SA und 1 Patient erhielt eine Kombinationstherapie mit SA und DA.



53 Patienten erhielten einen transsphenoidalen operativen Eingriff als Primärtherapie der Akromegalie. 3 Patienten (5,3 %), bei denen eine OP entweder abgelehnt wurde oder nicht möglich war, erhielten eine medikamentöse Primärtherapie. Bei einem Patienten war keine Angabe nachvollziehbar.

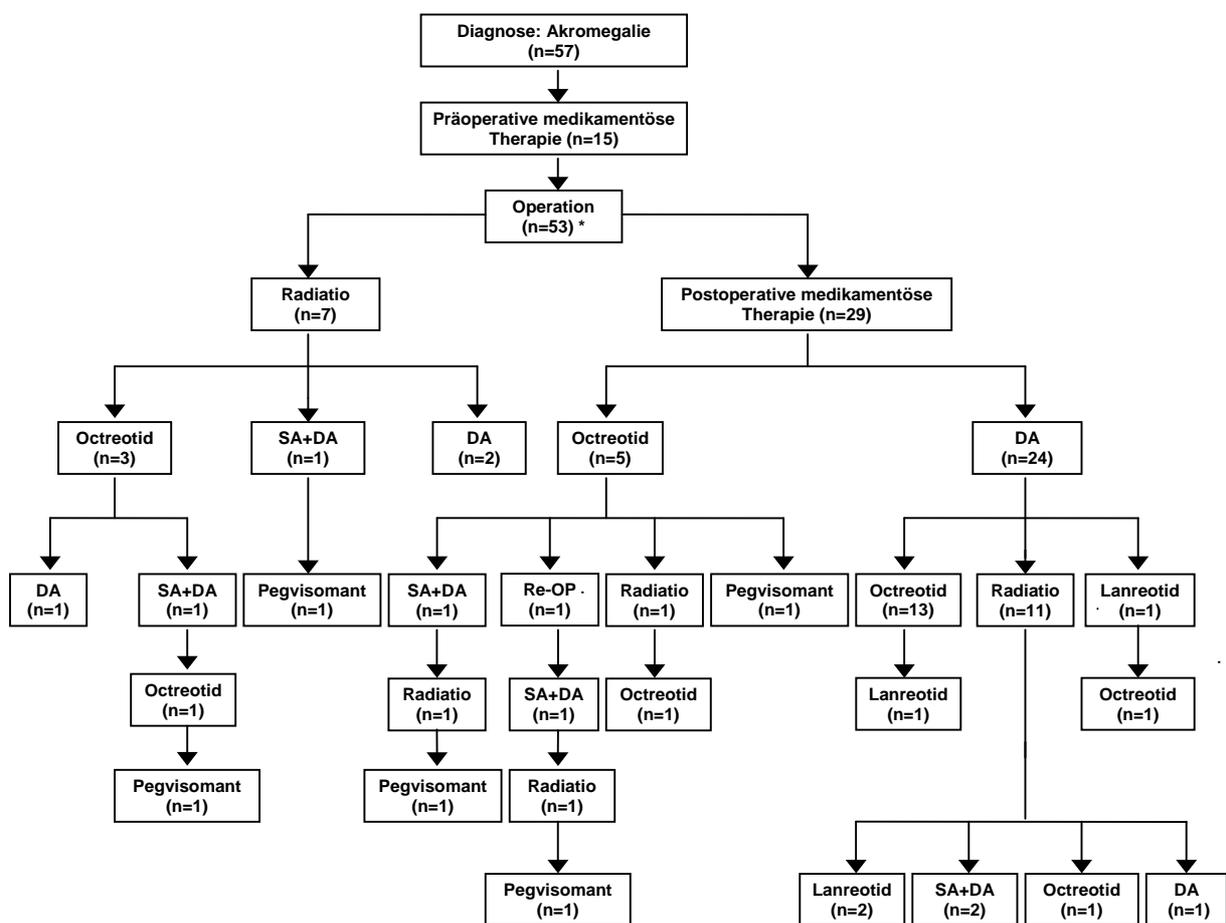
**Abbildung 12:** Präoperative medikamentöse Therapie.

22 Patienten wurden bestrahlt; davon 8 Patienten mit stereotaktisch fraktionierter Radiatio und 14 Patienten mit dem Gammaknife oder Cyberknife.

31 Patienten wurden mit DA behandelt. 28 Patienten erhielten eine Therapie mit dem SA Octreotid, während 4 Patienten das SA Lanreotid erhielten. 7 Patienten wurden aufgrund fehlenden Ansprechens auf die SA-Therapie allein auf eine Kombinationstherapie mit DA umgestellt. 6 Patienten erhielten den GH-Rezeptor-Antagonisten Pegvisomant.

**Tabelle 5:** Patientenanzahl bei den verschiedenen Therapieoptionen.

Therapie	Gesamt		Männer		Frauen	
	n	%	n	%	n	%
Präoperative medikamentöse Therapie	15	26,3	5	33,3	10	66,7
Operation	53	93,0	16	30,2	37	69,8
Radiatio	22	38,6	10	45,5	12	54,5
Octreotid	28	49,1	10	35,7	18	64,3
Lanreotid	4	7,0	1	25,0	3	75,0
Dopaminagonisten	31	54,4	8	25,8	23	74,2
Pegvisomant	6	10,5	5	83,3	1	16,7
Kombinationstherapie	7	12,3	4	57,1	3	42,9



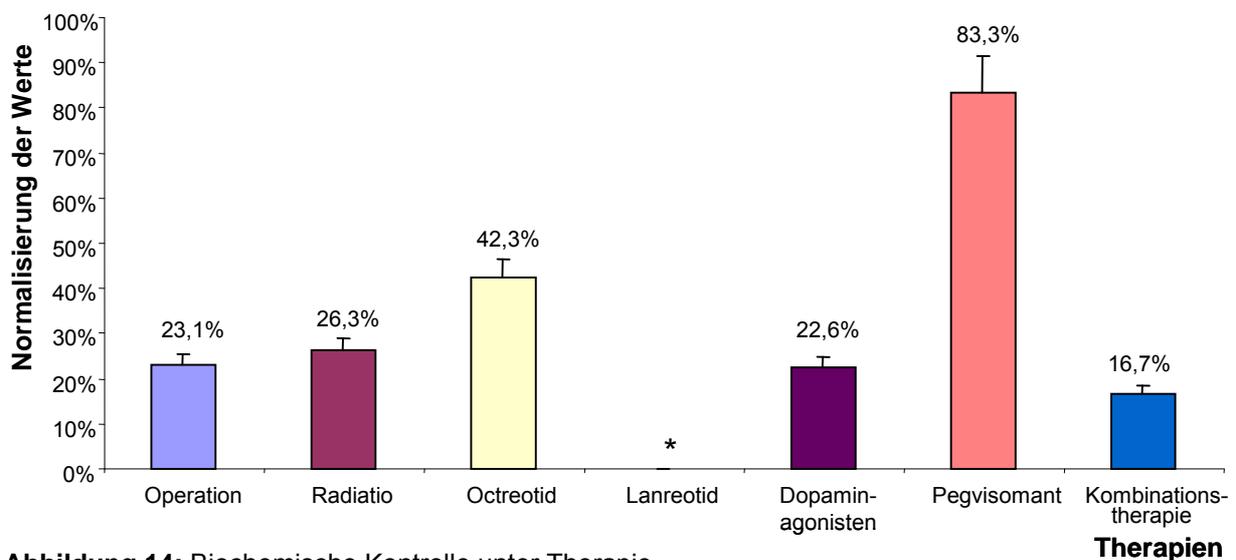
**Abbildung 13:** Behandlungsverlauf der 57 ausgewählten Patienten.

\* Von den 53 operierten Patienten wiesen nur 12 postoperativ eine biochemische Kontrolle der Akromegalie auf. 36 nicht-remittierte Patienten wurden anschließend bestrahlt und/oder medikamentös behandelt.

### 3.1.5 Therapien im Vergleich

#### 3.1.5.1 Biochemische Kontrolle

Alle Therapieoptionen normalisierten die Werte, aber in verschiedenem Ausmaß. Der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant wurde bei 6 Patienten eingesetzt; 5 davon wiesen eine Normalisierung der Werte auf. Damit war Pegvisomant die effizienteste Therapieoption mit einer Remissionsrate von 83,3 %. Von den 28 Patienten, die mit Octreotid behandelt wurden, wiesen 11 eine Normalisierung der Werte auf. Das entsprach einer Remissionsrate von 42,3 %. Die Remissionsrate nach Radiatio betrug 26,3 %, wobei 5 von den 22 bestrahlten Patienten eine Normalisierung der Werte aufwiesen. Bezüglich der Primärtherapie der Akromegalie, der Operation, wiesen nur 12 von den 53 operierten Patienten postoperativ eine Normalisierung der Werte auf, was einer Remissionsrate von 23,1 % entsprach. Von den 31 Patienten, die mit DA behandelt wurden, wiesen 7 (22,6 %) eine Normalisierung der Werte auf. Die Remissionsrate nach der Kombinationstherapie betrug 16,7 %, wobei 1 von den 7 behandelten Patienten eine Normalisierung der Werte aufwies. Von den 4 Patienten, die mit Lanreotid behandelt wurden, wies zum Untersuchungszeitpunkt keiner eine biochemische Normalisierung auf. Das ist am ehesten durch die relativ kurze mittlere Behandlungsdauer von 7,8 Monaten zu erklären (Erstzulassung des Medikaments auf dem deutschen Markt im Herbst 2006).



**Abbildung 14:** Biochemische Kontrolle unter Therapie.

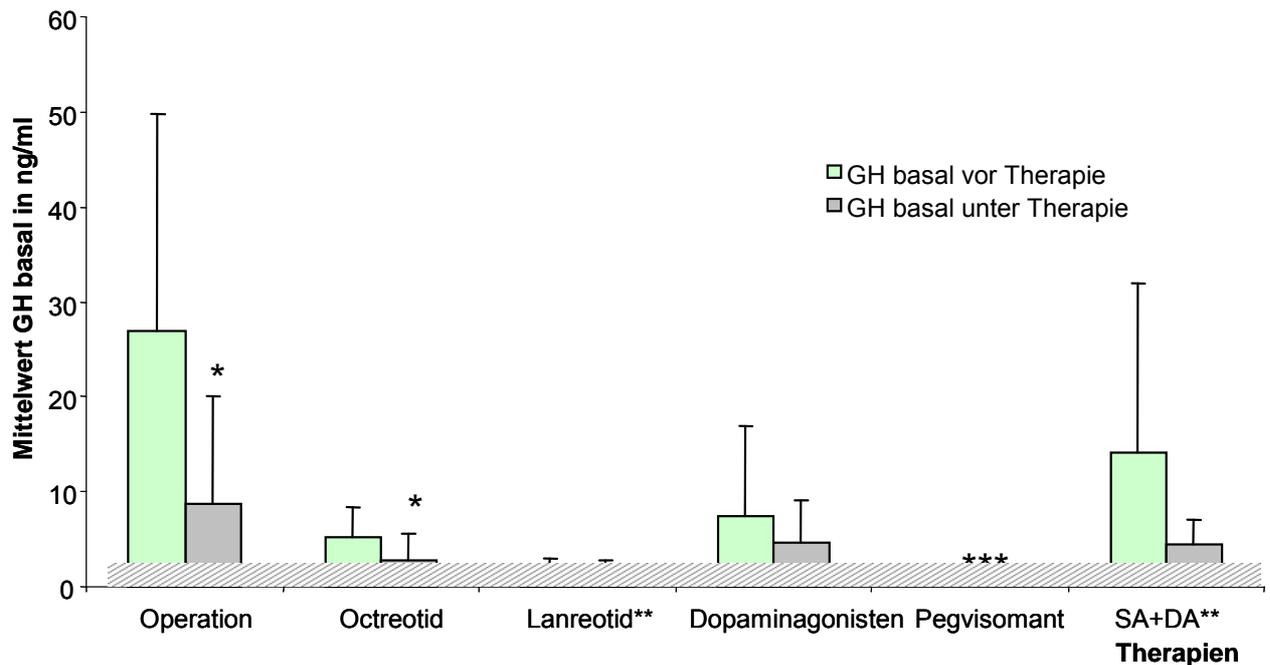
\* Keiner Patient wies zum Untersuchungszeitpunkt eine Normalisierung der Werte unter Lanreotid auf.

Abhängig von der Tumorgröße betrug die biochemische Kontrolle postoperativ 25 % bei Mikro- und 20 % bei Makroadenomen. 30 % der Patienten mit operierten Makroadenomen, die bestrahlt wurden, wiesen eine biochemische Kontrolle der Erkrankung auf. Nur 1 Patient mit Mikroadenom wurde postoperativ bestrahlt; er wies darunter keine Remission auf. Eine biochemische Kontrolle erfolgte bei 50 % der Patienten mit Makroadenomen unter Octreotid. Nur 1 Patientin mit Mikroadenom bekam eine Behandlung mit Octreotid; diese wies allerdings keine Remission auf. 3 aus den 4 Patienten, die mit Lanreotid behandelt wurden, wiesen in der Bildgebung bei der Erstdiagnose ein Makroadenom auf. Keiner wies unter Lanreotid eine biochemische Kontrolle der Akromegalie auf. Abhängig von der Tumorgröße betrug die Normalisierung der Werte nach dopaminagonistischer Therapie 6,7 % bei Mikro- und 33,3 % bei Makroadenomen. Die Remissionsrate nach bzw. unter Therapie mit dem GH-Rezeptor-Antagonisten Pegvisomant betrug bei Makroadenomen 50 %. Kein Patient mit bekanntem Mikroadenom erhielt eine Therapie mit Pegvisomant. Aus den 3 Patienten mit Makroadenomen, die eine Kombinationstherapie mit SA und DA erhielten, wies keiner eine biochemische Kontrolle auf. Kein Patient mit Mikroadenom bekam eine Kombinationstherapie.

**Tabelle 6:** Biochemische Kontrolle abhängig von Tumorgröße und Therapie.

	<b>Gesamt n</b>	<b>Mikroadenom</b>	<b>Makroadenom</b>	<b>Keine Angabe bzw. Tumorgröße</b>
<b>Operation</b>	53	25 % (1/4)	20 % (5/25)	24
<b>Radiatio</b>	22	0 % (0/1)	30 % (3/10)	11
<b>Octreotid</b>	28	0 % (0/1)	50 % (8/16)	11
<b>Lanreotid</b>	4	0 % (0/0)	0 % (0/3)	1
<b>Dopaminagonisten</b>	31	6,7 % (1/15)	33,3 % (1/3)	13
<b>Pegvisomant</b>	6	0 % (0/0)	50 % (1/2)	4
<b>Kombinationstherapie</b>	7	0 % (0/0)	0 % (0/3)	4

### 3.1.5.2 Vergleich der Therapien in Bezug auf GH basal, GH/oGTT und IGF-1

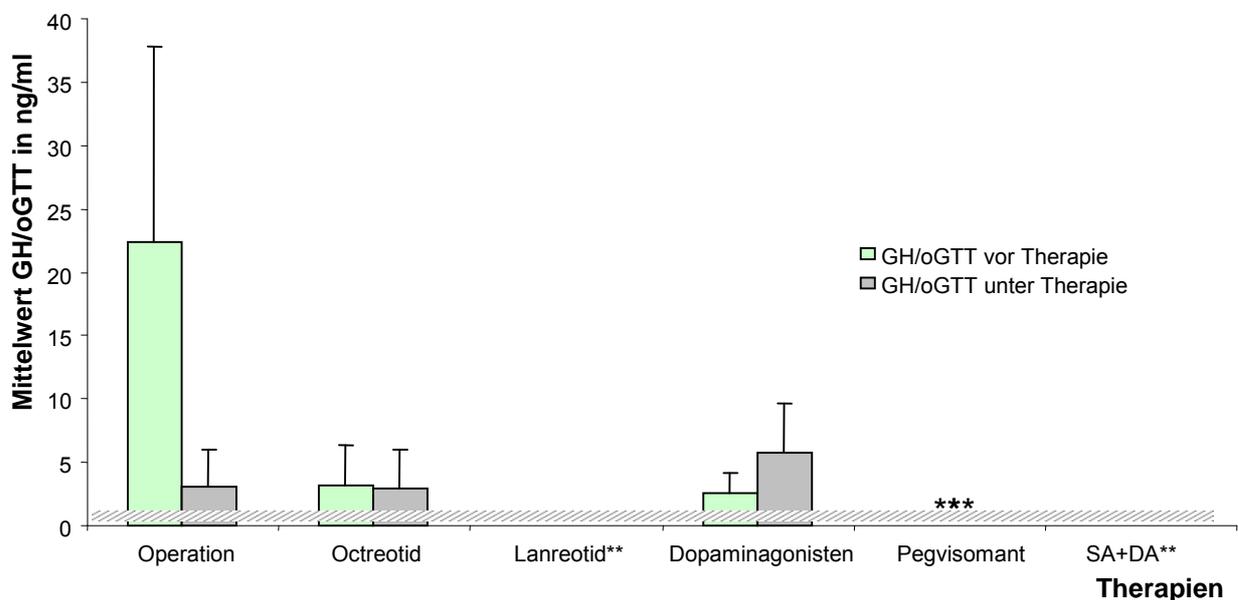


**Abbildung 15:** GH basal unter Therapie.

Der Bereich stellt den Normbereich für GH basal dar.

\* signifikant ( $p < 0.05$ ) \*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich

\*\*\* GH basal wurde nicht berechnet, weil es unter Pegvisomant nicht als Therapieparameter verwendet wird.

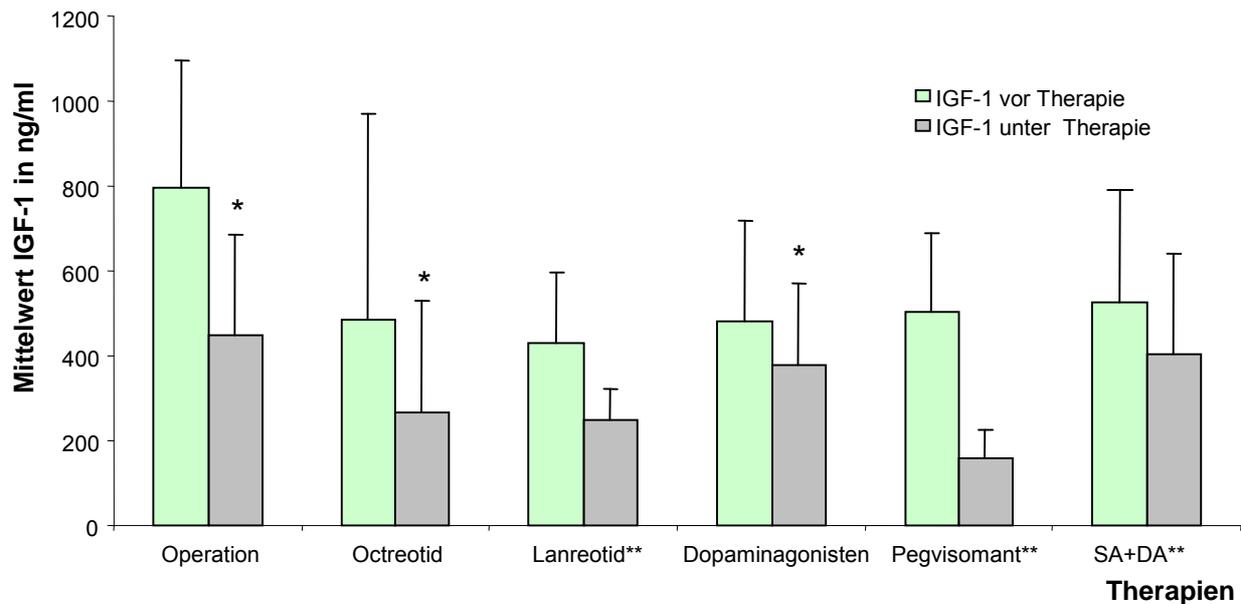


**Abbildung 16:** GH/oGTT unter Therapie.

Der Bereich stellt den Normbereich für GH/oGTT dar.

\*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich

\*\*\* GH/oGTT wurde nicht berechnet, weil es unter Pegvisomant nicht als Therapieparameter verwendet wird.



**Abbildung 17:** IGF-1 unter Therapie.

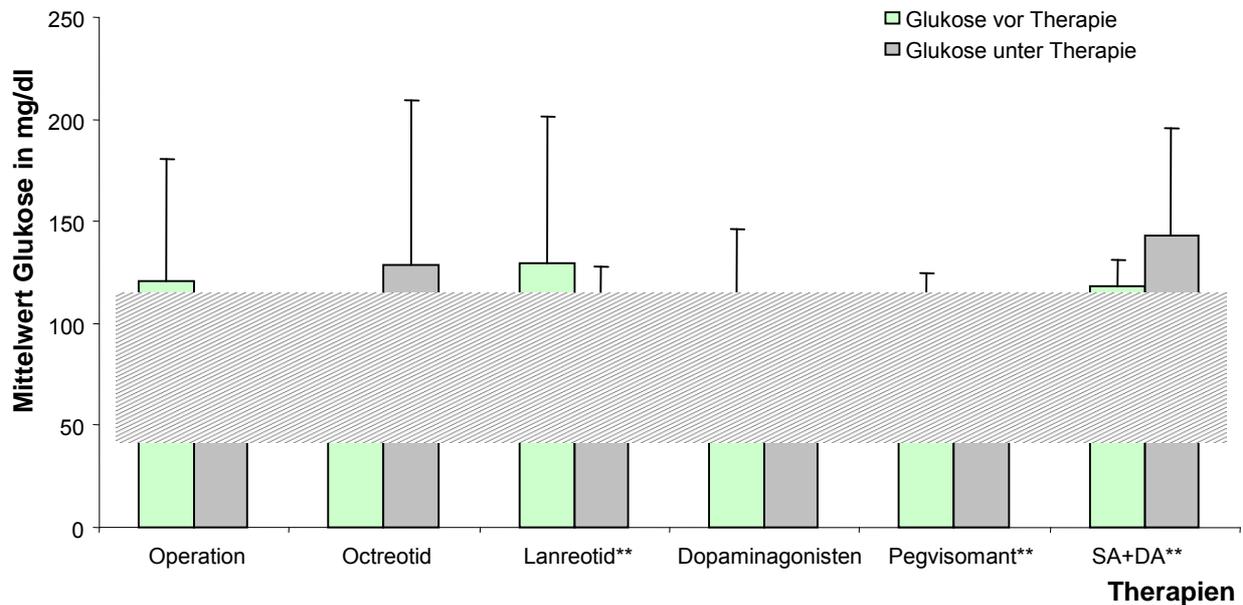
\* signifikant ( $p < 0.05$ )\*\* aufgrund kleiner Patientenanzahl keine Signifikanztestung möglich

Alle Therapieoptionen zeigten eine Reduktion der Parameter GH basal und/oder IGF-1, aber in verschiedenem Ausmaß. GH basal wies eine signifikante Reduktion ( $p < 0.05$ ) nach Operation und Behandlung mit dem SA Octreotid auf. Auf GH basal wirkten Octreotid und DA nahezu gleich (bei Octreotid GH basal:  $\Delta\mu -2,37$  ng/ml, bei DA GH basal:  $\Delta\mu -2,77$  ng/ml), allerdings war der Standardfehler des Mittelwerts (SEM) bei Octreotid kleiner (SEM 0,98, vs. SEM 2,15). Jedoch war der Unterschied nur bei Octreotid signifikant ( $p < 0.05$ ).

IGF-1 wies eine signifikante Reduktion ( $p < 0.05$ ) postoperativ und nach Behandlung mit Octreotid und DA auf. Die IGF-1-Senkung war unter Octreotid deutlich ausgeprägter als unter DA (bei Octreotid IGF-1:  $\Delta\mu -220,10$  ng/ml, bei DA IGF-1:  $\Delta\mu -105,24$  ng/ml). Der SEM war bei beiden Therapien nahezu gleich (Octreotid: SEM 41,07, DA: SEM 36,20). Allerdings bewirkten DA eine signifikante Senkung von IGF-1 ( $p < 0.05$ ), aber keine GH-Suppression.

GH/oGTT wies unter keiner Therapieoption einen signifikanten Unterschied auf. Bei den restlichen Therapieoptionen und Untersuchungsparametern war aufgrund kleiner Patientenanzahl keine Signifikanztestung möglich.

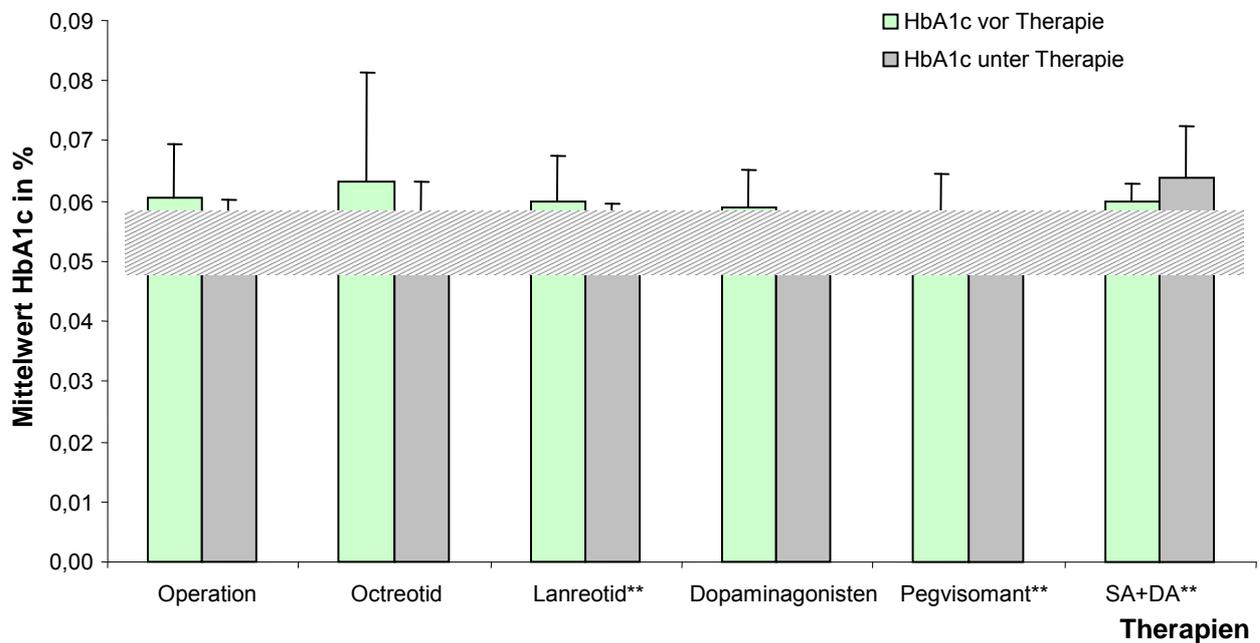
### 3.1.5.3 Vergleich der Therapien in Bezug auf Metabolismusparameter



**Abbildung 18:** Glukose unter Therapie.

Der  Bereich stellt den Normbereich für Glukose nach Diabetes Society dar.

\*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich



**Abbildung 19:** HbA1c unter Therapie.

Der  Bereich stellt den Normbereich für HbA1c nach Diabetes Society dar.

\*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich

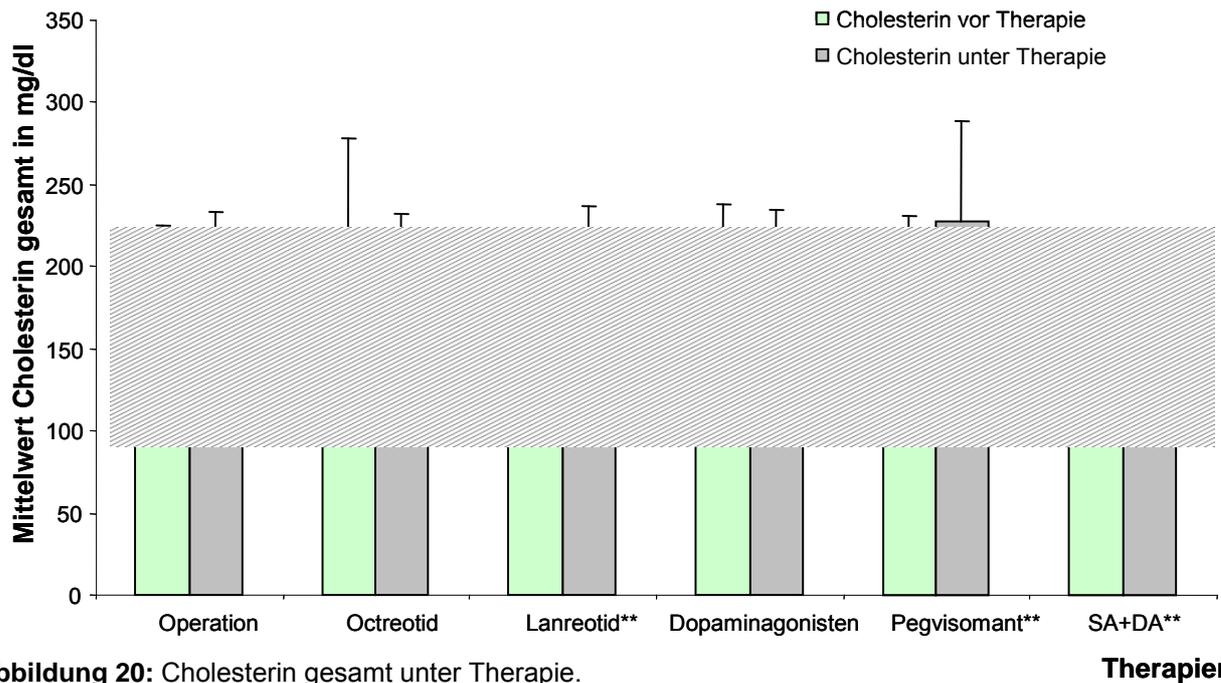


Abbildung 20: Cholesterin gesamt unter Therapie.

Der  Bereich stellt den Normbereich für Cholesterin gesamt dar.

\*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich

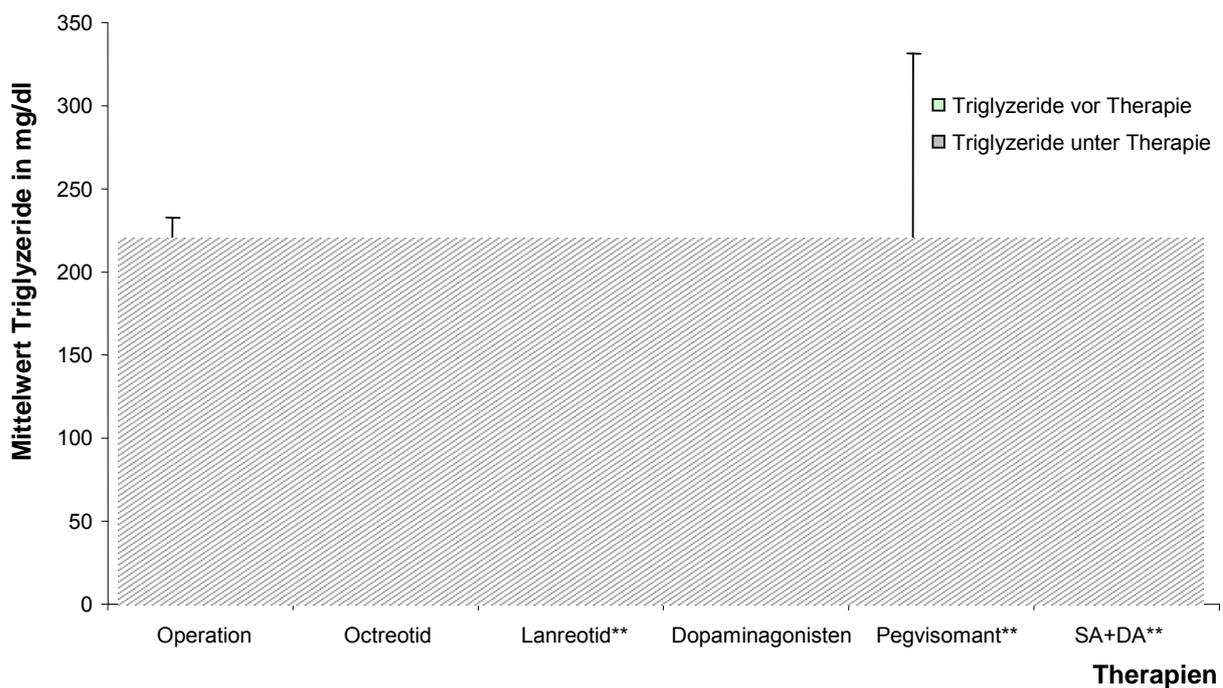
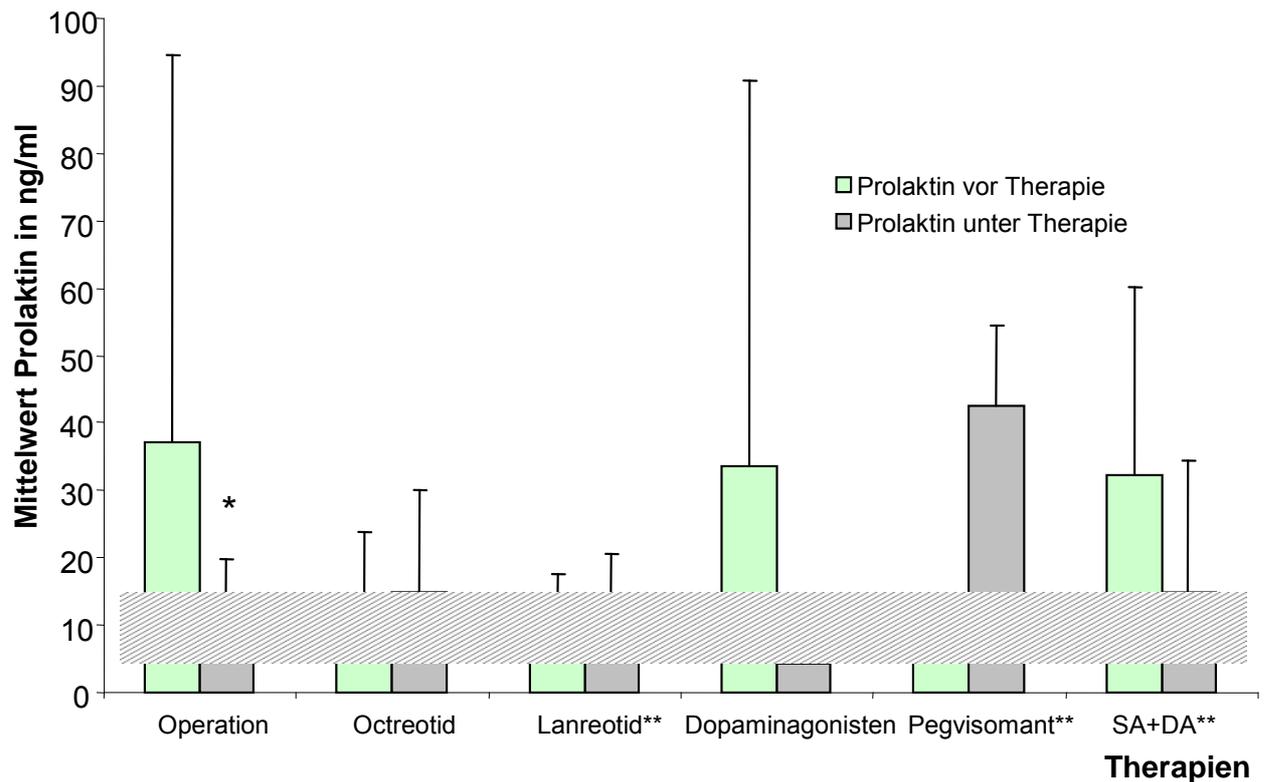


Abbildung 21: Triglyzeride unter Therapie.

Der  Bereich stellt den Normbereich für Triglyzeride dar.

\*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich



**Abbildung 22:** Prolaktin unter Therapie.

Der  Bereich stellt den Normbereich für Prolaktin dar.

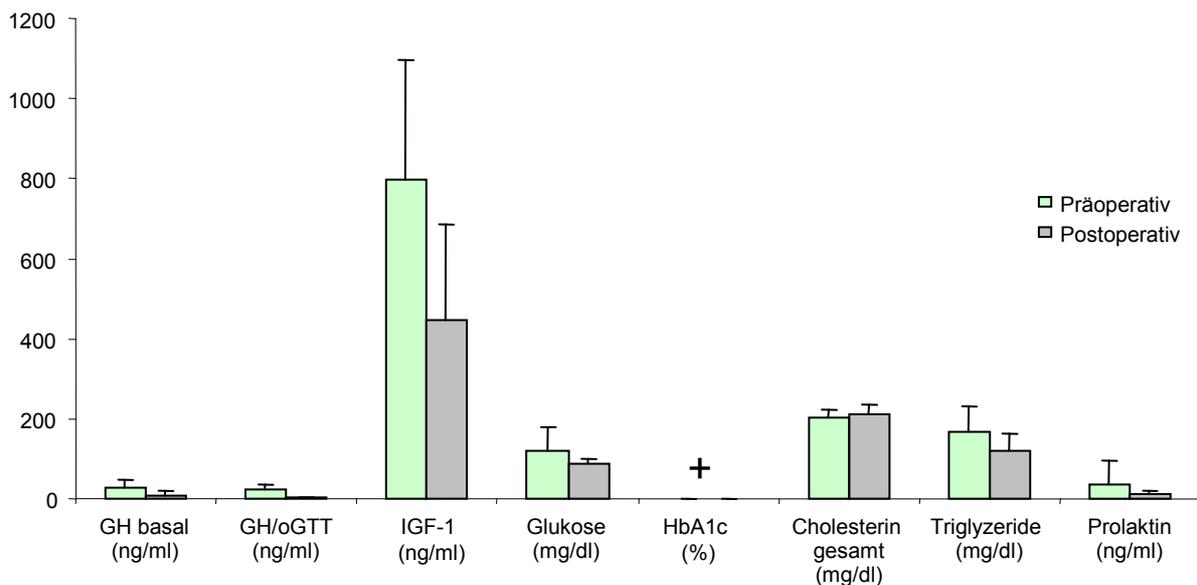
\* signifikant ( $p < 0.05$ )\*\* aufgrund kleiner Patientenzahl keine Signifikanztestung möglich

Insgesamt sahen wir bei den Metabolismusparametern unter den verschiedenen Therapieoptionen keine signifikanten Unterschiede. Tendenziell hatten alle Therapien außer Octreotid und der Kombinationstherapie mit DA einen positiven Effekt auf den Glukosemetabolismus (Glukose, HbA1c). Das SA Octreotid wies eine positive Wirkung auf den Cholesterinspiegel auf, während Pegvisomant eher zu einer Hypercholesterinämie führte. Die restlichen Therapieoptionen bewirkten keine oder nur geringgradige Änderungen des Cholesterinspiegels. Bezüglich der Triglyzeride verursachten beide eingesetzten SA eine Steigerung der Werte, während alle anderen Therapieoptionen zu einer Senkung des Spiegels führten. Die dopaminagonistische Therapie als auch die Kombination mit SA verursachte eine deutliche Senkung des Prolaktinspiegels. Das war postoperativ ebenso der Fall. Der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant führte andererseits zu einer deutlichen Hyperprolaktinämie. Eine Steigerung des Prolaktinspiegels, jedoch in geringerem Ausmaß, bewirkten ebenso die SA.

### 3.1.6 Therapieeffekte auf GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter

#### Operation

Die Differenz der Werte vor und nach Operation wies bei allen untersuchten Parametern (GH basal, GH/oGTT, IGF-1, Glukose, HbA1c, Triglyzeride und Prolaktin) außer Cholesterin gesamt eine Reduktion auf. GH basal wies im Mittel eine Reduktion um 69,2 % (Differenz des Mittelwertes /  $\Delta\mu$  -18,57 ng/ml), GH/oGTT um 86,3 % ( $\Delta\mu$  -19,28 ng/ml), IGF-1 um 43,9 % ( $\Delta\mu$  -350,05 ng/ml), Glukose um 28,9 % ( $\Delta\mu$  -34,78 mg/dl), HbA1c um 0,01 %, Triglyzeride um 27 % ( $\Delta\mu$  -44,88 mg/dl) und Prolaktin um 69 % ( $\Delta\mu$  -25,70 ng/ml) auf. Cholesterin gesamt stieg um 2,9 % ( $\Delta\mu$  6,0 mg/dl).



**Abbildung 23:** GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter nach OP.

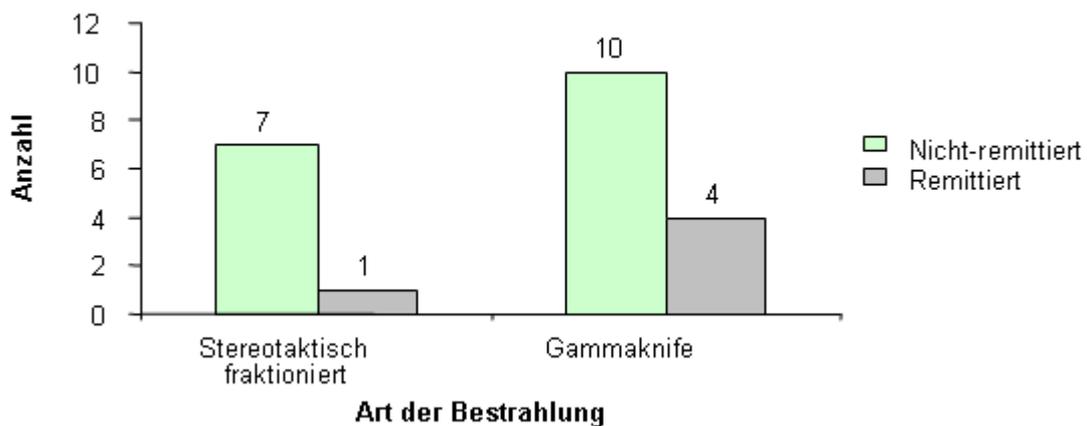
+ HbA1c wies im Mittel eine Reduktion um 0,01 % auf.

Die Reduktion der Parameter GH basal, IGF-1 und Prolaktin postoperativ war signifikant [Wilks multivariate tests of significance; effect of therapy:  $F(2,23)=19.26$ , sig of  $F<0.0001$ , univariate F-tests,  $p < 0.05$ ]. Die Therapieeffekte auf die biochemischen Parameter GH/oGTT, Glukose, HbA1c, Cholesterin gesamt und Triglyzeride zeigten keine signifikanten Unterschiede [Wilcoxon t-tests for paired samples,  $p<0.05$ ].

## Radiatio

22 Patienten wurden bestrahlt; davon 8 Patienten (36,4 %) mit stereotaktisch fraktionierter Radiatio und 14 Patienten (63,6 %) mit dem Gammaknife oder Cyberknife.

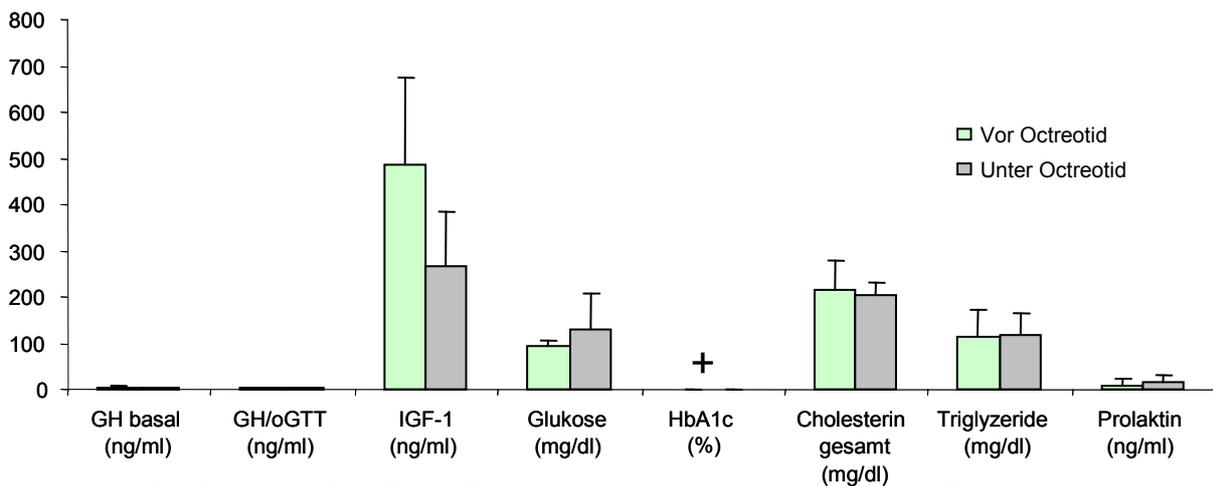
Von den 8 Patienten, die mit stereotaktisch fraktionierter Radiatio behandelt wurden, wies 1 (12,5 %) eine Normalisierung der Werte 2 Jahren nach Radiatio auf, während dies bei 4 (28,6 %) von den 14 mit dem Gammaknife oder Cyberknife bestrahlten Patienten der Fall war.



**Abbildung 24:** Langzeit Remission nach Radiatio.

## Octreotid

Die mittlere Behandlungsdauer mit Octreotid betrug 30,4 Monate und die maximale Dosis war 40 mg i.m. / 4 Wochen. Die Differenz der Werte vor und nach der Therapie wies bei den Parametern GH basal, GH/oGTT, IGF-1, HbA1c und Cholesterin gesamt eine Reduktion auf, während Glukose, Triglyzeride und Prolaktin im Mittel anstiegen. GH basal sank im Mittel um 45,5 % ( $\Delta\mu$  -2,37 ng/ml), GH/oGTT um 5,4 % ( $\Delta\mu$  -0,18 ng/ml), IGF-1 um 45,3 % ( $\Delta\mu$  -220,1 ng/ml), HbA1c um 0,01 % und Cholesterin gesamt um 63,9 % ( $\Delta\mu$  -13,83 mg/dl), während Glukose um 38,8 % ( $\Delta\mu$  36,0 mg/dl), Triglyzeride um 3,0 % ( $\Delta\mu$  3,5 mg/dl) und Prolaktin um 66,2 % ( $\Delta\mu$  5,93 ng/ml) anstiegen.



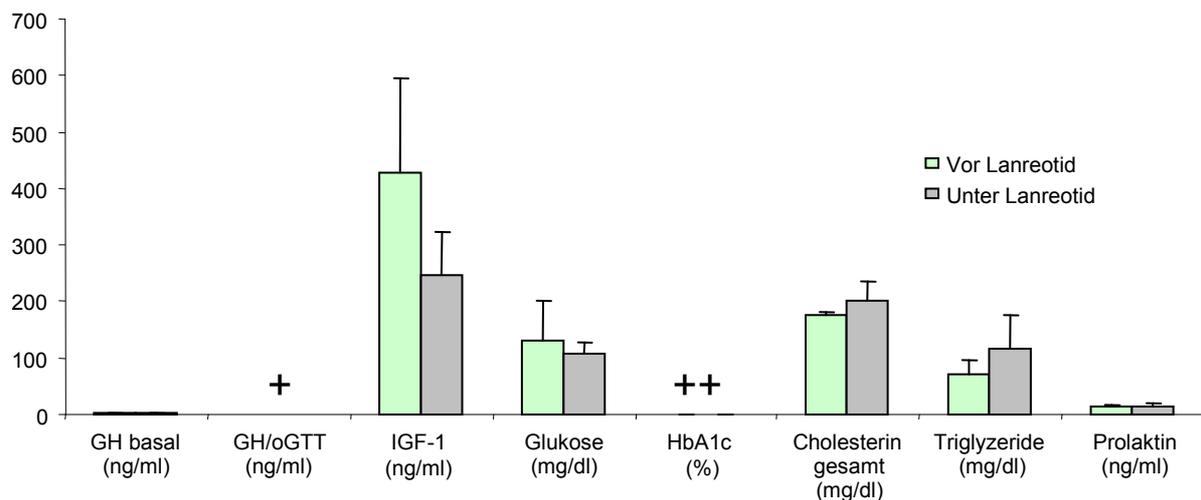
**Abbildung 25:** GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter unter Octreotid.

+ HbA1c wies im Mittel eine Reduktion um 0,01 % auf.

Die Octreotid-Therapie zeigte auf die biochemischen Parameter GH basal und IGF-1 einen signifikanten Effekt [Wilks multivariate tests of significance; effect of therapy:  $F(2,14)=16.33$ , sig of  $F<0.0001$ , univariate F-tests,  $p < 0.05$ ]. Die Therapieeffekte auf die biochemischen Parameter GH/oGTT, Glukose, HbA1c, Cholesterin gesamt, Triglyzeride und Prolaktin vor und nach der Therapie waren nicht signifikant.

## Lanreotid

Die maximale Dosis betrug 120 mg i.m. / 4 Wochen. Die Differenz der Werte vor und unter Therapie wies bei den Parametern GH basal, IGF-1 und Glukose eine Reduktion auf, während die Parameter Cholesterin gesamt, Triglyzeride und Prolaktin eine nicht signifikante Zunahme aufwiesen. GH basal sank im Mittel um 18,8 % ( $\Delta\mu$  -0,37 ng/ml), IGF-1 um 42,3 % ( $\Delta\mu$  -181,75 ng/ml) und Glukose um 17 % ( $\Delta\mu$  -22,0 mg/dl), während Cholesterin gesamt um 14,2 % ( $\Delta\mu$  25,00 mg/dl), Triglyzeride um 63,6 % ( $\Delta\mu$  45,50 mg/dl) und Prolaktin um 4,1 % ( $\Delta\mu$  0,58 ng/ml) anstiegen. HbA1c wies unter Lanreotid keinen Unterschied auf.



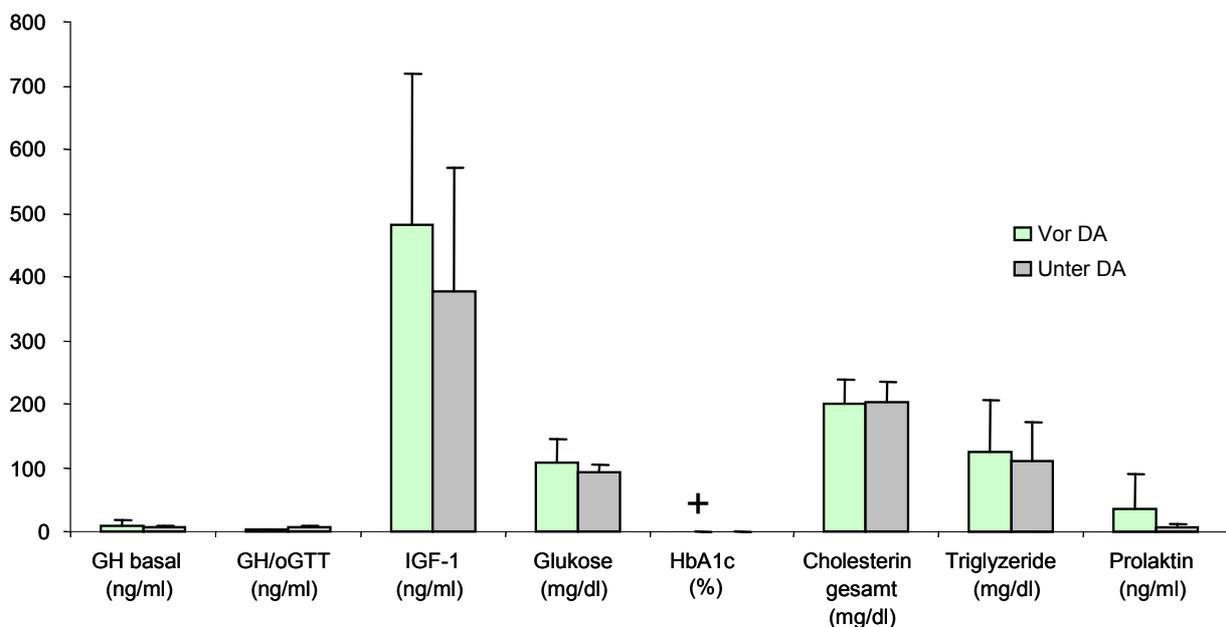
**Abbildung 26:** GH basal, IGF-1 und Metabolismusparameter unter Lanreotid.

+ Berechnung von GH/oGTT aufgrund kleiner Patientenzahl nicht sinnvoll.

++ HbA1c wies unter Lanreotid keinen Unterschied auf.

## Dopaminagonisten

Die mittlere Behandlungsdauer mit DA betrug 24,2 Monate. Die Differenz der Werte vor und unter der Therapie wies bei den Parametern GH basal, IGF-1, Glukose, Triglyzeride und Prolaktin eine Reduktion auf, während die Parameter GH/oGTT und Cholesterin gesamt eine Zunahme aufwiesen. GH basal sank im Mittel um 37,4 % ( $\Delta\mu$  -2,77 ng/ml), IGF-1 um 21,9 % ( $\Delta\mu$  -105,24 ng/ml), Glukose um 14,8 % ( $\Delta\mu$  -16,00 mg/dl), Triglyzeride um 10,9 % ( $\Delta\mu$  -13,57 mg/dl) und Prolaktin um 86,9 % ( $\Delta\mu$  -29,31 ng/ml), während GH/oGTT um 118,6 % ( $\Delta\mu$  3,13 ng/ml) und Cholesterin gesamt um 0,7 % ( $\Delta\mu$  1,38 mg/dl) anstiegen. HbA1c wies unter DA keinen Unterschied auf.



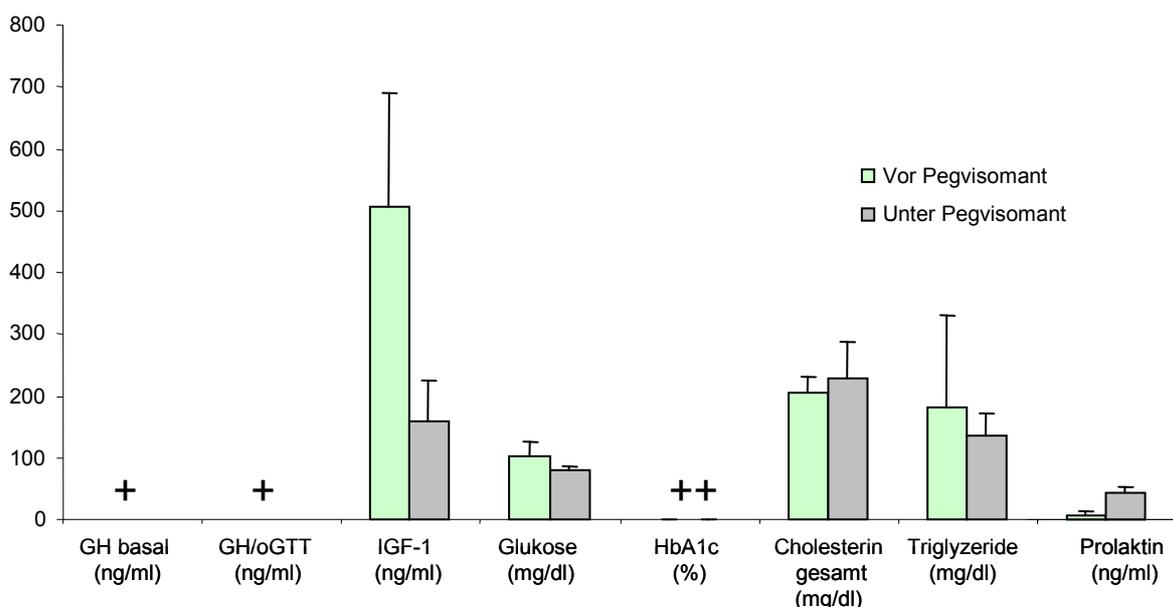
**Abbildung 27:** GH basal, GH/oGTT, IGF-1 und Metabolismusparameter unter DA.

+ HbA1c wies unter DA keinen Unterschied auf.

Die DA wiesen nur bei dem biochemischen Parameter IGF-1 einen signifikanten Effekt auf [Wilks multivariate tests of significance; effect of therapy:  $F(2,16)=3.91$ , sig of  $F=0.041$ , univariate F-tests,  $p < 0.05$ ]. Die Therapieeffekte auf die biochemischen Parameter GH basal, GH/oGTT, Glukose, HbA1c, Cholesterin gesamt, Triglyzeride und Prolaktin vor und nach der Therapie waren nicht signifikant.

## Pegvisomant

Der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant wurde bei 6 von den 57 akromegalen Patienten eingesetzt. Ein Patient konnte selbst mit der Second-Line-Therapie und der empfohlenen Dosis Pegvisomant nicht ausreichend kontrolliert werden (siehe Case Report Kap. 3.1.7). Die mittlere Behandlungsdauer der 6 Patienten mit Pegvisomant betrug 17,5 Monate und die maximale Dosis war 60 mg/d. Alle untersuchten Parameter außer Cholesterin gesamt und Prolaktin wiesen unter Pegvisomant eine Reduktion auf. IGF-1 sank im Mittel um 68,6 % ( $\Delta\mu$  -346,83 ng/ml), Glukose um 22,1 % ( $\Delta\mu$  -22,67 mg/dl), HbA1c um 0,01 % und Triglyzeride um 26,8 % ( $\Delta\mu$  -49,0 mg/dl), während Cholesterin gesamt um 11,3 % ( $\Delta\mu$  23,0 mg/dl) und Prolaktin um 684 % ( $\Delta\mu$  37,23 ng/ml) anstiegen.



**Abbildung 28:** IGF-1 und Metabolismusparameter unter Pegvisomant.

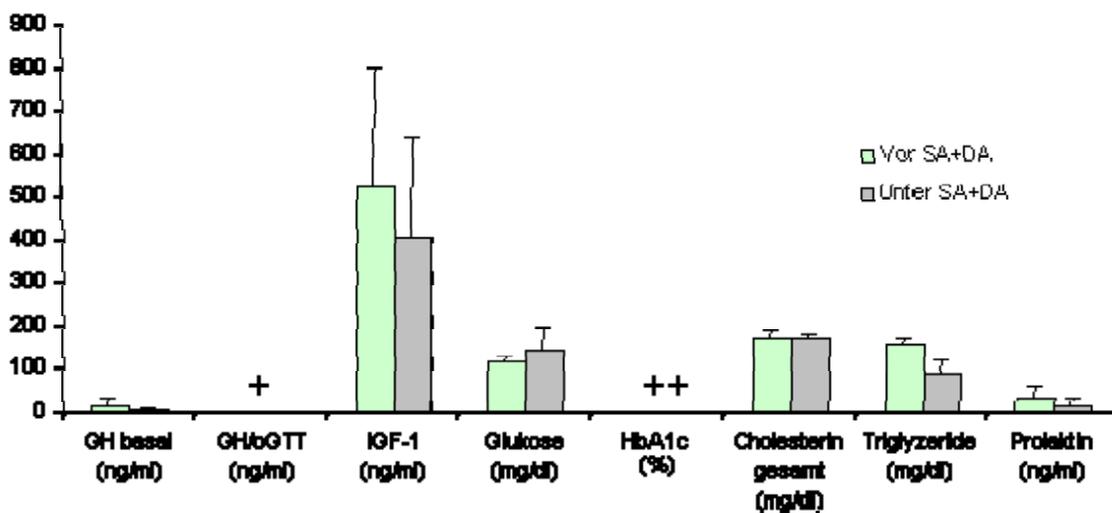
+ GH basal und GH/oGTT wurden nicht berechnet, weil sie unter Pegvisomant-Therapie nicht als Therapieparameter verwendet werden.

++ HbA1c wies im Mittel eine Reduktion um 0,01 % auf.

GH wurde unter Pegvisomant-Therapie nicht bestimmt, weil es durch den mangelnden negativen Feedback Mechanismus nach IGF-1-Senkung auf bis zu 76 % steigt (van der Lely et al., 2001). Dementsprechend stellt IGF-1 den Biomarker für die Überwachung des Therapieerfolgs unter Pegvisomant dar.

## Kombinationstherapie (SA+DA)

Die mittlere Behandlungsdauer mit einer Kombinationstherapie betrug 23 Monate. Alle untersuchten Parameter außer Glukose und Cholesterin gesamt wiesen unter der Kombinationstherapie eine Reduktion auf. GH basal sank im Mittel um 68 % ( $\Delta\mu$  -9,63 ng/ml), IGF-1 um 23,1 % ( $\Delta\mu$  -121,20 ng/ml), Triglyzeride um 43 % ( $\Delta\mu$  -68,0 mg/dl) und Prolaktin um 54 % ( $\Delta\mu$  -17,4 ng/ml), während Glukose um 21,2 % ( $\Delta\mu$  25,0 mg/dl) und Cholesterin gesamt um 1,2 % ( $\Delta\mu$  2,0 mg/dl) anstiegen. HbA1c wies unter der Kombinationstherapie keinen Unterschied auf.



**Abbildung 29:** GH basal, IGF-1 und Metabolismusparameter unter SA + DA.

+ Berechnung von GH/oGTT aufgrund kleiner Patientenzahl nicht möglich.

++ HbA1c wies unter der Kombinationstherapie keinen Unterschied auf.

### 3.1.7 Case Report eines therapieresistenten Akromegaliepatienten

Anhand eines Beispiels soll exemplarisch ein Therapieverlauf unter Berücksichtigung der biochemischen Kontrolle und metabolischer Parameter beschrieben werden. Ein 57-jähriger Patient stellte sich erstmals 1992 mit Arthrose, Kopfschmerzen, Karpaltunnelsyndrom, Schlafapnoe, Hyperhidrosis, Schmerz, Diabetes mellitus, Struma nodosa and Organomegalie beim Hausarzt vor. Es wurde die Diagnose Akromegalie mit infra- und intrasellär gelegennem Hypophysenmakroadenom mit Invasion in die Keilbeinhöhle gestellt. Präoperativ wurde er mit dem SA Octreotid behandelt (10/92-04/93), im April '93 erfolgte die 1. transsphenoidale Operation. Nach Rezidiv 1999 wurde er 3 Monate lang (01/99-04/99) mit Octreotid behandelt und es erfolgte die 2. transsphenoidale Operation (04/99). Im Anschluss daran wurde bei Restaktivität eine Kombinationstherapie mit Octreotid LAR + Bromocriptin eingeleitet und eine stereotaktisch fraktionierte Bestrahlung durchgeführt (11/00-01/01). Unter Hochdosierung von Octreotid LAR auf 30 mg / 3 Wochen + Cabergolin auf 1 mg/d litt der Patient immer noch unter schweren Stigmata der Akromegalie und der IGF-1 Wert war weiterhin erhöht. 07/03 wurde dann eine Therapie mit dem GH-Rezeptor-Antagonisten Pegvisomant mit einer Initialdosis von 10 mg/d eingeleitet. Nur unter Aufdosierung von Pegvisomant bis auf 60 mg/d (siehe Abbildung 30), normalisierte sich erstmalig der IGF-1-Wert. Der Patient litt weiterhin unter akromegalen Symptomen, sodass eine Therapie mit Octreotid LAR 20 mg / 4 Wochen und Pegvisomant 40 mg/d eingeleitet wurde.

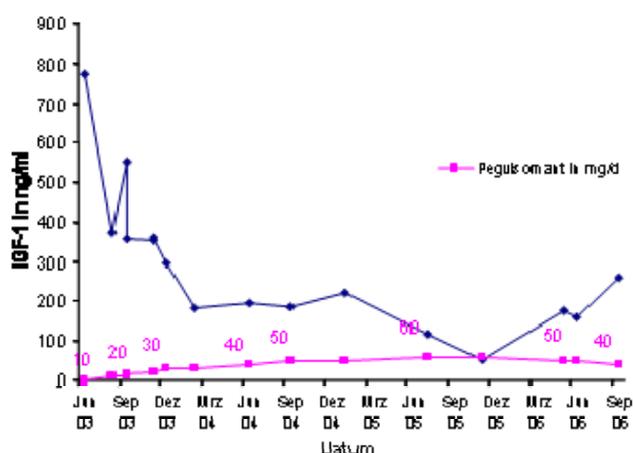


Abbildung 30: IGF-1 Verlauf unter Pegvisomant.

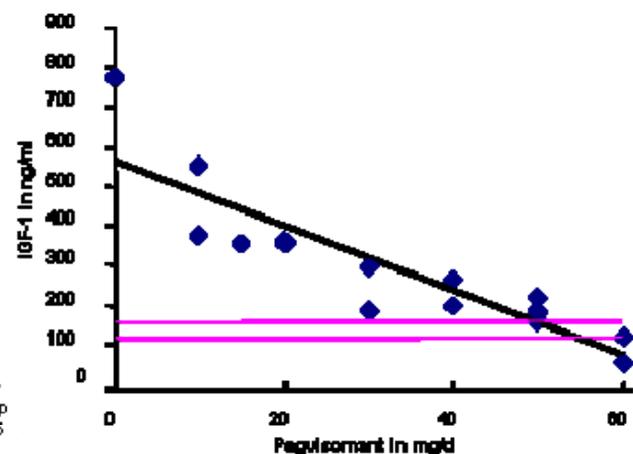
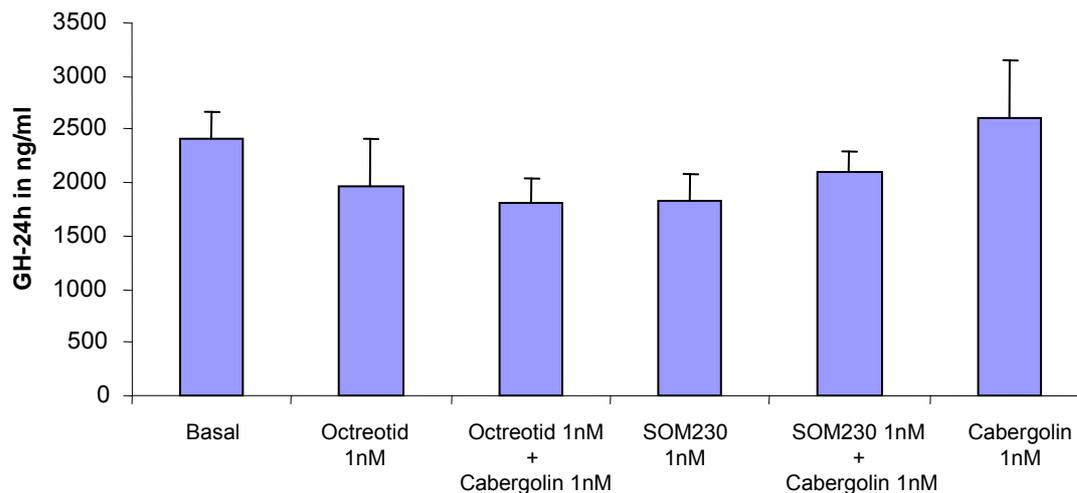


Abbildung 31: IGF-1 Korrelation mit Pegvisomantdosis ( $r=-0,88$ ). Die lila Linien stellen den alters- und geschlechtsspezifischen Normbereich dar.

## 3.2 *In vitro* Studienteil

### 3.2.1 Therapieeffekte auf die IGF-1 Produktion in HepG2 Zellen

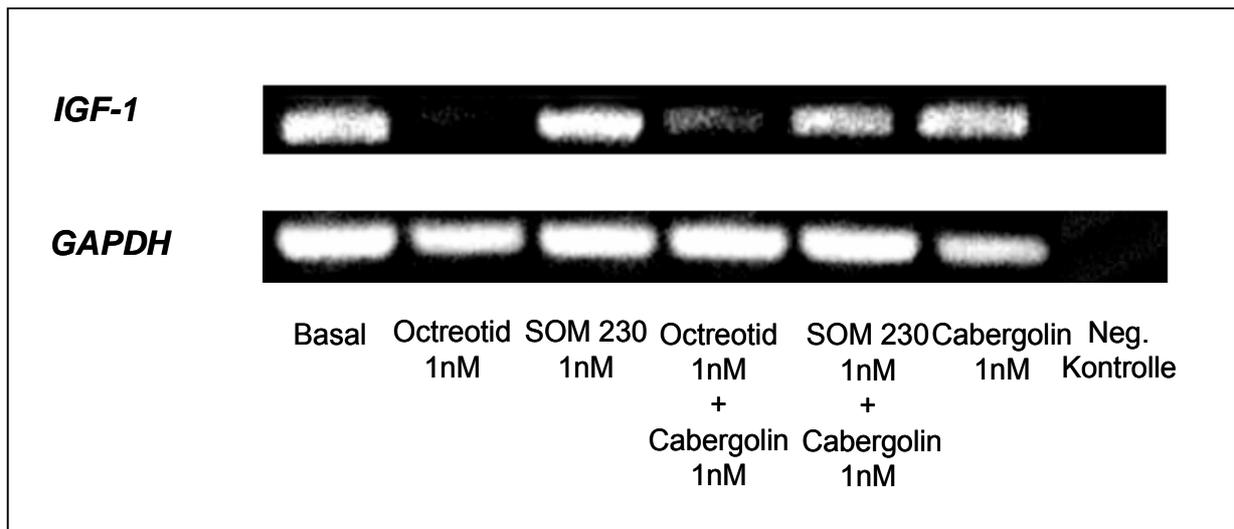
Die Therapieeffekte der beschriebenen Medikamente wurden in ihrer Wirkung auf somatotrophe Adenome *in vitro* untersucht.



**Abbildung 32:** Therapieeffekte auf die GH-Sekretion in somatotrophen Adenomen.

Sowohl die Kombinationstherapie mit Octreotid und Cabergolin als auch das neue SA SOM230 supprimierten die GH-Sekretion in somatotrophen Adenomen. Einen geringeren Effekt wiesen Octreotid und die Kombinationstherapie von SOM230 und Cabergolin auf, während Cabergolin allein keinen inhibitorischen Effekt auf die GH-Sekretion im somatotrophen Adenom bewirkte.

Aufgrund der klinischen Daten und der Differenzen der Therapieeffektivität *in vivo* bezüglich der Senkung von GH und IGF-1 studierten wir im zweiten Teil dieser Arbeit mittels RT-PCR Technik die spezifischen Effekte der medikamentösen Therapien (Octreotid, SOM230, Cabergolin und der Kombinationstherapien Octreotid + Cabergolin und SOM230 + Cabergolin) auf die IGF-1 Produktion in der Leber. Dafür diente das menschliche Hepatozytenmodell HepG2, in dem die mRNS IGF-1-Produktion untersucht worden ist.



**Abbildung 33:** RT-PCR für IGF-1 in menschlichen HepG2 Zellen.

Wir sahen, dass nur die Behandlung mit dem SA Octreotid die IGF-1 Transkription in Hepatozyten supprimierte. Trotz der Hinweise im klinischen Studienteil, sahen wir keinen spezifisch inhibitorischen Effekt von Cabergolin auf die IGF-1 Produktion. Die Kombination von Octreotid und Cabergolin bewirkte keinen zusätzlichen Effekt auf die IGF-1 Transkription. Obwohl das SA Octreotid die IGF-1 Transkription supprimierte, sahen wir diesen Effekt bei dem SA SOM230 nicht. Auch die Kombination mit Cabergolin zeigte keinen Effekt.

## **4. Diskussion**

Die in dieser Arbeit vorgestellte Untersuchung sollte Therapiepraxis- und -modalitäten sowie die Therapieeffizienz bei Akromegalie in der Neuroendokrinen Ambulanz am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München evaluieren und sie in Beziehung zu anderen Zentren setzen. Die Therapieeffekte wurden klinisch und in einer *in vitro* Studie untersucht.

Im klinischen Studienteil wurde bezüglich der Remissionsraten von Akromegalie unter den verschiedenen Therapieoptionen eine relativ niedrige postoperative Remissionsrate im Vergleich zu den aktuell in der Literatur publizierten Daten festgestellt (siehe Kap. 4.1.2). Alle Therapieoptionen erzielten eine Senkung von GH und/oder IGF-1, jedoch in verschiedenem Ausmaß. Die IGF-1-Senkung war erwartungsgemäß unter SA deutlich ausgeprägter als unter DA (siehe Kap. 4.1.3). DA riefen eine signifikante IGF-1-, aber keine signifikante Senkung des GH hervor (siehe Kap. 4.1.4). Die untersuchten Metabolismusparameter wiesen unter keiner Therapie signifikante Unterschiede auf (siehe Kap. 4.1.5). Die Therapieeffekte auf die mRNA IGF-1-Expression in der Leber zeigten, dass Octreotid die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen am stärksten supprimierte, während SOM230 keinen Effekt aufwies (siehe Kap. 4.2.2). Die Gabe von Cabergolin allein und in Kombination mit Octreotid oder SOM230 führte zu keiner Änderung der IGF-1-Expression (siehe Kap. 4.2.3).

### **4.1 Klinischer Studienteil**

#### **4.1.1 Methoden**

Der klinische Studienteil dieser Arbeit besteht aus einer retrospektiven Datenerhebung. Im Vergleich zu prospektiven Studien erlauben retrospektive Analysen die Erhebung von Ergebnissen in kürzerem Zeitraum und mit deutlich geringerem Kostenaufwand; sie basieren jedoch auf bereits erhobenen Daten, sodass wichtige Informationen fehlen können.

Die zur Verfügung stehenden Daten der einzelnen Patienten waren variabel trotz strenger Einschlusskriterien von mindestens zwei Terminen in der Ambulanz.

Patienten mit schwerwiegenden Verlaufsformen der Krankheit besuchten die endokrinologische Sprechstunde in regelmäßigeren Zeitabständen, während das Visitenintervall der unter Therapie kontrollierten Patienten deutlich länger war. Nicht alle Patienten wurden zum gleichen Zeitpunkt untersucht; deshalb wurde für jeden Patienten das Datum seiner letzten Vorstellung in der Ambulanz als letzte Untersuchung angenommen. Die Frequenz der Blutabnahmen und die Art und Frequenz der Funktionstests variierten.

Im Hinblick auf die für die Behandlung der Akromegalie eingesetzten Therapien ergab sich je nach Indikationsstellung eine ausgeprägte Variabilität bezüglich Dosierung und Behandlungszeitraum. Jeder Patient wurde gemäß des therapeutischen Algorithmus (siehe Abbildung 2) mit einer oder mit einer Kombination mehrerer Therapieoptionen behandelt. Daraus ergab sich, dass die unterschiedlichen prätherapeutischen Werte von unterschiedlichen GH/IGF-1 Ausgangsniveaus ausgingen.

Diese Vorgehensweise kann zu Fehlern führen; daher müssen die Ergebnisse dieser Studie kritisch angesehen werden. Mit den hier vorgestellten Daten sollte es zur Generierung von Hypothesen kommen, die dann in prospektiven Studien untersucht werden (Kenneth 2002).

#### **4.1.2 Postoperative Remissionsrate**

Bezüglich der transssphenoidalen Operation, die die Therapie der ersten Wahl bei Akromegalie darstellt, wiesen nur 12 von den 53 operierten Patienten postoperativ eine Normalisierung der Werte auf, was einer Remissionsrate von 23,1 % entsprach. Abhängig von der Tumorgöße betrug die Remissionsrate 25 % bei Mikro- und 20 % bei Makroadenomen.

Diese Remissionsrate ist relativ niedrig im Vergleich zu den aktuell in der Literatur publizierten Daten. In einer Studie von Nomikos et al. schwanken die Remissionsraten nach primärer, transssphenoidaler OP bei 668 akromegalen Patienten zwischen 33,3 und 74,2 % bei Makroadenomen, während sie bei Mikroadenomen 75,3 % erreichen können; unabhängig von der Tumorgöße betrug

die gesamte Remissionsrate 57,3 % (Nomikos et al., 2005). Ludecke et al. erzielten an mehr als 1000 operierten Patienten noch höhere postoperative Remissionsraten mit 95 % bei Mikro- und 68 % bei Makroadenomen (Ludecke et al., 2006). Trotzdem beobachtete Bates et al. in einer der neuesten Veröffentlichungen, dass operative Ergebnisse zwischen 22 neurochirurgischen Zentren in Großbritannien stark variieren und deutlich von der Expertise des Operateurs bzw. des Zentrums abhängen (Bates et al., 2007).

Eine mögliche Erklärung für unsere relativ niedrige operative Remissionsrate, trotz der Kooperation mit den größten, erfahrenen neurochirurgischen Zentren in Bayern, wäre die Tatsache, dass unser Zentrum als Überweisungs- bzw. Referenzzentrum von anderen Fachspezialisten dient, sodass sich in unserem Kollektiv Patienten mit schwerwiegenderen Verlaufsformen der Erkrankung („kränkere Patienten“) befinden könnten. Die biochemische Kontrolle der Akromegalie wurde außerdem in der vorliegenden Arbeit nach den strengsten und neuesten internationalen Consensus-Kriterien definiert (Giustina et al., 2000; Brabant 2003; Freda 2003). Möglicherweise liegt auch ein Publikationsbias vor, da weniger erfahrene Zentren seltener ihre Ergebnisse publizieren (Mestron et al., 2004).

#### **4.1.3 Vergleich der medikamentösen Therapieoptionen**

In der vorliegenden Studie sahen wir, dass alle medikamentösen Therapieoptionen eine biochemische Kontrolle der Akromegalie, jedoch in verschiedenem Ausmaß, hervorriefen. Die Normalisierungsraten waren von Tumorgröße und Therapieart abhängig. Der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant war die effizienteste Therapieoption mit einer Normalisierungsrate von 83,3 %. Octreotid bewirkte eine biochemische Kontrolle in 42,3 %, DA in 22,6 % und die Kombinationstherapie mit SA und DA in 16,7 % der Fälle.

Hinsichtlich der GH- und/oder IGF-1-Senkung erzielten die SA einen signifikanten Effekt. Dabei war die IGF-1-Senkung unter SA (Octreotid: 45,3 %, Lanreotid: 42,3 %) war deutlich ausgeprägter im Vergleich zu den DA (21,9 %).

Diese Ergebnisse sind mit den in der Literatur veröffentlichten Zahlen vergleichbar. Der Einsatz von SA als postoperative medikamentöse Behandlung der Akromegalie bewirkt eine GH- und IGF-1-Senkung in 80 % der Fälle und eine Normalisierung der somatotrophen Achse in 40 % bis 60 % der Fälle (Climent et al., 2007); eine Tumorschrumpfung wird in 30 % der Fälle erreicht (Muller et al., 2004). Die Tatsache, dass 10 % der Patienten kein Ansprechen auf SA zeigen, ist durch einen Mangel des Adenomgewebes an SMS-Rezeptoren und andere Faktoren zu erklären. Wir sahen zum Beispiel eine reduzierte Zac1-Genexpression der somatotrophen Adenome bei SA Non-Respondern (Theodoropoulou et al., 2007, eingereicht).

Seit den 70er Jahren werden DA in der Primärtherapie der Akromegalie eingesetzt, jedoch wird davon ausgegangen, dass sie nur in 10 % bis 35 % der Patienten effektiv sind (Liuzzi et al., 1974; Sachdev et al., 1975; Melmed et al., 2002; Ezzat 2004). In einem retrospektiven Vergleich zu Bromocriptin bewirkte Cabergolin eine IGF-1-Senkung von 46,8 % vs. 31 % (Cozzi et al., 1998). Der DA 2. Generation Quinagolid erzielte in der Studie von Colao et al. eine ähnliche GH- und IGF-1-Normalisierungsrate mit 47,8 % (Colao et al., 1997).

Der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant rief die deutlichste signifikante IGF-1-Senkung hervor. In der relevanten Literatur bewirkt Pegvisomant eine Normalisierung der somatotrophen Achse in bis zu 90 % der Fälle (Giustina et al., 2000; Trainer et al., 2000; van der Lely et al., 2001; Nomikos et al., 2005). Bei 53 mit dem Somatostatin-Depotpräparat Octreotid LAR vorbehandelten Patienten, die auf Pegvisomant umgestellt wurden, wiesen 15 Patienten schon ab die 4. Behandlungswoche nicht nur einen normalen IGF-1-Wert, sondern auch eine signifikante Senkung (-0,2 %) des HbA1c auf (Barkan et al., 2005). Zur Optimierung der Therapie hinsichtlich der Tumorschrumpfung und der finanziellen Ressourcen kann eine Kombinationstherapie mit Pegvisomant und SA eingeleitet werden (Feenstra et al., 2005; Jorgensen et al., 2005).

Bei der Kombinationstherapie mit SA und DA sahen wir sowohl eine GH- als auch eine IGF-1-Senkung, die jedoch nicht signifikant waren. In der Studie von Flogstad et al. erzielte die Kombination von Octreotid und Bromocriptin eine IGF-1-Senkung von 64 % bei einer Behandlungsdauer von 42 Tagen, während Marzullo et al., 1999 eine

signifikante GH- und IGF-1-Suppression unter Lanreotid und Cabergolin (n=10) feststellte (Flogstad et al., 1994; Marzullo et al., 1999). In einer prospektiven Studie (n=19) von Cozzi et al. wies unter SA und Cabergolin 42 % der Patienten eine IGF-1-Normalisierung und 21 % einen GH-Wert < 2,5 ng/ml auf (Cozzi et al., 2004). Die zusätzliche Gabe eines DA zu 120 mit SA vorbehandelten Patienten reduzierte bei 9 Patienten GH- und IGF-1-Werte um 36 % und 35 % entsprechend (Selvarajah et al., 2005).

#### **4.1.4 Effekte der DA auf GH und IGF-1**

Die dopaminagonistische Therapie rief bei den Patienten eine signifikante IGF-1-ohne signifikante GH-Senkung hervor ( $p < 0.05$ ).

Der Wirkmechanismus von Dopaminagonisten in der gesunden Hypophyse beruht darauf, die GH-Sekretion aus dem HVL über den D2-Rezeptor zu stimulieren. Interessanterweise bewirken Dopaminagonisten bei einem somatotrophen Adenom die Inhibition der GH-Sekretion.

Ausgehend von dem beschriebenen Mechanismus wäre unter dopaminagonistischer Therapie eine GH-Suppression und in der Folge eine IGF-1-Senkung zu erwarten. Melmed berichtete von einem vergleichbaren Prozentsatz (< 15 %) bezüglich der Normalisierung von GH und IGF-1 unter DA (Melmed 2006). Eine weitere Analyse von Abs et al. wies ebenso auf ähnliche Normalisierungsraten von GH und IGF-1 unter Cabergolin hin (Abs et al., 1998).

Um zu untersuchen, inwieweit DA und die anderen medikamentösen Therapien einen unabhängigen Effekt auf die IGF-1-Produktion in der Leber haben, untersuchten wir die *in vitro* Effekte dieser Substanzen auf Hep2 Zellen (siehe Kap. 4.2).

#### **4.1.5 Metabolismusparameter**

Die in der vorliegenden Studie untersuchten Metabolismusparameter (Glukose, HbA1c, Cholesterin, Triglyzeride) wiesen unter den verschiedenen Therapieoptionen

keine signifikanten Unterschiede vor und unter Therapie auf. Es zeigten sich jedoch Tendenzen, die in der Zukunft durch weitere Subgruppenanalysen und prospektive Studien untersucht werden.

Als Tendenz sahen wir, dass alle Therapien, außer Octreotid und der Kombinationstherapie mit Octreotid und DA, einen positiven Effekt auf den Glukosemetabolismus (Glukose, HbA1c) bewirkten.

Van der Lely et al. zeigte, dass die langfristige Behandlung mit Pegvisomant Nüchtern-Plasma-Glukose- und Insulin-Spiegel senkt und dadurch die Insulinempfindlichkeit bei Akromegalen verbessert (van der Lely et al., 2001). In einer Studie von Colao et al. an 16 mit Pegvisomant behandelten Patienten wurde ebenso eine signifikante Senkung von Glukose-, Insulinspiegeln und HOMA-Index nach Therapie festgestellt (Colao et al., 2006).

Unter Octreotid sahen wir eine Steigerung des Nüchtern-Glukosespiegels im Plasma. SA supprimieren einerseits die GH-Sekretion; andererseits inhibieren sie jedoch die TSH-, Insulin- und Glukagonsekretion. Bereits Koop et al. konnten eine signifikante Verschlechterung der Glukosetoleranz unter Octreotid zeigen, wobei sich das weibliche Geschlecht und erhöhte basale Insulinspiegel als zusätzliche Risikofaktoren für die Entwicklung eines Diabetes mellitus erwiesen (Koop et al., 1994). Ein ähnliches Ergebnis lieferte die Studie von Drake et al., die eine Verbesserung von Insulinspiegeln und Glukosetoleranz bei 7 Patienten, die von Octreotid-Depot auf Pegvisomant umgestellt wurden, dokumentierte (Drake et al., 2003).

Andererseits zeigte sich in unserem Patientenkollektiv unter Octreotid tendenziell eine positive Wirkung auf den Cholesterinspiegel. Pegvisomant führte, wie auch bereits in prospektiven Studien beschrieben, zu einer Hypercholesterinämie. Unter den restlichen Therapieoptionen sahen wir nur geringgradige Änderungen des Cholesterinspiegels. Bezüglich der Triglyzeride verursachten beide eingesetzten SA einen Anstieg der Werte im Gegensatz zu den anderen Therapieoptionen.

Diese Beobachtung bestätigt das Ergebnis von Arosio et al.; eine 3-monatige Behandlung mit Octreotid 100 µg/d bei 20 Patienten führte zu einer signifikanten Erhöhung des HDL-Cholesterins und zur Senkung von LDL-Cholesterin sowie Lipoprotein (a) (Arosio et al., 2000). Tan et al. dokumentierten nach 12-wochiger Octreotidgabe ein ähnliches Ergebnis mit signifikanter Senkung der Triglyzeride- und LDL-Spiegel und Anstieg von HDL-Cholesterin (Tan et al., 2003).

Unter Pegvisomant-Therapie wurde bisher eher eine Verschlechterung des Lipidstoffwechsels beobachtet. Bei 20 akromegalen Patienten, die unter Pegvisomant-Therapie eine Normalisierung vom Serum-IGF-1 erzielten, stieg das Gesamtcholesterin an (Parkinson et al., 2002). In der Open-Label-Langzeitstudie von Sesnilo et al. ergab sich ebenso ein signifikanter Anstieg von Cholesterin gesamt und Triglyzeriden unter Pegvisomant (Sesnilo et al., 2002).

#### **4.1.6 Nebenaspekte**

##### **Geschlechtsverteilung**

Aus dem vorliegenden Patientenkollektiv ergibt sich ein Verhältnis von Frauen zu Männern von 2:1. Holdaway et al. geben trotz gewisser Variabilität eine eher gleiche Geschlechtsverteilung der Erkrankung an (Holdaway et al., 1999). In der Studie von Mindermann et al. ergab sich eine höhere Prävalenz von GH-produzierenden Adenomen bei Männern (Mindermann et al., 1994). Ein ähnliches Ergebnis zur vorliegenden Untersuchung lieferte die Studie von Etxabe et al. in Vizcaya, Spanien, wobei Akromegalie mit einer Rate von 1.8:1 häufiger bei Frauen (n=48) als bei Männern (n=26) auftrat (Etxabe et al., 1993). Im Gegensatz zu den bisher publizierten Studien ist in unserem Kollektiv damit ein erhöhter Frauenanteil zu verzeichnen, der jedoch am ehesten im Rahmen der Varianz erklärlich ist.

##### **Stereotaktisch fraktionierte Radiatio vs. Gammaknife / Cyberknife**

Im Hinblick auf die postoperative Bestrahlung, wiesen 12,5 % der Patienten nach stereotaktisch fraktionierter Radiatio und 28,6 % der Patienten nach Gammaknife

oder Cyberknife eine Normalisierung der Werte zum letzten Untersuchungszeitpunkt auf. Dabei betrug die mittlere Follow-up-Zeit nach Bestrahlung 24 Monate.

Unsere Ergebnisse liegen im Rahmen der bisher veröffentlichten Daten. Alle bisher publizierten Studien dokumentieren eine langsame Reduktion des GH-Exzesses, die ein Maximum im ersten Jahr nach der Behandlung erreicht (30 - 50 %) und langfristig mit einer mittleren Rate von 10 - 15 % fortgesetzt wird (Monson 2006). Abhängig von der angewendeten Methode schwanken die Remissionsraten zwischen 48 und 80 % (Giustina et al., 2000; Nomikos et al., 2005). In der retrospektiven Analyse von Jenkins et al. an 884 stereotaktisch fraktioniert bestrahlten akromegalen Patienten wiesen 22 % der Patienten 2 Jahre, 60 % der Patienten 10 Jahre und 77 % der Patienten 20 Jahre nach Radiatio einen GH-Wert  $< 2,5$  ng/ml auf (Jenkins et al., 2006).

Bezüglich der Frage, ob eine Gammaknife Bestrahlung einen Vorteil gegenüber der konventionellen Bestrahlung hat, konnten Gutt et al. einen normalen altersspezifischen IGF-1-Wert bei 48 % der 44 bestrahlten akromegalen Patienten durchschnittlich 1,9 Jahre nach der Behandlung zeigen (Gutt et al., 2005). In der Studie von Roberts et al. ergab sich eine komplette biochemische Remission ebenso bei 44,4 % des Patientenkollektivs nach einer mittleren Follow-up-Zeit von 25,4 Monaten (Roberts et al., 2007). 5 Jahre nach radiochirurgischer Behandlung sollte keine weitere Operation bzw. Radiotherapie erfolgen, da sich GH- und IGF-1-Werte über diesen Zeitraum weiterhin normalisieren lassen (Pollock et al., 2007). Daraus lässt sich schließen, dass es eventuell nach Abwarten einer längeren Follow-up-Zeit auch im vorliegenden Patientenkollektiv mit einer höheren Effektivität der Bestrahlungstherapie zu rechnen ist.

### **Effekt der Therapien auf den Prolaktinspiegel**

Dopaminagonisten allein als auch in Kombination mit SA verursachten erwartungsgemäß eine deutliche Senkung des Prolaktinspiegels, was auf die physiologisch inhibitorische Kontrolle der Prolaktinsekretion durch das hypothalamische Dopamin zurückzuführen ist. Das war postoperativ ebenso der Fall.

Der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant führte interessanterweise zu einer Hyperprolaktinämie, die jedoch aufgrund der kleinen Patientenzahl nicht auf Signifikanz getestet wurde. Eine ähnliche Beobachtung ist in der bisherigen Literatur nicht beschrieben und sollte eventuell in zukünftigen Arbeiten untersucht werden.

### **Effekt der Sexualhormone (Östrogene) auf die GH-IGF-1-Achse**

Bei der Erstdiagnose wiesen die Frauen im Vergleich zu den Männern im Mittel einen höheren Wert für GH und einen niedrigeren Wert für IGF-1 auf.

Der Einfluss von Sexualhormonen, insbesondere Östrogenen, auf die GH-IGF-1-Achse wurde bereits in mehreren Studien untersucht. Gesunde Männer produzieren nur etwa ein Drittel der Menge an GH wie Frauen, weisen trotzdem weitestgehend ähnliche Serum IGF-1-Spiegel auf, was auf eine relative GH-Resistenz bei Frauen hindeutet (Parkinson et al., 2001). Die potentielle Rolle der Östrogene in der Regulation der somatotrophen Achse bei gesunden Erwachsenen wird außerdem durch die Tatsache gestützt, dass der altersentsprechende Abfall von GH und IGF-1 mit den rückläufigen Östrogenspiegeln korreliert (Ho et al., 1996). Im Falle einer Akromegalie stellte Parkinson et al. anhand von 60 Patienten eine signifikante lineare Korrelation zwischen Serum IGF-1- und  $\log_{10}$  GH-Spiegeln fest, wobei Frauen niedrigere IGF-1-Spiegel bei gleichem GH im Vergleich zu Männern hatten (Parkinson et al., 2002).

### **Körperliche Untersuchung**

Die Parameter der körperlichen Untersuchung (Größe, Gewicht, BMI), sowie die Vitalparameter ( $R_{\text{sys}}$ ,  $R_{\text{dia}}$ , Puls) wiesen unter den verschiedenen Therapieoptionen keine signifikanten Unterschiede vor und nach Therapie auf. Im Rahmen einer prospektiven Studie untersuchen wir derzeit genauere Parameter wie z. B. Hüfte-, Tailleumfänge vor und nach Therapie, um eventuelle Veränderungen der Körperkomposition unter den verschiedenen Therapien zu dokumentieren.

## 4.2 *In vitro* Studienteil

### 4.2.1 Methoden

Zellkulturen stellen eine Methode dar, um das Verhalten von Zellen unter standardisierten Bedingungen beobachten zu können. Dabei hat sich die Prämisse *in vitro* vor *in vivo* in den vergangenen Jahren nicht zuletzt deshalb durchgesetzt, um die Belastung der experimentellen Prozedur für das Tier oder den Menschen zu minimieren.

Der Vorteil der Zellkultur besteht in der Kontrollierbarkeit des physikalisch-chemischen Milieus und des kontrollierten Zusatzes von Faktoren und Stimuli ohne den systemischen Einfluss des Organismus berücksichtigen zu müssen.

Zellen von etablierten Linien werden dann eingesetzt, wenn rasch wachsende Zellen benötigt werden. Die in dieser Arbeit verwendeten HepG2 Zellen, die von einem Hepatoblastom des Menschen stammen, stellen die am weitesten verbreitete menschliche Leberzelllinie dar. Aufgrund ihres hohen Anteils an Organellen eignen sie sich gut, die sekretorische Funktion primärer Hepatozyten darzustellen. Im Gegensatz zu den Zellkulturen primärer Hepatozyten, die mit größerem technischen Aufwand aus dem Organismus isoliert werden müssen und somit spezifische Kulturbedingungen verlangen, können HepG2 Zellen in Standardmedien kultiviert werden und zeichnen sich durch ein schnelles Wachstum aus.

Grundsätzlich gilt jedoch, dass jede noch so optimale Kultur ihre Grenzen hat. Die Möglichkeit der spezifischen Untersuchung einer Zellpopulation ist gleichzeitig auch ihre Einschränkung; organspezifische sowie systemische Interaktionen müssen unberücksichtigt bleiben.

#### **4.2.2 Effekte von Octreotid und SOM230 auf die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen**

Wir beobachteten, dass die Behandlung mit dem SA Octreotid die mRNA IGF-1-Produktion in menschlichen HepG2 Zellen supprimierte, während das neue SA SOM230 keinen Effekt aufwies.

Dieser Unterschied ist möglicherweise durch die verschiedenen Bindungsaffinitäten zu erklären. Octreotid bindet hauptsächlich an die SSTR2 und weniger an die SSTR3 und SSTR5, während das neue Analogon Pasireotid (SOM230) eine hohe Affinität zu den SSTR1, 2, 3 und 5 zeigt. Dabei spielen SSTR1 und 2 eine Rolle in der Zellproliferation, SSTR3 in der Apoptose und SSTR4 und 5 in der Hormonsekretion. In der Hypophyse werden alle Somatostatinrezeptorsubtypen außer SSTR4 exprimiert, während in der Leber nur SSTR1 exprimiert werden. Bei GH-produzierenden Hypophysenadenomen werden vor allem SSTR5 und 2 und weniger SSTR1 und 3 exprimiert.

Murray et al. beobachteten eine dosisabhängige mRNA IGF-1-Suppression unter Octreotid in Rattenhepatozyten (Murray et al., 2004), während Liu et al. antiproliferative und apoptotische Effekte von Octreotid in HepG2 Zellen beschrieben (Liu et al., 2004).

Das neue SA mit hoher Affinität für die SSTR 1, 2, 3 und 5 Pasireotid (SOM230) erwies sich in mehreren Studien sowohl *in vivo* als auch *in vitro* als effektiver bezüglich der GH-Senkung im Vergleich zu Octreotid (Bruns et al., 2002; Hofland et al., 2005; van der Hoek et al., 2005). Die fehlende IGF-1-Suppression in HepG2 Zellen unter SOM230 trotz Expressierung von SSTR1 ist derzeit nicht erklärbar.

#### **4.2.3 Effekte von Cabergolin auf die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen**

Die Gabe von Cabergolin allein und in Kombination mit Octreotid oder SOM230 führte zu keiner Änderung der IGF-1-Expression in HepG2 Zellen.

Der Effekt von Cabergolin auf die GH-Sekretion in der Hypophyse im Falle eines somatotrophen Adenoms ist sowohl *in vivo* als auch *in vitro* beschrieben (siehe Kap. 4.1.4). Die Wirkung von DA auf die mRNA IGF-1-Produktion in der Leber wurde unseres Wissens nach bisher nicht untersucht.

Rocheville et al. berichteten, dass G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR) verschiedener Familien wie z. B. SA- und DA-Rezeptoren als Hetero-Oligomere mit erhöhter funktioneller Aktivität interagieren können (Rocheville et al., 2000). Das D2R-SSTR5 Oligomer ist dabei durch größere Affinität zu beiden Liganden, als auch durch verstärktes G-Protein coupling mit der Adenylyl Cyclase charakterisiert. Daher könnte man davon ausgehen, dass eine Kombinationstherapie einen verstärkten Effekt hat, der über die Einzeleffekte hinausgeht.

In unseren Experimenten führte Cabergolin weder alleine und noch in Kombination mit Octreotid oder SOM230 zu einer Änderung der IGF-1-Expression in HepG2 Zellen. Es ist daher im Gegensatz zu dem Octreotideffekt nicht von einem unabhängigen oder zusätzlich positiven Effekt auf die IGF-1 Produktion beim akromegalen Patienten auszugehen.

### **4.3 Ausblick**

Es gibt zahlreiche Studien zur Effektivität einzelner Therapien der Akromegalie. In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass in Zukunft neben der Wirkung auch das Nebenwirkungsprofil sowie andere Faktoren wie Wirtschaftlichkeit und Applikation / Compliance eine wichtige Rolle für die Therapieentscheidung spielen werden. In der vorliegenden Studie haben wir Wirksamkeit und Nebenwirkungen in unserem Patientenkollektiv untersucht und mit publizierten Daten in Beziehung gesetzt. In einem zweiten Teil haben wir begonnen, periphere Effekte der Medikation, also adenomunabhängige Effekte auf den restlichen Organismus (IGF-1-Produktion in der Leber / Metabolismus) zu beleuchten.

Wir sahen, dass alle Therapieoptionen zu einer Senkung von GH und / oder IGF-1 in unterschiedlichem Ausmaß führten. Die Effizienz von Kombinationstherapien wird derzeit in großen klinischen Studien untersucht. Veränderungen der Metabolismus-

parameter sind wahrscheinlich, werden jedoch von uns in prospektiven Studien weiter untersucht.

Die in dieser Arbeit aufgeführten Untersuchungsergebnisse sollen dem besseren Verständnis der heutzutage in der Akromegalie eingesetzten Therapieoptionen in Bezug auf biochemische Kontrolle und Metabolismusparameter dienen und möglicherweise wichtige prognostische Kriterien identifizieren. Um die Gültigkeit dieser Ergebnisse und vor allem die daraus resultierenden Empfehlungen für die Patientenversorgung zu validieren, sind Datenanalysen an größeren Patientenkollektiven erforderlich.

## 5. Zusammenfassung

Die Akromegalie, eine eher seltene endokrinologische Erkrankung, ist mit einer Vielzahl von Komorbiditäten assoziiert. Gegenüber einer altersentsprechenden Vergleichsgruppe liegt ein erhöhtes Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko vor, wenn keine biochemische Kontrolle des GH/IGF-1 Exzesses durch geeignete therapeutische Maßnahmen erreicht wird.

Ziel dieser Arbeit war es, Therapiepraxis- und -modalitäten sowie die Therapieeffizienz bei Akromegalie in unserer Ambulanz am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München im Beobachtungszeitraum zwischen Januar 1992 und März 2006 zu untersuchen. Die Voraussetzung dafür bot die retrospektive Analyse der vollständigen Daten von 57 akromegalen Patienten. Zusätzlich wurden die Therapieeffekte *in vitro* auf die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen untersucht.

Aus dem klinischen Teil dieser Arbeit ergab sich eine relativ niedrige postoperative Remissionsrate in unserem Zentrum im Vergleich zu den aktuell in der Literatur publizierten Daten. Alle eingesetzten Therapieoptionen erzielten eine Senkung der biochemischen Parameter GH und IGF-1, jedoch in verschiedenem Ausmaß. SA bewirkten erwartungsgemäß eine deutlich ausgeprägtere IGF-1-Senkung als DA. DA bewirkten eine signifikante IGF-1-, aber keine signifikante Senkung des GH. Die untersuchten Metabolismusparameter wiesen unter keiner Therapie signifikante Unterschiede auf.

Im Rahmen des durchgeführten *in vitro* Studienteils zeigten die Therapieeffekte auf die mRNA-Expression in der Leber, dass Octreotid die IGF-1-Produktion in HepG2 Zellen am stärksten supprimierte, während SOM230 keinen Effekt aufwies. Die Gabe von Cabergolin allein und in Kombination mit Octreotid oder SOM230 führte zu keiner Änderung der IGF-1-Expression.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die unterschiedlichen Therapieoptionen der Akromegalie wahrscheinlich unabhängige Wirkungen auf Adenom (Hypophyse), IGF-1 (Leber) und periphere Gewebe aufweisen. Nach unserer Kenntnis ist dies die erste Arbeit, die die Effekte der unterschiedlichen medikamentösen Therapien auf

Leberzellen verglichen hat. Unterschiedliche Effekte auf die IGF-1-Senkung bei akromegalen Patienten könnten darauf zurückzuführen sein. Diese unterschiedlichen Therapieeffekte auf Leber und periphere Gewebe wie z. B. Adipozyten sind möglicherweise auch für die Änderung der metabolischen Parameter entscheidend. Die genauen Wirkmechanismen sind noch nicht verstanden und daher Gegenstand weiterer Forschung in unserer Arbeitsgruppe.

## Anhang

### Literaturverzeichnis

- Abs R, Verhelst J, Maiter D, Van Acker K, Nobels F, Coolens JL, Mahler C, Beckers A (1998). "Cabergoline in the treatment of acromegaly: a study in 64 patients." *J Clin Endocrinol Metab* **83**(2): 374-8.
- Arosio M, Sartore G, Rossi CM, Casati G, Faglia G, Manzato E (2000). "LDL physical properties, lipoprotein and Lp(a) levels in acromegalic patients. Effects of octreotide therapy. Italian Multicenter Octreotide Study Group." *Atherosclerosis* **151**(2): 551-7.
- Barkan AL, Burman P, Clemmons DR, Drake WM, Gagel RF, Harris PE, Trainer PJ, van der Lely AJ, Vance ML (2005). "Glucose homeostasis and safety in patients with acromegaly converted from long-acting octreotide to pegvisomant." *J Clin Endocrinol Metab* **90**(10): 5684-91.
- Bates PR, Carson MN, Trainer PJ, Wass JA (2007). "Wide variation in surgical outcomes for acromegaly in the UK." *Clin Endocrinol (Oxf)*.
- Bevan JS (2005). "Clinical review: The antitumoral effects of somatostatin analog therapy in acromegaly." *J Clin Endocrinol Metab* **90**(3): 1856-63.
- Bevan JS, Atkin SL, Atkinson AB, Bouloux PM, Hanna F, Harris PE, James RA, McConnell M, Roberts GA, Scanlon MF, Stewart PM, Teasdale E, Turner HE, Wass JA, Wardlaw JM (2002). "Primary medical therapy for acromegaly: an open, prospective, multicenter study of the effects of subcutaneous and intramuscular slow-release octreotide on growth hormone, insulin-like growth factor-I, and tumor size." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(10): 4554-63.
- 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.
- Bruns C, Lewis I, Briner U, Meno-Tetang G, Weckbecker G (2002). "SOM230: a novel somatostatin peptidomimetic with broad somatotrophin release inhibiting factor (SRIF) receptor binding and a unique antiseecretory profile." *Eur J Endocrinol* **146**(5): 707-16.
- Clemmons DR, Chihara K, Freda PU, Ho KK, Klibanski A, Melmed S, Shalet SM, Strasburger CJ, Trainer PJ, Thorner MO (2003). "Optimizing control of

- acromegaly: integrating a growth hormone receptor antagonist into the treatment algorithm." *J Clin Endocrinol Metab* **88**(10): 4759-67.
- Climent V, Marin F, Pico A (2007). "Pharmacologic therapy in growth hormone disorders and the heart." *Curr Med Chem* **14**(13): 1399-407.
- Colao A, Ferone D, Marzullo P, Di Sarno A, Cerbone G, Sarnacchiaro F, Cirillo S, Merola B, Lombardi G (1997). "Effect of different dopaminergic agents in the treatment of acromegaly." *J Clin Endocrinol Metab* **82**(2): 518-23.
- 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, Auriemma RS, De Martino MC, Bidlingmaier M, Briganti F, Tortora F, Burman P, Kourides IA, Strasburger CJ, 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.
- Cozzi R, Attanasio R, Barausse M, Dallabonzana D, Orlandi P, Da Re N, Branca V, Oppizzi G, Gelli D (1998). "Cabergoline in acromegaly: a renewed role for dopamine agonist treatment?" *Eur J Endocrinol* **139**(5): 516-21.
- Cozzi R, Attanasio R, Grottoli S, Pagani G, Loli P, Gasco V, Pedroncelli AM, Montini M, Ghigo E (2004). "Treatment of acromegaly with SS analogues: should GH and IGF-I target levels be lowered to assert a tight control of the disease?" *J Endocrinol Invest* **27**(11): 1040-7.
- Cozzi R, Montini M, Attanasio R, Albizzi M, Lasio G, Lodrini S, Doneda P, Cortesi L, Pagani G (2006). "Primary treatment of acromegaly with octreotide LAR: a long-term (up to nine years) prospective study of its efficacy in the control of disease activity and tumor shrinkage." *J Clin Endocrinol Metab* **91**(4): 1397-403.
- Drake WM, Rowles SV, Roberts ME, Fode FK, Besser GM, Monson JP, Trainer PJ (2003). "Insulin sensitivity and glucose tolerance improve in patients with acromegaly converted from depot octreotide to pegvisomant." *Eur J Endocrinol* **149**(6): 521-7.
- Etxabe J, Gaztambide S, Latorre P, Vazquez JA (1993). "Acromegaly: an epidemiological study." *J Endocrinol Invest* **16**(3): 181-7.

- Ezzat S (2004). "Pharmacological approach to the treatment of acromegaly." *Neurosurg Focus* **16**(4): E3.
- Feenstra J, de Herder WW, ten Have SM, van den Beld AW, Feelders RA, Janssen JA, van der Lely AJ (2005). "Combined therapy with somatostatin analogues and weekly pegvisomant in active acromegaly." *Lancet* **365**(9471): 1644-6.
- Flogstad AK, Halse J, Grass P, Abisch E, Djoseland O, Kutz K, Bodd E, Jervell J (1994). "A comparison of octreotide, bromocriptine, or a combination of both drugs in acromegaly." *J Clin Endocrinol Metab* **79**(2): 461-5.
- Freda PU (2003). "How effective are current therapies for acromegaly?" *Growth Horm IGF Res* **13 Suppl A**: S144-51.
- Giustina A, Barkan A, Casanueva FF, Cavagnini F, Frohman L, Ho K, Veldhuis J, Wass J, Von Werder K, Melmed S (2000). "Criteria for cure of acromegaly: a consensus statement." *J Clin Endocrinol Metab* **85**(2): 526-9.
- Growth Hormone Research Society, Pituitary Society (2004). "Biochemical assessment and long-term monitoring in patients with acromegaly: statement from a joint consensus conference of the Growth Hormone Research Society and the Pituitary Society." *J Clin Endocrinol Metab* **89**(7): 3099-102.
- Gutt B, Wowra B, Alexandrov R, Uhl E, Schaaf L, Stalla GK, 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.
- Hardy J (1979). "The transsphenoidal surgical approach to the pituitary." *Hosp Pract* **14**(6): 81-9.
- Ho KK, O'Sullivan AJ, Weissberger AJ, Kelly JJ (1996). "Sex steroid regulation of growth hormone secretion and action." *Horm Res* **45**(1-2): 67-73.
- Hofland LJ, van der Hoek J, Feelders R, van der Lely AJ, de Herder W, Lamberts SW (2005). "Pre-clinical and clinical experiences with novel somatostatin ligands: advantages, disadvantages and new prospects." *J Endocrinol Invest* **28**(11 Suppl International): 36-42.
- Holdaway IM, Rajasoorya C (1999). "Epidemiology of acromegaly." *Pituitary* **2**(1): 29-41.
- Jenkins PJ, Bates P, Carson MN, Stewart PM, Wass JA (2006). "Conventional pituitary irradiation is effective in lowering serum growth hormone and insulin-

- like growth factor-I in patients with acromegaly." *J Clin Endocrinol Metab* **91**(4): 1239-45.
- Jorgensen JO, Feldt-Rasmussen U, Frystyk J, Chen JW, Kristensen LO, 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.
- Kenneth RJ (2002). *Epidemiology, an Introduction*.
- Koop BL, Harris AG, Ezzat S (1994). "Effect of octreotide on glucose tolerance in acromegaly." *Eur J Endocrinol* **130**(6): 581-6.
- Kopchick JJ, Parkinson C, Stevens EC, Trainer PJ (2002). "Growth hormone receptor antagonists: discovery, development, and use in patients with acromegaly." *Endocr Rev* **23**(5): 623-46.
- Liu HL, Huo L, Wang L (2004). "Octreotide inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells." *Acta Pharmacol Sin* **25**(10): 1380-6.
- Liuzzi A, Chiodini PG, Botalla L, Cremascoli G, Muller EE, Silvestrini F (1974). "Decreased plasma growth hormone (GH) levels in acromegalics following CB 154(2-Br-alpha ergocryptine) administration." *J Clin Endocrinol Metab* **38**(5): 910-2.
- Losa M, Mortini P, Urbaz L, Ribotto P, Castrignano T, Giovanelli M (2006). "Presurgical treatment with somatostatin analogs in patients with acromegaly: effects on the remission and complication rates." *J Neurosurg* **104**(6): 899-906.
- Ludecke DK, Abe T (2006). "Transsphenoidal microsurgery for newly diagnosed acromegaly: a personal view after more than 1,000 operations." *Neuroendocrinology* **83**(3-4): 230-9.
- Marzullo P, Ferone D, Di Somma C, Pivonello R, Filippella M, Lombardi G, Colao A (1999). "Efficacy of combined treatment with lanreotide and cabergoline in selected therapy-resistant acromegalic patients." *Pituitary* **1**(2): 115-20.
- Melmed S (2006). "Medical progress: Acromegaly." *N Engl J Med* **355**(24): 2558-73.
- Melmed S, Vance ML, Barkan AL, Bengtsson BA, Kleinberg D, Klibanski A, Trainer PJ (2002). "Current status and future opportunities for controlling acromegaly." *Pituitary* **5**(3): 185-96.

- Mestron A, Webb SM, Astorga R, Benito P, Catala M, Gaztambide S, Gomez JM, Halperin I, Lucas-Morante T, Moreno B, Obiols G, de Pablos P, Paramo C, Pico A, Torres E, Varela C, Vazquez JA, Zamora J, Albareda M, Gilabert M (2004). "Epidemiology, clinical characteristics, outcome, morbidity and mortality in acromegaly based on the Spanish Acromegaly Registry (Registro Espanol de Acromegalia, REA)." *Eur J Endocrinol* **151**(4): 439-46.
- Mindermann T, Wilson CB (1994). "Age-related and gender-related occurrence of pituitary adenomas." *Clin Endocrinol (Oxf)* **41**(3): 359-64.
- Monson JP (2006). "Is there still a role for radiotherapy in acromegaly?" *Neuroendocrinology* **83**(3-4): 269-73.
- Muller AF, Van Der Lely AJ (2004). "Pharmacological therapy for acromegaly: a critical review." *Drugs* **64**(16): 1817-38.
- Murray RD, Kim K, Ren SG, Chelly M, Umehara Y, Melmed S (2004). "Central and peripheral actions of somatostatin on the growth hormone-IGF-I axis." *J Clin Invest* **114**(3): 349-56.
- Newman CB, Melmed S, George A, Torigian D, Duhaney M, Snyder P, Young W, Klibanski A, Molitch ME, Gagel R, Sheeler L, Cook D, Malarkey W, Jackson I, Vance ML, Barkan A, Frohman L, Kleinberg DL (1998). "Octreotide as primary therapy for acromegaly." *J Clin Endocrinol Metab* **83**(9): 3034-40.
- Nomikos P, Buchfelder M, Fahlbusch R (2005). "The outcome of surgery in 668 patients with acromegaly using current criteria of biochemical 'cure'." *Eur J Endocrinol* **152**(3): 379-87.
- Parkinson C, Drake WM, Wieringa G, Yates AP, Besser GM, Trainer PJ (2002). "Serum lipoprotein changes following IGF-I normalization using a growth hormone receptor antagonist in acromegaly." *Clin Endocrinol (Oxf)* **56**(3): 303-11.
- Parkinson C, Renehan AG, Ryder WD, O'Dwyer ST, Shalet SM, Trainer PJ (2002). "Gender and age influence the relationship between serum GH and IGF-I in patients with acromegaly." *Clin Endocrinol (Oxf)* **57**(1): 59-64.
- Parkinson C, Ryder WD, Trainer PJ (2001). "The relationship between serum GH and serum IGF-I in acromegaly is gender-specific." *J Clin Endocrinol Metab* **86**(11): 5240-4.

- Pollock BE, Jacob JT, Brown PD, Nippoldt TB (2007). "Radiosurgery of growth hormone-producing pituitary adenomas: factors associated with biochemical remission." *J Neurosurg* **106**(5): 833-8.
- Reincke M, Petersenn S, Buchfelder M, Gerbert B, Skrobek-Engel G, Franz H, Lohmann R, Quabbe HJ (2006). "The German Acromegaly Registry: description of the database and initial results." *Exp Clin Endocrinol Diabetes* **114**(9): 498-505.
- Roberts BK, Ouyang DL, Lad SP, Chang SD, Harsh GR th, Adler JR Jr, Soltys SG, Gibbs IC, Katznelson L (2007). "Efficacy and safety of CyberKnife radiosurgery for acromegaly." *Pituitary* **10**(1): 19-25.
- Rocheville M, Lange DC, Kumar U, Patel SC, Patel RC, Patel YC (2000). "Receptors for dopamine and somatostatin: formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity." *Science* **288**(5463): 154-7.
- Sachdev Y, Gomez-Pan A, Tunbridge WM, Duns A, Weightman DR, Hall R, Goolamali SK (1975). "Bromocriptine therapy in acromegaly." *Lancet* **2**(7946): 1164-8.
- Selvarajah D, Webster J, Ross R, Newell-Price J (2005). "Effectiveness of adding dopamine agonist therapy to long-acting somatostatin analogues in the management of acromegaly." *Eur J Endocrinol* **152**(4): 569-74.
- Sesnilo G, Fairfield WP, Katznelson L, Pulaski K, Freda PU, Bonert V, Dimaraki E, Stavrou S, Vance ML, Hayden D, Klibanski A (2002). "Cardiovascular risk factors in acromegaly before and after normalization of serum IGF-I levels with the GH antagonist pegvisomant." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(4): 1692-9.
- Sheppard MC (2003). "Primary medical therapy for acromegaly." *Clin Endocrinol (Oxf)* **58**(4): 387-99.
- Tan KC, Pang RW, Tiu SC, Lam KS (2003). "Effects of treatment with Sandostatin LAR on small dense LDL and remnant-like lipoproteins in patients with acromegaly." *Clin Endocrinol (Oxf)* **59**(5): 558-64.
- Theodoropoulou M, Zhang J, Laupheimer S, Paez-Pereda M, Erneux C, Florio T, Pagotto U, Stalla GK (2006). "Octreotide, a somatostatin analogue, mediates its antiproliferative action in pituitary tumor cells by altering phosphatidylinositol 3-kinase signaling and inducing Zac1 expression." *Cancer Res* **66**(3): 1576-82.

- Theodoropoulou M, Tichomirowa M, Sievers C, Yassouridis A, Deprez M, Daly AF, Beckers A, Stalla GK (2007, eingereicht). "Zac1 expression in acromegalic tumors associates with response to somatostatin analogue treatment."
- Trainer PJ, Drake WM, Katznelson L, Freda PU, Herman-Bonert V, van der Lely AJ, Dimaraki EV, Stewart PM, Friend KE, Vance ML, Besser GM, Scarlett JA, Thorner MO, Parkinson C, Klibanski A, Powell JS, Barkan AL, Sheppard MC, Malsonado M, Rose DR, Clemmons DR, Johannsson G, Bengtsson BA, Stavrou S, Kleinberg DL, Cook DM, Phillips LS, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Hackett S, Zib K, Bennett WF, Davis RJ (2000). "Treatment of acromegaly with the growth hormone-receptor antagonist pegvisomant." *N Engl J Med* **342**(16): 1171-7.
- van der Hoek J, de Herder WW, Feelders RA, van der Lely AJ, Uitterlinden P, Boerlin V, Bruns C, Poon KW, Lewis I, Weckbecker G, Krahnke T, Hofland LJ, Lamberts SW (2004). "A single-dose comparison of the acute effects between the new somatostatin analog SOM230 and octreotide in acromegalic patients." *J Clin Endocrinol Metab* **89**(2): 638-45.
- van der Hoek J, van der Lelij AJ, Feelders RA, de Herder WW, Uitterlinden P, Poon KW, Boerlin V, Lewis I, Krahnke T, Hofland LJ, Lamberts SW (2005). "The somatostatin analogue SOM230, compared with octreotide, induces differential effects in several metabolic pathways in acromegalic patients." *Clin Endocrinol (Oxf)* **63**(2): 176-84.
- van der Lely AJ, Hutson RK, Trainer PJ, Besser GM, Barkan AL, Katznelson L, Klibanski A, Herman-Bonert V, Melmed S, Vance ML, Freda PU, Stewart PM, Friend KE, Clemmons DR, Johannsson G, Stavrou S, Cook DM, Phillips LS, Strasburger CJ, Hackett S, Zib KA, Davis RJ, Scarlett JA, Thorner MO (2001). "Long-term treatment of acromegaly with pegvisomant, a growth hormone receptor antagonist." *Lancet* **358**(9295): 1754-9.
- Vitale G, Pivonello R, Lombardi G, Colao A (2004). "Cardiovascular complications in acromegaly." *Minerva Endocrinol* **29**(3): 77-88.

## Danksagung

Ich bedanke mich sehr herzlich bei meinem Betreuer Prof. Dr. G.K. Stalla für die Ermöglichung dieser Dissertation, die freundliche Überlassung des Themas und seine Diskussionsbereitschaft.

Frau Dr. Caroline Sievers danke ich besonders herzlich für die ausgezeichnete, engagierte Betreuung, konstruktive Kritik, Geduld und fachliche Unterstützung.

Für die Anleitung beim Erlernen von Labormethoden und ihren Beitrag zum *in vitro* Teil dieser Arbeit danke ich Frau Dr. Marily Theodoropoulou.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. Alexander Yassouridis für die statistische Bearbeitung und Auswertung der in dieser Arbeit aufgeführten Ergebnisse.

Für die Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit möchte ich mich außerdem bei allen Mitarbeiter/innen der Neuroendokrinen Abteilung bedanken.

Meinen Eltern danke ich für ihre Unterstützung während der gesamten Zeit.

## **Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name	DIMOPOULOU CHRISTINA
Adresse	Rümannstraße 61/V, 80804 München
Telefon	+49 89 32 21 02 53
E-mail	dimopoulou@mpipsykl.mpg.de
Staatsangehörigkeit	Griechisch
Geburtstag	18.04.1981

### **Schulbildung**

1993 – 1999	Deutsche Schule Thessaloniki.
-------------	-------------------------------

### **Hochschulausbildung**

1999 – 2005	Studium der Humanmedizin, Aristoteles Universität zu Thessaloniki, Griechenland.
10/2003 – 02/2004	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Medizinische Fakultät, im Rahmen des ERASMUS Programms für Studentenaustausch.

### **Derzeitige Position**

02/2006 - bis heute	Promotionsstipendium des Max-Planck- Instituts für Psychiatrie München (Neuroendokrinologie).
---------------------	---

München, den 28.02.2008