

# ACROMEGALIA DEL DIESTRO EN LA PERRA

Y Corrada; C Gobello

Cátedra de Reproducción Animal e Instituto de Teriogenología.  
Área de Pequeños Animales. Facultad de Ciencias Veterinarias  
INIBIOLP Histología "B" Facultad de Medicina.

**Resumen:** La acromegalia o hipersomatotrofismo canino se caracteriza por una hipersecreción crónica de hormona del crecimiento (GH). Dicha hipersecreción de GH es inducida por la elevada progesteronemia que caracteriza a la fase lútea del ciclo estral canino, como así también, por tratamientos con progestágenos utilizados corrientemente para suprimir el ciclo estral. Las manifestaciones clínicas se traducen por el crecimiento excesivo del tejido muscular, óseo y visceral y, usualmente, desarrollo de intolerancia a la glucosa. Signos clínicos de hipotiroidismo y/o hipercorticismismo están eventualmente asociados. Debido a la hiperproducción de GH, el riesgo de desarrollar neoplasias mamarias como así también el complejo de hiperplasia endometrial quística- piómetra se ve incrementado a medida que transcurren los sucesivos ciclos estrales durante la vida del animal. Debido a esto, la castración temprana constituye el mejor método de prevención y/o tratamiento de la acromegalia canina. El entendimiento de los trastornos asociados a las variaciones de la secreción de la GH relacionadas con el ciclo estral canino permiten prevenir la instalación de posibles desórdenes endócrinos permanentes.

**Palabras claves:** diestro- hormona de crecimiento- acromegalia- perra

## CANINE DIESTROUS ACROMEGALY

**Abstract:** Canine acromegaly or hypsomatotrophism is characterized by a chronic hypersecretion of growth hormone (GH). GH hypersecretion is induced by high plasmatic progesterone concentrations which characterize luteal phase of canine estrous cycle. This endocrine disorder is also caused by administration of exogenous progestins frequently used for estrous cycle suppression. Clinical signs of acromegaly consist of excessive muscular, bone and visceral growth and glucose intolerance. Affected bitches usually develop hypothyroidism and hyperadrenocorticism. Also, in successive estrous cycles, the risk of developing mammary neoplasia and cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex increases. Early spaying constitutes the best method for prevention and/or treatment of canine acromegaly. Full understanding of the alterations of GH secretion associated to estrous cycle will prevent permanent endocrine disorders in the bitch.

**Key words:** diestrus- growth hormone- acromegaly- bitch

Fecha de recepción: 19/07/01

Fecha de aprobación: 14/03/02

---

**Dirección para correspondencia:** Yanina Corrada. Cátedra de Reproducción Animal. Instituto de Teriogenología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (B1900AVW). Buenos Aires. Argentina **E-mail:** [gcorrada@netverk.com.ar](mailto:gcorrada@netverk.com.ar)

---

## Introducción

La acromegalia en la perra es el resultado de la hipersecreción crónica de hormona de crecimiento (GH) que se traduce por el crecimiento exagerado del tejido muscular, óseo y visceral, como así también por disturbios del metabolismo glucídico (1, 2, 3).

La primera indicación de que la acromegalia podía ocurrir en los caninos fue descripta por Groen y col. en 1964 (4), en una perra con diabetes mellitus y resistencia a la insulina desarrollada durante el diestro. El animal, debido al exceso de GH, presentaba ensanchamiento de la cara, patas y espacios interdigitales, presentando el conjunto una apariencia tosca. Al realizar su autopsia, no se halló un tumor pituitario y la causa de la acromegalia permaneció incierta. Años más tarde, se comprobó que la administración de progestágenos ocasiona elevación reversible de los niveles plasmáticos de GH circulante (5, 6).

La acromegalia canina es observada generalmente en hembras no castradas, enteras de una edad frecuentemente superior a los 8 años. Sin embargo, también puede ser diagnosticada en hembras de menor edad (4-5 años) (7, 8).

Los signos clínicos de la acromegalia sobrevienen luego de la exposición prolongada a la alta progesteronemia, lo cual explica que esta patología se encuentre en hembras seniles ya que los sucesivos ciclos estrales, caracterizados por fases lúteas con elevados niveles de progesterona (P<sub>4</sub>) y de larga duración (aún en ausencia de gestación), incrementa el riesgo de padecer dicha afección.

En este trabajo de revisión se describen las características clínicas, diagnósticas y terapéuticas más relevantes de la acromegalia de la hembra canina, cuya etiología se identifica con la hiperprogesteronemia del diestro a la que se podría sumar tratamientos consistentes en la administración exógena de P<sub>4</sub>.

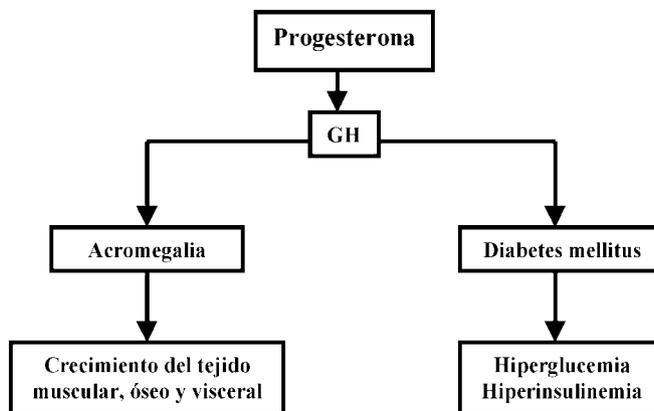
## Etiopatogenia

Inicialmente se atribuyó un origen pituitario de la acromegalia inducida por la P<sub>4</sub>, siendo esta hipótesis posteriormente descartada al realizar la hipofisectomía en perras con elevada concentración de GH plasmática y observar que dichos niveles no descendían luego de la intervención (6). El análisis del contenido de GH en homogenatos de diversos tejidos del organismo revelaron alta concentración de GH inmunoreactiva en extractos de glándula mamaria, concluyéndose por

lo tanto, en el origen mamario de la producción de GH inducida por la P<sub>4</sub> (9). Diversos autores establecieron el efecto estimulador de los progestágenos sobre la secreción de GH en la perra (10, 11) (Figura I).

**Figura I:** Patogenia de la acromegalia (adaptado de Senecat 2000)

Figure I: Pathogenesis of acromegalia (adapted from Senecat 2000).



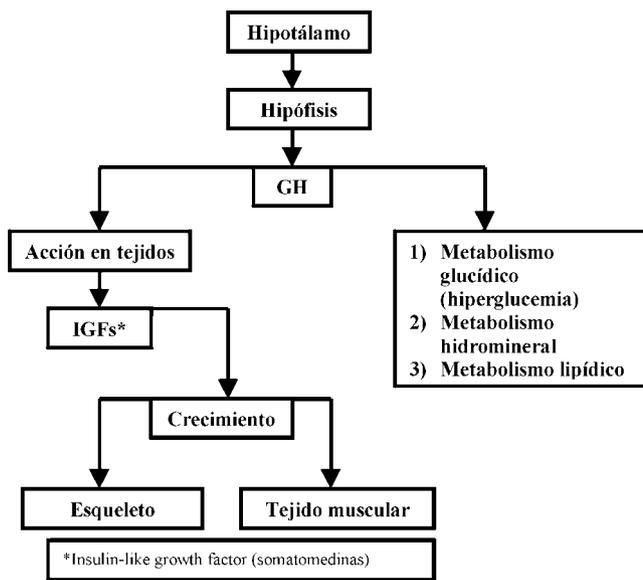
La GH inducida por la P<sub>4</sub> es responsable, en parte, de estimular la proliferación del epitelio mamario en cada ciclo estral, lo cual podría conducir a su posterior transformación tumoral. Esto último podría explicar la frecuencia elevada de nódulos mamaros observados en perras acromégicas (9, 12). En un estudio se demostró que la mastectomía de glándulas tumorales en la perra ocasiona una brusca disminución de la concentración plasmática de GH a sus valores basales normales (13), lo cual sugiere que la producción de GH se produce asimismo en las glándulas mamaras tumorales. La expresión del gen de GH en la mama se halla restringida a áreas focales de hiperplasia del epitelio mamario, predominantemente en las células epiteliales ubicadas entre el lumen y el mioepitelio (9, 14). La acromegalia secundaria a tumor hipofisiario secretor en la especie canina es anecdótica (15).

La GH tiene efectos directos en los tejidos o indirectos a través de factores de crecimiento insulino-miméticos: las somatomedinas o IGFs (*insulin-like-growth factor*), estimulando la síntesis hepática (Figura II).

La GH es una hormona diabetogénica y, por lo tanto, ocasiona hiperglucemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. El exceso de GH ocasiona una disminución del número de recep-

**Figura II:** Acción de la GH (adaptado de Senecat 2000)

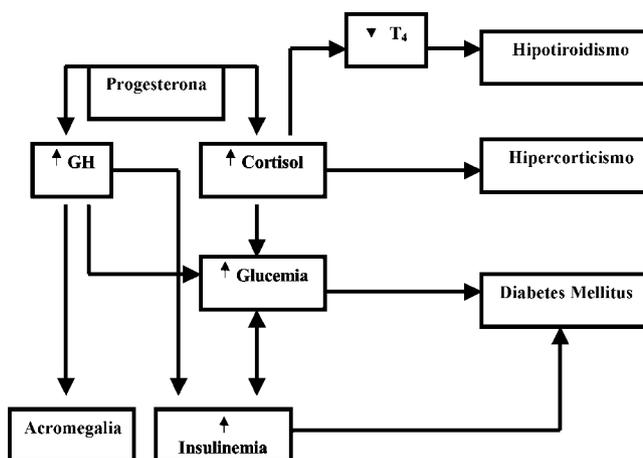
Figure II: Effects of GH (adapted from Senecat 2000)



tores de insulina, una alteración en la etapa post receptor, y una alteración del metabolismo intracelular de la insulina. El hypersomatotrofismo eventualmente se asocia a una hipereactividad córticosuprarrenal y a hipotiroidismo (11) (Figura III).

**Figura III:** Patogenia de los desórdenes endócrinos resultantes de la hiperprogesteronemia ligada al ciclo estral (adaptado de Senecat 2000)

Figure III: Pathogenesis of endocrine disorders associated with oestrus cycle high progesterone concentrations (adapted from Senecat 2000)



La hiperprogesteronemia induce, entre otras cosas, hipercortisismo a consecuencia de la competición de los sitios de fijación de las proteínas de transportes comunes (*cortisol binding globulin*) (12, 16). Sin embargo, en raras ocasiones puede

desencadenar hipocortisismo, por bloqueo del retrocontrol ejercido por el cortisol sobre la producción de ACTH. El hipotiroidismo secundario puede sobrevenir a consecuencia de la acción inhibitoria que ejercen los corticoides sobre la función tiroidea (17).

La diabetes mellitus puede ser el resultado tanto del hypersomatotrofismo, como de la hipercortisolemia, o de la acción glucocorticoide de los progestágenos (16). Estos desequilibrios hormonales pueden asimismo ocasionar perturbaciones de la actividad gonadal (18). Del mismo modo, y debido a la presencia de receptores de GH en las células epiteliales del útero de la perra, la elevación de los niveles plasmáticos de GH inducido por la alta progesteronemia predispone a padecer el complejo de hiperplasia endometrial quística-piódmetra (HEQ-P) (10).

### Signos clínicos

Las manifestaciones clínicas generalmente reflejan las acciones catabólicas o anabólicas de la GH. Los signos clínicos de la hipersecreción de GH tienden a un desarrollo lento y se caracterizan, inicialmente, por un incremento del tejido blando de la cara y el abdomen. La gradual proliferación del tejido óseo y conectivo ocasiona aumento del tamaño corporal, manifestándose principalmente por el agrandamiento de los miembros, dedos, cabeza y abdomen. El desarrollo del hueso mandibular produce prognatismo con incremento de los espacios interdentes (19, 20). La acumulación dérmica de hialuronidasa conduce a mixedema. También puede presentarse hipertricotosis (20).

En algunos perros la severa hipertrofia de los tejidos blandos de la boca, lengua y faringe ocasiona ronquidos con disnea inspiratoria. Esto conduce a un paulatino deterioro respiratorio con intolerancia al ejercicio, fatiga y jadeo frecuente. La cardiomiopatía puede ser una secuela de la acromegalia, y cuando se presenta también se acompaña de signos respiratorios (21).

El hypersomatotrofismo crónico genera intolerancia a la glucosa y eventualmente diabetes mellitus no insulino dependiente e insulino resistente (8, 22). Algunas perras presentan solamente (en función de la evolución) una etapa “pre-diabética” subclínica, con hiperinsulinemia y glucemia normal o levemente aumentada (3, 23). En otra perras acromegálicas se instala una diabetes no insulino dependiente, caracterizada por hiperinsulinemia, hiperglucemia moderada y síndrome poliuria/polidipsia (PU/PD). En ausencia de tra-

tamiento es posible que aparezca una diabetes insulino dependiente debido a que la insulino resistencia prolongada ocasiona la estimulación permanente de las células  $\beta$  del páncreas produciendo finalmente el agotamiento de las células pancreáticas productoras de insulina (23, 24). El resultado es una hipoinsulinemia e hiperglucemia franca que se traduce en PU/PD y posteriormente polifagia (25). Sin embargo, la PU/PD puede observarse en la mayoría de las hembras acromegálicas, aún en ausencia de diabetes mellitus. La PU en estos casos es atribuida a la presencia de una diabetes insípida transitoria, ocasionada por la influencia directa o no de la GH sobre la secreción del sistema arginina-vasopresina (11).

Los signos clínicos de hipotiroidismo y/o hipercorticismismo están eventualmente asociados (17, 26). El hipotiroidismo concomitante ocasiona un estado de letargia, mientras que el hipercorticismismo, cuando se presenta, contribuye a la PU/PD, polifagia, distensión abdominal y hepatomegalia.

Entre las anomalías de la función reproductiva y del aparato reproductor se encuentran la galactorrea, el desarrollo de nódulos mamaros, y la piómetra (9, 12, 27, 28).

## Diagnóstico

El diagnóstico presuntivo se basa en la relación temporal entre los signos clínicos presentes y el ciclo estral o la administración repetida de progestágenos. Los principales signos de aparición de la acromegalia son PU/PD y sobrepeso ponderal. La repetitividad de los síntomas en el curso del período post-estro es particularmente evocativa (8).

El diagnóstico diferencial engloba las otras causas de PU/PD, en particular la diabetes mellitus y el hipercorticismismo. La diabetes mellitus puede ser también secundaria a otros desórdenes endócrinos (26).

## Exámenes complementarios de orientación

Ciertos exámenes complementarios permiten confirmar la sospecha clínica de acromegalia.

\* Radiología: evidencia aumento de volumen del tejido muscular (región lingual y faringolaríngea) y más raramente anomalías óseas: hipertrofias y periostosis metacarpianas, metatarsianas, y calcificación de articulaciones condrocostales (8).

\* Parámetros bioquímicos (7):

\* Glucemia normal o aumentada  
\* Fosfatasa alcalina aumentada  
\* Hipercolesteronemia generalmente presente  
\* Perturbaciones del metabolismo fosfo-cálcico: puede haber hiperfosfatemia, hipercalciuria, hipermagnesemia.

\* Valores de insulina generalmente superiores a los normales

\* Progesteronemia elevada, pero dentro de los valores de perras sanas en diestro

\* Posibles anomalías hematológicas: algunos autores informan la existencia de anemia normocítica, normocrómica moderada (1)

\* Las lesiones cutáneas son menos específicas: la histopatología cutánea revela una hiperqueratosis ortoqueratótica, hipergranulosis e hiperplasia de la epidermis, así como también aumento del número de fibras colágenas y de fibroblastos, lo cual le confiere a la dermis un aspecto denso y compacto (17).

## Diagnóstico definitivo: exploración del eje somatotropo

**Dosaje de GH:** el diagnóstico definitivo de acromegalia se basa en la evidencia de la elevación de GH plasmática. Según un estudio realizado en nuestro país, el rango de referencia normal de la GH plasmática oscila entre 1,8 y 6,4 ng/ml (29). En el hipersomatotrofismo, el valor de GH puede ser superior a 20 ng/ml, hasta valores de 80-150 ng/ml. El dosaje se realiza con métodos radioinmunológicos (2, 30).

**Determinación de la concentración sérica de IGF-I:** permite apreciar indirectamente la concentración de GH. La medición de IGF-I constituye un buen marcador de acromegalia en medicina humana. En medicina veterinaria, los valores de IGF-I están sometidos a variaciones raciales con una correlación positiva entre el peso y la concentración plasmática de IGF-I. La interpretación de los resultados es delicada y depende de los valores establecidos por cada laboratorio (8).

**Exploración dinámica del eje somatotropo:** la exploración estática de la secreción de GH presenta sus limitaciones debidas al patrón de secreción pulsátil de la misma, como así también a las variaciones debidas a la edad, tamaño corporal y raza de los animales (26, 30).

Diversas pruebas funcionales pueden ser empleadas, como por ejemplo, la hipoglucemia inducida por la insulina, la prueba de tolerancia a la arginina, la prueba de tolerancia a la L-Dopa, métodos de estimulación con clonidina o xilazina

y la prueba de supresión con somatostatina. De las pruebas mencionadas, la utilizada con mayor frecuencia es la prueba de estimulación con xilazina (1, 8). La misma consiste en tomar muestras sanguíneas a los 0, 15, 30, 45, 60 y 90 minutos luego de administrar clorhidrato de xilazina (200 mg/kg EV). Los animales normales presentan un incremento sustancial de GH (5-10 veces en promedio) respecto de los niveles basales entre los 15 y 45 minutos luego de la administración de la xilazina. Las perras acromegálicas no responden a esta prueba de estimulación (21, 26, 29).

## Tratamiento

El objetivo del tratamiento de la acromegalia canina se orienta a disminuir la hiperprogesteronemia. Esto se logra a través de la ovariectomía o de la interrupción del tratamiento con progestágenos de síntesis. La ovariectomía de perras acromegálicas asegura generalmente la normalización de las secreciones hormonales y la regresión clínica de la acromegalia. La regresión de los signos clínicos puede ocurrir en semanas o meses, aunque las modificaciones del esqueleto en ocasiones pueden ser persistentes (1,8). Watson y col. (31) realizaron el tratamiento médico de la hiperprogesteronemia mediante la administración de un antiprogestágeno de síntesis (RU 486) con resultados alentadores (31). Esta opción terapéutica puede resultar interesante en aquellas perras en las que no se desea realizar la castración.

Ante la presencia de una diabetes no insulino dependiente la castración de la perra debe practicarse inmediatamente.

Si el estado general es malo (cetósico) debido a una diabetes insulino dependiente, es necesario instaurar un tratamiento insulínico clásico en conjunto con la ovariectomía. Al comienzo de la insulino terapia, generalmente son necesarias altas dosis de insulina debido a la insulino resistencia. Con la ovariectomía se reduce la insulino resistencia y entonces es posible reducir progresivamente la dosis de insulina exógena (25).

## Pronóstico

En las perras con exceso de GH inducida por progestágenos el pronóstico es muy favorable en tanto se elimine la fuente de éstos. Las manifestaciones clínicas, excepto la diabetes mellitus hipoinsulinémica, son generalmente reversibles luego del tratamiento adecuado.

## Discusión y Conclusiones

La acromegalia es un desorden endócrino generalmente asociado a la fase lútea del ciclo estral canino. En ausencia de tratamiento puede originar graves alteraciones en la homeostasis del organismo que en ocasiones conduce a trastornos orgánicos permanentes.

La hipersecreción de GH inducida por la elevada y sostenida progesteronemia del diestro juega un importante rol en la patogenia de entidades propias de este momento del ciclo estral. La influencia de la GH en el complejo HEQ-P (10) y la proliferación y diferenciación de la glándula mamaria es conocida (10). El papel exacto de esta hormona en la aparición de la pseudo preñez clínica no ha sido aún descripto (32).

Debe considerarse siempre la acromegalia como enfermedad de base en síndromes PU/PD de aparición durante el diestro de la perra. Sólo el conocimiento e identificación de los trastornos asociados a las variaciones de la secreción de GH permitirán el tratamiento de las múltiples disendocrinopatías que esta ocasiona.

La castración de la perra joven constituye el mejor método de prevención y/o tratamiento de estas afecciones derivadas del exceso de GH inducida por la P4 (11). No obstante, esta solución puede resultar impracticable en perras reproductoras. Ciertas perspectivas terapéuticas apuntan a protocolos terapéuticos con antiprogestágenos, sin embargo es necesario contar con un mayor número de estudios para determinar la eficacia de dichos tratamientos (11).

La posibilidad de dosar en nuestro medio la GH abre un panorama alentador en el diagnóstico de las alteraciones relacionadas con esta hormona en la especie canina. Cabe mencionar la importancia de que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia normal, como así también que estandarice las correspondientes pruebas funcionales, a fin de poder realizar la correcta interpretación de los resultados obtenidos (29).

## Bibliografía

1. Eigenmann JE. Acromegaly in the dog. *Small Anim Pract* 1984; 14 (4):827-836
2. Garnier F, Gaguere E. Diagnostic des troubles de la sécrétion de GH. *Prat Méd Chir Anim Comp. Les indispensables de l'animal de compagnie-dermatologie* 1991; p.187-192
3. Siliart B, Chetbpul V, Poirier C. Polydysendocrinie associée au cycle oestral dans l'espèce canine: étude

rétrospective de 270 cas. *Rec Méd Vét* 1995; 171(8/9):505-512

4. Groen JJ, Frenfel HS, Offerhaus L. Observations on a case of spontaneous diabetes mellitus in a dog. *Diabetes* 1964; 13 :492-499

5. Eigenmann JE, Venker-Van Haagen AJ. Progesterone-induced and spontaneous canine acromegaly due to reverse growth hormone overproduction: clinical picture and pathogenesis. *J Am Anim Hosp Assoc* 1981; 17: 813-822

6. Rijnberk A, Mol JA. Progesterin-induced hypersecretion of growth hormone: an introduction review. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl* 1997; 5: 335-338

7. Eigenmann JE, Patterson DF, Froesch ER. Body size parallels insulin-like growth factor I levels but not growth hormone secretory capacity. *Acta Endocrinol* 1984; 106:448-53

8. Rijnberk A. Acromegaly. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB. Saunders Company. 5th Edition 2000; 17:1370-1374

9. Mol JA, Van Garderen E, Selman P, Wolfswinkel J, Rijnberk AD, Rutteman G. Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *J Clin Invest* 1995; p.2028

10. Kooistra HS, Okkens AC, Mol JA, Van Garderen E, Kirpensteijn J, Rijnberk A. Lack of association of progesterin-induced cystic endometrial hyperplasia with GH gene expression in the canine uterus. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl* 2000; 51:355-361

11. Senecat O. L'acromégalie et la polydysendocrinie liée au cycle oestral chez la chienne. *Le Point Vétérinaire* 2000; 31(209):35-42

12. Selman PJ, Mol JS, Rutteman GR. Progesterin-induced growth hormone excess originates in the mammary gland. *Endocrinology* 1994; 134 (1):287-292

13. Corrada Y, Gobello C, Castex G, Goya RG. Growth hormone levels in bitches with spontaneous mammary tumors before and after mastectomy. *EVSSAR Anual Symposium*. Fiera, Milano (Italia) 2001: p. 131.

14. Mol JA, Van Garderen, E., Rutteman, G.R., Rijnberk, A. New insights in the molecular mechanism of progesterin-induced proliferation of mammary epithelium: induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. *Molec Biol* 1996; 57(12):67-71

15. Van Keulen L.. Diabetes mellitus in a dog with a growth hormone-producing acidophilic adenoma of the adenohypophysis. *Vet Pathol* 1996; 33: p. 451

16. Hess RS, Ward CR. Concurrent canine hyperadrenocorticism and diabetes mellitus: diagnosis and treatment. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1998; 20(6):701-717

17. Scott-Moncrieff JCR, Guptill-Yoran L. Hypothyroidism. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB. Saunders Company. 5th Edition 2000; 152:1428-1429

18. Schefers-Okkens AC. Estrous cycle and breeding

management of the healthy bitch. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB. Saunders Company. 5th Edition 2000; 157:1510-1519

19. Eigenmann JE, Eigenmann RY, Rijnberk A, Van Der Gaag I, Zapf J, Froesch ER. Progesterone-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinol* 1983; 98:599-602

20. Rijnberk A, Eigenmann JE, Belshae BE. Acromegaly associated with transient overproduction of growth hormone in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177: 534-537

21. Rijnberk A. Growth hormone: its clinical relevance. *The Vet Quart* 1995; 17(1): 17-19

22. Schwedes CS. Transient diabetes insipidus in a dog with acromegaly. *J Small Anim Pract* 1999; 40:392-396

23. Poirier C. Contribution à l'étude de la dysendocrinie associée à l'acromégalie et à l'hyperprogestéronémie lutéale de la chienne (étude de 170 cas). *Thèse Méd. Vét. Nantes* 1994; p. 37-48

24. Hoenig M. Pathogenesis of canine diabetes. *Small Anim Pract* 25 (3): 553-561

25. Peterson ME. Diagnosis and management of insulin resistance in dogs and cats with diabetes mellitus. *Small Anim. Pract* 1995; 25 (3): 691-713

26. Feldman EC. Hyperadrenocorticism. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB Saunders Company. 5th Edition. 2000; p. 1460-1485

27. Concannon P, Altzuler N, Hampshire J. Growth hormone, prolactin and cortisol in dogs with developing mammary nodules and an acromegaly-like appearance during treatment with medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology* 1980; 106:1173-1177

28. Van Garderen E, De Wit M, Voorhout WF, Rutteman GR, Mol JA, Nederbragt H, Misdorp W. Expression of growth hormone in canine mammary tissue and mammary tumors. *Am J Pathol* 1997; 150(3): 1037-1047

29. Corrada Y, Gobello C, Aprea A, Goya R. Growth hormone reference range and stimulation tests in intact dogs. *XXI Congresso Brasileiro de Clinicos Veterinarios de Pequenos Animais*. Rio de Janeiro (Brasil) 2000; p.81

30. Corrada Y, Goya R, Castex G, De La Sota L, Piscopo M, Gobello C. Estudio del patrón de secreción de hormona de crecimiento en perros enteros y hembras en anestro. *4 Simposio Internacional de Reproduccion Animal*. Huerta Grande, Córdoba (Argentina) 2001; p.318

31. Watson AD, Rutteman GR, Rijnberk A, Mol JA. Effect of somatostatin analogue SMS 201-995 and antiprogesterin agent RU 486 in canine acromegaly. *Front Horm Res* 1987; 17:193-198

32. Gobello C, De La Sota RL, Goya RG. A review on canine pseudocyesis. *Reprod Dom Anim*. Blackwell Science (ed). Neustadt, Germany 2001; 36:283-288