

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV  
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. Martin Reincke

**Determinanten des relativen Anteils der 20Kilodalton-Isoform des  
humanen Wachstumshormons im oralen Glukosetoleranztest bei  
Patienten mit Akromegalie sowie gesunden Kontrollpersonen**

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

Vorgelegt von  
Esther Salome Ulmer  
aus Stuttgart

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jochen Schopohl

Mitberichterstatter: PD Dr. Lucia Gerstl  
Prof. Dr. Günter Stalla

Mitbetreuung durch die  
promovierten Mitarbeiter: Dr. Katharina Schilbach  
Dr. Martin Bidlingmaier

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.12.2021

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit eigenständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Textpassagen, die wörtlich oder dem Sinn nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

Stuttgart, den 27.12.2021

Esther Salome Ulmer

*Für meine Eltern*

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1.	Akromegalie .....	1
1.1.1.	Allgemein.....	1
1.1.2.	Pathogenese .....	2
1.1.3.	Klinisches Bild und Komorbiditäten .....	2
1.1.4.	Diagnostik.....	2
1.1.5.	Therapie .....	3
1.1.6.	Prognose.....	4
1.2.	GH.....	4
1.2.1.	Hypophyse.....	4
1.2.2.	Gen und Struktur .....	5
1.2.3.	GH-Regelkreis .....	5
1.2.4.	Wirkung.....	8
1.2.5.	GHR und GHBP.....	9
1.2.6.	Metabolismus und Clearance.....	10
1.2.7.	Isoformen .....	10
1.2.8.	Messmethoden.....	13
1.3.	20K/22K-Ratio .....	14
1.3.1.	20K/22K-Ratio im physiologischen Zustand .....	14
1.3.2.	20K/22K-Ratio bei Patienten mit Akromegalie.....	15
1.4.	Zielsetzung .....	16
2	Probanden, Material und Methoden .....	17
2.1.	Probanden.....	17
2.2.	Studienprotokoll.....	17
2.2.1.	Rekrutierung.....	17
2.2.2.	Information und Aufklärung.....	18
2.2.3.	Maßnahmen .....	18
2.2.4.	Risiken .....	18
2.2.5.	Studiendesign .....	19
2.3.	Methoden .....	19
2.3.1.	Probensammlung und -verarbeitung.....	19
2.3.2.	Probenselektion.....	19
2.3.3.	Messungen .....	20

2.3.4.	Erhebung anthropometrischer und anamnestischer Angaben .....	22
2.3.5.	statistische Datenverarbeitung .....	22
2.4.	Reagenzien und Materialien .....	23
2.4.1.	Serumproben.....	23
2.4.2.	Liste der Reagenzien und Materialien .....	24
2.4.3.	Puffer und Lösungen.....	24
2.4.4.	Liste der Geräte .....	25
3	Ergebnisse.....	26
3.1.	Gruppen .....	26
3.1.1.	Kontrollgruppe.....	26
3.1.2.	Akromegaliegruppe .....	28
3.2.	Gesamtwerte.....	29
3.2.1.	22K .....	30
3.2.2.	20K .....	36
3.2.3.	20K/22K-Ratio.....	39
3.2.4.	Zusammenfassung .....	47
3.3.	Einflussfaktoren.....	47
3.3.1.	Glukose.....	48
3.3.2.	Geschlecht .....	50
3.3.3.	Alter .....	72
3.3.4.	BMI.....	75
3.3.5.	TumorgroÙe.....	79
3.3.6.	Multiple Einflussfaktoren .....	80
4	Diskussion.....	82
4.1.	Fragestellung der Arbeit .....	82
4.2.	Methodische Limitationen.....	82
4.3.	Diskussion der eigenen Ergebnisse .....	84
4.3.1.	Vergleich CON ACR .....	84
4.3.2.	Potentieller Einfluss verschiedener Faktoren auf 20K/22K-Ratio CON & ACR.....	85
4.3.3.	Dynamik der 20K/22K-Ratio während eines oGTT .....	89
4.3.4.	Schlussfolgerung.....	90
5	Zusammenfassung .....	92
5.1.	Summary.....	93
6	Verzeichnisse .....	95
6.1.	Literaturverzeichnis.....	95

6.2.	Abbildungsverzeichnis .....	98
6.3.	Tabellenverzeichnis .....	100
6.4.	Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme.....	101
7	Danksagung .....	103
8	Veröffentlichungen .....	104

# 1 Einleitung

In dieser Arbeit wird aus Gründen der Lesbarkeit im Text die männliche Form gewählt, die Angaben beziehen sich, wenn nicht anders angegeben, auf Angehörige beider Geschlechter.

„Da trat aus den Lagern der Philister ein Riese mit Namen Goliath aus Gat, sechs Ellen und eine Hand breit groß.“ So wird in der Bibel der Krieger beschrieben, der von dem jungen Hebräer David mit einem Stein aus dessen Steinschleuder außer Gefecht gesetzt wurde [1]. Heutzutage wird die Annahme vertreten, Goliath könnte unter einem Hypophysentumor gelitten haben, der Wachstumshormon produzierte. Auch ein daraus resultierendes Chiasmasyndrom mit einer Einschränkung des Gesichtsfeldes würde zur Geschichte passen – denn dadurch hätte er David nicht mehr so gut sehen können [2].

Das gesellschaftliche Interesse an sogenannten „Riesen“ war schon immer groß, früher galten extrem große Menschen oft als Attraktion. Mit der Zeit begannen Ärzte sich für die berühmten Patienten zu interessieren und nach einer Ursache für deren außergewöhnliche Größe zu suchen [3]. Von unterschiedlichen Wissenschaftlern wurde schließlich eine Krankheit beschrieben, die durch überdurchschnittlich große Hände, Füße, Gesichtspartien und innere Organe hervorsteht, z.B. 1864 von Verga in Italien unter dem Namen „Prosopectasia“. Der französische Neurologe Pierre Marie schlug 1886 erstmals die Bezeichnung „Akromegalie“ für die Erkrankung vor [3]. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde schließlich auch die Ursache für die augenscheinlichen Veränderungen der Patienten bekannt und so der Bezug zwischen Hyperpituitarismus und dem klinischen Bild der Akromegalie hergestellt [3].

## 1.1. Akromegalie

### 1.1.1. Allgemein

Akromegalie ist eine Erkrankung, deren hervorstechendes Merkmal in der Vergrößerung und Vergrößerung der Akren liegt, wie es bereits aus dem Namen hervorgeht. Als Akren werden die peripheren Extremitätenenden (Hände und Füße), sowie Partien des Gesichts wie Kiefer, Nase und Ohren bezeichnet. Der Grund für diese Veränderungen ist eine erhöhte Wachstumshormon (Growth Hormone, GH)-Konzentration im Blut [4], meist durch einen gutartigen Tumor der Hypophyse verursacht, der Wachstumshormon produziert (somatotropes Hypophysenadenom) [5]. Von der Akromegalie abzugrenzen ist das Erscheinungsbild des Gigantismus' (Hochwuchs), das sich ausbildet, wenn sich der somatotrope Hypophysentumor schon im Kindesalter bildet. In diesem Fall sind die Wachstumsfugen noch nicht geschlossen, und der GH-Exzess bewirkt ein übermäßiges Längenwachstum der langen Röhrenknochen. Akromegalie ist eine seltene Erkrankung, die Prävalenz liegt bei 50-70 Fällen pro 1 Mio. Einwohner, die Inzidenz beträgt 3-4 Fälle pro 1 Mio. Einwohner und Jahr. Eine eindeutige Geschlechtspräferenz wurde nicht nachgewiesen [5]. Das mittlere Manifestationsalter liegt bei 44 Jahren [6].



### **1.1.2. Pathogenese**

Akromegalie ist charakterisiert durch eine chronische GH-Erhöhung. Die Ursache stellt in über 99 % der Patienten ein somatotropes Hypophysenadenom dar. In sehr seltenen Fällen ist stattdessen eine tumorbedingte extrahypophysäre GH-Produktion oder Überproduktion von Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH), in der Regel paraneoplastisch, ursächlich für den GH-Exzess [5]. GH-produzierende Adenome machen 10-15 % der Hypophysenadenome aus [7]. Teilweise produzieren diese somatotropen Adenome gleichzeitig auch Prolaktin (PRL) [7]. Somatotrope Adenome mit resultierender Akromegalie können auch im Rahmen von seltenen genetischen Erkrankungen wie Multipler Endokriner Neoplasie (MEN) Typ I auftreten [5, 8]. Durch die chronisch gesteigerte GH-Wirkung kommt es unter anderem zu einer erhöhten Insulin-like Growth Faktor I (IGF-I)-Konzentration. IGF-I ist ein Wachstums- und Differenzierungsfaktor, über den viele Wachstumsprozesse gesteuert werden [9] (siehe 1.2.3. IGF-I). IGF-I wird in klinischen Studien zu Akromegalie häufig als Surrogatparameter verwendet.

### **1.1.3. Klinisches Bild und Komorbiditäten**

Die körperlichen Veränderungen durch die erhöhte Wachstumshormonkonzentration treten anfangs nur subtil in Erscheinung und werden so meist erst nach mehreren Jahren von den Betroffenen bemerkt, erstmalig oft als Veränderung der Ring- oder Schuhgröße. Weiterhin zeigen sich im Verlauf neben den großen Händen und Füßen ein vergrößerter Unterkiefer sowie dadurch auseinanderweichende Zähne, große fleischige Lippen und eine Vergrößerung der Nase und der supraorbitalen Stirnhöcker [5]. Da sich die Veränderungen über einen sehr langen Zeitraum entwickeln, fallen sie oft auch nahestehenden Personen nicht auf. Durch das Tumorwachstum und den GH-Exzess leiden die Patienten auch an vielfältigen weiteren Symptomen, bedingt durch die direkte GH-Wirkung, die resultierende Organomegalie oder den Druck des Tumors selbst auf andere Strukturen, wie z.B. den Sehnerv. Als Vollbild besteht eine Konstellation aus hormoneller, ophthalmologischer und neurologischer Symptomatik im Zusammenspiel mit den Konsequenzen der Organomegalie. Die Patienten leiden unter anderem unter Kopfschmerzen, Sehstörungen, arterieller Hypertonie, Schlafapnoe-Syndrom, Zyklusstörungen, Hyperhidrose, Hypertrichose, Libidoverlust, Gelenksbeschwerden, Karpaltunnelsyndrom und Schilddrüsenveränderungen. Außerdem hervorzuheben ist eine pathologische Glukosetoleranz bei der Hälfte der Patienten und ein manifester Diabetes mellitus bei einem Viertel [5]. In vielen Fällen stellt die Erkrankung auch eine psychische Belastung für die Betroffenen dar, was neben den anderen Begleiterscheinungen und Folgeerkrankungen zu einer deutlichen Einschränkung der Lebensqualität führen kann. Körpergefühl und Selbstwertgefühl können verzerrt werden und in sozialer Isolation münden [10].

### **1.1.4. Diagnostik**

Es konnte gezeigt werden, dass die Messung von GH alleine keine große Aussagekraft hat, da es pulsatil sezerniert wird [11]. Leitliniengerecht ist daher bei einem Screening auf das Vorliegen einer Akromegalie die Messung von IGF-I, da dieses weniger von Schwankungen betroffen ist; es wird kontinuierlich von der Leber sezerniert. Die Beurteilung des IGF-I erfolgt anhand alters- und geschlechtsspezifischer Referenzwerte [12]. Weiterhin wird empfohlen, bei erhöhten IGF-I-Werten

die GH-Werte im Zuge eines oralen Glukosetoleranztests (oGTT) zu messen. Bei einer GH-Suppression  $< 1,0$  ng/mL während des oGTT oder einem Stichprobenwert von  $< 0,4$  ng/mL wird laut den Cortina-Kriterien von 2000 eine Akromegalie ausgeschlossen [13]. Es wurde mehrere Jahre kontrovers diskutiert, ob diese Cut-off-Werte ausreichen, um eine Erkrankung zuverlässig auszuschließen [14, 15]. Im 2018 erschienenen Consensus Statement der 11. Akromegalie Consensus Conference wird  $0,4$  ng/mL als Cut-off-Wert vorgeschlagen, wenn ultrasensitive Assays verwendet wurden [16].

Weiterhin ist bekannt, dass GH-Nadire unter anderem abhängig von BMI, oraler Östradioleinnahme und Geschlecht sind, zuletzt wurden daher BMI- und geschlechtsadaptierte diagnostische GH-Grenzwerte vorgeschlagen [17].

Einen weiteren GH-abhängigen Biomarker stellt Acide label subunit (ALS) dar, dessen Messung aber nur begrenzten Wert in der Akromegaliadiagnostik gezeigt hat und nicht in das Therapiemanagement mit aufgenommen wurde [18].

Im Anschluss an die biochemische Diagnostik wird zum Tumornachweis eine Bildgebung des Bereichs der Sella turcica angestrebt, vorzugsweise eine Magnetresonanztomographie mit Kontrastmittel. Außerdem sollte eine Gesichtsfelduntersuchung angeschlossen werden, da der Tumor Druck auf das Chiasma opticum ausüben könnte [19]. Ergänzend sollten bei Diagnosestellung sowie auch im Verlauf einer aktiven Akromegalie Verlaufsuntersuchungen bezüglich möglicher Komorbiditäten erfolgen, eine Überprüfung der Hypophysenachsen mit eingeschlossen [19].

### **1.1.5. Therapie**

Aufgrund der erhöhten Mortalität und Morbidität (siehe 1.1.6. Prognose) sind die frühzeitige Diagnose und Therapie äußerst wichtig für die Prognose der Patienten [20]. Die Therapie der Wahl im Falle einer Akromegalie ist die operative Entfernung des Tumors, um die GH-Hypersekretion zu stoppen. Die minimalinvasive transnasal-transsphenoidale Adenomektomie ist die gängigste Operationsmethode [21]. Die GH-Konzentrationen normalisieren sich in der Regel innerhalb einer Stunde und die IGF-I-Konzentrationen innerhalb einiger Tage bis Monate [19]. Auch einige der klinischen Symptome (z.B. Weichgewebsschwellungen) können sich binnen kürzester Zeit normalisieren [22]. Hypopituitarismus einer oder mehrerer Achsen sowie ein Diabetes insipidus können unerwünschte Folgen einer Operation darstellen [22].

Bei postoperativ persistierender nicht-kontrollierter Krankheit oder bei Kontraindikationen für eine operative Therapie sind primär medikamentöse Ansätze sowie eine Radiotherapie in Betracht zu ziehen. Bezüglich der medikamentösen Therapie stehen Somatostatinrezeptorliganden (SRL), Dopaminagonisten und der GH-Rezeptor-Antagonist Pegvisomant zur Verfügung. SRL wie Octreotid unterdrücken die GH-Produktion über die Somatostatinrezeptoren und normalisieren so die IGF-I-Konzentration [22]. Langwirksame SRL stellen bei Indikation für eine medikamentöse Therapie die Erstlinientherapie dar [16]. Dopaminagonisten wie Cabergolin oder Bromocriptin wirken an Dopamin-Rezeptoren in der Hypophyse und unterdrücken die GH-Produktion bei einem Teil der Patienten, v.a. bei Patienten mit PRL-Cosekretion. Das GH-Analogon Pegvisomant blockiert die hepatischen GH-Rezeptoren und hemmt so die IGF-I-Sekretion [22]. Bei Resttumor und/oder schlechtem Ansprechen oder Tolerieren der Medikation sollte eine Radiatio in Betracht gezogen

werden [19]. Therapeutisches Ziel der Behandlung ist die biochemische Remission, es wird ein Stichproben-GH  $< 1,0$  ng/mL empfohlen, zusammen mit IGF-I-Werten im alters- und geschlechtsspezifischen Referenzbereich [19].

Die Interpretation genannter Werte wird kontrovers diskutiert, da das häufige Auftreten diskrepanter, also nicht zusammen- oder zur Diagnose passender GH- und IGF-I-Werte bekannt ist. Eine Bandbreite an biologischen Einflussfaktoren auf GH und IGF-I wurde identifiziert. Eine Vereinheitlichung der Assaymethoden ist bis dato nicht erfolgt, was Diagnostik und Therapie der Akromegalie zu einer Herausforderung macht [23].

### **1.1.6. Prognose**

Über die Zeitspanne zwischen dem Auftreten der ersten Symptome und Diagnose findet sich in der Literatur eine große Bandbreite an Studien und Zahlen. Sie liegt ungefähr bei 7-10 Jahren [23]. Der Weg zur Diagnose gestaltet sich durch die breite Organbeteiligung oft interdisziplinär. Die häufigsten Symptome, die zu einer Diagnosestellung führen, sind akrale Veränderungen und Kopfschmerzen [24, 25]. Die Latenzzeit bis zur Diagnosestellung scheint sich im Verlauf des letzten Jahrhunderts verbessert zu haben [24], allerdings erleben viele Patienten ein Rezidiv. In einer Langzeit-Verlaufsstudie aus dem Deutschen Akromegalieregister, in der ca. 40 % aller Akromegaliepatienten in Deutschland erfasst wurden, waren 20 % der Patienten nach 9 Jahren nicht biochemisch kontrolliert, d.h. es lagen erhöhte IGF-I-Werte vor [26]. Patienten mit unkontrollierter Akromegalie haben eine erhöhte Mortalität [27], außerdem besteht eine Reihe an Komorbiditäten (siehe 1.1.3. Klinisches Bild und Komorbiditäten). Die häufigste Todesursache bei Patienten mit Akromegalie sind kardiovaskuläre Ereignisse [5].

## **1.2. GH**

Das humane Wachstumshormon wird auch Somatotropin, STH oder GH genannt. GH ist ein Polypeptid, das von der Hypophyse ins Blut sezerniert wird und im menschlichen Organismus vorwiegend anabole Wirkung hat.

### **1.2.1. Hypophyse**

Die Hypophyse oder Hirnanhangsdrüse ist eine Hormondrüse, die eine Vielzahl wichtiger Funktionen des Körpers reguliert. Sie befindet sich in der Sella turcica der mittleren Schädelgrube [28]. Es wird zwischen Hypophysenvorderlappen (HVL) oder Adenohypophyse und Hypophysenhinterlappen (HHL) oder Neurohypophyse unterschieden. Die Adenohypophyse ist durch ein komplexes Gefäßnetzwerk mit dem Hypothalamus verbunden, über das sie inhibierende und stimulierende Informationen in Form von Hormonen und Neurotransmittern vom Hypothalamus erhält [28]. Die Adenohypophyse besteht aus sechs verschiedenen differenzierten Zellarten, die unterschiedliche Hormone produzieren und sezernieren. Diese sind kortikotrope, somatotrope, gonadotrope, thyreotrope, laktotrope (auch mammatrope genannt) und mammosomatotrope Zellen. Sie produzieren jeweils Adrenocorticotropes Hormon (ACTH), GH, Luteinisierendes Hormon (LH) und Follikel-stimulierendes Hormon (FSH), Thyreoidea-stimulierendes Hormon (TSH), PRL oder sowohl GH als auch PRL [7]. Über

die Neurohypophyse werden hypothalamische Produkte wie das Antidiuretische Hormon (ADH) und Oxytocin in den Körperkreislauf abgegeben [28].

### **1.2.2. Gen und Struktur**

#### Gen

Der Genlocus für GH liegt auf Chromosom 17 (17q24.2). Es sind 5 Gene identifiziert worden, zwei davon codieren für zwei unterschiedliche GH-Varianten, GH1 (oder GH-N) und GH2 (oder GH-V). Zwei weitere codieren für das Chorionische Somatomammotropin (CS), auch bekannt als Placental Lactogen (PL) und wurden CS1 und CS2 genannt. Das fünfte Gen im Cluster, CS-like (CSL), codiert für ein CS-ähnliches Protein, dessen Funktion noch unklar bleibt. Das GH1-Gen wird in der Hypophyse exprimiert, GH2, CS1 und CS2 in der Plazenta [29]. Diese Arbeit wird sich nur mit den Produkten des GH1-Gens beschäftigen.

#### Genprodukte

Das hauptsächliche Produkt des GH1-Gens wiegt 22,129 Dalton und wird daher 22kDa-GH, oder 22K genannt. Es besteht aus 191 Aminosäuren und ist ein einkettiges Protein mit zwei Disulfidbrücken [29]. 22K besteht aus 4 Helices und besitzt 2 Bindungsstellen für den Growth Hormone Receptor (GHR) bzw. dessen gelöste Form, das Growth Hormone Binding Protein (GHBP) [30].

Es existiert eine Reihe verschiedener Isoformen (siehe 1.2.7. Isoformen). Diese Arbeit wird sich hauptsächlich mit dem zweitwichtigsten Genprodukt von GH1 befassen, nämlich dem 20kDalton-GH, oder 20K, das eine geringere Molekülmasse aufweist als 22K. Außer den Monomeren existiert GH auch in Form von Oligomeren, Homo- sowie Heterodimeren, die aus den verschiedenen GH-Isoformen entstehen [29].

### **1.2.3. GH-Regelkreis**

Die Kontrolle der GH-Sekretion unterliegt einem komplexen System aus sowohl hypothalamischen als auch peripheren Faktoren sowie diversen Feedbackmechanismen. Die physiologisch hauptsächlich daran beteiligten Hormone sind GHRH, Somatostatin (SST oder SRIF für somatotropine-release inhibiting factor) und IGF-I (vgl. Abbildung 1). GHRH wird im Hypothalamus gebildet und ins Blut sezerniert und stimuliert in der Hypophyse die GH-Synthese und –Sekretion. [31]. Die Inhibition der GH-Sekretion ist sowohl durch das hypothalamische Somatostatin als auch durch spezifische Feedback-Mechanismen geregelt. Es besteht ein negatives Autofeedback durch einen short-loop bei hohem GH-Angebot durch GH selbst und ein negatives long-loop-Feedback durch IGF-I und im weiteren Sinne durch Glukose und freie Fettsäuren. Dies geschieht sowohl auf hypothalamischer als auch auf hypophysärer Ebene [11, 31].

Das folgende Schaubild stellt den beschriebenen Regelkreis schematisch dar. Daran anschließend werden verschiedene Bestandteile erläutert.

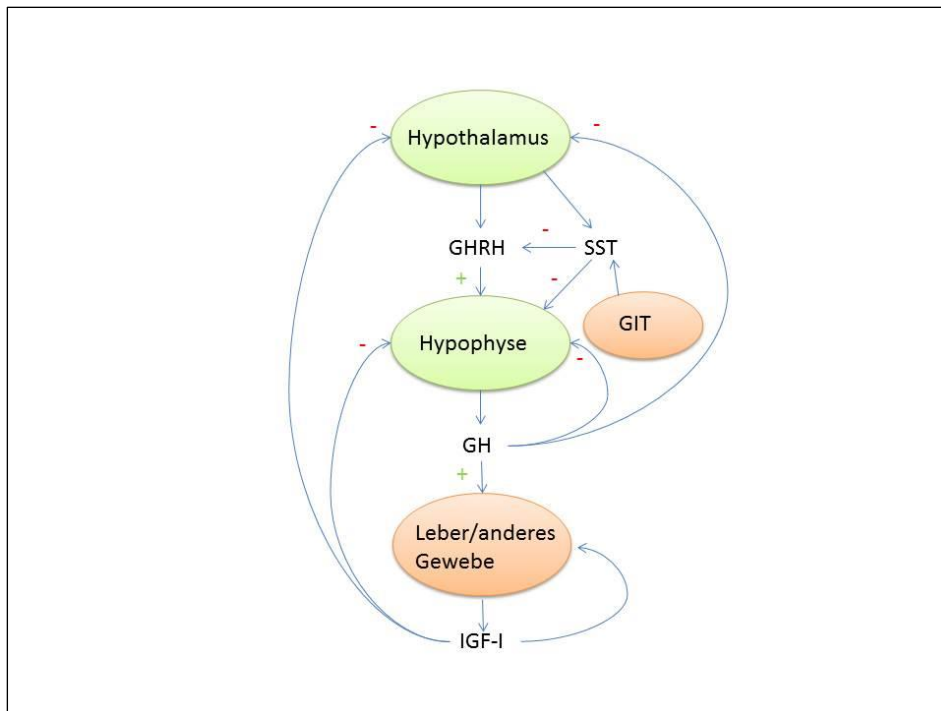


Abbildung 1: schematische Darstellung des GH-Regelkreises

GHRH = Growth Hormone Releasing Hormone; SST = Somatostatin; GIT = Gastrointestinaltrakt; GH = Growth Hormone; IGF-I = Insuline like Growth Factor I

### Hormonelle Regulation

GHRH simuliert die GH-Sekretion. Es wird von neurosekretorischen Zellen im Nucleus Ventromedialis (NVM) und Nucleus arcuatus produziert [22]. Diese hypothalamischen Kerne sind mit verschiedenen Teilen des ZNS' verbunden, z.B. mit dem Nucleus suprachiasmaticus und der Amygdala. Daraus resultiert die GH-Freisetzung bei Tiefschlafbeginn bzw. bei Stress. Auch die GHRH-Freisetzung als Reaktion auf Hypoglykämie wird im NVM reguliert [32].

Somatostatin wird sowohl im Hypothalamus als auch im Gastrointestinaltrakt gebildet. Es hemmt die GH-Sekretion und hat regulierende Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt (GIT) und den Milchhaushalt [32], sowie inhibierende auf ACTH und TSH [33]. Der Grund für diese breite Wirkweise liegt in der Expression mehrerer unterschiedlicher SST-Rezeptorsubtypen im Körper [33].

Ghrelin, ein Regulator der Nahrungsaufnahme [34], wurde als GH-stimulierender Einflussfaktor diskutiert, es nimmt allerdings vermutlich physiologisch nur geringen Einfluss auf die GH-Sekretion [32, 35].

### IGF-I

IGF-I ist ein Wachstums- und Differenzierungsfaktor, der GH-abhängig hauptsächlich in der Leber produziert wird. Teilweise erfolgt die Produktion auch peripher, sowohl GH-abhängig als auch -unabhängig [9]. Die IGF-I-Achse gilt als Schlüsselsystem, das vermutlich in allen Organsystemen des Körpers Zellwachstum und -überleben reguliert [9].

Serumkonzentrationen von IGF-I werden durch verschiedene physiologische Faktoren beeinflusst. Sie steigen korrelierend mit dem GH-Anstieg in der Pubertät an und fallen im Alterungsprozess wieder ab. IGF-I-Konzentrationen zeigen bei Männern etwas höhere Werte als bei Frauen [12, 36]. IGF-I-

Messwerte müssen daher immer alters- und geschlechtsabhängig interpretiert werden. Weil GH die hauptsächliche Determinante für die IGF-I-Synthese der Leber darstellt, resultiert aus einer Verringerung der GH-Synthese oder -Wirkung in Folge eine Erniedrigung der IGF-I-Konzentration. Beispiele hierfür sind Hypopituitarismus, ein GHRH-Rezeptor-Defekt oder ein GH-Rezeptor-Defekt. Hypokalorische Zustände sind mit GH-Resistenz assoziiert; niedrige IGF-I-Konzentrationen sind daher bei Kachexie, Malnutrition und Sepsis zu beobachten, obwohl eine erhöhte GH-Konzentration besteht. Im Falle einer Akromegalie sind als Folge des chronischen GH-Exzesses hohe IGF-I-Konzentrationen zu beobachten [22].

### Einflussfaktoren

Die GH-Sekretion erfolgt pulsatil, es wird berichtet, dass 95 % des GH innerhalb von weniger als einer Stunde (44 Min) ausgeschüttet wird [37]. Von einem gesunden jungen Erwachsenen werden ungefähr 0,25 mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche GH in 24 h produziert (= ca. 0,4-0,5 mg/24 h) , hauptsächlich als „Pulse in Pulsen“ [37]. Die Abgabe der Pulse erfolgt ca. alle 3-4 Stunden [32].

Die höchsten GH-Werte treten in der Nacht auf, normalerweise korrelierend mit Schlafstadium IV (slow-wave), also während des Tiefschlafs. Im Lauf des Lebens sinkt die GH-Produktion und beträgt im mittleren Alter nur noch 15 % der Produktion während der Pubertät. Vermindert ist die GH-Produktion auch bei adipösen Personen, obwohl die IGF-I-Konzentrationen gleich sind [22]. Insgesamt sind die 24 h-GH-Werte bei Frauen etwas höher, was zum Teil auch mit der Stimulation durch östrogenhaltige Präparate zusammenhängt [22].

In Tabelle 1 sind Einflussfaktoren der GH-Sekretion dargestellt.

<b>Stimulation der GH-Sekretion</b>	<b>Hemmung der GH-Sekretion</b>
Tiefschlafbeginn	Glukose
Sport, körperliche Anstrengung	Glukokortikoide (hochdosiert oder chronisch)
Stress	Hypothyreose
Trauma	Hyperthyreose
Sepsis	Höheres Alter
Östrogen (endogen oder oral zugeführt)	Adipositas
Testosteron	
Pubertät	
Chronische Malnutrition	
Fasten	
Proteinhaltige Gerichte	
L-Arginin	
Glukokortikoide (niedrigdosiert oder akut)	

*Tabelle 1: Einflussfaktoren auf die GH-Sekretion*

*GH = Growth Hormone*

Die einzelnen Faktoren wirken auf die basale Sekretion, die Pulsfrequenz oder die Pulsamplitude. Über die basale Sekretion übt auch die Akromegalie ihren Einfluss aus. Die Tatsache, dass GH letztlich pulsatil ausgeschüttet wird, wird durch diese sehr unterschiedlich wirkenden Hormone, Regelkreise und Faktoren hervorgerufen [11].

#### 1.2.4. Wirkung

GH ist ein sehr heterogenes Hormon. Es induziert die IGF-I-Produktion und -sekretion in der Leber, wodurch viele seiner Wirkungen ausgeführt werden, bewirkt aber auch direkt Effekte in unterschiedlichsten Geweben.

Tabelle 2 zeigt die Effekte von GH.

Biologische Aktivität von GH
Förderung des Körperwachstums
Elongation der Wachstumsfugen
IGF-I-Bildung
Aminosäure (AS)-Transport in den Muskel
acid-labile subunit (ALS)- Bildung
Lipolyse
Stickstoffretention
Natriumretention
Phosphorretention
Insulinantagonismus
β-Zell-Hyperplasie
Früher insulin-ähnlicher Effekt
Laktogenese
Modulation der Immunfunktion

Tabelle 2: biologische Aktivität von GH [35]

GH = Growth Hormone, IGF-I = Insulin like Growth Factor I

GH wirkt insulinsynergistisch im Protein-Stoffwechsel und insulinantagonistisch im Kohlehydrat- und Fettstoffwechsel. Das bedeutet Folgendes: Es stimuliert die Proteinsynthese und bewirkt die Zunahme von Skelettmuskelfasern und Muskelkraft. Es wirkt aber auch lipolytisch und steigert sowohl die Freie Fettsäure (FFA)-Oxidation, als auch die FFA-Aufnahme in den Muskel. Außerdem steigert es die Blutglukose durch unterschiedliche Mechanismen, es hat also einen diabetogenen Effekt (siehe unten, GH und der Glukosemetabolismus [9, 28].

Schließlich wachsen durch GH-Einfluss die Proteinspeicher, die lean body mass (LBM) und ein Großteil der Organe, während die Körperfettmasse abnimmt. Die zeitliche Abfolge dieser Auswirkungen von GH ist nicht zu vernachlässigen, die Stimulation der Lipolyse und die Insulinresistenz entwickeln sich innerhalb von 1-2 Stunden, die Stimulation der IGF-I-Produktion scheint eher ein chronischer Prozess zu sein [38].

In Zuständen des Energieüberschusses bewirkt GH Stickstoffretention, bei Energiemangel bewirkt GH die Umstellung des "Brennstoffs" von Glukose und Proteinen auf Fette, was eine große Rolle für das Überleben spielt [38].

Im Weiteren wird der Fokus auf den Effekten von GH auf den Glukosemetabolismus liegen, da der oGTT einen Schwerpunkt der Arbeit darstellt.

#### GH und der Glukosemetabolismus

Der diabetogene Effekt von GH ist schon lange bekannt [39]. Es gibt dafür verschiedene Erklärungsansätze, die vermutlich alle ineinandergreifen:

GH bewirkt durch Stimulation von Glukoneogenese und Glykogenolyse eine gesteigerte Glukoseproduktion [40]. Weiterhin wird die Glukoseaufnahme im Fettgewebe über Regulierung der Glukosetransporter unterdrückt [40, 41]. GH stimuliert die Lipolyse und erhöht so die FFA. Diese spielen wiederum eine Rolle bei der Regulierung von Glukoserezeptoren und Insulinsignalwegen und begünstigen die Entwicklung einer Insulinresistenz. Außerdem kommt es zu einer Akkumulation von Azetyl-Coenzym A (Azetyl-CoA), was wiederum Glukoneogenese und die Freisetzung von Glukose in den Blutkreislauf und damit eine erhöhte Blutglukose bewirkt. [40, 42]. Es wird ein Crosstalk zwischen Insulin- und GH-Rezeptoraktivierung beschrieben [40].

GH erhöht also die Blutglukose durch verschiedene Mechanismen. Die Glukose supprimiert als Feedback-Mechanismus wiederum die GH-Ausschüttung. Diesen Mechanismus macht man sich beim oGTT zunutze (siehe 1.2.8. Messmethoden).

### **1.2.5. GHR und GHBP**

#### GHR

Der GH-Rezeptor, oder kurz GHR, ist ein ubiquitär im Körper exprimiertes Transmembranprotein und der Vermittler der direkten GH-Wirkung [43]. Durch die Rezeptoraktivierung kommt es zur Modulation der Genexpression [44]. Der wichtigste Transkriptionsfaktor für die GH-Wirkung ist der signal transducer and activator of transcription (STAT)5 [45].

Es kann durch Deletion eines Exons zum sog. d3GHR-Polymorphismus kommen. Dieser liegt bei verschiedenen Bevölkerungsgruppen unterschiedlich häufig vor, teilweise bis zu 50 % [46]. Es bestehen evtl. Auswirkungen auf die klinische Präsentation der Akromegalie, sowie Hormonmessungen und Ansprechen auf GHR-Antagonisten [46].

Bei einer Deletion oder Mutation des GHR-Gens kann es auch zum sog. Laron-Syndrom, einem IGF-I-Mangel-Syndrom, kommen. Es ist unter anderem durch Kleinwuchs und Fettleibigkeit charakterisiert [47].

#### GHBP

Das Growth Hormone Binding Protein ist ein wichtiger Modulator der Bioaktivität von GH und wird als gelöste Variante der Extrazellulärdomäne des GHR beschrieben. Es wird zwischen high-affinity- und low-affinity-GHBP unterschieden. Im basalen Zustand ( $\text{GH} < 10 \text{ ng/mL}$ ), also zwischen zwei sekretorischen Pulsen, ist die Hälfte des zirkulierenden 22K und ein Viertel des 20K an high-affinity-GHBP gebunden, außerdem 5-7 % des Gesamt-GH an das low-affinity-GHBP. Die Bindung verzögert die Clearance von GH und verlängert die Halbwertszeit [48]. Klinisch relevant ist die GHBP-Bestimmung hauptsächlich für die Diagnostik des oben genannten Laron-Syndroms, bei dem sehr niedrige GHBP-Konzentrationen zu beobachten sind [49].



### **1.2.6. Metabolismus und Clearance**

Die GH-Konzentration zwischen den Pulsen liegt bei 0,01-1,0 ng/mL, und nach einem sekretorischen Puls bei 1-100 ng/mL. Die höchsten Peaks während des slow-wave-Schlafs liegen bei 10-20 ng/mL und tagsüber bei 2-10 ng/mL [35]. GH besitzt eine hohe Stabilität im Blut, auch bei Veränderung der Temperatur u.a. [35]

Es wird eine große Menge GH in der Niere filtriert, aber nur sehr wenig ausgeschieden. Stattdessen wird ein Großteil rückresorbiert. Daher ist GH nur in sehr geringen Mengen im Urin bestimmbar. Ein weiterer Teil der GH-Elimination geschieht über GHR-vermittelte GH-Aufnahme und intrazellulären Abbau in verschiedenen Geweben, vermutlich hauptsächlich in der Leber [35]. 22K hat eine Halbwertszeit von 19-20 Minuten. Es besteht ein Unterschied zur Clearance von weiteren Isoformen [50].

### **1.2.7. Isoformen**

GH existiert als Serie von Isoformen und zeigt somit Heterogenität auf Ebene der Gene, des mRNA-Splittings, posttranslationaler Prozesse und des GH-Metabolismus'. Die biologische Signifikanz dieser Heterogenität bleibt weitestgehend unbekannt. Die GH-Isoformen stellen aber eine Herausforderung für akkurate Messungen im Blut und eine Standardisierung der Assays dar [29].

Folgende Isoformen des GH1-Genprodukts sind bekannt (siehe Tabelle 3 und Abbildung 2): 22K macht ca. 70-75 % des Gesamt-GHs aus, und 20K stellt 5-10 % des Gesamt-GHs dar. Eine dritte Isoform mit 17,5 kDa, die durch Überspringen des Exons 3 entsteht, wurde als zusätzliche GH-Variante vorgeschlagen [51]. Diese Isoform existiert unter pathologischen Umständen, z.B. beim genetischen GH-Mangel Typ II, es wurde noch nicht in signifikanten Mengen unter physiologischen Umständen nachgewiesen [29, 52]. Außerdem wurden eine aminoacetylierte Form und zwei deaminierte Formen von 22K (22K-GH-Asp152 und 22K-GH-Glu137) gefunden, sowie eine glykosylierte Form, die eventuell ein Artefakt der Extraktion darstellt [29]. Die Sekretion der Isoformen scheint in einem gemeinsamen sekretorischen Ausstoß zu erfolgen [50, 53, 54].

<b>GH-Isoformen</b>	
<i>GH-Monomere</i>	
22K-GH	55 %
20K-GH	6 %
Deamiertes GH	
22K-GH-Asp152	6 %
22K-GH-Glu137	2 %
N-acetyliertes 22K-GH	4 %
Glycosyliertes GH (unbekannt)	
<i>GH-Dimere</i>	
Non-kovalente Dimere (Homo- und Heterodimere)	10 %
Disulfidgebundene Dimere	7 %
Andere nicht dissoziierbare Dimere	1 %
<i>GH-Oligomere</i>	
Non-kovalente Oligomere	5 %
Disulfidgebundene Oligomere	2 %
Andere nicht dissoziierbare Oligomere	< 1 %

Tabelle 3: GH-Isoformen [29]

GH = Growth Hormone; K = Kilodalton

## 20K

Das klassische GH aus Gen GH-1 ist, wie bereits beschrieben, das 22K. Die zweitwichtigste Isoform stellt das 20K dar, das als erstes von Lewis et. al beschrieben wurde [55]. 20K weist, wie der Name sagt, eine etwas geringere molekulare Masse auf als 22K. Es entsteht durch alternatives mRNA-Splicing [56]. Im Vergleich zu 22K fehlen hier die Aminosäuren 32-46 (siehe Abbildung 2) [57]. Es hat dadurch nur 176 Aminosäuren und eine molekulare Masse von 20,274 Da [29].

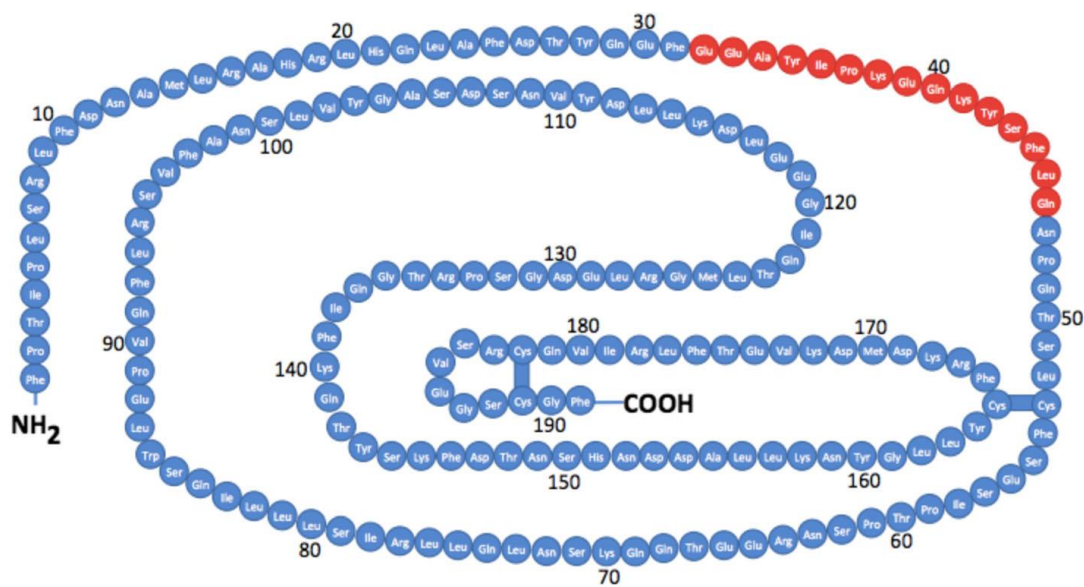


Abbildung 2: GH Primärstruktur

Mit freundlicher Genehmigung von Júnia Ribeiro de Oliveira Longo Schweizer [58]. Die Aminosäurekette repräsentiert 22K, die roten Aminosäuren (Aminosäure-Sequenz 32-46) zeigt den bei 20K fehlenden Teil an.

GH = Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Sekundär- und Tertiärstruktur von 22K und 20K sind sehr ähnlich, eine Bindungsstelle ist allerdings beeinträchtigt durch die fehlende AS-Sequenz [57]. 20K hat eine stärkere Tendenz zu Dimerisieren als 22K [57]. Weniger als ein Drittel von 22K liegt 15-20 Minuten nach einem sekretorischen Puls als Dimer vor (20 % Dimer, 45 % Monomer), aber die Hälfte von 20K (5 % Dimer, 5 % Monomer, siehe Tabelle 3) [59]. Es gibt Hinweise auf eine für 20K spezifische Bindungsstelle eines low-affinity-GHBP oder sogar ein drittes GHBP, das nicht mit dem GHR verwandt ist und nur an die 20K-GH-Isoform bindet. Es wird berichtet, dass 20K zu 80 % daran gebunden ist, während 22K nicht mit dessen Bindungsstelle interagiert [60]. 20K kann 1:2-Komplexe so effizient wie 22K mit GHR bilden, aber nicht 1:1-Komplexe. Es besitzt also eine geringere Affinität zu GHR [61].

#### Clearance:

Es zeigen sich signifikante Unterschiede der Halbwertszeiten von 22K und 20K. Es wird für 22K eine Halbwertszeit von ca. 15 Minuten beschrieben und für 20K ca. 19 Minuten [54]. Die Clearance der dimeren GH-Formen geschieht langsamer als die der Monomere, was bei der erhöhten Fraktion an Dimeren bei 20K die verlängerte Halbwertszeit erklären könnte. Auch die Bindung an GHBP verzögert, wie bereits beschrieben, die GH-Clearance und -elimination und verlängert somit die Bioverfügbarkeit von GH [35]. Es ist jedoch unklar, ob der Grund für die unterschiedlichen Halbwertszeiten nur in der veränderten Clearance zu finden ist oder in der geringeren Affinität zu GHR oder in beidem [35].

#### Biologische Aktivität:

Hayakawa et al. zeigten, dass 20K eine vergleichbare biologische Aktivität im Menschen besitzt wie 22K [62]. Es zeigten sich im Vergleich mit 22K sowohl eine ähnliche Potenz in der Steigerung der IGF-I- und Insulin Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3)-Konzentration, als auch ein ähnlicher Effekt auf Knochenmetabolismus, Body Composition (Reduktion der Fettmasse und Steigerung der LBM) und abdominelle Fettverteilung (Verminderung des viszeralen Fetts). Auch die Wirkung auf das

Fettgewebe mit erhöhten FFAs, die von 22K bekannt ist, war zu beobachten [62]. Es wurde eine verminderte laktogene Aktivität von 20K *in vitro* festgestellt [63].

Die Frage des diabetogenen Effekts von 20K wird in der aktuellen Literatur kontrovers erörtert. In Versuchen mit Ratten wurde eine verminderte diabetogene Aktivität von 20K im Vergleich mit 22K festgestellt [64, 65], ein Effekt, der beim Menschen nicht beobachtet werden konnte [62].

### **1.2.8. Messmethoden**

#### oGTT

Wie erwähnt, wird GH pulsatil ausgeschüttet. Als standardisierte Methode gilt laut den Cortina-Kriterien von 2000 der oGTT [13]. Um verlässliche und vergleichbare Messwerte zu erhalten, trinkt der nüchterne Proband, nachdem die basale Serumprobe abgenommen wurde, eine 75 %-Glukoselösung. Dadurch wird das GH bei gesunden Probanden supprimiert (siehe 1.2.3. GH-Regelkreis). Bei Patienten mit Akromegalie jedoch ist dieser Regulationsmechanismus außer Kraft gesetzt und das GH bleibt auf hohem Niveau. Es wird in festgelegten Zeitabständen Blut abgenommen. Gegen Ende des Tests wird die Glukose in das Gewebe aufgenommen, die Blutglukose sinkt und das GH steigt wieder [13].

#### Problematik der Messmethoden

Es gibt mehrere erhebliche Probleme in der Akromegaliendiagnostik. Einerseits besteht eine große Vielfalt an Messmethoden für GH und IGF-I, sowie an Referenzwerten. Somit ist eine erhöhte Achtsamkeit beim Vergleichen von Laborwerten gefordert. Auch oben genannte Studien von Tsushima et al., Boguszewski et al. und Lima et al. verwendeten sehr unterschiedliche Assaymethoden wie den 22K-exclusion assay oder den time-resolved Fluoreszenz-Immunoassays (TR-IFMA) [66-68]. Andererseits treten im Fall einer Akromegalie relativ häufig diskordante IGF-I- oder GH-Ergebnisse auf, also Situationen, in denen die biochemischen Ergebnisse voneinander oder von dem eigentlichen Krankheitszustand abweichen. Dafür existieren viele Erklärungsansätze, beispielsweise der GHR-Polimorphismus, Dopaminagonisteneinnahme oder Z.n. Bestrahlung [23].

#### GH-Assays

Die Assaymethoden wurden über die Jahre immer genauer und besser und die Cut-off-Werte immer niedriger. Die Entwicklung von Sandwich-Immunoassays basierend auf monoklonalen Antikörpern anstatt der Verwendung kompetitiver Assays mit polyklonalen Antiseren verbesserten sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität erheblich. Dabei entstanden eine Vielzahl an unterschiedlichen Assaymethoden und teilweise sehr spezifische Antikörper, die z.B. nur von 20K gebunden werden. Dadurch ergeben sich teilweise schwer vergleichbare Werte [23]. Ein weiteres Problem stellt die Tatsache dar, dass der neueste internationale Kalibrierungsstandard noch nicht universal angenommen wurde, was die Vergleichbarkeit weiter erschwert [23]. Die Anwendung einer internationalen Guideline gestaltet sich so natürlich schwierig, da es teilweise vom Assay abhängt, ob die Diagnose Akromegalie gestellt wird oder nicht. Außerdem besteht die Wahrscheinlichkeit, dass die Höhe von GH-Nadiren auch von weiteren Faktoren wie Geschlecht und Zyklusphase beeinflusst wird [23].

## 20K-Assays

Als unterschiedliche GH-Isoformen bekannt wurden, wurde zunächst der sog. Non-22K-Assay entwickelt, bei dem 22K-GH aus Serum extrahiert wird und dann der Rest an GH gemessen wird. Dieser Assay ist recht ungenau, um 20K zu bestimmen, da noch weitere Nicht-22K-Isoformen existieren. Es wurde also ein sehr spezifischer Antikörper für 20K benötigt, da schon eine geringe Kreuz-Reaktivität mit 22K erhebliche Messfehler hervorruft. Mellado et. al entwickelten den ersten spezifischen 20K-Antikörper, der allerdings eine relativ schlechte Sensitivität aufwies [69, 70]. Der Antikörper von Hashimoto et al. maß zwar in einer guten Sensitivität 20K, aber nur unter der Bedingung, dass das Protein nicht denaturiert ist, wodurch die Methode weniger verlässlich erscheint [70, 71]. Zida Wu und Christian Strasburger entwickelten schließlich die Methode des TR-IFMA (siehe 1.2.7. 20K) für 22K und 20K. Auch diese funktioniert über je zwei spezifische Antikörper, die mit der GH-Isoform ein Sandwich bilden. Der Messbereich für 20K bei 0,02-20 ng/mL und für 22K bei 0,02-50 ng/mL ist somit sehr sensitiv [70]. Die 20K-Messungen für die vorliegende Arbeit werden im endokrinologischen Labor der LMU mit Antikörpern durchgeführt, die nach der Methode von Zida Wu hergestellt wurden [53].

### 1.3. 20K/22K-Ratio

Das Verhältnis von 20K zu 22K, oder kurz 20K/22K-Ratio, wird durch  $(20K/22K) \times 100$  berechnet. In der Literatur findet sich zumeist  $(20K/(20K+22K)) \times 100$ , also der Anteil von 20K an 20K+22K. Da 20K+22K jedoch nicht 100 % des GH ausmacht, weil noch weitere Isoformen existieren (siehe 1.2.7. Isoformen), entschieden wir uns zur Verwendung des Quotienten. 20K/22K ist höher als 20K/20K+22K, was die Vergleichbarkeit mit einzelnen Studien erschwert. Hier ist nun besondere Vorsicht geboten, da sowohl 20K/22K, als auch 20K/20K+22K in der englischen Literatur als 20K-Ratio bezeichnet werden können. Um sowohl 20K/22K- als auch 20K/20K+22K-Ratio zu beschreiben, wird im Folgenden der Ausdruck „20K-Ratio“ benutzt.

#### 1.3.1. 20K/22K-Ratio im physiologischen Zustand

20K als Anteil des Gesamt-GHs im Plasma befindet sich beim Gesunden zwischen 3 und 15 % [29].

#### Einflussfaktoren

Bisher war bei Geschlechtervergleichen zwar bei Frauen höhere 22K- und 20K-Werte als bei Männern gefunden worden, aber keine höhere 20K-Ratio, also 20K/22K+20K [53, 66] bzw. 20K/22K [54]. Allerdings wurde in besagten Studien nicht zwischen jungen und alten bzw. prä- und postmenopausalen Männern und Frauen unterschieden. Es wird beschrieben, dass keine Veränderung der 20K/22K+20K-Ratio im Laufe des Lebens besteht, ebenso wenig wie ein Unterschied zwischen Erwachsenen und Kindern. Es wird auch beschrieben, dass keine Korrelation zwischen 20K/22K+20K-Ratio und Alter, Größe, Gewicht oder Körperfettmasse bei Gesunden besteht [29, 66]. Boguszewski et al. hingegen beschreiben eine erhöhte Nicht-22K-Ratio bei pubertierenden Jungen im Vergleich zu präpubertären Jungen und eine positive Korrelation von Nicht-22K-Ratio mit Gewicht und BMI [72]. Der Einfluss von Androgenen und oralem Östrogen zeigte bei Leung et al. einen GH-Anstieg ohne Änderung der 20K/22K-Ratio [54].

Wallace et al. beobachteten, dass sich die Proportionen der verschiedenen Isoformen während und nach eines körperlichen Trainings ändern. Direkt nach einem Training kam es in ihrem Versuch zum GH-Peak, währenddessen die Proportionen noch „normal“ waren, aber in der Post-Training-Periode zeigte sich die Proportion der Nicht-22K-Isoformen von GH signifikant erhöht [50]. Es besteht daher Grund zur Annahme, dass körperliches Training ein Auslöser für eine veränderte Heterogenität der Isoformen während oder nach eines GH-Peaks ist. Nindl et al. zeigten, dass ein erhöhter Anteil des dimerisierten GHs sowohl direkt nach Ausdauer- und Krafttraining auftrat, als auch in der auf das Training folgenden Nacht [73].

Bei Zuführung von exogenem 22K wird die 20K-Produktion sehr effektiv supprimiert [54].

Die Datenlage insgesamt zu Einflussfaktoren auf die 20K/22K-Ratio ist spärlich. Verschiedene Einflussfaktoren werden in dieser Arbeit untersucht.

### Dynamik

Baumann et al. beschreiben eine hohe Variabilität der Zusammensetzung der Isoformenanteile innerhalb der GH-Pulse in basalen Perioden, während die spontanen GH-Peaks in ihrer Zusammensetzung sowohl untereinander ähnlich sind, als auch denen der pharmakologisch stimulierten sekretorischen Pulse. Basal wurde ein größerer Anteil größerer Anteil leichter Isoformen und GH-Fragmente wie 20K und acetyliertes GH, sowie eine Vielzahl an weiteren immunreaktiven Substanzen, die nicht identifiziert wurden, gemessen [74]. Leung et al. machten ähnliche Beobachtungen: in der 24 h-Analyse zeigten sich höhere 20K/22K-Ratio-Werte in der basalen GH-Sekretion im Vergleich zur Pulsatilen. Es wird vermutet, dass ein größerer Anteil von 20K im Vergleich zu 22K tonisch sezerniert wird und, dass bei basaler und pulsatiler Sekretion von GH-Isoformen unterschiedliche Mechanismen ablaufen [54].

### **1.3.2. 20K/22K-Ratio bei Patienten mit Akromegalie**

In verschiedenen Studien wurde festgestellt, dass die 20K/22K- bzw. 20K/22K+20K-Ratio bei Patienten mit unkontrollierter Akromegalie signifikant höher ist als bei gesunden Probanden [54, 66-68, 75]. Die Werte korrelierten signifikant mit der Tumorgroße, der mittleren 24 h-GH-Konzentration und den Serumprolaktinwerten [67]. Unter biochemischer Kontrolle, entweder postoperativ oder unter medikamentöser Therapie mit Octreotid, wurde beobachtet, dass die 20K/20K+22K-Ratio dauerhaft sank [75]. Waren Patienten biochemisch nicht kontrolliert, also „not truly cured“, war die 20K/20K+22K-Ratio wiederum erhöht [66, 67].

Über die Ursachen für die erhöhte 20K-Ratio in Seren von Akromegaliepatienten wird bisher noch spekuliert. Es wird angenommen, dass die Adenomzellen absolut und relativ gesehen mehr 20K produzieren als gesunde somatotrope Hypophysenzellen. Aufgrund der Variabilität der 20K-Ratio-Werte ist anzunehmen, dass verschiedene Hypophysenadenome unterschiedliche Mengen an GH, bzw. dessen Isoformen produzieren [67]. Wahrscheinlich ist eine erhöhte 20K-Produktion aus Adenomzellen nicht die einzige Ursache für die erhöhte 20K-Ratio, sondern evtl. auch eine Veränderung der Clearancekinetik mit einer relativen Akkumulation von 20K durch die langsamere Clearance bei chronisch erhöhtem GH. Diese Überlegung stellten unter anderem Murakami et. al und

Baumann et al. an, da die 20K/20K+22K-Ratio bzw. der Anteil von 20K am Gesamt-GH, positiv mit der Gesamt-GH-Konzentration im Serum korrelierte, aber nicht mit der IGF-I-Konzentration [29, 75].

Interessanterweise haben Tsushima et al. auch erhöhte 20K/20K+22K-Ratio bei Anorexia nervosa-Patienten festgestellt (n = 8) [66, 76]. Die Theorie von Murakami et. al, dass eine Veränderung der Clearance mit in die erhöhte 20K-Ratio hineinspielt, würden genannte Ergebnisse untermauern, da bei Anorexia nervosa kein Tumor vorliegt, der 20K produzieren könnte, und die Serum-GH-Konzentration durch Malnutrition chronisch erhöht ist.

### Dynamik

In dieser Arbeit soll unter anderem die Dynamik, also die Änderung der 20K/22K-Ratio während des GH-Suppressionstests untersucht werden, auch hier als Vergleich zwischen gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit Akromegalie. Die Datenlage hierzu ist spärlich. Im Suppressionstest mit Octreotid zeigte sich bei Leung et al. in der Akromegaliegruppe eine Änderung der 20K/22K-Ratio mit einer stärkeren Suppression des 22K im Vergleich zu 20K, also eine Steigerung der 20K/22K-Ratio [54]. Tsushima et al. unterzogen Patienten mit Hypopituitarismus oder Akromegalie auch einem GH-Stimulationstest durch Insulin- oder GHRH-Gabe. Es zeigte sich keine signifikante Änderung der 20K/20K+22K-Ratio innerhalb von einer Stunde [66].

Da die Anzahl der Patienten mit Akromegalie in genannten Studien aufgrund der geringen Prävalenz der Erkrankung eher klein bis mittelgroß (n = 15 [67], n = 33 [76], n = 7 [75]) war, ist eine größere Studie zur Bestätigung der höheren 20K/22K-Ratio bei Akromegaliepatienten, sowie zur Untersuchung von Einflussfaktoren darauf, vonnöten.

## 1.4. Zielsetzung

Ziele dieser Arbeit sind Folgende:

1. Der Vergleich der 20K/22K-Ratio in einer größeren Kohorte nativer (unbehandelter) Patienten mit Akromegalie und einer gesunden Kontrollkohorte.
2. Das Untersuchen eines potenziellen Einflusses von Geschlecht, hormonellem Status, Alter, BMI und Tumorgröße auf die 20K/22K-Ratio.
3. Der Vergleich der Dynamik der 20K/22K-Ratio während eines oGTT bei Patienten mit Akromegalie und gesunden Kontrollprobanden.

Durch diese Arbeit wollen wir einerseits bestehende Daten untermauern und andererseits unbekanntere Fragestellungen bearbeiten. Auf lange Sicht besteht die Hoffnung, einen kleinen Beitrag in der anspruchsvollen Diagnostik der Akromegalie zu leisten.

## 2 Probanden, Material und Methoden

Die Studie AcroCut wird von Dr. med. Katharina Schilbach geleitet.

Die Rekrutierung der Studienteilnehmer sowie die Probensammlung und die direkte Probenverarbeitung erfolgte durch die Doktorandinnen Shiva S. Nicolay und Laura Schwerdt.

### 2.1. Probanden

Für diese Studie wurden insgesamt 244 Teilnehmer für zwei verschiedene Gruppen rekrutiert:

Gruppe 1: 202 gesunde Personen

Gruppe 2: 42 Patienten mit Akromegalie

Es wurden Ein- und Ausschlusskriterien definiert.

Einschlusskriterien (AcroCut):

- Vorliegen der schriftlichen Einverständniserklärung
- Männer zwischen 20 und 75 Jahren
- Frauen zwischen 20 und 75 Jahren (in der Akromegaliegruppe wurde hierbei wegen der niedrigen Probandenzahl eine Ausnahme gemacht und eine 17-jährige Patientin mit aufgenommen)
- Ggf. Patienten mit Akromegalie
- BMI zwischen 17 und 45 kg/m<sup>2</sup>

Ausschlusskriterien (AcroCut):

- Nicht vorhandene Einverständniserklärung
- Bekannter Diabetes mellitus Typ 1 oder 2
- Bekannte pathologische Glukosetoleranz
- BMI < 17 kg/m<sup>2</sup> und > 45 kg/m<sup>2</sup>
- medikamentöse Therapie mit zentral wirksamen Medikamenten
  - Ausnahmen:
    - L-Thyroxin, wobei hier eine euthyreote Stoffwechsellage nachgewiesen werden muss
    - Orale Kontrazeptiva
    - Akromegaliemedikation in der spezifischen Beurteilung
- Vorliegen einer bekannten hypophysären Insuffizienz
- Zustand nach Bestrahlung des Kopfes
- Schwangerschaft
- Alkohol- oder Drogenabusus bis 6 Monate vor Einschluss in die Studie

### 2.2. Studienprotokoll

#### 2.2.1. Rekrutierung

Die Probanden wurden über die endokrinologische Ambulanz sowie über Aushänge rekrutiert.



### **2.2.2. Information und Aufklärung**

Jeder Studienteilnehmer wurde mündlich und schriftlich über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie aufgeklärt. Aufgenommen wurde nur, wer die Einwilligung hierzu und zur Aufzeichnung von Daten im Rahmen der Studie, erteilte.

Ein Abbruch der Studie war vorgesehen, wenn

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

Die Teilnehmer wurden auch darüber informiert, dass es ihnen freisteht, die Studie ohne Angabe von Gründen vorzeitig zu verlassen.

### **2.2.3. Maßnahmen**

Die Untersuchungen im Rahmen der Studie erfolgten an zwei Terminen. Am ersten Termin erfolgten das Aufklärungsgespräch und die Anamnese, am zweiten Termin Untersuchungen und der oGTT. Für den zweiten Termin kam der Studienteilnehmer morgens nüchtern in die endokrinologische Ambulanz, die Aufenthaltsdauer lag bei ca. 4 Stunden.

In der folgenden Auflistung werden alle für diese Arbeit erhobenen Werte und Informationen aufgeführt.

Folgende Erhebungen und Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Studie:

- Anamnese
- Erhebung von Größe und Gewicht zur BMI-Berechnung
- oGTT: 75 g Glukose (Accu Chek Dextrose O.G-T. Saft), Blutentnahme aus Venenverweilkanüle zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten
- Technisch bestimmte Serumparameter
  - An allen Zeitpunkten: Glukose, GH, IGF-I
- Händisch bestimmte Serumparameter: 20K

### **2.2.4. Risiken**

Die Risiken für die Probanden waren sehr gering. Durch die Blutentnahme kann ein Hämatom oder eine Entzündung hervorgerufen werden. Die orale Zufuhr der 75 g-Glukoselösung kann eine reaktive Hypoglykämie verursachen. Dies ist auch bei gesunden Personen möglich, in der Regel transient und durch Nahrungsaufnahme leicht beherrschbar. Alle Blutentnahmen wurden unter ärztlicher Aufsicht in den dafür vorgesehenen Einrichtungen der Medizinischen Klinik durchgeführt. Durch engmaschige Blutzucker-Kontrolle konnte eine eventuelle Hypoglykämie schnell therapiert werden.

Von der Norm abweichende Laborkonstellationen bzw. Glukosestoffwechselstörungen, die zufällig entdeckt wurden, wurden den Probanden mitgeteilt und die entsprechende medizinische Betreuung in die Wege geleitet.

### **2.2.5. Studiendesign**

Die Studie wurde als offene Diagnostikstudie mit prospektiven und retrospektiven Anteilen entworfen. Die oGTT-Serumproben der Patienten mit Akromegalie waren zum Großteil schon vorhanden. Es wurden hier nur Proben von Patienten gemessen, die ihr Einverständnis zur Teilnahme an Studien im Rahmen des NeoExNET gegeben haben.

Die oGTT der gesunden prämenopausalen Frauen erfolgten teilweise schon im Rahmen der PPS-Diab-Studie und wurden nun zur Zweitnutzung herangezogen.

Die gesunden Männer und postmenopausalen Frauen wurden prospektiv untersucht.

## **2.3. Methoden**

### **2.3.1. Probensammlung und -verarbeitung**

Die Blutentnahme wurde basal, also vor Trinken der Glukoselösung durchgeführt, sowie 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten danach. Die Blutentnahme erfolgte aus einem peripheren Gefäß am Unterarm des Probanden. Hierzu diente ein steriles Blutabnahmeset mit Flügelkanüle und Anschlusschlauch mit Multiadapter. Nach Entnahme wurden die Monovetten zunächst 20 Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen und im Anschluss bei 3000 Umdrehungen pro Minute (4 °C) über 10 Minuten zentrifugiert. Das dadurch als Überstand erhaltene Serum wurde abpipettiert, in Kryo-Röhrchen aliquotiert, beschriftet und bis zur endgültigen Analyse bei einer Temperatur von -20 °C gelagert.

### **2.3.2. Probenselektion**

Um eine Auswahl an Proben zu treffen, in denen 20K gemessen werden sollte, wurden alle Proben mit einem 22K-Wert  $\leq 0,35$  ng/mL aussortiert. Dadurch ist sichergestellt, dass keine 20K-Assays mit Serumproben durchgeführt wurden, die dafür eine zu niedrige GH-Konzentration aufwiesen, da der Anteil des 20K am Gesamt-GH, wie bereits erwähnt, bei nur ca. 10% liegt.

Als Validitätskriterium der 20K-Messung wurde der Variationskoeffizient (CV, in Prozent) betrachtet. Wenn dieser sehr hoch ist ( $> 15$  %), weichen die beiden Messungen derselben Serumprobe stark voneinander ab und die Verlässlichkeit des Messwerts, der den Mittelwert zwischen beiden Ergebnissen darstellt, nimmt ab.

Als nicht verlässlich wurden auch 20K-Werte  $\leq 0,025$  ng/mL angesehen, da diese unter das Quantifikationslimit des IFMAs fallen.

Die Wiederholung einer 20K-Messung wurde bei  $CV > 15$  % bei gleichzeitig verlässlich hohem 20K-Wert, also  $> 0,025$  ng/mL, veranlasst und durchgeführt. Die 20K-Werte  $\leq 0,025$  ng/mL bzw. auch in der Wiederholungsmessung  $CV > 15$  % wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Die Messung nach 90 Minuten wurde in der Kontrollgruppe als Teil des oGTT standartgemäß durchgeführt, in der Akromegaliegruppe waren sehr wenige Proben dieses Zeitpunktes vorhanden, sodass entschieden wurde, diesen Zeitpunkt in der Akromegaliegruppe wegzulassen.

### **2.3.3. Messungen**

#### 22K

Die Messung des 22K erfolgte in allen Proben automatisch durch den CLIA IDS-iSYS. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,05 ng/mL, Prinzip ist die Bildung eines Antikörper-Sandwich-Komplexes.

#### 20K

Die Messung des 20K erfolgte durch den hausintern entwickelten Time resolved Immunofluorometric Assay (TR-IFMA oder IFMA), die Nachweisgrenze liegt bei 0,025 ng/mL.

Zuvor musste eine Auswahl der Proben getroffen werden, in denen 20K gemessen werden sollte. Im Zuge dessen wurden alle Proben mit einem 22K-Wert  $\leq 0,35$  ng/mL aussortiert. Dadurch wurde sichergestellt, dass keine 20K-Assays mit Serumproben durchgeführt würden, die dafür ein zu geringes Gesamt-GH aufweisen. Mit den restlichen Proben wurden der 20K-spezifische IFMA durchgeführt.

Der IFMA folgt dem Prinzip des Sandwich-Immunoassays, bei dem das zu detektierende Protein von zwei Antikörpern gebunden wird (vgl. Abbildung 2). Dabei wird der erste Antikörper als Beschichtungsantikörper bezeichnet und vor dem Serum auf die Maxisorp-Platte gegeben. Das Wachstumshormon aus dem danach zugegebenen Serum wird von dem Beschichtungsantikörper gebunden. Der zweite Antikörper, der vor Durchführung des Assays biotinyliert wurde, wird auch Tracer-Antikörper genannt. Dieser wird hinzugegeben und fängt das Wachstumshormon im Sandwich zwischen den beiden Antikörpern ein. An das Biotin kann schließlich Europium binden, ein Metall der Seltenen Erden, das fluorometrische Eigenschaften besitzt. Dessen Leuchtsignale werden als counts per minute (cpm) von einem Victor Multi-Reader gemessen und anhand einer definierten Standardkurve in die korrespondierende Konzentration an 20K umgerechnet.

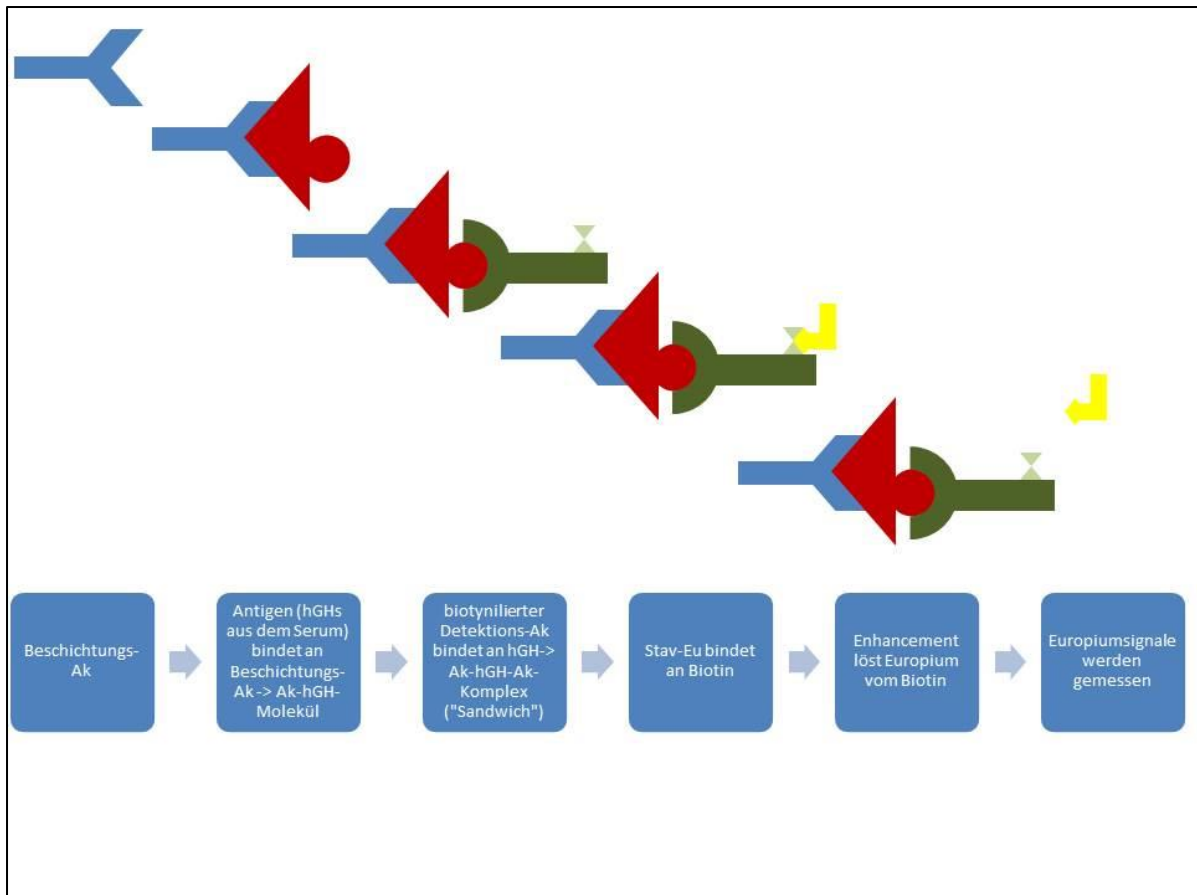


Abbildung 3: Time resolved Immunofluorometric Assay (IFMA)  
 Ak = Antikörper; hGH = humane Growth Hormone; Stav-Eu = Streptavidin-Europium

### Durchführung

Die beschichtete Mikrotiterplatte wird dreimal gewaschen. Anschließend erfolgt das Vorlegen von 75 µl LKC (Trägerflüssigkeit), worauf 25 µl Standards, Kontrollen oder Seren in die Wells pipettiert werden.

Die Platte wird über Nacht bei 4 °C inkubiert.

Während weiteren dreimaligen Waschens wird ein Gemisch aus Tracer-Antikörper und LKC erstellt. Um bei einer optical density (OD) von 0,365 eine Konzentration von 50 ng/100µl zu erreichen, werden 19,2 µl des Antikörpers auf 10 mL LKC gegeben. Von dem Gemisch werden nach Beendigung des Waschgangs 100 µl/well pipettiert. Anschließend wird die Platte bei Raumtemperatur für zwei Stunden auf den Rüttler gestellt.

Weiterhin werden 10 µl Streptavidin-Europium in 10 mL LKC gelöst und nach dreimaligem Waschen der Platte jeweils 100 µl der Lösung in die Wells pipettiert.

Nach einstündiger Inkubation bei 4 °C folgt ein sechsfacher Waschgang und daraufhin das Hinzugeben von 200 µl Enhancementlösung pro Well. Danach wird die Platte für 15 Minuten ohne Folie horizontal geschüttelt. Anschließend erfolgt als letzter Schritt die Messung der Counts durch den Victor Multi Reader.

### 20K/22K-Ratio

Wie erwähnt, wird in dieser Arbeit die 20K/22K-Ratio als der Quotient aus 20K und 22K definiert.

### **2.3.4. Erhebung anthropometrischer und anamnestischer Angaben**

Folgende Angaben wurden standardmäßig während des ersten Termins erhoben und auf dem Studienlaufzettel dokumentiert bzw. errechnet:

#### Kontrollgruppe:

- Alter (in Jahren) und Geburtsdatum (Halbjahr und Jahr),
- Größe (in cm) und Gewicht (in kg) für die BMI-Berechnung
- Geschlecht und ggf. Zyklusphase (prämenopausal: mit oder orale Östrogeneinnahme, Schwangerschaft; postmenopausal).

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass unter Östrogeneinnahme in dieser Arbeit ausschließlich die orale Östrogeneinnahme zu verstehen ist und keine weitere Applikationsform mit einbezogen wird. Dies gilt auch für die Bezeichnung „E<sub>2</sub>“.

#### Akromegaliegruppe:

BMI zum Abnahmezeitpunkt, sowie Angaben zur Medikation wurden den Patientenunterlagen entnommen.

Alle Daten wurden nach den Richtlinien der good clinical practice (GCP) erfasst. Im Zuge dessen wurde jeder Patient mit einem Pseudonym versehen.

### **2.3.5. statistische Datenverarbeitung**

#### Datenauswertung

Die Datenauswertung erfolgte mittels Microsoft Excel und Graphpad Prism Versionen 7 und 8.

Die Angabe von Mittelwerten erfolgt üblicherweise durch Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD, standard deviation). Auf den Abbildungen werden, sofern nicht anders beschrieben, immer der Mittelwert als Punkt und die Standardabweichung als Balken dargestellt, für die Kontrollgruppe in grün und für die Akromegaliegruppe in blau.

Zur Vereinfachung wird die Kontrollgruppe in den Diagrammen und Tabellen mit CON abgekürzt und die Akromegaliegruppe mit ACR.

Teilweise wird eine logarithmische Skala verwendet, um bei geringen und hohen Werten innerhalb eines Graphen eine Verfälschung der subjektiven Wahrnehmung zu verhindern.

Bei einem Ergebnis von  $< 0,05$  ng/mL in der 22K-Messung des iSYS, wird mit dem Wert 0,04 ng/mL gerechnet.

Zeitpunkt 90 wurde in der Akromegaliegruppe weggelassen. In der Kontrollgruppe wurden die Werte bei den Gesamtmessungen miteinberechnet, bei Vergleichen mit den Werten der Akromegaliegruppe hinsichtlich des Zeitverlaufs jedoch nicht.

Der Nadir stellt den niedrigsten Wert während des oGTT, also der gesamten Probenreihe, dar.

## Verwendete Tests

Zur Prüfung der Normalverteilung wird der D'Agostino-Pearson Omnibus Normalitätstest durchgeführt.

Zum Vergleichen von zwei unabhängigen Gruppen mit nicht-normal verteilten Werten wird der Mann-Whitney-Test durchgeführt, bei normal-verteilten Werten ein t-Test.

Zum Vergleichen von drei oder mehr unabhängigen Gruppen mit nicht-normal verteilten Werten wird der Kruskal-Wallis-Test verwendet, ein nichtparametrischer Test. Darauf folgend wird zusätzlich Dunn's multiple comparisons Test durchgeführt, um die einzelnen Gruppen jeweils untereinander zu vergleichen.

Zum Vergleichen dreier oder mehr unabhängiger Gruppen mit normal verteilten Werten wird der ANOVA verwendet, ggf. mit nachfolgendem Tukey's multiple comparisons test.

Um Effekte von Glukose, BMI und Alter zu detektieren wird eine lineare Regressionsanalyse angewendet.

## Interpretation

Das Signifikanzniveau liegt bei 5 %, d.h. Analysen mit p-Werten von  $p < 0,05$  werden als signifikant angesehen. Als hochsignifikant werden Analysen mit resultierenden p-Werten  $< 0,0001$  angesehen.

Bei der linearen Regressionsanalyse bezeichnet  $r$  den Korrelationskoeffizienten nach Pearson. Die Korrelation ist nach Cohen stark ab  $r = +/-0,5$ , mittel ab  $r = +/-0,3$  und schwach ab  $r = +/-0,1$  [77].

$r^2$ , also das Quadrat des Korrelationskoeffizienten  $r$ , ist das Bestimmtheitsmaß und kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Je näher an 1, desto besser kann durch einen x-Wert der dazugehörige y-Wert vorhergesagt werden. Die Anpassungsgüte ist also gut bei einem  $r^2$  von 0,25, mittelmäßig bei  $r^2 = 0,09$  und gering bei  $r^2 = 0,01$  [77].

Hinsichtlich der multiplen Regressionsanalyse ergeben sich für den multiplen Determinationskoeffizienten  $R^2$  andere Werte mit guter Anpassungsgüte bei  $R^2 = 0,26$ , mittelmäßiger bei  $R^2 = 0,13$  und geringer bei  $R^2 = 0,02$ .  $R^2$  hat einen positiven Bias, da es sich mit Hinzufügen weiterer Variablen nicht verschlechtern kann. Daher wird zusätzlich das korrigierte  $R^2$  angegeben, bei dem dieser Bias herausgerechnet werden soll [77].

Die Durbin-Watson-Statistik gibt an, inwiefern eine Autokorrelation der Residuen vorliegt. Hierbei soll der Wert möglichst nahe an 2 liegen. Er kann Werte zwischen 0 und 4 annehmen.

## 2.4. Reagenzien und Materialien

### 2.4.1. Serumproben

Serumproben von Akromegaliepatienten aus AcroCut während Durchführung eines oGTT.  
Zeitpunkte: 0' - 30' - 60' - 120' - 180'.

Serumproben von gesunden Kontrollprobanden aus AcroCut, während Durchführung eines oGTT.  
Zeitpunkte: 0' - 30' - 60' - 90' - 120' - 180'.

#### 2.4.2. Liste der Reagenzien und Materialien

- Mikrotiterplatten: Maxisorp, Fa. Nunc, Art.-Nr. 442404
- Beschichtungspuffer: di-Natriumhydrogenphosphatpuffer, 50 mM, pH 7,4
- Beschichtungsantikörper: 1G12, OD = 1,262 (freundlicherweise von Zida Wu überlassen worden)
- Standardkurve 20K (MS-706), Fa. Mitsui
- Schafserum, Fa. Sigma, S-2263
- Kontrollen aus gepoolten Humanseren, Aliquots à 125 µl, Low und High
- biotinylierter Antikörper b-5C4, OD = 0,365 (Inhouse-Antikörper, entwickelt nach der Methode von Zida Wu [53])
- Neutravidin-Europium
- Enhancementlösung

Alle Reagenzien wurden vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig gemischt.

##### Plattenbeschichtung:

Maxisorp-Platte mit 1G12 (500 ng/100 µl in 50 mM PO<sub>4</sub>-Puffer pH 7,4) beschichten, OD 1,262 = 0,901 mg/mL, d.h. 55,5 µl auf 10 mL PO<sub>4</sub>-Puffer. Die so beschichteten Platten sind ca. 4 Wochen im Kühlschrank haltbar.

##### Standardkurve:

Aus dem Standardstock (10 µg/mL) folgende Standardpunkte in Schafserum verdünnen und à 250 µl aliquotieren: 0 - 0,025 - 0,05 - 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 ng/mL

##### Kontrollen:

Gepoolte Humanseren, Aliquots à 125 µl, Low und High, Ko 1, Ko 5

##### Tracer:

Biotinylierter Antikörper (b-5C4 50 ng/well) (OD = 0,365)  
OD = 0,365  $\pm$  0,261 mg/mL, d.h. 19,2 µl auf 10 mL LKC Puffer

#### 2.4.3. Puffer und Lösungen

##### Waschpuffer für Mikrotiterplatten

10 phosphate buffered saline- (PBS) Tabletten in 2 L entionisiertem H<sub>2</sub>O lösen und auf dem Magnetrührer mischen. 1 mL Tween20 dazupipettieren und mischen.

##### Beschichtungspuffer

8,9 g Dinatriumhydrogenphosphatdihydrat (HNa<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P) x 2 H<sub>2</sub>O in ca. 800 mL Aqua dest. lösen und den pH-Wert mit Phosphorsäure auf 7,4 einstellen. Anschließend mit Aqua dest. auf 1 L auffüllen.

## LKC

12 g NaCl, 18 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan, 1 g Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ), 0,2 g Tween 40 in 1,2 L aqua bidest. Mit Salzsäure (HCl) auf pH 7,75 einstellen. 10 g Bovines Serumalbumin, 1 g Bovines Gamma-Globulin, 15,74 mg Diethylenetriaminepentaacetat. Mit aqua bidest auf 2 L auffüllen. Über Nacht quellen lassen. Filtration zunächst über 8  $\mu$ -Filter, anschließend über 0,8  $\mu$ -Filter.

### **2.4.4. Liste der Geräte**

Für die Zubereitung der Reagenzien wurden akkreditierte Kleingeräte wie Waagen, Magnetprüher, pH-Meter und Schüttler benutzt.

#### Victor 4 Multi Reader

Multilabel Counter, Perkin Elmer, Singapore, manufactured for WALLAC Oy, Turku, Finland  
1420-012, Seriennummer: 4205788

Gerätesoftware: Wallac

Berechnungsprogramm: WIACALC, Workout

#### IDS iSYS

IDS France SA,  
42, rue Sergent Stephane Mazeau, 21320 Pully en Auxois, FRANCE  
Nummer: B300B0523



### 3 Ergebnisse

Zur Auswertung der Ergebnisse erfolgt die Unterteilung in Gesamtwerte und Einflussfaktoren. Hinsichtlich der Gesamtwerte werden die 22K-, 20K- und die daraus errechneten 20K/22K-Ratio-Werte analysiert, einschließlich des jeweiligen Nadirs, der wegen seines diagnostischen Wertes von großer Relevanz ist. Danach erfolgt die Betrachtung der Werte unter dem Gesichtspunkt verschiedener Einflussfaktoren. Dazu gehört als exogener Faktor, dem alle Probanden in gleichem Maße ausgesetzt sind, Glukose. Geschlecht, Alter, BMI und Tumorgröße wiederum stellen endogene, individuelle Faktoren dar, die teils veränderbar und teils unveränderbar sind.

#### 3.1. Gruppen

##### 3.1.1. Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand ursprünglich aus 204 Probanden, 3 Probanden schieden nach Synkope, schwerer Hyperglykämie in der Basalmessung, bzw. nachträglichen Informationen über hohe Medikamenteneinnahmen, aus. So besteht die Gruppe aus 201 gesunden Probanden, davon sind 93 Männer und 108 Frauen (vgl. Tabelle 4).

Die Kontrollprobanden werden unterteilt in Männer unter 50 Jahren, dargestellt als < 50 (n = 32) und Männer über 50 Jahre, dargestellt als > 50 (n = 61), sowie bei den Frauen in postmenopausal (n = 34), prämenopausal (n = 36) und prämenopausal mit Östrogeneinnahme (E<sub>2</sub>; n = 38).

Das mittlere Alter bei oGTT liegt bei 37,4 (SD = 14,6) Jahren, mit einer Range von 55 Jahren (Minimum: 20, Maximum: 75 Jahre).

Kontrollgruppe	Gesamt	Männer gesamt	Männer < 50	Männer > 50	Frauen gesamt	Prä- meno- pausal	Post- meno- pausal	Prä- meno- pausal mit E <sub>2</sub>
	♀ + ♂	♂			♀			
<b>n</b>	201	93	61	32	108	36	34	38
<b>Alter (M)</b>	37,4	38,7	29,8	55,7	36,1	28,6	56,1	25,3

Tabelle 4: Kontrollgruppe aufgeteilt nach Geschlecht, Alter und Zyklusphase

E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; n = Anzahl; M = Mittelwert

115 Probanden werden der BMI-Gruppe I zugeordnet ( $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ ; 57,2 %), 51 der Gruppe II (25-30  $\text{kg/m}^2$ ; 25,4 %) und 35 der Gruppe III ( $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ; 17,4 %) (vgl. Abbildung 3). Der BMI liegt durchschnittlich bei  $25,6 \text{ kg/m}^2$  (SD = 5,36), mit einer Range zwischen 17,3 und  $53,1 \text{ kg/m}^2$ .

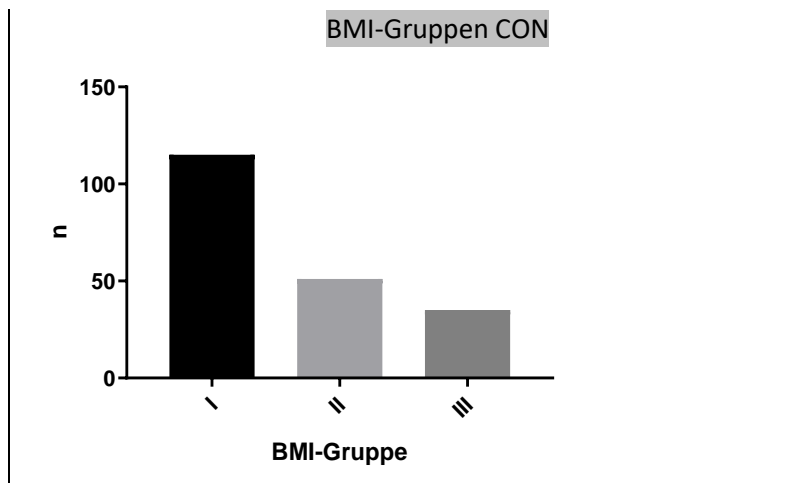


Abbildung 4: BMI-Gruppen (Kontrollgruppe)  
 BMI = Body mass index; CON = Kontrollgruppe; n = Anzahl

Es wird bei jedem der 201 Probanden zu sechs Zeitpunkten Blut entnommen. In diesen insgesamt 1206 Serumproben wird 22K bestimmt. 20K konnte davon verlässlich in 471 Proben bestimmt werden, also in 39,1 % der Proben (siehe 2.3.2. Probenselektion, vgl. Tabelle 5). Bei 148 (73,6 %) der 201 Kontrollprobanden konnte mindestens eine Probe gemessen werden.

Zeitpunkt	0	30	60	90	120	180	gesamt
n gesamt	201	201	201	201	201	201	1206
n 20K messbar	114	105	73	40	43	96	471
In %	56,7 %	52,2 %	36,3 %	19,9 %	21,4 %	47,8 %	39,1 %

Tabelle 5: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist, nach Zeitpunkt (Kontrollgruppe)  
 n = Anzahl; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Die Gruppe, in der der größte Anteil der Proben gemessen werden kann, sind die prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme (69,3 %), gefolgt von den prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme (55,6 %) und den postmenopausalen Frauen (32,4 %, vgl. Tabelle 6).

Kontrollgruppe	Gesamt	Männer	Männer < 50	Männer > 50	Frauen	Prämenopausal	Postmenopausal	Prämenopausal mit E <sub>2</sub>
n	1206	558	366	192	648	216	204	228
n 20K messbar	471	127	89	38	344	120	66	158
In %	39,1 %	22,8 %	24,3 %	20 %	53,1 %	55,6 %	32,4 %	69,3 %

Tabelle 6: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist, nach Geschlecht (Kontrollgruppe)  
 E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; n = Anzahl; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Es wird IGF-I zum Ausschluss einer Akromegalie bestimmt und mit alters- und geschlechtsspezifischen Referenzwerten interpretiert. IGF-I wird dann als oberer Referenzgrenzwert (upper limit of normal, ULN) multipliziert mit x angegeben. Ungefähr 5% der Normalbevölkerung liegt außerhalb der alters- und geschlechtsspezifischen Referenzwerte [12]. In unserer Kontrollgruppe liegt der Mittelwert bei 0,67 x ULN und zeigt eine Range zwischen 0,3 und 1,24 x ULN. Fünf

Probanden weisen einen IGF-I-Wert > 1 x ULN auf, bei diesen liegt der 22K-Nadir allerdings auch unter 0,4 ng/mL, sodass eine Akromegalie ausgeschlossen werden kann.

### 3.1.2. Akromegaliegruppe

Die Gruppe der Akromegaliepatienten umfasst 42 native (unbehandelte) Patienten, 22 Männer und 20 Frauen (vgl. Tabelle 7). Es wird auch hier unterteilt in Männer unter 50 Jahren (n = 16) und Männer über 50 Jahren (n = 6), sowie bei den Frauen in postmenopausal (n = 7), prämenopausal (n = 9) und prämenopausal mit Östrogeneinnahme (n = 4).

Das mittlere Alter bei oGTT liegt bei 43,8 Jahren (SD = 14,0), mit einer Range von 50 Jahren (Minimum: 17, Maximum 67 Jahre).

Bei 11 Patienten liegt ein Mikroadenom vor, bei 29 ein Makroadenom und bei Zweien ist die Tumorgroße nicht bekannt.

Akromegalie-gruppe	Gesamt	Männer gesamt	Männer < 50	Männer > 50	Frauen gesamt	Prä-meno-pausal	Post-meno-pausal	Prä-meno-pausal mit E <sub>2</sub>
	♀ + ♂	♂			♀			
n	42	22	16	6	20	7	9	4
Alter (M)	43,8	41,4	34,3	60,3	46,4	61,6	37,6	39,5

Tabelle 7: Akromegaliegruppe aufgeteilt nach Geschlecht, Alter und Zyklusphase  
E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; n = Anzahl; M = Mittelwert

7 Patienten werden der BMI-Gruppe I zugeordnet ( $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ ; 17 %), 18 der Gruppe II ( $25-30 \text{ kg/m}^2$ ; 43 %) und 10 der Gruppe III ( $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ; 24 %) (vgl. Abbildung 4). Bei 7 Patienten kann der BMI aufgrund fehlender Daten nicht ermittelt werden. Der BMI-Mittelwert liegt bei  $28,2 \text{ kg/m}^2$  (SD = 5,03) mit einer Range zwischen 20,5 und  $41,0 \text{ kg/m}^2$ .

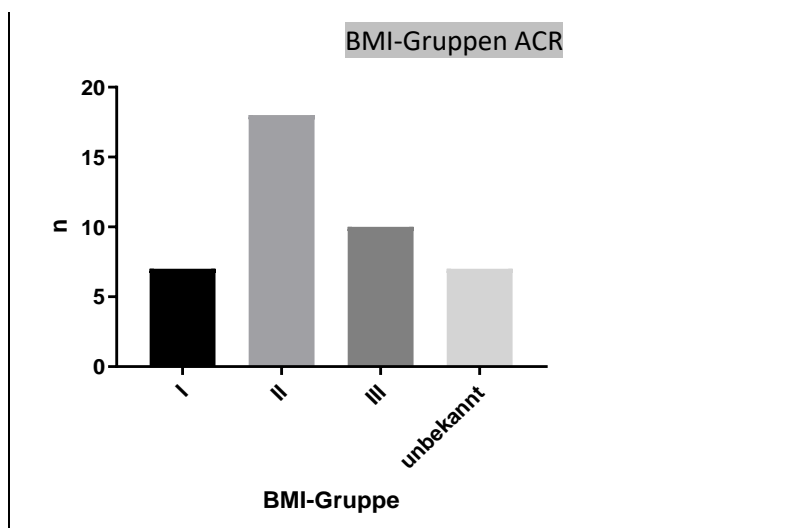


Abbildung 5: BMI-Gruppen (Akromegaliegruppe)  
BMI = Body mass index; ACR = Akromegaliegruppe; n = Anzahl

Bei den Patienten mit Akromegalie wird zu 5 Zeitpunkten Blut entnommen.

Durch die große Heterogenität der Abnahmezeitpunkte und -umstände bei den oGTTs der Patienten mit Akromegalie, fehlten Proben, bzw. beinhalteten einen zu geringen Serumrest. Darum beinhaltet der Probenpool 12 Proben weniger, es sind 198 vorhanden.

Nur eine der 198 Proben liegt mit dem 22K < 0,35 ng/mL und kann daher nicht für die 20K-Messung verwendet werden. Somit liegt der Anteil der messbaren Proben bei 99,5 % (vgl. Tabellen 8 und 9).

Zeitpunkt	0	30	60	120	180	gesamt
n	42	39	41	42	34	198
n 20K messbar	42	39	41	41	34	197
In %	100 %	100 %	100 %	97,6 %	100 %	99,5 %

Tabelle 8: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist (Akromegaliegruppe)

n = Anzahl; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Akromegaliegruppe	Gesamt	Männer	Männer < 50	Männer > 50	Frauen	Prämenopausal	Postmenopausal	Prämenopausal mit E <sub>2</sub>
n	198	104	75	29	94	43	33	18
n 20K messbar	197	103	74	29	94	43	33	18
In %	99,5 %	99,04 %	98,67 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Tabelle 9: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist, nach Geschlecht (Akromegaliegruppe)

E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; n = Anzahl; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Die eine Probe, die nicht gemessen werden kann, stammt von einem 42-jährigen Mann mit einem BMI von 39,5kg/m<sup>2</sup> zum Zeitpunkt 120'.

### 3.2. Gesamtwerte

Zuerst erfolgt eine Betrachtung der Gesamtwerte der 22K-, 20K- und 20K/22K-Ratiomessung in Kontroll- und Akromegaliegruppe ohne weitere Faktoren. Außerdem werden Nadir und Basalwert verglichen.

Die Daten sind als Gesamtwerte mit Vorsicht zu interpretieren, da die Dynamik in den Änderungen der Werte je nach Gruppe und Wert sehr unterschiedlich ist. Als guter Vergleichswert eignet sich die Basalmessung, da hier die Probanden dieselben Voraussetzungen haben, zeitliche Unterschiede im Glukosemetabolismus spielen noch keine Rolle.

### 3.2.1. 22K

#### 3.2.1.1. Kontrollgruppe

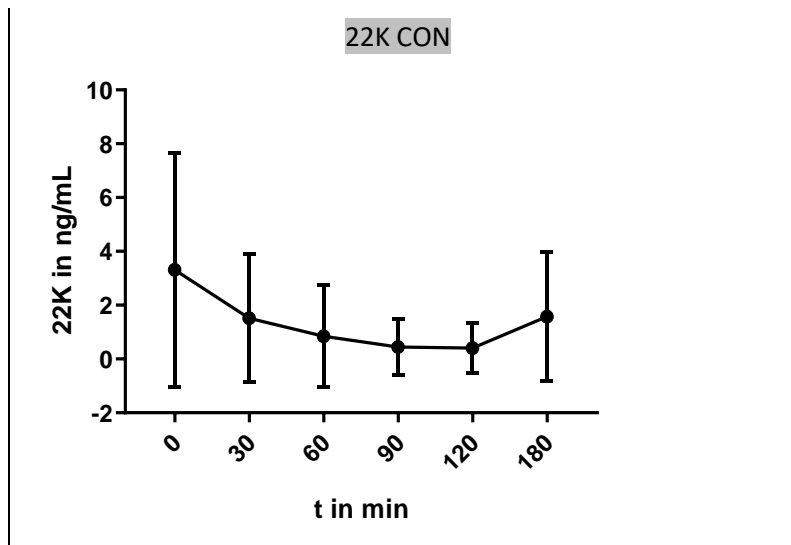


Abbildung 6: 22K im oGTT (Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Die Ergebnisse der 22K-Messung der Kontrollen entsprechen unseren Erwartungen. Sie (jeweils n = 201) liegen zu Beginn des oGTT im Mittel bei 3,31 ng/mL (SD = 4,34) und werden nach Trinken der Glukoselösung im Zeitverlauf signifikant supprimiert ( $p < 0,0001$ ), der niedrigste Punkt ist mit einem Mittelwert von 0,41 ng/mL (SD = 0,92) nach 120 Minuten erreicht. Die hier aufgeführten 22K-Mittelwerte bei den einzelnen Zeitpunkten sind nicht zu verwechseln mit den Nadir-Mittelwerten, die sich deutlich niedriger darstellen (s.u.). Nach 180 Minuten steigen die Werte wieder an (vgl. Abbildung 5). Das Signifikanzniveau wird mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests und eines darauffolgenden Dunn's multiple comparisons tests bestimmt.

In der Kontrollgruppe liegen 197 Probanden von 201, also 98 % mit ihrem 22K-Nadir bei  $< 1,0$  ng/mL, also unter dem diagnostischen Grenzwert. Der Zeitpunkt, an dem bei den meisten Probanden (75 von 201, 37,3 %) der 22K-Nadir gemessen wurde, war 120 Minuten nach Glukosegabe (siehe Tabelle 10).

Zeitpunkt	0	30	60	90	120	180
n Nadir	28	19	18	39	75	22
In %	13,93	9,45	8,96	19,4	37,31	10,95

Tabelle 10: Zeitpunkt der 22K-Nadirmessung (Kontrollgruppe)

n = Anzahl; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone

Es folgt der Vergleich zwischen Nadir und 22K-Basalwert.

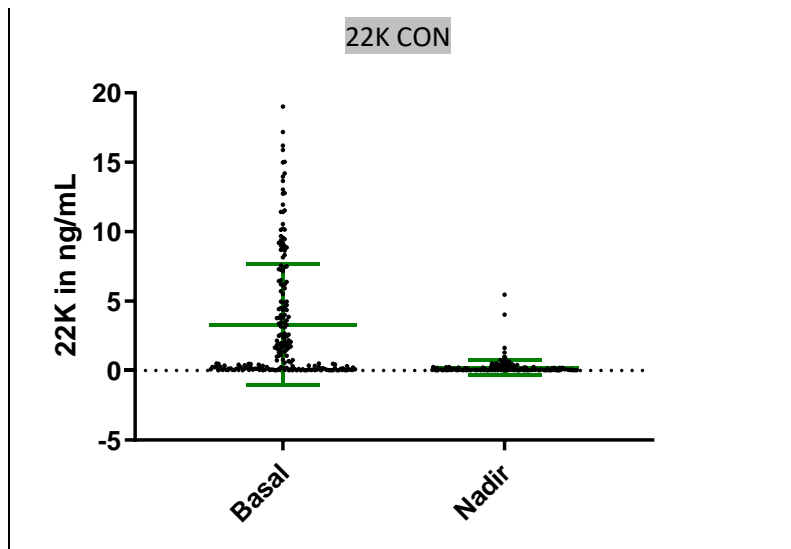


Abbildung 7: 22K basal und Nadir (Kontrollgruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

Der Unterschied ist optisch eindrücklich und statistisch im Mann-Whitney-Test hochsignifikant ( $p < 0,0001$ , jeweils  $n = 201$ ). Der Mittelwert der Basalmessung liegt bei  $3,31 \text{ ng/mL}$  ( $SD = 4,34$ ), der Mittelwert des Nadirs bei  $0,23 \text{ ng/mL}$  ( $SD = 0,51$ ).

### 3.2.1.2. Akromegaliegruppe

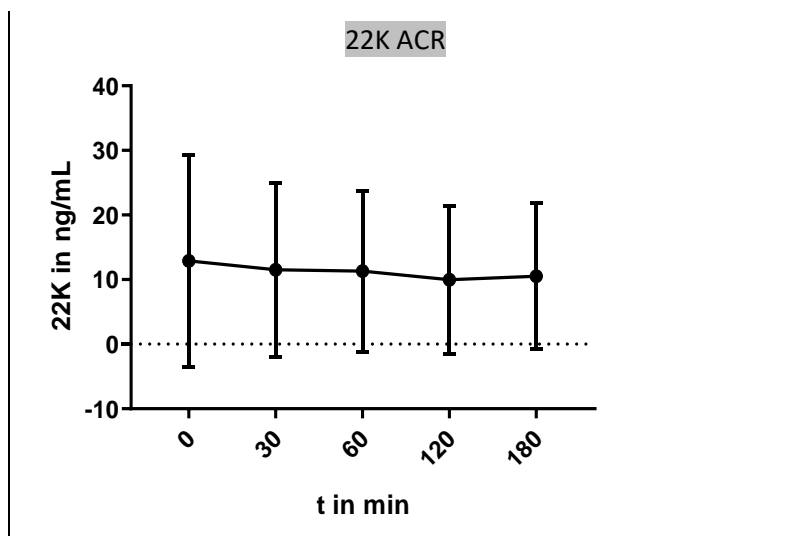


Abbildung 8: 22K im oGTT (Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

In der Akromegaliegruppe zeigen sich die 22K-Werte zum einen insgesamt höher und zum anderen nicht supprimiert durch die Glukosezufuhr ( $p = 0,91$ ), die Mittelwerte liegen ausnahmslos über dem Cut-off von  $1,0 \text{ ng/mL}$ . Auch das entspricht unseren Erwartungen. Die Mittelwerte schwanken zwischen  $12,9 \text{ ng/mL}$  ( $SD = 16,4$ ) basal und  $9,99 \text{ ng/mL}$  ( $SD = 11,4$ ) bei 120 Minuten. Die Mediane zu den einzelnen Zeitpunkten zeigen sich im Dunn's test bei keinem Vergleich signifikant unterschiedlich ( $p > 1,0$ ;  $0'$ :  $n = 42$ ;  $30'$ :  $n = 39$ ;  $60'$ :  $n = 41$ ;  $120'$ :  $n = 42$ ;  $180'$ :  $n = 34$ ).

Zeitpunkt	0	30	60	120	180
n Nadir	3	12	4	15	8
In %	7,14	28,57	9,52	35,71	19,05

Tabelle 11: Zeitpunkte 22K-Nadirmessung (Akromegaliegruppe)

n = Anzahl; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone

Auch in der Akromegaliegruppe trat der Nadir bei den meisten Patienten (n = 15; 35,7 %) zum Zeitpunkt 120 auf (vgl. Tabelle 11).

Im Vergleich des Nadirs und des Basalwerts zeigte sich in der Akromegaliegruppe folgendes Bild:

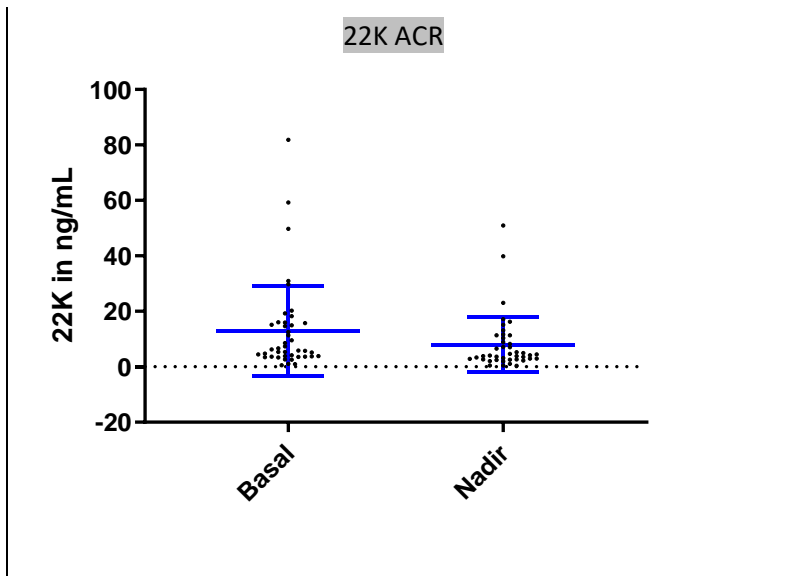


Abbildung 9: 22K basal und Nadir (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

Der Unterschied zwischen Basalwert und Nadir ist auch hier signifikant (jeweils n = 42; p = 0,036) mit basalen Mittelwerten von 12,9 ng/mL (SD = 16,39) und Nadir-Mittelwerten von 7,97 ng/mL (SD = 9,97; vgl. Abbildung 8).

Um herauszufinden, wie das Ergebnis eines diagnostischen Tests auf Akromegalie bei unserer Akromegaliekohorte ausgefallen wäre, betrachten wir den Nadir, besonders die untersten Werte, noch einmal genauer (vgl. Abbildung 9). Für eine bessere Ansicht werden drei Ausreißer des hohen Wertebereichs (50,96 ng/mL, 39,82 ng/mL und 23,09 ng/mL) identifiziert und gelöscht.

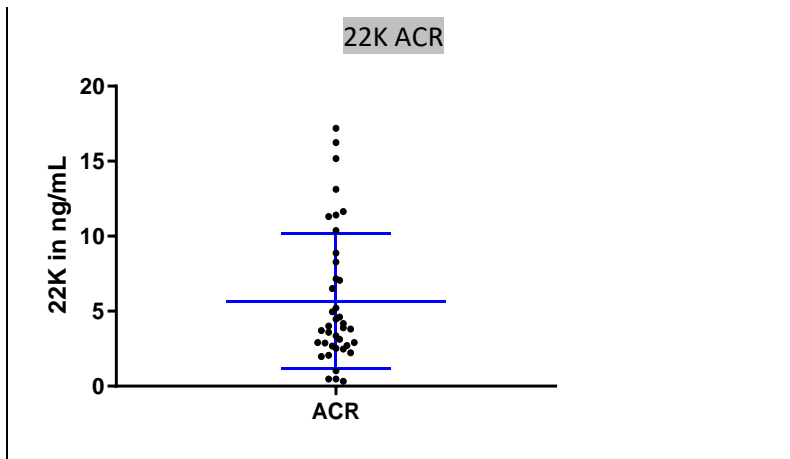


Abbildung 10: 22K-Nadir, ohne Ausreißer (Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In Abbildung 9 ist zu sehen, dass die Nadire eine große Bandbreite aufweisen. Die niedrigsten Werte liegen bei 0,32 ng/mL, 0,47 ng/mL und 0,48 ng/mL. Aus diesem Patientenkollektiv liegen 3 von 42, also 7,1 % unter dem oben beschriebenen Grenzwert von 1,0 ng/mL.

### 3.2.1.3. Vergleich

Zum Vergleich zwischen Kontroll- und Akromegaliegruppe werden die 22K-Mittelwerte in zwei Schaubildern dargestellt, einmal mit linearer Achse, einmal mit logarithmischer Achse zur einfacheren Ansicht.

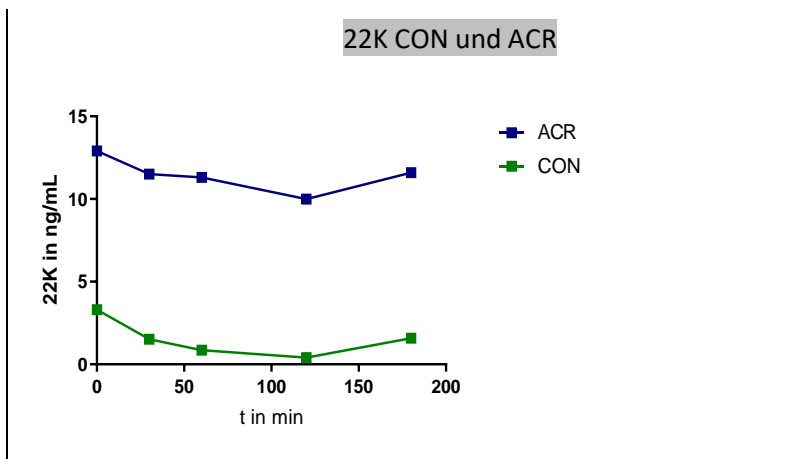


Abbildung 11: 22K im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit, oGTT = oraler Glukosetoleranztest



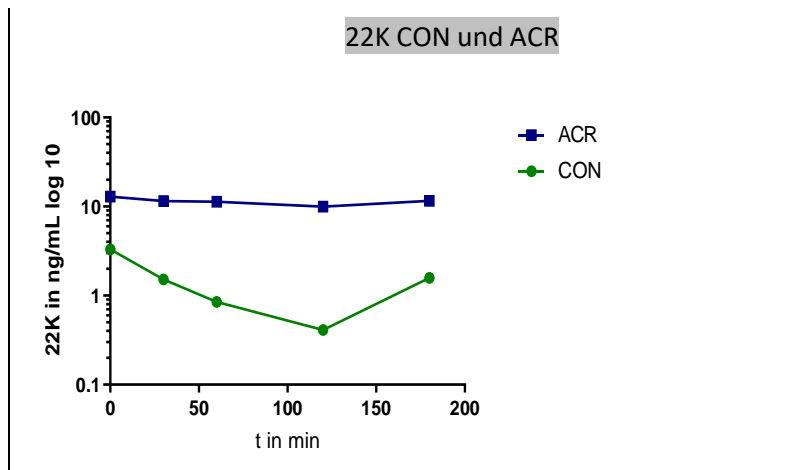


Abbildung 12: 22K im oGTT, log10 (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Zeit in Minuten	Kontrollgruppe (22K in ng/mL)	Akromegaliegruppe (22K in ng/mL)
0	3,31	12,90
30	1,52	11,50
60	0,85	11,30
120	0,41	9,99
180	1,58	10,50

Tabelle 12: 22K in ng/mL (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone

Dunn's test	Angepasster p-Wert
ACR 0 vs. CON 0	< 0,0001
ACR 30 vs. CON 30	< 0,0001
ACR 60 vs. CON 60	< 0,0001
ACR 120 vs. CON 120	< 0,0001
ACR 180 vs. CON 180	< 0,0001

Tabelle 13: Dunn's test 22K im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

ACR = Akromegaliegruppe; CON = Kontrollgruppe

In Abbildungen 10 und 11 ist zu sehen, wie die 22K-Werte der Kontrollgruppe deutlich unter denen der Akromegaliegruppe liegen und eine stärkere Dynamik aufweisen. In Tabelle 12 sind die zugehörigen Mittelwerte dargestellt. Der Unterschied zwischen Akromegalie- und Kontrollgruppe ist im Kruskal Wallis-Test und Dunn's test zu jedem Zeitpunkt signifikant ( $p < 0,0001$ ; vgl. Tabelle 13).

Es folgt eine Betrachtung des Gesamt-22K, des basalen 22K und des 22K-Nadirs.

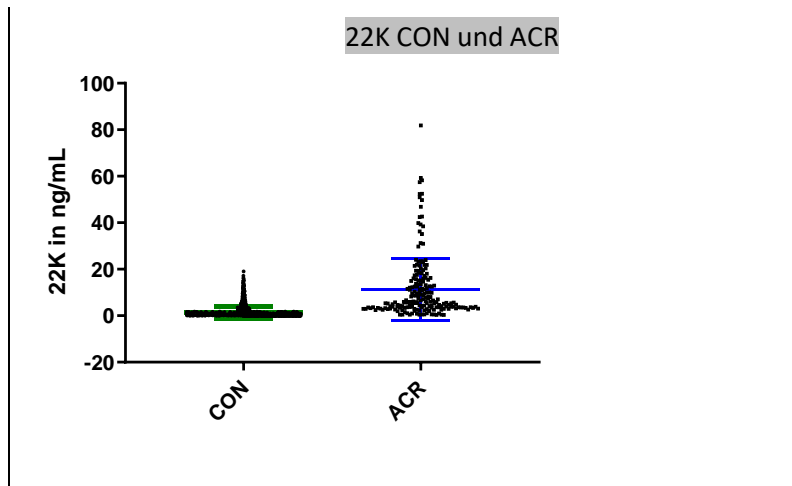


Abbildung 13: 22K gesamt (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

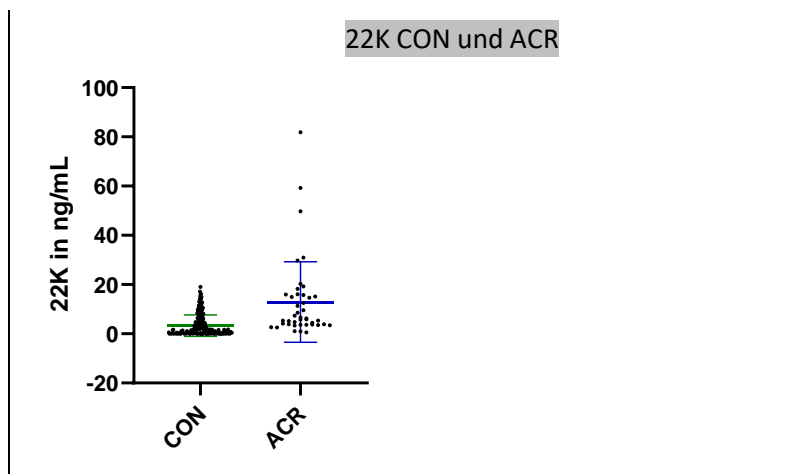


Abbildung 14: 22K basal (Kontrollgruppe und Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

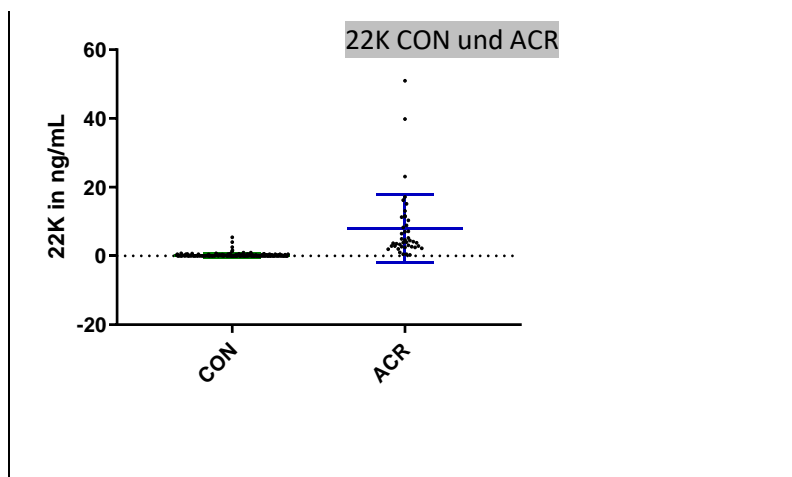


Abbildung 15: 22K-Nadir (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

In allen drei Betrachtungen zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen Akromegalie- und Kontrollgruppe.

Beim Vergleichen des **Gesamt-22K** im Mann-Whitney-Test zeigt sich, wie erwartet, ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,0001$ ) mit einem Mittelwert von 1,35 ng/mL (SD = 2,63) in der Kontrollgruppe (n = 1206) und 11,27 ng/mL (SD = 13,13) in der Akromegaliegruppe (n = 198; vgl. Abbildung 12).

Der Unterschied der **basalen 22K-Werte** zwischen den Gruppen ist wie erwartet hochsignifikant. Während die Kontrollgruppe einen Mittelwert von 3,31 ng/mL (SD = 4,33) aufweist, liegt dieser in der Akromegaliegruppe bei 12,1 ng/mL (SD = 15,7;  $p < 0,0001$ ; vgl. Abbildung 13).

Beim Vergleich der durchschnittlichen **Nadir-Werte** ist, wie erwartet, ein hochsignifikanter Unterschied im Mann-Whitney-Test zu sehen ( $p < 0,0001$ , vgl. Abbildung). Der Mittelwert des Nadirs liegt in der Kontrollgruppe bei 0,23 ng/mL (SD = 0,53), und in der Akromegaliegruppe bei 7,97 ng/mL (SD = 9,97; vgl. Abbildung 14).

### 3.2.2. 20K

#### 3.2.2.1. Kontrollgruppe

Nach den oben genannten Maßstäben (vgl. 2.3.2. Probenselektion) wurden die Proben selektiert, die sich zum Messen von 20K eignen. Insgesamt konnte in der Kontrollgruppe bei 39,1 % der Proben (471 von 1206) 20K gemessen werden.

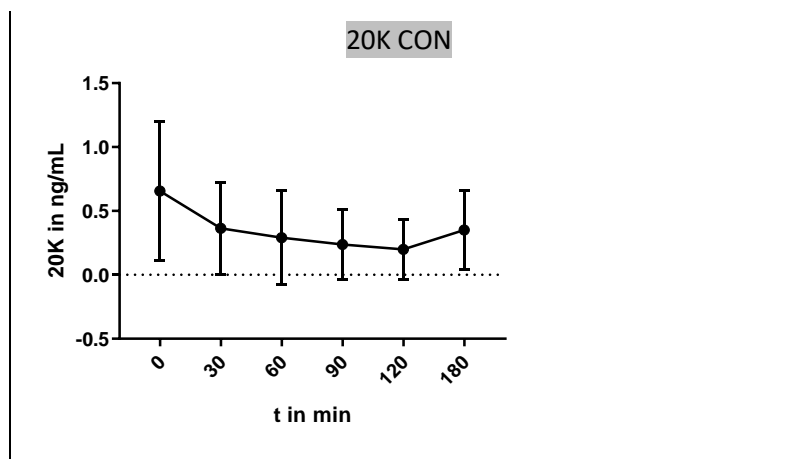


Abbildung 16: 20K im oGTT (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

In Analogie zu den 22K-Werte sinken auch die 20K-Werte im Laufe des oGTT. Sie beginnen mit dem höchsten Mittelwert bei 0,66 ng/mL (SD = 0,55), fallen 120 Minuten nach Glukoseaufnahme auf den niedrigsten Mittelwert von 0,2 ng/mL (SD = 0,23) und steigen danach wieder an (vgl. Abbildung 15). Die Veränderungen im Vergleich untereinander sind im Dunn's Test und Kruskal-Wallis-Test zum Teil signifikant, zum Teil nicht signifikant (30' vs. 120':  $p = 0,02$ ; 120 vs. 180:  $p = 0,03$ ), im Vergleich zum Basalwert (Zeitpunkt 0) jedoch immer signifikant (0' vs. 60', 0' vs. 90', 0' vs. 120'  $p < 0,0001$ ; 0' vs. 30' und 0' vs. 180':  $p = 0,0002$ ; Probenanzahl: 0': n = 114, 30': n = 105, 60': n = 76, 90': n = 46, 120': n = 43, 180': n = 96).

Bei 148 (73,6 %) Kontrollprobanden konnte mindestens eine Probe gemessen werden.

### 3.2.2.2. Akromegaliegruppe

Es war bei 99,5 % der Proben (197 von 198) möglich, 20K zu messen.

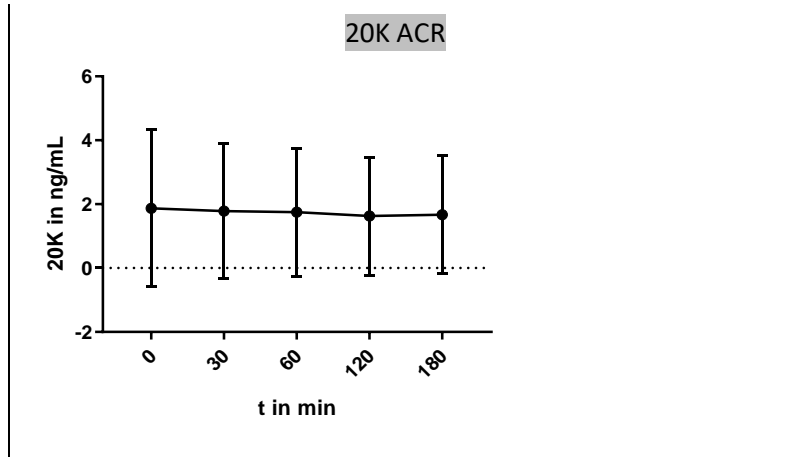


Abbildung 17: 20K im oGTT (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Wie schon bei 22K kann auch bei den 20K-Werten der Patienten mit Akromegalie kein signifikanter Unterschied im Kruskal-Wallis- bzw. Dunn's Test zwischen den verschiedenen Zeitpunkten festgestellt werden (vgl. Abbildung 16). Die Mittelwerte schwanken zwischen 1,87 ng/mL (SD = 2,45) basal und 1,63 ng/mL (SD = 1,85) zum Zeitpunkt 120. Keine der verglichenen Veränderungen ist signifikant ( $p > 0,1$ ; 0': n = 42, 30': n = 39, 60': n = 41, 120': n = 41, 180': n = 34).

### 3.2.2.3. Vergleich

Zum Vergleichen der 20K-Werte werden die Mittelwerte in zwei Schaubildern dargestellt, einmal mit linearer Y-Achse, einmal mit logarithmischer Y-Achse.

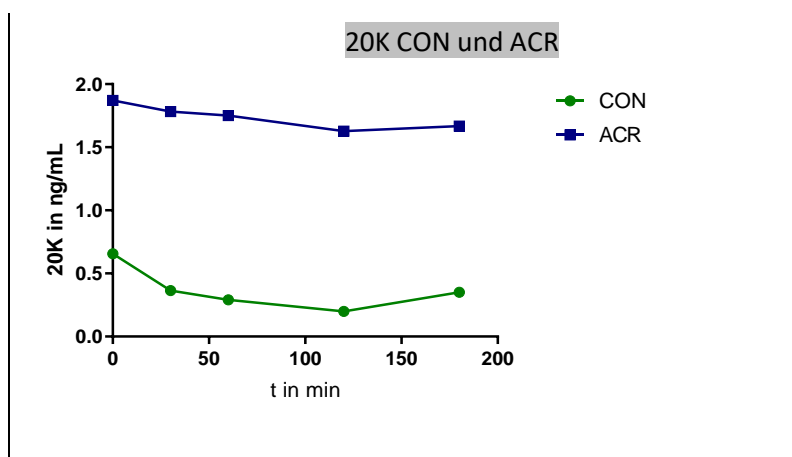


Abbildung 18: 20K im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

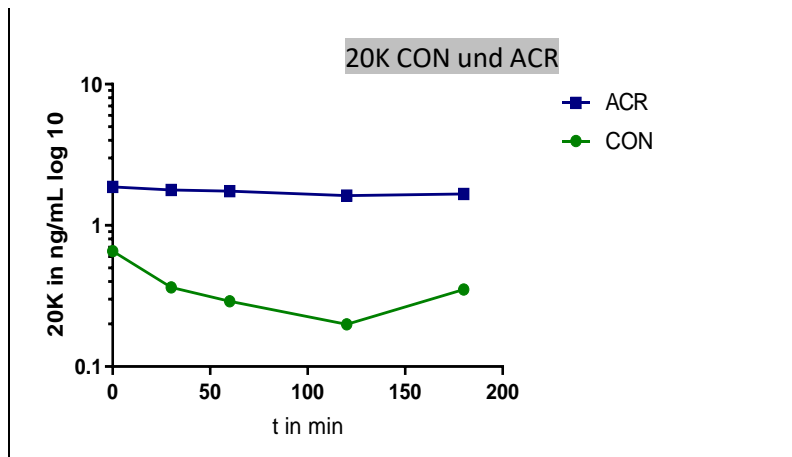


Abbildung 19: 20K im oGTT, log<sub>10</sub> (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Zeit in Minuten	Kontrollgruppe (20K in ng/mL)	Akromegaliegruppe (20K in ng/mL)
0	0,66	1,87
30	0,36	1,78
60	0,29	1,75
120	0,20	1,63
180	0,35	1,67

Tabelle 14: 20K in ng/mL (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Mann-Whitney-Test	Exakter p-Wert
CON 0 vs. ACR 0	0,0004
CON 30 vs. ACR 30	<0,0001
CON 60 vs. ACR 60	<0,0001
CON 120 vs. ACR 120	<0,0001
CON 180 vs. ACR 180	<0,0001

Tabelle 15: 20K Mann-Whitney-Test (Akromegalie- und Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

Es ist zu sehen, dass die 20K-Werte der Kontrollgruppe deutlich niedriger sind als die der Akromegaliegruppe und eine starke Dynamik aufweisen (vgl. Abbildungen 17 und 18).

Im Mann-Whitney-Test waren die Unterschiede zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt signifikant, in der Basalmessung ist p allerdings höher als zu den anderen Zeitpunkten (0': p = 0,0004; sonst p < 0,0001), da hier die 20K-Werte der Kontrollgruppe noch vergleichsweise hoch sind.

Die Differenz zwischen Akromegalie- und Kontrollgruppe liegt bei durchschnittlich 1,21 ng/mL. Zum Zeitpunkt 60 beträgt die Differenz sogar 1,46 ng/mL (Akromegaliegruppe: M = 1,75 ng/mL, SD = 2,0; Kontrollgruppe: M = 0,29 ng/mL, SD = 0,37).

Es folgen die Vergleiche des Gesamt-20K und des Basal-20K.

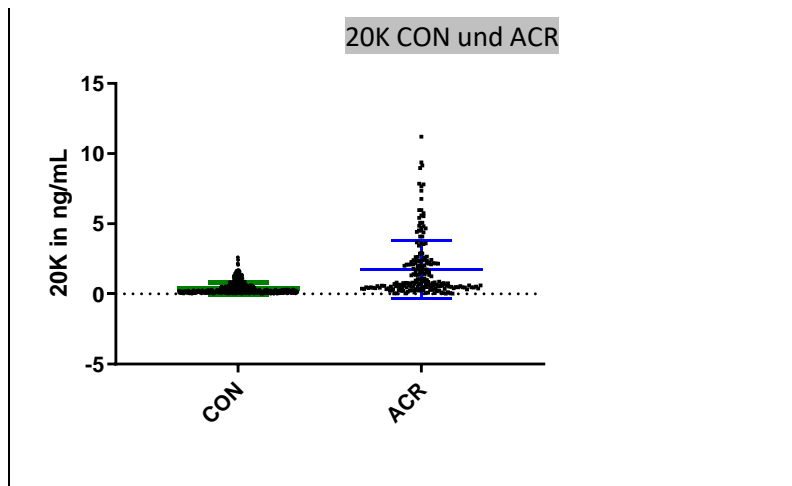


Abbildung 20: 20K gesamt (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

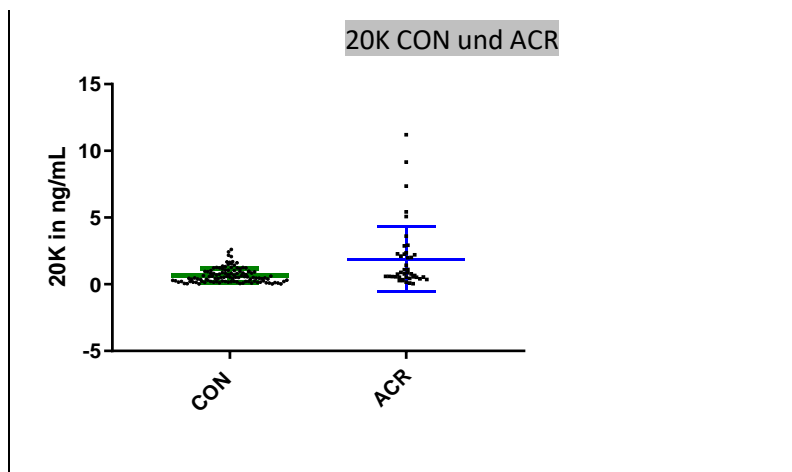


Abbildung 21: 20K basal (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

Es bestehen signifikante Unterschiede zwischen Akromegalie- und Kontrollgruppe bei allen drei Vergleichen.

Die Gesamt-20K-Werte sind im Mann-Whitney-Test signifikant unterschiedlich (vgl. Abbildung 19). In der Kontrollgruppe (n = 471) liegen sie im Mittel bei 0,4 ng/mL (SD = 0,42) und in der Akromegaliegruppe (n = 197) bei 1,75 ng/mL (SD = 2,06;  $p < 0,0001$ ).

Basal war es in der Kontrollgruppe bei 56,7 % (114 von 201) der Probanden möglich, 20K zu messen. Dieses hat einen Mittelwert von 0,66 ng/mL (SD = 0,55), mit einer Range von 2,57 ng/mL (Werte zwischen 0,03 und 2,60 ng/mL; vgl. Abbildung 20). In der Akromegaliegruppe war es bei 100 % der Patienten möglich, 20K basal zu messen. Der Mittelwert des basalen 20K liegt bei 1,87 ng/mL (SD = 2,45), mit einer Range von 11,17 ng/mL (Werte zwischen 0,04 und 11,21 ng/mL; vgl. Abbildung 20). Der Unterschied ist im Mann-Whitney-Test signifikant ( $p = 0,0004$ ).

### 3.2.3. 20K/22K-Ratio

Die 20K/22K-Ratio wird mit folgender Formel berechnet:  $20K/22K \times 100$ , und in Prozent angegeben.

### 3.2.3.1. Kontrollgruppe

Um vorab eine visuelle Einschätzung der 20K/22K-Ratio vorzunehmen, werden 22K und 20K in einem gemeinsamen Schaubild dargestellt, einmal mit linearer Y-Achse und zum besseren Vergleich mit einer logarithmischen Y-Achse (vgl. Abbildungen 21 und 22).

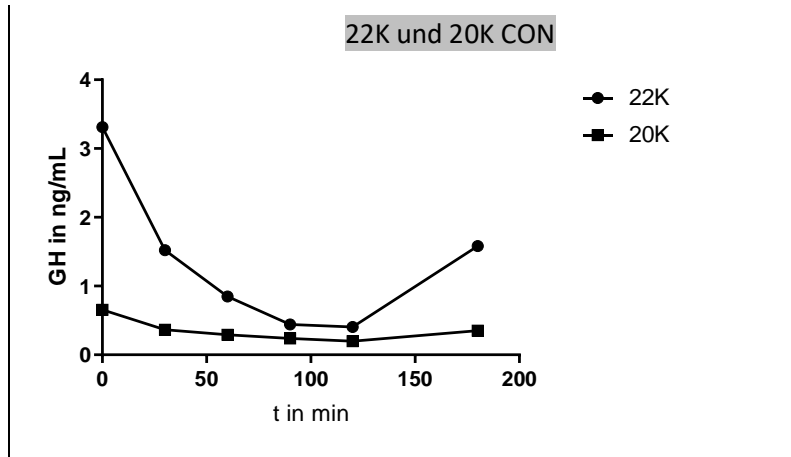


Abbildung 22: 22K und 20K im oGTT (Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; GH = Growth Hormone; t = Zeit

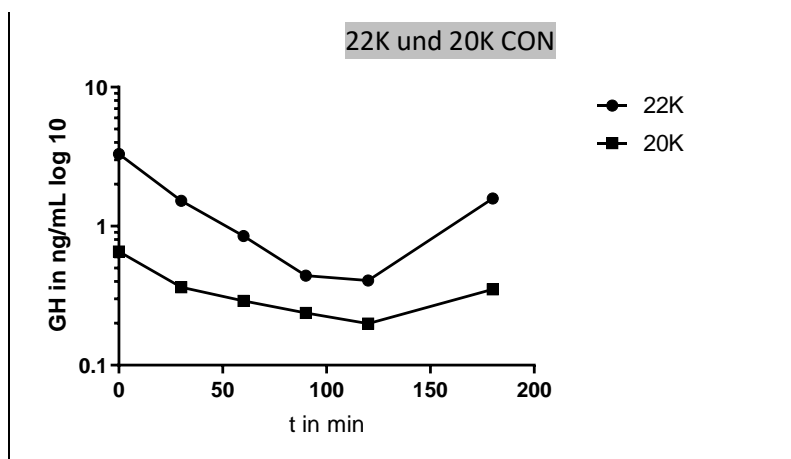


Abbildung 23: 22K und 20K im oGTT, log10 (Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; GH = Growth Hormone; t = Zeit

In diesen beiden Abbildungen ist zu sehen, dass die Dynamik von 22K und 20K im oGTT unterschiedlich zu sein scheint, sich also die 20K/22K-Ratio ändert. Augenscheinlich ändert sich 22K stärker nach der Glukosezufuhr als 20K.

Nun werfen wir einen Blick auf die 20K/22K-Ratio selbst.

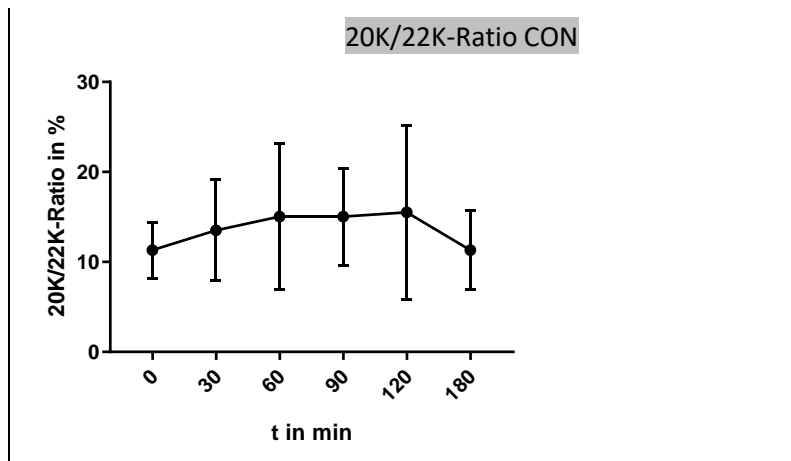


Abbildung 24: 20K/22K-Ratio im oGTT (Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Die Kurve in Abbildung 23 entspricht der unterschiedlichen Änderungen der GH-Isoformen über die Zeit in Abbildung 21 und 22 (0': n = 114, 30': n = 105, 60': n = 73, 90': n = 40, 120': n = 43, 180': n = 96).

In der Kontrollgruppe zeigt sich während des oGTT ein deutlicher Anstieg der 20K/22K-Ratio mit darauffolgendem Abfall (vgl. Abbildung 23). Der basale Mittelwert beträgt 11,31 % (SD = 3,08) und steigt im Laufe der Messung mit einem Plateau von 15,01 % bzw. 15,02 % nach 60 bzw. 90 Minuten (Zeitpunkt 60: SD = 8,07, Zeitpunkt 90: SD = 5,4) und einem Höhepunkt von 15,49 % (SD = 9,75) nach 120 Minuten. Im Anschluss daran fällt die 20K/22K-Ratio bis zum Zeitpunkt 180 wieder auf den Anfangswert von 11,31 % (SD = 4,35).

Um die Signifikanz der Unterschiede zu erfahren, wird Dunn's multiple comparisons test durchgeführt. Signifikant unterschiedlich sind die meisten Zeitpunkte im Vergleich mit den beiden niedrigsten Werten bei Zeitpunkten 0 und 180, nämlich 0 vs. 30, 60 und 90 ( $p = 0,0247$ ;  $0,0004$ ;  $0,0010$ ), außerdem 30, 60, 90, und 120 vs. 180 ( $p = 0,0037$ ;  $< 0,0001$ ;  $0,0002$ ;  $0,0252$ ). Dies sind jeweils die beiden niedrigen Werte zu Beginn und zum Schluss im Vergleich mit den höheren Werten in zeitlicher Nähe zur Glukoseaufnahme.

### 3.2.3.2. Akromegaliegruppe

Auch hier werden erst 22K und 20K abgebildet, einmal mit linearer y-Achse und zum besseren Vergleich mit einer log<sub>10</sub>-y-Achse (vgl. Abbildungen 24 und 25).



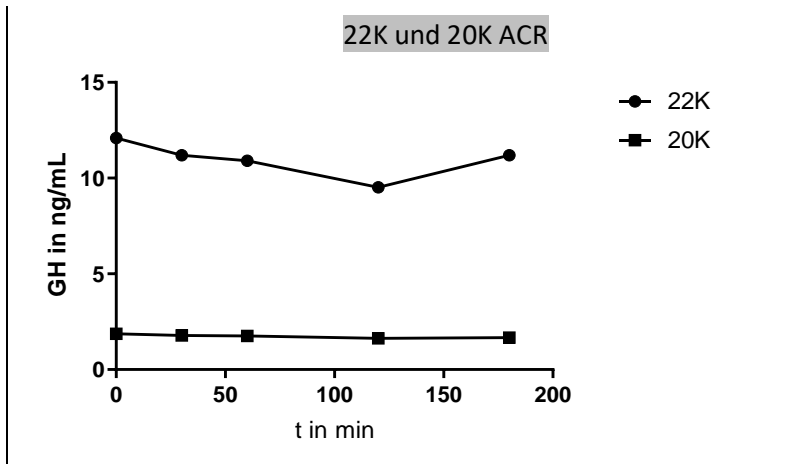


Abbildung 25: 22K und 20K im oGTT (Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe;  
 GH = Growth Hormone; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

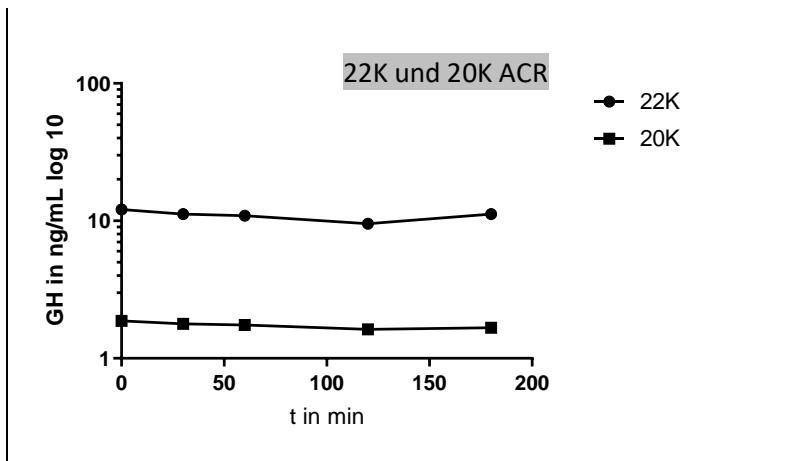


Abbildung 26: 22K und 20K im oGTT, log10 (Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe;  
 GH = Growth Hormone; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Schon hier wird ersichtlich, dass sich die 20K/22K-Ratio in der Akromegaliegruppe nur minimal im Zeitverlauf zu ändern scheint.

Nun werfen wir einen Blick auf die 20K/22K-Ratio selbst.

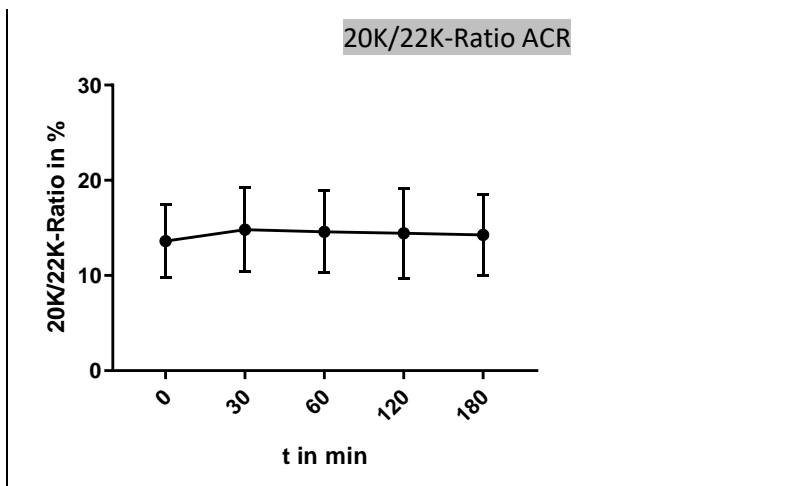


Abbildung 27: 20K/22K-Ratio im oGTT (Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

In Abbildung 26 ist zu erkennen, dass die Kurve weitestgehend horizontal verläuft. In der Akromegaliegruppe zeigt sich keine signifikante Änderung der 20K/22K-Ratio während des oGTT (0': n = 42, 30': n = 39, 60': n = 41, 120': n = 41, 180': n = 34). Eine ähnliche Tendenz wie bei der Kontrollgruppe ist abzulesen durch die minimal niedrigeren Mittelwerte bei 0 und 180 (0': M = 13,61 %, SD = 3,8; 180': M = 14,67 %, SD = 3,4). Sehr ähnliche Werte liegen bei Zeitpunkten 30-120 vor, nämlich 14,85 %, 14,72 % und 14,79 %. Signifikant sind die Veränderungen zu keinem Zeitpunkt.

### 3.2.3.3. Vergleich

Um den unterschiedlichen Verlauf der 20K/22K-Ratios in Kontroll- und Akromegaliegruppe darzustellen, werden beide in einem Diagramm dargestellt. Zur Übersichtlichkeit sind in Tabelle 16 noch einmal die Mittelwerte beider Gruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten dargestellt.

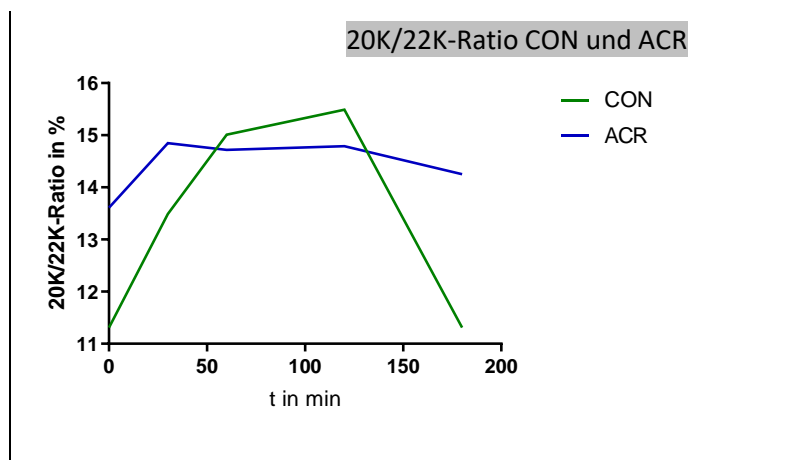


Abbildung 28: 20K/22K-Ratio im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Zeit in Minuten	Kontrollgruppe (20K/22K in %)	Akromegaliegruppe (20K/22K in %)
0	11,31	13,61
30	13,49	14,85
60	15,01	14,72
120	15,49	14,79
180	11,31	14,67

Tabelle 16: 20K/22K-Ratio in % (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Mann-Whitney-Test	Exakter p-Wert
ACR 0 vs. CON 0	0,0001
ACR 30 vs. CON 30	0,0560
ACR 60 vs. CON 60	0,3593
ACR 120 vs. CON 120	0,3345
ACR 180 vs. CON 180	< 0,0001

Tabelle 17: Mann-Whitney-Test 20K/22K-Ratio (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone

Im Vergleich ist der Unterschied zwischen Akromegalie- und Kontrollgruppe zu sehen (vgl. Abbildung 27). Während die 20K/22K-Ratio in der Akromegaliegruppe höher startet als in der Kontrollgruppe, bleibt sie praktisch unverändert, während die 20K/22K-Ratio in der Kontrollgruppe sogar über den Wert der Akromegaliegruppe klettert, um danach wieder deutlich abzufallen. Die Dynamik der 20K/22K-Ratio ist hier also der wesentliche Unterschied. Bei den Zeitpunkten 0 und 180 sind die Werte signifikant unterschiedlich ( $p = 0,0001$  bzw.  $p < 0,0001$ ; vgl. Tabelle 17).

Es werden die Gesamtwerte der 20K/22K-Ratio verglichen.

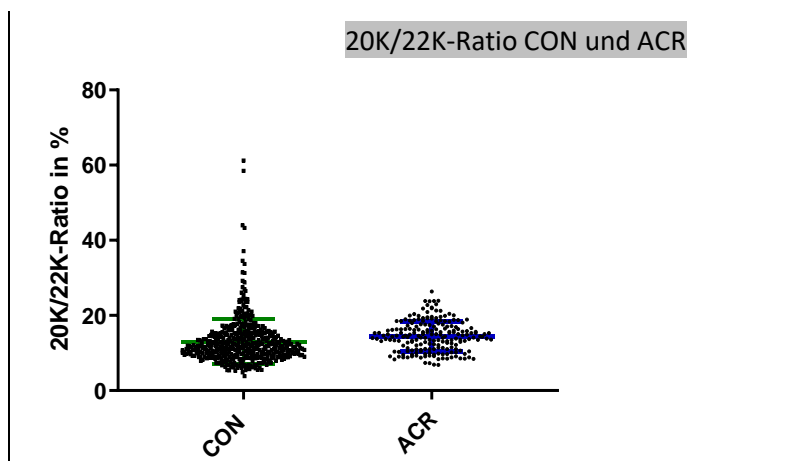


Abbildung 29: 20K/22K-Ratio gesamt (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

Hinsichtlich der Gesamtwerte der 20K/22K-Ratio (also die Werte von allen Zeitpunkten zusammengerechnet) scheinen Kontroll- und Akromegaliegruppe nicht weit auseinander zu liegen, der Unterschied ist im Mann-Whitney-Test aber signifikant (vgl. Abbildung 28, 2 Punkte außerhalb der Achse. (Kontrollgruppe:  $n = 471$ ;  $M = 13,07\%$ ,  $SD = 6,08$ ; Akromegaliegruppe:  $n = 197$ ,  $M = 14,51\%$ ,  $SD = 4,01$ ;  $p < 0,0001$ ).

Es folgt eine lineare Regressionsanalyse von basalem 22K und 20K/22K-Ratio.

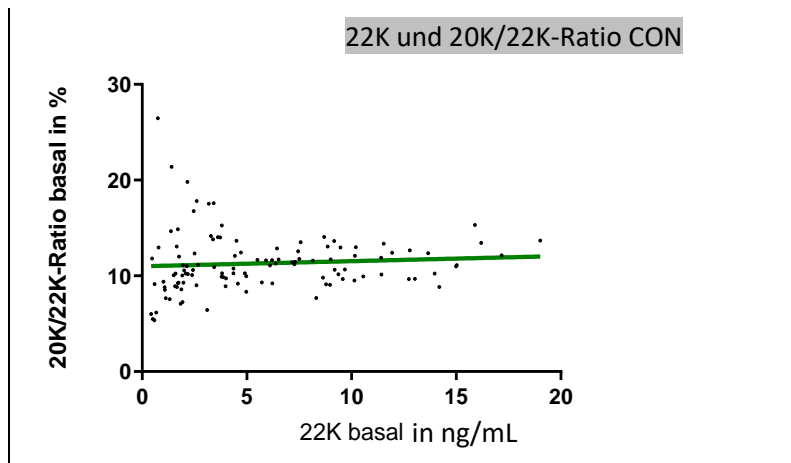


Abbildung 30: 22K und 20K/22K-Ratio (Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

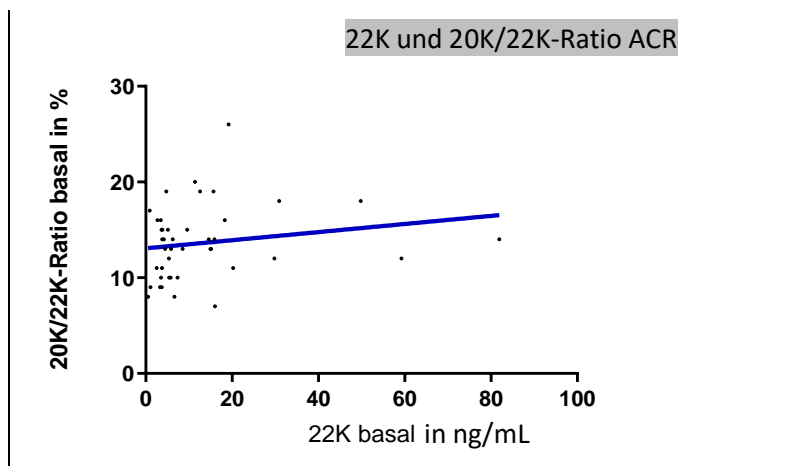


Abbildung 31: 22K und 20K/22K-Ratio (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

Sowohl in der Kontroll-, als auch in der Akromegaliegruppe ( $n = 114$  bzw.  $n = 42$ ) ergibt sich  $r^2 = 0,006$  bzw.  $0,032$  und  $p = 0,4142$  bzw.  $0,254$ , also keine Korrelation, d.h. die Personen, die zur basalen Messung schon ein hohes GH aufwiesen, zeigten nicht unbedingt gleichzeitig eine hohe 20K/22K-Ratio.

### 3.2.3.4. Dynamik

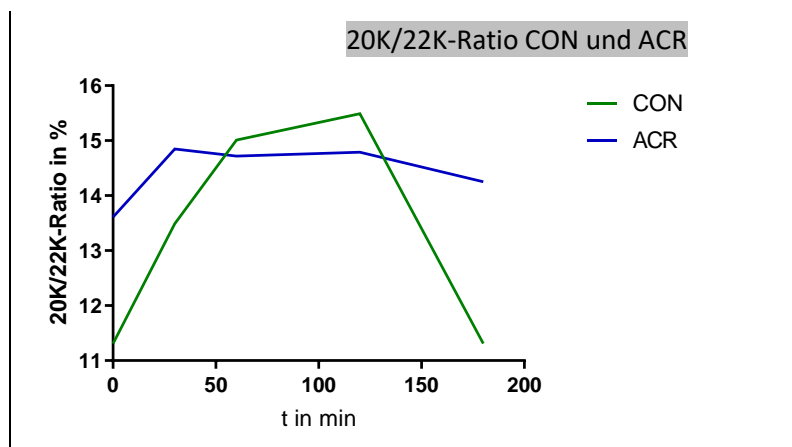


Abbildung 32: 20K/22K-Ratio im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit; oGTT = oraler Glukosetoleranztest

Der Zeitpunkt, an dem die meisten der gesunden Kontrollprobanden den niedrigsten 22K-Wert aufweisen, ist Zeitpunkt 120. Dies ist der Zeitpunkt, an dem die 20K/22K-Ratio-Werte der Kontrollprobanden, die der Patienten mit Akromegalie übersteigen (vgl. Abbildung 31). Hier ist der Unterschied zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p = 0,3345$ , vgl. Tabelle 17).

Um die Dynamik der 20K/22K-Ratio verlässlich und wiederholbar einzuschätzen, wählten wir zwei Zeitpunkte aus, die uns tauglich als Vergleichswerte erschienen. Dies sind Zeitpunkt 0, also die basale Messung, und Zeitpunkt 60, also nach einer Stunde. Gründe für diese Auswahl sind, dass zu Zeitpunkt 30 das GH noch nicht so stark gefallen ist und zu Zeitpunkt 180 wieder deutlich steigt. Nach 60-120 Minuten müsste also der eindrucklichste Unterschied zu sehen sein. Messungen zu Zeitpunkt 90 gibt es nur in der Kontrollgruppe und zu Zeitpunkt 120 gibt es relativ wenige messbare Proben in der Kontrollgruppe. Zeitpunkt 60 im Vergleich zur basalen Messung erschien also vernünftig.

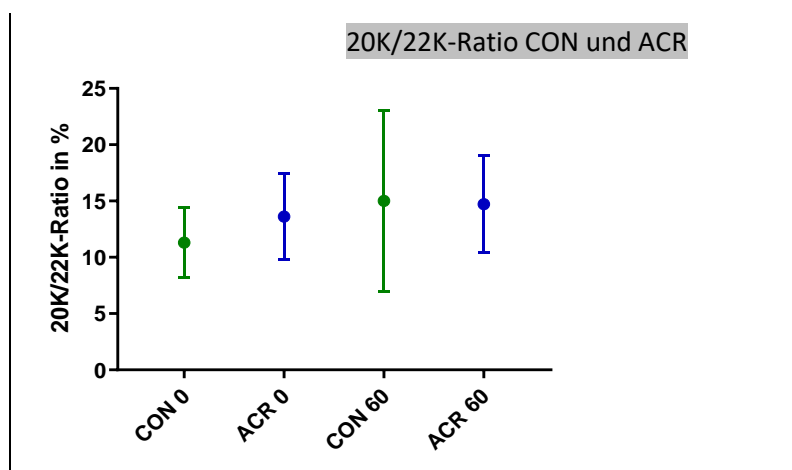


Abbildung 33: 20K/22K-Ratio 0' und 60' (Akromegalie- und Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

Mann-Whitney-Test	Exakter p-Wert
CON 0 vs. ACR 0	0,0001
CON 0 vs. CON 60	< 0,0001
CON 0 vs. ACR 60	< 0,0001
ACR 0 vs. CON 60	0,6260
ACR 0 vs. ACR 60	0,1884
CON 60 vs. ACR 60	0,3593

*Tabelle 18: Mann-Whitney-Test 20K/22K-Ratio 0' und 60' (Akromegalie- und Kontrollgruppe)  
CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone*

In Abbildung 32 ist ein Unterschied zwischen dem basalen 20K/22K-Ratio-Wert der Kontrollgruppe und den anderen drei Messungen (0' Akromegaliegruppe, 60' Kontrollgruppe, 60' Akromegaliegruppe) zu erkennen. Der Vergleich der Basalmessung der 20K/22K-Ratio zeigt Mittelwerte von 11,31 % (SD = 3,08) in der Kontrollgruppe und 13,61 % in der Akromegaliegruppe (SD = 3,8), es stellt sich im Mann-Whitney-Test ein signifikanter Unterschied heraus ( $p = 0,0001$ ; vgl. Tabelle 18). Der Unterschied zwischen der Kontroll- und der Akromegaliegruppe zu Zeitpunkt 60 ist nicht signifikant, jedoch ist der Unterschied der basalen Messung der Kontrollgruppe zur Messung nach 60 Minuten beider Gruppen hochsignifikant mit  $p < 0,0001$  (60': Kontrollgruppe:  $M = 15,01$  %,  $SD = 8,07$ ; Akromegaliegruppe:  $M = 14,72$  %,  $SD = 4,28$ ).

#### 3.2.4. Zusammenfassung

Wie zu erwarten sind 22K und 20K in der Akromegaliegruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe, sowohl insgesamt als auch zu einzelnen Zeitpunkten, sowie die Nadire und die Basalwerte. Hinsichtlich der 20K/22K-Ratio sind die Werte auch in der Akromegaliegruppe höher als in der Kontrollgruppe. Während die Werte in der Akromegaliegruppe annähernd gleichbleiben, steigt die 20K/22K-Ratio in der Kontrollgruppe von einem anfangs verglichen zur Akromegaliegruppe signifikant niedrigeren Wert auf höhere Werte in der Mitte des oGTT, um gegen Ende wieder auf das Anfangsniveau zu fallen.

#### 3.3. Einflussfaktoren

Um verschiedene Einflussfaktoren auf die 20K/22K-Ratio in ihrem jeweiligen Effekt in Kontroll- sowie Akromegaliegruppe zu vergleichen, werden 22K, 20K und die 20K/22K-Ratio untersucht. Die Einflussfaktoren beinhalten Glukose, die GH nachweislich supprimiert und verschiedene biologische Faktoren wie Geschlecht, Alter und BMI. Bei den Patienten mit Akromegalie wird zusätzlich der Einfluss der Tumorgöße untersucht.

Dabei werden, jeweils aufgeteilt nach Kontroll- und Akromegaliegruppe, Regressionsanalysen hinsichtlich Glukose, Alter und BMI durchgeführt. Im Geschlechtervergleich werden erst die 20K/22K-Ratio-Werte der Männer und Frauen verglichen und darauffolgend in die einzelnen Geschlechtergruppen unterteilt. Anschließend wird dasselbe noch einmal mit den Basalmessungen durchgeführt.

### 3.3.1. Glukose

Als Auswirkung der Glukosegabe wird die Suppression des GHs, 22K und 20K, erwartet. Um dies und außerdem den Einfluss von Glukose auf die 20K/22K-Ratio zu untersuchen, werden jeweils lineare Regressionsanalysen durchgeführt.

#### 3.3.1.1. 22K

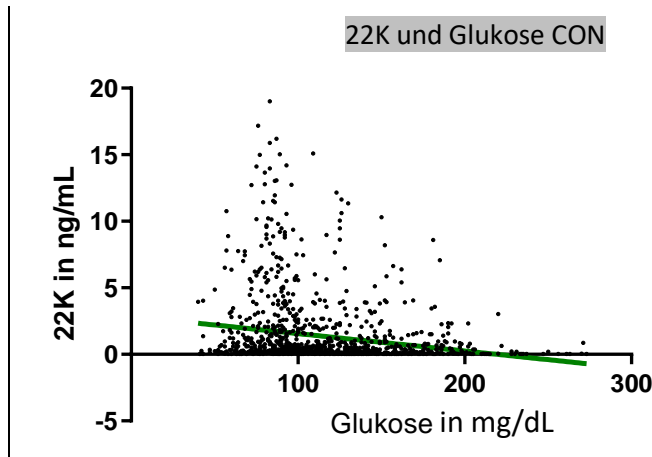


Abbildung 34: lineare Regression Glukose und 22K zu jedem Zeitpunkt (Kontrollgruppe)  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

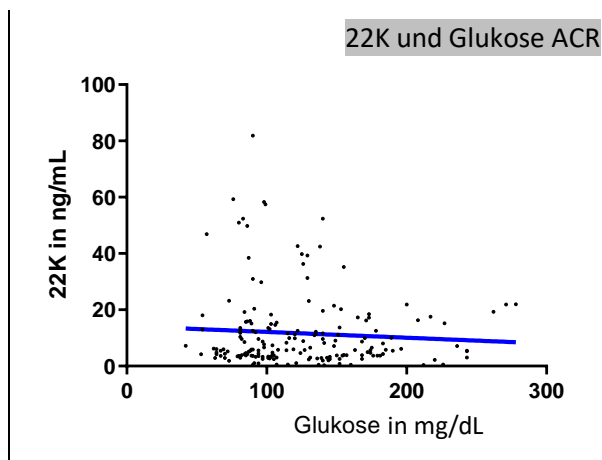


Abbildung 35: lineare Regression Glukose und 22K zu jedem Zeitpunkt (Akromegaliegruppe)  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In der linearen Regressionsanalyse zeigt sich in der Kontrollgruppe eine schwache negative Korrelation zwischen Glukose und 22K ( $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,04$ ,  $n = 1206$ , vgl. Abbildung 33), d.h. niedrigeres GH bei höherer Blutglukose. Dies steht mit dem Wissen um die GH-Suppression durch Glukose im Einklang.

In der Akromegaliegruppe zeigt sich keine signifikante Korrelation zwischen Glukose und 22K ( $p = 0,47$ ,  $r^2 = 0,003$ ,  $n = 198$ , vgl. Abbildung 34).

### 3.3.1.2. 20K

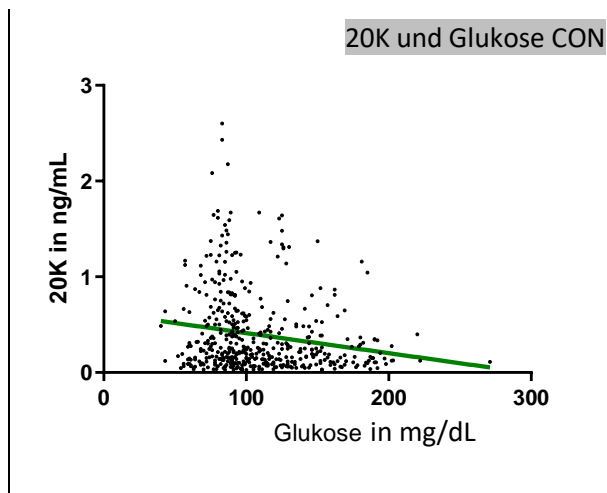


Abbildung 36: lineare Regression Glukose und 20K zu jedem Zeitpunkt (Kontrollgruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

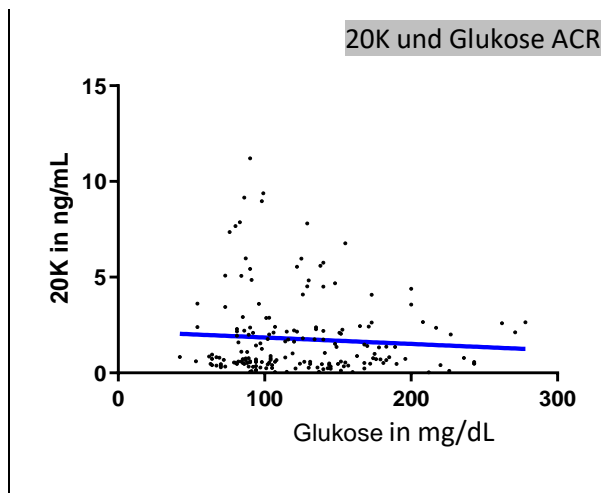


Abbildung 37: lineare Regression Glukose und 20K zu jedem Zeitpunkt (Akromegaliegruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In der Kontrollgruppe ergibt sich  $r^2 = 0,03259$ ,  $p < 0,0001$  ( $n = 471$ ; vgl. Abbildung 35), in der Akromegaliegruppe  $r^2 = 0,0058$ ,  $p > 0,3008$  ( $n = 197$ ; vgl. Abbildung 36). Die Korrelation ist also in der Kontrollgruppe schwach negativ, bei der Akromegaliegruppe besteht keine Korrelation.



### 3.3.1.3. 20K/22K-Ratio

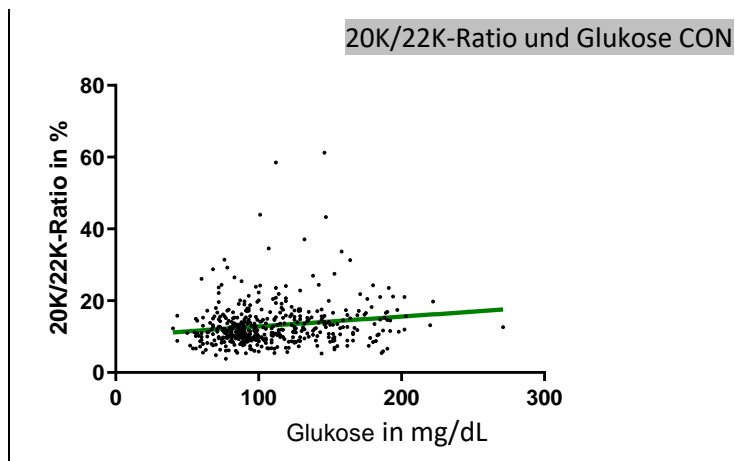


Abbildung 38: lineare Regression Glukose und 20K/22K-Ratio zu jedem Zeitpunkt (Kontrollgruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

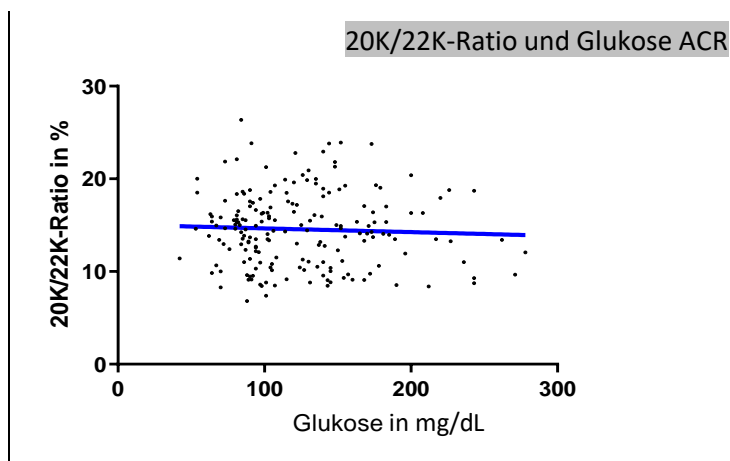


Abbildung 39: lineare Regression Glukose und 20K/22K-Ratio zu jedem Zeitpunkt (Akromegaliegruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

Die Regressionsanalyse von Glukose und 20K/22K-Ratio zeigt in der Kontrollgruppe eine signifikante schwache positive Korrelation ( $p = 0,0004$ ;  $r^2 = 0,027$ ,  $n = 471$ ), also eine höhere 20K/22K-Ratio bei höheren Glukosewerten (vgl. Abbildung 37).

Es besteht keine signifikante Korrelation zwischen Glukose und 20K/22K-Ratio in der Akromegaliegruppe ( $p = 0,5178$ ;  $r^2 = 0,002$ ,  $n = 197$ ; (vgl. Abbildung 38)).

### 3.3.2. Geschlecht

Um die Unterschiede von 22K, 20K und der 20K/22K-Ratio je nach Geschlecht bzw. Geschlechtergruppe herauszufinden, analysieren wir den jeweiligen Parameter zuerst im Mann-Whitney-Test zum Vergleich zwischen Männern und Frauen. Danach wird weiter in die Gruppen Männer < 50, Männer > 50, prämenopausale Frauen mit und ohne Östrogeneinnahme und postmenopausale Frauen unterschieden. Die einzelnen Gruppen werden untereinander mit dem Kruskal-Wallis und nachfolgendem Dunn's multiple comparisons test verglichen, und außerdem im Zeitverlauf dargestellt, um eine bessere Übersicht über den Verlauf zu haben. Die Basalwerte des

jeweiligen Parameters werden schließlich noch einmal gesondert verglichen, da der Gesamtwert durch die variable Dynamik teilweise irreführend ist.

### 3.3.2.1. 22K

#### Kontrollgruppe

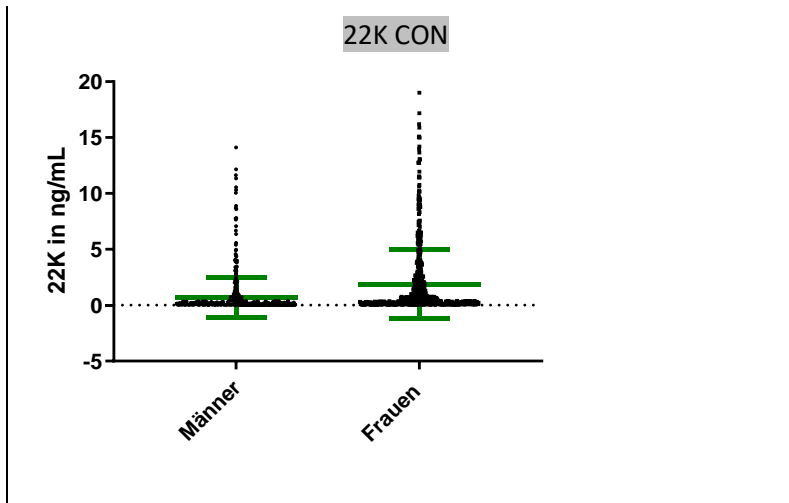


Abbildung 40: 22K gesamt, Männer und Frauen (Kontrollgruppe)  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

Im Mann-Whitney-Test über die Kontrollgruppe zeigt sich das 22K der Männer signifikant niedriger als das der Frauen (Männer: n (Probenanzahl) = 558; M = 0,72 ng/mL (SD = 1,8), Frauen: n = 648; M = 2,0 ng/mL (SD = 3,08);  $p < 0,0001$ ; vgl. Abbildung 39).

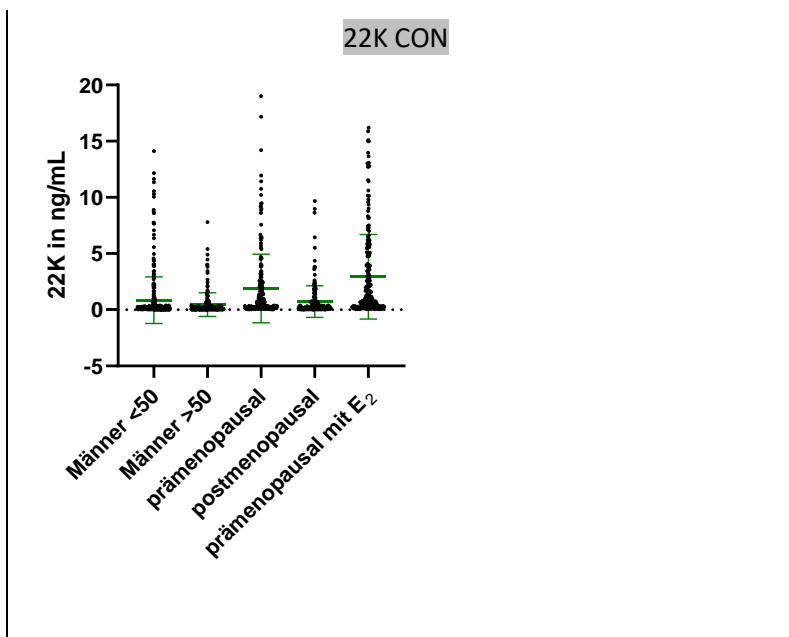


Abbildung 41: 22K gesamt, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Geschlechtergruppe	n (Probenanzahl)	Mittelwert	Standardabweichung
Männer < 50	366	0,85	2,08
Männer > 50	192	0,47	1,06
Frauen prämenopausal	216	1,9	3,05
Frauen postmenopausal	204	0,73	1,41
Frauen prämenopausal mit E <sub>2</sub>	228	2,93	3,76

Tabelle 19: 22K gesamt in ng/mL, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

In Abbildung 40 und 41 sowie Tabelle 19 wird das Gesamt-22K der einzelnen Geschlechtergruppen abgebildet. Es sind deutliche Unterschiede vorhanden, die prämenopausalen Frauen mit und ohne Östrogeneinnahme haben die höchsten 22K-Werte, die Unterschiede zwischen ihnen und den anderen Gruppen sind jeweils hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ). In der Mitte befinden sich die Männer < 50, und die geringste 20K/22K-Ratio weisen die postmenopausalen Frauen sowie die Männer > 50 auf. Auch hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ) sind die Vergleiche von Männern > 50 mit postmenopausalen, sowie prämenopausalen Frauen. Außerdem hochsignifikant ist der Vergleich von Männern < 50 mit prämenopausalen Frauen, sowie der Vergleich von prämenopausalen mit postmenopausalen Frauen. Weiterhin fällt der Vergleich von Männern < 50 und postmenopausalen Frauen signifikant aus ( $p = 0,0032$ ).

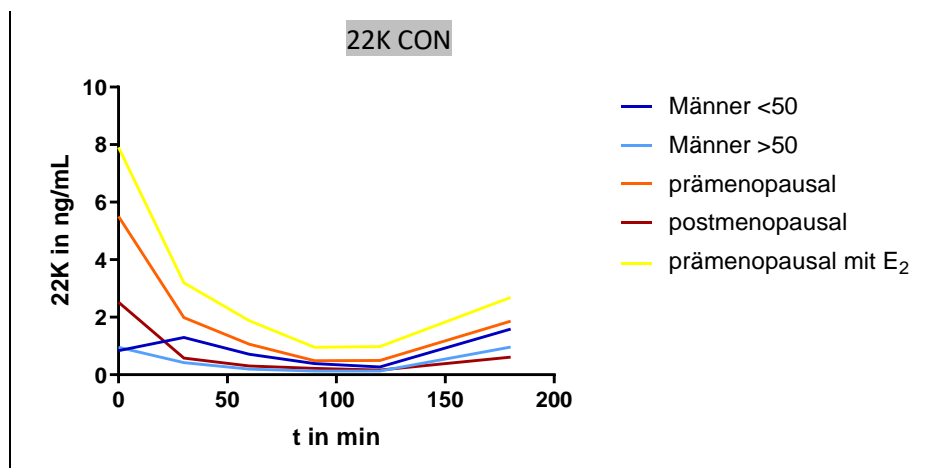


Abbildung 42: 22K, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

Bei der Betrachtung des 22K im Zeitverlauf zeigt sich in allen Gruppen ein sehr ähnlicher Verlauf mit stark fallenden und zum Ende hin wieder leicht steigenden Werten. Der Tiefpunkt liegt hier bei 120 Minuten. Die Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme weist durchgehend die höchsten Werte auf, an zweiter Stelle liegen die prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme.

Nun wird das basale 22K untersucht, da hier die größte Menge 22K vorliegt und hier auch die Unterschiede zwischen den einzelnen Geschlechtergruppen am deutlichsten sind. Die folgenden Abbildungen sind aufgeteilt in Männer und Frauen (vgl. Abbildung 42) sowie die einzelnen Geschlechtergruppen (vgl. Abbildung 43).

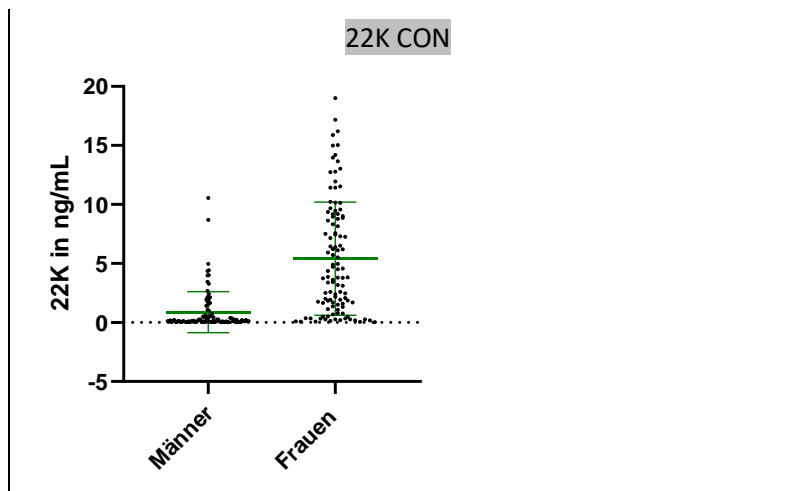


Abbildung 43: 22K basal, Männer und Frauen (Kontrollgruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

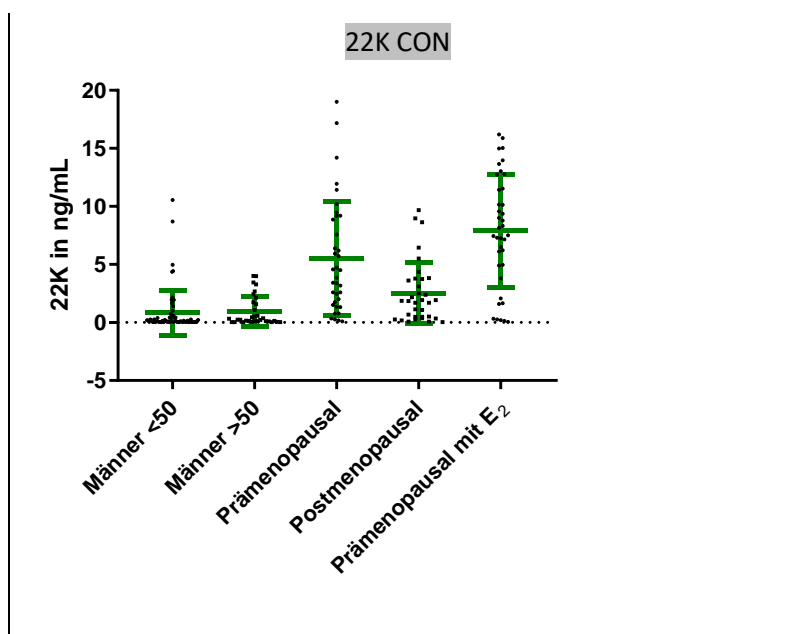


Abbildung 44: 22K basal, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Im Mann-Whitney-Test zeigt sich zwischen Frauen und Männern ein signifikanter Unterschied des basalen 22K (Männer: n = 93; M = 0,88 ng/mL, SD = 1,75; Frauen: n = 108; M = 5,41 ng/mL, SD = 4,79; p < 0,0001; vgl. Abbildung 42). Dieser Unterschied war schon in der vorhergehenden Grafik (Abbildung 41) ersichtlich, wobei dort zu sehen ist, dass der basale Wert der Männer < 50 im Vergleich niedriger ausfällt als die restlichen Werte dieser Geschlechtergruppe.

Aufgeteilt in die verschiedenen Untergruppen lässt sich im Schaubild 43 der Geschlechterunterschied deutlich feststellen, wobei schon erkennbar ist, dass die postmenopausalen Frauen hinsichtlich des 22K eher den Männern als den prämenopausalen Frauen gleichen.

Es kann also beobachtet werden, dass die Frauen mit Östrogensubstitution den höchsten 22K-Mittelwert in der Basalmessung haben (M = 7,90 ng/mL, SD = 4,86). Ihnen folgen die prämenopausalen Frauen (M = 5,50 ng/mL, SD = 4,88) und die postmenopausalen Frauen (M = 2,52

ng/mL, SD = 2,64). Die Männer liegen mit ihren Mittelwerten im unteren Bereich (Männer < 50: M = 0,83 ng/mL, SD = 1,95; Männer > 50 M=0,95 ng/mL, SD = 1,28).

Der geschlechtsspezifische Unterschied lässt sich in Kruskal Wallis-Test und Dunn's test bei folgenden Vergleichen feststellen: Männer < 50 vs. prämenopausale Frauen mit und ohne Östrogeneinnahme ( $p < 0,0001$ ), sowie Männer < 50 vs. postmenopausale Frauen ( $p = 0,0004$ ). Des Weiteren hochsignifikant ist der Vergleich zwischen Männern > 50 und prämenopausalen Frauen mit und ohne Östrogeneinnahme (jeweils  $p < 0,0001$ ) und signifikant ist der Vergleich von postmenopausalen Frauen mit prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme ( $p = 0,0071$ ). Das bedeutet, alle Vergleiche zwischen Männern und Frauen waren signifikant, mit der Ausnahme Männer > 50 vs. postmenopausale Frauen und zusätzlich postmenopausal vs. prämenopausal mit  $E_2$ .

Obwohl sich die Werte durch die Suppression durch die Glukose im Verlauf des Tests angleichen, zeigt sich auch noch nach 60 Minuten ein signifikanter Unterschied zwischen Männern und Frauen im Mann-Whitney-Test (Männer: M = 0,54 ng/mL (SD = 1,72); Frauen: M = 1,11 ng/mL (SD = 2,02;  $p < 0,0001$ ).

#### Akromegaliegruppe

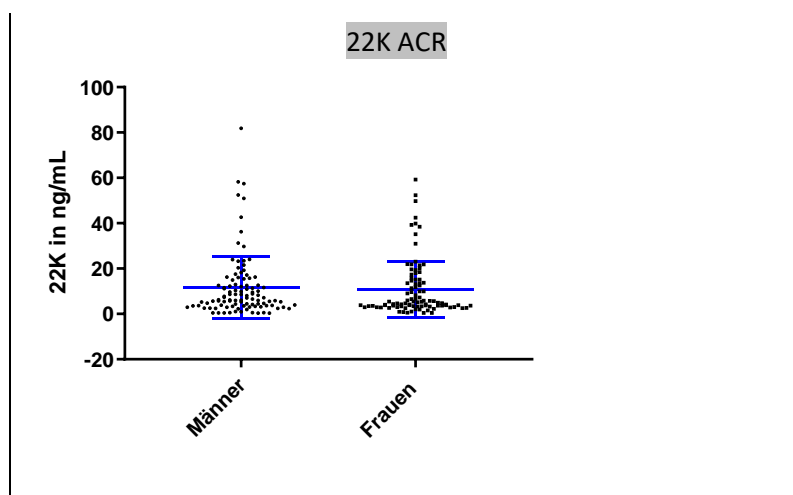


Abbildung 45: 22K gesamt, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe)  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In der Akromegaliegruppe zeigt sich im Mann-Whitney-Test kein Unterschied zwischen dem 22K der Männer und dem der Frauen. (Männer: n = 104; M = 11,66 ng/mL (SD = 13,8), Frauen: n= 94; M = 10,83 ng/mL (SD = 12,39);  $p = 0,395$ , nicht signifikant; vgl. Abbildung 44).

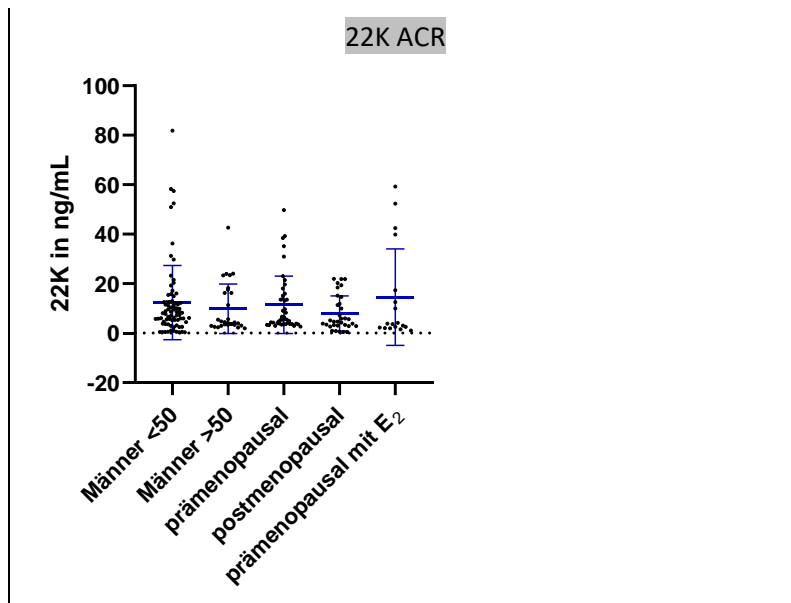


Abbildung 46: 22K gesamt, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Geschlechtergruppe	n (Probenanzahl)	Mittelwert	Standardabweichung
Männer < 50	75	12,36	15,01
Männer > 50	29	9,86	10,04
Frauen prämenopausal	43	11,49	11,61
Frauen postmenopausal	33	7,95	7,12
Frauen prämenopausal mit E <sub>2</sub>	18	14,56	19,49

Tabelle 20: 22K gesamt in ng/mL, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Auch im Geschlechtergruppenvergleich des 22K zeigt sich kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,9999$ ; vgl. Abbildung 45 und Tabelle 20), allerdings eine ähnliche Tendenz wie in der Kontrollgruppe. Die prämenopausalen Frauen mit und ohne Östrogeneinnahme und die Männer < 50 weisen die höchsten GH-Werte auf, die postmenopausalen Frauen und > 50-jährigen Männer die Niedrigsten. Es bestehen auffallend hohe Standardabweichungen.

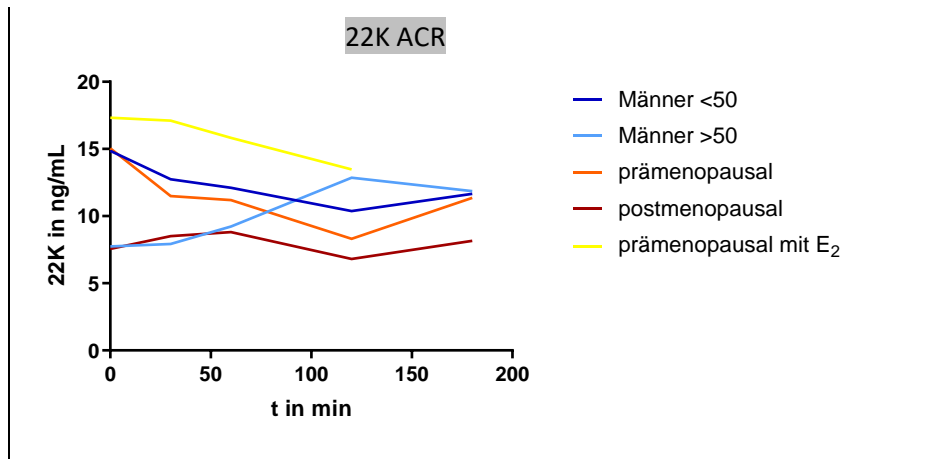


Abbildung 47: 22K, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

Im Vergleich der einzelnen Geschlechtergruppen im Zeitverlauf (vgl. Abbildung 46) zeigt sich eine ähnliche Aufteilung wie in der Kontrollgruppe (vgl. Abbildung 41), beispielsweise weisen auch hier die prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme die höchsten Werte auf. Es ist aber deutlich zu sehen, dass sowohl die absoluten Werte als auch der Verlauf der Werte über die Zeit stark von der Kontrollgruppe abweichen.

Die Werte bei Zeitpunkt 180' in der Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme wurden ausgeschlossen, da nur zwei Werte vorhanden waren.

Im Folgenden werden die Basalwerte verglichen.

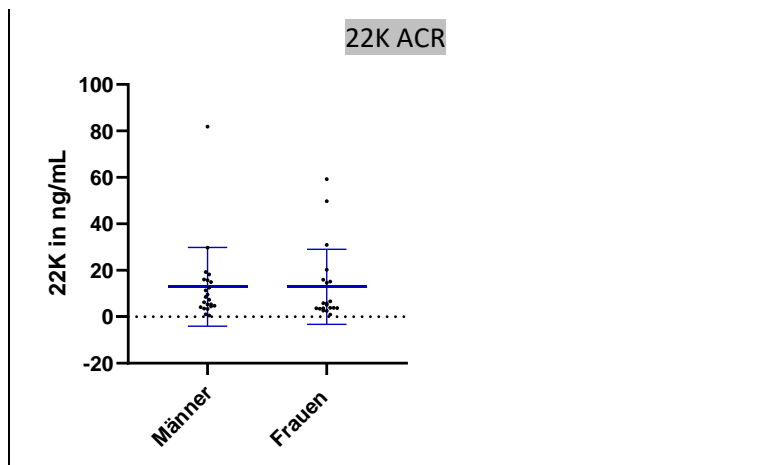


Abbildung 48: 22K basal, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

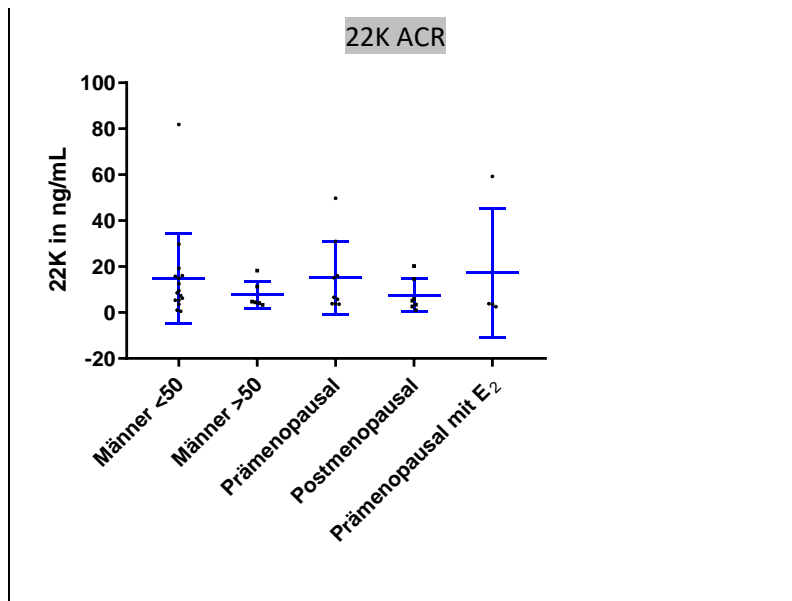


Abbildung 49: 22K basal Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

In dem in Abbildung 47 zu sehenden Vergleich der Basalwerte zwischen Männern und Frauen ist, wie schon aus den vorhergehenden Analysen zu vermuten war, kein signifikanter Unterschied im Mann-Whitney-Test zu detektieren (Männer: n = 22; M = 12,92 ng/mL, SD = 16,96; Frauen: n = 20; M = 12,88 ng/mL, SD = 16,17; p = 0,52).

In den Basalmessungen (vgl. Abbildung 48) zeigt sich, wie schon zuvor, eine ähnliche Aufteilung wie in der Kontrollgruppe, jedoch ohne signifikanten Unterschied in Kruskal-Wallis-Test und Dunn's test ( $p > 0,1$ ).

### 3.3.2.2. 20K

#### Kontrollgruppe

20K war in der Kontrollgruppe bei 22,8 % der Männer und bei 53,1 % der Frauen messbar (siehe Tabelle 5).

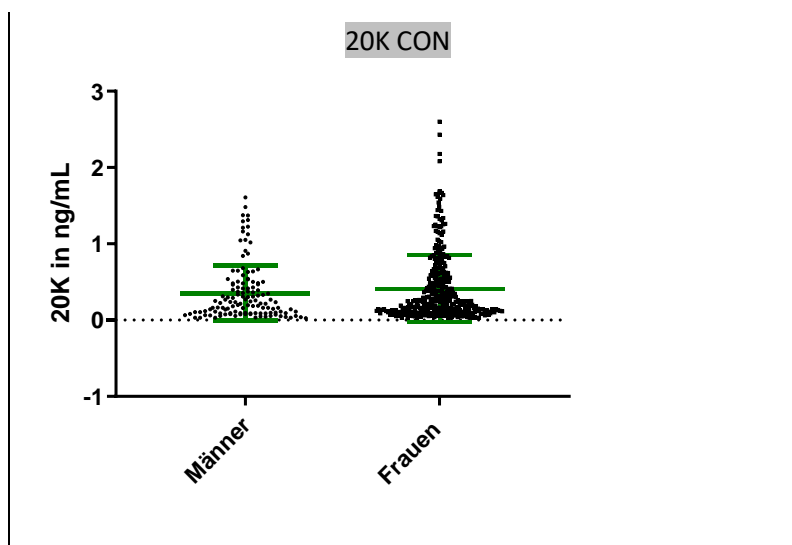


Abbildung 50: 20K gesamt, Männer und Frauen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe



Der Mann-Whitney-Test zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen dem 20K der Männer und dem der Frauen in der Kontrollgruppe ( $p = 0,2549$ ; Männer:  $n = 127$ ;  $M = 0,35$  ng/mL,  $SD = 0,36$ ; Frauen:  $n = 344$   $M = 0,41$  ng/mL,  $SD = 0,44$ ; vgl. Abbildung 49). Anhand der Angaben über die Probenanzahl ist allerdings zu sehen, dass bei den Männern sehr viel weniger Proben auf 20K gemessen werden konnten, was hier natürlich in die Interpretation mit einbezogen werden muss.

Auch hier wird 20K noch einmal in Bezug auf die einzelnen Geschlechtergruppen untersucht.

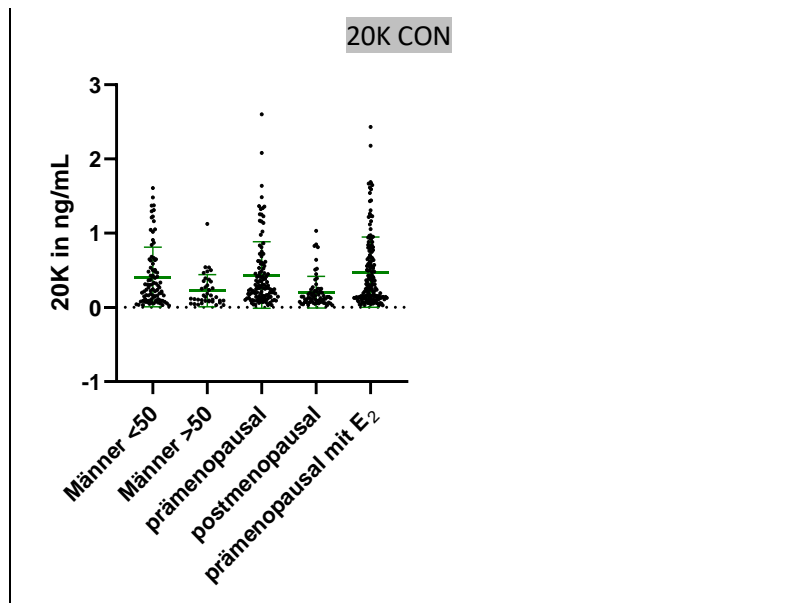


Abbildung 51: 20K gesamt, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Geschlechtergruppe	n (Probenanzahl)	Mittelwert	Standardabweichung
Männer < 50	89	0,41	0,4
Männer > 50	38	0,23	0,22
Frauen prämenopausal	120	0,44	0,45
Frauen postmenopausal	66	0,21	0,21
Frauen prämenopausal mit E <sub>2</sub>	158	0,47	0,48

Tabelle 21: 20K gesamt in ng/mL, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

In Abbildung 50 sowie Tabelle 21 ist das Gesamt-20K der einzelnen Geschlechtergruppen zu sehen. Es sind deutliche Unterschiede vorhanden, die prämenopausalen Frauen mit und ohne Östrogeneinnahme haben die höchsten 20K-Werte, gefolgt von den Männern < 50. Die geringsten 20K-Werte weisen die postmenopausalen Frauen sowie die Männer > 50 auf. Hochsignifikant sind die Unterschiede zwischen postmenopausalen Frauen und prämenopausalen Frauen jeweils mit und ohne orales E<sub>2</sub> ( $p < 0,0001$ ). Außerdem signifikant sind die Unterschiede zwischen Männern > 50 und prämenopausalen Frauen mit ( $p = 0,0108$ ) und ohne Östrogeneinnahme ( $p = 0,01777$ ), sowie Männer

< 50 vs. postmenopausale Frauen ( $p = 0,0031$ ). In der Gesamtbetrachtung zeigt sich das Bild einer Aufteilung in zwei Bereiche: die Werte der prämenopausalen Frauen und die der jungen Männer liegen im höheren Bereich, die der älteren Männer und der postmenopausalen Frauen im niedrigeren Bereich.

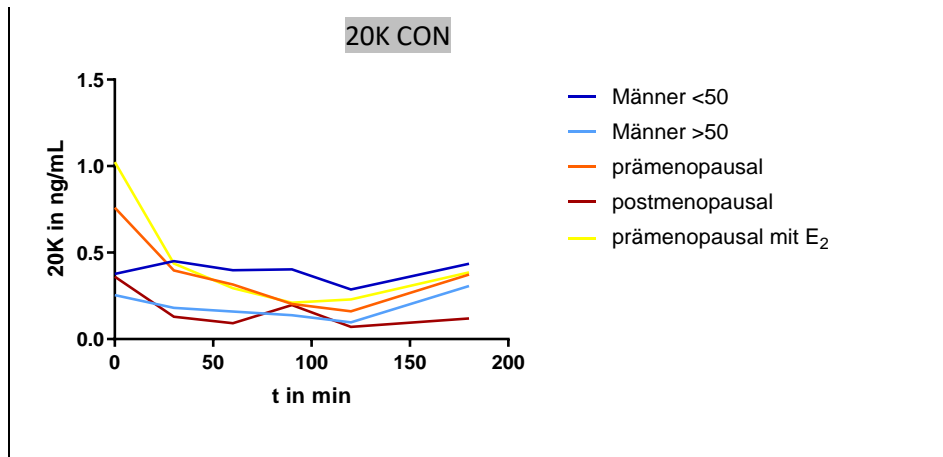


Abbildung 52: 20K, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

In Abbildung 51 wird der Verlauf der 20K-Werte in den einzelnen Geschlechtergruppen dargestellt. Der Verlauf ist ähnlich wie bei 22K, die Werte fallen bis auf ihren Tiefpunkt bei 120 Minuten und steigen danach wieder leicht an. Prämenopausale Frauen mit und ohne Östrogenzufuhr sowie junge Männer weisen über den gesamten Verlauf die höchsten 20K-Werte auf.

Im Folgenden werden die Basalwerte verglichen.

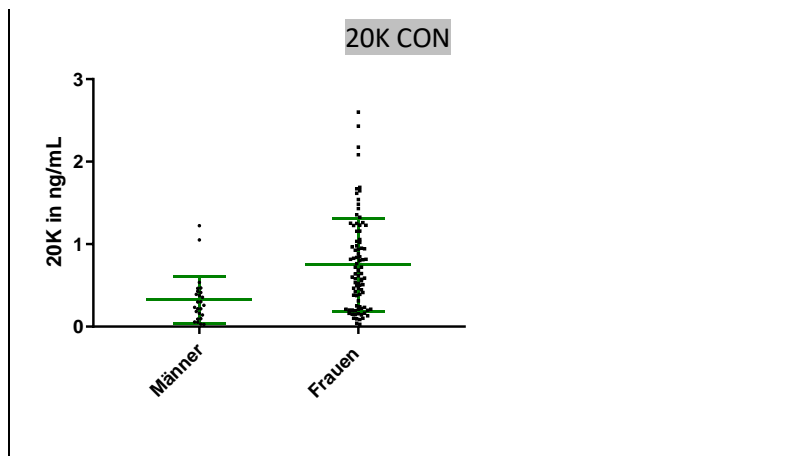


Abbildung 53: 20K basal Männer und Frauen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

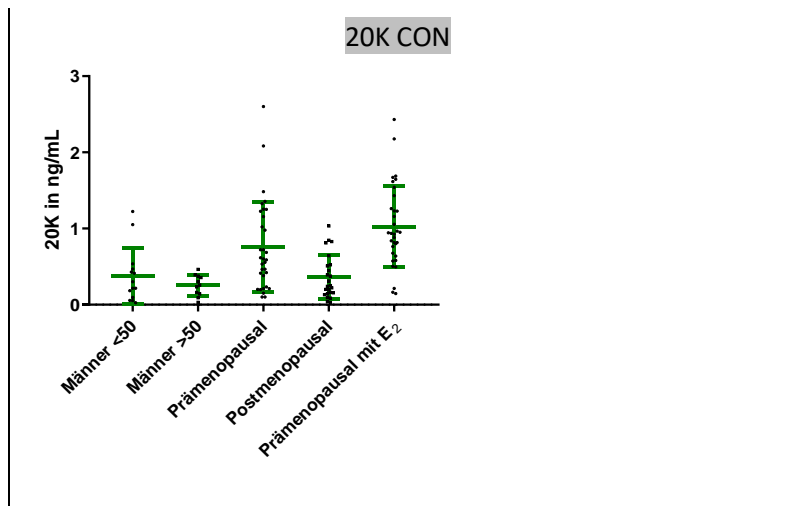


Abbildung 54: 20K basal, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Wie schon bei 22K zeigt sich auch bei den 20K-Messungen ein signifikanter Unterschied zwischen Frauen und Männern in der Kontrollgruppe (Frauen: n = 89; M = 0,75 ng/mL, SD = 0,56; Männer: n = 25; M = 0,32 ng/mL, SD = 0,29 p < 0,0001, vgl. Abbildung 52).

Analog zu den 22K-Werten haben auch hier die prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme die höchsten Werte (M = 1,02 ng/mL, SD = 0,54, vgl. Abbildung 53), gefolgt von den prämenopausalen Frauen (M = 0,76 ng/mL, SD = 0,59, vgl. Abbildung).

Auch hier ist der Vergleich zwischen prämenopausalen Frauen mit E<sub>2</sub> und jeweils postmenopausalen Frauen und Männern > 50 hochsignifikant (p < 0,0001). Außerdem signifikant ist der Vergleich zwischen prämenopausalen Frauen und jeweils Männern < 50 (p = 0,0005), Männern > 50 (p = 0,0332), sowie postmenopausalen Frauen (p = 0,0409).

#### Akromegaliegruppe

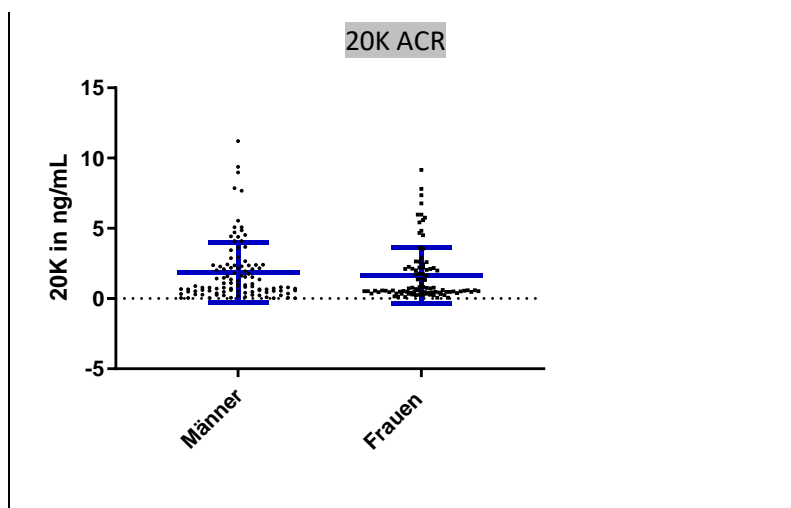


Abbildung 55: 20K gesamt, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In der Akromegaliegruppe lässt sich mit dem Mann-Whitney-Test kein signifikanter Unterschied zwischen dem Gesamt-20K der Männer und dem der Frauen zeigen (Männer: n = 103, M = 1,84 ng/mL, SD = 2,14; Frauen: n = 94, M = 1,63 ng/mL, SD = 1,98; p = 0,2040, vgl. Abbildung 54).

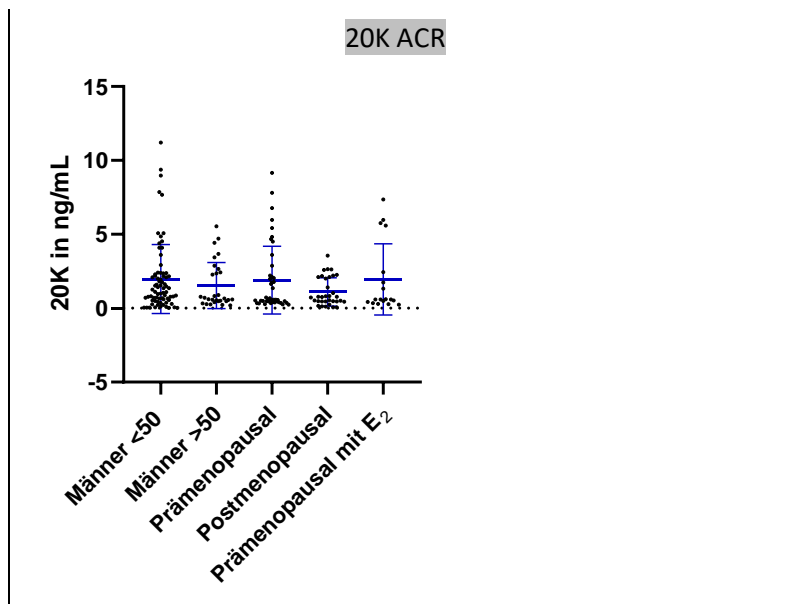


Abbildung 56: 20K gesamt, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Geschlechtergruppe	n (Probenanzahl)	Mittelwert	Standardabweichung
Männer < 50	74	1,97	2,3
Männer > 50	29	1,53	1,56
Frauen prämenopausal	43	1,91	2,29
Frauen postmenopausal	33	1,1	0,96
Frauen prämenopausal mit E <sub>2</sub>	18	1,95	2,41

Tabelle 22: Gesamt-20K in ng/mL, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Die Werte bewegen sich zwischen 1,1 ng/mL bei den postmenopausalen Frauen und 1,97 ng/mL bei den Männern < 50 (vgl. Abbildung 55 und Tabelle 22). Im Kruskal-Wallis und Dunn's test sind die Unterschiede nicht signifikant ( $p > 0,9999$ ).

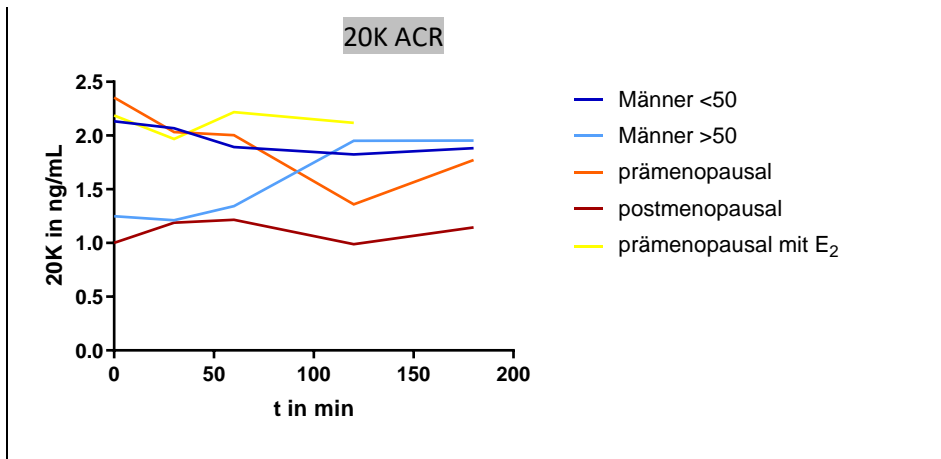


Abbildung 57: 20K, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

Abbildung 56 zeigt den zeitlichen Verlauf der 20K-Werte in den einzelnen Geschlechtergruppen. Wie auch in der Kontrollgruppe weisen hier, zumindest zu Beginn der Messung, die prämenopausalen Frauen mit und ohne Östrogenzufuhr sowie die jungen Männer die höchsten 20K-Werte auf. Die Unterschiede waren allerdings nicht signifikant, was evtl. auch an der teilweise sehr kleinen Gruppengröße lag. Zeitpunkt 180 der Gruppe der prämenopausalen Frauen mit E<sub>2</sub> ist aufgrund der limitierten Gruppengröße nicht abgebildet.

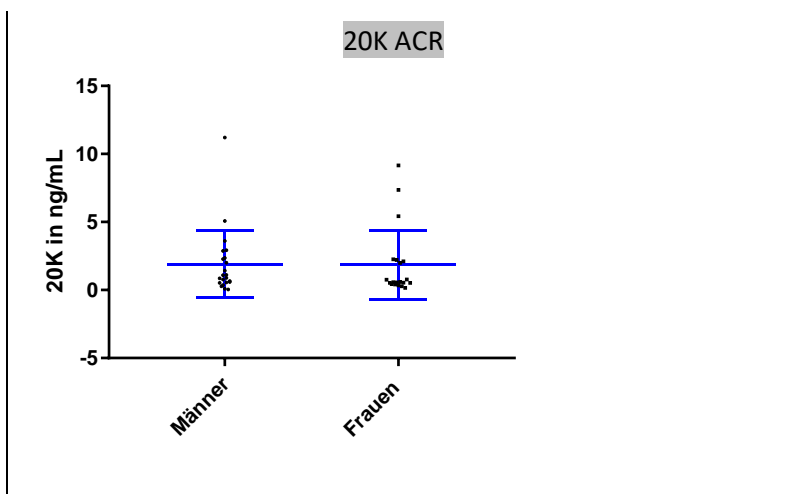


Abbildung 58: 20K basal, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

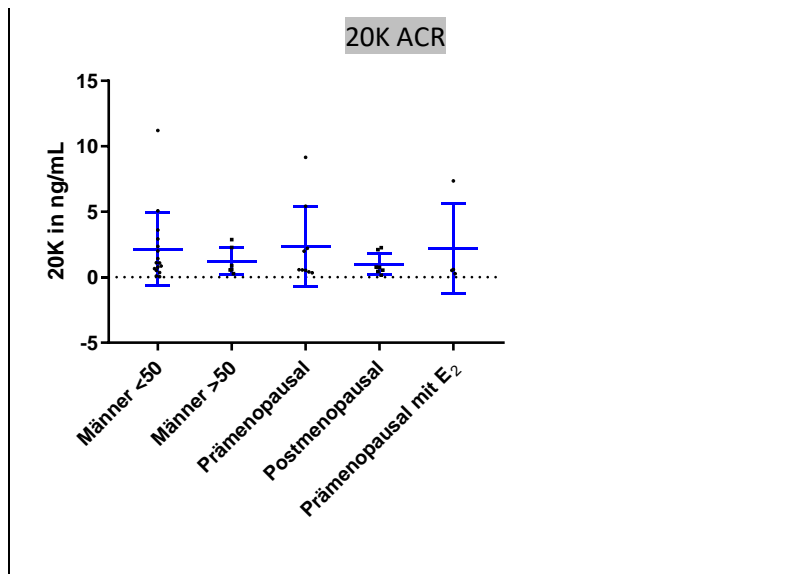


Abbildung 59: 20K basal, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

In der Akromegaliegruppe ist, wie schon bei 22K, kein signifikanter Unterschied der Gruppen zu beobachten (vgl. Abbildungen 57 und 58). Dies ist aufgrund der vorherigen Ergebnisse zu erwarten.

### 3.3.2.3. 20K/22K-Ratio

#### Kontrollgruppe

Die 20K/22K-Ratio-Werte werden auf geschlechtsspezifische Unterschiede analysiert.

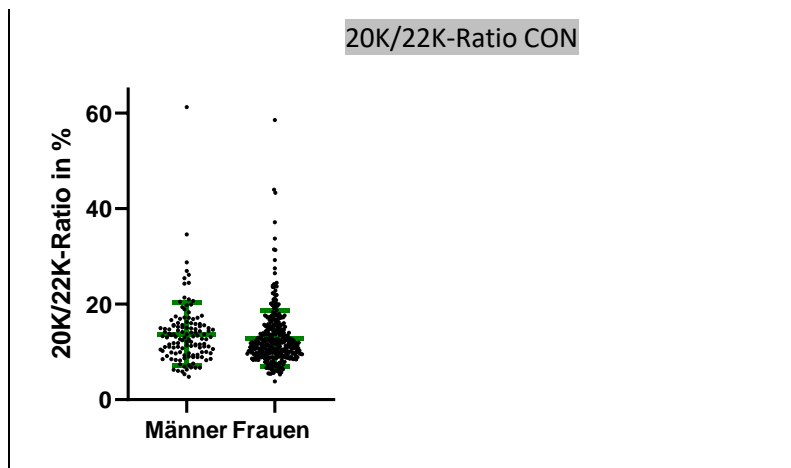


Abbildung 60: 20K/22K-Ratio gesamt, Männer und Frauen (Kontrollgruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

Der Vergleich zwischen den 20K/22K-Ratio-Werten von Männern und Frauen in der Kontrollgruppe fällt im Mann-Whitney-Test nicht signifikant aus ( $p = 0,0556$ , vgl. Abbildung 59). Die Männer weisen im Schnitt eine 20K/22K-Ratio von 13,7 % ( $n = 127$ ;  $SD = 6,58$ ) und die Frauen von 12,83 % ( $n = 344$ ;  $SD = 5,87$ ) auf. Um spezifischere Ergebnisse zu erhalten wird in die einzelnen Geschlechtergruppen unterteilt.

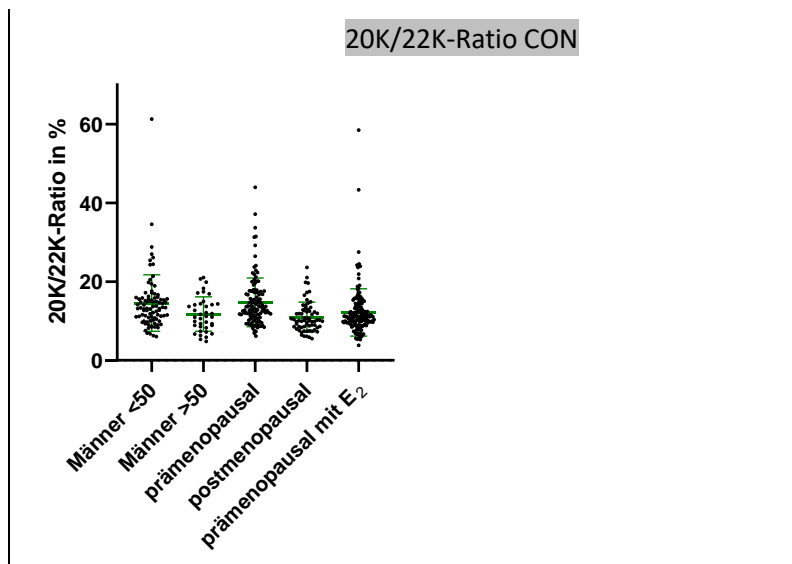


Abbildung 61: 20K/22K-Ratio gesamt, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Geschlechtergruppe	n (Probenanzahl)	Mittelwert in %	Standardabweichung
Männer < 50	89	14,55	7,18
Männer > 50	38	11,73	4,38
Frauen prämenopausal	120	14,73	6,18
Frauen postmenopausal	66	11,0	3,77
Frauen prämenopausal mit E <sub>2</sub>	158	12,15	5,99

Tabelle 23: 20K/22K-Ratio gesamt in %, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

In Abbildung 60 und Tabelle 23 sind die Gesamt-20K/22K-Ratio-Werte der einzelnen Geschlechtergruppen dargestellt. Die höchste 20K/22K-Ratio haben die prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme (14,73 %; SD = 6,18) und die Männer < 50 (14,55 %; SD = 7,18). Mittig stellen sich die prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme dar (12,15 %, SD = 5,99), und die niedrigsten Werte zeigen die Männer > 50 (11,73 %, SD = 4,38) sowie die postmenopausalen Frauen (11,0 %, SD = 3,77, siehe Tabelle 23).

Signifikante Unterschiede lassen sich v.a. zwischen prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme und solchen mit Östrogeneinnahme bzw. postmenopausalen Frauen eruieren ( $p < 0,0001$ ). Außerdem signifikant unterschiedlich sind Männer < 50 vs. postmenopausale Frauen ( $p = 0,0001$ ), bzw. vs. prämenopausale Frauen mit Östrogeneinnahme ( $p = 0,0016$ ), sowie Männer > 50 vs. prämenopausale Frauen ( $p = 0,0311$ ).

Die 20K/22K-Ratio-Werte der einzelnen Geschlechtergruppen werden über die Zeit in einer Abbildung dargestellt.

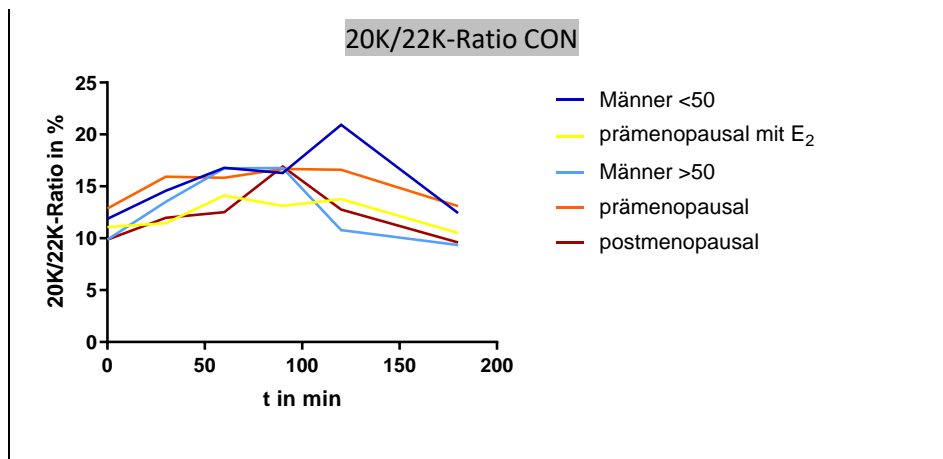


Abbildung 62: 20K/22K-Ratio, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

Teilweise sind die Gruppen sehr klein. Gruppen-Zeitpunkt-Kombinationen mit weniger als 4 Werten wurden zum Zwecke einer besseren Übersicht in einer zweiten Darstellung (Abbildung 62) ausgeschlossen (Männer > 50 Zeitpunkte 90 und 120; postmenopausale Frauen Zeitpunkt 90).

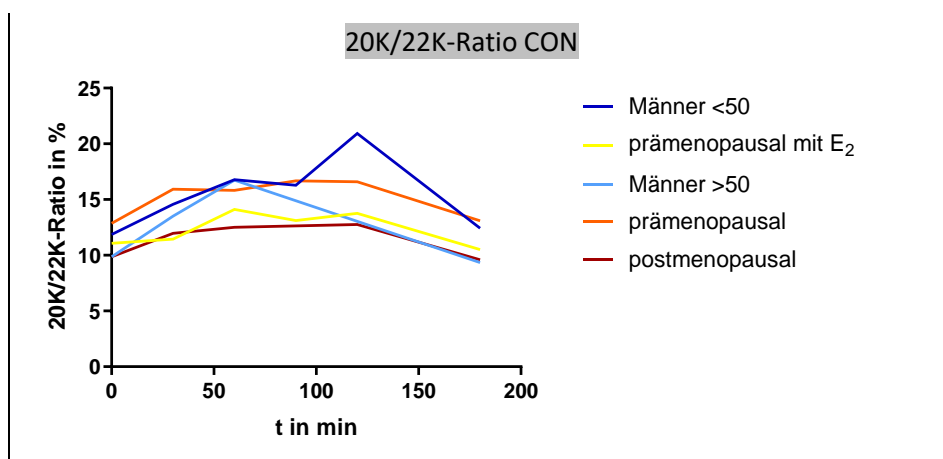


Abbildung 63: 20K/22K-Ratio, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

In Abbildungen 61 und 62 zeigt sich in allen Gruppen ein ähnlicher Verlauf mit zu Anfangs steigenden und zum Ende hin wieder sinkenden Werten. Die über die längste Zeit höchsten 20K/22K-Werte weisen hierbei die Männer < 50, sowie die prämenopausalen Frauen auf, die niedrigsten die postmenopausalen Frauen, sowie die prämenopausalen Frauen mit E<sub>2</sub>. Die Männer > 50 zeigen einen interessanten Zeitverlauf: Während der Test mit vergleichsweise niedrigen Werten gestartet und beendet wird, steigen sie zwischenzeitlich, nämlich nach einer Stunde, auf mit den Werten der Männer < 50 zu vergleichende Werte an und übersteigen zu diesem Zeitpunkt sogar die Werte der prämenopausalen Frauen.

Es folgt die Betrachtung der Basalwerte.



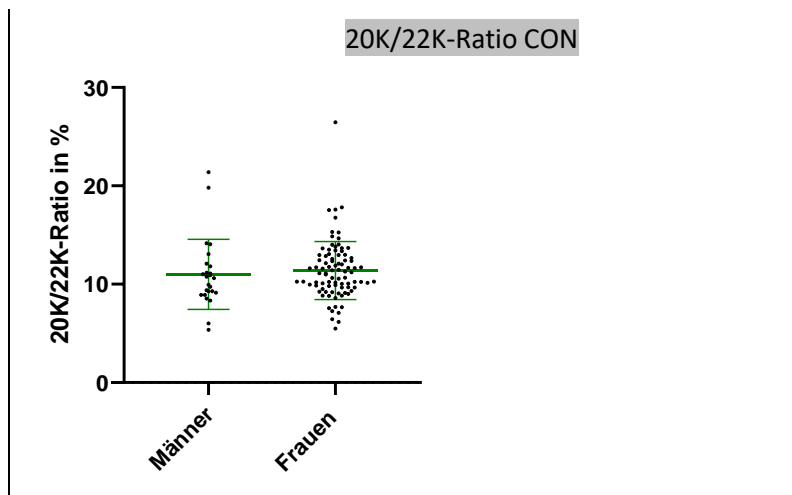


Abbildung 64: 20K/22K-Ratio basal, Männer und Frauen (Kontrollgruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

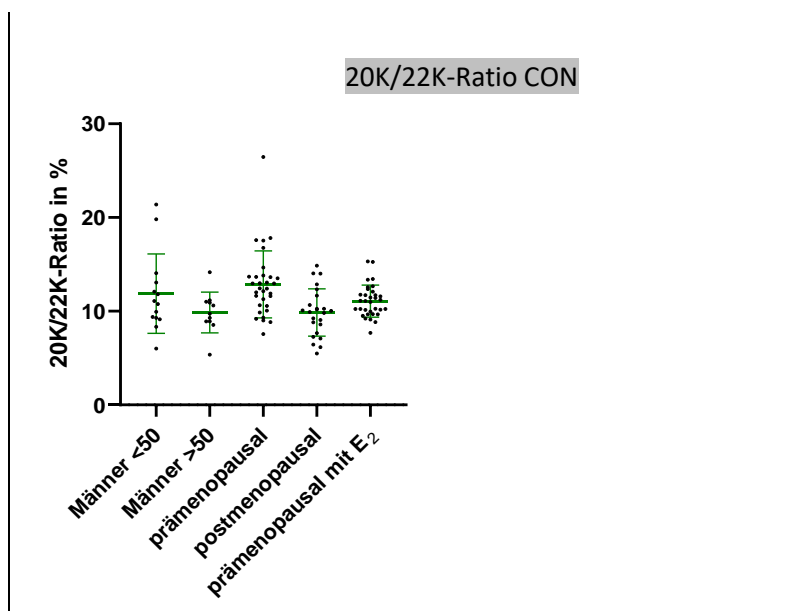


Abbildung 65: 20K/22K-Ratio basal, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Bei Betrachtung des Basalwerts (vgl. Abbildung 63) ist kein signifikanter Unterschied zwischen Männern und Frauen festzustellen. Männer (n = 25) hatten eine basale 20K/22K-Ratio von 10,99 % (SD = 3,56) und Frauen (n = 89) 11,39 % (SD = 2,95), p = 0,229.

Die Unterscheidung in die einzelnen Geschlechtergruppen zeigt sich hier als äußerst sinnvoll. Während in Abbildung 63 kein Unterschied zwischen Männern und Frauen erkannt werden kann, können bei der genaueren Aufteilung signifikante Unterschiede detektiert werden. Diese zeigen sich zwischen prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme (n = 32) und jeweils Männern > 50 Jahren (n = 11; p = 0,0316) bzw. postmenopausalen Frauen (n = 24; p = 0,0026, vgl. Abbildung 64) im Kruskal-Wallis mit Dunn's Test.

## Akromegaliegruppe

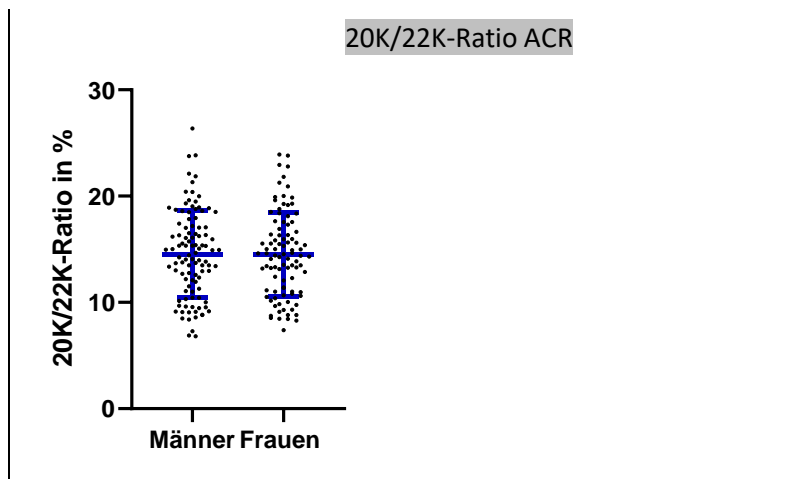


Abbildung 66: 20K/22K-Ratio gesamt, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

Der Vergleich zwischen den 20K/22K-Ratio Gesamtwerten von Männern und Frauen fällt auch in der Akromegaliegruppe im Mann-Whitney-Test nicht signifikant aus ( $p = 0,8530$ ). Die Männer haben im Schnitt eine 20K/22K-Ratio von 14,55 % ( $n = 103$ ;  $SD = 4,09$ ) und die Frauen von 14,48 % ( $n = 94$ ;  $SD = 3,95$ ).

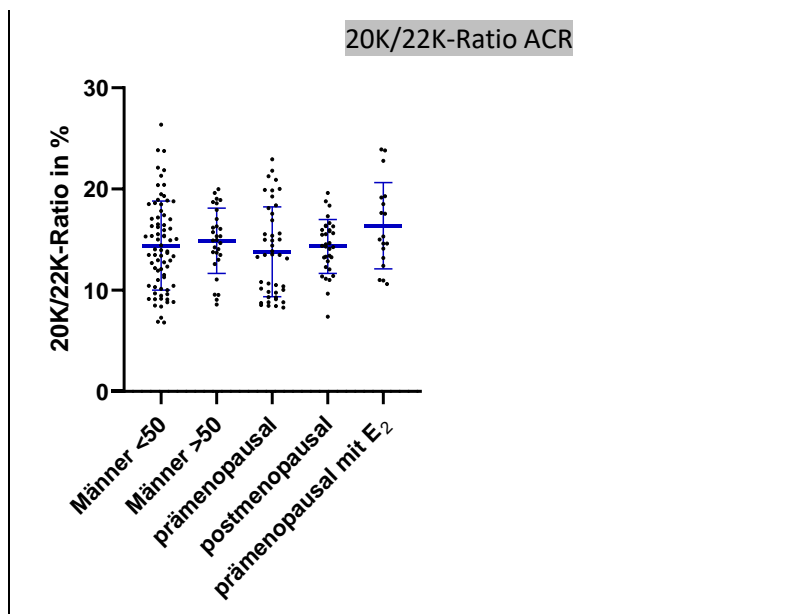


Abbildung 67: 20K/22K-Ratio gesamt, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Geschlechtergruppe	n (Probenanzahl)	Mittelwert in %	Standardabweichung
Männer < 50	74	14,41	4,40
Männer > 50	29	14,90	3,22
Frauen prämenopausal	43	13,81	4,44
Frauen postmenopausal	33	14,33	2,66
Frauen prämenopausal mit E <sub>2</sub>	18	16,36	4,26

Tabelle 24: 20K/22K-Ratio gesamt in %, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

In Abbildung 66 und Tabelle 24 ist zu sehen, dass in unserer Akromegaliegruppe die prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme und die Männer > 50 die höchste 20K/22K-Ratio haben, interessanterweise gerade zwei der Gruppen, die in der Kontrollgruppe eher geringere Werte aufwiesen als die anderen. Die Unterschiede sind hier jedoch nicht signifikant (prämenopausale Frauen vs. prämenopausale Frauen mit E<sub>2</sub> p = 0,3807; alle anderen p > 0,9999).

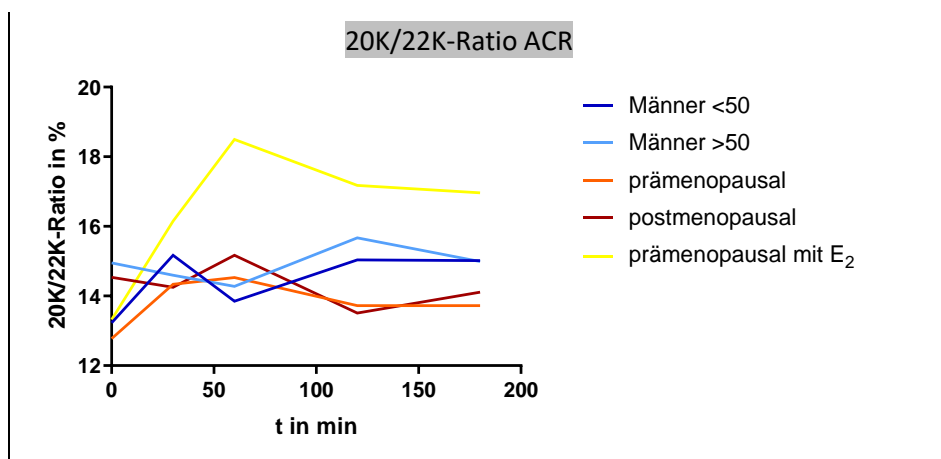


Abbildung 68: 20K/22K-Ratio, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; t = Zeit

Interessanterweise scheint die Aufteilung nach Geschlechtern in Kontroll- und Akromegaliegruppe jeweils umgekehrt zu sein. Während in der Kontrollgruppe die prämenopausalen Frauen zum größten Teil die höchsten Werte aufweisen, sind diese in der Akromegaliegruppe eher niedriger, und starten und enden als niedrigster Wert. Außerdem zeigen in der Kontrollgruppe die prämenopausalen Frauen mit E<sub>2</sub> eher niedrige Werte, während sie in der Akromegaliegruppe als einzige mit höheren Werten als der Rest herausstechen, wenn auch nicht signifikant.

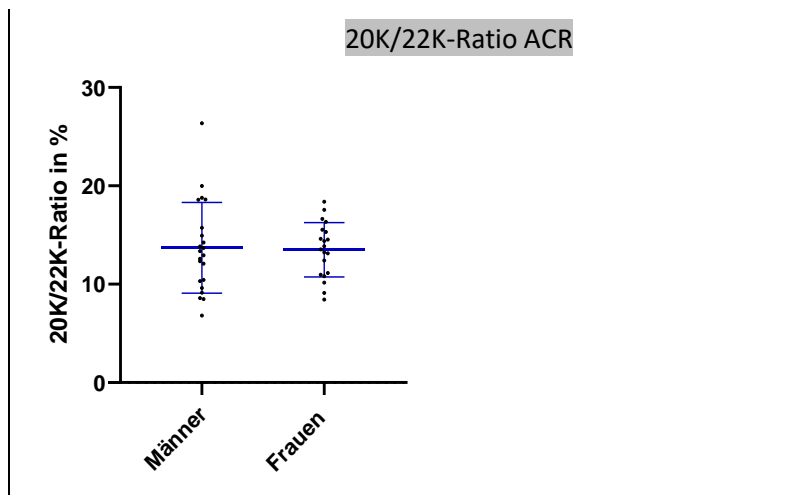


Abbildung 69: 20K/22K-Ratio basal, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

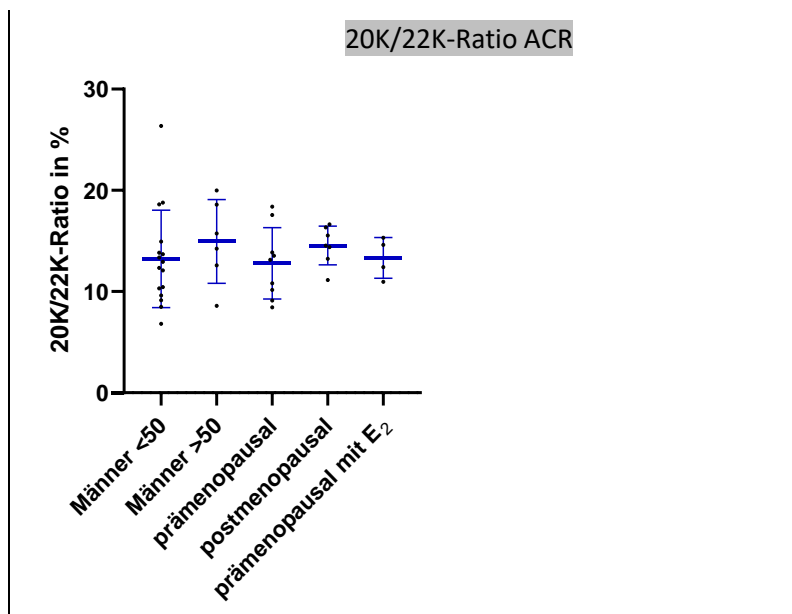


Abbildung 70: 20K/22K-Ratio basal, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Basal lässt sich kein signifikanter Unterschied zwischen Männern (n = 22) und Frauen (n = 20), und zwischen den einzelnen Geschlechtergruppen im Mann-Whitney-Test bzw. im Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's multiple comparisons test feststellen (p = 0,7745 im Mann-Whitney- bzw. p > 0,9999 im Kruskal-Wallis-Test, vgl. Abbildungen 68 und 69).

#### Dynamik

Um die Unterschiede der Dynamik der 20K/22K-Ratios zwischen den verschiedenen Geschlechtergruppen weiter zu verfolgen, vergleichen wir die Akromegalie- und Kontrollgruppe einzeln je nach Geschlechtergruppe.

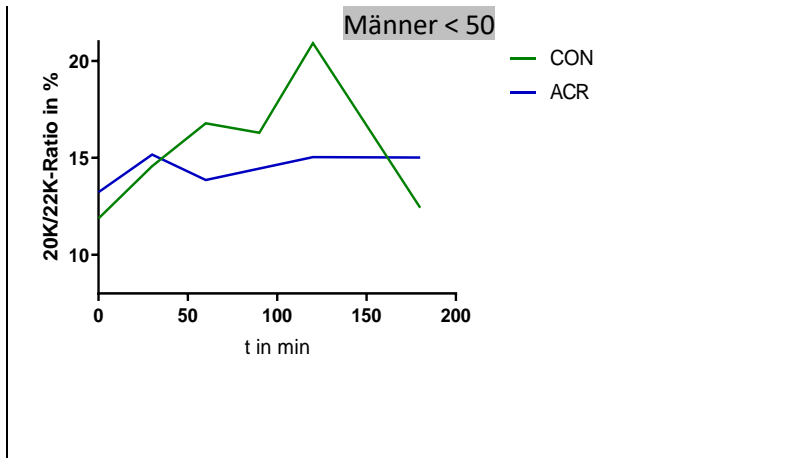


Abbildung 71: 20K/22K-Ratio Männer < 50 (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit

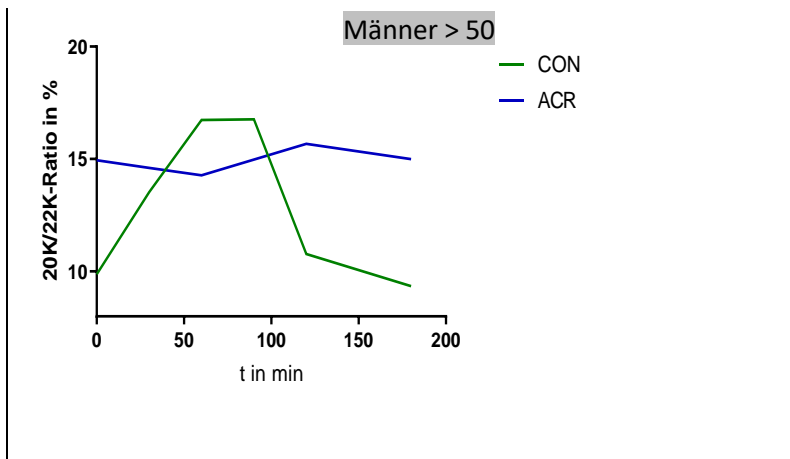


Abbildung 72: 20K/22K-Ratio Männer > 50 (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit

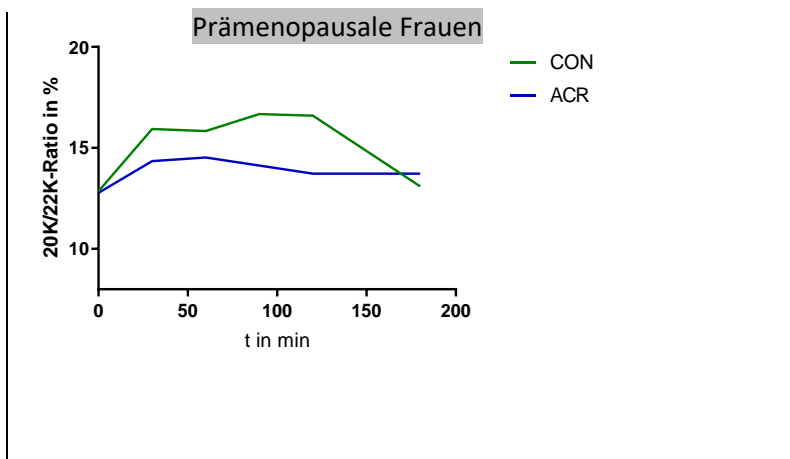


Abbildung 73: 20K/22K-Ratio prämenopausale Frauen (Kontroll- und Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit

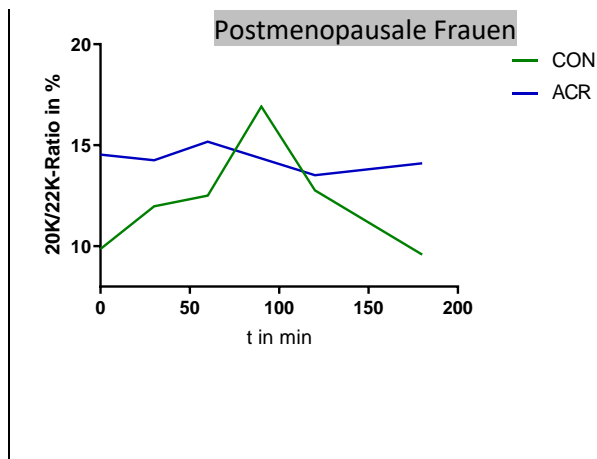


Abbildung 74: 20K/22K-Ratio postmenopausale Frauen (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit

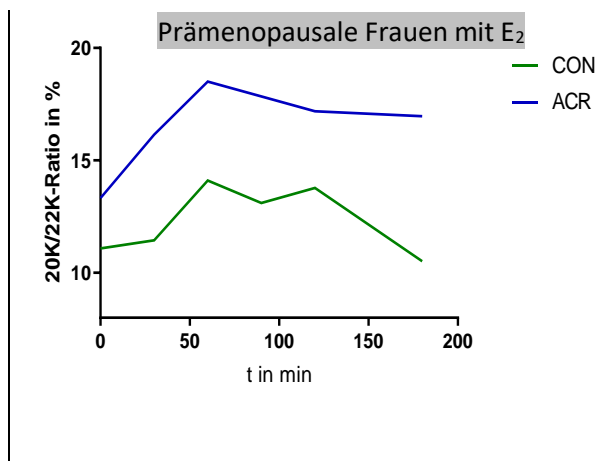


Abbildung 75: 20K/22K-Ratio prämenopausale Frauen mit E<sub>2</sub> (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe; t = Zeit

Die Geschlechtergruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme weist ein paar Besonderheiten auf. Sie ist die einzige Untergruppe, in der der 20K-Wert der Kontrollgruppe nicht über den der Akromegaliegruppe steigt, d.h. es nicht mindestens einen Schnittpunkt gibt, der Kurvenverlauf ist eher flach. Hinsichtlich der Akromegaliegruppe ist sie die Untergruppe mit der größten Differenz innerhalb des oGTT, nämlich im Vergleich 0' zu 60' mit Mittelwerten von 13,25 % (SD = 2,06) und 18,5 % (SD = 5,8). Hier wird also zumindest zu Beginn eine vergleichbare Dynamik wie in der Kontrollgruppe beobachtet. Im Mann-Whitney-Test ist dieser Unterschied nicht signifikant ( $p = 0,3143$ ). Die Gruppe ist mit nur 4 Patientinnen allerdings auch sehr klein.

Weiter zu beobachten ist außerdem, dass die Werte der prämenopausalen Frauen als einziger Untergruppe sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei der Gruppe der Akromegaliepatienten auf demselben 20K/22K-Ratio-Niveau beginnen.

Es folgt die Analyse der 20K-Werte basal und nach einer Stunde in der Kontrollgruppe durch den Mann-Whitney-Test.

Geschlechtergruppe	n 0'	20K/22K-Ratio 0' M in %	SD	n 60'	20K/22K-Ratio 60' M in %	SD	p-Wert
Männer < 50	14	11,87	4,23	14	16,78	5,63	0,0014
Männer > 50	11	9,87	2,17	4	16,73	3,73	0,0022
Prämenopausal	32	12,86	3,57	18	15,83	5,97	0,0324
Postmenopausal	24	9,87	2,53	8	12,50	3,18	0,0291
Prämenopausal mit E <sub>2</sub>	33	11,08	1,71	29	14,11	11,04	0,5584

Tabelle 25: Mann-Whitney-Test, 20K/22K-Ratio 0' und 60', Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Anzahl; E<sub>2</sub> = orale Östrogeneinnahme

Es ist zu bemerken, dass der höchste Mittelwert bei den Männern > 50, bei postmenopausalen und bei prämenopausalen Frauen erst nach 90 Minuten erreicht ist (vgl. Abbildungen 71 – 73). Die Analyse in Tabelle 25 bezieht sich aus oben genannten Gründen (siehe 3.2.3.4. Dynamik) allerdings nur auf den Unterschied zwischen Basalwert und der Messung nach einer Stunde.

Die Männer > 50 weisen hier einen erstaunlich großen Anstieg der 20K/22K-Ratio-Werte auf (Maximum bei 90': 16,77 %, SD = 4,41). In dieser Untergruppe ist mit 6,9 % die größte Differenz zwischen basalem und 60 Minuten-Wert festzustellen.

Eine weitere Beobachtung bezieht sich auf die Gruppe der prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme. Dadurch, dass diese Untergruppe in der Kontrollgruppe hohe 20K/22K-Ratio-Werte aufweist und in der Akromegaliegruppe vergleichsweise niedrige, starten die Werte in beiden Kohorten auf demselben Niveau, die Probanden der Kontrollgruppe minimal höher (ACR: M = 12,78 % (SD = 3,52), CON: M = 12,86 % (SD = 3,57)). Damit ist dies die einzige Untergruppe, in der der Basalwert der Gesunden höher als der der an Akromegalie erkrankten Personen liegt.

Es zeigt sich weiterhin, dass der flache 20K/22K-Ratio-Verlauf der Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme sich im p-Wert des Vergleichs zwischen Zeitpunkt 0 und 60 widerspiegelt (p = 0,5584). Dies ist die einzige Untergruppe innerhalb der Kontrollgruppe, in der dieser Vergleich nicht signifikant ausfällt. Damit ist die Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme in der Akromegaliegruppe hervorstechend als einzige Gruppe mit geringer, jedoch nicht signifikanter Veränderung im Zeitverlauf, und in der Kontrollgruppe als einzige, in der der Vergleich 0' und 60' nicht signifikant war. Die Annahme liegt nahe, dass die Östrogeneinnahme den GH-Metabolismus von sowohl Gesunden als auch an Akromegalie Erkrankten beeinflusst.

### 3.3.3. Alter

Um den Einfluss des Alters zu detektieren, wurden lineare Regressionsanalysen durchgeführt.

#### 3.3.3.1. 22K

Um einen möglichen Effekt des Alters der Probanden auf 22K zu untersuchen, wird eine lineare Regressionsanalyse von basalem 22K und Alter durchgeführt.

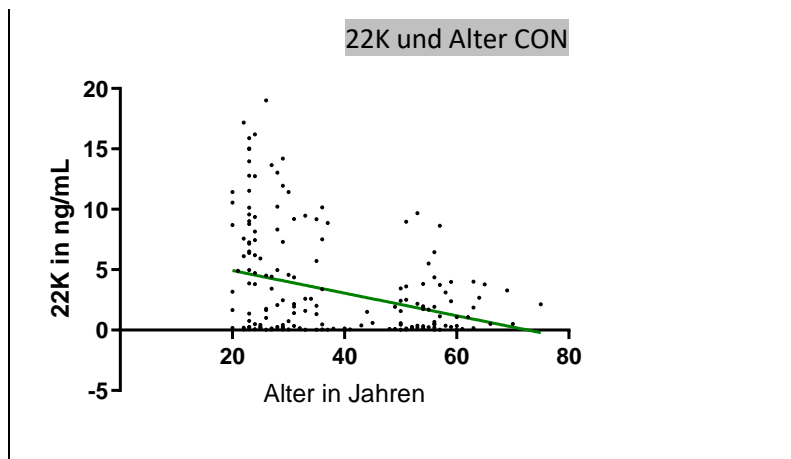


Abbildung 76: Lineare Regression basales 22K und Alter (Kontrollgruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

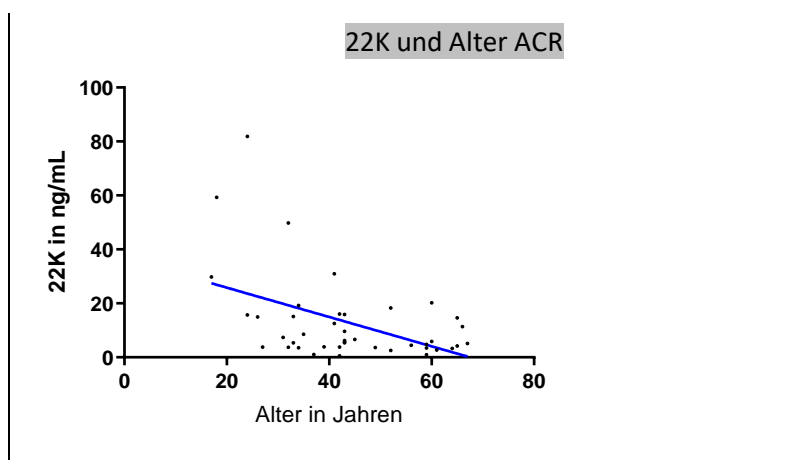


Abbildung 77: Lineare Regression basales 22K und Alter (Akromegaliegruppe)  
 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In der linearen Regressionsanalyse für 22K und Alter zeigt sich in der Kontrollgruppe eine signifikante mittelstarke negative Korrelation ( $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,0974$ ,  $n = 201$ , vgl. Abbildung 75), d.h. je älter der Proband, desto geringer der basale 22K-Wert.

Interessanterweise kann auch in unserer Akromegaliegruppe bei der linearen Regressionsanalyse von Alter und 22K eine mittelstarke negative Korrelation festgestellt werden ( $p = 0,002$ ,  $r^2 = 0,214$ ,  $n = 42$ , vgl. Abbildung 76). Allerdings ist das Patientenkollektiv der Akromegaliegruppe insgesamt fortgeschritteneren Alters als die Kontrollprobanden (vgl. 3.1.1. Kontrollgruppe und 3.1.2. Akromegaliegruppe).



### 3.3.3.2. 20K

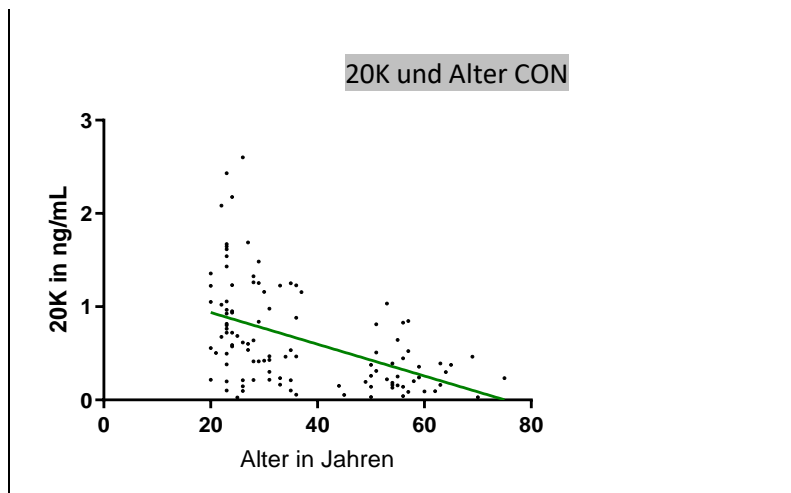


Abbildung 78: Lineare Regression basales 20K und Alter (Kontrollgruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

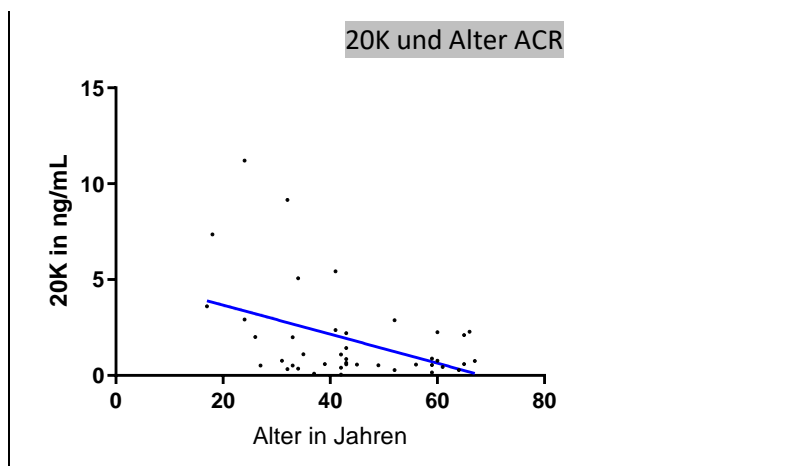


Abbildung 79: Lineare Regression basales 20K und Alter (Akromegaliegruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

Die lineare Regression des basalen 20K und des Alters der Probanden der Kontrollgruppe zeigt analog zu 22K eine mittelstarke negative Korrelation ( $r^2 = 0,22$ ,  $p < 0,0001$ ,  $n = 114$ , vgl. Abbildung 77).

Auch in der Akromegaliegruppe ergibt die lineare Regression bei 20K, analog zu 22K, eine mittelstarke negative Korrelation ( $r^2 = 0,19$ ,  $p = 0,004$ ,  $n = 42$  vgl. Abbildung 78).

### 3.3.3.3. 20K/22K-Ratio

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen 20K/22K-Ratio und dem Alter zu untersuchen, wird bei beiden Gruppen eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

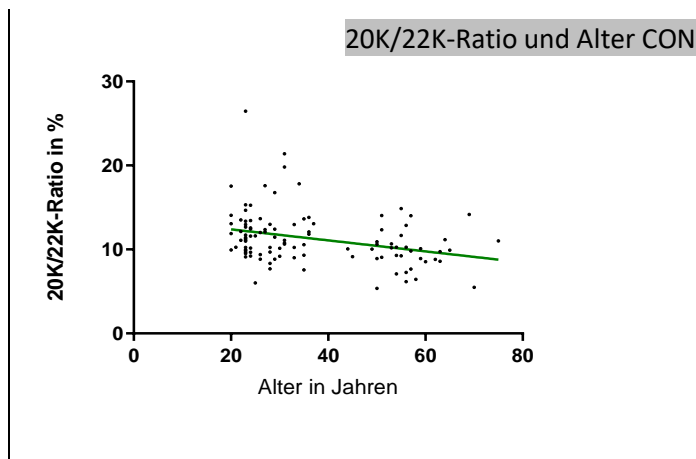


Abbildung 80: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und Alter (Kontrollgruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; CON = Kontrollgruppe

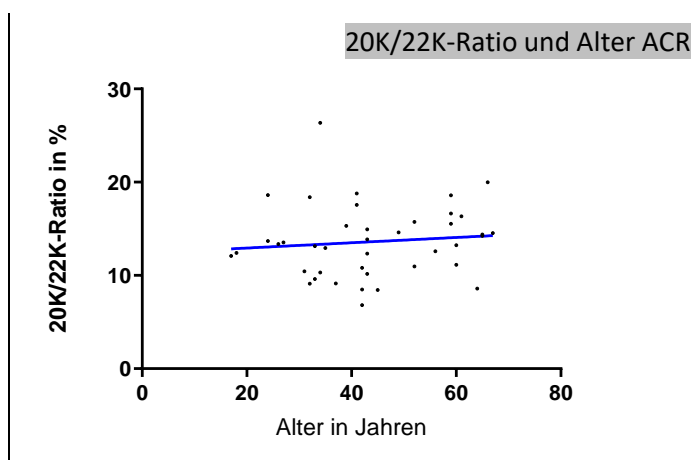


Abbildung 81: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und Alter (Akromegaliegruppe)  
 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

In der Regressionsanalyse von 20K/22K-Ratio und Alter zeigt sich eine mittelstarke negative Korrelation in der Kontrollgruppe. Es zeigt sich bei höherem Alter eine niedrigere 20K/22K-Ratio ( $p = 0,0005$ ,  $r^2 = 0,1026$ ,  $n = 114$ , vgl. Abbildung 79).

In der Akromegaliegruppe tritt keine signifikante Korrelation auf ( $p = 0,5125$ ,  $r^2 = 0,043$ ,  $n = 42$ , vgl. Abbildung 80).

### 3.3.4. BMI

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen 22K, 20K oder der 20K/22K-Ratio und BMI zu untersuchen, werden lineare Regressionsanalysen durchgeführt.

### 3.3.4.1. 22K

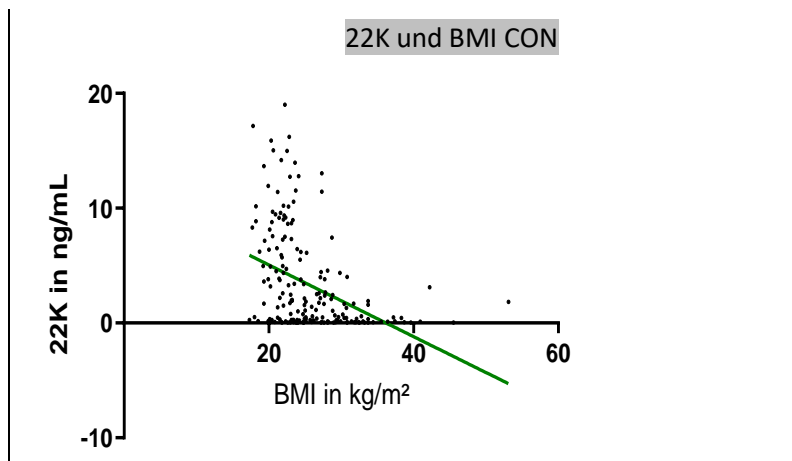


Abbildung 82: Lineare Regression basales 22K und BMI; Kontrollgruppe  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; CON = Kontrollgruppe

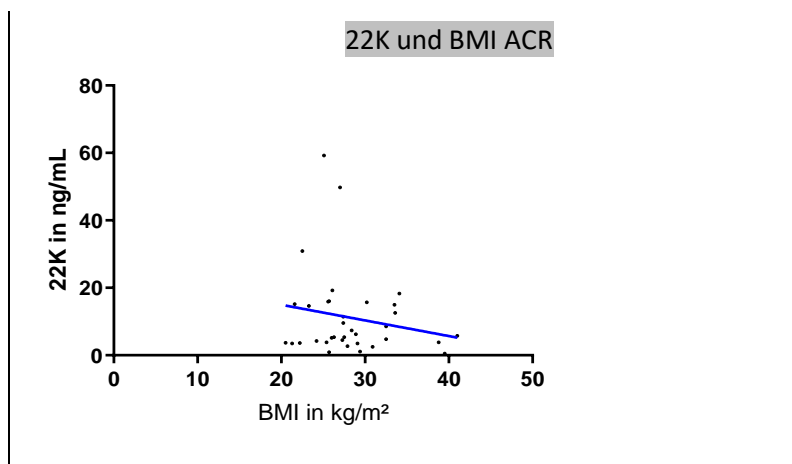


Abbildung 83: Lineare Regression basales 22K und BMI (Akromegaliegruppe)  
22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; ACR = Akromegaliegruppe

In der Kontrollgruppe zeigt sich in der linearen Regressionsanalyse von basalem 22K und BMI eine signifikante, mittelstarke negative Korrelation ( $n = 201$ ;  $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,15$ , vgl. Abbildung 81).

In der Akromegaliegruppe ergibt die lineare Regressionsanalyse eine schwache negative Korrelation, die nicht signifikant ist ( $n = 35$ , da bei 7 Patienten BMI unbekannt;  $p = 0,29$ ,  $r^2 = 0,033$ , vgl. Abbildung 82).

### 3.3.4.2. 20K

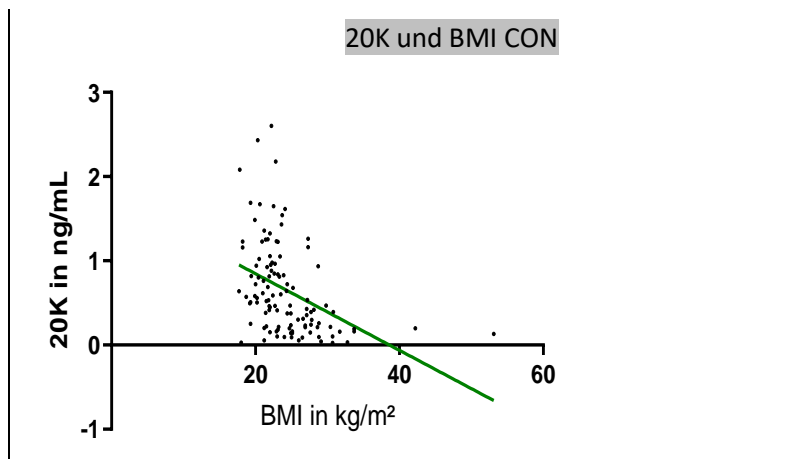


Abbildung 84: Lineare Regression basales 20K und BMI (Kontrollgruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; CON = Kontrollgruppe

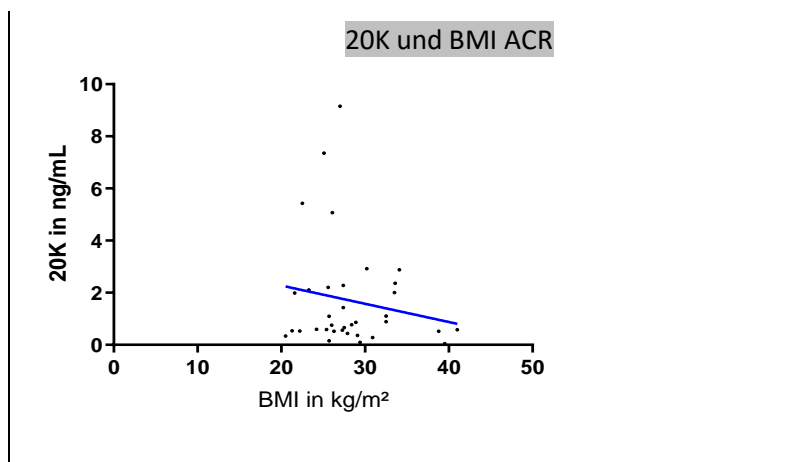


Abbildung 85: Lineare Regression basales 20K und BMI (Akromegaliegruppe)  
20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; ACR = Akromegaliegruppe

In der linearen Regressionsanalyse von basalem 20K und BMI in der Kontrollgruppe zeigt sich eine mittelstarke negative Korrelation ( $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,162$ ,  $n = 114$ ; vgl. Abbildung 83).

Die lineare Regressionsanalyse in der Akromegaliegruppe zeigt hingegen keine signifikante Korrelation, es scheint aber ein der Kontrollgruppe ähnlicher Trend erkennbar ( $p = 0,333$ ,  $r^2 = 0,028$ ,  $n = 35$ , vgl. Abbildung 84).

### 3.3.4.3. 20K/22K-Ratio

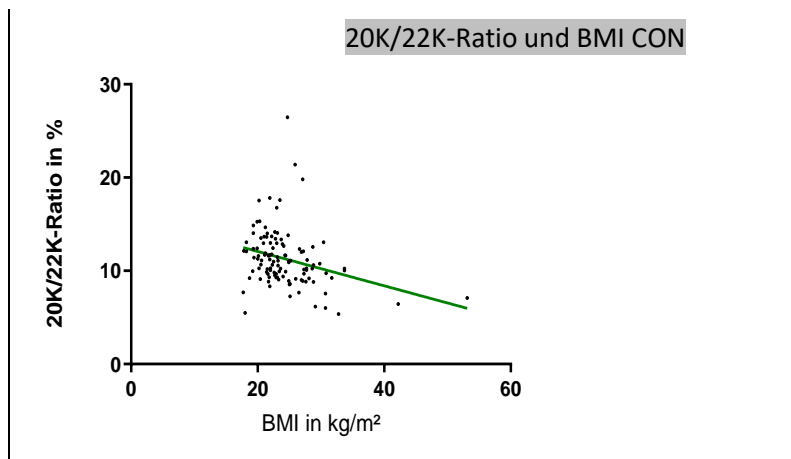


Abbildung 86: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und BMI (Kontrollgruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; CON = Kontrollgruppe

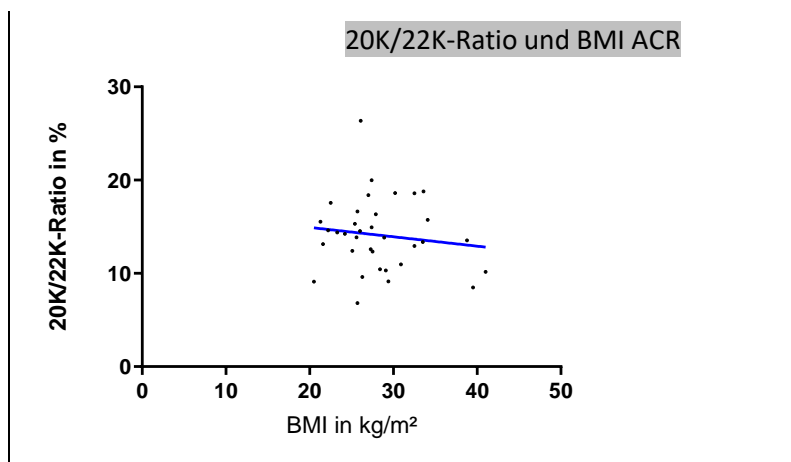


Abbildung 87: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und BMI (Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; ACR = Akromegaliegruppe

Passend zu den vorherigen Ergebnissen ergibt die lineare Regressionsanalyse eine signifikante schwache Korrelation zwischen BMI und basaler 20K/22K-Ratio in der Kontrollgruppe ( $p = 0,0019$ ,  $r^2 = 0,083$ ;  $n = 201$ ), jedoch keine signifikante Korrelation in der Akromegaliegruppe ( $p = 0,4563$ ,  $r^2 = 0,0169$ ,  $n = 35$  vgl. Abbildungen 85 und 86).

Es folgt ein Vergleich des Einflusses des BMIs auf die basale 20K/22K-Ratio in Akromegalie- und Kontrollgruppe.

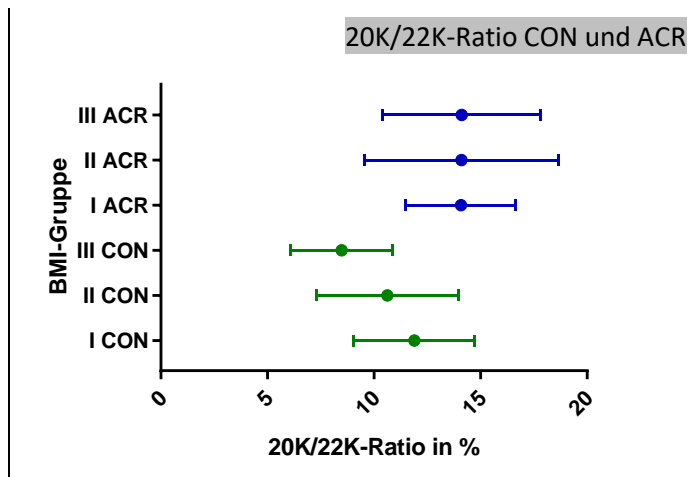


Abbildung 88: Basale 20K/22K-Ratio nach BMI-Gruppen (Kontroll- und Akromegaliegruppe)

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index; CON = Kontrollgruppe; ACR = Akromegaliegruppe

Die Ergebnisse des Vergleichs der 20K/22K-Ratio-Werte unter den verschiedenen BMI-Gruppen ergeben, dass in der Kontrollgruppe ein höherer BMI mit einer niedrigeren 20K/22K-Ratio einhergeht (vgl. Abbildung 87). Die Differenz der Mittelwerte in der Kontrollgruppe in der basalen Messung zwischen BMI-Gruppe I (n = 78, M = 11,89 %, SD = 2,85) und III (n = 10, M = 8,48 %, SD = 2,39) sind im Kruskal-Wallis und Dunn's Tests signifikant (p = 0,0174; II: 10,63 SD = 3,34). Die Werte der Kontrollen in BMI-Gruppe II und III sind signifikant unterschiedlich zu jenen aller BMI-Gruppen der Akromegaliegruppe. Die BMI-Gruppen untereinander zeigen in der Akromegaliegruppe hingegen keinen Unterschied (p > 0,9999; n: CON: I: 78, II: 26, III: 10; ACR: I: 7, II: 18, III: 10).

### 3.3.5. Tumorgröße

Die Daten wurden auch bezüglich eines Unterschieds der 20K/22K-Ratio bei Makro- oder Mikroadenom untersucht. Bei 11 Patienten war ein Mikroadenom festgestellt worden, bei 29 ein Makroadenom. Bei zwei Patienten ist die Tumorgröße nicht bekannt.

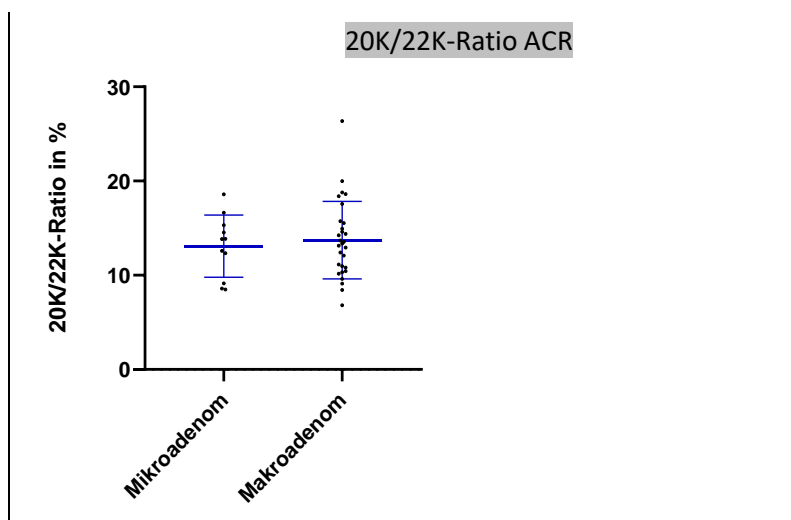


Abbildung 89: 20K/22K-Ratio basal und Tumorgröße

20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; ACR = Akromegaliegruppe

Es bestand im Mann-Whitney-Test kein signifikanter Unterschied der basalen 20K/22K-Ratio in Bezug auf die Tumorgröße ( $p = 0,8346$ ,  $n = 40$ , vgl. Abbildung 88). Zur Überprüfung wurde der Mann-Whitney-Test noch einmal für Zeitpunkt 60 durchgeführt, auch hier war kein signifikanter Unterschied feststellbar ( $p = 0,695$ ).

### 3.3.6. Multiple Einflussfaktoren

Um verschiedene Einflussfaktoren zusammenzufassen, folgt eine multiple lineare Regressionsanalyse. Diese wird nur für die Kontrollgruppe durchgeführt, da die Untersuchung der physiologischen Einflussfaktoren hier der Fragestellung entspricht. Hierfür müssen verschiedene Voraussetzungen erfüllt sein. Als erster Schritt wurden dabei erfolgreich mögliche Multikollinearitäten unter den einzelnen Prädiktoren ausgeschlossen. Mithilfe der Durbin-Watson-Statistik wird außerdem untersucht, ob eine Autokorrelation der Residuen vorliegt. Bei dem hier vorliegenden Wert (2,025) kann dies ausgeschlossen werden.

Anschließend wurde eine dreistufige lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Dem Modell liegt eine F-Statistik zugrunde, die den Anteil der erklärten Varianz an der unerklärten Varianz angibt. Die 20K/22K-Ratio stellt hierbei die abhängige Variable dar und die unabhängigen Einflussvariablen je nach Modell: Alter (Modell 1), Alter und BMI (Modell 2) oder Alter, BMI und Geschlechtergruppen (Modell 3). Dies wurde erst für die basalen Messungen durchgeführt und schließlich ein zweites Mal für Zeitpunkt 60.

#### 3.3.6.1. Zeitpunkt 0'

Modellzusammenfassung<sup>d</sup> basal

Modell	R	R <sup>2</sup>	Korrigiertes R <sup>2</sup>	Standardfehler des Schätzers	Änderung in R <sup>2</sup>	Änderung in F	Signifikante Änderung in F	Durbin-Watson-Statistik
1	0,323 <sup>a</sup>	0,104	0,096	0,03	0,104	0,578	0,000	
2	0,381 <sup>b</sup>	0,145	0,130	0,03	0,041	0,014	0,023	
3	0,460 <sup>c</sup>	0,212	0,167	0,028	0,066	0,705	0,068	2,025

Tabelle 26: Modellzusammenfassung: 20K/22K-Ratio basal und Alter/ BMI/ Geschlechtergruppe

a. Einflussvariablen: (Konstante), Alter

b. Einflussvariablen: (Konstante), Alter, BMI

c. Einflussvariablen: (Konstante), Alter, BMI, Männer < 50, Frauen prämenopausal, Männer > 50, Frauen postmenopausal

d. Abhängige Variable: 20K/22K-Ratio basal

R = Korrelationskoeffizient; R<sup>2</sup> = Determinationskoeffizient; 20K = 20Kilodalton-Growth Hormone; 22K = 22Kilodalton-Growth Hormone; BMI = Body Mass Index

In Tabelle 26 ist die Modellzusammenfassung für die basale 20K/22K-Ratio dargestellt. Bei Modell 1 besteht eine schwache Korrelation (vgl. Spalte „R“, Tabelle 26; siehe 2.3.5. statistische Datenverarbeitung, Interpretation), und bei den Modellen 2 und 3 eine mittelstarke Korrelation. Um die Güte der Modelle zu bestimmen, interpretieren wir den Determinationskoeffizienten R<sup>2</sup>, bzw. das korrigierte R<sup>2</sup>. Im dritten Modell ist der multiple Determinationskoeffizient (R<sup>2</sup>) am größten, nämlich

0,212 (korrigiertes  $R^2 = 0,167$ ). Dies bedeutet, dass ca. 21 % der Varianz der abhängigen Variable, hier also die basale 20K/22K-Ratio, durch dieses Modell bestimmt werden können.

Die Einflüsse von zwei der drei Residuen, nämlich Alter und BMI, erweisen sich als signifikant (siehe Spalte „Signifikante Änderung in F“). Der deutlich stärkste Prädiktor ist hier das Alter, es folgt der BMI. Interessanterweise zeigt die Geschlechtergruppe im hier gezeigten Modell 3 keinen prädiktiven Wert. Die prämenopausalen Frauen mit E<sub>2</sub> wurden von SPSS herausgerechnet, da sie keinen signifikanten Einfluss hatten.

#### 3.3.6.2. Zeitpunkt 60'

Bei einer erneuten Durchführung der multiplen linearen Regressionsanalyse, diesmal zu Zeitpunkt 60, fällt das Ergebnis erheblich anders aus. Durch keine der Einflussvariablen lässt sich 20K/22K-Ratio bestimmen. In einem weiteren Modell fügen wir Glukose als Einflussfaktor hinzu, diese hat allerdings weder basal noch nach einer Stunde einen signifikanten Einfluss.



## 4 Diskussion

### 4.1. Fragestellung der Arbeit

Akromegalie ist eine Krankheit, die trotz aller Forschung im Schnitt erst 7-10 Jahre nach Auftreten der ersten Symptome diagnostiziert wird [23] (siehe 1.1.6. Prognose). Die Diagnose- bzw. Ausschlusskriterien beinhalten derzeit GH-Grenzwerte von stichprobenartig 0,4 ng/mL bzw. unter Suppression im oGTT 1,0 ng/mL, sowie alters- und geschlechtabhängige IGF-I-Werte [14]. Die Messung dieser Hormone scheint allerdings von verschiedenen Faktoren beeinflusst zu werden [23]. Es wurden in den letzten Jahren vermehrt Fälle beschrieben, bei denen durch genannte Cut-off-Werte Patienten mit aktiver Akromegalie nicht als krank identifiziert werden konnten, teilweise eine erhebliche Anzahl [14, 78]. Ein Grund für ein in den letzten Jahren vermehrtes Auftreten scheinen die zunehmend sensibleren und spezifischeren Assays darzustellen [23].

Hinzu kommen hinsichtlich der Assays starke Unterschiede in Methoden sowie Sensibilität und Spezifität, was die Vergleichbarkeit erschwert. Diagnostik und Therapiekontrolle von Patienten mit Akromegalie stellen dadurch die Endokrinologen von heute gelegentlich vor Schwierigkeiten. Einige Einflüsse auf die Hormonkonzentrationen bleiben außerdem bisher bei der Diagnostik unberücksichtigt und können die Tests verfälschen, z.B. Geschlecht, Östrogeneinnahme und BMI [17, 23]. Diese Arbeit setzt sich mit der 20kDalton-Isoform des GH bei Patienten mit Akromegalie und gesunden Probanden auseinander, um weiteren Forschern gegebenenfalls den Weg zur Erarbeitung erweiterter Diagnosekriterien zu ebnen.

Ziele dieser Arbeit sind Folgende:

1. Der Vergleich der 20K/22K-Ratio in einer größeren Kohorte nativer Patienten mit Akromegalie und einer gesunden Kontrollkohorte.
2. Das Untersuchen eines potentiellen Einflusses von Geschlecht, hormonellem Status, Alter, BMI und Tumorgroße auf die 20K/22K-Ratio.
3. Der Vergleich der Dynamik der 20K/22K-Ratio während eines oGTT bei Patienten mit Akromegalie und gesunden Kontrollpersonen.

### 4.2. Methodische Limitationen

Trotz gewissenhaften Arbeitens können sich Fehler in eine Arbeit einschleichen. Im Folgenden einige Überlegungen zu den methodischen Limitationen dieser Arbeit.

Durch die große Heterogenität der Abnahmezeitpunkte und -umstände bei den oGTT der Patienten mit Akromegalie, fehlten Proben, bzw. beinhalteten einen zu geringen Serumrest. Darum beinhaltet der Probenpool 11 Proben weniger, es sind 198 vorhanden.

Einige methodische Limitationen ergeben sich durch die unterschiedliche Gruppengröße und Altersverteilung, ob der Tatsache, dass Akromegalie eine seltene Erkrankung ist und normalerweise erst in der vierten Lebensdekade in Erscheinung tritt. So war die Akromegaliegruppe mit 42 Patienten deutlich kleiner als die Kontrollgruppe, was Unterschiede in den zu verwendenden Tests mitbringt, die meist ungenauer werden, je kleiner die Anzahl der Werte ist. Außerdem sind prozentual mehr der Patienten mit Akromegalie in den höheren Alters- sowie BMI-Klassen angesiedelt, wohingegen die

Kontrollgruppe mehrheitlich aus jungen Personen mit niedrigem BMI bestand. Dies liegt teilweise daran, dass im universitären Umfeld, speziell unter Kommilitonen rekrutiert wurde, und so viele junge, schlanke Menschen miteingeschlossen wurden. Aus dem Altersunterschied in den beiden Gruppen resultiert außerdem beispielsweise, dass in der Akromegaliegruppe gerade einmal 9,5 % der Probanden in der Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme waren und in der Kontrollgruppe mit 18,8 % doppelt so viele.

Durch die Gruppenteilung kamen teilweise äußerst kleine Gruppen zustande, bei denen die Verlässlichkeit der Werte angezweifelt werden kann. In einigen Fällen waren die Gruppen zu klein, um den D'Agostino & Pearson normality test anzuwenden. Über das Ergebnis dieses Tests wird normalerweise entschieden, ob ein parametrischer oder ein nicht-parametrischer Test angewendet wird. So wurden öfter bei nicht eruierbarer Verteilung nicht-parametrische Tests angewendet, bei denen tendenziell höhere p-Werte und damit weniger signifikante Ergebnisse herauskommen.

Es stellt sich die Frage, warum das Alter einen signifikanten Einflussfaktor in der Akromegaliegruppe darstellt, die Geschlechtergruppen, die zum Teil auch durch das Alter bestimmt sind, jedoch nicht. Auch hier spielt am ehesten die geringe Geschlechtergruppengröße eine Rolle.

In der Kontrollgruppe war im Großteil der Proben die GH-Konzentration sehr gering. Aufgrund dessen konnte nur in einer Minderheit der Fälle, nämlich in 38,9 %, 20K, und dadurch auch die 20K/22K-Ratio, verlässlich gemessen werden. Das bedeutet, dass die 20K/22K-Ratio-Werte von ca. 60 % der Proben nicht in unsere Auswertungen und Überlegungen mit einberechnet werden können. Natürlich kann auch hier gegebenenfalls ein systematischer Fehler entstehen. Auch konnten prozentual und absolut in einer deutlich größeren Anzahl der Proben der weiblichen Kontrollpersonen als der männlichen Kontrollpersonen 20K überhaupt erst gemessen werden. Hier kann genauso eine Verzerrung der Werte in der Wahrnehmung stattfinden.

Es wurden außerdem in der Kontrollgruppe, wie erwartet, in vielen Fällen sehr niedrige GH- bzw. 20K/22K-Ratio-Werte gemessen. Je geringer die Menge, desto unsicherer die Aussage der Werte, und desto höher die Gefahr einer Verfälschung bei extrem niedrigen 20K/22K-Ratio-Werten.

Die Ergebnisse einer Arbeit hängen auch immer von der Anwendung der statistischen Tests ab, vor allem in grenzwertigen Signifikanzbereichen. Die Tests sind teilweise fehleranfälliger, je weniger Werte eingetragen wurden. Andere Tests passen das p an, und werden ungenauer, je mehr Gruppen es gibt (z.B. Dunn's Test). Dies ist der Grund dafür, dass teilweise im Kruskal-Wallis-Test ein Unterschied als knapp nicht signifikant angesehen wurde, im Mann-Whitney-Test jedoch als signifikant. Der Mann-Whitney-Test ist in diesem Falle verlässlicher und daher zu bevorzugen, da das p exakt angegeben wird.

Ein Unterschied zwischen Kontroll- und Akromegaliegruppe ist die Messung nach 90 Minuten. In der Kontrollgruppe wurde diese als Teil des oGTT standartgemäß durchgeführt, in der Akromegaliegruppe waren sehr wenige Proben dieses Zeitpunkts vorhanden, sodass entschieden wurde, die Werte in der Akromegaliegruppe auszuschließen. In den Gesamtmessungen wurden die 90'-Proben der Kontrollgruppen miteingerechnet, aber bei Vergleichen des Zeitverlaufs mit den Werten der Akromegaliegruppe nicht. Darunter leidet die Vergleichbarkeit.

Wir wählten als Vergleichswerte für die Dynamik der 20K/22K-Ratio Zeitpunkte 0 und 60, also Basalmessung und die Messung nach einer Stunde aus. Die Gründe hierfür wurden schon erläutert

(siehe 3.2.3.4. Dynamik). Dadurch werden bestimmte Ergebnisse vernachlässigt, z.B. war das Maximum der 20K/22K-Ratio bei der Hälfte der Geschlechtergruppen in der Kontrollkohorte erst nach 90 Minuten erreicht. Daher wären z.B. die Signifikanzniveaus des Anstiegs der 20K/22K-Ratio bei einzelnen Gruppen höher ausgefallen (bei anderen niedriger), wenn man auch mit 90' verglichen hätte. Dafür hätte es allerdings keine Vergleichswerte in der Akromegaliegruppe gegeben.

### 4.3 Diskussion der eigenen Ergebnisse

Nicht zu verwechseln sind die GH-Werte, die absolute Werte darstellen, und die 20K/22K-Ratio, die nur die Relation der GH-Isoformen angibt und in Prozent angegeben wird.

Eine Problematik stellt die Tatsache dar, dass in den meisten Studien der Anteil von 20K am Gesamt-GH berechnet wird, also  $20K/20K+22K$ , und hier das Verhältnis zu 22K, also  $20K/22K$ . Dadurch sind die meisten Werte in der Literatur natürlich niedriger als die hier aufgeführten Werte.

#### 4.3.1. Vergleich CON ACR

Die Gesamtdaten sind mit Vorsicht zu interpretieren, da die Dynamik in beiden Gruppen sehr unterschiedlich ist und daher die alleinige Betrachtung der Gesamtwerte, in der die Werte aller Zeitpunkte zusammengerechnet werden, ein falsches Bild erzeugen kann. Daher wird auch immer der Basalwert verglichen. Dieser Wert ist gut dafür geeignet, da zu diesem Zeitpunkt alle Probanden nüchtern waren und die zeitlichen Unterschiede im Glukosemetabolismus noch keine Rolle spielen.

Sowohl basal als auch insgesamt waren, wie zu erwarten, 22K und 20K in der Akromegaliegruppe deutlich höher als in der Kontrollgruppe. Der 22K-Mittelwert der Akromegaliegruppe lag bei 11,27 ng/mL (SD = 13,13), der der Kontrollgruppe bei 1,35 ng/mL (SD = 2,63;  $p < 0,0001$ ). Der 20K-Mittelwert der Akromegaliegruppe lag bei 1,75 ng/mL (SD = 2,06), der der Kontrollgruppe bei 0,4 ng/mL (SD = 0,42;  $p < 0,0001$ ).

Nadir und Basalwert sind für 22K in beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Der Vergleich zwischen den 22K-Nadiren zwischen Akromegalie- und Kontrollgruppe ist signifikant ausgefallen, die Akromegaliegruppe zeigt einen deutlich höheren Nadir als die Kontrollgruppe. Mittelwert des 22K-Nadirs war hier 7,97 ng/mL (SD = 9,97) im Kontrast zu 0,23 ng/mL (SD = 0,53) in der Kontrollgruppe. Hinsichtlich der Diagnostik, bei der man den 22K-Nadir misst, lagen in unserem Patientenkollektiv 3 von 42, also 7,1 % unter dem oben beschriebenen Grenzwert von 1,0 ng/mL. In der Kontrollgruppe lagen 197 Probanden von 201, also 98 %, unter diesem Grenzwert.

Die 20K/22K-Ratio stellte sich in der Akromegaliegruppe, wie erwartet, mit einem Gesamtmittelwert von 14,51 % (SD = 4,01) und einem basalen Mittelwert von 13,61 % (SD = 3,8) als signifikant höher heraus (gesamt:  $p < 0,0001$ ; basal:  $p = 0,0001$ ) als in der Kontrollgruppe, in der der Mittelwert bei 13,07 % (SD = 6,08) und der Basalwert bei 11,31 % (SD = 3,08) lag.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen den aktuell in der Literatur beschriebenen Forschungsstand und stehen im Einklang mit dem Wissen über die Pathophysiologie der Akromegalie: Da bei Patienten mit Akromegalie ein somatotropes Hypophysenadenom vorliegt, das kontinuierlich GH sezerniert, sind 22K- und 20K-Werte in der Akromegaliegruppe höher als in der Kontrollgruppe. Der Grund für die erhöhte 20K/22K-Ratio wird diskutiert, ist aber derzeit unklar (siehe 1.3.2. 20K/22K-Ratio bei

Patienten mit Akromegalie). In unserem Patientenkollektiv ist der Anteil der Patienten, die unter den diagnostischen Grenzwert von 1,0 ng/mL gefallen wären, deutlich geringer als in anderen Studien [14, 15].

#### **4.3.2. Potentieller Einfluss verschiedener Faktoren auf 20K/22K-Ratio CON & ACR**

An Einflussfaktoren zeigten sich in der Kontrollgruppe bei jedem Parameter signifikante Korrelationen. Je mehr Glukose, desto niedriger 22K und 20K und desto höher die 20K/22K-Ratio. Junge Frauen mit Östrogeneinnahme hatten die höchsten 22K- und 20K-Werte, junge Frauen ohne Östrogeneinnahme die höchsten 20K/22K-Ratio-Werte. Je älter die Probanden und je höher ihr BMI, desto niedriger 22K, 20K und 20K/22K-Ratio. Statistisch die höchste 20K/22K-Ratio hätte eine junge, prämenopausale Frau mit niedrigem BMI und ohne Östrogeneinnahme und ca. 2 Stunden nach 75 g Glukoseaufnahme. Die niedrigste 20K/22K-Ratio hätte eine ältere, postmenopausale Frau mit hohem BMI, ohne Glukoseaufnahme, bzw. 180 Minuten nach Glukoseaufnahme.

Abgeleitet von den Ergebnissen der multiplen linearen Regressionsanalyse der basalen 20K/22K-Ratio der Kontrollgruppe hätte ohne vorangegangene orale Glukoseaufnahme ein junger, schlanker Mensch (unabhängig vom Geschlecht) wahrscheinlich eine höhere 20K/22K-Ratio als ein älterer Mensch mit höherem BMI.

Der einzige Einflussfaktor, der sich bei Patienten mit Akromegalie als effektiv erwies, war das Alter. Hier waren starke Korrelationen zu verzeichnen. Je älter die Akromegaliepatienten waren, desto niedriger waren 22K und 20K. Hinsichtlich der 20K/22K-Ratio war dies allerdings nicht der Fall. Glukose, BMI, Geschlecht und Tumorgroße blieben in unseren Analysen ohne Einfluss auf 22K, 20K und 20K/22K-Ratio in der Akromegaliegruppe.

##### Glukose

Zu erwarten war die signifikante negative Korrelation von beiden GH-Isoformen mit Glukose in der Kontrollgruppe und die ausbleibende Korrelation in der Akromegaliegruppe. Die pathologische Glukosetoleranz und dadurch fehlende GH-Suppression durch Glukose ist ein Merkmal der Akromegalie und ein Grund dafür, dass der oGTT als Test in der Akromegaliendiagnostik benutzt wird.

Als weitere Erkenntnis stellten wir die signifikante positive Korrelation zwischen Glukose und der 20K/22K-Ratio in der Kontrollgruppe fest ( $p = 0,0004$ ;  $r^2 = 0,027$ ) und wiederum die ausbleibende Korrelation in der Akromegaliegruppe. Glukose, oder die konsekutive GH-Suppression, hat also vermutlich beim Gesunden einen erhöhenden Effekt auf die 20K/22K-Ratio und keinen Effekt bei den Akromegaliepatienten, weder auf GH selbst, noch auf die 20K/22K-Ratio. Unter dem Punkt 4.3.3. (Dynamik der 20K/22K-Ratio während eines oGTT CON & ACR) wird weiter darauf eingegangen.

##### Geschlecht

In der Kontrollgruppe gab es sowohl hinsichtlich des 22K und des 20K, als auch der 20K/22K-Ratio signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtergruppen. Limitierender Faktor war bei diesen Analysen die teilweise sehr kleine Gruppengroße.

Der Vergleich zwischen Männern und Frauen war nur bei 22K signifikant, die Frauen lagen hier mit ihren Werten höher als die Männer. Jedoch ist es sinnvoll, die einzelnen Gruppen zu analysieren. Hier stellte sich heraus, dass es zwei Bereiche zu geben scheint. Im höheren GH-Bereich finden sich die jungen, prämenopausalen Frauen, im niedrigen die älteren Männer und die postmenopausalen Frauen. Während bei der 22K-Messung die Werte der jungen Männer eher zwischen diesen beiden Gruppen zu liegen scheinen, sind sie bei der 20K-Messung eindeutig im oberen Bereich zu finden.

Interessanterweise kann man in der Kontrollgruppe ein ähnliches Verteilungsmuster auch hinsichtlich der 20K/22K-Ratio beobachten. Hier war zwar der Vergleich von Frauen und Männern nicht signifikant, was die bestehende Datenlage bestätigt, aber bei der Analyse hinsichtlich der einzelnen Geschlechtergruppen scheinen auch hier zwei Gruppen vorhanden zu sein. In unserer Kohorte liegen die prämenopausalen Frauen mit  $E_2$  im niedrigen 20K/22K-Ratio-Bereich (obwohl gerade hier Ausreißer nach oben vorhanden sind). Vergleichsweise hohe mittlere 20K/22K-Ratio-Werte hatten nur die prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme (14,73 %; SD = 6,18) und die jungen Männer (14,55 %; SD = 7,18). Die niedrigsten Ratios wiesen die postmenopausalen Frauen (11,0 %; SD = 3,77) und die Männer > 50 (M = 11,73 %; SD = 4,38) auf. Die Werte der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme (M = 12,15 %; SD = 5,99) lagen im Mittelfeld. Hochsignifikante Unterschiede im Sinne hoch vs. niedrig lassen sich zwischen prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme und solchen mit Östrogeneinnahme bzw. postmenopausalen Frauen feststellen ( $p < 0,0001$ ). Außerdem signifikant unterschiedlich sind Männer < 50 vs. postmenopausale Frauen ( $p = 0,0001$ ), bzw. vs. prämenopausale Frauen mit Östrogeneinnahme ( $p = 0,0016$ ), sowie prämenopausale Frauen vs. Männer > 50 ( $p = 0,0311$ ).

In der Akromegaliegruppe gab es keine signifikanten Geschlechtsunterschiede bei den 22K-, den 20K- und den 20K/22K-Ratio-Werten. Hinsichtlich der 20K/22K-Ratio ist allerdings eine Tendenz zu beobachten, die genau umgekehrt zur Kontrollgruppe scheint. Das heißt, die im Schnitt höchsten 20K/22K-Ratio-Werte in der Gesamtschau wiesen die prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme (16,36 %, SD = 4,26) und die älteren Männer (14,9 %, SD = 3,22) auf, die niedrigsten Werte hingegen die prämenopausalen Frauen ohne Östrogeneinnahme (13,81 % SD = 4,44).

Bei der Analyse der Dynamik der 20K/22K-Ratio fallen hinsichtlich der Geschlechtergruppen verschiedene Dinge auf: Eindrücklich sichtbar war, dass in der Akromegaliegruppe die 20K/22K-Ratios relativ konstant bleiben, während sie in der Kontrollgruppe ausnahmslos während des oGTT ansteigen und wieder abfallen. Die einzige Geschlechtergruppe, die in der Akromegaliekohorte zu Beginn des Tests einen steilen Anstieg der 20K/22K-Ratio-Werte zeigt, ist die Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme. Dieser Anstieg ist jedoch statistisch nicht signifikant. Interessanterweise weist diese Geschlechtergruppe auch in der Kontrollkohorte eine Einzigartigkeit auf: Sie ist die einzige Gruppe, die keinen signifikanten Anstieg der 20K/22K-Ratio-Werte zwischen 0' und 60' aufweist, obwohl 0' der niedrigste und 60' der höchste Mittelwert war. Außerdem ist sie die einzige Gruppe, in der sich die beiden Graphen nicht schneiden (90' mit einbezogen).

Die Zusammenschau dieser Ergebnisse zeigt, dass bei gesunden Probanden sowohl die Menge an GH als auch das Verhältnis der beiden Isoformen zumindest zu einem Teil von Geschlecht, Hormonstatus und Alter abhängen bzw. reguliert werden. Diese verschiedenen Faktoren sind schwierig auseinanderzuhalten, ein Ansatzpunkt ist hierfür die multiple lineare Regressionsanalyse, die später

nochmals aufgegriffen wird (siehe 4.3.2. multiple Einflussfaktoren). Bei an Akromegalie Erkrankten scheint diese Art der Regulation gestört oder aufgehoben zu sein.

Wie bereits erwähnt, beinhaltet diese Arbeit hinsichtlich der Östrogenzufuhr nur die orale Östrogeneinnahme. Wir analysierten auch nicht gesondert den Einfluss von endogenen Östrogenen, da hierfür zu wenig Daten zur Verfügung standen.

Hinsichtlich der oralen Östrogeneinnahme zeigen sich ähnliche Ergebnisse wie in anderen Arbeiten. Bei Leung et al. beispielsweise zeigte der Einfluss von oralem Östrogen einen GH-Anstieg ohne Änderung der 20K/22K-Ratio (siehe 1.3.1. Einflussfaktoren, [54]). Auch in unseren Untersuchungen war dies der Fall.

Es ist im Vergleich mit den anderen Geschlechtergruppen zu vermuten, dass eine exogene Östrogenzufuhr sowohl bei Gesunden als auch bei an Akromegalie erkrankten Personen Einfluss auf die Zusammensetzung der GH-Isoformen nimmt. Bei erkrankten Individuen scheint sie zumindest tendenziell mit einer erhöhten 20K/22K-Ratio und einer stärkeren Dynamik assoziiert zu sein. Bei Gesunden ist eine vergleichsweise geringe 20K/22K-Ratio zu beobachten, die eher vergleichbar mit den Werten der älteren Bevölkerung (postmenopausale Frauen und Männer > 50) ist. Außerdem weist diese Gruppe der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme auch eine vergleichsweise geringe Dynamik auf. Die Veränderungen in der Akromegaliegruppe müssten noch einmal durch größere Studien untersucht werden, da hier die Werte nicht signifikant waren. Wenn sich die Beobachtung bestätigt, bedeutet das auf lange Sicht, falls in Zukunft dynamische 20K/22K-Ratio-Werte als Hilfsmittel bei der Diagnostik in Betracht gezogen werden sollten, dass bei Frauen mit Östrogeneinnahme besondere Vorsicht geboten ist.

Da eine geringere Dynamik mit einer geringeren 20K/22K-Ratio einhergeht, könnte man hier einen Zusammenhang mutmaßen. Dagegen spricht, dass auch bei Männern > 50 eine starke Dynamik aus den 20K/22K-Ratio-Werten ersichtlich ist, sie aber insgesamt eher geringere 20K/22K-Ratio-Werte aufweisen.

### Alter

In der Kontrollgruppe korrelierte das Alter mit basalem 22K, 20K, sowie mit der 20K/22K-Ratio negativ. Das bedeutet, je älter, desto weniger Wachstumshormon (22K:  $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,0974$ , mittelstarke Korrelation; 20K:  $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,22$ , starke Korrelation), und desto niedriger die 20K/22K-Ratio ( $p = 0,0005$ ,  $r^2 = 0,104$ , mittelstarke Korrelation). Für das Alter zeigte sich als einziger Parameter auch in der Akromegaliegruppe eine Korrelation, sowohl mit 22K ( $p = 0,002$ ,  $r^2 = 0,214$ , starke negative Korrelation), als auch mit 20K ( $p < 0,004$ ,  $r^2 = 0,19$ , starke negative Korrelation), allerdings nicht mit der 20K/22K-Ratio. Das heißt, je älter der Patient mit Akromegalie, desto niedriger seine Wachstumshormonwerte.

In unseren Analysen war das Alter der einzige Faktor, der Einfluss auf die GH-Werte der Akromegaliegruppe zu haben schien. Es stellt sich die Frage, wieso die Regulation der GH-Sekretion (ohne auf die Zusammensetzung der Isoformen einzugehen) durch BMI und Geschlecht, sowie durch zugeführte Substanzen wie Glukose oder Östrogen, bei Patienten mit Akromegalie scheinbar nicht stattfindet, während die Regulation durch das Alter erhalten ist. Es muss auch gefragt werden, weshalb die Geschlechtergruppen sich nicht signifikant unterscheiden, obwohl sie ja selbst auch teilweise nach Alter aufgeteilt sind. Am ehesten spielt hier die Limitation durch die geringen

Gruppengrößen eine Rolle (siehe 4.2. methodische Limitationen). Es ist eine größere Studie vonnöten, um dieses Ergebnis zu bestätigen.

Ein denkbarer Grund für die reduzierte Produktion könnte ein allgemeiner Rückgang anaboler Prozesse im Alter sein, der auch durch ein GH-sezernierendes Hypophysenadenom nicht beeinflusst wird.

In den zu Beginn erwähnten Studien (siehe 1.3.1. Einflussfaktoren) wird kein signifikanter Einfluss von Alter auf die 20K/22K+20K-Ratio beschrieben [29, 66]. Unsere Ergebnisse bestätigen dies.

### BMI

Der BMI korrelierte in der Kontrollgruppe mit den basalen Werten von 22K, 20K und 20K/22K-Ratio mittelstark negativ, d.h. je höher der BMI, desto geringer sowohl 22K ( $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,15$ ) und 20K ( $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,162$ ), als auch die 20K/22K-Ratio ( $p = 0,0019$ ,  $r^2 = 0,083$ ). In der Akromegaliegruppe konnte diese Korrelation nicht auf signifikantem Niveau beobachtet werden.

Man könnte von unseren Ergebnissen ableiten, dass auch im Zusammenhang mit dem BMI eine Art Regulationsmechanismus zu bestehen scheint, der die Sekretion von 22K und 20K moduliert. Auch diese Art der Regulation ist bei Patienten mit Akromegalie scheinbar ausgesetzt.

Unsere Ergebnisse widersprechen damit verschiedenen genannten Studien (siehe 1.3.1. Einflussfaktoren), in denen der BMI bzw. das Gewicht entweder keinen Einfluss oder eine positive Korrelation mit der 20K/22K+20K-Ratio bzw. Nicht-22K-GH aufzeigte [29, 66, 72].

### Tumorgröße

Im Vergleich der Basalwerte von Patienten mit Mikroadenomen mit Patienten mit Makroadenomen war kein signifikanter Unterschied zu detektieren ( $p = 0,8346$ ). Es konnte also kein Einfluss der Tumorgröße auf die 20K/22K-Ratio festgestellt werden.

Die Datenlage hinsichtlich des Einflusses der Tumorgröße auf die 20K/22K-Ratio ist widersprüchlich. Es ist eine Studie vorhanden, in der die Tumorgröße von 15 Patienten mit Akromegalie mit der 20K/22K-Ratio korrelierte [67]. Eine zweite Studie mit 23 Patienten zeigt keine Korrelation [68]. Unsere Analyse stimmt also mit den Beobachtungen von Lima et al. überein.

### Multiple Einflussfaktoren

Im dreistufigen Regressionsmodell konnten in der Kontrollgruppe 21 % der Varianz der basalen 20K/22K-Ratio durch das Modell mit allen drei Einflussfaktoren bestimmt werden. Alter und BMI zeigten sich wohl basal, aber nicht nach einer Stunde, als signifikante Einflussfaktoren, die Geschlechtergruppe hingegen nicht.

Dieses Modell bestätigt also zumindest für die basale Messung das Ergebnis eines signifikanten Einflusses der 20K/22K-Ratio durch Alter und BMI bei gesunden Probanden. Die multiple lineare Regressionsanalyse stellt nach Sicherstellung der Voraussetzungen ein recht zuverlässiges und etabliertes Verfahren dar. Nach unseren Ergebnissen können sowohl Alter, als auch BMI als Einflussfaktoren auf die Isoformen-Zusammensetzung der GH-Sekretion ohne orale Glukoseaufnahme angesehen werden. Der Einfluss der Geschlechtergruppe ist hingegen weit

komplexer zu interpretieren und wurde in verschiedenen anderen Messungen schon teilweise dargelegt. Es scheinen hier noch weitere Studien vonnöten zu sein, die sich beispielsweise mit einer größeren Zahl an jungen Frauen mit und ohne Einnahme oraler Östrogenpräparate befassen.

#### **4.3.3. Dynamik der 20K/22K-Ratio während eines oGTT**

Um die Dynamik der 20K/22K-Ratio zu analysieren wurden verschiedene Tests durchgeführt. Der Vergleich zwischen der jeweiligen Basalmessung und der dazugehörigen Messung nach einer Stunde ist dabei besonders wichtig, nicht zuletzt, da er einfach zu reproduzieren ist.

Die Datenlage zur Dynamik der 20K/22K-Ratio ist sehr spärlich. In unterschiedlichen Stimulations-/Suppressionstests zeigten sich heterogene Ergebnisse bei Akromegaliepatienten. Studien über das dynamische Verhalten der 20K/22K-Ratio bei gesunden Probanden lagen uns nicht vor. Unsere Analyse leistet mit einer relativ hohen Probandenzahl einen wichtigen Beitrag zur Diskussion. In der Akromegaliegruppe zeigte sich keine signifikante Änderung der 20K/22K-Ratio über den Zeitverlauf. Während die Werte im Zuge des oGTT in der Akromegaliegruppe also annähernd gleich blieben, stieg die 20K/22K-Ratio in der Kontrollgruppe von einem anfangs - verglichen zur Akromegaliegruppe - signifikant niedrigeren Wert bis auf deutlich höhere Werte in der Mitte des oGTT, um gegen Ende wieder auf das Anfangsniveau zu fallen.

In der Kontrollgruppe war der Sprung der mittleren 20K/22K-Ratio von 11,31 % (SD = 3,08) bei Zeitpunkt 0 auf 15,01 % (SD = 8,07) bei Zeitpunkt 60 signifikant ( $p < 0,0001$ ). Die Akromegaliegruppe wies basale mittlere Werte von 13,61 %, (SD = 3,8) auf, und nach einer Stunde 14,72 % (SD = 4,28). Dieser Anstieg war nicht signifikant ( $p = 0,1884$ ). Auch der Vergleich zwischen Zeitpunkt 0' in der Kontrollgruppe und Zeitpunkt 60' der Akromegaliegruppe ist natürlich signifikant ( $< 0,0001$ ). Da die 20K/22K-Ratio-Werte der beiden Gruppen zum Zeitpunkt 60' sehr ähnlich sind und zu einem späteren Zeitpunkt die Kontrollgruppen-Werte die Akromegaliegruppen-Werte sogar deutlich übersteigen, ist davon abzuraten, nur den Gesamt-20K/22K-Ratio-Wert als Vergleich zu verwenden.

Hinsichtlich der Geschlechtergruppen sind, wie in 4.3.2. (Geschlecht) schon erwähnt, in der Kontrollkohorte in allen Geschlechtergruppen signifikante Anstiege zwischen den beiden Zeitpunkten zu beobachten, mit Ausnahme der prämenopausalen Frauen mit Östrogeneinnahme. In der Akromegaliegruppe zeigt gerade diese Gruppe einen stärkeren Anstieg als die anderen, der allerdings nicht signifikant ist.

Spannend ist die Beobachtung der 20K/22K-Ratio während einer GH-Stimulation statt wie hier unter GH-Suppression. Tsushima et al. führten GH-Stimulationstests bei Patienten mit Akromegalie mit TRH durch. Diese Messmethode gilt heute als obsolet. Sie fanden daraufhin bei steigenden GH-Konzentrationen keine signifikante Änderung der 20K/22K-Ratio [66]. Wallace et al. sowie Nindl et al. untersuchten die Zusammensetzung der GH-Isoformen während und nach GH-Stimulation durch körperliche Anstrengung (siehe 1.3.1. Dynamik), es zeigten sich signifikante Änderungen [50, 73]. Es wäre beispielsweise eine ähnliche Studie denkbar, die sich speziell auf die Diagnostik der Akromegalie bezieht.



#### 4.3.4. Schlussfolgerung

##### Erklärungsansätze

In der Kontrollgruppe zeigen sich während der GH-Suppression durch Glukose die höchsten 20K/22K-Ratios, und andersherum. In der Akromegaliegruppe hingegen bestehen sowohl kontinuierlich hohe GH- als auch kontinuierlich hohe 20K/22K-Ratio-Werte.

Es bestehen physiologische Komponenten zur Erklärung der sich ändernden 20K/22K-Ratio. 20K besitzt im Vergleich zu 22K eine längere Halbwertszeit und Clearance, eine stärkere Tendenz zur Dimerisierung und eine geringere Affinität zum GHR. Wenn nun also sowohl die 22K- als auch die 20K-Produktion durch Glukose unterdrückt wird, bleibt 20K noch etwas länger im Organismus. Hierdurch kann zumindest teilweise das beschriebene Phänomen der steigenden 20K/22K-Ratio bei GH-Suppression in der Kontrollgruppe erklärt werden. Weshalb allerdings in der Akromegaliegruppe bei konstanter GH-Ausschüttung auch eine konstant hohe 20K/22K-Ratio besteht, ist hierdurch nicht zu begründen. Im Folgenden einige Überlegungen zu dieser Fragestellung.

Die naheliegende Antwort ist, dass die Hypophysenadenome mehr 20K produzieren als eine gesunde Hypophyse. Wie schon erläutert, wurden aber auch erhöhte 20K/22K-Werte bei Anorexia nervosa-Patienten gemessen. Dies ist eine weitere Krankheit, die mit einem chronischen GH-Exzess assoziiert ist, allerdings ohne Tumorstadium, sondern durch chronisches Fasten bzw. Mangelernährung und eine dadurch bedingte hepatische GH-Resistenz sowie eine verminderte IGF-I Bioaktivität [79]. Diese Funde sprechen eher dafür, dass die Dysregulation durch die chronische GH-Erhöhung zustande kommt, als dass Adenomzellen absolut mehr 20K produzieren.

Ein Erklärungsansatz wäre, dass mehr 20K produziert wird, wenn die GH-Produktion insgesamt auf einem Niveau bleibt, also eine relativ höhere Produktion von 20K bei gleichbleibender GH-Konzentration. Dagegen spricht, dass in der Kontrollgruppe gerade bei einer starken Änderung der GH-Produktion die 20K/22K-Ratio steigt. Andererseits ist noch nicht klar, wie die 20K/22K-Ratio während eines GH-Peaks aussieht, hierzu ist uns nur die Studie von Wallace et. al. bekannt, in der sich die 20K/22K-Ratio nach dem GH-Peak ändert.

Ein weiterer Ansatz wäre, dass die 20K/22K-Ratio bei insgesamt hohem GH erhöht ist. Dagegen sprechen die hohen 20K/22K-Ratio-Werte bei niedrigen GH-Werten in der Kontrollgruppe. Es könnte natürlich sein, dass die 20K/22K-Ratio beim Gesunden bei einer starken Änderung der 22K- und 20K-Produktion oder bei einer Erniedrigung der GH-Werte ansteigt, und dieser Mechanismus bei Patienten mit Akromegalie außer Kraft gesetzt ist.

Durch welche Mechanismen die Faktoren Geschlecht, Östrogenzufuhr, BMI und Alter die GH-Isoformen 22K und 20K und damit auch die 20K/22K-Ratio beeinflussen, ist unklar. Denkbar sind eine direkte Wirkung auf die GH-Produktion in der Hypophyse oder eine Wirkung auf das zirkulierende GH. Die Annahme liegt nahe, dass diese Regulationsmechanismen bei Patienten mit Akromegalie außer Kraft gesetzt sind.

##### Ausblick

Durch die vielen uneinheitlichen Assays und die aufwändige Methode, die die Herstellung verschiedener Antikörper beinhaltet, ist es fragwürdig, ob 20K-Messungen bzw. 20K/22K-Berechnungen in der Zukunft eine große Rolle in der Akromegaliendiagnostik spielen werden. In den

meisten Proben ist mit den heutigen Assays 20K außerdem nicht sicher messbar. Eine Idee wäre, bei fragwürdigen Ergebnissen, also z.B. 22K-Werten im Grenzbereich, zusätzlich 20K zu messen und hier auf die 20K/22K-Ratio zu achten. Man sollte allerdings im Hinterkopf behalten, dass die Werte im oGTT nur insgesamt und zu den Zeitpunkten 0 und 180 signifikant voneinander abweichen, da hier die 20K/22K-Ratio in der Kontrollgruppe am geringsten ist. Den größeren Unterschied stellt die Veränderung der 20K/22K-Ratio über den Zeitverlauf nach der Glukoseaufnahme dar. Daher macht es am ehesten Sinn, die Veränderung über den Zeitverlauf zu beobachten. Man könnte z.B. Zeitpunkt 0 und 60 oder 0 und 90 vergleichen und beobachten, wie sich der Wert ändert. Vorsicht ist hierbei vor allem bei Östrogeneinnahme geboten, da diese die Werte beeinflussen kann.

## 5 Zusammenfassung

Das Wachstumshormon (GH) besteht aus verschiedenen molekularen Isoformen. Den größten Anteil hat 22kDa-GH (22K; ca. 80-90 % des Gesamt-GH), gefolgt von 20kDa-GH (20K; 5-15 % des Gesamt-GH). Die biologische Signifikanz von 20K ist bisher unklar, jedoch scheint die Wirkung mit der des 22K vergleichbar zu sein. Akromegalie ist durch eine chronische GH-Erhöhung charakterisiert, hervorgerufen durch ein somatotropes Adenom. Die Datenlage bezüglich der unterschiedlichen GH-Isoformen bei Patienten mit Akromegalie ist spärlich, es ist aber mehrfach eine erhöhte 20K/22K-Ratio beschrieben worden. Unser Ziel ist es, die 20K/22K-Ratio in einer größeren Kohorte unbehandelter Patienten mit Akromegalie mit jener von gesunden Kontrollprobanden zu vergleichen. Wir untersuchen den potentiellen Einfluss von Geschlecht, hormonellem Status, Alter, BMI und Tumorgroße auf die 20K/22K-Ratio, sowie die Dynamik der 20K/22K-Ratio während eines oralen Glukosetoleranztests jeweils im Gruppenvergleich.

42 Patienten mit Akromegalie (Akromegaliegruppe = ACR) und 202 gesunde Kontrollprobanden (Kontrollgruppe = CON) wurden in die Studie eingeschlossen. Jeder Proband wurde einer BMI-Gruppe (Gruppe I: BMI  $\leq$  25 kg/m<sup>2</sup>; II: BMI 25-30 kg/m<sup>2</sup>; III: BMI  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>), sowie einer Geschlechtergruppe (Männer < 50, Männer > 50, postmenopausale Frauen, prämenopausale Frauen mit oraler Östrogenzufuhr und prämenopausale Frauen ohne orale Östrogenzufuhr) zugeteilt. Alle Probanden wurden einem oralen Glukosetoleranztest unterzogen. Es wurde zu Beginn sowie 30, 60, 120 und 180 Minuten nach der Zufuhr von 75 g Glukose Blut entnommen. 22K wurde per CLIA-IDS-iSYS (Nachweisgrenze 0,05ng/mL) gemessen. In Proben mit 22K > 0,4 ng/mL wurde 20K durch einen in-house IFMA bestimmt (Nachweisgrenze 0,025 ng/mL).

In der Basalmessung war 20K in 100 % (n = 42) und 56,7 % (n = 114) jeweils bei ACR und CON messbar. 60 Minuten nach Glukoseaufnahme war 20K noch in 100 % in ACR (n = 41, eine Probe nicht vorhanden) und in 36,3 % in CON (n = 73) messbar. Es wurde kein Unterschied zwischen 20K/22K-Ratio-Werten von Patienten mit Makroadenomen und solchen mit Mikroadenomen festgestellt. Die mittlere 20K/22K-Ratio war in der Basalmessung in ACR signifikant höher als in CON (ACR: M = 13,61 % (SD = 3,8); CON: 11,31 % (SD = 3,08); p = 0,0002). Auch zum Zeitpunkt 180 war der Unterschied signifikant, zu den übrigen Zeitpunkten nicht.

In CON waren Unterschiede der 20K/22K-Ratio je nach Geschlecht bzw. Östrogenzufuhr zu sehen, prämenopausale Frauen ohne orale Östrogenzufuhr hatten signifikant höhere 20K/22K-Ratio-Werte als Männer > 50 (p = 0,0311), postmenopausale Frauen (p < 0,0001) und prämenopausale Frauen mit Östrogeneinnahme (p < 0,0001). Männer < 50 hatten signifikant höhere 20K/22K-Ratio-Werte als postmenopausale Frauen (p = 0,0001) und prämenopausale Frauen mit Östrogeneinnahme (p = 0,0016). Mittelwerte: prämenopausale Frauen (n = 120): 14,73 % (SD = 6,18); Männer < 50 (n = 89): 14,55 % (SD = 7,18); postmenopausale Frauen (n = 66): 11,0 % (SD = 3,77); Männer > 50 (n = 38): 11,73 % (SD = 4,38); prämenopausale Frauen mit Östrogenzufuhr (n = 158): 12,15 % (SD = 5,99). In ACR konnten keine signifikanten Unterschiede der 20K/22K-Ratio in den verschiedenen Geschlechtergruppen beobachtet werden.

Das Alter der Probanden in CON korrelierte mittelstark negativ mit der 20K/22K-Ratio (p = 0,0005, r<sup>2</sup> = 0,1026), in ACR war dies nicht zu beobachten (r<sup>2</sup> = 0,043, p = 0,5125). In CON bestand außerdem eine schwache negative Korrelation von 20K/22K-Ratio und BMI (Spearman, two-tailed): r<sup>2</sup> = 0,083, p = 0,0019. I (n = 78): M = 11,89 % (SD = 2,85); II (n = 26): M = 10,63 % (SD = 3,34) und III (n = 10): 8,48 % (SD = 2,39); I vs III: p = 0,0174. In ACR konnten wir keinen signifikanten Effekt des BMI auf die

20K/22K-Ratio beobachten: Korrelation (Pearson, two-tailed):  $r^2 = 0,0169$ ,  $p = 0,4563$ ;  $p > 0,9999$  zwischen allen BMI-Gruppen.

Für CON erwies sich in der multiplen linearen Regressionsanalyse das Alter als der stärkste Prädiktor der basalen 20K/22K-Ratio, gefolgt vom BMI. Die Geschlechtergruppe zeigte hier keinen signifikanten Einfluss. In einem Modell mit allen drei Einflussfaktoren als unabhängige Variablen ergab sich ein  $R^2$  von 0,212.

Nach Glukoseaufnahme stieg die 20K/22K-Ratio signifikant in CON. Sie startete bei 11,31 % und stieg auf 13,49 %, 15,01 % und 15,02 % nach jeweils 30, 60 und 120 Minuten. Gegen Ende des Tests fiel sie wieder stark ab und endete bei 180 Minuten wieder auf dem Anfangswert von 11,31 %. Im Gegensatz dazu blieb die 20K/22K-Ratio in ACR nahezu unverändert (zwischen 13,61 % und 14,85 %). Der Vergleich zwischen Zeitpunkt 0' und 60' war in der Kontrollgruppe signifikant ( $p < 0,0001$ ). Wir schlagen die weitere Evaluation eines möglichen diagnostischen Vergleichs zwischen basalen 20K/22K-Ratio-Werten während eines oGTT und solchen nach einer Stunde vor.

In der gesunden Kontrollgruppe war die 20K/22K-Ratio niedriger bei höherem Alter und BMI. Die 20K/22K-Ratio stieg kurzzeitig nach der Glukoseaufnahme an. Unsere Daten bestätigen, dass die 20K/22K-Ratio bei Patienten mit Akromegalie höher ist als bei gesunden Kontrollpersonen. Außerdem lassen sie vermuten, dass die 20K/22K-Ratio bei Patienten mit Akromegalie, anders als bei gesunden Personen, nicht durch Glukoseaufnahme, Geschlecht, hormonellem Status, Alter oder BMI signifikant beeinflusst wird. Eine exzessive GH-Sekretion durch somatotrope Adenome scheint mit Änderungen in der Regulation der GH-Isoformen-Zusammensetzung assoziiert zu sein.

## 5.1. Summary

The human Growth Hormone (GH) consists of various molecular isoforms. Most abundant is 22kDa-GH (22K; 80-90% of total GH), followed by 20kDa-GH (20K; 5-15% of total GH). The biological significance of 20K remains unclear, but its effects appear comparable to those of 22K. Acromegaly is characterized by chronic GH excess due to a somatotrope adenoma. Data on GH isoforms in acromegaly are scarce, but an increased 20K/22K-ratio has been described. Our aims were to compare the 20K/22K-ratio in a larger cohort of treatment-naïve patients with acromegaly and healthy controls, to investigate the potential impact of gender, hormonal status, age, BMI and tumor size on the 20K/22K-ratio and to compare the dynamics of the 20K/22K-ratio during oral glucose tolerance test in the groups.

42 treatment-naïve patients with acromegaly (acromegaly group = ACR) and 202 controls (control group = CON) were included in this study. Both patients and controls were assigned into BMI-groups (I:  $BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$ ; II:  $BMI 25-30 \text{ kg/m}^2$ ; III:  $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) as well as gender groups (men  $< 50$ , men  $> 50$ , postmenopausal women, premenopausal women with oral estrogen intake and premenopausal women without estrogen intake). Serum samples were collected at baseline and 30, 60, 120 and 180 minutes after oral glucose load (75g). 22K was measured in all samples using the 22K-specific CLIA-IDS-iSYS (limit of quantification (LoQ) 0,05ng/mL). In samples with 22K  $> 0,4 \text{ ng/mL}$  20K was measured using an in-house IFMA (LoQ 0,025 ng/mL).

At baseline, 20K was measurable in 100% ( $n=42$ ) and 56,7% ( $n=114$ ) of ACR and CON, respectively. 60 minutes following glucose load, 20K was detectable in 100% ( $n=41$ , one sample not available) and 36,3% ( $n=73$ ) of ACR and CON, respectively. There was no difference between macro- and microadenomas.

The baseline 20K/22K-ratio was significantly higher in ACR than in CON (ACR: M=13,61%, SD=3,8; CON: 11,31%, SD=3,08; p=0,0002, Mann-Whitney-Test). The 20K/22K-ratio after 180 minutes showed a significant difference as well, the other measurements did not.

In CON the 20K/22K-ratio varied with gender group and estrogen intake. Premenopausal women without estrogen intake had significantly higher 20K-/22K-ratios than men > 50 (p = 0,0311), postmenopausal women (p < 0,0001) as well as premenopausal women with estrogen intake (p < 0,0001). Men < 50 showed significantly higher 20K/22K-ratios than postmenopausal women (p = 0,0001) as well as premenopausal women with estrogen intake (p = 0,0016). Means: premenopausal women (n = 120): 14,73 % (SD = 6,18); men < 50 (n = 89): 14,55 % (SD = 7,18); postmenopausal women (n = 66): 11,0 % (SD = 3,77); men > 50 (n = 38): 11,73 % (SD = 4,38); premenopausal women with estrogen intake (n = 158): 12,15 % (SD = 5,99). In ACR there was no significant difference of 20K/22K-ratios between the various gender groups.

In CON the 20K/22K-ratio was lower with higher age with medium negative correlation (p = 0,0005,  $r^2 = 0,1026$ ), in ACR we could detect no significant correlation ( $r^2 = 0,043$ , p = 0,5125).

In CON the 20K/22K-ratio was lower with higher BMI with a weak negative correlation (Spearman, two-tailed):  $r^2 = 0,083$ , p = 0,0019. I (n = 78): M = 11,89 % (SD = 2,85); II (n = 26): M = 10,63 % (SD = 3,34) and III (n = 10): 8,48 % (SD = 2,39); I vs III: p = 0,0174. In ACR we could not detect a significant impact of BMI on the 20K/22K-ratio: correlation (Pearson, two-tailed):  $r^2 = 0,0169$ , p = 0,4563 (p > 0,9999 between all BMI-groups).

In the multiple linear analysis of regression for CON age showed to be the strongest predicting factor of the basal 20K/22K-ratio, and BMI the second strongest. The gender group only showed an insignificant impact. In the model with all three predicting independent factors  $R^2$  was 0,212.

Following glucose load, the mean 20K/22K-ratio significantly increased in CON. It started at 11,31%, increased to 13,49%, 15,01% and 15,02% after 30, 60 and 120 minutes respectively, before returning to baseline (11,31%) at 180 minutes. In contrast, the 20K/22K-ratio remained unchanged in ACR (between 13,61 % and 14,85 %). The comparison of time point 0' and 60' was significant in CON (p < 0,0001). We propose a further evaluation of this comparison to maybe be able to use it for diagnostical purposes.

In CON the 20K/22K-ratio was lower with higher age and BMI and furthermore increased temporarily after glucose load. Our data confirm that the 20K/22K-ratio is higher in patients with acromegaly than in healthy subjects. However, our data suggest, that the 20K/22K-Ratio in patients with acromegaly is, unlike to healthy subjects, not regulated by acute glucose load, gender, hormonal status, age or BMI. Thus, increased GH secretion from somatotrope adenomas seems to be associated with alterations in the regulation of isoform composition.

## 6 Verzeichnisse

### 6.1. Literaturverzeichnis

1. Samuel 17, in *Lutherbibel*. 2017.
2. Donnelly, D.E. and P.J. Morrison, *Hereditary Gigantism-the biblical giant Goliath and his brothers*. *Ulster Med J*, 2014. 83(2): p. 86-8.
3. de Herder, W.W., *Acromegaly and gigantism in the medical literature. Case descriptions in the era before and the early years after the initial publication of Pierre Marie (1886)*. *Pituitary*, 2009. 12(3): p. 236-44.
4. Melmed, S., *Acromegaly*. *N Engl J Med*, 1990. 322(14): p. 966-77.
5. Strasburger, C.J., *Akromegalie*, in *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel*, H. Lehnert, Editor. 2015, Hendrik Lehnert: Stuttgart ; New York, NY : Thieme. p. 51-57.
6. Holdaway, I.M. and C. Rajasoorya, *Epidemiology of acromegaly*. *Pituitary*, 1999. 2(1): p. 29-41.
7. Asa, S.L. and S. Ezzat, *The pathogenesis of pituitary tumors*. *Annu Rev Pathol*, 2009. 4: p. 97-126.
8. Syro, L.V., et al., *Progress in the Diagnosis and Classification of Pituitary Adenomas*. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2015. 6: p. 97.
9. Gunawardane, K., et al., *Normal Physiology of Growth Hormone in Adults*, in *Endotext*, L.J. De Groot, et al., Editors. 2000, MDText.com, Inc.: South Dartmouth (MA).
10. Pantanetti, P., et al., *Self image and quality of life in acromegaly*. *Pituitary*, 2002. 5(1): p. 17-9.
11. Veldhuis, J.D., et al., *Neurophysiological regulation and target-tissue impact of the pulsatile mode of growth hormone secretion in the human*. *Growth Horm IGF Res*, 2001. 11 Suppl A: p. S25-37.
12. Bidlingmaier, M., et al., *Reference intervals for insulin-like growth factor-1 (igf-i) from birth to senescence: results from a multicenter study using a new automated chemiluminescence IGF-I immunoassay conforming to recent international recommendations*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. 99(5): p. 1712-21.
13. Giustina, A., et al., *Criteria for cure of acromegaly: a consensus statement*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000. 85(2): p. 526-9.
14. Giustina, A., et al., *Guidelines for the treatment of growth hormone excess and growth hormone deficiency in adults*. *J Endocrinol Invest*, 2008. 31(9): p. 820-38.
15. Dimaraki, E.V., et al., *Acromegaly with apparently normal GH secretion: implications for diagnosis and follow-up*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(8): p. 3537-42.
16. Melmed, S., et al., *A Consensus Statement on acromegaly therapeutic outcomes*. *Nat Rev Endocrinol*, 2018. 14(9): p. 552-561.
17. Schilbach, K., et al., *Determinants Of The Growth Hormone Nadir During Oral Glucose Tolerance Test In Adults*. *Eur J Endocrinol*, 2019.
18. de Boer, H., et al., *Monitoring of growth hormone replacement therapy in adults, based on measurement of serum markers*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996. 81(4): p. 1371-7.
19. Katznelson, L., et al., *Acromegaly: an endocrine society clinical practice guideline*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. 99(11): p. 3933-51.
20. Nabarro, J.D., *Acromegaly*. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1987. 26(4): p. 481-512.
21. Fernandez Mateos, C., et al., *Acromegaly: surgical results in 548 patients*. *Pituitary*, 2017.
22. Melmed, S., J. Larry Jameson, *Disorders of the anterior pituitary and hypothalamus*, in *Harrison's Endocrinology*, J.L. Jameson, Editor. 2006, The McGraw-Hill Companies, Inc.: United States of America. p. 17-56.
23. Schilbach, K., C.J. Strasburger, and M. Bidlingmaier, *Biochemical investigations in diagnosis and follow up of acromegaly*. *Pituitary*, 2017. 20(1): p. 33-45.

24. Nachtigall, L., et al., *Changing patterns in diagnosis and therapy of acromegaly over two decades*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. 93(6): p. 2035-41.
25. Reid, T.J., et al., *Features at diagnosis of 324 patients with acromegaly did not change from 1981 to 2006: acromegaly remains under-recognized and under-diagnosed*. Clin Endocrinol (Oxf), 2010. 72(2): p. 203-8.
26. Schofl, C., et al., *Long-term outcome in patients with acromegaly: analysis of 1344 patients from the German Acromegaly Register*. Eur J Endocrinol, 2013. 168(1): p. 39-47.
27. Bolfi, F., et al., *Mortality in acromegaly decreased in the last decade: a systematic review and meta-analysis*. Eur J Endocrinol, 2018. 179(1): p. 59-71.
28. Werder, K.v., *Klinische Neuroendokrinologie*. Vol. 2. 2005, Heidelberg Springer. 229.
29. Baumann, G.P., *Growth hormone isoforms*. Growth Horm IGF Res, 2009. 19(4): p. 333-40.
30. De Palo, E.F., et al., *Growth hormone isoforms and segments/fragments: molecular structure and laboratory measurement*. Clin Chim Acta, 2006. 364(1-2): p. 67-76.
31. Kraemer, W.J., Bradley C. Nindl, Scott E. Gordon, *Resistance Exercise: Acute and Chronic Changes in Growth Hormone Concentrations*, in *The endocrine system in sports and exercise*, A.D.R. W. J. Kraemer, Editor. 2005, Blackwell Publishing: Malden, Massachusetts, USA. p. 110-121.
32. Kleine, B.R., W., *Hormone und Hormonsystem, Lehrbuch der Endokrinologie*. Vol. 3. 2014, Berlin, Heidelberg Springer Berlin Heidelberg. 469.
33. Ben-Shlomo, A., N.A. Liu, and S. Melmed, *Somatostatin and dopamine receptor regulation of pituitary somatotroph adenomas*. Pituitary, 2017. 20(1): p. 93-99.
34. De Vriese, C. and C. Delporte, *Ghrelin: A new peptide regulating growth hormone release and food intake*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2008. 40(8): p. 1420-1424.
35. Baumann, G.P., *Growth hormone doping in sports: a critical review of use and detection strategies*. Endocr Rev, 2012. 33(2): p. 155-86.
36. Brabant, G. and H. Wallaschofski, *Normal levels of serum IGF-I: determinants and validity of current reference ranges*. Pituitary, 2007. 10(2): p. 129-33.
37. Hartman, M.L., et al., *Temporal structure of in vivo growth hormone secretory events in humans*. Am J Physiol, 1991. 260(1 Pt 1): p. E101-10.
38. Møller, N. and J.O.L. Jørgensen, *Effects of Growth Hormone on Glucose, Lipid, and Protein Metabolism in Human Subjects*. Endocrine Reviews, 2009. 30(2): p. 152-177.
39. Houssay, B.A., *The Hypophysis and Metabolism*. New England Journal of Medicine, 1936. 214(20): p. 961-971.
40. Kim, S.H. and M.J. Park, *Effects of growth hormone on glucose metabolism and insulin resistance in human*. Ann Pediatr Endocrinol Metab, 2017. 22(3): p. 145-152.
41. del Rincon, J.-P., et al., *Growth Hormone Regulation of p85 $\alpha$  Expression and Phosphoinositide 3-Kinase Activity in Adipose Tissue*. Mechanism for Growth Hormone-Mediated Insulin Resistance, 2007. 56(6): p. 1638-1646.
42. Unger, R.H. and Y.T. Zhou, *Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover*. Diabetes, 2001. 50 Suppl 1: p. S118-21.
43. Waters, M.J., et al., *Growth hormone as a cytokine*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1999. 26(10): p. 760-4.
44. Zhu, T., et al., *Signal transduction via the growth hormone receptor*. Cellular Signalling, 2001. 13(9): p. 599-616.
45. Waters, M.J., *The growth hormone receptor*. Growth Horm IGF Res, 2016. 28: p. 6-10.
46. Boguszewski, C.L., et al., *MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Clinical and pharmacogenetic aspects of the growth hormone receptor polymorphism*. Eur J Endocrinol, 2017. 177(6): p. R309-R321.
47. Laron, Z., et al., *IGF-I deficiency, longevity and cancer protection of patients with Laron syndrome*. Mutat Res Rev Mutat Res, 2017. 772: p. 123-133.

48. Baumann, G., K. Amburn, and M.A. Shaw, *The circulating growth hormone (GH)-binding protein complex: a major constituent of plasma GH in man*. *Endocrinology*, 1988. 122(3): p. 976-84.
49. Schilbach, K. and M. Bidlingmaier, *Growth hormone binding protein - physiological and analytical aspects*. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2015. 29(5): p. 671-83.
50. Wallace, J.D., et al., *The response of molecular isoforms of growth hormone to acute exercise in trained adult males*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(1): p. 200-6.
51. Lecomte, C.M., A. Renard, and J.A. Martial, *A new natural hGH variant--17.5 kd--produced by alternative splicing. An additional consensus sequence which might play a role in branchpoint selection*. *Nucleic Acids Res*, 1987. 15(16): p. 6331-48.
52. Miletta, M.C., et al., *Isolated growth hormone deficiency type 2: from gene to therapy*. *Endocr Dev*, 2012. 23: p. 109-20.
53. Wu, Z., et al., *Specific monoclonal antibodies and ultrasensitive immunoassays for 20K and 22K human growth hormone*. *Growth Horm IGF Res*, 2010. 20(3): p. 239-44.
54. Leung, K.C., et al., *Physiological and pharmacological regulation of 20-kDa growth hormone*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002. 283(4): p. E836-43.
55. Lewis, U.J., et al., *A naturally occurring structural variant of human growth hormone*. *J Biol Chem*, 1978. 253(8): p. 2679-87.
56. DeNoto, F.M., D.D. Moore, and H.M. Goodman, *Human growth hormone DNA sequence and mRNA structure: possible alternative splicing*. *Nucleic Acids Res*, 1981. 9(15): p. 3719-30.
57. Chapman, G.E., et al., *The 20,000 molecular weight variant of human growth hormone. Preparation and some physical and chemical properties*. *J Biol Chem*, 1981. 256(5): p. 2395-401.
58. Ribeiro de Oliveira Longo Schweizer, J., A. Ribeiro-Oliveira, Jr., and M. Bidlingmaier, *Growth hormone: isoforms, clinical aspects and assays interference*. *Clin Diabetes Endocrinol*, 2018. 4: p. 18.
59. Baumann, G., *Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins*. *Endocr Rev*, 1991. 12(4): p. 424-49.
60. Baumann, G. and M.A. Shaw, *Plasma transport of the 20,000-dalton variant of human growth hormone (20K): evidence for a 20K-specific binding site*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1990. 71(5): p. 1339-43.
61. Wada, M., et al., *The 20-kilodalton (kDa) human growth hormone (hGH) differs from the 22-kDa hGH in the complex formation with cell surface hGH receptor and hGH-binding protein circulating in human plasma*. *Mol Endocrinol*, 1998. 12(1): p. 146-56.
62. Hayakawa, M., et al., *Metabolic effects of 20-kilodalton human growth hormone (20K-hGH) for adults with growth hormone deficiency: results of an exploratory uncontrolled multicenter clinical trial of 20K-hGH*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(4): p. 1562-71.
63. Tsunekawa, B., et al., *The 20-kilodalton (kDa) human growth hormone (hGH) differs from the 22-kDa hGH in the effect on the human prolactin receptor*. *Endocrinology*, 1999. 140(9): p. 3909-18.
64. Ishikawa, M., et al., *Metabolic effects of 20 kDa and 22 kDa human growth hormones on adult male spontaneous dwarf rats*. *Eur J Endocrinol*, 2001. 145(6): p. 791-7.
65. Takahashi, S., et al., *Diabetogenic activity of 20 kDa human growth hormone (20K-hGH) and 22K-hGH in rats*. *Growth Horm IGF Res*, 2001. 11(2): p. 110-6.
66. Tsushima, T., et al., *Serum concentration of 20K human growth hormone (20K hGH) measured by a specific enzyme-linked immunosorbent assay. Study Group of 20K hGH*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. 84(1): p. 317-22.
67. Boguszewski, C.L., et al., *Circulating non-22-kilodalton growth hormone isoforms in acromegalic men before and after transsphenoidal surgery*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. 82(5): p. 1516-21.
68. Lima, G.A., et al., *Growth hormone isoforms in acromegalic patients before and after treatment with octreotide LAR*. *Growth Horm IGF Res*, 2010. 20(2): p. 87-92.



69. Mellado, M., et al., *Characterization of monoclonal antibodies specific for the human growth hormone 22K and 20K isoforms*. J Clin Endocrinol Metab, 1996. 81(4): p. 1613-8.
70. Lima, G.A., et al., *Serum levels of 20K-hGH and 22K-hGH isoforms in acromegalic patients*. Front Horm Res, 2010. 38: p. 87-93.
71. Hashimoto, Y., et al., *Construction of a specific and sensitive sandwich enzyme immunoassay for 20 kDa human growth hormone*. J Immunol Methods, 1998. 221(1-2): p. 77-85.
72. Boguszewski, C.L., et al., *Circulating non-22 kDa growth hormone isoforms in healthy children of normal stature: relation to height, body mass and pubertal development*. Eur J Endocrinol, 1997. 137(3): p. 246-53.
73. Nindl, B.C., et al., *Characterization of growth hormone disulfide-linked molecular isoforms during post-exercise release vs nocturnal pulsatile release reveals similar milieu composition*. Growth Horm IGF Res, 2018. 42-43: p. 102-107.
74. Baumann, G., M.W. Stolar, and K. Amburn, *Molecular forms of circulating growth hormone during spontaneous secretory episodes and in the basal state*. J Clin Endocrinol Metab, 1985. 60(6): p. 1216-20.
75. Murakami, Y., et al., *Serum levels of 20 kilodalton human growth hormone (20K-hGH) in patients with acromegaly before and after treatment with octreotide and transsphenoidal surgery*. Endocr J, 2004. 51(3): p. 343-8.
76. Tsushima, T., et al., *Serum concentrations of 20K human growth hormone in normal adults and patients with various endocrine disorders. Study Group of 20K hGH*. Endocr J, 2000. 47 Suppl: p. S17-21.
77. Cohen, J., *Statistical power analysis for the behavioral sciences (2nd ed.)*. 1988, New York: Hillsdale, N.J.: L. Erlbaum Associates.
78. Ribeiro-Oliveira, A., Jr., A.T. Faje, and A.L. Barkan, *Limited utility of oral glucose tolerance test in biochemically active acromegaly*. Eur J Endocrinol, 2011. 164(1): p. 17-22.
79. Brick, D.J., et al., *Determinants of IGF1 and GH across the weight spectrum: from anorexia nervosa to obesity*. Eur J Endocrinol, 2010. 163(2): p. 185-91.

## 6.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: schematische Darstellung des GH-Regelkreises .....	6
Abbildung 2: GH Primärstruktur .....	12
Abbildung 3: Time resolved Immunofluorometric Assay (IFMA) .....	21
Abbildung 4: BMI-Gruppen (Kontrollgruppe).....	27
Abbildung 5: BMI-Gruppen (Akromegaliegruppe).....	28
Abbildung 6: 22K im oGTT (Kontrollgruppe) .....	30
Abbildung 7: 22K basal und Nadir (Kontrollgruppe).....	31
Abbildung 8: 22K im oGTT (Akromegaliegruppe) .....	31
Abbildung 9: 22K basal und Nadir (Akromegaliegruppe).....	32
Abbildung 10: 22K-Nadir, ohne Ausreißer (Akromegaliegruppe).....	33
Abbildung 11: 22K im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	33
Abbildung 12: 22K im oGTT, log10 (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	34
Abbildung 13: 22K gesamt (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	35
Abbildung 14: 22K basal (Kontrollgruppe und Akromegaliegruppe).....	35
Abbildung 15: 22K-Nadir (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	35
Abbildung 16: 20K im oGTT (Kontrollgruppe) .....	36
Abbildung 17: 20K im oGTT (Akromegaliegruppe) .....	37
Abbildung 18: 20K im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	37
Abbildung 19: 20K im oGTT, log10 (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	38
Abbildung 20: 20K gesamt (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	39

Abbildung 21: 20K basal (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	39
Abbildung 22: 22K und 20K im oGTT (Kontrollgruppe).....	40
Abbildung 23: 22K und 20K im oGTT, log10 (Kontrollgruppe) .....	40
Abbildung 24: 20K/22K-Ratio im oGTT (Kontrollgruppe).....	41
Abbildung 25: 22K und 20K im oGTT (Akromegaliegruppe).....	42
Abbildung 26: 22K und 20K im oGTT, log10 (Akromegaliegruppe) .....	42
Abbildung 27: 20K/22K-Ratio im oGTT (Akromegaliegruppe).....	42
Abbildung 28: 20K/22K-Ratio im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	43
Abbildung 29: 20K/22K-Ratio gesamt (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	44
Abbildung 30: 22K und 20K/22K-Ratio (Kontrollgruppe).....	45
Abbildung 31: 22K und 20K/22K-Ratio (Akromegaliegruppe).....	45
Abbildung 32: 20K/22K-Ratio im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	46
Abbildung 33: 20K/22K-Ratio 0' und 60' (Akromegalie- und Kontrollgruppe).....	46
Abbildung 34: lineare Regression Glukose und 22K zu jedem Zeitpunkt (Kontrollgruppe).....	48
Abbildung 35: lineare Regression Glukose und 22K zu jedem Zeitpunkt (Akromegaliegruppe).....	48
Abbildung 36: lineare Regression Glukose und 20K zu jedem Zeitpunkt (Kontrollgruppe).....	49
Abbildung 37: lineare Regression Glukose und 20K zu jedem Zeitpunkt (Akromegaliegruppe).....	49
Abbildung 38: lineare Regression Glukose und 20K/22K-Ratio zu jedem Zeitpunkt (Kontrollgruppe) .....	50
Abbildung 39: lineare Regression Glukose und 20K/22K-Ratio zu jedem Zeitpunkt (Akromegaliegruppe).....	50
Abbildung 40: 22K gesamt, Männer und Frauen (Kontrollgruppe) .....	51
Abbildung 41: 22K gesamt, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	51
Abbildung 42: 22K, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe) .....	52
Abbildung 43: 22K basal, Männer und Frauen (Kontrollgruppe) .....	53
Abbildung 44: 22K basal, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	53
Abbildung 45: 22K gesamt, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe) .....	54
Abbildung 46: 22K gesamt, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	55
Abbildung 47: 22K, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	56
Abbildung 48: 22K basal, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe) .....	56
Abbildung 49: 22K basal Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	57
Abbildung 50: 20K gesamt, Männer und Frauen (Kontrollgruppe) .....	57
Abbildung 51: 20K gesamt, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	58
Abbildung 52: 20K, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	59
Abbildung 53: 20K basal Männer und Frauen (Kontrollgruppe) .....	59
Abbildung 54: 20K basal, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	60
Abbildung 55: 20K gesamt, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe) .....	60
Abbildung 56: 20K gesamt, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	61
Abbildung 57: 20K, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	62
Abbildung 58: 20K basal, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe) .....	62
Abbildung 59: 20K basal, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	63
Abbildung 60: 20K/22K-Ratio gesamt, Männer und Frauen (Kontrollgruppe).....	63
Abbildung 61: 20K/22K-Ratio gesamt, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe) .....	64
Abbildung 62: 20K/22K-Ratio, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe) .....	65
Abbildung 63: 20K/22K-Ratio, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe) .....	65
Abbildung 64: 20K/22K-Ratio basal, Männer und Frauen (Kontrollgruppe).....	66
Abbildung 65: 20K/22K-Ratio basal, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe) .....	66

Abbildung 66: 20K/22K-Ratio gesamt, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe) .....	67
Abbildung 67: 20K/22K-Ratio gesamt, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe) .....	67
Abbildung 68: 20K/22K-Ratio, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe) .....	68
Abbildung 69: 20K/22K-Ratio basal, Männer und Frauen (Akromegaliegruppe).....	69
Abbildung 70: 20K/22K-Ratio basal, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe) .....	69
Abbildung 71: 20K/22K-Ratio Männer < 50 (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	70
Abbildung 72: 20K/22K-Ratio Männer > 50 (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	70
Abbildung 73: 20K/22K-Ratio prämenopausale Frauen (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	70
Abbildung 74: 20K/22K-Ratio postmenopausale Frauen (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	71
Abbildung 75: 20K/22K-Ratio prämenopausale Frauen mit E <sub>2</sub> (Kontroll- und Akromegaliegruppe) ....	71
Abbildung 76: Lineare Regression basales 22K und Alter (Kontrollgruppe) .....	73
Abbildung 77: Lineare Regression basales 22K und Alter (Akromegaliegruppe) .....	73
Abbildung 78: Lineare Regression basales 20K und Alter (Kontrollgruppe) .....	74
Abbildung 79: Lineare Regression basales 20K und Alter (Akromegaliegruppe) .....	74
Abbildung 80: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und Alter (Kontrollgruppe) .....	75
Abbildung 81: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und Alter (Akromegaliegruppe) .....	75
Abbildung 82: Lineare Regression basales 22K und BMI; Kontrollgruppe .....	76
Abbildung 83: Lineare Regression basales 22K und BMI (Akromegaliegruppe).....	76
Abbildung 84: Lineare Regression basales 20K und BMI (Kontrollgruppe).....	77
Abbildung 85: Lineare Regression basales 20K und BMI (Akromegaliegruppe).....	77
Abbildung 86: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und BMI (Kontrollgruppe).....	78
Abbildung 87: Lineare Regression basale 20K/22K-Ratio und BMI (Akromegaliegruppe) .....	78
Abbildung 88: Basale 20K/22K-Ratio nach BMI-Gruppen (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	79
Abbildung 89: 20K/22K-Ratio basal und Tumorgröße .....	79

### 6.3. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einflussfaktoren auf die GH-Sekretion.....	7
Tabelle 2: biologische Aktivität von GH [35] .....	8
Tabelle 3: GH-Isoformen [29] .....	11
Tabelle 4: Kontrollgruppe aufgeteilt nach Geschlecht, Alter und Zyklusphase.....	26
Tabelle 5: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist, nach Zeitpunkt (Kontrollgruppe) .....	27
Tabelle 6: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist, nach Geschlecht (Kontrollgruppe) .....	27
Tabelle 7: Akromegaliegruppe aufgeteilt nach Geschlecht, Alter und Zyklusphase .....	28
Tabelle 8: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist (Akromegaliegruppe) .....	29
Tabelle 9: Anteil der Serumproben, in denen 20K messbar ist, nach Geschlecht (Akromegaliegruppe) .....	29
Tabelle 10: Zeitpunkt der 22K-Nadirmessung (Kontrollgruppe) .....	30
Tabelle 11: Zeitpunkte 22K-Nadirmessung (Akromegaliegruppe) .....	32
Tabelle 12: 22K in ng/mL (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	34
Tabelle 13: Dunn's test 22K im oGTT (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	34
Tabelle 14: 20K in ng/mL (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	38
Tabelle 15: 20K Mann-Whitney-Test (Akromegalie- und Kontrollgruppe) .....	38
Tabelle 16: 20K/22K-Ratio in % (Kontroll- und Akromegaliegruppe) .....	43
Tabelle 17: Mann-Whitney-Test 20K/22K-Ratio (Kontroll- und Akromegaliegruppe).....	44

Tabelle 18: Mann-Whitney-Test 20K/22K-Ratio 0' und 60' (Akromegalie- und Kontrollgruppe) .....	47
Tabelle 19: 22K gesamt in ng/mL, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	52
Tabelle 20: 22K gesamt in ng/mL, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	55
Tabelle 21: 20K gesamt in ng/mL, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe).....	58
Tabelle 22: Gesamt-20K in ng/mL, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe).....	61
Tabelle 23: 20K/22K-Ratio gesamt in %, Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe) .....	64
Tabelle 24: 20K/22K-Ratio gesamt in %, Geschlechtergruppen (Akromegaliegruppe) .....	68
Tabelle 25: Mann-Whitney-Test, 20K/22K-Ratio 0' und 60', Geschlechtergruppen (Kontrollgruppe)..	72
Tabelle 26: Modellzusammenfassung: 20K/22K-Ratio basal und Alter/ BMI/ Geschlechtergruppe.....	80

#### 6.4. Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

Englische Begriffe werden kursiv dargestellt.

ACR	Akromegaliegruppe
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AIP	Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor-interagierendes-Protein
ALS	<i>acid-labile subunit</i>
AS	Aminosäure
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CoA	Coenzym A
CON	Kontrollgruppe
cpm	<i>counts per minute</i>
CS	Chorionisches Somatomammotropin
CSL	<i>CS-like</i>
CV	<i>coefficient of variation</i>
E <sub>2</sub>	Östrogen
FFA	<i>Free fatty acid</i>
FIPA	Familiäres isoliertes Hypophysenadenom
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
GABA	γ-Aminobuttersäure
GCP	<i>Guidelines for good clinical practice</i>
Ggf.	Gegebenenfalls
GH	<i>Growth hormone</i>
GHBP	<i>GH-binding protein</i>
GHR	<i>GH-receptor</i>
GHRH	<i>Growth hormone-releasing hormone</i>
GIT	Gastrointestinaltrakt
GLUT	Glukosetransporter
HHL	Hypophysenhinterlappen
HVL	Hypophysenvorderlappen
IGFBP	<i>IGF-binding protein</i>
IGF-I	<i>Insulin-like growth factor</i>
IRS-1	<i>insulin receptor substrate-1</i>
LBM	<i>lean body mass</i>
LoQ	<i>limit of quantification</i>
LH	Luteinisierendes Hormon

M	Mittelwert
MEN	Multiple Endokrine Neoplasie
n	Anzahl
ns	nicht signifikant
NVM	Nucleus Ventromedialis
OD	<i>optical density</i>
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
p	p-Wert, Signifikanzniveau
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
PI3-Kinase	Phosphoinosit-3-Kinase
PL	<i>Placental Lactogen</i>
PRL	Prolaktin
r <sup>2</sup>	Korrelationskoeffizient
s	signifikant
S.	Seite
SD	<i>Standard deviation</i>
SRIF	<i>Somatotropine Release Inhibiting Factor</i>
SRL	Somatostatinrezeptorliganden
SST	Somatostatin
STAT	<i>signal transducer and activator of transcription</i>
TR-IFMA	<i>time-resolved</i> Fluoreszenz-Immunoassay
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
u.a.	und andere
ULN	<i>upper limit of normal</i>
vs	versus
Z.n.	Zustand nach
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 7 Danksagung

Danken möchte ich zuerst Herrn Prof. Dr. med. Jochen Schopohl für die Möglichkeit, diese Arbeit zu schreiben und seine äußerst kompetente Betreuung und tatkräftige Unterstützung als Doktorvater.

Dr. med. Katharina Schilbach gebührt mein großer Dank für ihre Betreuung, die nicht nur fachlich exzellent, sondern auch von einer außergewöhnlichen Herzlichkeit geprägt war. Durch sie wurde meine Begeisterung für die Endokrinologie geweckt, und ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Vielen Dank auch an Dr. med. Martin Bidlingmaier, Michael Haenelt und MD PhD Júnia Ribeiro de Oliveira Longo Schweizer, die mich mit ihrem Fachwissen und ihrer Hilfsbereitschaft stets unterstützt und so maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Danke auch an das ganze Laborteam, das mich geduldig in die Laborarbeit eingewiesen und mit dem die Arbeit viel Freude gemacht hat. Ein großer Dank geht außerdem an Dr. med. Zida Wu, für die Bereitstellung der benötigten Antikörper.

Ein großer Dank gilt meinen Eltern, die mich zu jeder Zeit unterstützen und immer wieder motiviert haben. Ich danke meinen lieben Freunden, die immer an meiner Seite sind. Desweiteren bedanke ich mich bei meiner ganzen Großfamilie für die moralische Unterstützung.

Dank sei Gott, denn von Ihm und durch Ihn und zu Ihm sind alle Dinge.

## 8 Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in Teilen auf folgenden Kongressen vorgestellt und als Abstract veröffentlicht:

1. Katharina Schilbach and **Esther Ulmer**, M. Haenelt, S.S. Nicolay, L. Schwerdt, J. ROL Schweizer, C. Bartel, J. Schopohl, C.J. Strasburger, Z. Wu, M. Bidlingmaier  
Human Growth Hormone (GH) isoforms during oral glucose tolerance test in patients with acromegaly and in healthy subjects  
*European Congress of Endocrinology  
Barcelona 2018*
2. Katharina Schilbach, **Esther Ulmer**, M. Haenelt, S.S. Nicolay, L. Schwerdt, J. ROL Schweizer, C. Bartel, J. Schopohl, S. Störmann, C.J. Strasburger, Z. Wu, M. Bidlingmaier  
Human Growth Hormone (GH) isoforms during oral glucose tolerance test in patients with acromegaly and in healthy subjects  
*9th International Congress of the Growth Hormone and IGF Societies,  
Seattle 2018*
3. Júnia Ribeiro de Oliveira Longo Schweizer, Michael Haenelt, Katharina Schilbach, **Esther Ulmer**, Mariana Ferreira Bizzi, Beatriz Santana Soares Rocha, Alexandre Varela Giannetti, Antônio Ribeiro-Oliveira Jr, Martin Bidlingmaier  
The 20KD Growth Hormone Isoform in acromegaly  
*9th International Congress of the Growth Hormone and IGF Societies,  
Seattle 2018*