

Aus dem Institut für Tierpathologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Der Einfluss von Bisoprolol und IGF-1 als  
alleinige Medikation und in Kombination  
auf Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung,  
spontane Aktivität und Herzfunktion in einem  
Rattenmodell der Tumor-Kachexie**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades einer  
Doktorin der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**KATJA SCHMIDT**

Tierärztin aus Neubrandenburg

Berlin 2010

**Journal-Nr.: 3443**



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2011

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2011

© 2011 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Institut für Tierpathologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Der Einfluss von Bisoprolol und IGF-1 als  
alleinige Medikation und in Kombination  
auf Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung,  
spontane Aktivität und Herzfunktion in einem  
Rattenmodell der Tumor-Kachexie**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades einer  
Doktorin der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**KATJA SCHMIDT**

Tierärztin aus Neubrandenburg

**Berlin 2010**

**Journal-Nr.: 3443**

**Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

<b>Dekan:</b>	<b>Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg</b>
<b>Erster Gutachter:</b>	<b>Univ.-Prof. Dr. A. D. Gruber, Ph.D.</b>
<b>Zweiter Gutachter:</b>	<b>Univ.-Prof. Dr. Dr. S. D. Anker, Ph.D.</b>
<b>Dritter Gutachter:</b>	<b>Univ.-Prof. Dr. A. Richter</b>

Deskriptoren: rats, cachexia, neoplasms, hepatocellular carcinoma, ascites,  
beta-blockers, insulin-like growth factor

**Tag der Promotion: 15.04.2011**

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>III</b>
------------------------------------	------------

<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1 Kachexie.....	1
1.2 Tumor-Kachexie.....	3
1.2.1 Epidemiologie.....	3
1.2.2 Pathophysiologie der Tumor-Kachexie.....	4
1.2.2.1 Akute-Phase-Reaktion .....	6
1.2.2.2 Anorexie .....	7
1.2.2.3 Stoffwechselveränderungen und Energieumsatz .....	10
1.2.3 Therapie .....	16
1.2.4 In der Entwicklung befindliche Pharmaka und Therapieansätze.....	17
1.3 Bisoprolol.....	19
1.4 Insulin-like growth factor (IGF-1).....	21
<b>2 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>30</b>
2.1 Tiere .....	30
2.2 Versuchsplan.....	30
2.3 Methoden .....	31
2.3.1 Behandlungsgruppen .....	31
2.3.2 Tumormodell .....	32
2.3.3 Aktivitätsmessung und Futteraufnahme.....	33
2.3.4 Gewichtsmonitoring und Kernresonanzspektroskopie.....	34
2.3.5 Echokardiographie .....	35
2.3.6 Tumor- und Organentnahme.....	37
2.4 Statistische Auswertungen.....	39
<b>3 ERGEBNISSE.....</b>	<b>40</b>
3.1 Vergleich Sham vs. Placebo-Tumor .....	40
3.1.1 Mortalität.....	40
3.1.2 Gewichtsverlauf.....	41
3.1.3 Körperzusammensetzung .....	43
3.1.4 Organgewichte .....	44
3.1.5 Spontane Aktivität .....	46
3.1.6 Futteraufnahme .....	47
3.1.7 Herzfunktion .....	48
3.2 Vergleich Placebo vs. IGF-1 .....	53
3.2.1 Mortalität.....	53
3.2.2 Tumoreigenschaften .....	54
3.2.3 Gewichtsverlauf.....	55
3.2.4 Körperzusammensetzung .....	58
3.2.5 Organgewichte .....	59
3.2.6 Spontane Aktivität .....	61
3.2.7 Futteraufnahme .....	62
3.2.8 Herzfunktion .....	63

3.3	Vergleich aller Versuchsgruppen .....	67
3.3.1	Mortalität.....	67
3.3.2	Tumoreigenschaften .....	69
3.3.3	Gewichtsverlauf.....	70
3.3.4	Körperzusammensetzung .....	72
3.3.5	Organgewichte .....	74
3.3.6	Spontane Aktivität .....	76
3.3.7	Futteraufnahme.....	77
3.3.8	Herzfunktion .....	78
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>83</b>
4.1	Placebo-Sham vs. Placebo-Tumor .....	84
4.1.1	Mortalität.....	84
4.1.2	Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung und Organgewichte .....	84
4.1.3	Spontane Aktivität und Futteraufnahme.....	87
4.1.4	Herzfunktion .....	89
4.2	Placebo vs. IGF-1 .....	91
4.2.1	Mortalität.....	91
4.2.2	Tumoreigenschaften .....	91
4.2.3	Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung und Organgewichte .....	92
4.2.4	Spontane Aktivität und Futteraufnahme.....	96
4.2.5	Herzfunktion .....	98
4.3	Vergleich aller Versuchsgruppen .....	101
4.3.1	Mortalität.....	101
4.3.2	Tumoreigenschaften .....	101
4.3.3	Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung und Organgewichte .....	103
4.3.4	Spontane Aktivität und Futteraufnahme.....	108
4.3.5	Herzfunktion .....	109
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>112</b>
<b>6</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>115</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>118</b>
	<b>PUBLIKATIONSVERZEICHNIS .....</b>	<b>137</b>
	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>138</b>
	<b>SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>	<b>139</b>

# Abkürzungsverzeichnis

Δ	Differenz
Abb.	Abbildung
ACE	angiotensin converting enzyme (engl.)
Ag-RP	agouti-related peptide (engl.)
AIS	anaemia inducing substance (engl.)
ALS	acid lable subunit (engl.)
ANOVA	Varianzanalyse (analysis of variance, engl.)
APP	Akute-Phase-Proteine
AS	Aminosäure
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	body mass index (engl.)
B-Mode	brightness mode (engl.)
bpm	beats per minute (engl.)
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CHF147	Chronic heart failure 147 (engl.)
CI	Konfidenzintervall (confidence intervall, engl.)
CIBIS	Cardiac Insufficiency Bisoprolol Studies (engl.)
CNTF	ciliary neurotrophic factor (engl.)
COX	Cyclooxygenase
CRP	C-Reactives Protein
CT-1	Cardiotrophin-1
EDL	Musculus extensor digitalis longus
EF	Auswurf-/Ejektionsfraktion (ejection fraction, engl.)
EPA	eicosapentaenoic acid (engl.)
FDA	food and drug administration (engl.)
FOXO	forkhead transcription factor (engl.)
FS	Verkürzungsfraktion (fractional shortening, engl.)
GH	growth hormone (engl.)
GHIS	growth hormone insensitivity syndrome (engl.)
GHRH	growth hormone releasing hormone (engl.)
Grb2	growth factor receptor bound protein 2 (engl.)
GSK-3β	Glykogen Synthase Kinase 3β
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HMV	Herzminutenvolumen
HSL	Hormon Sensitive Lipase
IFN	Interferon
IGF-1	insulin like growth factor-1 (engl.)
IGFBP	insulin like growth factor binding protein (engl.)
IL	Interleukin
ISA	Intrinsische sympathomimetische Aktivität (intrinsic sympathomimetic activity, engl.)
IRS-/SHC-Proteine	Insulin Rezeptor Substrat/Src-Homologie Kollagen
IVS	interventrikuläres Septum
kD	Kilo Dalton
LHA	lateral hypothalamic area (engl.)
LIF	leucaemia inducing factor (engl.)
LMF	lipid mobilizing factor (engl.)
LPL	Lipoproteinlipase

LVEDD	linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (left ventricular enddiastolic diameter, engl.)
LVEDV	linksventrikuläres enddiastolisches Volumen (left ventricular enddiastolic volume, engl.)
LVESD	linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser (left ventricular endsystolic diameter, engl.)
LVESV	linksventrikuläres endsystolisches Volumen (left ventricular endsystolic volume, engl.)
LVPW	Hinterwand des linken Ventrikels (left ventricular posterior wall, engl.)
MA	Megestrolacetat
MAC16	Adenokarzinom des Kolons der Maus
MAFbx	Muscle atrophy F box/Atrogin
MAPK	mitogen activated protein kinase system (engl.)
MCH	melanin concentrating hormone (engl.)
MHC	myosin heavy chain (engl.)
Mm	Musculi
M-Mode	time/motion (engl.)
MPA	Medroxyprogesteronacetat
mRNA	messenger ribonucleic acid (engl.)
mTOR	mammalian target of rapamycin (engl.)
MuRF-1	muscle ring finger 1 (engl.)
NF-κB	Nekrosefaktor κ
NMR	Kernspinresonanz (nuclear magnetic resonance, engl.)
NPY	Neuropeptid Y
ns	nicht signifikant
NSAID	non steroidal anti-inflammatory drug (engl.)
NYHA	New York Heart Association
OSM	Oncostatin M
p	statistisches Maß für die Wahrscheinlichkeit
PI(3)K	Phosphatidyl-Inositol-3 Kinase
PIF	proteolytic inducing factor (engl.)
PW	pulsed wave (engl.)
RAF	serine/threonin kinase
REE	Ruheenergieumsatz (resting energy expenditure, engl.)
rhIGF-1	recombinant human insulin like growth factor-1 (engl.)
SAA	Serum Amyloid A
SOCS3	suppressor of cytokine signalling 3 (engl.)
SPF	Specific pathogen free (engl.)
THC	ΔTetrahydrocannabinol
TNF	Tumornekrosefaktor
UCP	uncoupling protein (engl.)
UPS	Ubiquitin-Proteasomen-System
ZAG	Zink-α <sub>2</sub> -Glykoprotein

# 1 Einleitung

Tumorerkrankungen stellen weltweit ein zunehmendes gesundheitliches Problem dar. Allein in der EU erkranken jährlich etwa 3,2 Millionen Menschen- Tendenz steigend [1]. Bei rund 50% der Betroffenen maligner Tumorerkrankungen kommt es zur Ausbildung des sogenannten Tumor-Kachexie Syndroms. Die Tumor-Kachexie beeinträchtigt nicht nur den Stoffwechsel und die Immunabwehr, sie reduziert auch die Therapiemöglichkeiten und beeinflusst zudem die Lebensqualität und Überlebensdauer der Patienten [2]. Bei bis zu 22% der Patienten stellt die Kachexie die Todesursache dar [3, 4]. Allein mit einer Ernährungstherapie kann die Tumor-Kachexie nicht gestoppt werden. Bisher existierende pharmakotherapeutische Strategien diesbezüglich sind allerdings auch nicht zufriedenstellend.

## 1.1 Kachexie

Der Begriff Kachexie kommt aus dem griechischen Sprachgebrauch und setzt sich aus den Wortbestandteilen „kakos“ (schlecht) und „hexis“ (Zustand) zusammen [5]. Bisher gab es für die Kachexie keine allgemein anerkannte Definition [6]. Im Dezember 2006 kam eine Gruppe von Wissenschaftlern und Klinikern im Rahmen der „Cachexia Consensus Conference“ in Washington DC zusammen und definierte die Kachexie als ein komplexes metabolisches Syndrom, das mit einer Grunderkrankung in Verbindung steht. Sie ist charakterisiert durch einen Verlust an Muskelmasse und kann ebenso von einem Verlust an Fettmasse begleitet sein. Das Hauptsymptom der Kachexie ist der Gewichtsverlust bei Erwachsenen oder die Wachstumsstörung bei Kindern. Im Zusammenhang mit dem Kräfteverfall und der Auszehrung stehen häufig Anorexie, Entzündungen, Insulinresistenz sowie ein verstärkter Proteinabbau. Auszehrung ist zu unterscheiden von Verhungern, altersbedingtem Muskelschwund, Depression, Malabsorption und einer Schilddrüsenüberfunktion [7]. Die Kachexie ist außerdem stets mit einer schlechten Prognose verbunden [8].

Folgende diagnostische Kriterien hat der Ausschuss in Washington DC für das Vorhandensein einer Kachexie beschlossen:

- ein nicht-ödematöser Gewichtsverlust von mindestens 5% in 12 Monaten oder weniger, wenn eine Grunderkrankung vorliegt oder
- ein BMI von  $<20 \text{ kg/m}^2$
- zusätzlich zum Gewichtsverlust bzw. reduzierten BMI müssen drei der nachfolgend aufgezählten Kriterien zutreffen:
  - eine reduzierte Muskelkraft/-stärke

- Erschöpfung
- Anorexie
- ein niedriger Index an fettfreier Masse
- abnorme biochemische Werte: erhöhte Entzündungswerte (CRP>5 mg/l, IL-6>4 pg/ml), Anämie (<12 g/dl) und erniedrigtes Serumalbumin <3,2 g/dl.

Die den Stoffwechsel betreffenden Veränderungen als Reaktion auf die zumeist chronischen Erkrankungen sind gekennzeichnet durch einen globalen Hypermetabolismus, Insulinresistenz, Veränderungen der Substratausnutzung und einer negativen Stickstoffbilanz. Der Ruheenergieumsatz kann bis zu 60% erhöht sein. Obwohl die Proteinsynthese, insbesondere in der Leber, vermehrt stattfindet, resultiert die zu einem größeren Ausmaß gesteigerte Proteolyse in einem Verlust des Körperproteins [9].

Im Umgang mit der Kachexie und für ihre Behandlung ist es erforderlich, sie von anderen Syndromen, die mit Gewichtsverlusten einhergehen, zu unterscheiden. Dazu gehören z.B. die Anorexie, die Sarkopenie, die Dehydratation und das Verhungern [10]. Wie bereits erwähnt, kommt es bei Kachexie-Patienten zu einem Verlust von Fett- und Muskelmasse in nahezu gleichem Ausmaß, wobei der Skelettmuskelabbau den Abbau von visceralem Protein übertrifft. Anorektiker verlieren aufgrund des alleinigen Kalorienmangels mehr Fett- als Muskelgewebe und die Proteinverluste betreffen im Gegensatz zur Kachexie die Skelettmuskulatur und das viscerale Protein zu gleichen Teilen [11]. Obwohl Anorexie eine häufige Begleiterscheinung von kachektischen Zuständen darstellt, ist die verringerte Kalorienzufuhr nicht allein für die im Verlauf der Kachexie auftretenden Veränderungen der Körperzusammensetzung verantwortlich [11]. Ein weiterer wichtiger Unterschied ist, dass Anorexie im Gegensatz zur Kachexie reversibel ist.

Die Sarkopenie ist gekennzeichnet durch einen unbeabsichtigten Verlust an Skelettmuskulatur und der damit verbundenen Abnahme der Körperkraft [12]. Mit zunehmendem Alter verändert sich die Zusammensetzung des Körpers, insbesondere steigt der prozentuale Anteil an Fettgewebe. An Stelle der fettfreien Masse nimmt das interstitielle Bindegewebe mit vermehrten Wassereinlagerungen einen immer größeren Raum ein. Der Hauptanteil der verloren gegangenen Zellmasse sind Muskelzellen und kontraktile Muskelzellproteine [12]. Die Ursachen für die Sarkopenie sind eine Reduzierung anaboler Stimuli bzw. eine Veränderung ihrer Wirksamkeit (die nervale Versorgung, das Testosteron, die Östrogene, das Wachstumshormon, das Insulin, die Proteinzufuhr und die körperliche Aktivität). Zudem gewinnen katabole Stimuli die Oberhand [13].

Die häufig außer Acht gelassene Dehydratation zeichnet sich durch den Flüssigkeitsverlust im extrazellulären Raum aus [10]. Die Ursachen können mangelnde Flüssigkeitszufuhr, Flüssigkeitsverlust oder Stoffwechselstörungen sein.

## **1.2 Tumor-Kachexie**

Die Tumor-Kachexie stellt ein komplexes multifaktorielles Syndrom dar, das wahrscheinlich auf die Wirkungen und Interaktionen der Faktoren zurückzuführen ist, die einerseits vom Tumor selbst gebildet, und andererseits als Reaktion des Patientenorganismus auf die Anwesenheit des Tumors produziert werden [14]. Das Kachexie-Syndrom führt zu einem Zustand der Mangelernährung, verursacht durch Anorexie oder reduzierte Nahrungsaufnahme, Maldigestion, Malabsorption sowie Störungen im Stoffwechsel. Der Konkurrenzkampf zwischen Tumor und Wirt um die Nährstoffe hat eine vorzeitige Entkräftung zur Folge. Die daraus resultierenden schwerwiegenden metabolischen Störungen, wie Hypermetabolismus ziehen eine verringerte Energieeffizienz nach sich [15]. Ein kachektischer Tumorpatient im fortgeschrittenen Stadium zeigt u.a. einen massiven Gewichtsverlust, Anorexie, vorzeitige Sättigung, Schwäche, Anämie und Ödeme [16].

### **1.2.1 Epidemiologie**

Maligne Tumorerkrankungen stellen weltweit ein zunehmendes gesundheitliches Problem dar, nicht zuletzt aufgrund der längeren Lebenserwartung der Menschen. In Europa erkranken jährlich etwa 3,2 Millionen Menschen, wobei die Inzidenzrate weiter steigt. Die Todesfälle pro Jahr belaufen sich derzeit auf etwa 1,7 Millionen. Dabei treten Brust-, Kolorektal- und Lungenkreberkrankungen am häufigsten auf [1]. Das Syndrom der Tumor-Kachexie tritt bei ca. 50% der Tumorpatienten auf [2]. Die Inzidenz hängt insbesondere von der Art des Tumors ab [17]. Am häufigsten betroffen sind Menschen mit Tumorerkrankungen, die die Lunge oder den oberen Gastrointestinaltrakt betreffen [2]. Zusätzlich zu der Art, der Lokalisation, dem Grad und Stadium der Tumorerkrankung, spielen auch die jeweiligen Krebstherapien, sowie die individuellen Eigenschaften des Patienten (Alter, Geschlecht, individuelle Prädisposition) eine Rolle [14]. Bei bis zu einem Drittel der sich im Endstadium der Erkrankung befindlichen Tumorpatienten, ist Kachexie die Todesursache [18]. Das Ausmaß der Kachexie steht in negativer Korrelation zur Überlebensdauer des Patienten und schließt immer eine schlechte Prognose ein [19].

## 1.2.2 Pathophysiologie der Tumor-Kachexie

Die Pathophysiologie der Tumor-Kachexie setzt sich aus zwei Hauptkomponenten zusammen- der fehlenden Nahrungsaufnahme und dem Hypermetabolismus-/ Hyperkatabolismus-Syndrom [6]. Die Anwesenheit von abnormen, sich rasch vermehrenden Tumorzellen löst eine systemische Entzündungsreaktion aus, wodurch sich eine Anorexie entwickeln kann. Die Immunantwort führt in der Regel nicht zu einer Unterdrückung des Tumorwachstums und resultiert daher oftmals in einer chronischen Entzündung [14]. Die Rolle des Tumors in der Ätiologie der Kachexie besteht in der lokalen Ausschüttung proinflammatorischer Cytokine, die eine systemische Immunantwort auslösen [20] und der Bildung prokachektischer Faktoren, wie z.B. TNF (Cachectin), die direkte Wirkungen auf das Wirtsgewebe haben [21, 22].

Die Mechanismen des Wirtes bestehen in einer anomalen Reaktion auf die Anwesenheit des Tumors und sind gekennzeichnet durch die systemische Immunreaktion und die neuroendokrine Stressreaktion [23, 24].

Die Veränderungen im Stoffwechsel resultieren in einer negativen Energie- und Stickstoffbilanz, was zu Abweichungen in der Zusammensetzung und Funktion mehrerer Organe führt. Diese Veränderungen äußern sich in einer Vielzahl von Symptomen und Anzeichen, bei denen eine Minderung der Lebensqualität und eventuell auch eine Verkürzung der Lebensdauer eine große Bedeutung haben [25].

Obwohl durch zahlreiche Studien versucht wurde, die zugrunde liegenden Mechanismen der Tumor-Kachexie zu charakterisieren, bleibt die genaue Wirkungsweise der verantwortlichen Mediatoren lückenhaft [26].

Es gibt zahlreiche Mediatoren, entweder vom Tumor selbst produziert, oder als allgemeine Reaktion des Wirtsorganismus auf die Anwesenheit des Tumors, die mit der Pathogenese der Tumor-Kachexie in Verbindung gebracht werden [27].

Die proinflammatorischen Cytokine lösen eine Kaskade von Ereignissen aus, einschließlich direkter Wirkungen auf den Stoffwechsel und der Unterdrückung des Appetits, sowie indirekte Wirkungen durch die Akute-Phase-Reaktion [28]. Cytokine wie der Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-1 (IL-1), IL-6, Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) und Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF) sind von Entzündungszellen produzierte zellassozierte Proteine, die als parakrine interzelluläre Mediatoren fungieren. Sie können aber auch vom Tumor gebildet werden [29]. Es ist offensichtlich, dass die einzelnen Cytokine in vivo nicht alleine arbeiten, sondern dass ein komplexes Netzwerk von Cytokinen in Kombination mit anderen Faktoren die Entwicklung der Kachexie bedingen [25].

In vielen Studien wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen der Tumor-Kachexie und denen im Umlauf befindlichen Cytokinen herzustellen, doch die Ergebnisse sind zuweilen sehr kontrovers. Erhöhte Serumkonzentrationen von TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  wurden beispielsweise laut Moldawer et al. sowohl bei Tumorpatienten, als auch bei tierexperimentellen Tumormodellen gefunden [30]. Andere Studien wiederum konnten keine Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Cytokinen und dem Gewichtsverlust der Tumorpatienten feststellen [31]. Eine Erklärung für die meisten dieser, eher rätselhaften Beobachtungen ist möglicherweise, dass viele Cytokine wie parakrine Hormone auf ihre Zielorgane wirken, ohne dass es zu einem nachweisbaren Anstieg im Blut kommt [26]. Hinzu kommt, dass Cytokine einem 24-Stunden Rhythmus unterliegen. Humane Studien sind nicht einheitlich, was die Tageszeit betrifft, zu der die Cytokinbestimmung durchgeführt wurde [32]. TNF- $\alpha$  insbesondere hat eine kurze Halbwertszeit und bildet Komplexe mit seinen löslichen Rezeptoren, was ebenso ein Grund für die fehlende Nachweisbarkeit sein könnte. Dennoch konnte TNF- $\alpha$  bei Patienten mit Malaria und Leishmaniose nachgewiesen werden [5]. Zahlreiche Untersuchungen belegen auch, dass Cytokine ihre Wirkung überwiegend lokal entfalten. Beispielsweise führte in einer Studie die zentrale Applikation von TNF- $\alpha$  vorwiegend zu Anorexie, wogegen die Ausschüttung von TNF- $\alpha$  in der Peripherie Proteinverluste im Stoffwechsel zur Folge hatte [33]. Cytokine bewirken im Hirn die Ausbildung einer Anorexie. Im Fettgewebe und in der Muskulatur kommt es durch ihre Wirkung zu einer Abnahme der Fett- und Proteinsynthese, sowie zu einer Steigerung des Fett- und Proteinabbaus. In der Leber wird vermehrt Glucose produziert [34-37]. Größere Beweiskraft für eine Beteiligung der Cytokine an der Ausbildung der Kachexie haben Beobachtungen in experimentellen Tiermodellen geliefert, in welchen die Gabe spezieller Cytokin-antagonisten zu einer Linderung oder sogar Umkehr des kachektischen Zustands geführt hat [38-40]. IFN- $\gamma$ , ein von aktivierten T- und NK-Zellen gebildetes Cytokin, besitzt biologische Eigenschaften, die teilweise mit denen von TNF- $\alpha$  übereinstimmen [19]. In einem Versuch, bei dem monoklonale Antikörper gegen IFN- $\gamma$  eingesetzt wurden, konnte der mit dem Lewis-Lungenkarzinom einhergehende Gewichtsverlust wieder rückgängig gemacht werden [41], was dafür spricht, dass eine endogene Produktion von IFN- $\gamma$  in tumortragenden Mäusen existiert und diese an den typischen metabolischen Veränderungen, die bei der Tumor-Kachexie auftreten, beteiligt sind. Die Produktion proinflammatorischer Cytokine löst auch die Bildung entsprechender antiinflammatorischer Cytokine wie IL-10, IL-13, IL-15 und dem IL-1-Rezeptorantagonisten aus. Das Gleichgewicht der gegensätzlich wirksamen Cytokine könnte die Ausprägung der klinischen Symptome entscheidend beeinflussen [25, 42].

Der Anämie-induzierende Faktor (AIS) ist ein vom Tumor gebildetes Protein, das die Funktion der Erythrozyten und Immunzellen unterdrückt. Experimentelle Daten von Ishiko et al. zeigten [43], dass der Energiestoffwechsel der Blutzellen durch AIS beeinträchtigt wird, die Aktivität der Pyruvatkinase und ATP-Konzentration reduziert ist und der transmembrane Glukoseeinstrom unterdrückt wird. Außerdem waren bei final kranken Tumorpatienten der osmotische Widerstand und die Verformbarkeit der Erythrozyten herabgesetzt. Zusätzlich ist AIS in der Lage, die Nahrungsaufnahme, das Gewicht und die Körperfettmasse bei Kaninchen zu reduzieren.

### **1.2.2.1 Akute-Phase-Reaktion**

Die Akute Phase Reaktion ist zurückzuführen auf eine Reihe physiologischer und metabolischer Veränderungen als Antwort auf Entzündungen, Gewebszerstörungen, Infektionen, Traumata, Operationen, Neoplasien oder immunologische Störungen. Die Leber produziert vermehrt Akute-Phase-Proteine wie z.B. C-Reaktives Protein (CRP) und Fibrinogen. Im Vergleich dazu können die Plasmaspiegel anderer, in der Leber gebildeter Proteine (z.B. Albumin) bei kachektischen Patienten sinken [42]. Das bedeutet nicht zwangsläufig, dass deren Syntheserate reduziert ist, was Fearon et al. in einer Studie veranschaulicht haben [44, 45]. Ein alternativer Erklärungsversuch für den Albuminverlust wäre beispielsweise eine erhöhte Gefäßpermeabilität [42].

Die Akute-Phase-Reaktion dient bekanntlich der Wiederherstellung des Gewebes, der Blutgerinnung, der Vorbeugung weiterer Gewebsschädigung und der Zerstörung infektiöser Organismen [46]. Der Nutzen dieser Reaktion bei Tumorpatienten ist nicht eindeutig. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine stereotype Reaktion auf die Entzündung [47]. Die Cytokine IL-6, IL-1 und TNF werden als die Hauptmediatoren der APP angesehen [48]. Auch der von den Gliazellen des peripheren Nervensystems und in der Skelettmuskulatur gebildete Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF) [49] gehört zur Familie der Cytokine, die IL-1 und IL-6 einschließt [15]. Eine Studie an Mäusen, denen genetisch modifizierte C6 Gliomazellen appliziert wurden, um die CNTF-Sekretion sicherzustellen hat gezeigt, dass CNTF, unabhängig von der Aktivierung anderer Cytokine, die Bildung von Akute-Phase-Proteinen auslöst und einen deutlichen kachektischen Effekt erzeugt [49].

Wang et al. zeigten, dass CNTF in Abhängigkeit von der Dosis und vom Zeitpunkt der Exposition, abweichende Wirkungen bei in vitro Muskelpräparaten hat [50].

Der Proteolyse-induzierende Faktor (PIF), ein vom Tumor stammendes Proteoglycan, aktiviert in der Leber die Transkriptionsfaktoren NF- $\kappa$ B und STAT3 und damit die Bildung von IL-6 und IL-8. Die daraus resultierende gesteigerte Produktion von CRP und reduzierte Bildung von Transferrin legt die Vermutung nahe, dass PIF auch am proinflammatorischen Geschehen beteiligt ist [51]. Tatsächlich kann man die APP in zwei Gruppen unterteilen. Zu den Typ I Proteinen, deren Bildung durch IL-1 und TNF stimuliert wird, gehören Serum-Amyloid A (SAA), C-Reaktives Protein (CRP), Komplement-C3, Haptoglobin (Ratte) und saures  $\alpha$ 1-Glykoprotein. Typ II Proteine schließen Fibrinogen, Haptoglobin (Mensch),  $\alpha$ 1-Antichymotrypsin und  $\alpha$ 2-Makroglobulin (Ratte) ein. Deren Bildung wird durch IL-6, Leukämie-induzierender Faktor (LIF), OSM (Oncostatin M), CNTF und CT-1 (Cardiotrophin-1) induziert [52]. Die Funktionen der einzelnen APPs variieren. Man unterscheidet Bindungsproteine (Opsonine), Proteaseinhibitoren, Komplementfaktoren, Apoproteine, Fibrinogen u.a. Das CRP gehört zu den Opsoninen und bindet denaturierte Proteine, Lipopolysaccharide und Nukleinsäuren, wodurch es lokal zur Aktivierung der Komplementreaktion und zur Phagozytose durch Makrophagen kommt. Die Komplementspaltprodukte stimulieren die Ausschüttung von IL-6 aus den Makrophagen, was wiederum zu einer vermehrten Bildung und Freisetzung von CRP aus der Leber führt. Die Intensität dieser Reaktion hängt vom Ausmaß der Zerstörung des Gewebes ab. Die Reaktion erlischt, wenn alle Gewebstrümmer beseitigt sind [53].

### 1.2.2.2 Anorexie

Anorexie ist gekennzeichnet durch einen reduzierten Appetit bzw. ein herabgesetztes Verlangen, Nahrung aufzunehmen. Bei kachektischen Tumorpatienten treten häufig bestimmte Probleme auf, sei es durch die lokalen Wirkungen des Tumors, die Reaktion des Patientenorganismus auf den Tumor oder die Verabreichung von Tumorthérapien, die zu einer reduzierten Nahrungsaufnahme führen können [28].

Die Pathogenese der tumorspezifischen Anorexie ist sehr kompliziert und multifaktoriell. Sie beinhaltet u.a. eine Störung zentraler und peripherer Mechanismen, die physiologischerweise das Essverhalten regulieren [54]. Darin eingeschlossen sind viele Mediatoren, wie Hormone (z.B. Leptin), Neuropeptide (z.B. Neuropeptid Y, Melanocortin, Orexin) und Cytokine, die miteinander interagieren und auf diese Weise zu einer reduzierten Nahrungsaufnahme und damit zur Kachexie führen [29]. Anorexie ist nicht allein verantwortlich für die komplexen Veränderungen, die bei anorektisch-/kachektischen Tumorpatienten auftreten [55].

In unterernährten Tumorpatienten stimmt die aufgenommene Nahrungsmenge nicht mit dem Ausmaß der Mangelernährung überein [26].

Des Weiteren wurde berichtet, dass sowohl der Muskel- wie auch der Fettgewebsverlust, dem Rückgang der Nahrungsaufnahme vorausgeht [56]. Die Bereitstellung von zusätzlichen Kalorien, führt außerdem nicht zu einer Gewichtszunahme [57]. Die Anorexie scheint demzufolge eher eine Konsequenz des Gewichtsverlustes, als eine Ursache zu sein [58].

Cytokine interagieren mit dem Nervensystem auf verschiedene Weise: via Transport aus der Peripherie ins Hirn über die Blut-Hirnschranke, retrograd über Axone, über chemische Mediatoren (z.B. Prostaglandine, Stickstoffmonoxid) oder über afferente Nervenfasern. Die Wirkung der Cytokine im Hirn kann entweder direkt, über Modulation der neuronalen Prozesse, oder indirekt, über Modulation chemischer Vorgänge im Hirn erfolgen [32]. Letztere schließt Interaktionen zwischen Cytokinen untereinander, Cytokinen und Neurotransmittern sowie Cytokinen und Neuropeptiden/Hormonen ein [53].

Cytokine sind außerdem in der Lage, die gastrointestinale Aktivität (Motilität und Entleerung des Magens) zu modulieren, entweder direkt im Verdauungstrakt oder zentral über die Modifikation efferenter Signale, die die Sättigung regulieren. Sie hemmen auf diese Weise die Nahrungsaufnahme. Des Weiteren bewirken Cytokine die Ausschüttung von Sättigungshormonen wie Cholezystokinin, Glucagon, Insulin und Leptin [32].

Leptin, ein von Fettzellen gebildetes und sezerniertes Hormon, hat einen entscheidenden Einfluss bei der Regulation der Nahrungsaufnahme, des Körpergewichts und der Energiebilanz [59]. Viele Cytokine stimulieren im Hypothalamus die Bildung und/oder Ausschüttung des Corticotropin-Releasing Factors (CRF) [32]. Der CRF ist ein Polypeptid, das in Stresssituationen endokrine, autonome und das Immunsystem betreffende Reaktionen vermittelt. Durch die Aktivierung des CRF-Systems, wird die Ausschüttung von Glucocorticoiden stimuliert. Bei einer normalen Immunantwort wird diese Reaktion via negatives Feedback begrenzt. Fortwährend erhöhte Cytokinspiegel jedoch, führen durch die ständige Aktivierung des CRF-Systems zur Ausbildung der Anorexie [60].

TNF- $\alpha$  ist in der Lage zentral einen anorektischen Effekt hervorzurufen, indem es die Blut-Hirnschranke passiert [61] und im ventromedialen Nucleus und in der lateral hypothalamic area (LHA) die Aktivität glucosesensitiver Neurone moduliert [62], wobei es auch hier z.T. widersprüchliche Ergebnisse von Studien mit TNF- $\alpha$  gibt, wie folgende Beispiele zeigen. Eine vorübergehende Applikation von TNF- $\alpha$  ist imstande, eine Anorexie herbeizuführen, aber keine Kachexie.

Dagegen wurde bei wiederholter Verabreichung von TNF- $\alpha$  eine Kachexie beobachtet. Infolge der sich rasch entwickelnden Toleranz gegenüber den Cytokinen, normalisiert sich die Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht wieder [19, 63]. Andere Studien haben gezeigt, dass steigende Dosen nötig sind, um den kachektischen Effekt aufrecht zu erhalten [15]. Die Injektion eines Hemmstoffes (p55 TNF Rezeptor) von TNF- $\alpha$  bei anorektischen tumorkranken Ratten, führte zu einer Steigerung der Nahrungsaufnahme [64]. Auch IL-1 scheint in der Lage zu sein, zentral einen anorektischen Effekt auszulösen, indem es die durch NPY-induzierte Nahrungsaufnahme blockiert [32].

Zu den lokalen Auswirkungen des Tumors, die die Nahrungsaufnahme negativ beeinflussen können, gehören: Odynophagie (schmerzhaftes Schlucken), Dysphagie (Störung beim Schluckakt), Verstopfung des Verdauungstraktes, vorzeitiges Sättigungsgefühl, Resorptionsstörungen und Schmerzen [28].

Tumorthérapien (Operationen, Chemo- und Strahlentherapie) haben zahlreiche Nebenwirkungen, die zu einer reduzierten Nahrungsaufnahme führen können, wie z.B. eine veränderte Geschmacks- und Geruchsempfindung, Abneigung/Ekel gegenüber bestimmter Nahrung, Übelkeit, Erbrechen, Schleimhautentzündungen, Veränderungen im Darm und vorzeitiges Sättigungsgefühl [65, 66].

Der psychologische Aspekt ist ebenfalls ein nicht unwesentlicher Faktor, der die Nahrungsaufnahme beeinträchtigen kann. Kachexiepatienten sind häufig depressiv aufgrund der Ungewissheiten, die die Erkrankung betreffen, wie die Diagnose, die Therapie und der zu erwartende Ausgang der Erkrankung [52].

Im Zusammenhang mit der Mangelernährung stehen zahlreiche klinische Auswirkungen, einschließlich einer verminderten Lebensqualität, einem reduzierten Ansprechen der Antitumorbehandlung, einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber einer, von der Chemotherapie ausgehenden Toxizität, einer erhöhten Inzidenz postoperativer Komplikationen und einer verkürzten Überlebensdauer [67-72].

Zusätzlich beeinträchtigt die Mangelernährung die normale Funktion von Organsystemen bzw. des ganzen Organismus. Infolgedessen kann es zu weiteren Symptomen wie Depression, Fatigue (Erschöpfung, Ermüdung), Malaise (Unwohlsein, Unpässlichkeit) kommen, die sich wiederum erheblich auf das Wohlbefinden des Patienten auswirken [73]

### 1.2.2.3 Stoffwechseleränderungen und Energieumsatz

Der Gesamtenergieumsatz setzt sich aus dem Grundumsatz und dem Leistungsumsatz zusammen. Der Ruheenergieumsatz macht physiologischerweise ca. 70% des Gesamtenergieumsatzes aus. In klinischen Studien schwankt er stark bei den unterschiedlichen Gruppen von Tumorpatienten [74].

Diese Unterschiede sind abhängig vom Stadium der Erkrankung [75] und von der Art des Tumors. Bei Tumoren der Lunge oder der Bauchspeicheldrüse, tritt gewöhnlich eine Erhöhung des Grundumsatzes auf, wohingegen dies bei Tumoren des Magens oder Kolorektums nicht der Fall ist [76]. Obwohl der Ruheenergieumsatz bei einigen Patienten erhöht sein kann, ist es möglich, dass der Gesamtenergieumsatz aufgrund mangelnder körperlicher Aktivität sinkt [77].

Es ist unklar, auf welche Weise genau Tumore den Grundumsatz beeinflussen. Eine vermehrte Expression der Uncoupling Proteine könnte eine Ursache sein, was die Ergebnisse zahlreicher Studien belegen. Diese Proteine gehören zu einer Familie von Membranproteinen in den Mitochondrien, die die Thermogenese steigern und den Energieumsatz erhöhen können [74]. UCP-1 kommt nur in braunem Fettgewebe vor. UCP-2 dagegen wird in mehreren Geweben gebildet wie z.B. im weißen Fettgewebe, in der Skelettmuskulatur und in Geweben des Immunsystems [78]. UCP-3 tritt in braunem Fettgewebe und in der Skelettmuskulatur auf [58]. Normalerweise besitzen erwachsene Menschen kein braunes Fettgewebe. Shellock et al. haben im Rahmen einer Studie braunes Fett im periadrenalen Gewebe bei 80% der kachektischen Tumorpatienten, und bei 13% der gleichaltrigen Kontrollen nachgewiesen [79].

Normalerweise werden, die bei der Verstoffwechslung von Fetten, Kohlenhydraten und Proteinen entstehenden Produkte NADH und  $FADH_2$  in der Atmungskette oxidiert, um aus ADP ATP zu synthetisieren. Dazu werden die Protonen über verschiedene, in der inneren Mitochondrienmembran gelegene Enzymkomplexe in den Intermembranraum transportiert. Der so erzeugte Protonengradient zwischen dem Intermembranraum und dem Inneren des Mitochondriums (Matrix) bewirkt einen Rückfluss der Protonen zur Matrixseite und wird von der ATPase zur Bildung von ATP genutzt.

Uncoupling Proteine fungieren als Protonentransporter an der inneren Mitochondrienmembran und entkoppeln die Atmung von der Phosphorylierung, infolgedessen statt ATP, Wärme entsteht [78]. Eine Dysregulation des Autonomen Nervensystems wurde ebenfalls bei Tumor-Kachexiepatienten beobachtet [80]. Yun et al. haben vorgeschlagen, die Dysfunktion als eine Begleiterscheinung des Tumors anzusehen, durch die er das Überleben der Tumorzellen sichert [81].

Mit der Aktivierung des Sympathikus und der Cytokinkaskade, ist der Tumor in der Lage, sein eigenes Wachstum zu fördern und die Immunabwehr des Wirtes zu umgehen [42]. Hyltander et al. haben gezeigt, dass eine erhöhte Herzfrequenz mit dem Hyperkatabolismus einhergehen kann, was sich möglicherweise auf eine gesteigerte Aktivität des adrenergen Systems zurückführen lässt [82]. Zusätzlich treten bei vielen Tumorpatienten erhöhte Plasmakonzentrationen sowie eine verstärkte Ausscheidung adrenerger Substanzen über den Urin auf. Im Vergleich dazu zeigen unterernährte Patienten ohne Tumor generell eine Abnahme des Catecholaminumsatzes [83].

Es treten häufig Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel auf, die vergleichbar mit denen bei Typ-II-Diabetestypen (Insulinunabhängiger Diabetes) sind.

Das Tumorwachstum und die chronische Aktivierung des Immunsystems, um dem Tumorwachstum entgegenzuwirken, sind für den erhöhten Energieaufwand, insbesondere für den ständigen Verbrauch energiereicher Substrate, wie Glucose, verantwortlich [84]. Des Weiteren ist die Zufuhr von Glucose bei Tumorpatienten durch das Auftreten bestimmter Symptome wie Übelkeit, Erbrechen und Anorexie deutlich beeinträchtigt, was zur Aktivierung der Gluconeogenese aus Lactat und Aminosäuren aus dem Muskel sowie freien Fettsäuren führt und damit die Speicher für Fette und Proteine ausschöpft [53]. Obwohl der Glucoseumsatz gesteigert ist, wird sie von den peripheren Geweben schlecht genutzt, was auf eine Insulinresistenz und Glucoseunempfindlichkeit zurückzuführen ist [85]. Die meisten soliden Tumore nutzen zur Energiegewinnung fast ausschließlich die anaerobe Glycolyse. Ursachen hierfür sind entweder Veränderungen der entsprechenden Isoenzyme oder die schlechte Gefäßversorgung und damit der hypoxische Charakter des Tumors [86]. Tumorzellen beanspruchen zum Wachstum große Mengen an Glucose, im Vergleich zu normalen Zellen die vier- oder fünffache Menge. Maligne Tumore beziehen 50% ihrer Energie aus der anaeroben Glycolyse, was den Wirtsorganismus zur ständigen Gluconeogenese zwingt [87]. Die vom Tumor aufgenommene Glucose wird in Lactat umgewandelt, woraus in der Leber mit Hilfe der Phosphoenolpyruvatcarboxykinase erneut Glucose synthetisiert wird, die dann wieder von den Tumorzellen verbraucht wird. Im sogenannten Cori-Zyklus wird enorm viel Energie verschwendet [88, 89].

Die gesteigerte Gluconeogenese wird als Hauptursache des erhöhten Energieverbrauchs bei Tumorpatienten angesehen [53]. Die wichtigsten Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel, die man bei kachektischen Tumorpatienten beobachtet, sind eine gesteigerte Gluconeogenese, verstärkte Cori-Zyklusaktivität, Insulinresistenz und eine herabgesetzte Glucosetoleranz [55].

Fettgewebe macht bei einem gesunden Erwachsenen ca. 90% seiner Energiereserven aus [3]. Der Verlust an Körperfett ist eine markante Begleiterscheinung bei kachektischen Krebspatienten. Ein Verlust von bis zu 85% des gesamten Körperfetts kann im Verlauf der Erkrankung auftreten, wenn ein Gewichtsverlust von 30% erreicht wird [90]. Die Fetteinschmelzung ist das Resultat von drei Prozessen, die einer Veränderung unterliegen. Die Hauptursache ist eine gesteigerte lipolytische Aktivität der Hormon-Sensitiven-Lipase (HSL), die zu einer Freisetzung großer Mengen an Glycerin und Fettsäuren führt [53, 91]. Der Grund hierfür ist u.a. der Mangel an Glucose, was zu einer cAMP-abhängigen Aktivierung der HSL führt [92]. Glycerin wird in der Leber als Substrat in der Gluconeogenese genutzt. Die freien Fettsäuren dienen durch ihren Abbau in der  $\beta$ -Oxidation als Energielieferant für die Glucoseproduktion [26]. Die zweite Ursache ist eine herabgesetzte Aktivität der Lipoproteinlipase (LPL). Dieses Enzym ist verantwortlich für die Spaltung sowohl endogener, als auch exogener Triacylglycerine, die im Blut als Lipoproteine vorliegen, in Glycerin und Fettsäuren. Die Konsequenz daraus ist eine Hypertriglyceridämie, sowie eine beeinträchtigte Fettaufnahme/-speicherung im Gewebe [53]. Ein weiterer Faktor, der wahrscheinlich zur Hypertriglyceridämie beiträgt, ist die gesteigerte Lipoproteinsynthese in der Leber [93]. Der dritte Grund für die Reduktion der Fettgewebsmasse ist die herabgesetzte Lipogenese, damit Veresterung und Deposition der Fette. Einige Cytokine (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1, IFN- $\gamma$ ,) hemmen, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß, die LPL und beeinträchtigen damit die Lipogenese im Fettgewebe [94]. TNF- $\alpha$  kann laut Zhang et al. die Lipolyse in den Fettzellen des Menschen direkt stimulieren [95]. Es gibt einige Hinweise dafür, dass die erhöhte Fettsäurenmobilisation teilweise auf eine gesteigerte Aktivität der  $\beta$ -Rezeptoren zurückzuführen ist [96]. Bei Patienten mit Gewichtsverlust ist die Fettsäureoxidation gesteigert, sie haben eine erhöhte Herzfrequenz und weisen erhöhte Konzentrationen an Catecholaminen im Plasma und im Urin auf [96]. Die Behandlung mit dem spezifischen  $\beta$ -Blocker Atenolol und dem unspezifischen  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -Blocker Propranolol senkte den Ruheenergieumsatz, die Sauerstoffaufnahme und die CO<sub>2</sub>-Produktion bei diesen Patienten [58].

Die gesteigerte Fettsäuremobilisation bei kachektischen Tumorpatienten ist oftmals schon nachweisbar, bevor sich ein Gewichtsverlust eingestellt hat, was vermuten lässt, dass eine Art fettmobilisierender Faktor existieren muss [97]. Dieser vom Tumor stammende, sogenannte Lipid Mobilizing Factor (LMF) bewirkt eine Freisetzung von Fettsäuren und Glycerin aus dem Fettgewebe, in ähnlicher Weise, wie lipolytische Hormone über eine Aktivierung der intrazellulären Adenylatcyklase [98], was zu einer Aktivierung der HSL führt [99].

Stimuliert wird LMF durch den  $\beta$ 3-Adrenorezeptor, der im weißen Fettgewebe die Lipolyse und im braunen Fettgewebe die Thermogenese vermittelt [100]. Bing et al. konnten kürzlich zeigen, dass LMF nicht nur vom Tumor, sondern auch vom weißen Fettgewebe produziert wird [101].

Er weist Übereinstimmungen in der Aminosäuresequenz, bei der elektrophoretischen Aktivität und bei der Immunreaktivität, verglichen mit der humanen Plasma Protease Zn- $\alpha$ <sub>2</sub>-Glykoprotein (ZAG) auf [102]. Bing et al. haben gezeigt, dass ZAG in menschlichen Fettzellen exprimiert wird und dass dieses Glykoprotein bei kachektischen tumortragenden Mäusen vermehrt vorhanden ist [101, 103]. ZAG stimuliert den Fettgewebsabbau via cAMP-Aktivierung und sorgt für eine gesteigerte Expression der Uncoupling Proteine, was zu Änderungen im Ruheenergieumsatz führt [104, 105].

Der LMF kann ebenfalls eine vermehrte Expression der Uncoupling Proteine 1-3 in braunem Fettgewebe und des UCP-2 im Skelettmuskel und in der Leber hervorrufen [106]. Er wurde ursprünglich aus einem Kachexie-induzierenden Adenokarzinom des Kolons der Maus (MAC16) extrahiert.

Die Tumor-Kachexie ist außerdem gekennzeichnet durch den Verlust von Skelettmuskulatur, wohingegen der Nicht-Muskelproteinanteil relativ erhalten bleibt [90]. Bis zu 75% des Skelettmuskelproteins kann verloren gehen, wenn ein Gewichtsverlust von 30% erreicht ist. Die weißen, schnellen Muskelfasern sind der Hauptangriffspunkt vor den roten, langsamen Muskelfasern [107].

Bei kachektischen Tumorpatienten ist der Gesamtumsatz an Protein stark erhöht [108], wofür sowohl eine verminderte Syntheserate, ausgenommen die Synthese der APPs in der Leber, als auch eine erhöhte Abbaurrate verantwortlich sind [109].

Der Proteinabbau im Muskel resultiert in einer Freisetzung von Aminosäuren, insbesondere von Alanin und Glutamin. Alanin wird zur Gluconeogenese und Synthese von Akute-Phase-Proteinen (APP) in die Leber eingeschleust, wohingegen Glutamin vom Tumor zur Bedarfsdeckung an Energie und Stickstoff genutzt wird [110].

Die vermehrte Synthese von APP in der Leber begrenzt wiederum die Verfügbarkeit jener Aminosäuren zur Proteinsynthese im Muskel [58]. Für den Abbau von Muskelproteinen gibt es drei verschiedene Möglichkeiten.

Das lysosomale System baut phagozytierte extrazelluläre Proteine, Zelloberflächenrezeptoren und Bakterien ab [111, 112]. Lysosomen enthalten verschiedene saure Proteasen wie Kathepsin B, H und D. Der lysosomale Proteinabbau wird von Glucagon in der Leber und einem Mangel an Insulin oder essentiellen Aminosäuren beschleunigt [111]. Man nimmt an, dass dieser Abbauweg v.a. in frühen Stadien der Muskelatrophie von Bedeutung ist [99].

Die zweite Möglichkeit ist der Abbau durch eine Gruppe  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängiger zytosolischer Proteasen (Calpain I und II), die bei Gewebsverletzungen, Nekrose und Autolyse mit einbezogen werden [113].

Der überwiegende Teil des Muskelproteinabbaus erfolgt durch das Ubiquitinabhängige proteolytische System [112], dessen Funktion es u.a. ist, defekte Proteine, die aufgrund von Fehlern bei der Translation oder durch oxidativen Stress entstanden sind, abzubauen [5, 114]. Auch bei der Signaltransduktion ist dieser Vorgang von Bedeutung, da NF- $\kappa$ B erst durch Polyubiquitinierung von I $\kappa$ B frei wird und dann in den Zellkern gelangt. Dieser Abbauweg ist sehr wahrscheinlich für die gesteigerte Proteolyse verantwortlich, die bei zehrenden Zuständen wie Nahrungsentzug, Sepsis, metabolischer Azidose, akutem Diabetes, Schwerelosigkeit und Tumor-Kachexie auftritt [113].

Unter normalen Umständen wird dieser Abbauweg von Glukokortikoiden und Schilddrüsenhormonen stimuliert und von Insulin gehemmt [107]. In Modellen der Tumor-Kachexie wurde gezeigt, dass bei kataboler Stoffwechsellage mehrere Cytokine (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, Interferon  $\gamma$ ) und PIF den Proteinabbau stimulieren [115]. Trotz ihrer unterschiedlichen Herkunft und chemischen Zusammensetzung besteht die Möglichkeit, dass Cytokine und PIF einen gemeinsamen Signaltransduktionsweg nutzen, der zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B führt. Des Weiteren gibt es Anzeichen, dass Cytokine und PIF ihre gegenseitige Expression veranlassen [5]. PIF wurde sowohl im Urin kachektischer Patienten, als auch in Versuchstieren nachgewiesen. Seine Konzentration im Urin korreliert laut Cabal-Manzan und Groundwater et al. mit dem Ausmaß des Gewichtsverlustes [116, 117]. Wieland et al. hingegen konnten keinen Zusammenhang zwischen dem humanen und dem murinen PIF herstellen. Auch seine Rolle bei kachektischen Tumorkranken konnten sie nicht erklären, da es keine eindeutige Beziehung zwischen seinem Auftreten bei Tumorkranken und dem Überleben, dem Gewichtsverlust und der Skelettmuskelatrophie gab [118].

Zu Beginn werden zum Abbau bestimmte Proteine durch die kovalente Bindung an Ubiquitin, einem kleinen Protein, bestehend aus 76 Aminosäuren, markiert [107]. Ubiquitin wird von einem Enzym (E1) ATP-abhängig aktiviert. Dazu wird ATP hydrolytisch in AMP und Pyrophosphat gespalten und Ubiquitin durch eine Thioesterbindung mit der C-terminalen Carboxylgruppe des Enzyms verbunden [5]. Danach wird das aktivierte Polypeptid vom Ubiquitin-Carrier Protein (E2) an dessen Cysteinrest gebunden. Als letztes verbinden Ubiquitin-Ligasen (E3) das Ubiquitin vom E2 Thioester Zwischenprodukt entweder mit weiteren Ubiquitinmolekülen, so dass eine Polyubiquitinkette entsteht oder über eine Isopeptidbindung mit dem Zielprotein [112].

Die Polyubiquitination stellt den limitierenden Schritt der gesamten Reaktion dar und wird von zwei bestimmten Ligasen kontrolliert, Muscle RINGfinger (MuRF-1) and Muscle Atrophy F box (MAFbx), auch Atrogin-1 genannt.

Zahlreiche Studien wurden durchgeführt, um Marker für den Prozess der Atrophie zu bestimmen. Es wurde gezeigt, dass die Expression dieser beiden Gene in mehreren Modellen der Skelettmuskelatrophie deutlich erhöht ist [74, 119, 120]. Die Transkription von MAFbx/Atrogin-1 und MuRF-1 wird von FOXO (forkhead transcription factor) kontrolliert [121]. Zusätzlich wird die Transkription von MuRF-1 noch durch die Aktivierung des Nuclear Factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) gesteuert [122].

Eine weitere wichtige Rolle im Muskelabbauprozess spielt die E3 $\alpha$ -II Ligase, dessen Expression bei kataboler Stoffwechsellage ebenfalls hochreguliert ist. Es wurde nachgewiesen, dass IL-6 die vermehrte Bildung des Enzyms induziert [123].

Sind die Proteine durch Polyubiquitinketten markiert, werden sie vom zylinderförmigen 26S Proteasomen in Oligopeptide zerlegt. Das 26S Proteasomen ist ein langer, aus mehreren Untereinheiten zusammengesetzter proteolytischer Komplex, bestehend aus einem katalytischen Kern (20S Proteasomen) und zwei endständigen, regulatorisch wirksamen Untereinheiten (19S Komplex). Letztere vermitteln die Bindung und Entfaltung des Proteins, bevor es in den Kern gelangt [58]. Der Kern enthält proteolytische Enzyme, die den inneren Hohlraum des Zylinders auskleiden. Diese zeichnen sich durch drei spezifische proteolytische Eigenschaften aus: Chymotrypsin-ähnliche Eigenschaften (die Spaltung erfolgt vorzugsweise hinter langen hydrophoben Resten), Trypsin-ähnlichen Eigenschaften (Spaltung erfolgt hinter basischen Resten) und Kaspase-ähnlichen Eigenschaften (Spaltung erfolgt nach sauren Resten) [5, 124]. Die hierbei freigesetzten Oligopeptide, bestehend aus sechs bis neun Aminosäureresten, werden von der Tripeptidylpeptidase II zu Tripeptiden abgebaut und letztlich von Aminopeptidasen in einzelne Aminosäuren zerlegt [115]. Diese gelangen zur Leber, wo sie zur Synthese von Glucose genutzt werden und die Bildung von Akute Phase Proteinen auf Kosten der Muskelproteine stimulieren [78].

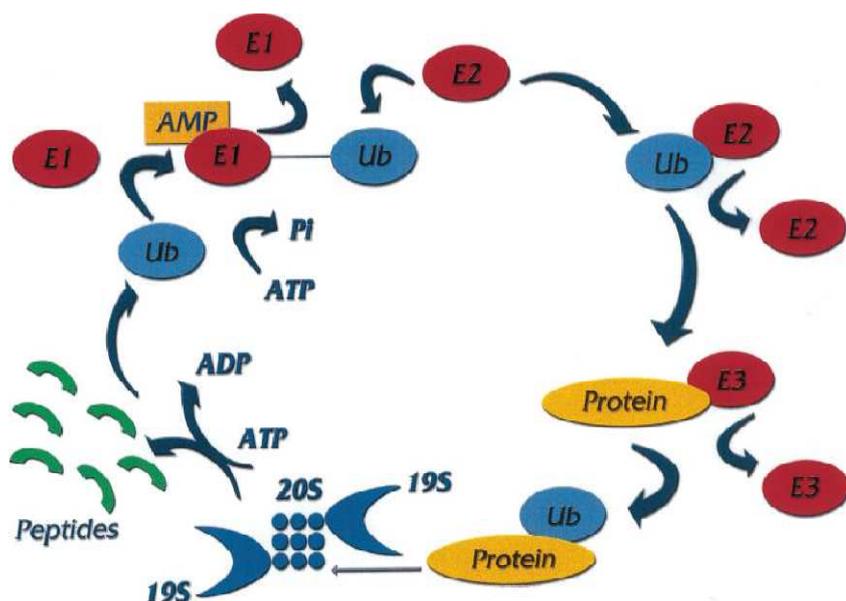


Abb. 1.1: Darstellung des Ubiquitinabhängigen-proteolytischen Systems. E1-Ubiquitin-aktivierendes Enzym, E2-Ubiquitin-konjugierendes Enzym, E3-Ubiquitinligasen.

### 1.2.3 Therapie

Wie bereits erwähnt, ist die Anorexie ein wichtiger Faktor in der Entwicklung der Kachexie. Dennoch kann eine komplett parenterale Ernährung den Gewichtsverlust nicht aufhalten [125]. Metabolische Störungen (erhöhte Energieineffizienz, Insulinresistenz, Störungen im Kohlenhydratstoffwechsel, Einschmelzung des Fettgewebes, Hypertriglyceridämie und Muskelschwund) sind demzufolge definitiv an der Ausbildung der Kachexie beteiligt. Über eine Art positiven Feedback-Mechanismus, der die Anorexie einschließt, erhält sich die Kachexie selbst aufrecht und verschärft sich zunehmend, was üblicherweise zum Tode führt. Die Entwicklung verschiedener therapeutischer Strategien konzentriert sich also auf diese zwei Faktoren- Anorexie und metabolische Störungen [52].

Progesteronderivate wie Megestrolacetat (MA) und Medroxyprogesteron (MPA) waren die ersten Mittel bei der Therapie der Tumor-Anorexie/-Kachexie [55], sind aber derzeit in Deutschland nicht zugelassen. Mehrere klinische Studien belegen, dass diese Verbindungen den Appetit und die Kalorienaufnahme steigern und den Ernährungszustand verbessern [126-128], wobei die Wirkung nur von kurzer Dauer sein soll und erhebliche Komplikationen auftreten können, wie z.B.: Thromboembolien, Myopathien, Stimmungsschwankungen, Insulinresistenz, Schmierblutungen, sexuelle Funktionsstörungen usw. [74, 129].

Einige Studien belegen, dass Corticosteroide wie Dexamethason, Prednisolon und Methylprednisolon, eine vorübergehende Wirkung auf den Appetit, die Nahrungsaufnahme, das Wohlbefinden und die Leistungsfähigkeit haben, wobei keine dieser Studien einen positiven Effekt auf das Körpergewicht nachweisen konnten [130-134]. In Anbetracht der zahlreichen, wohlbekannteten Nebenwirkungen (Immunsuppression, Magen-Darm-Ulzera, Hautatrophie, diabetogene Wirkung, Natriumretention mit Ödembildung, Hypertonie usw.), sollten Corticosteroide bei Patienten angewandt werden, die sich im Endstadium der Tumorerkrankung befinden, um deren Lebensqualität zu erhöhen, ohne einen Einfluss auf das Körpergewicht auszuüben [55].

Cannabinoide haben die Fähigkeit, den Appetit zu stimulieren. Sie kommen in Marijuana und seinen Derivaten vor und sind in Deutschland nicht zugelassen. Dronabinol ( $\Delta$ -9-Tetrahydrocannabinol, THC) wurde zunächst als Antiemetikum bei Tumorpatienten eingesetzt. Aufgrund beträchtlicher Nebenwirkungen wie Schwindel, Euphorie, Wahrnehmungsstörungen [55] sowie Beeinflussung der Herzfunktion existiert ein Bedarf an kontrollierten Untersuchungen dieses Wirkstoffs bei Tumorpatienten, um dessen Wirksamkeit und Nutzen zu bestimmen [3].

Die künstliche Ernährung wird häufig eingesetzt, um die krankheitsbedingte Mangelernährung zu mildern. Allerdings bewirkt diese therapeutische Maßnahme keinen Zuwachs an fettfreier Körpermasse [135]. Die Art der Verabreichung hängt vom klinischen Zustand des Patienten ab. Ist der Darm unbeeinträchtigt, so ist die enterale Ernährung vorzuziehen. Sie hat weniger Nebenwirkungen, ist kostengünstiger und trägt zur Aufrechterhaltung der Barrierefunktion des Darms bei [136].

Die totale parenterale Ernährung ist die Standardbehandlung bei Patienten, die aufgrund mechanischer Behinderung des Verdauungstraktes, nicht in der Lage sind, Nahrung aufzunehmen bzw. die die Nährstoffe nicht absorbieren können [137].

## **1.2.4 In der Entwicklung befindliche Pharmaka und Therapieansätze**

NSAIDs werden bei Krebspatienten häufig zur Behandlung von Fieber und Schmerzen eingesetzt. Die herkömmlichen NSAIDs hemmen sowohl COX-2, als auch COX-1, wodurch es zu Nebenwirkungen, wie beispielsweise Schädigung des Verdauungstraktes bis hin zur Ulzeration, verminderter Appetit und infolgedessen Gewichtsverlust kommen kann. Es existieren selektive COX-2-Hemmer wie Celecoxib und Rofecoxib, die fast keine gastrointestinale Toxizität besitzen, aber eine hohe entzündungshemmende Aktivität, die in Zukunft möglicherweise eine therapeutische Alternative zu den konventionellen NSAIDs darstellen [55].

Interessant wurden die mehrfach ungesättigten n-3 Fettsäuren, als man bei einigen Bevölkerungsgruppen, die eine bestimmte Ernährungsweise (reich an n-3 Fettsäuren) pflegten entdeckte, dass bestimmte Tumorerkrankungen selten auftraten [52]. Omega-3 Fettsäuren hemmen die Produktion von IL-1- und TNF- $\alpha$  durch eine Blockade der COX- und Lipooxygenase [55]. Außerdem soll Eicosapentaensäure den katabolischen Mediatoren LMF und PIF entgegenwirken [138-140].

In Studien, in denen ein mit n-3 Fettsäuren angereichertes, energie- und eiweißreiches orales Präparat zur Anwendung kam, hat man Gewichtszunahmen, Zunahmen der fettfreien Masse, gesteigerte körperliche Aktivität und verbesserte Lebensqualität beobachtet [77, 141]. Der Einsatz der Omega-3 Fettsäuren wird begrenzt durch die schlechte Compliance der Patienten bei andauernder Nahrungsergänzung [129]. Ghrelin ist ein Hormon, produziert in den Zellen des Magens, das die Ausschüttung von Wachstumshormon (Growth Hormone) stimuliert und den Appetit anregt. Bei anorektisch-kachektischen Tumorpatienten kann Ghrelin sowohl die Nahrungsaufnahme steigern, als auch die Verwertung der Nährstoffe fördern, wodurch Muskelmasse erhalten bleibt. Es ist allerdings Vorsicht geboten, bei der Anwendung von Ghrelin, da die vermehrte Growth Hormone Bildung evtl. das Tumorstadium anregt. Allerdings gibt es noch keine Langzeitstudien zur Applikation beim Menschen, die diese These stützen [129].

Aufgrund der Tatsache, dass Anorexie u.a. mit einer gesteigerten serotonergen Aktivität im Hirn einhergeht [142, 143], hat man versucht, die Serotoninaktivität zu blockieren. Cyproheptadine ist ein Serotoninantagonist mit antihistaminischen Eigenschaften, der normalerweise zur Behandlung von Allergien eingesetzt wird [52]. In dieser Placebo-kontrollierten klinischen Studie, führte Cyproheptadine nur zu einer schwachen Steigerung des Appetits, ohne wesentliche Effekte auf das Gewicht zu haben [144]. Thalidomid erlangte ursprünglich aufgrund seiner sedativen Wirkung klinische Bedeutung und wurde in den sechziger Jahren wegen seiner teratogenen Eigenschaften zurückgezogen [55]. Thalidomid hat außerdem komplexe immunmodulatorische und antiinflammatorische Eigenschaften [145-147]. Bruera et al. berichteten, dass Thalidomid einen positiven Einfluss auf Schlafstörungen, Unruhe, Übelkeit und den verminderten Appetit bei Krebspatienten im fortgeschrittenen Stadium hat, was bei bis zu zwei Drittel der Patienten zu einem gesteigerten Wohlbefinden geführt hat [145]. Neben den antikachektischen Eigenschaften scheint Thalidomid auch aufgrund seiner Fähigkeit die Neoangiogenese zu hemmen, in der Lage zu sein, das Tumorstadium zu hemmen [148].

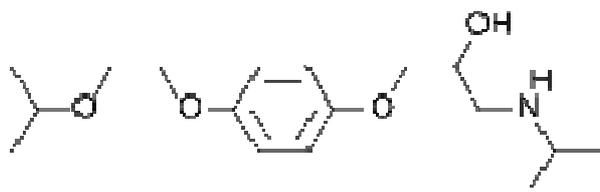
Allerdings erschwert der milde sedative Effekt von Thalidomid die Tarnung des Medikaments in Placebokontrollierten Studien [149].

## 1.3 Bisoprolol

Im sympathischen System existieren drei adrenerge Rezeptoren-  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - und  $\alpha_1$ -Rezeptoren [150].  $\beta_1$ -Rezeptoren kommen in erster Linie im Herzen vor.  $\beta_2$ -Rezeptoren befinden sich nicht nur im Herzen, sondern auch in der glatten Muskulatur peripherer Gefäße, der Bronchien sowie im Uterus [151]. Ihre Stimulation führt zu einer erhöhten Kontraktilität des Herzmuskels [152]. Beide Rezeptortypen sind über das stimulierende G-Protein ( $G_s$ ) mit der Adenylatcyclase gekoppelt, die MgATP zu cAMP umwandelt. cAMP ist ein positiv inotrop und chronotrop wirkender second messenger, der zudem wachstumsfördernde Eigenschaften besitzt [150]. Zu den Agonisten des  $\beta$ -Rezeptors gehören beispielsweise die Catecholamine Epinephrin (Adrenalin) und Norepinephrin (Noradrenalin). Die Aktivierung der  $\beta$ -Rezeptoren durch Catecholamine, speziell durch Noradrenalin, führt zur Stimulation der Hormon-sensitiven Lipase. Die daraus resultierende Steigerung der Lipolyse kann den Abbau von Fettmasse zur Folge haben [153].  $\beta$ -Blocker hemmen kompetitiv die Bindung von Catecholaminen am adrenergen Rezeptor [152].

Bisoprolol gehört zu den  $\beta$ -Blockern der zweiten Generation [154] und ist ausgesprochen selektiv. Er bindet an den  $\beta_1$ -Rezeptor mit einer etwa 120fach größeren Selektivität als an den  $\beta_2$ -Rezeptor. Mit steigenden Dosen (>20 mg) jedoch, bindet Bisoprolol auch am  $\beta_2$ -Rezeptor [152]. Bisoprolol besitzt weder partiell agonistische (intrinsisch sympathomimetisch, ISA) Aktivität, noch membranstabilisierende (lokalanästhetische) Aktivität [155]. Die chirale Verbindung kommt als Racemat zum Einsatz, wenngleich nur das L-Isomer am Rezeptor aktiv ist [151]. Die orale Bioverfügbarkeit ist mit rund 90% hoch [155]. Bisoprolol wird rasch und nahezu vollständig im Verdauungstrakt resorbiert. Die Elimination erfolgt gleichmäßig über Niere und Leber, mit einem deutlichen First-Pass Effekt [152]. Aufgrund der langen Eliminationshalbwertszeit kann die Gabe des Medikaments ein Mal pro Tag erfolgen [155]. Bisoprolol wird zur Therapie der Hypertonie, der koronaren Herzkrankheit (Angina pectoris) und der Herzinsuffizienz angewendet [152]. Bisoprolol hemmt kompetitiv die Aktivität von Catecholaminen und anderen Sympathomimetika am  $\beta$ -adrenergen Rezeptor. Das Herzauswurfvolumen wird gesenkt, aber der periphere Gefäßwiderstand erfährt keine signifikante Veränderung.

Der maximale blutdrucksenkende Effekt ist bereits innerhalb der ersten sieben Tage der Therapie zu beobachten [151].



**Abb. 1.2: Strukturformel von Bisoprolol**

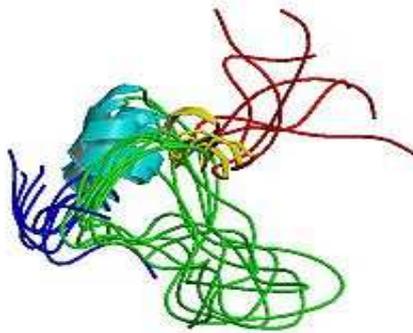
Der positive Einfluss von Bisoprolol auf die Mortalität der Patienten zeigte sich in zwei randomisierten, placebokontrollierten, multizentrischen Doppelblindstudien, den sogenannten Cardiac Insufficiency Bisoprolol Studies I und II (CIBIS I, II). Die 1. Bisoprololstudie (CIBIS I) [156] umfasste 641 Patienten der NYHA Class III oder IV (New York Heart Association-Klassifikation) mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion von weniger als 40%. Die Patienten erhielten zusätzlich Diuretika und ACE-Hemmer. Die Studie hatte einen mittleren follow-up von 1,9 Jahren.

Die beobachteten Unterschiede bezüglich der Mortalität in den Gruppen zeigte allerdings keine statistische Signifikanz. Viele Patienten, die Bisoprolol erhielten, konnten dennoch im Vergleich zu denen, die Placebo bekamen, ihren Zustand bezüglich der Herzfunktion verbessern. Die darauf folgende 2. Bisoprololstudie schloss 2647 Patienten mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion von weniger als 35% ein. CIBIS II hatte einen mittleren follow-up von 1,3 Jahren. Der Versuch wurde vorzeitig beendet, als ein deutlicher Rückgang der Gesamtmortalität von 32% zu sehen war [157].

Im allgemeinen wird Bisoprolol von den Patienten gut toleriert [158]. Zu den Nebenwirkungen, die unter dem Einsatz von Bisoprolol auftreten können, gehören Blutdruckabfall, Senkung des Pulses, Müdigkeit, Teilnahmslosigkeit, Depression, Schlafstörungen, Halluzinationen, Bronchospasmus, Bradykardie, Raynaud-Phänomen (kalte Extremitäten bzw. Akren) und funktionelle Sexualstörungen [152]. Weitere Nebenwirkungen sind die metabolischen Effekte hinsichtlich des Fettstoffwechsels, der Insulinempfindlichkeit und der Gewichtszunahme [159]. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass während der Behandlung mit  $\beta$ -Blockern der Gesamtenergieumsatz um 4 bis 9% gesenkt sein kann [159]. Mögliche Mechanismen für die Verringerung des Gesamtenergieumsatzes sind beispielsweise die Senkung des Ruheenergieumsatzes, eine verminderte nahrungsinduzierte Thermogenese oder schnellere Ermüdbarkeit.

Der Gesamtenergieumsatz kann auch indirekt beeinflusst werden. Unter dem Einsatz von  $\beta$ -Blockern tritt beispielsweise das Gefühl der Müdigkeit in den Vordergrund [159]. Außerdem wird durch  $\beta$ -Blocker die Lipolyse gehemmt [160], was zu einer Zunahme der gesamten Körperfettmasse und des gesamten Körperfettgehalts führen kann. Allerdings scheinen relativ hohe Dosierungen nötig zu sein, um Effekte auf die Körperzusammensetzung zu bewirken [161]. Es wurde weiterhin gezeigt, dass  $\beta$ -Blocker die LPS-induzierte TNF- $\alpha$  Expression hemmt, welche zum Katabolismus der Kachexie beiträgt [162].

## 1.4 Insulin-like growth factor (IGF-1)



**Abb. 1.3: Insulin-like growth factor (Somatomedin C)**

IGF-1 wurde ursprünglich 1957 von Salmon und Daughaday als sogenanntes „Somatomedin“ (Vermittler der Wirkung von Growth Hormone) identifiziert [163]. Erstmals isoliert und beschrieben haben es Rinderknecht und Humbel im Jahre 1978 [164]. Das aus 70 Aminosäuren bestehende Polypeptid mit einer Größe von ca. 7,5 kD zeigt eine hohe Sequenzhomologie zu Insulin [165]. Es besteht aus vier Peptidomänen: einer A- (21 Aminosäuren), einer B- (29 AS), einer C- (12 AS) und einer D- (8 AS) Kette [165].

Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu Insulin, ist IGF-1 in der Lage, mit geringer Affinität an den Insulinrezeptor zu binden [166]. Die Bildung des Proteohormons wird durch das Growth Hormone (GH) reguliert, dessen endokrine und parakrine Wirkungen wiederum teilweise von IGF-1 vermittelt werden [167].

Die GH-Ausschüttung wird durch das Gleichgewicht des hypothalamischen Releasing Hormons (GHRH) und der hemmenden Effekte von Somatostatin [9], sowie Ghrelin bestimmt.

Eine Reihe anderer Faktoren bestimmen ebenfalls das Ausmaß der Produktion und Aktivität von IGF-1, wie z.B. Insulin, die Ernährung oder die Bindungsproteine (IGFBPs) [167]. IGF-1 wiederum unterdrückt die Ausschüttung von GH und Insulin [168]. Die Physiologie von IGF-1 ist sehr komplex, weil es nicht nur als Hormon, sondern auch als lokaler Wachstumsfaktor fungiert. IGF-1 wird in großen Mengen in der Leber produziert, gelangt ins Blut und beeinflusst so als Hormon andere Gewebe [169]. Es wird zudem in den meisten Geweben gebildet und wirkt hier als auto- bzw. parakriner lokaler Wachstumsfaktor [166]. Der Hauptanteil des im Blut zirkulierenden IGF-1 stammt jedoch aus der Leber. Die IGF-1 produzierenden Gewebe enthalten GH-Rezeptoren. Steigt die hypophysäre GH-Ausschüttung, wird die IGF-1 Synthese stimuliert. Experimentelle Studien an Mäusen haben gezeigt, dass wenn die hepatische IGF-1 Synthese selektiv ausgeschaltet wird, zwar der Gehalt an IGF-1 im Blut rapide absinkt, das Wachstum dadurch aber nur geringfügig beeinträchtigt wird [170]. Das bedeutet, dass das aus der Peripherie stammende IGF-1 der bestimmende Faktor des Körperwachstums ist, wohingegen die hepatische Produktion in erster Linie die Konzentration an IGF-1 im Plasma bestimmt [171].

Auch Nahrungsentzug kann die IGF-1 Synthese beeinflussen. Nach fünftägigem Fasten beispielsweise, ist die Leber relativ unempfindlich gegenüber der Stimulation durch GH, woraus ein Abfall der IGF-1 Plasmaspiegel von 50% resultiert [172]. Mit der Wiederaufnahme von Nahrung, stellt sich die Empfindlichkeit gegenüber GH binnen 72 Stunden wieder ein.

Hormone wie Thyroxin, Cortisol, Östradiol und Testosteron sind zusammen mit GH ebenfalls an der Regulation der hepatischen Synthese von IGF-1 beteiligt [173]. Thyroxin steigert die Empfindlichkeit gegenüber GH. Cortisol dagegen hemmt die IGF-1 Synthese, was bei erhöhten Cortisolkonzentrationen zu einer Verminderung des Wachstums führen kann. Östradiol hemmt die IGF-1 Synthese in der Leber via SOCS3 (Suppressor of cytokine signalling 3), wodurch die durch GH stimulierte Signaltransduktion inhibiert wird [174]. Testosteron erhöht nicht nur die IGF-1 Produktion in der Leber, sondern verändert auch die Empfindlichkeit der Hypophyse gegenüber der negativen-Feedbackreaktion auf die GH-Sekretion, woraus eine Steigerung der GH- und IGF-1 Konzentration resultiert [175].

Die Effekte von IGF-1 werden hauptsächlich durch die Aktivierung des IGF-1 Rezeptors, aber auch des Insulinrezeptors vermittelt [166].

Der IGF-1 Rezeptor ist ein auf Zelloberflächen vorkommendes Glykoprotein, bestehend aus zwei extrazellulär gelegenen  $\alpha$ -Untereinheiten und zwei transmembranen  $\beta$ -Untereinheiten (Heterotetramer). Die  $\alpha$ -Untereinheiten sind über Disulfidbrücken miteinander verknüpft und für die Bindung des Liganden zuständig.

Die  $\beta$ -Untereinheiten bestehen aus einer kurzen extrazellulären, einer transmembranen und einer intrazellulären Domäne. Letztere besitzt Tyrosinkinaseaktivität für die Signaltransduktionskaskade. Ähnlich wie beim Insulinrezeptor erfolgt die Rezeptoraktivierung durch Autophosphorylierung [166]. Nachfolgend kommt es zu einer Rekrutierung von IRS-/SHC-Proteinen (Insulin-Rezeptor-Substrat, Src-Homologie/Kollagen) an den IGF-1 Rezeptor mit anschließender Phosphorylierung von deren Tyrosinresten. Diese dienen dann als Bindungsstellen für Enzyme wie die Phosphatidylinositol-3 Kinase (PI3K) und Growth factor receptor bound protein 2 (Grb2), wobei die PI3K auch direkt an die phosphorylierten Tyrosinreste des IGF-1 Rezeptors binden kann. Durch die Bindung werden wiederum weitere Signaltransduktionskaskaden via mitogen activated protein kinase (MAPK) system, serine/threonine protein kinase B (PKB oder AKT), mammalian target of rapamycin (mTOR) system oder serine/threonine kinase (RAF) ausgelöst, die die zellulären Effekte des Rezeptors vermitteln. Dazu zählen die Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Migration und der Schutz vor Apoptose [165, 166].

Zur Familie der IGF-Bindungsproteine gehören sechs Transportproteine, die durch GH reguliert werden und die die Funktion von IGF modulieren können [171, 176]. Sie transportieren IGF-1 aus der Zirkulation zu den Zielgeweben [169]. Die IGFBPs zeichnen sich zudem auch durch IGF-1 unabhängige Wirkungen, wie die Bindung an Membranrezeptoren oder die extrazelluläre Matrix aus [176]. Die Bindungsproteine sind sowohl in der Lage, die Wirkung von IGF-1 zu hemmen, als auch zu verstärken. Zum einen haben die IGFBPs eine größere Affinität zu IGF-1 als der Rezeptor selbst, was die Bindung und damit Vermittlung IGF-1 abhängiger Wirkungen inhibiert. Zum anderen kann IGF-1 durch die Interaktion mit den IGFBPs vor einem proteolytischen Abbau bewahrt werden, was seine lokale Verfügbarkeit erhöht und wiederum die IGF-1 abhängigen Effekte verstärkt [177]. Erweitert wird das komplexe System aus IGF-1, den Rezeptoren und den Bindungsproteinen durch die Existenz spezifischer Proteasen. Diese greifen durch proteolytische Degradation der IGFBPs regulatorisch in das Zusammenspiel von IGF-1 und IGFBPs ein [178]. Sie spalten IGFBPs in Fragmente mit geringerer Bindungsaffinität, wobei IGF-1 freigesetzt wird und vom IGF-1 Rezeptor gebunden werden kann [179].

IGFBP-3 kommt von allen IGFBPs die größte Bedeutung zu. Es transportiert ca. 75 bis 80% des gesamten, in gebundener Form vorliegenden IGF-1 [175].

Das Glykoprotein bildet einen hochmolekularen, aus drei Teilen zusammengesetzten Komplex mit einem IGF-Molekül und einer säurelabilen Untereinheit (ALS).

Die Halbwertszeit von IGF-1 in gebundener Form beträgt zwischen sieben und zwanzig Stunden. Ungebunden und damit in seiner aktiven Form liegt IGF-1 nur zu 0,4 bis 2 % im Plasma vor. Die Halbwertszeit des freien IGF-1 beläuft sich auf etwa 15 Minuten [180]. Zudem spielt auch IGFBP-1, das allerdings von Insulin reguliert wird, eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Aktivität von IGF-1 [171].

Die IGF-1 Spiegel verändern sich im Laufe der Entwicklung und des Älterwerdens, sowie entsprechend der jeweiligen physiologischen bzw. pathologischen Umstände [181-183]. Die IGF-1 Konzentrationen fallen innerhalb der ersten sechs Monate nach der Geburt und steigen während der Kindheit, in Korrelation zur Wachstumsgeschwindigkeit, wieder langsam an. Nach der Pubertät nehmen sie konstant ab [184-187]. Möglicherweise existieren auch tages- und jahreszeitlich bedingte Veränderungen der IGF-1 Konzentrationen, was bislang umstritten ist, da diesbezüglich erzielte Studienergebnisse uneinheitlich sind [181].

Fasten oder anhaltende Mangelernährung führt zu einer Abnahme der Anzahl hepatischer GH-Rezeptoren [188] und zu einer Zunahme der IGFBPs [189]. Die daraus resultierende Abnahme der Bioaktivität von IGF-1, stimuliert via positiven Feedback-Mechanismus, die hypophysäre GH-Ausschüttung [190], wodurch sich, bei anhaltender Nahrungskarenz, die basalen GH-Konzentrationen erhöhen. Diese Veränderungen könnten als Signal für eine gesteigerte Lipolyse und Ketogenese gelten. Somit erhöhen sich die GH-Konzentrationen und die IGF-1 Spiegel fallen während chronischer Mangelernährung, bei anhaltendem Fasten oder bei Typ 1 Diabetes mellitus ab [191, 192].

IGF-1 hat viele Wirkungen auf fast alle Systeme des Körpers [182]. Erste Beweise für die wachstumsfördernden Eigenschaften von IGF-1 lieferten Studien, in denen man Ratten das aufbereitete Hormon verabreichte, nachdem ihnen die Hypophyse entfernt wurde [193, 194]. IGF-1 spielt außerdem eine wichtige Rolle beim embryonalen und postnatalen Wachstum [169]. Dies wurde in einer Reihe von Studien an Knockout-Mäusen dargestellt. Mäuse, denen das GH- und GH-Rezeptor Gen fehlte, hatten relativ normale Größen bei der Geburt, was zeigt, dass IGF-1 GH-unabhängige Wirkungen hinsichtlich des embryonalen Wachstums hat. IGF-1 und IGF-1 Rezeptor Knockout-Mäuse dagegen waren bei der Geburt kleiner [182].

Charakteristisch für IGF-1 sind die anabolen Eigenschaften. Die Wirkungen von IGF-1 Infusionen bei gesunden Menschen sind vergleichbar mit denen, die man bei Ratten beobachtet hat [171].

Eine verstärkte Glucoseaufnahme in die Zellen, eine verminderte Glucoseproduktion in der Leber oder beides führen zu einer Hypoglycämie [195]. Auf die Konzentration der freien Fettsäuren hat IGF-1 bei Ratten keine Effekte [196]. Bei gesunden Personen kommt es zu einer geringfügigen Abnahme der Konzentrationen an freien Fettsäuren und Triglyceriden [197]. Auch der Proteinabbau wird durch IGF-1 gehemmt [197]. IGF-1 ist außerdem in der Lage eine Skelettmuskelhypertrophie zu induzieren [198].

Die Proteinsynthese im Muskel wird durch den PI3K/Akt Signaltransduktionsweg stimuliert. Die Phosphorylierung von Akt treibt die Aktivierung verschiedener nachgeschalteter Signaltransduktionskaskaden voran. Dazu gehört im wesentlichen mTOR, der die Proteinsynthese durch Modulation von mindestens zwei verschiedenen Pfaden steigert, der 70-kDa ribosomal protein S6 kinase (p70S6K) und PHAS-1/4E-BP1 [198, 199]. Außerdem wird die Aktivität der Glycogen Synthase Kinase 3 (GSK3) inhibiert. Normalerweise hemmt GSK3 den Faktor (eIF2B), der die Translation einleitet.

Somit wird durch die Blockade der GSK3 die Initiation der Translation und damit die Proteinsynthese vorangetrieben, woraus eine Hypertrophie resultieren kann [200]. Gleichzeitig inhibiert IGF-1 die Skelettmuskelatrophie. Zum einen wird durch die PI3K/Akt Stimulation die FOXO Familie der Transkriptionsfaktoren und damit die vermehrte Expression von MAFbx und MuRF1 gehemmt. Eine weitere Möglichkeit ist, dass auf der Ebene von mTOR die erhöhte Expression von MuRF1 und MAFbx geblockt wird [198].

Die insulinähnlichen Effekte von IGF-1 sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf die enge strukturelle Verwandtschaft des IGF-1 Moleküls mit dem Proinsulin- und Insulinmolekül zurück zu führen [201]. Auch der Insulin- und IGF-1 Rezeptor sind in ihrer Struktur sehr ähnlich [202, 203]. Die strukturelle Verwandtschaft der beiden Rezeptoren hat zur Folge, dass durch die Zusammenlagerung ihrer Untereinheiten (Heterodimerisation), ein IGF-1/Insulin Hybridrezeptor entsteht [204], an den IGF-1 mit hoher Affinität binden kann.

Die insulinähnliche Wirkung wird nicht nur vom Insulinrezeptor, sondern teilweise auch vom eigenen Typ 1 IGF-1 Rezeptor vermittelt. Dies wurde in einer Studie an Mäusen gezeigt, denen das Gen für den Insulinrezeptor fehlte und bei denen trotzdem ein Glucoseabfall im Blut zu beobachten war [205]. Des Weiteren führte die IGF-1 Applikation in IGF-1 defizienten Zuständen, wie z.B. Fehlen des IGF-1 Gens oder Typ 1 Diabetes mellitus, bei denen häufig eine Insulinresistenz beobachtet wird, zu einer Verbesserung der Insulinempfindlichkeit [192].

Dem Anschein nach, übt IGF-1 seine insulinähnlichen Effekte mit unterschiedlicher Kapazität in den jeweiligen Geweben aus.

Die Skelettmuskulatur ist ein festes Zielgewebe von Insulin und damit empfindlich gegenüber den insulinähnlichen Aktivitäten von IGF-1. Die reifen Fettzellen und die Leber hingegen sind weniger empfindlich gegenüber IGF-1, was auf den Mangel an IGF-1 Rezeptoren zurück zu führen ist [191].

Die Biosynthese des rekombinanten humanen IGF-1 (Somatomedin-1) im Jahre 1986 ermöglichte den Beginn klinischer Studien mit rhIGF-1 [206]. In vivo Versuche dienten zur Überprüfung der Annahmen, dass IGF-1 das Wachstum stimuliert und insulinähnliche Eigenschaften aufweist, wie die Aktivierung der Proteinsynthese und den Glucosetransport [207].

Aufgrund seiner anabolen und insulinähnlichen Eigenschaften, wurden und werden Strategien zur Behandlung der Kleinwüchsigkeit (in den USA zugelassen), kataboler Stoffwechsellagen und zur Kontrolle der Blutglucose bei Diabetes mellitus verfolgt [175]. Im Jahre 2005 hat die Arzneimittelzulassungsbehörde der Vereinigten Staaten von Amerika (Food and Drug Administration, FDA) IGF-1 zur Behandlung der Primären IGF-1 Defizienz freigegeben. RhIGF-1 wurde umfangreich bei der Behandlung des GH insensitivity syndrome (GHIS) genutzt (siehe „Clinical Experience with IGF-1 Therapy“). Bei diesen Patienten erwiesen sich Dosen, die im Bereich von 60 bis 120 µg/kg zweimal pro Tag verabreicht wurden, als effektiv, was sich in einer erhöhten Wachstumsgeschwindigkeit äußerte [208].

Bei der systemischen Behandlung mit IGF-1 gibt es jedoch einige, nicht unerhebliche Hindernisse, wie die Kosten, Probleme bei der Dosierung und Verabreichung, Nebenwirkungen und ein möglicherweise erhöhtes Risiko zur Malignität [209]. Zu den möglichen Nebenwirkungen, die in klinischen Studien beobachtet wurden, gehören Ödeme, Arthralgien, temporo-mandibulärer Gelenkschmerz und/oder Kopfschmerzen, Bell-Lähmung (einseitige periphere Fascialislähmung), Ödeme der Nerven scheide des Sehnervs sowie Schmerzen an der Injektionsstelle [209, 210]. Hypoglycämie trat bei einigen Patienten auf, was den IGF-1 Einsatz bei Kindern mit GHIS (GH insensitivity syndrome), die sowieso einen niedrigen Blutglucosespiegel haben, riskant macht [211]. Die Hypoglycämie ging in seltenen Fällen auch mit Konvulsionen einher [212]. In der Regel verschwand das Problem, wenn die IGF-1 Injektionen nach den Mahlzeiten vorgenommen wurden. In einer anderen Studie mit GHIS-Patienten kam es zu einer deutlichen Zunahme der Fettmasse und des Body Mass Index (BMI) [213]. Viele Patienten klagten außerdem über erhebliche Beschwerden infolge der Hyperplasie des Lymphgewebes, was in einigen Fällen die Entfernung der Tonsillen erforderlich machte. Auch die Größe der Milz nahm in den ersten 2 Jahren der Behandlung rasch zu. Die Nebenwirkungen sind scheinbar auf die hohen Dosierungen zurück zu führen [209].

Aufgrund möglicher dosisabhängiger Nebenwirkungen im Zusammenhang mit der alleinigen Verabreichung von IGF-1, war es notwendig, Alternativen zu finden. Der kürzlich entwickelte IGF-1/IGFBP-3 Komplex (SomatoKine®) ist nicht nur in der Lage, das Auftreten dosisabhängiger Nebenwirkungen zu vermeiden, sondern auch die Wirkungen von IGF-1 zu verbessern [191]. Pharmakokinetische Studien bei Patienten mit Diabetes mellitus oder GHIS haben gezeigt, dass der rhIGF-1/IGFBP-3 Komplex aufgrund der verlängerten Halbwertszeit, die Einstellung eines höheren und beständigen IGF-1-Serumspiegels ermöglicht, wodurch sich die Applikationsfrequenz verringert [210]. IGF-1 wird durch den ternären Komplex stabilisiert, seine Clearance ist reduziert und auch die IGF-1-Konzentration im Gewebe erhöht sich [9].

Mehrere epidemiologische Studien der letzten fünf Jahre verdeutlichen einen Zusammenhang zwischen erhöhten IGF-1 Konzentrationen im Blut und dem erhöhten Risiko verschiedener Krebserkrankungen. Sicherlich ist das kein Beweis für einen kausalen Zusammenhang [179], aber es wird angenommen, dass die Familie der IGF-Peptide (IGF-1, Rezeptoren, IGFBPs und Proteasen) eine wichtige Rolle als Mitogene bei einer Vielzahl von Tumoren spielen. Da ihre Aktivitäten eng miteinander verknüpft sind, kann jegliche Deregulation ihres Zusammenspiels zu pathologischen Zuständen führen, wobei v.a. die Tumorentstehung und -entwicklung von Bedeutung ist. In diesem Zusammenhang wird IGF-1 von den Tumorzellen vermehrt gebildet und regt auf autokrinem Weg, durch die Bindung und Stimulation der Aktivität des IGF-1 Rezeptors, die Teilung bösartiger Zellen an. Es existieren in vitro, in vivo sowie klinische Studien, die diese Annahme bestätigen [165, 176, 214, 215]. Zudem wiesen Pavelic et al. nach, dass IGFs bei vielen experimentell ausgelösten, aber auch klinischen Tumorerkrankungen vermehrt auftreten [165]. Auch andere klinische Studien belegen die Verbindung zwischen den IGF-1- sowie IGFBP-3-Spiegeln im Serum und dem erhöhten Risiko von Brust-, Prostata-, Lungenkrebs und tumorösen Erkrankungen des Kolorektums [216]. Allerdings scheint der vorherrschende Faktor von den IGFs bei der Tumorentstehung der IGF-1 Rezeptor zu sein. Seine vermehrte Expression könnte die Tumorentwicklung auch bei normalen IGF-1-Spiegeln durch einen autokrinen Mechanismus vorantreiben. Das gehäufte Auftreten von IGF-1 Rezeptoren im Zusammenhang mit tumorösen Erkrankungen wurde sowohl in experimentellen, als auch in klinischen Studien nachgewiesen [217]. Die Signalwirkung durch IGF-1 könnte in jeder Phase der Tumorentwicklung mitbeteiligt sein. Dazu zählen die bösartige Umwandlung, das Tumorwachstum, der lokale Einbruch, die Fernmetastasierung und die Therapieresistenz.

Zusätzlich könnte IGF-1 die Tumorentstehung auch indirekt vorantreiben- durch Wechselwirkungen mit Onkogenen und Tumor Suppressor Genen, anderen Hormonen (insbesondere Sexualsteroiden bei Brust- und Prostatakrebs) und mit den IGFBPs.

Es gibt einige Thesen, die den Zusammenhang zwischen erhöhten IGF-1 Konzentrationen und Tumorerkrankungen, die in einigen Untersuchungen beobachtet wurden, zu erklären versuchen:

- Es gibt keinen Zusammenhang und die Beobachtung basierte auf einem methodischen Fehler bei der Erfassung.
- Andere Faktoren, die die Tumorentstehung beeinflussen können, wie die Ernährung, können die IGF-1 Spiegel ebenso verändern. IGF-1 ist dann tatsächlich ein Marker und nicht die Ursache der Erkrankung.
- Es ist möglich, dass Tumore IGF-1 ausschütten. IGF-1 dient in diesem Fall als Tumormarker.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass eine Reihe von Studien die Möglichkeit eines Zusammenhangs zwischen IGF-1 und dem Risiko einer Tumorerkrankung belegen. Es sind dennoch Langzeitstudien notwendig, um die potentiellen Risiken, die von der Behandlung mit IGF-1 ausgehen können, zu erfassen [218].

Es besteht die Möglichkeit, dass Bisoprolol einen günstigen Einfluss auf das Körpergewicht bei Tumorpatienten hat, weil der Einsatz von  $\beta$ -Blockern in klinischen Studien bei Herzinsuffizienzpatienten mit kardialer Kachexie eine positive Wirkung bezüglich der Entwicklung des Körpergewichts gezeigt hat.  $\beta$ -Blocker sind nicht nur in der Lage die Lipolyse zu hemmen, sondern auch eine Zunahme der Fettmasse zu induzieren.

Auch der Insulin-like growth factor (IGF-1), ein Mediator des Wachstumshormons (GH), stellt aufgrund seiner anabolen Eigenschaften eine mögliche Komponente bei der Therapie der Tumor-Kachexie dar. Seine Fähigkeit, die Atrophie der Skelettmuskulatur zu hemmen und die Proteinsynthese im Muskel zu aktivieren, legen die Vermutung nahe, dass eine Substitution mit rekombinanten IGF-1 bei der Therapie der Tumor-Kachexie durch einen Zuwachs an fettfreier Masse hilfreich sein könnte. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es herauszufinden, welchen Einfluss Bisoprolol und IGF-1 einzeln sowie in der Kombination bei Ratten auf folgende Faktoren nehmen, denen Tumorzellen intraperitoneal appliziert wurden, die eine Tumor-Kachexie induzieren:

- Mortalität
- Tumoreigenschaften
- Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung, Organgewicht
- spontane Aktivität, Futteraufnahme
- Herzfunktion

Diese Studie fand im Rahmen eines größeren Projektes statt, an dessen Umsetzung u.a. noch vier weitere Doktoranden beteiligt gewesen sind. Im Zuge der Randomisierung und Verblindung der vorliegenden Studie wurden alle anfallenden Tätigkeiten (siehe Kap. 2), ausgenommen die echokardiographischen Untersuchungen, von den fünf Doktoranden gemeinschaftlich durchgeführt. Die jeweiligen Versuchsgruppen der beteiligten Doktoranden liefen parallel, ohne dass den Doktoranden bekannt war, welche Farbcodierung ihren eigenen Behandlungsgruppen entspricht.

Die echokardiographischen Daten wurden anfänglich von Yoshihiro Akashi und anschließend von Dr. Kai Hartmann erhoben und ausgewertet.

Eventuelle Ähnlichkeiten bei der verwendeten Literatur sowie im Kapitel „Material und Methoden“ der Dissertation sind aufgrund der gleichartigen Thematik unumgänglich. Zudem stehen die Ergebnisse der Placebo- und Bisoprololgruppen allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe zur Verfügung und wurden (siehe Dissertation Dr. Kai Hartmann) bzw. werden von ihnen veröffentlicht.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Tiere**

Für das Projekt wurden ca. 7 Wochen alte, 180-200g schwere, männliche Wistar Ratten (Charles River, Berlin-Buch) unter Standard-Laborbedingungen im SPF-Tierstall des Centers for Cardiovascular Research, Charité, Campus Mitte, im 12-Stunden-Rhythmus von 7.00 bis 19.00 Uhr gehalten. Die Ratten waren zunächst zu je 4-5 Tieren pro Käfig eingeteilt, nach der Randomisierung zu je 2-3 Tieren pro Käfig. Die Tiere hatten während des gesamten Versuchs freien Zugang zu Futter (V 1534-300 ssniff R/M-H, 10 mm, autoklavierbar, Soest) und Trinkwasser. Montags und donnerstags wurden die Ratten umgesetzt. Mindestens zweimal täglich sind Allgemeinbefinden und Verhalten überprüft worden. Die Tiere zeigten bereits nach 2 Tagen der Eingewöhnung ein nahezu stressfreies Verhalten gegenüber den im Rahmen des Projektes notwendigen Interventionen. Sämtliche Eingriffe wurden entsprechend den Richtlinien des Tierschutzgesetzes durchgeführt und wurden vom Landesamt für Gesundheit und Soziales in Berlin genehmigt (Versuchsnummer: G 0076/06).

### **2.2 Versuchsplan**

Die spontane Aktivität der Tiere über einen Zeitraum von 24 Stunden wurde an Tag -1 des Versuchs mittels des Supermex-Lokomotor Systems gemessen (siehe Kap. 2.3.3). Parallel dazu konnte die Futteraufnahme während der Aktivitätsmessung dokumentiert werden, da die Tiere für den Zeitraum von 24 Stunden in Einzelkäfigen gehalten wurden. Am darauf folgenden Tag wurden Daten funktionaler Herzparameter im Rahmen einer echokardiographischen Untersuchung erhoben. Aktivitätsmessung, Dokumentation der Nahrungsaufnahme und Untersuchung der Herzfunktion wurden an Tag 10 bzw. 11 des Versuchs wiederholt. Am Tag 1 des Versuchs wurden vor der Inokulation des Tumors das Gewicht sowie die Körperzusammensetzung mittels NMR-Scans ermittelt. Anschließend wurden den Tieren, je nach Einteilung durch die Blockrandomisierung, entweder  $10^8$  Tumorzellen (AH-130 Yoshida Hepatoma Zellen) oder physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert. Die Kontrolltiere, die statt der Tumorzellen physiologische Kochsalzlösung appliziert bekamen, erhielten die Bezeichnung Shamtiere.

Gewichts- und Körperzusammensetzungsmessungen erfolgten dann alle 2 Tage. Mit der Therapie wurde 24 Stunden nach der Applikation der Tumorzellen bzw. der physiologischen Kochsalzlösung begonnen.

Je nach Gruppenzuteilung erfolgte täglich zur gleichen Zeit die Behandlung mit den entsprechenden Medikamenten bzw. einem Scheinmedikament- Placebo genannt (physiologische Kochsalzlösung). Diese wurden entweder subkutan injiziert oder per Gavage appliziert. Als absolut maximaler Tag des Versuchsprotokolls galt Tag 16. Auch Tiere, die nicht terminal krank waren (z.B. Shamtiere), wurden an diesem Tag getötet. Tiere, die folgende Symptome aufzeigten, wurden aus ethischen Gründen sofort getötet: wiederholtes Auftreten von Krämpfen, Torkeln oder Apathie, Austritt von Blut aus den Körperöffnungen, dunkle Verfärbungen, anhaltende Vermeidung von Bewegung sowie Teilnahmslosigkeit. Tiere, die außer einem Gewichtsverlust von 20% keine weiteren Symptome zeigten, wurden nach einer Wartezeit von 48 Stunden getötet. Traten Symptome wie Torkeln, Blutungen, Blässe, Dyspnoe, Zyanose, Apathie oder anhaltender Durchfall gepaart mit dem Gewichtsverlust von 20% auf, wurden die Tiere sofort getötet.

Nach der Tötung (siehe S. 37) wurden die Organe der Tiere entnommen, gewogen und eingefroren.

## **2.3 Methoden**

### **2.3.1 Behandlungsgruppen**

Die Experimente wurden in 2 Phasen durchgeführt, Monotherapie und Kombinationstherapie. In der ersten Phase wurde aus jeweils zwei Dosierungen von Bisoprolol und IGF-1 die effektivere Dosis ausgewählt. Anschließend sind die Auswirkungen einer Kombination mit jeweils 75% und 25% der besseren Dosierungen von Bisoprolol mit 75% und 25% der effektiveren Dosierungen von IGF-1 untersucht worden. Die Studie fand randomisiert und verblindet statt, wobei letzteres über eine Farbcodierung der Compounds und der jeweiligen Dosierungen realisiert wurde. Die Ratten wurden mittels Blockrandomisierung in Tumor- und Kontrolltiere (=Shamtiere), eingeteilt. Des Weiteren erfolgte vor der Tumorapplikation eine randomisierte Aufteilung der Tiere auf die jeweiligen Behandlungsgruppen, wobei keiner der fünf beteiligten Doktoranden Kenntnis von der Zugehörigkeit der jeweiligen Farben zu der entsprechenden Tumor-, Kontroll-bzw. Behandlungsgruppe hatte.

Bisoprolol (Concor®, Fa. Merck Pharma GmbH, Darmstadt, Deutschland) wurde in der Phase der Optimierung der Dosis täglich in einer Dosierung von jeweils 5 mg/kg/d bzw. 50 mg/kg/d per Gavage verabreicht. Die Dosierungen von Bisoprolol entsprechen Standardangaben in Herzinsuffizienzstudien bei Ratten. Das Medikament wurde über eine stumpfe Knopfkanüle mit weicher Silikonspitze (animal feeding needles, Popper, New Hyde Park, USA) direkt dem Magen zugeführt. Rekombinantes

IGF-1, geliefert vom National Hormone & Peptide Program (Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, USA) wurde täglich in einer Dosierung von jeweils 0,3 mg/kg/d bzw. 3 mg/kg/d per subkutaner Injektion im Bereich des Nackens appliziert, wobei die Dosierungen den Empfehlungen des Herstellers entsprechen.

Die Gesamtanzahl des Versuchs belief sich auf 105 Tiere. Die Anzahl der Tiere der jeweiligen Versuchsgruppen ist der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen:

**Tabelle 2.1: Tierzahlen pro Versuchsgruppe**

Gruppe	Placebo-Sham	Placebo-Tumor	Bisoprolol (5 mg)	Bisoprolol (50 mg)	IGF-1 (0,3 mg)	IGF-1 (3 mg)	Kombination 25%	Kombination 75%
Tierzahl	8	37	8	8	14	15	7	8

## 2.3.2 Tumormodell

Den Tieren wurden zur Auslösung des Tumors  $10^8$  AH-130 Yoshida Hepatoma Zellen intraperitoneal injiziert. Kontrolltiere erhielten die entsprechende Menge physiologische Kochsalzlösung. Der Vorteil des bereits an der Ratte etablierten Modells ist die große Reproduzierbarkeit des Tumors, sowie der Verlauf der Erkrankung, durch die eine geringere Variabilität auftritt. Ab dem 2. Tag nach Inokulation wachsen die Tumorzellen exponentiell bis zum 7. Tag und erreichen danach ein Plateau [219, 220].

Bei einer 200 g Ratte macht die Zellmasse des Tumors ab dem Tag 7 des Versuchs ca. 1% des Körpergewichts aus. Außerdem kommt es zur Bildung von Aszites-Flüssigkeit. Im Verlauf des Experiments verlieren die Tiere sowohl Fett- als auch Muskelmasse.

### 2.3.3 Aktivitätsmessung und Futteraufnahme

Zwei Tage vor Inokulation des Tumors resp. physiologische Kochsalzlösung (Tag - 1) und am Tag 10 des Versuchs, wurde über einen Zeitraum von 24 Stunden die spontane Aktivität der Tiere mit Hilfe des Supermex-Lokomotor Systems (Compact AMS Interface DI-064W, Muromachi Kikai Co., LTD., Tokyo, Japan) gemessen, das nach dem Prinzip eines Bewegungsmelders funktioniert. Die Haltung erfolgte währenddessen einzeln in Standardkäfigen. Über den Käfigen befinden sich Sensoren, bestehend aus speziellen Linsen und pyroelektrischen Detektoren. Ändert sich in dem jeweiligen Erfassungsbereich die Wärmestrahlung, so ändert sich die Polarisierung des Materials und löst eine Ladungstrennung aus (sogenannter pyroelektrischer Effekt). Die daraus resultierende Spannungsänderung kann dann in modifizierter Form gemessen werden. Die Einzelhaltung ermöglichte gleichzeitig die Dokumentation der Futteraufnahme durch Abwiegen des Futters.



Abb. 2.1: Supermex-Lokomotor System mit 24 Einzelkäfigen

### 2.3.4 Gewichtsmonitoring und Kernresonanzspektroskopie

Zur Erfassung der Entwicklung des Gewichts und der Körperzusammensetzung wurden die Tiere an Tag 1 des Versuchsprotokolls, also vor Inokulation des Tumors und dann alle zwei Tage zwischen 8-11 Uhr gewogen (Laborwaage Modell CS 2000, Ohaus Corporation USA) und mittels Kernresonanzspektroskopie (EchoMRI-500, Echo Medical Systems, Houston, Texas, USA) gescannt. Bei der NMR-Spektroskopie (engl. nuclear magnetic resonance) handelt es sich nicht um ein bildgebendes Verfahren, sondern um eine präzise Analyse der Körperzusammensetzung. D.h., dabei wird die Masse an Fett, fettfreiem Gewebe, freier Flüssigkeit und totalem Wassergehalt des Körpers ermittelt. Hierzu setzt man die Tiere in transparente Messröhren und platziert diese ca. 73 Sekunden im Tomographen. Die Messung beruht auf dem Phänomen der Kernspinresonanz. Dabei wird ein äußeres Magnetfeld angelegt, nach dem sich die Spins (Drehimpuls) der Atomkerne ausrichten. Fallen die Kerne in die Ausgangsposition nach Abschalten des Magnetfeldes zurück, senden diese elektromagnetische Wellen aus, die gemessen werden können. Diese Messungen erlauben Rückschlüsse auf den Protonengehalt eines Gewebes und damit die Körperzusammensetzung (Gehalt an Fett, fettfreier Masse, freier Flüssigkeit und Wasser total).



Abb. 2.2: Kernspintomograph zur Ermittlung der Körperzusammensetzung.

### 2.3.5 Echokardiographie

Um die Funktion des Herzens zu ermitteln und darzustellen, wurde am Tag vor der Tumorinokulation (Tag 0 des Versuchs) und an Tag 11 das Herz echokardiographisch untersucht. Die hierzu notwendige Narkotisierung der Tiere wurde initial in einer Kammer durch Zuleitung von Isofluran (Isofluran „Forene“, Abott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland) ermöglicht und anschließend mit einer Maske aufrechterhalten. Zur Optimierung der Darstellung des Herzens, wurde der ventrale Bereich des Thorax zunächst rasiert (Schergerät Favorita II, Aesculap) und der Rest mit Enthaarungscreme entfernt (Veet, Reckitt Benckiser, Mannheim). Die Tiere wurden in Rückenlage an den Gliedmaßenenden fixiert und im Thoraxbereich wurde Ultraschallgel (Ultrasound Transmission Gel, Italien) aufgetragen.

Bei der Echokardiographie handelt es sich um ein nichtinvasives bildgebendes Verfahren, mit dessen Hilfe man morphologische Veränderungen am Herzen und deren funktionelle Auswirkungen diagnostizieren, sowie den Verlauf einer Herzerkrankung dokumentieren kann. Die Echokardiographie beruht auf dem Prinzip der Echo-Impuls-Technik. Piezoelektrische Elemente (im Schallkopf gelagerter Piezokristall) wandeln elektrische in mechanische Energie um und erzeugen auf diese Weise Schallwellen, die ausgesandt und wieder empfangen werden. Zurückkommende Wellen werden in elektrische Impulse umgewandelt und dem Empfänger und Signalverstärker zugeleitet. Der Schallkopf verfügt über eine Frequenz von 25 MHz. Zur Darstellung und Beurteilung der Herzfunktion sind folgende Untersuchungen durchgeführt worden: Zunächst wurde der Schallkopf linksseitig parasternal in der langen Achse aufgelegt, wodurch sich im B-Mode (Brightness-Mode) längs der Schallrichtung eine Schnittbilddarstellung des Herzens ergibt. Man erhält hierbei einen Überblick über den linken Ventrikel, das linke Atrium und die Aortenwurzel. Dieser Blick ermöglicht nicht nur die qualitative Beurteilung der Bewegungsabläufe im Herzen, sondern auch die quantitative Bestimmung von Größenverhältnissen. Hierzu wurde der Durchmesser und Umfang des linken Ventrikels in der Diastole und Systole bestimmt, woraus sich anschließend die Fläche errechnen ließ. Beim B-Mode handelt es sich um eine zweidimensionale Darstellung der Herzstrukturen.

Im sogenannten M-Mode (Time/Motion) ließen sich die systolischen und enddiastolischen Wanddicken (anterior und inferior) und Diameter der linken Kammer ermitteln. Mit Hilfe dieser Werte, konnten die zur Beurteilung der Pumpfunktion des linken Ventrikels notwendigen Parameter, wie die Ejektionsfraktion ( $EF = \frac{LVVol_{diastol.} - LVVol_{systol.}}{LVVol_{diastol.}}$ ) und die Verkürzungsfraktion (fractional shortening,  $FS = \frac{LVEDD - LVESD}{LVEDD}$ ) berechnet werden.

Auch die Herzfrequenz wurde mit dem M-Mode erfasst. Beim M-Mode handelt es sich um eine eindimensionale Darstellung, bei der schnelle Bewegungsabläufe in Relation zur Zeit dargestellt werden. Positioniert man den Schallkopf substernal in dorsokranieler Richtung, so erhält man einen apikalen Vierkammerblick und kann im sog. PW-Dopplermodus (Pulsed Wave) an der Spitze der geöffneten Mitralklappen-segel (Koaptationspunkt) die Blutflussgeschwindigkeit messen. Hiermit lässt sich die früh- (E) und spätdiastolische (A) Kammerfüllung erfassen, woraus deren Verhältnis (E/A-Ratio) als Parameter der diastolischen Funktion des linken Ventrikels bestimmt werden kann. Das zugrunde liegende Prinzip hierbei ist, dass der Schallkopf Ultraschallwellen von konstanter Frequenz aussendet. Ein Teil der Wellen wird mit veränderter Frequenz reflektiert (Doppler-Effekt), wenn das Schallwellenbündel auf eine sich bewegende Fläche (Blutkörperchen) trifft.



**Abb. 2.3: Echokardiographie bei einer Ratte**

### 2.3.6 Tumor- und Organentnahme

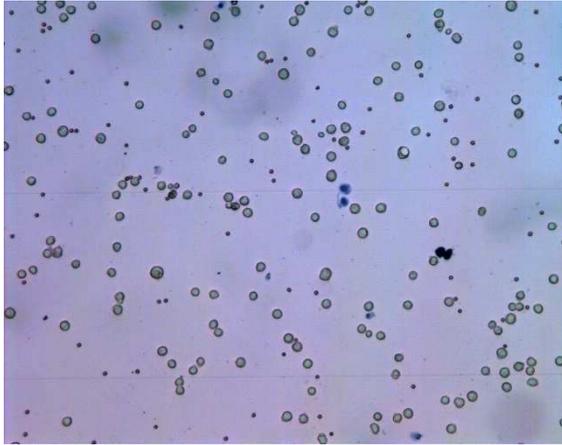
An Tag 16 wurden alle bis dahin überlebenden Tiere mit 90 mg/kg Ketamin (Keta-vet® 100 mg/ml, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) und 10 mg/kg Xylazin (Rompun® 2%, Bayer, Leverkusen, Deutschland) intraperitoneal narkotisiert. Anschließend wurden die Tiere gewogen, ihre Bauchhöhle eröffnet, der Tumor vollständig entnommen, das Finalgewicht und das Volumen des Tumors ermittelt. Mittels NMR-Scan ist die Zusammensetzung des Tieres und des Tumors (Gehalt an Fett, fettfreier Masse, freier Flüssigkeit und Wasser total) festgestellt worden.

Aus dem linken Herzen wurde das Blut in Heparin-gespülten (Heparin-Rotexmedica, Trittau, Deutschland) 3 ml Spritzen (BD, Franklin Lakes, NJ, U.S.A.) entnommen, sofort gekühlt, anschließend 10 Minuten bei 4°C und 2000 Umdrehungen/min zentrifugiert (Centrifuge 5804 R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland), das Plasma in 2,0 ml Eppendorf-Reaktionsgefäßen (Safe-seal micro tube, 2 ml, PP, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und bei -80°C eingefroren. Die Tiere wurden per Genickbruch getötet.

Nach Feststellung der Zusammensetzung des Tumors via MRT wurde die Zellzahl ermittelt. Hierzu hat man eine Suspension aus 875 µl physiologischer Kochsalzlösung (0,9%, Fresenius, Kabi, Bad-Homburg, Deutschland), 100 µl Färbelösung (Trypan Blue Solution, Fluka, Sigma Aldrich, Bucks, Schweiz) und 25 µl Tumorflüssigkeit angefertigt.

Die auszählende Teilchensuspension wurde dann bei aufgelegtem Deckglas seitlich auf die sog. Neubauer-Zählkammer pipettiert (Superior Marienfeld, Deutschland). Durch Kapillarkräfte saugt sich die Flüssigkeit in den Zwischenraum und wird so in einer Schicht mit genau bekannter Dicke ausgebreitet. Anschließend wurden die auf 24 Zählfeldern liegenden Zellen unter dem Lichtmikroskop bei 10facher Vergrößerung (Leica Microsystems Wetzlar GmbH) ausgezählt, addiert und die Anzahl je Volumeneinheit mit Hilfe der folgenden Formel errechnet:

$\text{Zellzahl/ml} \times 10^6 = \frac{\sum}{24 \times 16 \times 40 \times 10000}$ . Dies geschah für die lebenden Zellen sowie für die Gesamtzellzahl (lebende und tote Zellen).



**Abb. 2.4: Tumorzellen unter dem Lichtmikroskop bei 10facher Vergrößerung**

Parallel dazu erfolgte die Organentnahme, d.h. Herz, Lunge, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, epididymales Fettgewebe, braunes Fettgewebe (zwischen den Schulterblättern gelegen) sowie die Musculi gastrocnemius, soleus, tibialis und extensor digitalis longus wurden im Ganzen präpariert, gewogen und in 2 ml Eppendorfgefäßen in flüssigem Stickstoff eingefroren und später bei  $-80^{\circ}\text{C}$  tiefgekühlt. Außerdem wurde die Tibia, ausgehend vom Tibiaplateau bis zum äußeren Knöchel (Malleolus lateralis) mithilfe eines Lineals vermessen, um Aufschluss über das Längenwachstum zu erhalten.

Alle oben geschilderten Abläufe wurden auch bei den Tieren durchgeführt, die aufgrund ihres schlechten Allgemeinzustands aus tierschutzrechtlichen Gründen vorzeitig getötet werden mussten. Bei Tieren, die verstorben waren, entfiel die Blutentnahme sowie das Einfrieren der Organe.

## 2.4 Statistische Auswertungen

Alle Berechnungen wurden mit dem Statistikprogramm Prism (Version 5.0, Graph Pad Software Inc. 1994-2007) erstellt. Die Ergebnisse der Versuche wurden als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler angegeben. Das Signifikanzniveau lag bei 0,05. Bei normalverteilten Daten wurden mehrere Gruppen unter Verwendung der Varianzanalyse (ANOVA) miteinander verglichen. Die Gegenüberstellung von zwei Gruppen erfolgte mit dem ungepaarten students t-Test. Nicht-normalverteilte Daten mehrerer Gruppen wurden mit Hilfe des Kruskal-Wallis Tests analysiert. Der Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander bei nicht-normalverteilten Daten wurde durch den Mann-Whitney Test ermöglicht.

Zur Darstellung der Überlebenswahrscheinlichkeiten wurden Kaplan-Meier-Kurven erstellt. Zudem wurde die Hazard ratio und das 95% Konfidenzintervall angegeben.

# 3 Ergebnisse

## 3.1 Vergleich Sham vs. Placebo-Tumor

Der Vergleich zwischen den mit Placebo behandelten Shamtieren (Placebo S) und den tumortragenden Tieren (Placebo T) soll die Malignität des im Versuch eingesetzten Tumormodells veranschaulichen.

### 3.1.1 Mortalität

Im gesamten Beobachtungszeitraum starben in der Tumorgruppe 35 Tiere (95%). Bei der Shamgruppe überlebten alle Tiere bis zum Schluss. Der Log-rank (Mantel-Cox) Test zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen (Hazard Ratio 0,14; 95% CI 0,06-0,33;  $p < 0,0001$ ).

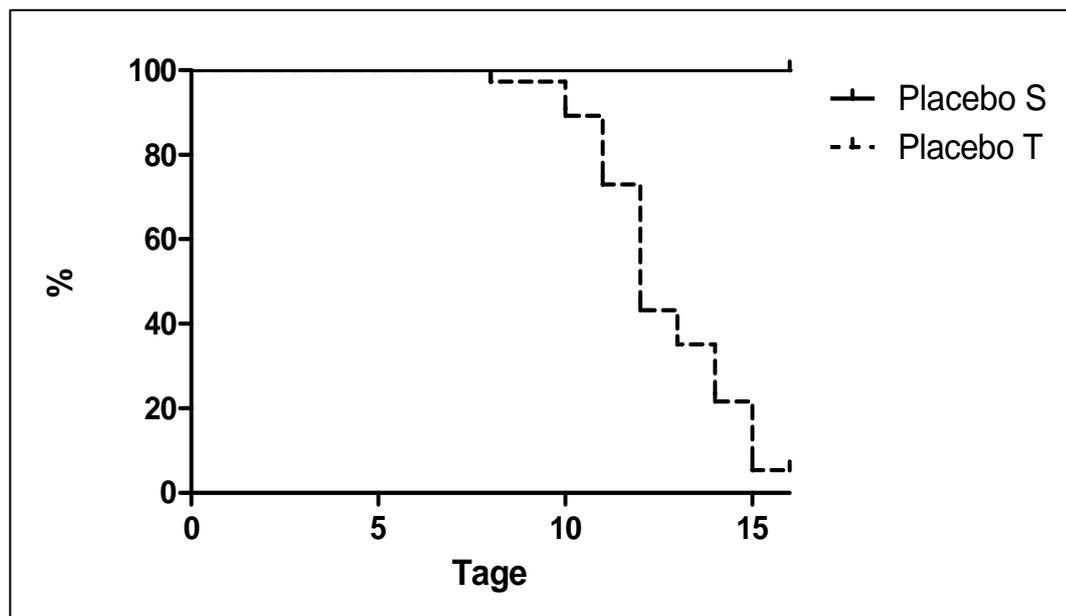


Abb. 3.1: Überlebenswahrscheinlichkeiten der mit Placebo behandelten Sham- und Tumortiere als Kaplan-Meier-Darstellung. Placebo S: n=8, Placebo T: n=37,  $p < 0,0001$ .

Tabelle 3.1: Kaplan-Meier Überlebensanalyse für den Vergleich zwischen Sham- und Tumortieren. n: Anzahl der Tiere.

Placebo S (n=8)		Placebo T (n=37)	
Verstorbene (Anzahl n)	% Überlebende (95% CI)	Verstorbene (Anzahl n)	% Überlebende (95% CI)
0	100%	35	5% (0-13)

### 3.1.2 Gewichtsverlauf

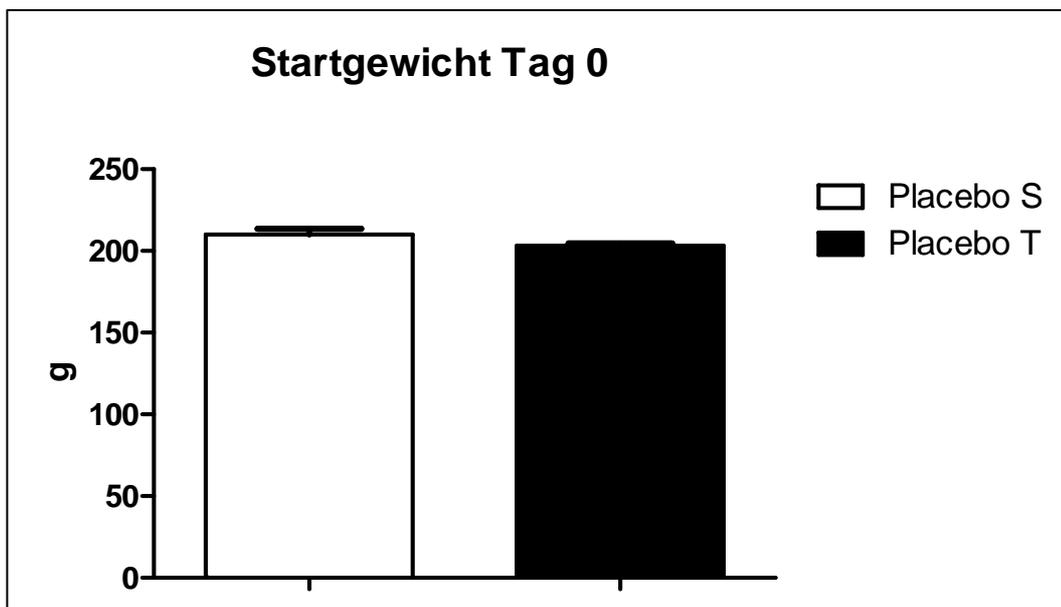


Abb. 3.2: Mittleres Gewicht zu Beginn des Versuchs. Placebo S: n=8, Placebo T: n=37.

Das Körpergewicht der Shamgruppe ( $210,12 \pm 3,62$  g) und der Tumorgruppe ( $203,22 \pm 1,56$  g) hat sich zu Beginn des Versuchs nicht signifikant voneinander unterschieden ( $p=0,07$ ).

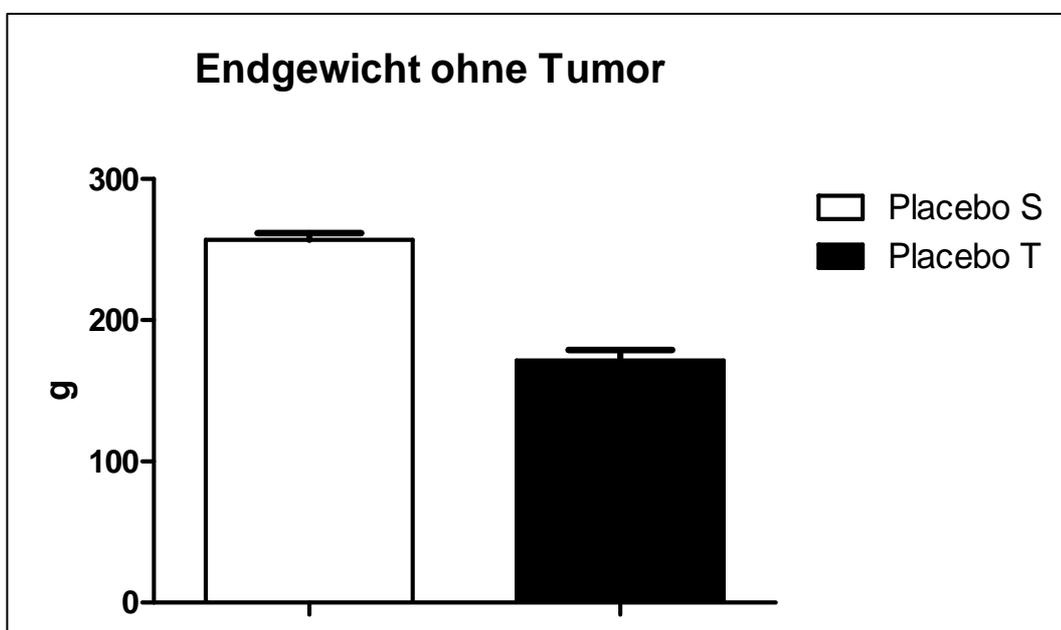
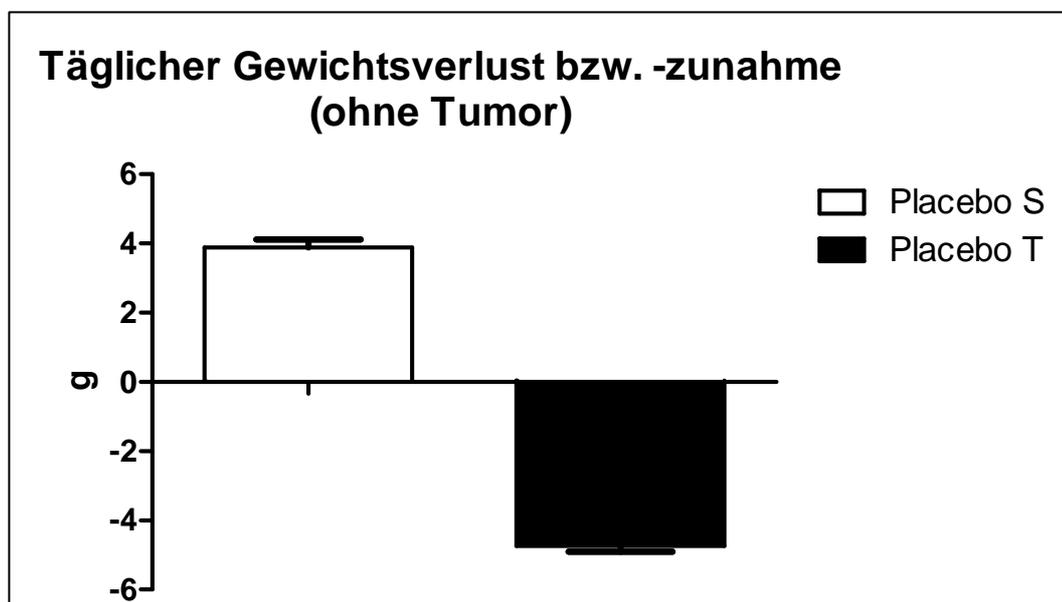


Abb. 3.3: Darstellung des mittleren Körpergewichts ohne Tumor zum Todeszeitpunkt. ( $p<0,0001$ ). Placebo S: n=8, Placebo T: n=37.

Das Endgewicht ohne Tumor war bei der tumortragenden Gruppe ( $147,95 \pm 2,56$  g) signifikant niedriger als bei den Shamtieren ( $268,38 \pm 5,3$  g). Im Gegensatz zu den Shamtieren haben nur 2 Tiere aus der Tumorgruppe das Ende des Versuchszeitraums erreicht (siehe Abb. 3.1).



**Abb. 3.4:** Durchschnittlicher absoluter Gewichtszuwachs bzw. Gewichtsverlust pro Tag. Placebo S: n=8, Placebo T: n=37.

An dieser Stelle soll stellvertretend für die nachfolgenden Darstellungen des täglichen Gewichtszuwachs bzw. -verlusts der noch ausstehenden Gruppenvergleiche darauf verwiesen werden, dass die Gewichtsentwicklung der einzelnen Gruppen nicht linear verlief. Der Gesamtverlust jedes einzelnen Tieres beim Gewicht, Fett bzw. der fettfreien Masse wurde in Relation zur Überlebensdauer gesetzt, da die Todeszeitpunkte der Tiere unterschiedlich waren. Nicht alle Tiere haben das Ende des Versuchszeitraumes erreicht, weil sie bereits zuvor verstorben sind bzw. aus ethischen Gründen getötet werden mussten. Anschließend wurde aus den Einzelwerten für die täglichen Verluste der Mittelwert der jeweiligen Gruppe errechnet. Demzufolge ist es möglich, dass Gruppen, die einen geringen durchschnittlichen Zuwachs bzw. Verlust pro Tag hatten, insgesamt gesehen dennoch einen größeren Zuwachs bzw. Verlust aufwiesen als andere Gruppen, deren tägliche Zu- bzw. Abnahmen größer waren und umgekehrt.

Der in Abb. 3.4 dargestellte Vergleich zwischen den beiden Versuchsgruppen zeigt, dass die Shamtiere einen Gewichtszuwachs von  $3,88 \pm 0,23$  g pro Tag hatten. Die tumortragenden Tiere verloren dagegen täglich  $4,74 \pm 0,17$  g Körpergewicht ( $p < 0,0001$ ).

Insgesamt kam es in der Shamgruppe zu einem Gewichtszuwachs von  $58,25 \pm 3,4$  g (27,7%) und in der Tumorgruppe zu einem Gewichtsverlust von  $55,27 \pm 2,14$  g (27,2%). Damit bestand ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ( $p < 0,0001$ ).

### 3.1.3 Körperzusammensetzung

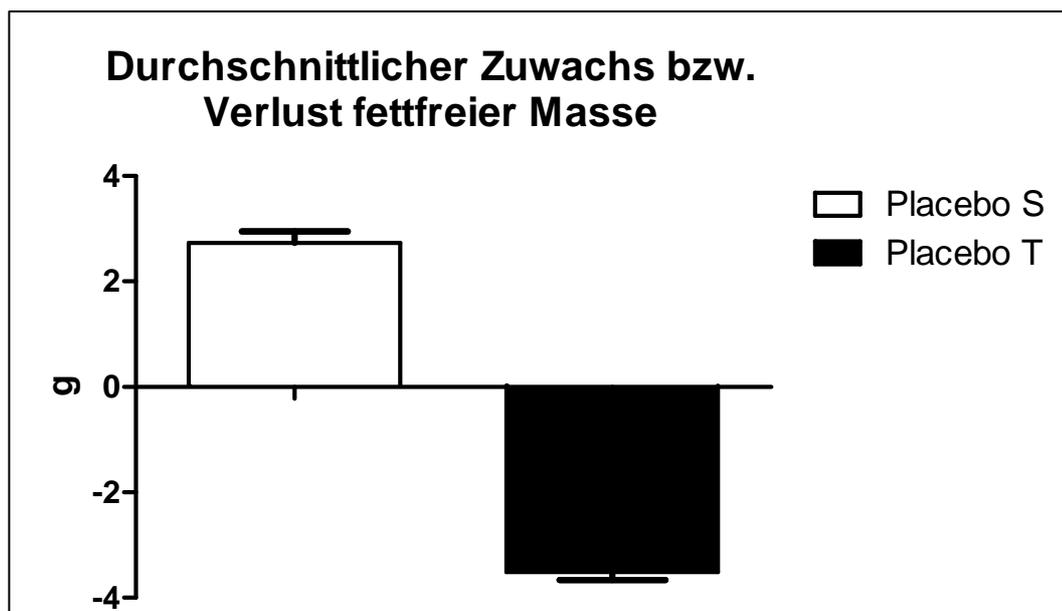


Abb. 3.5: Durchschnittlicher täglicher Zuwachs bzw. Verlust der fettfreien Masse.  $p < 0,0001$ . Placebo S:  $n=8$ , Placebo T:  $n=37$ .

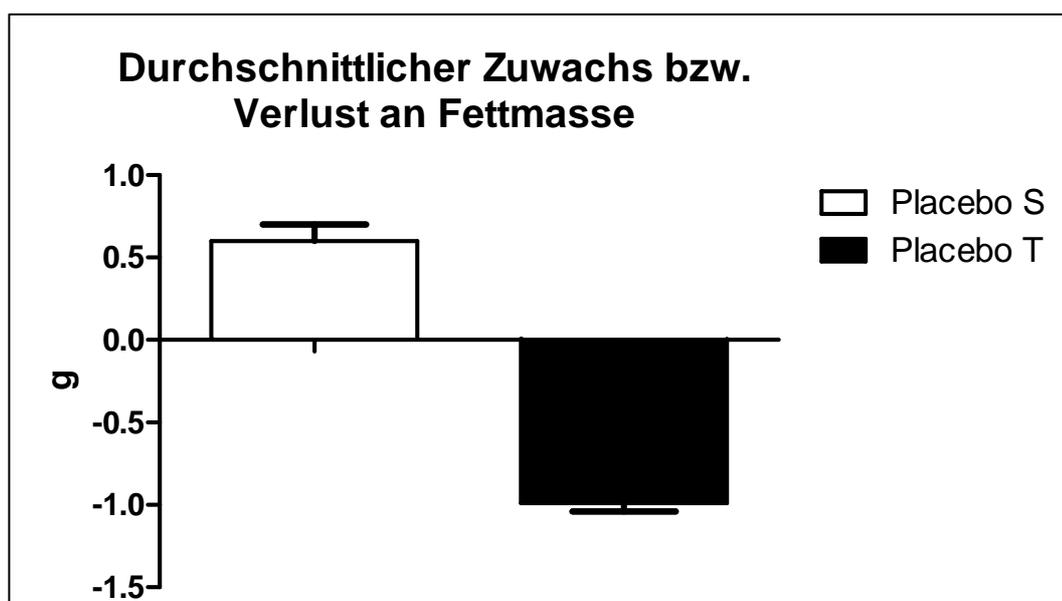


Abb. 3.6: Darstellung des durchschnittlichen täglichen Fettverlustes.  $p < 0,0001$ . Placebo S:  $n=8$ , Placebo T:  $n=37$ .

Die beiden vorangegangenen Darstellungen verdeutlichen den signifikanten Unterschied, der zu vergleichenden Gruppen, in der Änderung der Körperzusammensetzung. Im Gegensatz zu den Shamtieren, die sowohl beim Fett ( $0,6 \pm 0,1$  g), als auch der fettfreien Masse ( $2,73 \pm 0,22$  g) zugelegt haben, kam es bei der tumortragenden Gruppe zu einem Abbau in den beiden Kompartimenten (fettfreie Masse:  $-3,51 \pm 0,15$  g und Fettmasse:  $-0,99 \pm 0,05$  g).

Die Shamgruppe hatte, bezogen auf den gesamten Versuchszeitraum, einen Zuwachs von  $41,02 \pm 3,37$  g (25,9%) fettfreier Masse und  $8,93 \pm 1,57$  g (50,5%) Fettmasse. Dagegen kam es in der Tumorgruppe insgesamt zu einem Verlust von  $41,39 \pm 1,99$  g (26,4%) fettfreier Masse und  $11,48 \pm 0,48$  g (64,5%) Fettmasse. Die Differenzen hinsichtlich des gesamten Zuwachs/Verlusts von fettfreier Masse und Fettmasse waren statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

### 3.1.4 Organgewichte

Allen Tieren, ob getötet oder verstorben, wurden unmittelbar die Organe entnommen und deren Gewichte ermittelt. Die Tiere der Shamgruppe überlebten alle bis zum letzten Versuchstag (Tag 16). Aus der Placebo-Tumorgruppe erreichten lediglich 2 Tiere das Ende des Versuchszeitraumes.

**Tabelle 3.2: Mittelwerte der Organgewichte der Sham- (Placebo S) und Tumortiere (Placebo T) mit Angabe der Ergebnisse der ungepaarten t-Tests. Signifikante Werte sind:  $p < 0,05$ . n: Anzahl der Tiere, EDL: Extensor digitalis longus.**

Organgewicht (mg)	Placebo S (n=8)	Placebo T (n=37)	p-Wert
Herz	$788,33 \pm 19,77$	$505,21 \pm 14,00$	$<0,0001$
Lunge	$1302,79 \pm 74,18$	$885,22 \pm 29,57$	$<0,0001$
Leber	$10709,48 \pm 456,27$	$6093,39 \pm 227,81$	$<0,0001$
Milz	$623,36 \pm 30,05$	$163,64 \pm 10,01$	$<0,0001$
linke Niere	$1138,75 \pm 37,21$	$698,41 \pm 16,58$	$<0,0001$
rechte Niere	$1182,01 \pm 44,18$	$719,89 \pm 18,54$	$<0,0001$
linke Nebenniere	$28,65 \pm 0,96$	$35,13 \pm 1,77$	0,10
rechte Nebenniere	$25,41 \pm 1,02$	$34,89 \pm 1,61$	0,0101
weißes Fett	$1324,00 \pm 190,65$	$86,38 \pm 26,43$	$<0,0001$
braunes Fett	$218,26 \pm 15,16$	$78,59 \pm 3,14$	$<0,0001$
M. gastrocnemius	$1290,79 \pm 40,00$	$713,22 \pm 14,07$	$<0,0001$
M. soleus	$100,07 \pm 3,00$	$69,73 \pm 1,43$	$<0,0001$
M. tibialis	$427,97 \pm 8,37$	$262,49 \pm 6,10$	$<0,0001$
M. EDL	$109,95 \pm 3,71$	$63,66 \pm 1,48$	$<0,0001$

Die Tabelle 3.2 zeigt, dass bis auf die linken Nebennieren, signifikante Unterschiede beim Vergleich der übrigen Organgewichte beider Versuchsgruppen bestehen. Alle Organe der Tumorgruppe sind, ausgenommen die Nebennieren, deutlich leichter als die der Shamtiere.

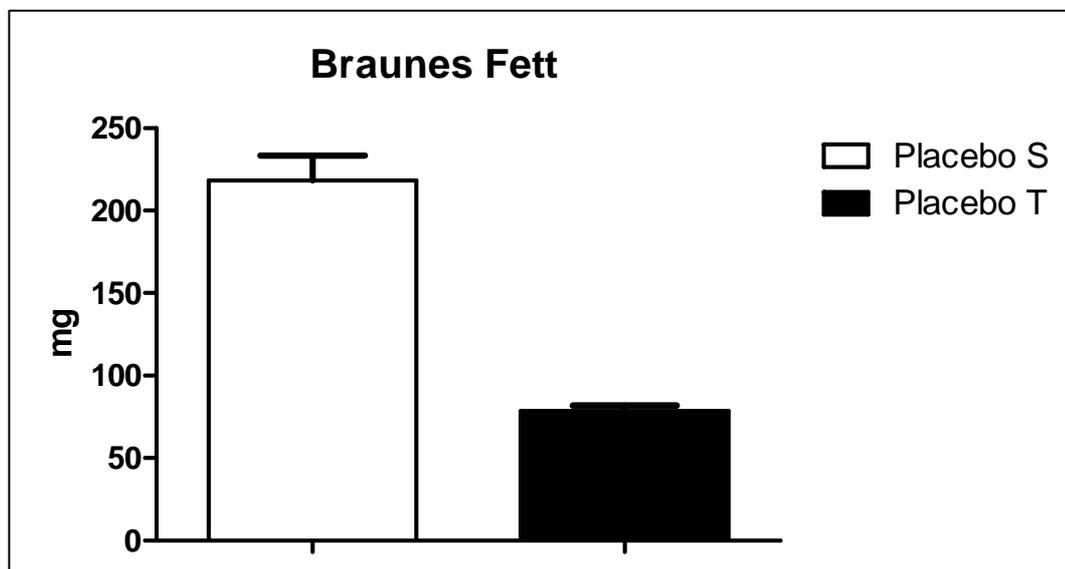


Abb. 3.7: Mittleres absolutes Gewicht des interskapulären braunen Fettgewebes. Placebo S: n=8, Placebo T: n=37. Placebo T: n=37.

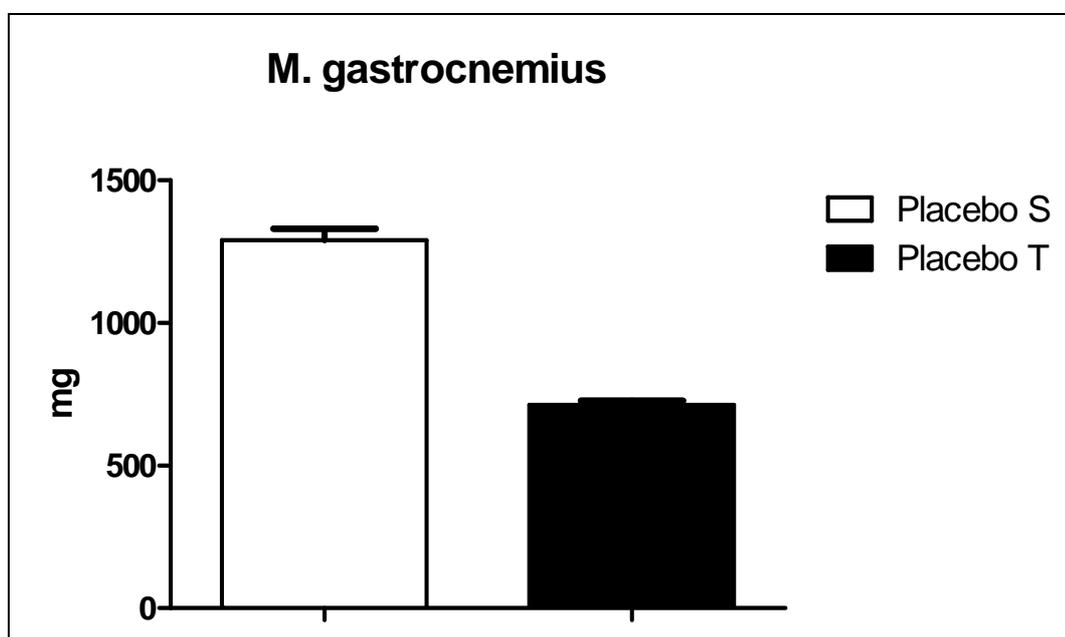


Abb. 3.8: Gewicht des Musculus gastrocnemius. Placebo S: n=8, Placebo T: n=37.

Zur beispielhaften Veranschaulichung für das Ausmaß des Verlustes an Fett und fettfreier Masse dienen stellvertretend Abb. 3.7 und Abb. 3.8. Der Vergleich des Gewichts vom braunen Fettgewebe und vom M. gastrocnemius der beiden Gruppen zeigte ein deutlich geringeres Gewicht seitens der Tumorgruppe ( $p < 0,0001$ ).

### 3.1.5 Spontane Aktivität

Die spontane Aktivität der Tiere wurde an Tag -1 und an Tag 10 des Versuchs erfasst, wobei an Tag 8 ein Tier und an Tag 10 des Beobachtungszeitraums drei Tiere aus der Tumorgruppe vorzeitig aus dem Versuch ausgeschieden sind. Die Tiere der Shamgruppe erreichten hingegen alle das Versuchsende. Anschließend wurde ermittelt, inwieweit sich die Bewegungsintensität an Tag 10, im Vergleich zu Tag -1, verändert hat. Dies soll mit der folgenden Darstellung veranschaulicht werden.

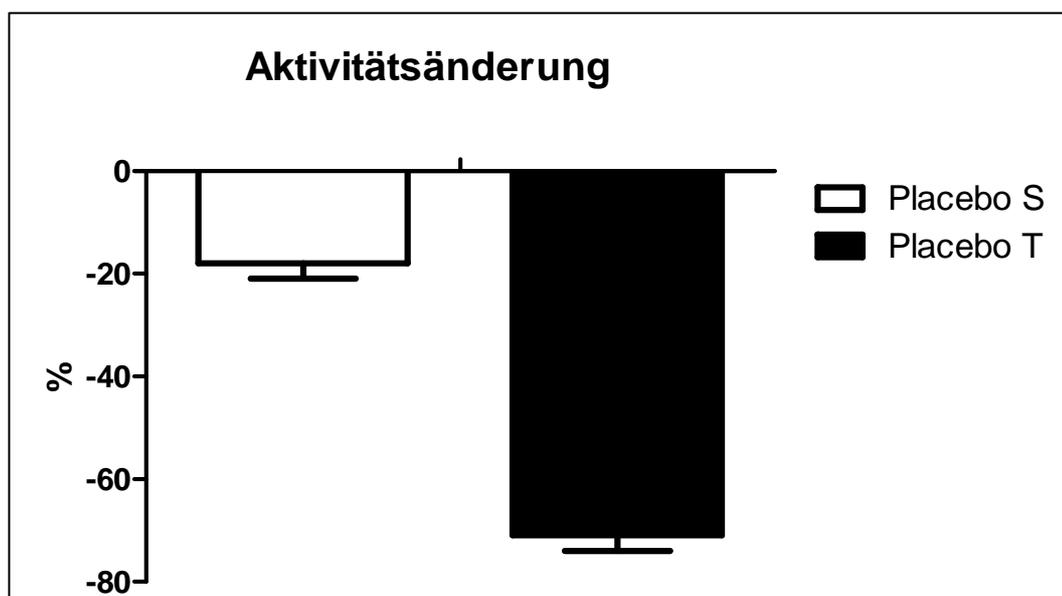


Abb. 3.9: Die Abbildung zeigt die Änderung der spontanen Aktivität an Tag 10 des Versuchs im Vergleich zu Tag -1. Placebo S: n=8, Placebo T: n=33.

Obwohl die Bewegungsintensität bezogen auf die 1. Messung bei beiden Gruppen abgenommen hat, war ein signifikanter Unterschied im Rückgang der Aktivität zu sehen ( $p < 0,0001$ ). Für die Shamtiere wurde eine Aktivitätsabnahme von 19,1%, für die Tumorgruppe von 71,7% dokumentiert.

### 3.1.6 Futteraufnahme

Während der 24-stündigen Haltung in den Einzelkäfigen des Supermex-Lokomotor-Systems an Tag -1 und 10, konnte die aufgenommene Futtermenge durch Abwiegen des Futters vor und nach dem Besatz der Käfige ermittelt werden.

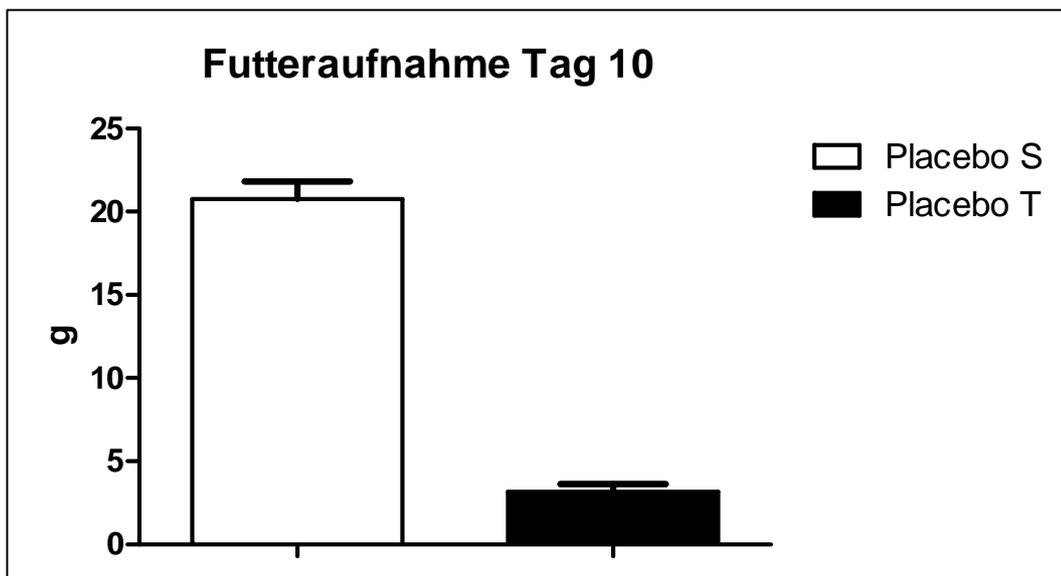


Abb. 3.10: Darstellung der Menge des Futters, das an Tag 10 aufgenommen wurde ( $p < 0,0001$ ). Placebo S:  $n=8$ , Placebo T:  $n=33$ .

Aus Abb. 3.10 geht hervor, dass die Tiere der Tumorgruppe ( $3,17 \pm 0,47$  g) deutlich weniger Futter an Tag 10 aufgenommen haben, als die Tiere der Shamgruppe ( $20,75 \pm 1,08$  g), wobei nur 33 der 37 Tumortiere Tag 10 des Versuchs erreichten.

### 3.1.7 Herzfunktion

Eine echokardiographische Untersuchung wurde an Tag 0 bei allen Tieren vorgenommen, also vor Inokulation des Tumors und an Tag 11 bei allen, zu diesem Zeitpunkt noch lebenden Tieren. Diese diente der Beurteilung der anatomischen Verhältnisse und der Funktion des Herzens. Um Aussagen über die Größenverhältnisse im Herzen treffen zu können, wurden die Herzwanddicken und die Diameter des linken Ventrikels bestimmt. Diese wurden sowohl am Ende der Diastole, als auch endsystolisch im M-Mode gemessen. Parallel dazu ist die Herzfrequenz aufgezeichnet worden.

Mit Hilfe der Dopplersonographie wurde außerdem der früh- (E) und spätdiastolische (A) Blutfluss vom linken Vorhof in die Kammer erfasst. Das Verhältnis E zu A (E/A-Ratio), dem Maß für die frühe diastolische Relaxation des Herzmuskels, lässt auf die diastolische Funktion des linken Ventrikels schließen.

Zudem wurden bestimmte Funktionsparameter wie beispielsweise die Ejektions- und Verkürzungsfraction ermittelt, mit deren Hilfe man eine Aussage über die Myokardkontraktilität treffen kann. An dieser Stelle soll noch einmal erwähnt werden, dass die Herzfrequenz im Rahmen der echokardiographischen Untersuchung ermittelt wurde, die Tiere aber zu diesem Zweck narkotisiert werden mussten.

**Tabelle 3.3: Echokardiographische Parameter der Sham- und Tumorguppen, die Placebo erhielten an Tag 0 mit Angabe der Ergebnisse der ungepaarten t-Tests. n: Anzahl der Tiere, LV: linksventrikulär, d: enddiastolisch, s: endsystolisch, LVEF: Ejektionsfraction, LVFS: fractional shortening (Verkürzungsfraction), LVEDV: enddiastolisches Volumen, LVESV: endsystolisches Volumen, LVSV: Schlagvolumen, LVEDD: enddiastolischer Diameter, LVESD: endsystolischer Diameter, IVS: interventrikuläres Septum, HMV: Herzminutenvolumen, HF: Herzfrequenz, bpm: beats per minute, LVPW: Hinterwand, LV mass corrected: Annäherungswert für die Masse des linken Ventrikels, E/A: Einflussprofil über der Mitralklappe.**

Parameter	Placebo S (n=8)	Placebo T (n=37)	p-Wert
LVEF (%)	74,65 ± 2,97	74,74 ± 1,47	0,98
LVFS (%)	47,44 ± 2,21	49,17 ± 1,16	0,52
LVEDV (ml)	241,83 ± 13,50	253,31 ± 7,80	0,53
LVESV (ml)	59,55 ± 5,07	63,46 ± 3,89	0,66
LVSV (ml)	182,27 ± 14,91	190,32 ± 7,06	0,63
LVEDD (mm)	6,18 ± 0,13	6,22 ± 0,08	0,83
LVESD (mm)	3,26 ± 0,19	3,17 ± 0,09	0,67
IVS d (mm)	1,66 ± 0,13	1,57 ± 0,03	0,31
IVS s (mm)	2,86 ± 0,14	2,75 ± 0,05	0,38
HMV (ml/min)	74,46 ± 7,31	78,74 ± 2,91	0,55
HF (bpm)	412,80 ± 9,51	411,28 ± 5,32	0,90
LVPW d (mm)	1,94 ± 0,09	1,75 ± 0,05	0,11
LVPW s (mm)	2,89 ± 0,10	2,78 ± 0,05	0,35
LV mass (mg)	588,72 ± 35,89	527,13 ± 12,32	0,05
E/A	1,66 ± 0,09	1,55 ± 0,05	0,35

Der Vergleich der einzelnen Herzparameter, die an Tag 0 des Versuchs ermittelt wurden, zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Tabelle 3.3).

**Tabelle 3.4: Echokardiographische Parameter der Sham- und Tumorguppen an Tag 11 des Versuchs mit Angabe der Ergebnisse der ungepaarten t-Tests. n: Anzahl der Tiere, LV: linksventrikulär, d: end-diastolisch, s: endsystolisch, LVEF: Ejektionsfraktion, LVFS: fractional shortening (Verkürzungsfraction), LVEDV: enddiastolisches Volumen, LVESV: endsystolisches Volumen, LVSV: Schlagvolumen, LVEDD: enddiastolischer Diameter, LVESD: endsystolischer Diameter, IVS: interventrikuläres Septum, HMV: Herzminutenvolumen, HF: Herzfrequenz, bpm: beats per minute, LVPW: Hinterwand, LV mass corrected: Annäherungswert für die Masse des linken Ventrikels, E/A: Einflussprofil über der Mitralklappe. Signifikante Werte sind mit \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  und \*\*\*  $p < 0,001$  gekennzeichnet.**

Parameter	Placebo S (n=8)	Placebo T (n=29)	p-Wert
LVEF (%)	77,22 ± 3,33	48,94 ± 2.77	<0,0001
LVFS (%)	51,84 ± 1,97	28,13 ± 2.23	<0,0001
LVEDV (ml)	259,09 ± 14,77	177,75 ± 11.45	0,0028
LVESV (ml)	58,49 ± 7,44	88,85 ± 6.44	0,0404
LVSV (ml)	200,60 ± 14,72	88,90 ± 8.20	<0,0001
LVEDD (mm)	6,39 ± 0,10	5,48 ± 0.09	<0,0001
LVESD (mm)	3,09 ± 0,16	3,94 ± 0.13	0,0055
IVS d (mm)	1,70 ± 0,09	1,52 ± 0.05	0,13
IVS s (mm)	2,99 ± 0,12	2,20 ± 0.07	<0,0001
HMV (ml/min)	98,47 ± 21,05	30,94 ± 3.62	<0,0001
HF (bpm)	470,37 ± 77,43	343,33 ± 19.12	0,0231
LVPW d (mm)	2,23 ± 0,16	1,63 ± 0.04	<0,0001
LVPW s (mm)	3,25 ± 0,15	2,11 ± 0.07	<0,0001
LV mass (mg)	709,49 ± 50,17	401,74 ± 10.88	<0,0001
E:A	1,61 ± 0,11	1,58 ± 0.31	0,96

Zum Zeitpunkt der Messung funktioneller Herzparameter an Tag 11 des Versuchs existierten in der Tumorgruppe nur noch 29 Überlebende, die Shamgruppe hingegen war vollzählig.

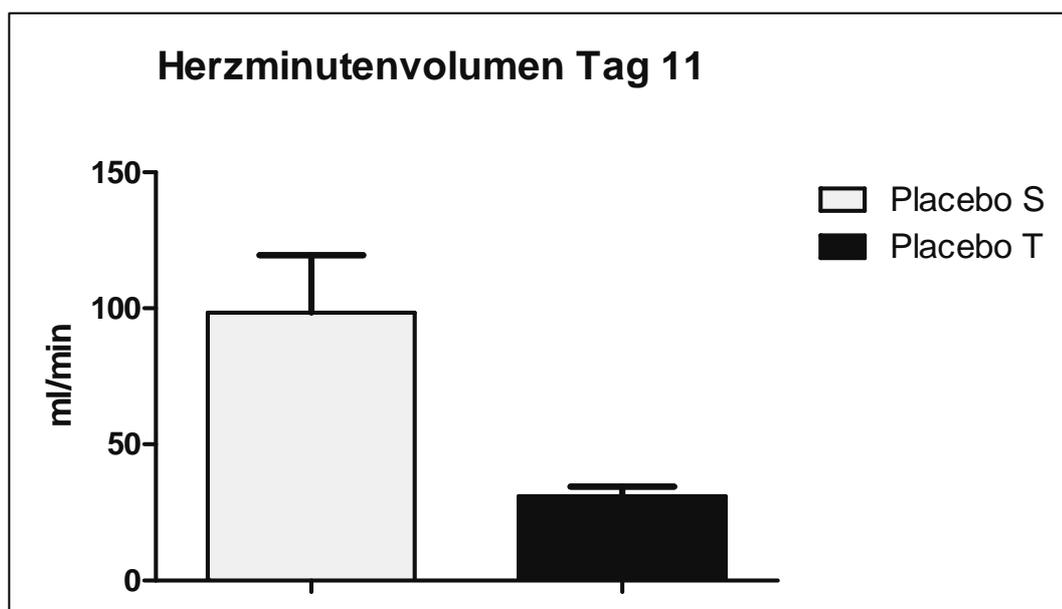
Beim überwiegenden Teil, der an Tag 11 erhobenen echokardiographischen Daten, traten signifikante Differenzen auf (siehe Tab. 3.4). Nur das enddiastolische interventrikuläre Septum und das E/A-Verhältnis waren in beiden Gruppen annähernd gleich.

Tabelle 3.4 zeigt, dass sich die Durchmesser des linken Ventrikels der beiden Placebogruppen signifikant voneinander unterschieden haben. Die Tumorgruppe hatte den kleineren enddiastolischen und den größeren endsystolischen Durchmesser verglichen mit den Shamtieren.

Bei den Wandstärken waren das endsystolisch ermittelte interventrikuläre Septum sowie die enddiastolisch und –systolisch gemessene Hinterwand des linken Ventrikels der Tumorgruppe signifikant schmaler, als das der Shamtiere.

Der Wert für die linksventrikuläre Masse verdeutlicht, dass das Herz der Tumortiere fast um die Hälfte leichter war, als das der Shamtiere.

Sowohl das enddiastolische Volumen als auch das Schlagvolumen, das sich aus der Differenz des LVEDV und des LVESV errechnet, war in der Tumorgruppe verglichen mit den Shamtieren deutlich erniedrigt. Das endsystolische Volumen ist seitens der Tumorgruppe signifikant erhöht.



**Abb. 3.11:** Darstellung des Blutvolumens, das pro Minute aus dem Herzen gepumpt wird ( $p < 0,0001$ ). Placebo S:  $n=8$ , Placebo T:  $n=29$ .

Zur Beurteilung der Pumpleistung des Herzens kann u.a. das Herzminutenvolumen herangezogen werden. Der Abb. 3.11 ist zu entnehmen, dass das Herzminutenvolumen in der Tumorgruppe signifikant reduziert war gegenüber den Shamtieren. Die Herzfrequenz war in der Tumorgruppe signifikant erniedrigt im Vergleich zur Gruppe der Shamtiere (siehe Tab. 3.4).

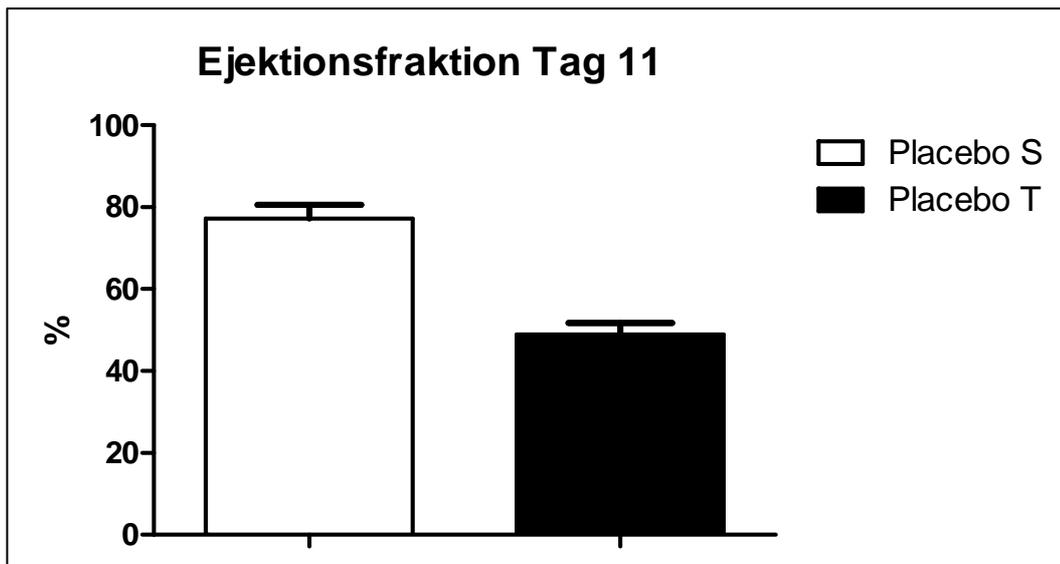


Abb. 3.12: Darstellung der Auswurfraction, ermittelt an Tag 11. Die Ejektionsfraktion ist der Anteil des vom Herzen bei der Kontraktion ausgeworfenen Blutes im Verhältnis zum Gesamtblutvolumen der Herzkammer. Placebo S: n=8, Placebo T: n=29.

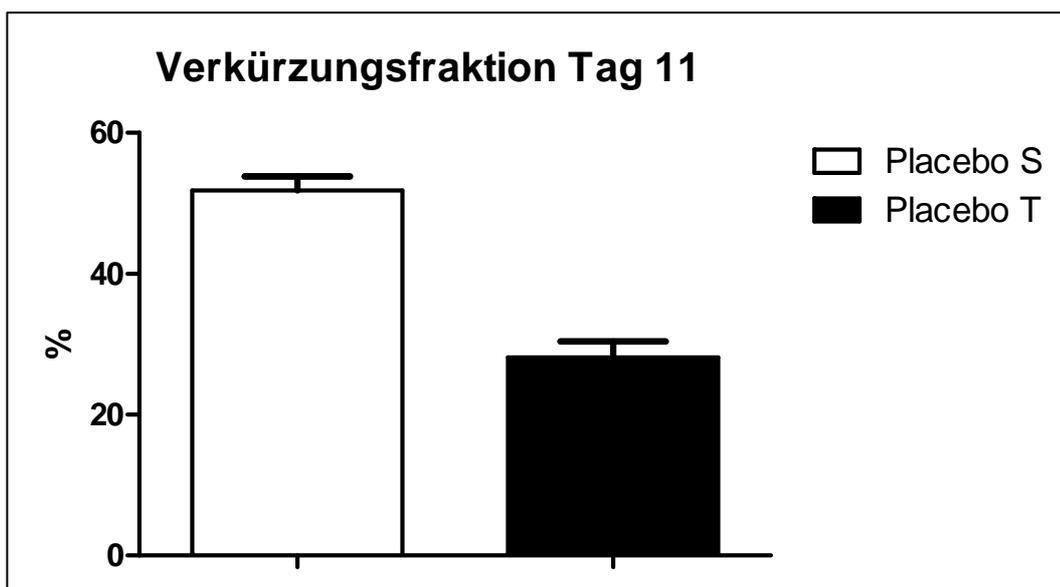


Abb. 3.13: Verkürzungsfraktion an Tag 11 des Versuchs. Placebo S: n=8, Placebo T: n=29.

Um ein Maß für die Myokardkontraktilität zu haben, wurde anhand der linksventrikulären enddiastolischen und –systolischen Diameter das fractional shortening sowie mit Hilfe des Schlagvolumens und linksventrikulären enddiastolischen Volumens die Ejektionsfraktion berechnet. Die echokardiographischen Herzfunktionsparameter LVEF und LVFS der Tumorguppe waren verglichen mit den Shamtieren signifikant vermindert (siehe Tabelle 3.4).

Das Verhältnis von E zu A (E/A-Ratio) gilt als Maß für die frühe diastolische Relaxation des Myokards. Anhand der E/A-Ratio, ermittelt an Tag 11 des Versuchs, war kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen zu sehen ( $p=0,96$ ).

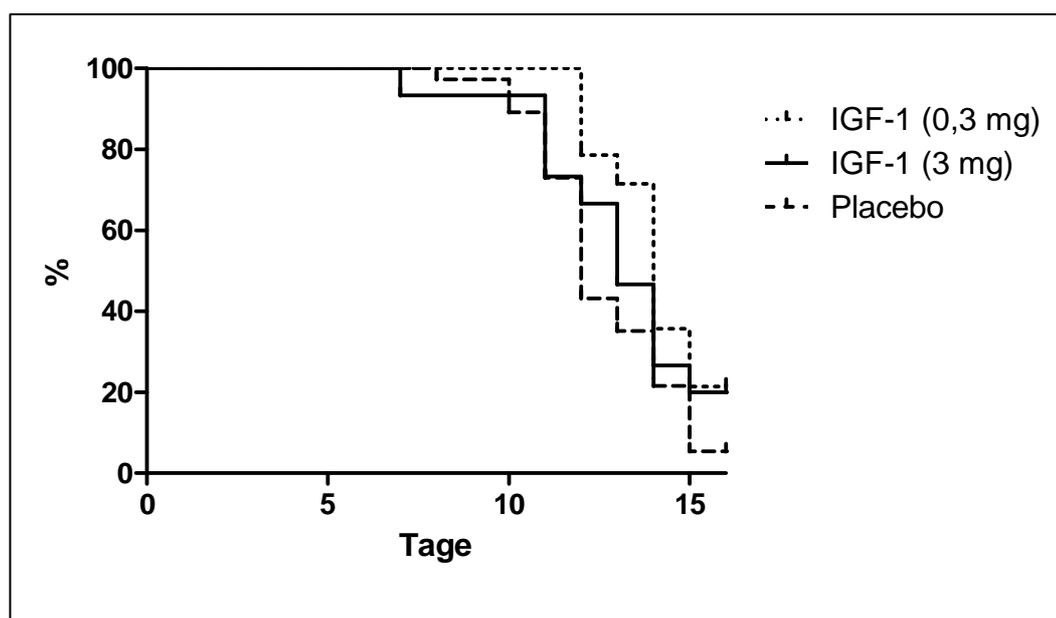
## 3.2 Vergleich Placebo vs. IGF-1

### 3.2.1 Mortalität

Während des gesamten Beobachtungszeitraums starben in der Placebogruppe 35 Tiere (95%), in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung 11 Tiere (79%) und in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung 12 Tiere (80%). Der Log-rank (Mantel-Cox) Test zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,18$ ).

**Tabelle 3.5: Darstellung der einzelnen Gruppen im direkten Vergleich mit Angabe der Ergebnisse des Log-rank (Mantel-Cox) Test, der Hazard Ratio und dem 95% CI.**

Gruppen	Hazard Ratio	95% CI	p-Wert
IGF-1 (0,3 mg) vs. Placebo	0,44	0,21-0,93	0,03
IGF-1 (3 mg) vs. Placebo	0,66	0,31-1,37	0,27
IGF-1 (0,3 mg) vs. IGF-1 (3 mg)	0,67	0,26-1,73	0,41



**Abb. 3.14: Überlebenswahrscheinlichkeiten beider IGF-1 Monotherapien im Vergleich zur Placebogruppe als Kaplan-Meier-Darstellung. Placebo:  $n=2$ , IGF-1 (0,3 mg):  $n=3$ , IGF-1 (3 mg):  $n=3$ .  $p=0,18$ .**

**Tabelle 3.6: Kaplan-Meier Überlebensanalyse für den Vergleich zw. Placebo-Tumor und beiden IGF-1 Monotherapien.**

IGF-1 (0,3 mg) ( $n=14$ )		IGF-1 (3 mg) ( $n=15$ )		Placebo ( $n=37$ )	
Verstorbene (Anzahl n)	% Überlebende (95% CI)	Verstorbene (Anzahl n)	% Überlebende (95% CI)	Verstorbene (Anzahl n)	% Überlebende (95% CI)
11	21% (0-43)	12	20% (0-40)	35	5% (0-13)

Dieser Teil des Versuchs war darauf ausgerichtet die effektive Dosis der beiden IGF-1 Monotherapien zu bestimmen, welche dann in der Kombination verwendet wurde (siehe Kapitel 2.3.1). Dazu erhielten 14 Tiere eine Dosis von 0,3 mg IGF-1 pro kg Körpergewicht/ Tag. Die höhere Dosis von 3 mg pro kg Körpergewicht/Tag wurde 15 weiteren Tieren verabreicht. Als effektive Dosis wurde die niedrige IGF-1 Dosierung gewählt.

### 3.2.2 Tumoreigenschaften

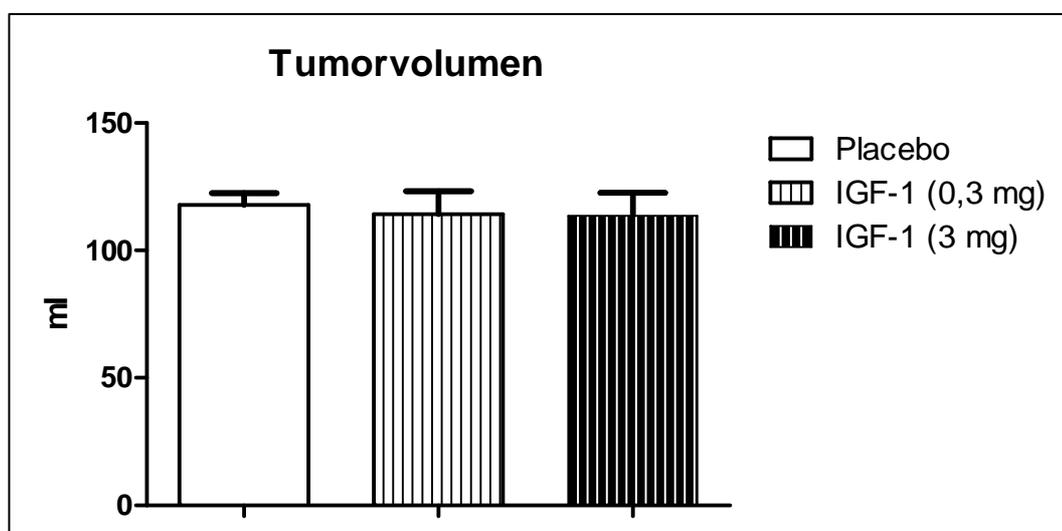


Abb. 3.15: Darstellung des durchschnittlichen Volumens der Tumorflüssigkeit nach Tötung und Entnahme aus der Bauchhöhle. Placebo: n=37, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=15.

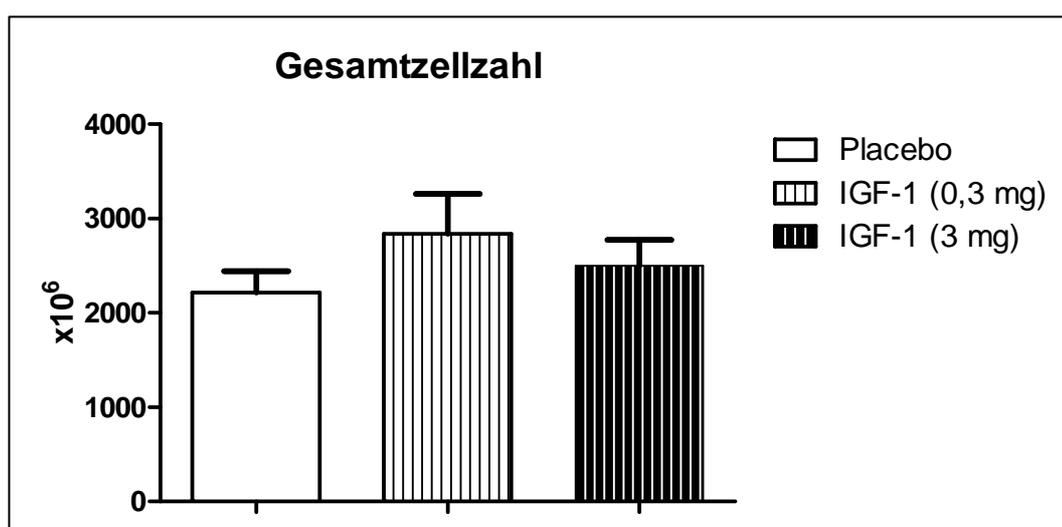


Abb. 3.16: Durchschnittliche Anzahl von Tumorzellen, die in der gesamten Tumorflüssigkeit enthalten war. Placebo: n=37, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=15.

Die Abbildungen 3.15 und 3.16 zeigen hinsichtlich des Tumorzells (K.-W.  $p=0,98$ ) und der Gesamtzellzahl (K.-W.  $p=0,38$ ) keine signifikanten Abweichungen voneinander.

### 3.2.3 Gewichtsverlauf

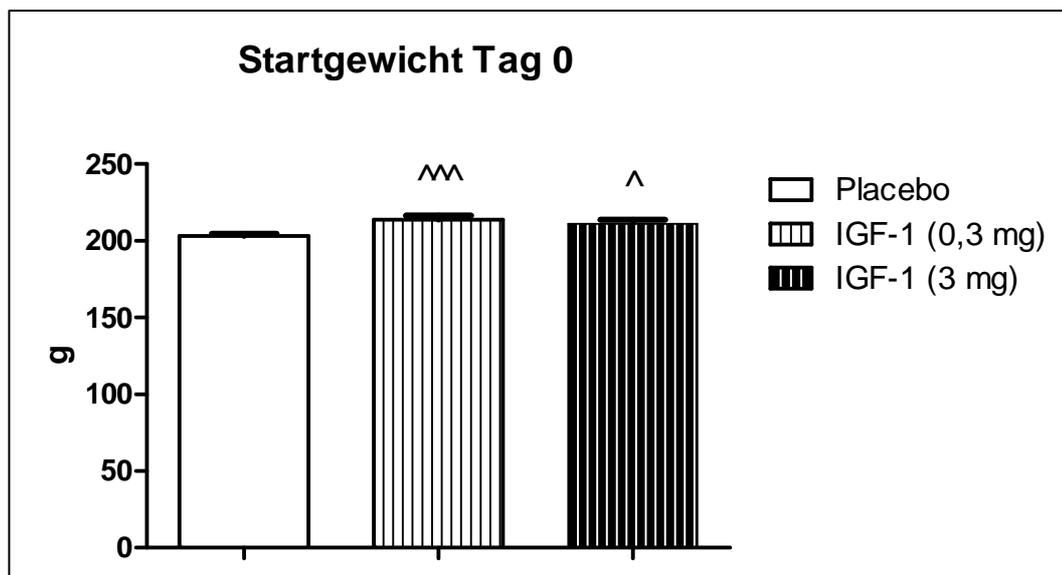


Abb. 3.17: Mittleres absolutes Gewicht zu Beginn des Versuchs. ^  $p<0,05$  und ^^  $p<0,0001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , IGF-1 (0,3 mg):  $n=14$ , IGF-1 (3 mg):  $n=15$ .

Beim Vergleich des Körpergewichts, der in Abb. 3.17 dargestellten Gruppen zu Beginn des Versuchs, traten signifikante Unterschiede (K.-W.  $p=0,0008$ ) auf. Bezogen auf die Placebogruppe ( $203,22 \pm 1,56$  g) waren die Tiere aus der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung ( $213,86 \pm 2,77$  g;  $p=0,0006$ ) und der hohen IGF-1 Dosierung ( $211,13 \pm 2,75$  g;  $p=0,0175$ ) schwerer. Der Unterschied zwischen den IGF-1 Gruppen war nicht signifikant ( $p=0,21$ ).

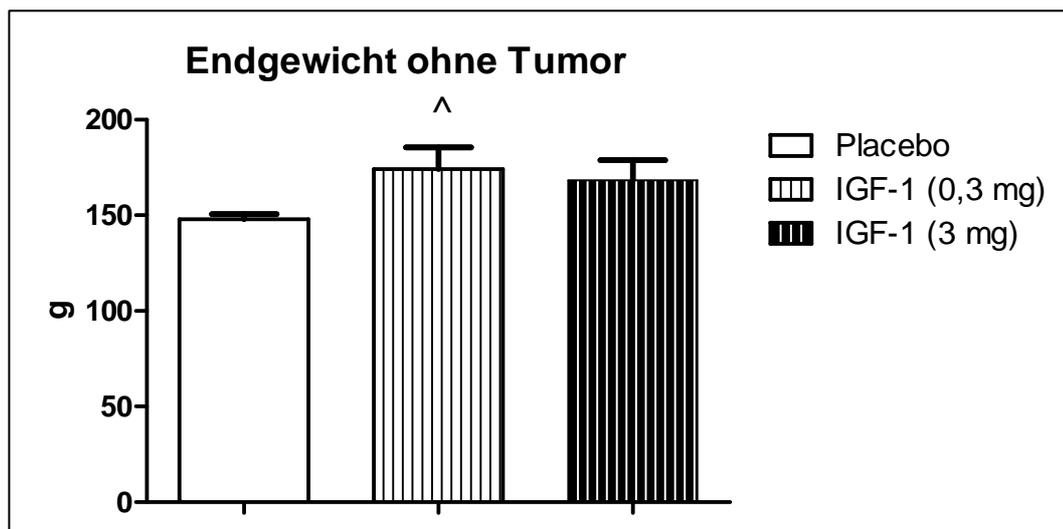


Abb. 3.18: Durchschnittliches absolutes Körpergewicht ohne Tumor zum Todeszeitpunkt. ^ p<0,05 vs. Placebo. Placebo: n=37, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=15.

Eindeutige Unterschiede bezüglich des Körpergewichts nach Tötung und Entnahme des Tumors (ANOVA=0,0081) bestanden bei der Gegenüberstellung der in Abb. 3.18 aufgeführten Gruppen. Allerdings war beim direkten Vergleich nur ein signifikant größeres Endgewicht für die Tiere, die die niedrige IGF-1 Dosierung erhalten haben zu sehen ( $174,21 \pm 11,34$  g), bezogen auf die Placebogruppe ( $147,95 \pm 2,56$  g).

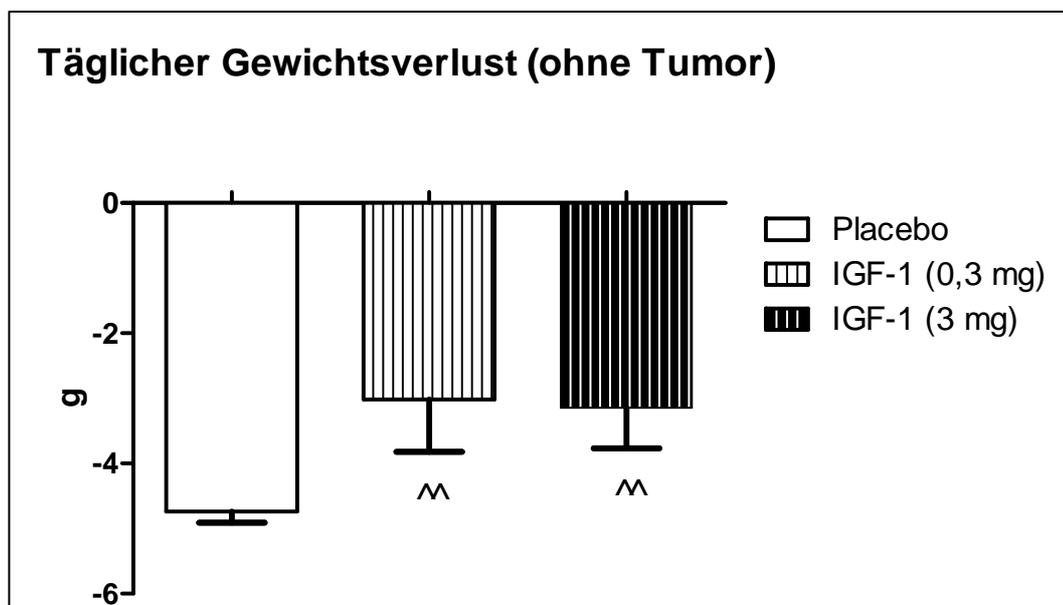


Abb. 3.19: Darstellung des mittleren täglichen Gewichtsverlusts ohne Tumor ^^ p<0,01 vs. Placebo. Placebo: n=37, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=15.

Auch die Abbildung 3.19 zeigt deutliche Unterschiede, was den täglichen Gewichtsverlust ohne Tumor angeht (ANOVA  $p=0,0044$ ). Bezogen auf die mit Placebo ( $-4,74 \pm 0,17$  g) behandelten Tiere, wiesen beide mit IGF-1 therapierten Gruppen (0,3 mg:  $-3,02 \pm 0,8$  g; 3 mg:  $-3,14 \pm 0,63$  g) signifikant geringere Gewichtsverluste pro Tag auf ( $p=0,0033$  und  $p=0,0015$ ). Der Unterschied zwischen den beiden IGF-1 Therapien war nicht signifikant ( $p=0,90$ ).

Der totale Gewichtsverlust am Ende des Versuchszeitraums lag in der Placebogruppe bei  $55,27 \pm 2,14$  g (27%), in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung bei  $39,64 \pm 11,14$  g (19%) und in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung bei  $42,67 \pm 8,81$ g (20%). Die Unterschiede hinsichtlich des Gesamtgewichtsverlust erreichten keine statistische Signifikanz (K.-W.  $p=0,11$ ).

### 3.2.4 Körperzusammensetzung

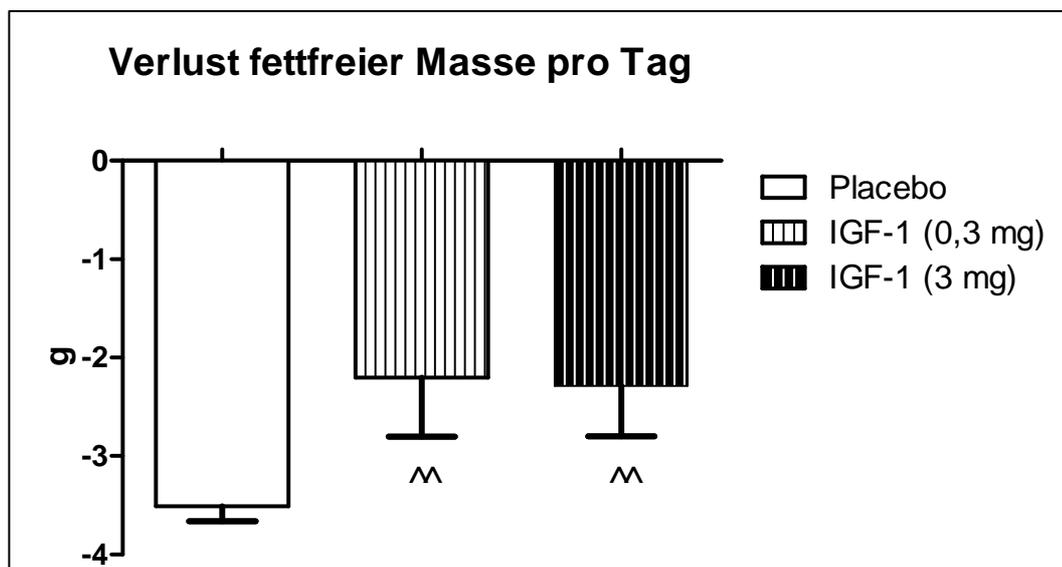


Abb. 3.20: Durchschnittlicher täglicher Verlust fettfreier Masse. ^^ p<0,01 vs. Placebo. Placebo: n=37, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=15.

Abbildung 3.20 veranschaulicht die signifikant voneinander abweichenden Durchschnittswerte für den täglichen Verlust fettfreier Masse, der zu vergleichenden Gruppen (ANOVA p=0,0065). Sowohl die niedrige (-2,2 ± 0,6 g; p=0,0044), als auch die hohe IGF-1 Dosierung (-2,29 ± 0,51 g; p=0,0033) wiesen gegenüber der Placebogruppe (-3,51 ± 0,15 g) einen signifikant geringeren Verlust an fettfreier Masse auf. Der Vergleich des täglichen Verlustes fettfreier Masse beider IGF-1 Dosierungen war nicht signifikant (p=0,90).

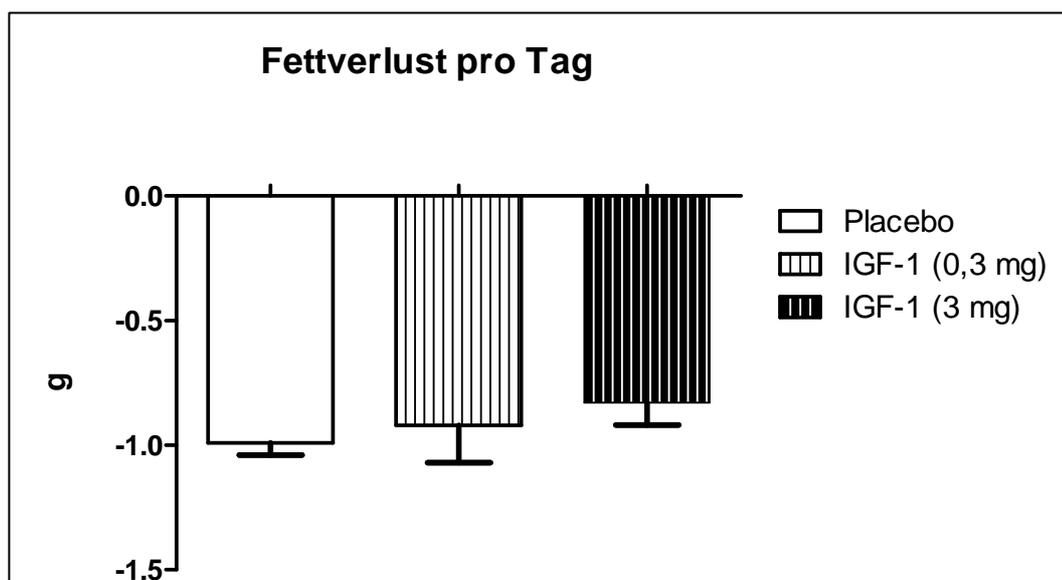


Abb. 3.21: Mittlerer Fettverlust pro Tag. Placebo: n=37, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=15.

Die Durchschnittswerte für den täglichen Fettverlust zeigten keine signifikanten Unterschiede bei den oben abgebildeten Gruppen (ANOVA  $p=0,39$ ).

**Tabelle 3.7: Darstellung der Gesamtverluste an fettfreier Masse und Fettmasse.**

Gesamtverlust (g)	Placebo (n=37)	IGF-1 (0,3 mg) (n=14)	IGF-1 (3 mg) (n=15)	ANOVA
Fettfreie Masse	41,39 ± 1,99 (26,3%)	28,8 ± 8,39 (17,5%)	30,85 ± 7,37 (18,8%)	n.s.
Fettmasse	11,48 ± 0,48 (64,2%)	12,37 ± 1,99 (56,8%)	11,02 ± 1,29 (56,5%)	n.s.

Der Gesamtverlust an fettfreier Masse und Fettmasse war in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung am geringsten ausgeprägt. Ähnlich verhielt es sich bei der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung. Die größten Verluste traten in der Placebogruppe auf. Die Abweichungen zwischen den Gruppen, hinsichtlich beider Kompartimente waren jedoch, statistisch gesehen, nicht signifikant (ANOVA  $p=0,10$  und  $p=0,73$ ).

### 3.2.5 Organgewichte

**Tabelle 3.8: Mittlere absolute Organgewichte beider IGF-1 Dosierungen und Placebo im Vergleich mit gleichzeitiger Angabe der Ergebnisse vom ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test. Signifikanzen sind mit  $^{\wedge}$   $p<0,05$ ,  $^{\wedge\wedge}$   $p<0,01$  und  $^{\wedge\wedge\wedge}$   $p<0,001$  vs. Placebo gekennzeichnet. EDL: Extensor digitalis longus, n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test.**

Organgewicht (mg)	Placebo (n=37)	IGF-1 (0,3 mg) (n=14)	IGF-1 (3 mg) (n=15)	ANOVA	K.-W.
Herz	505,21 ± 14,00	539,56 ± 31,57	528,51 ± 25,81		n.s.
Lunge	885,22 ± 29,57	1023,54 ± 108,44	925,11 ± 66,35	n.s.	
Leber	6093,39 ± 227,81	7399,51 ± 440,45 $^{\wedge}$	6756,66 ± 490,83		0,0342
Milz	163,64 ± 10,01	266,42 ± 49,29 $^{\wedge\wedge}$	217,97 ± 41,39	0,0258	
linke Niere	698,41 ± 16,58	794,21 ± 24,74 $^{\wedge\wedge}$	744,65 ± 25,94		0,0085
rechte Niere	719,89 ± 18,54	822,33 ± 21,49 $^{\wedge\wedge}$	777,81 ± 29,34		0,0039
linke Nebenniere	35,13 ± 1,77	35,29 ± 1,23	34,81 ± 1,57	n.s.	
rechte Nebenniere	34,89 ± 1,61	31,95 ± 1,39	33,17 ± 1,40	n.s.	
weißes Fett	86,38 ± 26,43	301,20 ± 126,86	146,42 ± 70,90	n.s.	
braunes Fett	78,59 ± 3,14	123,18 ± 14,80 $^{\wedge\wedge\wedge}$	109,00 ± 14,39 $^{\wedge}$	0,0009	
M. gastrocnemius	713,22 ± 14,07	847,58 ± 51,37 $^{\wedge\wedge}$	818,84 ± 52,38 $^{\wedge}$	0,0054	
M. soleus	69,73 ± 1,43	76,70 ± 3,49	73,58 ± 3,91	n.s.	
M. tibialis	262,49 ± 6,10	325,06 ± 20,48 $^{\wedge\wedge\wedge}$	295,74 ± 20,11 $^{\wedge}$	0,0030	
M. EDL	63,66 ± 1,48	74,04 ± 5,11 $^{\wedge}$	71,98 ± 4,24 $^{\wedge}$	0,0238	

Aus der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung erreichten 3 von 14 Tieren das Ende des Versuchszeitraums (Tag 16). Ausgehend von einer Gruppengröße von 15 Tieren, existierten an Tag 16 noch drei Überlebende in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung. Aus der Placebogruppe überlebten nur zwei von 37 Tieren bis zum Schluss.

Der Vergleich der drei Versuchsgruppen zeigt, dass die Organe der Behandlungsgruppe der niedrigen Dosierung von IGF-1, bis auf die linke Nebenniere, am schwersten waren. Signifikant schwerer waren insbesondere die Leber, die Milz, die linke und rechte Niere, das braune Fett, der M. gastrocnemius, M. tibialis und M. EDL. Im Gegensatz dazu waren die Organgewichte der mit Placebo behandelten Gruppe im Gesamtgruppenvergleich am leichtesten. Bezogen auf die mit Placebo behandelten Tiere, waren das braune Fett, der M. gastrocnemius, der M. tibialis und der M. EDL der höheren Dosierung von IGF-1 signifikant schwerer. Beim Vergleich der Organgewichte der beiden IGF-1 Dosierungen bestanden keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 3.8).

Zur Veranschaulichung des Verlustes an Fett sowie fettfreier Masse sollen die nachfolgenden Darstellungen vom braunen Fettgewebe und vom M. gastrocnemius dienen. Der Gehalt an braunem Fett war in der Placebogruppe signifikant verringert, verglichen sowohl mit der niedrigen IGF-1 Dosierung, als auch mit der hohen IGF-1 Dosierung. Die Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung besaß mehr braunes Fett als die Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung, aber der Unterschied war nicht signifikant ( $p=0,49$ ).

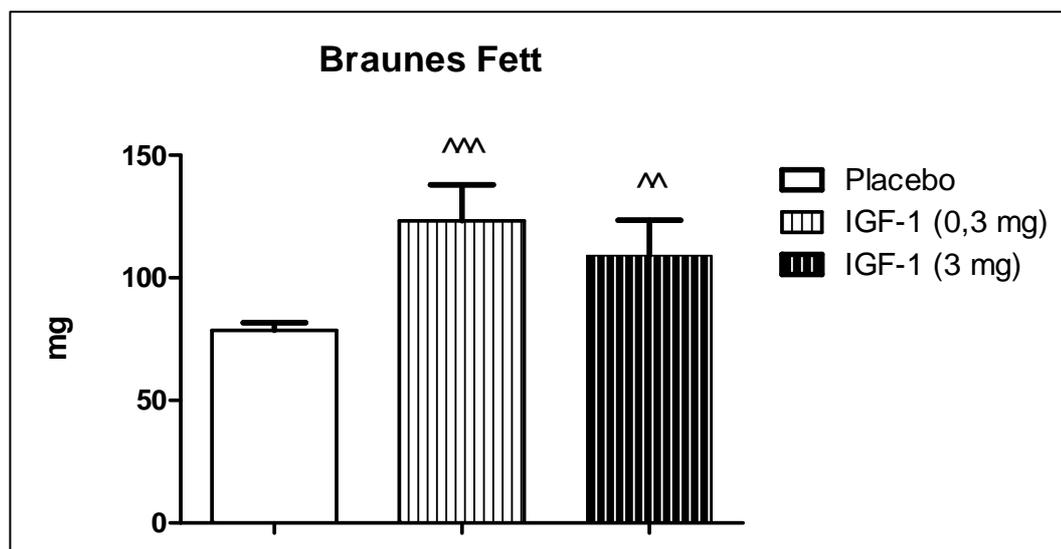


Abb. 3.22: Durchschnittliche absolute Masse an braunem Fett, das aus dem interskapulären Bereich stammt. ^^  $p<0,01$  und ^^^  $p<0,0001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , IGF-1 (0,3 mg):  $n=14$ , IGF-1 (3 mg):  $n=15$ .

Auch der M. gastrocnemius war in der Placebogruppe leichter gegenüber der niedrigen ( $p=0,0011$ ) und hohen IGF-1 Dosierung ( $p=0,0104$ ).

Der direkte Vergleich der beiden Monotherapien zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden IGF-1 Dosierungen ( $p=0,69$ ).

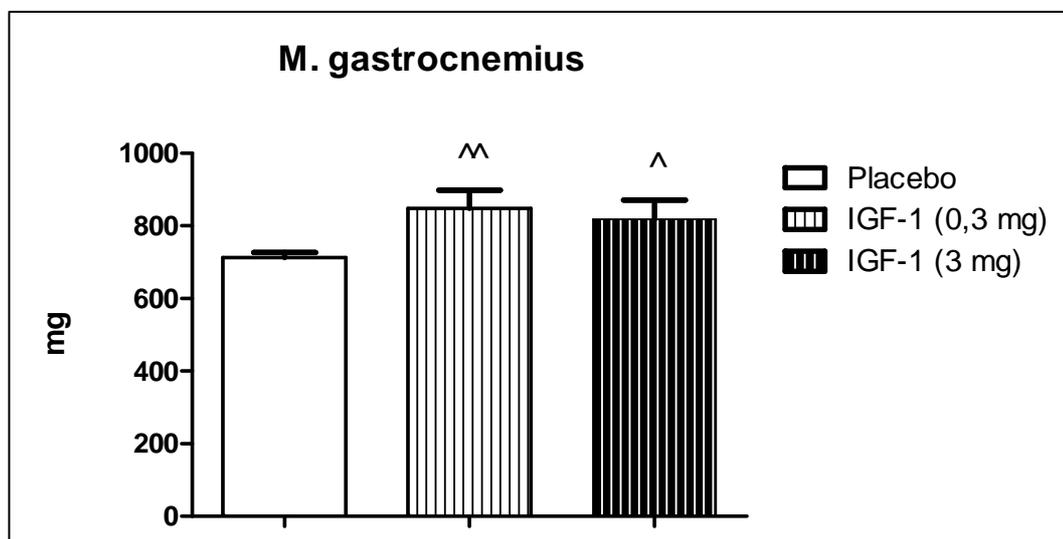


Abb. 3.23: Mittleres Gewicht des Musculus gastrocnemius. ^  $p<0,05$  und ^^  $p<0,01$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , IGF-1 (0,3 mg):  $n=14$ , IGF-1 (3 mg):  $n=15$ .

### 3.2.6 Spontane Aktivität

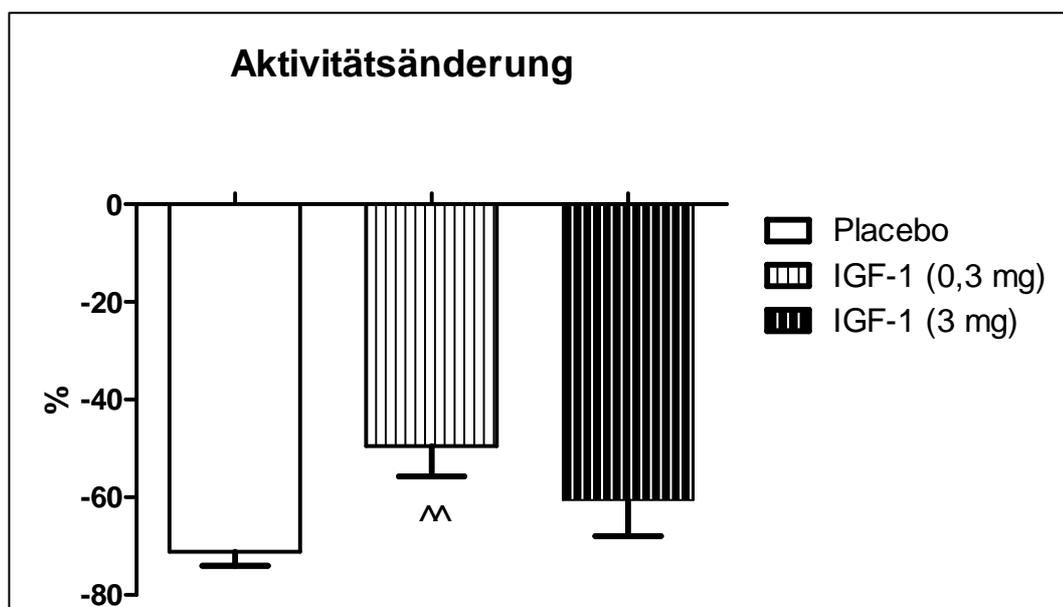


Abb. 3.24: Darstellung der Änderung der spontanen Aktivität, ermittelt an Tag 10 im Vergleich zur Messung an Tag -1. ^^  $p<0,01$  vs. Placebo. Placebo:  $n=33$ , IGF-1 (0,3 mg):  $n=14$ , IGF-1 (3 mg):  $n=14$ .

Zum Zeitpunkt der Messung der spontanen Aktivität und Futteraufnahme an Tag 10 des Versuchs waren in der Placebogruppe vier Tiere und in der IGF-1 Gruppe (3 mg) ein Tier verstorben bzw. mussten vorzeitig getötet werden.

Der Rückgang der spontanen Aktivität war unter den einzelnen Gruppen statistisch signifikant unterschiedlich (K.-W.  $p=0,0087$ ). Bei der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung fiel die Aktivitätsabnahme am geringsten aus (-49%). Der Unterschied zur Placebogruppe (-71%) war signifikant ( $p=0,0026$ ), verglichen mit der höheren Dosierung jedoch nicht ( $p=0,11$ ). Die höhere Dosierung (-61%) zeigte auch keinen signifikanten Unterschied gegenüber den mit Placebo behandelten Tieren ( $p=0,23$ ).

### 3.2.7 Futteraufnahme

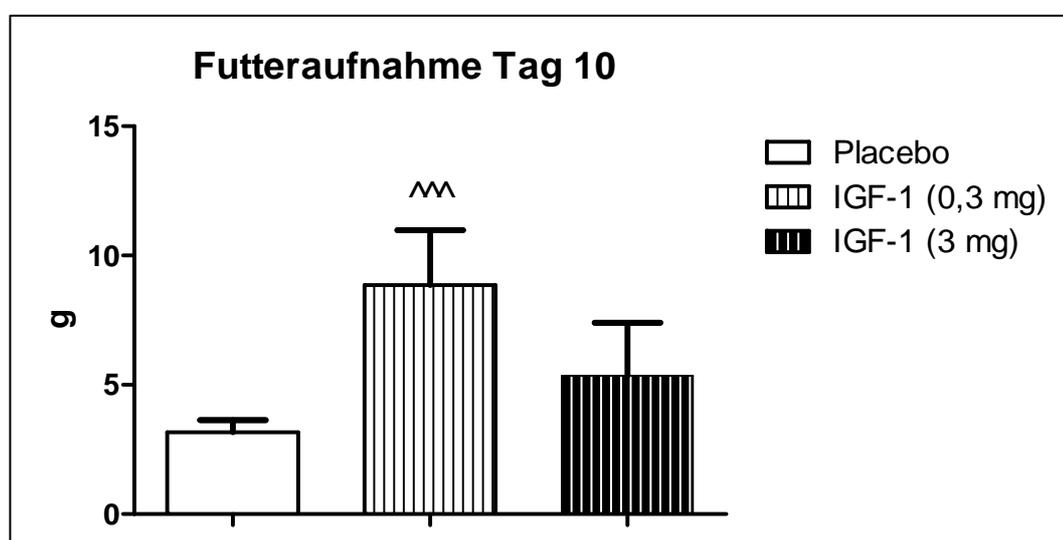


Abb. 3.25: Darstellung der an Tag 10 aufgenommenen Futtermenge.  $^^^p<0,0001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=33$ , IGF-1 (0,3 mg):  $n=14$ , IGF-1 (3 mg):  $n=14$ .

Abbildung 3.25 zeigt, dass ein deutlicher Unterschied zwischen den an Tag 10 aufgenommenen Futtermengen bestand (ANOVA  $p=0,0077$ ).

Die Placebogruppe ( $3,17 \pm 0,47$  g) nahm signifikant weniger ( $p=0,0004$ ) Futter auf im Vergleich zur Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung ( $8,86 \pm 2,12$  g). Auch gegenüber der hohen IGF-1 Dosierung ( $5,36 \pm 2,05$  g) wurde in der Placebogruppe weniger Futter aufgenommen, der Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $p=0,15$ ). Die niedrige IGF-1 Dosierung hat im Vergleich zur hohen IGF-1 Dosierung mehr gefressen, aber die Differenz erreichte keine statistische Signifikanz ( $p=0,25$ ).

### 3.2.8 Herzfunktion

Bei den an Tag 0 des Versuchs ermittelten echokardiographischen Parametern bestanden bei einzelnen Daten bereits signifikante Unterschiede (siehe Tabelle 3.9). Das enddiastolische interventrikuläre Septum war in der Placebogruppe am dünnsten und in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung am dicksten. Dazwischen siedelte sich die Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung an.

Auch die enddiastolisch und –systolisch gemessenen Hinterwände des linken Ventrikels waren in der Placebogruppe merklich dünner verglichen mit beiden IGF-1 Therapien, so dass sich signifikante Unterschiede ergaben. Die Abweichungen bei den Hinterwandstärken der verschiedenen IGF-1 Dosierungen waren nicht signifikant.

Die linksventrikuläre Masse war in der Placebogruppe deutlich verringert, so dass sich statistisch signifikante Unterschiede zu den IGF-1 Monotherapien ergaben. Signifikante Unterschiede waren auch bei der Betrachtung des Schlagvolumens festzustellen, welches in der Placebogruppe und der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung signifikant verringert war, verglichen mit der hohen IGF-1 Dosierung.

**Tabelle 3.9: Echokardiographische Parameter der Placebo-Tumorgruppe, sowie beider IGF-1 Dosierungen (0,3 mg und 3 mg) an Tag 0 des Versuchs mit Angabe der Ergebnisse vom ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test. n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test, LV: linksventrikulär, d: enddiastolisch, s: endsystolisch, LVEF: Ejektionsfraktion, LVFS: fractional shortening, LVEDV: enddiastolisches Volumen, LVESV: endsystolisches Volumen, LVSV: Schlagvolumen, LVEDD: enddiastolischer Diameter, LVESD: endsystolischer Diameter, IVS: interventrikuläres Septum, HMV: Herzminutenvolumen, HF: Herzfrequenz, bpm: beats per minute, LVPW: Hinterwand, LV mass corrected: Korrekturwert für die Masse des linken Ventrikels, E/A: Einflussprofil über der Mitralklappe. Signifikante Werte sind wie folgt gekennzeichnet: ^ p<0,05, ^^ p<0,01 und ^^^ p<0,001 vs. Placebo. # p<0,05 vs. IGF-1 (0,3 mg).**

Parameter	Placebo (n=37)	IGF-1 (0,3 mg) (n=14)	IGF-1 (3 mg) (n=15)	ANOVA	K.-W.
LVEF (%)	74,74 ± 1,47	76,98 ± 1,37	79,79 ± 1,31	n.s.	
LVFS (%)	49,17 ± 1,16	51,98 ± 2,19	53,84 ± 1,73		n.s.
EDV (ml)	253,31 ± 7,80	248,30 ± 10,37	273,03 ± 13,24		n.s.
ESV (ml)	63,46 ± 3,89	59,24 ± 3,39	55,16 ± 5,51		n.s.
LVSV (ml)	190,32 ± 7,06	196,30 ± 8,69	219,69 ± 7,56 ^, #		0,0369
LVEDD (mm)	6,22 ± 0,08	6,13 ± 0,11	6,19 ± 0,12		n.s.
LVESD (mm)	3,17 ± 0,09	2,97 ± 0,18	2,87 ± 0,14		n.s.
IVS d (mm)	1,57 ± 0,03	1,78 ± 0,09 ^^	1,65 ± 0,06	0,0200	
IVS s (mm)	2,75 ± 0,05	2,93 ± 0,12	2,99 ± 0,08		n.s.
HMV (ml/min)	78,74 ± 2,91	79,39 ± 3,57	88,68 ± 2,81		n.s.
HF (bpm)	411,28 ± 5,32	407,14 ± 7,33	412,29 ± 4,63		n.s.
LVPW d (mm)	1,75 ± 0,05	2,11 ± 0,07 ^^^	2,10 ± 0,12 ^^		<0,0001
LVPW s (mm)	2,78 ± 0,05	3,15 ± 0,09 ^^	3,27 ± 0,09 ^^^		<0,0001
LV mass (mg)	527,13 ± 12,32	652,82 ± 30,01 ^^^	624,78 ± 20,03 ^^^		<0,0001
E/A	1,55 ± 0,05	1,58 ± 0,08	1,53 ± 0,07		n.s.

Die übrigen Parameter zeigten keine statistisch relevanten Abweichungen in den Versuchsgruppen und sollen demzufolge an dieser Stelle nicht weiter besprochen werden.

**Tabelle 3.10: Echokardiographische Parameter der Placebo-Tumorgruppe, sowie bei der IGF-1 Dosierungen (0,3 mg und 3 mg) an Tag 11 des Versuchs mit Angabe der Ergebnisse vom ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test. n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test, LV: linksventrikulär, d: enddiastolisch, s: endsystolisch, LVEF: Ejektionsfraktion, LVFS: fractional shortening, LVEDV: enddiastolisches Volumen, LVESV: endsystolisches Volumen, LVSV: Schlagvolumen, LVEDD: enddiastolischer Durchmesser, LVESD: endsystolischer Durchmesser, IVS: interventrikuläres Septum, HMV: Herzminutenvolumen, HF: Herzfrequenz, bpm: beats per minute, LVPW: Hinterwand, LV mass corrected: Annäherungswert für die Masse des linken Ventrikels, E/A: Einflussprofil über der Mitralklappe. Signifikanz sind wie folgt gekennzeichnet: ^ p<0,05, ^^ p<0,01 und ^^^ p<0,0001 vs. Placebo. # p<0,05 vs. IGF-1 (0,3 mg).**

Parameter	Placebo (n=29)	IGF-1 (0,3 mg) (n=14)	IGF-1 (3 mg) (n=11)	ANOVA	K.-W.
LVEF (%)	48,94 ± 2,77	65,88 ± 3,92 ^^	67,46 ± 2,17 ^^	<0,0001	
LVFS (%)	28,13 ± 2,23	41,53 ± 3,48 ^^	43,76 ± 1,96 ^^		<0,0001
LVEDV (ml)	177,75 ± 11,45	177,05 ± 22,44	150,54 ± 20,87		n.s.
LVESV (ml)	88,85 ± 6,44	55,42 ± 6,23 ^^	45,39 ± 3,99 ^^	<0,0001	
LVSV (ml)	88,90 ± 8,20	126,86 ± 21,74	109,24 ± 18,32		n.s.
LVEDD (mm)	5,48 ± 0,09	5,34 ± 0,22	4,87 ± 0,24 ^^	0,0240	
LVESD (mm)	3,94 ± 0,13	3,10 ± 0,20 ^^	2,72 ± 0,13 ^^		<0,0001
IVS d (mm)	1,52 ± 0,05	1,78 ± 0,09	1,96 ± 0,06 ^^		0,0001
IVS s (mm)	2,20 ± 0,07	2,80 ± 0,10 ^^	2,96 ± 0,07 ^^		<0,0001
HMV (ml/min)	30,94 ± 3,62	46,68 ± 9,80	40,77 ± 9,67	n.s.	
HF (bpm)	343,33 ± 19,12	343,00 ± 15,16	328,62 ± 17,65	n.s.	
LVPW d (mm)	1,63 ± 0,04	1,72 ± 0,05	1,89 ± 0,06 ^^,#		0,0043
LVPW s (mm)	2,11 ± 0,07	2,47 ± 0,12 ^	2,61 ± 0,06 ^^	0,0002	
LV mass (mg)	401,74 ± 10,88	450,80 ± 18,49 ^	459,03 ± 21,30 ^		0,0237
E/A	1,58 ± 0,31	1,46 ± 0,08	1,66 ± 0,10	n.s.	

Die Messung funktioneller Herzparameter an Tag 11 des Versuchs konnte bei 8 Tieren der Placebogruppe und 4 Tieren der Gruppe der höheren IGF-1 Dosierung nicht vorgenommen werden, da diese Tiere bereits vorzeitig aus dem Versuch ausgeschieden sind.

Die Tabelle 3.10 verdeutlicht, dass bis auf das enddiastolische Volumen, das Schlag- und Herzminutenvolumen, die Herzfrequenz sowie die E/A-Ratio, die Parameter sich nicht signifikant voneinander unterscheiden haben. Erhebliche Abweichungen beim überwiegenden Teil der erhobenen Daten bestanden.

Der enddiastolische Durchmesser war bei der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung am kleinsten. Den größten Durchmesser brachte die Placebo-Tumorgruppe hervor, wodurch sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung und der letztgenannten Gruppe ergab.

Auch der endsystolische Durchmesser fiel in der Placebogruppe am größten und in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung am kleinsten aus. Eine Differenz gegenüber der Placebogruppe war hier nicht nur für die Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung statistisch signifikant, sondern auch für die Tiere der niedrigen IGF-1 Dosierung. Sowohl die in der Diastole als auch in der Systole ermittelten Werte für die Hinterwände waren signifikant dünner in der Placebogruppe verglichen mit beiden IGF-1 Therapien. Am Ende der Diastole war auch die Hinterwand der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung signifikant dünner, als die der Gruppe der hohen Dosierung. Die linksventrikuläre Masse war in der Placebogruppe signifikant kleiner, als in den IGF-1 Behandlungsgruppen, wobei der Unterschied zwischen den letztgenannten Gruppen diesbezüglich nicht signifikant ausfiel. Das endsystolische Volumen war in der Placebogruppe fast doppelt so groß, wie das der IGF-1 Behandlung der hohen Dosierung. Im Bereich dazwischen lag die Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung.

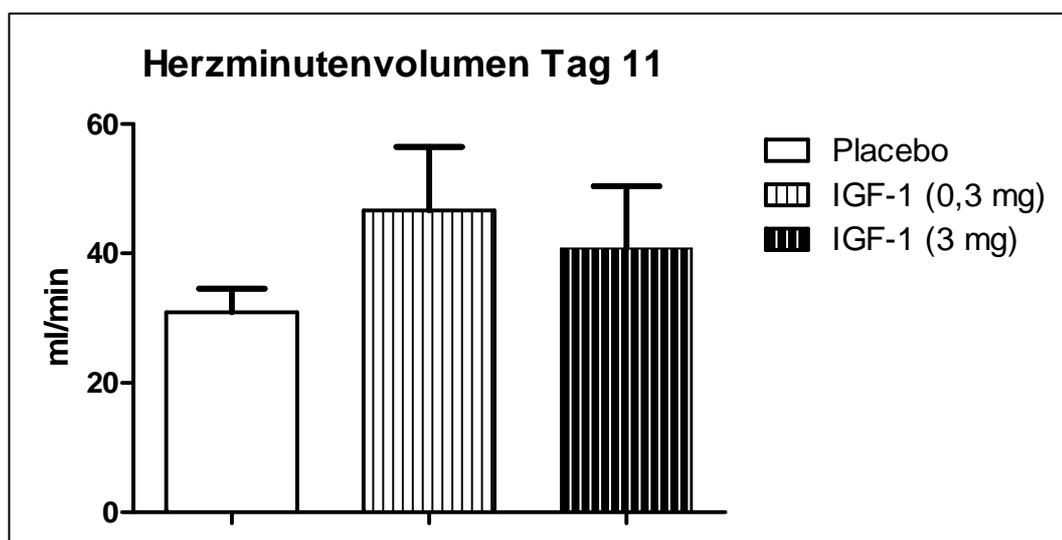


Abb. 3.26: Darstellung des durchschnittlichen Blutvolumens, das pro Minute aus dem Herzen gepumpt wird. Placebo: n=29, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=11.

Abb. 3.26 zeigt, dass das größte Herzminutenvolumen in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung aus dem Ventrikel befördert wurde, gefolgt von der Gruppe der höheren IGF-1 Dosierung. Die mit Placebo behandelten Tiere hatten in diesem Vergleich das kleinste Herzminutenvolumen. Es bestand keine statistische Signifikanz bei diesem Vergleich (ANOVA  $p=0,19$ ).



Abb. 3.27: Darstellung der Ejektionsfraktion, ermittelt an Tag 11.  $^{^^^} p=0,0009$  IGF-1 (0,3 mg) vs. Placebo und  $^{^^^} p<0,0001$  IGF-1 (3 mg) vs. Placebo. Placebo: n=29, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=11.

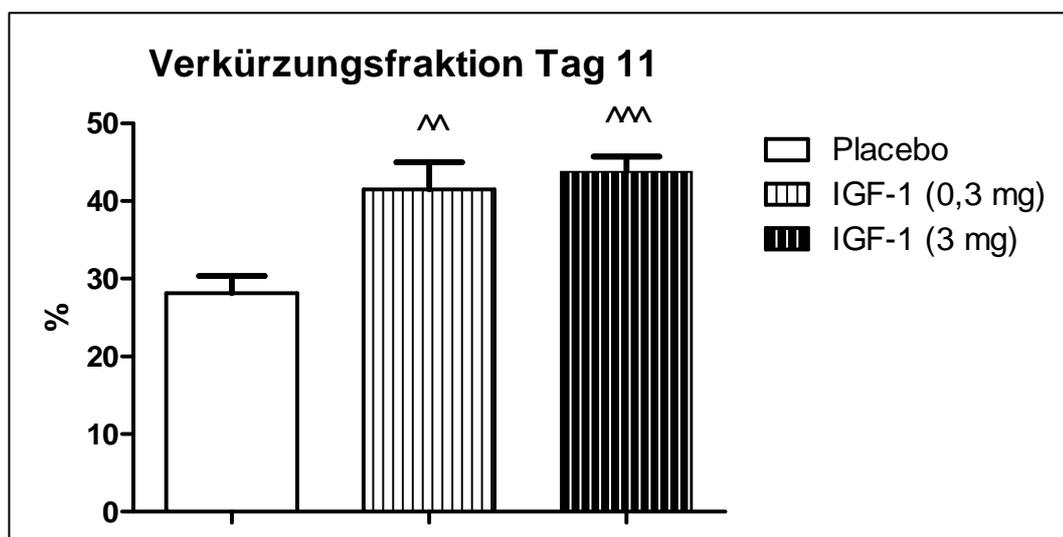


Abb. 3.28: Verkürzungsfraktion an Tag 11 des Versuchs.  $^{^^} p=0,0021$  IGF-1 (0,3 mg) vs. Placebo und  $^{^^^} p<0,0001$  IGF-1 (3 mg) vs. Placebo. Placebo: n=29, IGF-1 (0,3 mg): n=14, IGF-1 (3 mg): n=11.

Die Herzfunktionsparameter LVEF und LVFS waren in der Placebogruppe, verglichen mit beiden IGF-1 Dosierungen, deutlich verschlechtert. Dagegen bestand beim Vergleich der IGF-1 Behandlungsgruppen miteinander kein signifikanter Unterschied.

Alle verbleibenden, in der Tabelle 3.10 aufgeführten echokardiographischen Parameter haben sich nicht signifikant voneinander unterschieden und werden deshalb an dieser Stelle nicht weiter besprochen.

### 3.3 Vergleich aller Versuchsgruppen

An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass ein Vorversuch mit 16 Tieren stattgefunden hat, auf den im Ergebnisteil nicht weiter eingegangen wird. Der Zweck dieses Versuchs war es, die effektive Dosis von Bisoprolol zu ermitteln, die dann in der Kombinationstherapie eingesetzt wurde (siehe Kapitel 2.3.1). Dazu erhielten die Hälfte der Tiere Bisoprolol in einer Dosierung von 5 mg pro kg Körpergewicht/Tag. Die anderen 8 Tiere wurden mit 50 mg Bisoprolol pro kg Körpergewicht/Tag behandelt. Als effektive Dosis wurde die niedrige Dosierung von Bisoprolol gewählt.

#### 3.3.1 Mortalität

Im gesamten Beobachtungszeitraum starben in der Bisoprololgruppe 3 Tiere (37 %), in der IGF-1 Gruppe 11 Tiere (79%), in den Gruppen der Kombinationstherapien jeweils 6 Tiere (niedrige Kombination: 86%; hohe Kombination: 75%) und in der Placebogruppe 35 Tiere (95%).

Der Log-rank (Mantel-Cox) Test zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Überlebenswahrscheinlichkeiten der fünf Behandlungsgruppen ( $p=0,08$ ).

**Tabelle 3.11: Darstellung der einzelnen Gruppen im direkten Vergleich mit Angabe der Ergebnisse des Log-rank (Mantel-Cox) Test, der Hazard Ratio und dem 95% CI.**

Gruppen	Hazard Ratio	95% CI	p-Wert
Placebo vs. Bisoprolol	0,28	0,12-0,66	0,004
Placebo vs. IGF-1	0,44	0,21-0,93	0,03
Placebo vs. Biso-IGF-1 (25%)	0,56	0,21-1,46	0,23
Placebo vs. Biso-IGF-1 (75%)	0,58	0,23-1,44	0,24
Bisoprolol vs. IGF-1	0,44	0,13-1,46	0,18
Bisoprolol vs. Biso-IGF-1 (25%)	0,32	0,08-1,31	0,11
Bisoprolol vs. Biso-IGF-1 (75%)	0,33	0,07-1,43	0,14
IGF-1 vs. Biso-IGF-1 (25%)	0,76	0,22-2,61	0,67
IGF-1 vs. Biso-IGF-1 (75%)	0,73	0,22-2,37	0,61
Biso-IGF-1 (25%) vs. Biso-IGF-1 (75%)	1,06	0,29-3,77	0,93

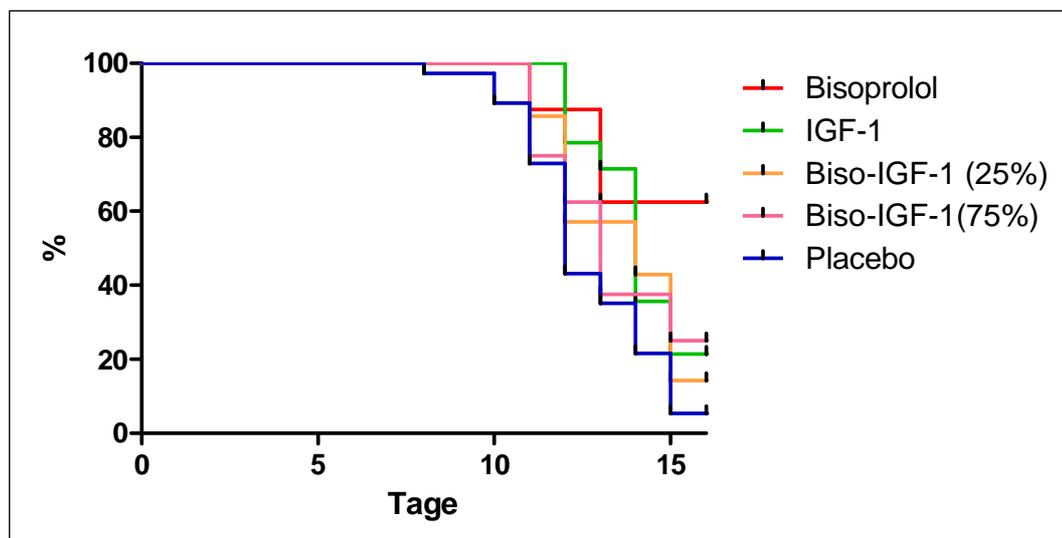


Abb. 3.29: Überlebenswahrscheinlichkeiten aller Versuchsgruppen in der Kaplan-Meier-Darstellung. Placebo: n=37, Bisoprolol: n=8, IGF-1: n=14, Biso-IGF-1 (25%): n=7, Biso-IGF-1 (75%): n=8, p=0,08.

Tabelle 3.12: Kaplan-Meier Überlebensanalyse für alle Versuchsgruppen.

Gruppen	Verstorbene (Anzahl n)	% Überlebende (95% CI)
Bisoprolol (n=8)	3	63% (29-96)
IGF-1 (n=14)	11	21% (0-43)
Biso-IGF-1 (25%) (n=7)	6	14% (0-39)
Biso-IGF-1 (75%) (n=8)	6	25% (0-55)
Placebo (n=37)	35	5% (0-13)

### 3.3.2 Tumoreigenschaften

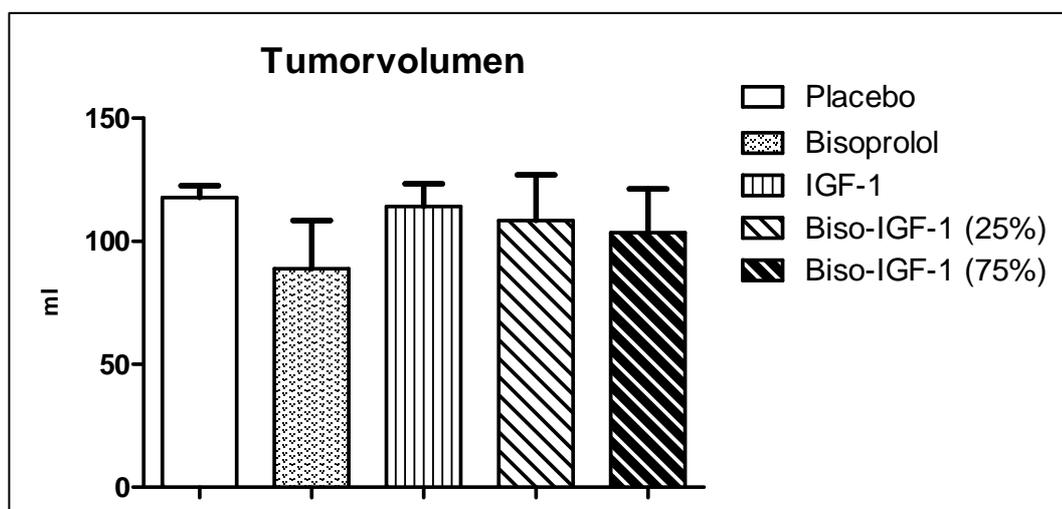


Abb. 3.30: Durchschnittliches Volumen des Tumors nach seiner Entnahme aus der Bauchhöhle. Placebo: n=37, Bisoprolol: n=8, IGF-1: n=14, Biso-IGF-1 (25%): n=7, Biso-IGF-1 (75%): n=8.

Die Menge der Tumorflüssigkeit variierte unter den zu vergleichenden Versuchsgruppen, allerdings nicht in dem Maße, dass die Werte statistische Signifikanz erreichten (K.-W.  $p=0,79$ ). Das geringste Volumen hatte die Tumorflüssigkeit der Bisoprololgruppe ( $88,75 \pm 19,67$  ml), gefolgt von den Tieren der Kombinationstherapien (75%:  $103,62 \pm 17,69$  ml und 25%:  $108,43 \pm 18,51$  ml). Die Tumorflüssigkeit der mit IGF-1 behandelten Tiere ( $114,21 \pm 9,15$  ml) und nachfolgend der Placebogruppe ( $117,76 \pm 4,74$  ml) hatten das größte Volumen.

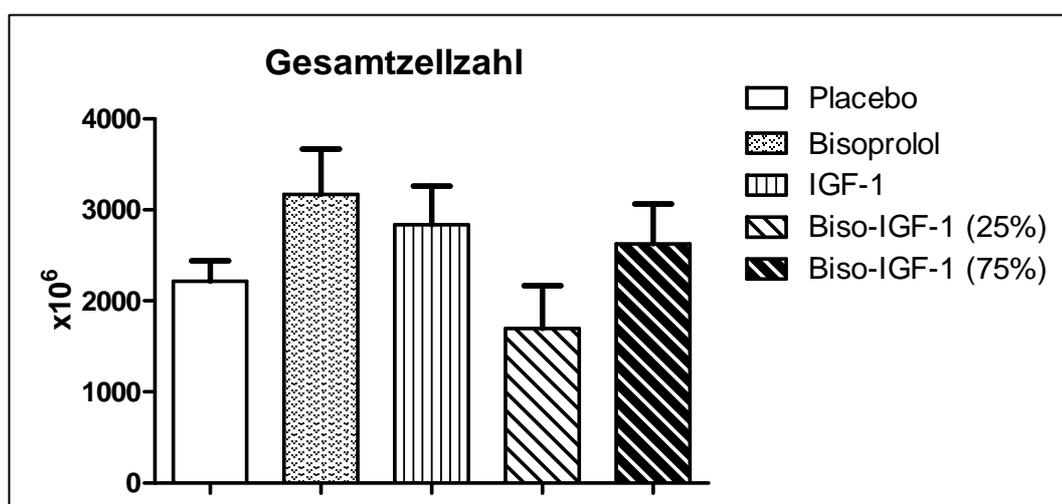


Abb. 3.31: Durchschnittliche Anzahl der Tumorzellen in der gesamten Tumorflüssigkeit. Placebo: n=37, Bisoprolol: n=8, IGF-1: n=14, Biso-IGF-1 (25%): n=7, Biso-IGF-1 (75%): n=8.

Trotz unterschiedlicher Gesamtzellzahlen fiel der Vergleich der fünf Behandlungsgruppen nicht signifikant aus (K.-W.  $p=0,25$ ). Die geringste Anzahl von Zellen war in der Tumorflüssigkeit der Kombinationstherapie 25% ( $1697,88 \pm 471,63$ ) enthalten, gefolgt von der Placebogruppe ( $2211,51 \pm 227,27$ ). Den größten Gehalt an Tumorzellen hatte die Bisoprololgruppe ( $3171,21 \pm 496$ ). Dazwischen lag die Gruppe der IGF-1 Therapie ( $2837,88 \pm 422,67$ ) und die Gruppe der Kombinationsbehandlung 75% ( $2625,22 \pm 441,31$ ).

### 3.3.3 Gewichtsverlauf

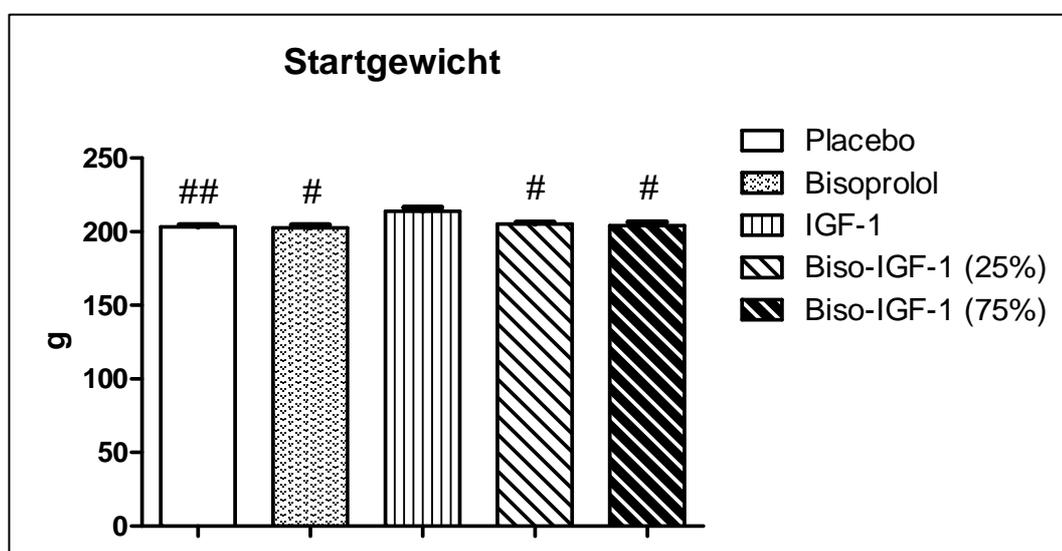


Abb. 3.32: Mittleres absolutes Gewicht der Gruppen zu Beginn des Versuchs. #  $p<0,05$  und ##  $p<0,01$  vs. IGF-1. Placebo:  $n=37$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1(25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Bereits zu Beginn des Versuchs war das Körpergewicht der IGF-1 Gruppe signifikant höher, als das der übrigen Versuchsgruppen (ANOVA  $p=0,0045$ ).

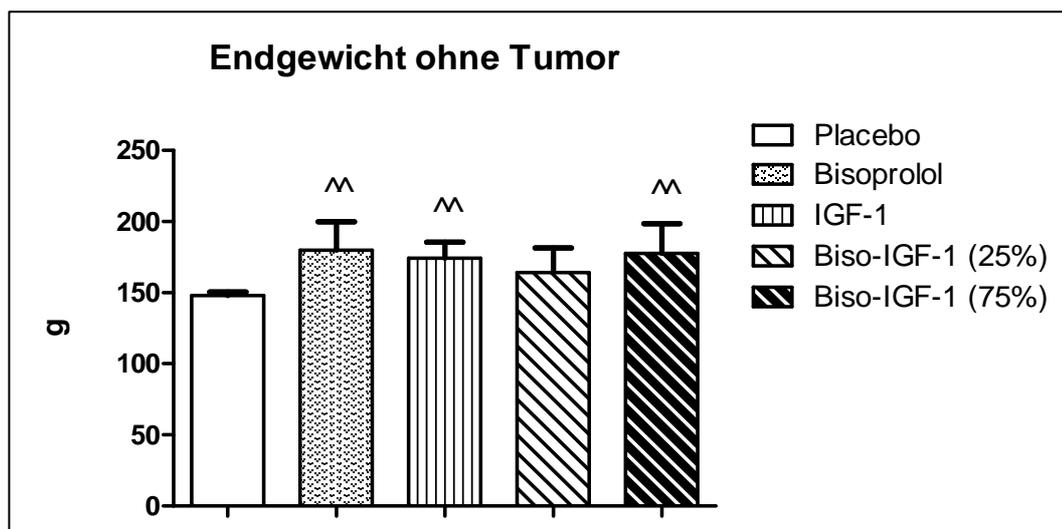


Abb. 3.33: Mittleres absolutes Endgewicht der Versuchsgruppen ohne Tumor. ^^  $p < 0,01$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Das Endgewicht (ohne Tumor) hat sich bei den in Abb. 3.33 dargestellten Behandlungsgruppen signifikant voneinander unterschieden (ANOVA  $p=0,0426$ ).

Die Endgewichte der Bisoprololgruppe ( $179,88 \pm 19,94$  g), der IGF-1 Gruppe ( $174,21 \pm 11,34$  g) sowie der Gruppe der Kombination 75% ( $177,62 \pm 20,89$  g) waren im Vergleich zur Placebogruppe ( $147,95 \pm 2,56$  g) signifikant größer. Das Endgewicht der Gruppe der niedrigen Kombination ( $164 \pm 17,39$  g) war, statistisch gesehen, nicht signifikant größer als das der Placebogruppe.

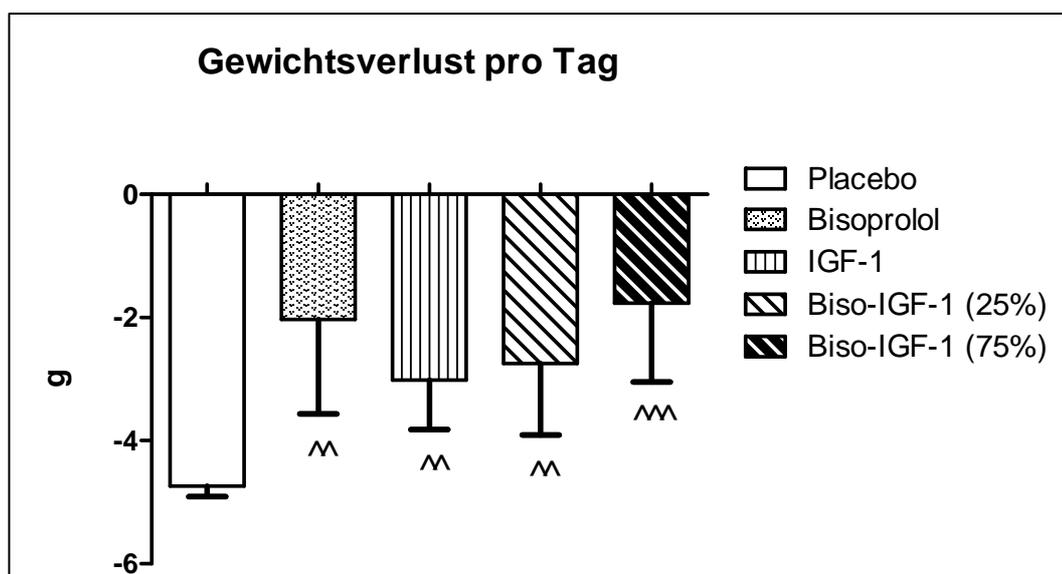


Abb. 3.34: Durchschnittlicher täglicher Gewichtsverlust der Versuchsgruppen. ^^  $p < 0,01$  und ^^  $p < 0,001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Abb. 3.34 verdeutlicht den signifikant größeren Gewichtsverlust der Placebogruppe ( $-4,74 \pm 0,17$  g) gegenüber den anderen Behandlungsgruppen (ANOVA  $p=0,0047$ ). Am geringsten war der Gewichtsverlust pro Tag in der Gruppe der Kombinationsbehandlung 75% ( $-1,77 \pm 1,28$  g) ausgeprägt, gefolgt von der Bisoprololgruppe ( $-2,03 \pm 1,54$  g). Dazwischen reiht sich mit einem Verlust von  $2,75 \pm 1,16$  g die Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung und die IGF-1 Gruppe ( $-3,02 \pm 0,8$  g) ein.

Insgesamt gesehen hat die Placebogruppe mit  $55,27 \pm 2,14$  g (27%) am meisten Gewicht verloren. Ein geringerer Gesamtgewichtsverlust wurde in absteigender Reihenfolge für die Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung ( $-41,29 \pm 17,35$  g; 20%), die IGF-1 Gruppe ( $-39,64 \pm 11,14$  g; 19%) und die Gruppe der Kombination 75% ( $-26,5 \pm 19,21$  g; 13%) dokumentiert. Der geringste Gewichtsverlust trat mit  $22,75 \pm 20,21$  g (11%) in der Bisoprololgruppe auf. Die Unterschiede bezüglich des Gesamtgewichtsverlustes in den einzelnen Gruppen waren statistisch nicht signifikant (ANOVA  $p=0,07$ ).

### 3.3.4 Körperzusammensetzung

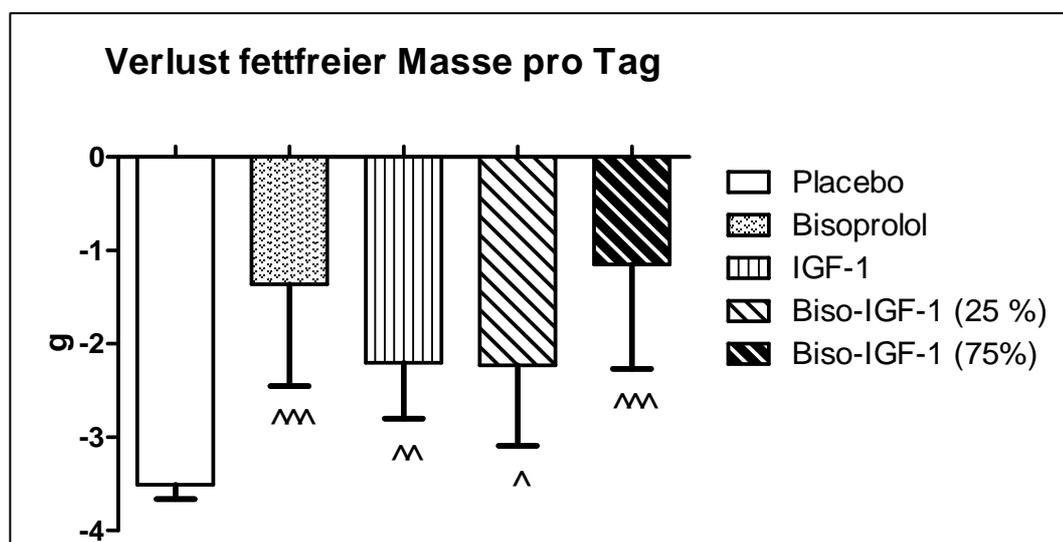


Abb. 3.35: Durchschnittlicher Verlust fettfreier Masse pro Tag. ^  $p<0,05$ , ^^  $p<0,01$  und ^^  $p<0,001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Beim täglichen Verlust fettfreier Masse zeigt die Abb. 3.35 den signifikanten Unterschied zwischen der Placebogruppe und den übrigen Behandlungsgruppen (ANOVA  $p=0,0048$ ). Der tägliche Verlust fettfreier Masse war in der Placebogruppe ( $-3,51 \pm 0,15$  g) und nachfolgend der Gruppe der Kombination 25% ( $-2,23 \pm 0,86$  g) am stärksten ausgeprägt.

Am wenigsten fettfreie Masse pro Tag hat die Gruppe der hohen Kombinationstherapie verloren ( $-1,15 \pm 1,12$  g), gefolgt von der Bisoprololgruppe ( $-1,36 \pm 1,09$  g). Dazwischen lag mit einem täglichen Verlust von  $2,20 \pm 0,6$  g fettfreier Masse die IGF-1 Gruppe.

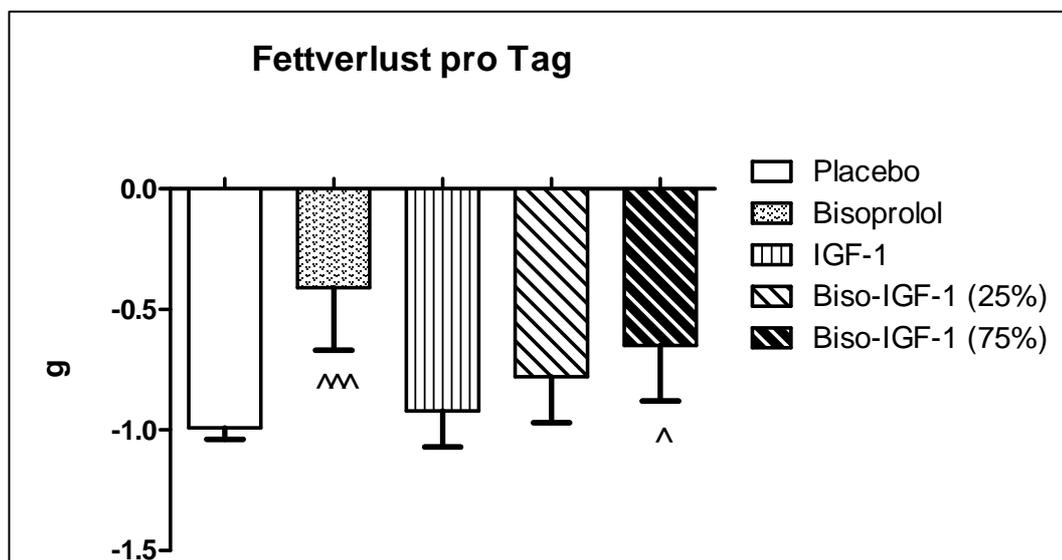


Abb. 3.36: Durchschnittlicher täglicher Fettverlust. ^  $p < 0,05$  und ^^  $p < 0,001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Auch bezüglich des täglichen Fettverlustes bestand seitens der Bisoprololgruppe ( $-0,41 \pm 0,26$  g) und der Gruppe der Kombination 75% ( $-0,65 \pm 0,23$  g) ein signifikanter Unterschied (ANOVA  $p=0,0256$ ) gegenüber der Placebogruppe ( $-0,99 \pm 0,05$ ) wie Abb. 3.36 zu entnehmen ist. Den größten Fettmasseverlust hatten neben der Placebogruppe die Tiere der IGF-1 Gruppe ( $-0,92 \pm 0,15$  g) und die der niedrigen Kombinationsbehandlungsgruppe ( $-0,78 \pm 0,19$  g) zu verzeichnen.

Tabelle 3.13: Gesamtverlust an fettfreier Masse und Fettmasse. n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test.

Gesamtverlust (g)	Placebo (n=37)	Bisoprolol (n=8)	IGF-1 (n=14)	Biso-IGF-1 (25%) (n=7)	Biso-IGF-1 (75%) n=8	K.-W.
Fettfreie Masse	$41,39 \pm 1,99$ (26,3%)	$15,15 \pm 14,4$ (10%)	$28,8 \pm 8,39$ (17,5%)	$33,43 \pm 12,84$ (21%)	$17,28 \pm 16,81$ (11%)	n.s.
Fettmasse	$11,48 \pm 0,48$ (64,2%)	$4,83 \pm 3,36$ (28%)	$12,37 \pm 1,99$ (57%)	$11,65 \pm 2,79$ (58,5%)	$9,73 \pm 3,41$ (47%)	n.s.

Die Gesamtverluste an fettfreier Masse und Fettmasse unterschieden sich bei den in Tabelle 3.13 aufgeführten Gruppen nicht signifikant voneinander (ANOVA  $p=0,06$  und  $p=0,07$ ). Die geringsten Verluste traten in der Bisoprololgruppe auf. Stärker ausgeprägt waren die Verluste in aufsteigender Reihenfolge in der Gruppe der Kombination 75%, der IGF-1 Gruppe und der Gruppe der Kombination 25%. Die Placebogruppe hatte die größten Einbußen zu verzeichnen.

### 3.3.5 Organgewichte

**Tabelle 3.14: Mittlere Organgewichte aller Versuchsgruppen unter Angabe der Ergebnisse vom ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test. n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test. Signifikanzen sind mit  $^*p<0,05$ ,  $^{**}p<0,01$  und  $^{***}p<0,001$  vs. Placebo gekennzeichnet.**

Organgewicht (mg)	Placebo (n=37)	Bisoprolol (n=8)	IGF-1 (n=14)	Biso-IGF-1 (25%) (n=7)	Biso-IGF-1 (75%) (n=8)	ANOVA	K.-W.
Herz	505.21 ± 14.00	618.44 ± 47.90	539.56 ± 31.57	532.59 ± 58.41	580.57 ± 50.21		n.s.
Lunge	885.22 ± 29.57	976.30 ± 54.39	1023.54 ± 108.44	967.70 ± 96.11	911.15 ± 65.79	n.s.	
Leber	6093.39 ± 227.81	7247.81 ± 829.46	7399.51 ± 440.45	6948.24 ± 901.53	7805.40 ± 1017.21	n.s.	
Milz	163.64 ± 10.01	416.56 ± 123.42 $^{***}$	266.42 ± 49.29 $^{**}$	252.11 ± 95.25	313.31 ± 99.39 $^{**}$	0,0078	
linke Niere	698.41 ± 16.58	751.10 ± 44.94	794.21 ± 24.74 $^{**}$	814.64 ± 64.90 $^*$	807.15 ± 57.15 $^*$		0,0169
rechte Niere	719.89 ± 18.54	784.14 ± 49.95	822.33 ± 21.49 $^{**}$	838.81 ± 59.54 $^*$	861.86 ± 60.50 $^*$		0,0072
linke NN	35.13 ± 1.77	27.73 ± 1.76	35.29 ± 1.23	39.39 ± 3.91	34.49 ± 2.23	n.s.	
rechte NN	34.89 ± 1.61	28.14 ± 2.66	31.95 ± 1.39	33.73 ± 2.58	33.94 ± 2.55		n.s.
weißes Fett	86.38 ± 26.43	532.47 ± 209.90	301.20 ± 126.86	214.74 ± 204.83	219.22 ± 123.84	<0,0001	
braunes Fett	78.59 ± 3.14	128.55 ± 26.56 $^{***}$	123.18 ± 14.80 $^{***}$	104.93 ± 24.60 $^*$	121.97 ± 17.87 $^{***}$	0,0029	
M. gastrocnemius	713.22 ± 14.07	806.27 ± 143.40	847.58 ± 51.37 $^{***}$	778.19 ± 87.09 $^*$	869.86 ± 84.83 $^{***}$	n.s.	
M. soleus	69.73 ± 1.43	74.31 ± 6.45	76.70 ± 3.49	72.00 ± 5.50	80.13 ± 6.42	n.s.	
M. tibialis	262.49 ± 6.10	309.27 ± 34.03 $^*$	325.06 ± 20.48 $^{***}$	283.86 ± 29.34	315.07 ± 30.95 $^{**}$	0,0168	
M. edl	63.66 ± 1.48	72.81 ± 7.81	74.04 ± 5.11	70.59 ± 6.30	73.92 ± 6.47	n.s.	

Am Tag 16 (Ende des Versuchszeitraums) lebten in der Placebogruppe noch 2 Tiere, in der Bisoprololgruppe 5 Tiere, in der IGF-1 Gruppe 3 Tiere, in der Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung 1 Tier und in der Gruppe der Kombination (75%) 2 Tiere.

Der Gesamtgruppenvergleich hat statistisch signifikante Unterschiede bei der Milz, der rechten und linken Niere, beim weißen und braunem Fett sowie dem M. tibialis ergeben (siehe Tab. 3.14). Signifikant höhere Gewichte der Milz im Vergleich zur Placebogruppe wurden in der IGF-1 Gruppe ( $p=0,004$ ), der Gruppe der Kombination 75% ( $p=0,004$ ) und in der Bisoprololgruppe ( $p=0,0001$ ) festgestellt. Sowohl das Gewicht der linken als auch der rechten Niere war in der IGF-1 Gruppe (links  $p=0,004$ ; rechts  $p=0,0018$ ), der Gruppe der Kombination 25% (links  $p=0,0467$ ; rechts  $p=0,0432$ ) und der Gruppe der Kombination 75% (links  $p=0,0367$ ; rechts  $p=0,0155$ ) signifikant höher als in der Placebogruppe. Des Weiteren besaßen die IGF-1 Gruppe ( $p=0,0184$ ) und die Bisoprololgruppe ( $p=0,0002$ ) deutlich mehr weißes Fett, als die Placebogruppe.

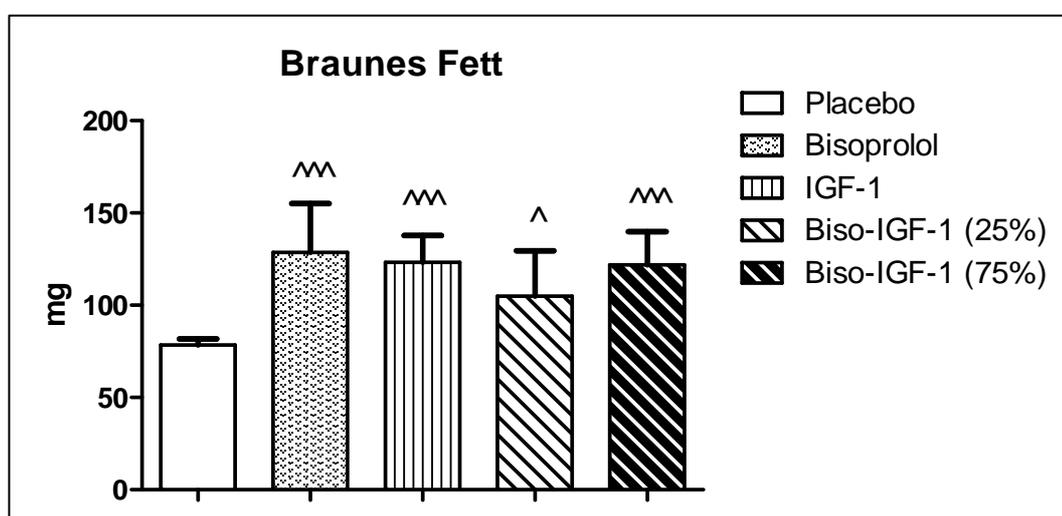


Abb. 3.37: Mittleres Gewicht des braunen Fettgewebes. ^  $p<0,05$  und ^^  $p<0,001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=37$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Abbildung 3.37 zeigt signifikante Abweichungen beim Gewicht des braunen Fettgewebe (ANOVA  $p=0,0029$ ). Den größeren Gehalt an braunem Fettgewebe im Vergleich zur Placebogruppe ( $78.59 \pm 3.14$  g) hatten in aufsteigender Reihenfolge die Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung ( $104.93 \pm 24.6$  g), die Bisoprololgruppe ( $128.55 \pm 26.56$  g), die Gruppe der Kombination 75% ( $121.97 \pm 17.87$  g) und die IGF-1 Gruppe ( $123.18 \pm 14.80$  g).

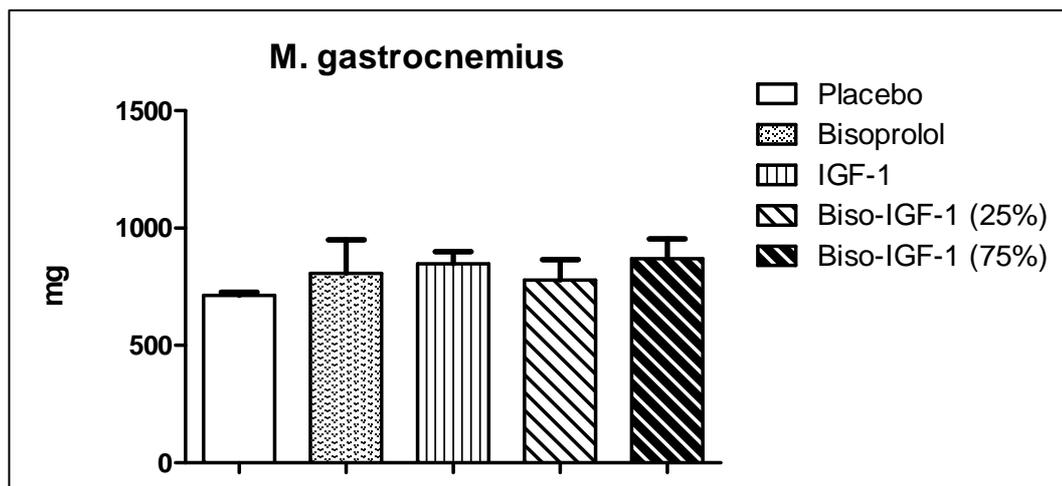


Abb. 3.38: Darstellung des M. gastrocnemius. Placebo: n=37, Bisoprolol: n=8, IGF-1: n=14, Biso-IGF-1 (25%): n=7, Biso-IGF-1 (75%): n=8.

Es gab unter den in Abb. 3.38 dargestellten Behandlungsgruppen keine statistisch signifikanten Abweichungen bezüglich des Gewichts des M. gastrocnemius (K.-W.  $p=0,09$ ).

### 3.3.6 Spontane Aktivität

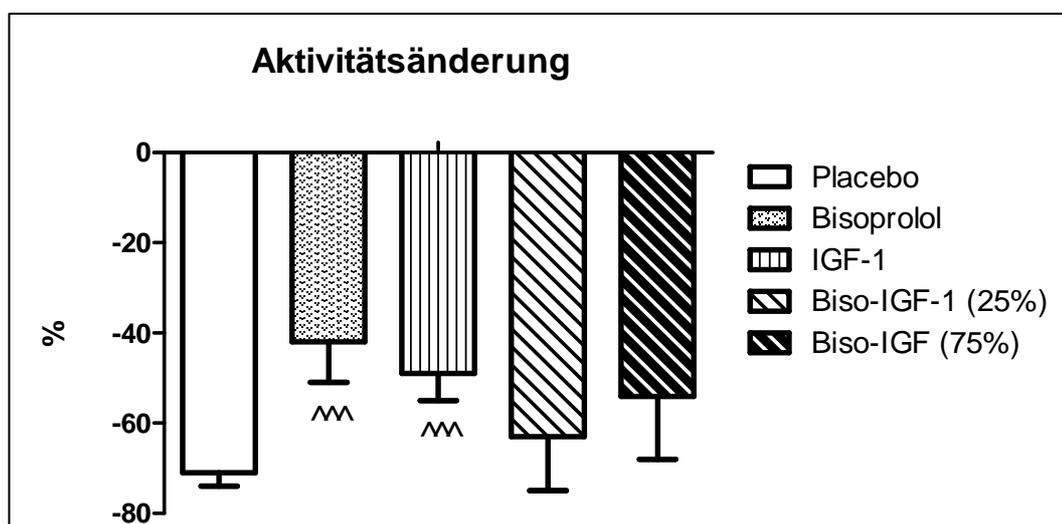


Abb. 3.39: Durchschnittliche Änderung der Aktivität, an Tag 10 ermittelt im Vergleich zu Tag -1.  $^^^ p<0,001$  vs. Placebo. Placebo: n=33, Bisoprolol: n=8, IGF-1: n=14, Biso-IGF-1 (25%): n=7, Biso-IGF-1 (75%): n=8.

Zum Zeitpunkt der Messung der spontanen Aktivität und der Futteraufnahme waren lediglich in der Placebogruppe 4 Tiere verstorben oder mussten vorzeitig getötet werden.

In Abb. 3.39 wird die Abnahme der Bewegungsintensität von Tag -1 zu Tag 10 des Versuchs veranschaulicht. Der Gesamtgruppenvergleich verdeutlicht signifikante Unterschiede (ANOVA  $p=0,0067$ ) hinsichtlich des Aktivitätsrückganges der Placebogruppe (-71%) im Vergleich zur Bisoprololgruppe (-42%) und zur IGF-1 Gruppe (-49%). Neben der Placebogruppe fiel der Rückgang der Bewegungsintensität in der Gruppe der Kombination 25% am stärksten aus (63%), gefolgt von der Gruppe der hohen Kombination (-54%).

### 3.3.7 Futteraufnahme

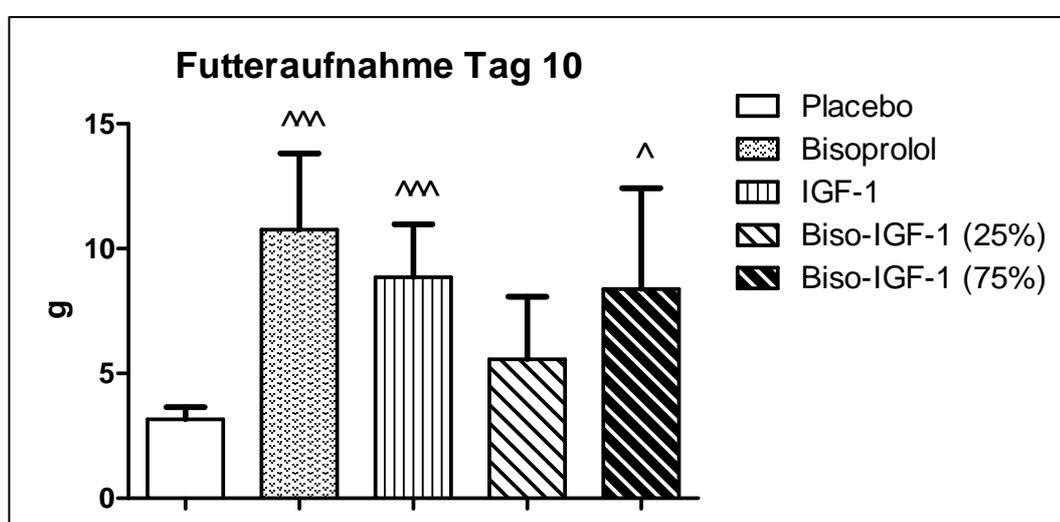


Abb. 3.40: Darstellung der an Tag 10 des Versuchs durchschnittlich aufgenommenen Futtermenge. ^  $p<0,05$  und ^^  $p<0,001$  vs. Placebo. Placebo:  $n=33$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=7$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=8$ .

Die aufgenommene Futtermenge der in Abb. 3.40 dargestellten Behandlungsgruppen unterschied sich signifikant an Tag 10 des Versuchs (ANOVA  $p=0,0065$ ). Die Placebogruppe hat mit  $3,17 \pm 0,47$  g am wenigsten Futter zu sich genommen, gefolgt von der Gruppe der niedrigen Kombination ( $5,57 \pm 2,49$  g). Es reißen sich die Gruppe der Kombination 75% ( $8,38 \pm 4,04$  g) und die IGF-1 Gruppe ( $8,86 \pm 2,12$  g) in den Gesamtgruppenvergleich ein. Die größte Futtermenge wurde durch die Bisoprololgruppe ( $10,75 \pm 3,07$  g) verzehrt.

### 3.3.8 Herzfunktion

Bei den an Tag 0 durchgeführten echokardiographischen Messungen (siehe Tabelle 3.15) haben sich signifikante Unterschiede beim diastolischen interventrikulären Septum, den diastolisch und systolisch ermittelten Hinterwandstärken, der Masse des linken Ventrikels, sowie dem Schlag- und Herzminutenvolumen ergeben.

Das diastolisch ermittelte interventrikuläre Septum der IGF-1 Gruppe war signifikant breiter im Vergleich zur Placebo- ( $p=0,0061$ ) und Bisoprololgruppe ( $p=0,0344$ ). In beiden Phasen der Herzaktion waren die Hinterwände der Bisoprololgruppe am dünnsten, gefolgt von der Placebogruppe. In der Diastole schließt sich die Gruppe der niedrigen Kombination und die Gruppe der Kombination 75% an. In der Systole war die Reihenfolge umgekehrt und der Unterschied zwischen beiden Kombinationsbehandlungen fiel signifikant aus ( $p=0,014$ ). Die IGF-1 Gruppe hatte während der beiden Herzaktionen die breitesten Hinterwände. Die größere Masse bezüglich des linken Ventrikels, im Vergleich zur Bisoprololgruppe, hatten in aufsteigender Reihenfolge die Placebogruppe, die Gruppe der niedrigen und hohen Kombinationsbehandlung und die IGF-1 Gruppe. Sowohl das Schlag- als auch das Herzminutenvolumen war in der Placebogruppe am niedrigsten, gefolgt von der IGF-1 Gruppe. Die größten Volumina hatte die Bisoprololgruppe. Dazwischen reihen sich die beiden Kombinationsbehandlungen ein, die sich nicht signifikant voneinander unterschieden.

**Tabelle 3.15: Echokardiographische Parameter aller Versuchsgruppen an Tag 0 mit Angabe der Ergebnisse vom ANOVA und Kruskal-Wallis Test. n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test, LV: linksventrikulär, d: enddiastolisch, s: endsystolisch, LVEF: Ejektionsfraktion, LVFS: fractional shortening, LVEDV: enddiastolisches Volumen, LVESV: endsystolisches Volumen, LVSV: Schlagvolumen, LVEDD: enddiastolischer Durchmesser, LVESD: endsystolischer Durchmesser, IVS: interventrikuläres Septum, HMV: Herzminutenvolumen, HF: Herzfrequenz, bpm: beats per minute, LVPW: Hinterwand, LV mass corrected: Annäherungswert für die Masse des linken Ventrikels, E/A: Einflussprofil über der Mitralklappe. n.s.: nicht signifikant; Statistisch bedeutsame Ergebnisse des ANOVA und Kruskal-Wallis: p<0,05. Signifikanzen beim t-Test sind wie folgt gekennzeichnet: ^ p<0,05, ^^p<0,01 und ^^p<0,001 vs. Placebo; ° p<0,05 vs. Bisoprolol, # p<0,05 vs. IGF-1; + p<0,05 vs. BisolIGF-1 25%.**

Parameter	Placebo (n=37)	Bisoprolol (n=8)	IGF-1 (n=14)	Biso-IGF-1 (25%) (n=7)	Biso-IGF-1 (75%) (n=8)	ANOVA	K.-W.
LVEF (%)	74.74 ± 1.47	79.95 ± 1.32	76.98 ± 1.37	76.49 ± 1.26	78.48 ± 0.70	n.s.	
LVFS (%)	49.17 ± 1.16	49.95 ± 2.80	51.98 ± 2.19	50.70 ± 1.68	48.51 ± 2.16		n.s.
EDV (ml)	253.31 ± 7.80	284.06 ± 13.29	248.30 ± 10.37	280.68 ± 7.99	279.48 ± 8.04		n.s.
ESV (ml)	63.46 ± 3.89	56.86 ± 4.67	59.24 ± 3.39	65.87 ± 3.70	59.94 ± 1.72	n.s.	
LVSV (ml)	190.32 ± 7.06	227.19 ± 11.28 ^	196.30 ± 8.69 °	214.80 ± 7.50	219.55 ± 7.56 ^		0,031
LVEDD (mm)	6.22 ± 0.08	6.50 ± 0.21	6.13 ± 0.11	6.47 ± 0.17	6.32 ± 0.09		n.s.
LVESD (mm)	3.17 ± 0.09	3.27 ± 0.25	2.97 ± 0.18	3.20 ± 0.17	3.26 ± 0.17		n.s.
IVS d (mm)	1.57 ± 0.03	1,45 ± 0,11	1.78 ± 0.09 ^^, °	1.54 ± 0.06	1.63 ± 0.06	0,0166	
IVS s (mm)	2.75 ± 0.05	2,78 ± 0,15	2.93 ± 0.12	2.85 ± 0.13	2.90 ± 0.09		n.s.
HMV (ml/min)	78.74 ± 2.91	93.37 ± 4.36 ^	79.39 ± 3.57 °	88.76 ± 3.52	93.20 ± 3.52 #		0,0146
HF (bpm)	411.28 ± 5.32	411.86 ± 7.12	407.14 ± 7.33	413.00 ± 6.20	424.75 ± 8.18		n.s.
LVPW d (mm)	1.75 ± 0.05	1,47 ± 0,11^	2.11 ± 0.07 ^^, ∞	1.84 ± 0.09^, °, #	1.88 ± 0.08 ^, °, #		<0,0001
LVPW s (mm)	2.78 ± 0.05	2,67 ± 0,12	3.15 ± 0.09 ^^, ∞	3.13 ± 0.07 ^^, °, #	2.95 ± 0.10 +		0,0003
LV mass (mg)	527.13 ± 12.32	472,70 ± 37,13	652.82 ± 30.01 ^^^, ∞	572.32 ± 22.74	589.09 ± 28.57 ^, °		0,0062
E/A	1.55 ± 0.05	1.54 ± 0.09	1.58 ± 0.08	1.46 ± 0.07	1.46 ± 0.12		n.s.

**Tabelle 3.16: Echokardiographische Parameter an Tag 11 des Versuchs mit Angabe der Ergebnisse vom ANOVA bzw. Kruskal-Wallis Test. n: Anzahl der Tiere, K.-W.: Kruskal-Wallis-Test. LV: linksventrikulär, d: enddiastolisch, s: endsystolisch, LVEF: Ejektionsfraktion, LVFS: fractional shortening, LVEDV: enddiastolisches Volumen, LVESV: endsystolisches Volumen, LVSV: Schlagvolumen, LVEDD: enddiastolischer Diameter, LVESD: endsystolischer Diameter, IVS: interventrikuläres Septum, HMV: Herzminutenvolumen, HF: Herzfrequenz, bpm: beats per minute, LVPW: Hinterwand, LV mass corrected: Korrekturwert für die Masse des linken Ventrikels, E/A: Einflussprofil über der Mitralklappe; n.s.: nicht signifikant; Signifikante Werte vom ANOVA und Kruskal-Wallis: p<0,05. Signifikanzen der t-Tests sind folgendermaßen gekennzeichnet: <sup>∞</sup>p<0,01 und <sup>∞∞</sup>p<0,001 vs. Bisoprolol; # p<0,05 und ## p<0,01 vs. IGF-1;**

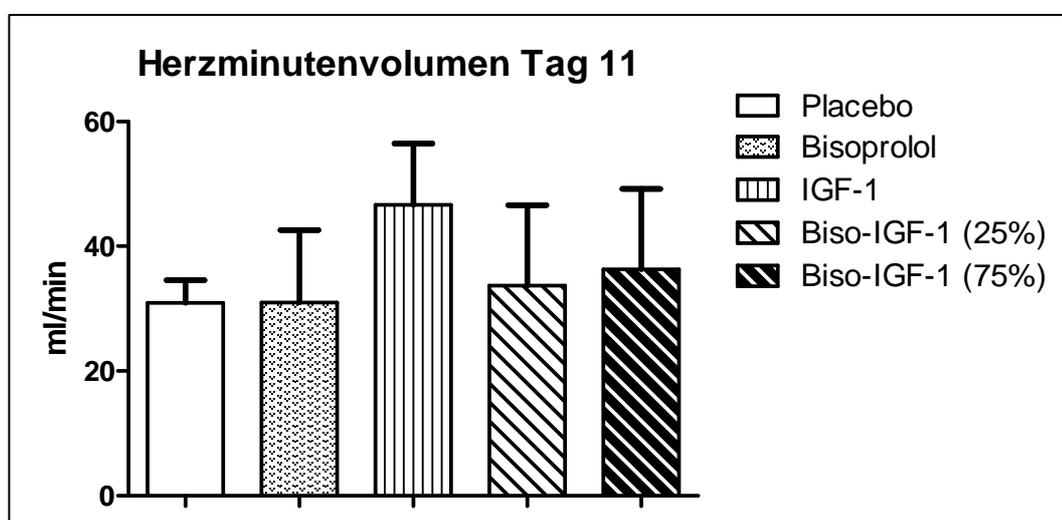
Parameter	Placebo (n=29)	Bisoprolol (n=7)	IGF-1 (n=14)	Biso-IGF-1 (25%) (n=6)	Biso-IGF-1 (75%) (n=6)	ANOVA	K.-W.
LVEF (%)	48,94 ± 2,77	54,77 ± 7,06	65,88 ± 3,92	56,29 ± 3,99	52,82 ± 5,98		n.s.
LVFS (%)	28,13 ± 2,23	27,71 ± 5,37	41,53 ± 3,48 ^	32,66 ± 2,25	32,44 ± 4,14		0,0288
LVEDV (ml)	177,75 ± 11,45	219,95 ± 46,44	177,05 ± 22,44	200,62 ± 36,87	219,31 ± 27,37		n.s.
LVESV (ml)	88,85 ± 6,44	82,55 ± 14,02	55,42 ± 6,23 ^	82,16 ± 9,91 #	95,86 ± 10,52 ##		0,0123
LVSV (ml)	88,90 ± 8,20	137,40 ± 36,49	126,86 ± 21,74	118,45 ± 29,76	123,44 ± 28,37	n.s.	
LVEDD (mm)	5,48 ± 0,09	5,85 ± 0,54	5,34 ± 0,22	5,84 ± 0,32	5,93 ± 0,22	n.s.	
LVESD (mm)	3,94 ± 0,13	4,06 ± 0,18	3,10 ± 0,20 ^, ∞	3,90 ± 0,13 ^	3,99 ± 0,25 ^		0,0052
IVS d (mm)	1,52 ± 0,05	1,81 ± 0,21	1,78 ± 0,09	1,68 ± 0,05	1,60 ± 0,13	n.s.	
IVS s (mm)	2,20 ± 0,07	2,49 ± 0,15	2,80 ± 0,10 ^^^	2,56 ± 0,08 ^	2,32 ± 0,17 #		0,0008
HMV (ml/min)	30,94 ± 3,62	30,96 ± 11,65	46,68 ± 9,80	33,74 ± 12,84	36,32 ± 12,89		n.s.
HF (bpm)	343,33 ± 19,12	211,33 ± 25,53 ^^	343,00 ± 5,16 ∞∞	247,43 ± 27,09 ^	244,38 ± 32,96 ^	0,0011	
LVPW d (mm)	1,63 ± 0,04	1,66 ± 0,19	1,72 ± 0,05	1,75 ± 0,14	1,72 ± 0,12	n.s.	
LVPW s (mm)	2,11 ± 0,07	2,28 ± 0,13	2,47 ± 0,12	2,20 ± 0,08	2,31 ± 0,23		n.s.
LV mass (mg)	401,74 ± 10,88	487,00 ± 35,24 ^^	450,80 ± 18,49 ^	502,99 ± 29,41 ^^^	506,45 ± 68,69 ^^	0,0057	
E/A	1,58 ± 0,31	1,82 ± 0,22	1,46 ± 0,08	1,81 ± 0,24	1,31 ± 0,13	n.s.	

An Tag 11 des Versuchs waren 8 Tiere der Placebogruppe, 1 Tier der niedrigen Kombinationsbehandlung und 2 Tiere der hohen Kombinationsbehandlung verstorben oder mussten vorzeitig getötet werden. Tabelle 3.16 zeigt signifikante Unterschiede, bei den an Tag 11 erhobenen echokardiographischen Daten bezüglich der systolischen Volumina und Diameter sowie interventrikulären Septen, der Masse des linken Ventrikels, der Herzfrequenz und der Verkürzungsfraktion. Die Abweichungen der Gruppen der beiden Kombinationstherapien gegenüber der Bisoprololgruppe waren nicht signifikant.

Der kleinste systolisch ermittelte Diameter lag in der IGF-1 Gruppe vor, gefolgt von der Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung und der Placebogruppe. Am größten waren die Diameter in der Bisoprololgruppe und nachfolgend in der Gruppe der hohen Kombinationsbehandlung.

Das geringste endsystolische Volumen lag in der IGF-1 Gruppe vor. Höhere Werte hatten in aufsteigender Reihenfolge die Gruppe der Kombination 25%, die Bisoprololgruppe, die Placebogruppe und die Gruppe der Kombination 75%. Der Unterschied zur Bisoprololgruppe war allerdings statistisch nicht signifikant.

Das breiteste interventrikuläre Septum während der Systole wurde in der IGF-1 Behandlungsgruppe erfasst, gefolgt von der Gruppe der niedrigen Kombination. Es schlossen sich die Bisoprololgruppe, die Gruppe der hohen Kombination und die Placebogruppe an.



**Abbildung 3.41: Durchschnittliches Blutvolumen, das pro Minute aus dem Herzen gepumpt wird. Placebo: n=33, Bisoprolol: n=8, IGF-1: n=14, Biso-IGF-1 (25%): n=6, Biso-IGF-1 (75%): n=6.**

Abb. 3.41 zeigt, dass die IGF-1 Gruppe im Vergleich zu den übrigen Versuchsgruppen, deren Herzminutenvolumina sich kaum voneinander unterschieden, das größte Herzminutenvolumen aus dem Ventrikel befördert hat. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant (K.-W.  $p=0,5686$ ).

Die höchste Herzfrequenz in diesem Vergleich hatte die Placebogruppe, gefolgt von der IGF-1 Gruppe. Damit bestanden signifikante Unterschiede zur Bisoprololgruppe mit der niedrigsten Herzfrequenz und zu den Kombinationstherapien, die mit etwa gleichen Herzfrequenzen im Bereich dazwischen lagen.

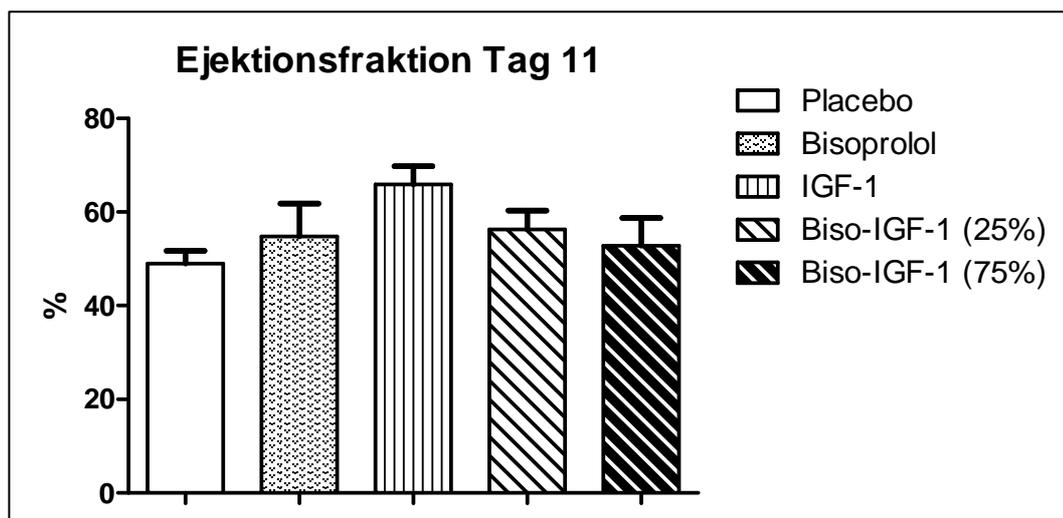


Abb. 3.42: Darstellung der Auswurfraction, ermittelt an Tag 11 des Versuchs. Kruskal-Wallis  $p=0,0822$ . Placebo:  $n=33$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=6$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=6$ .

Die in Abb. 3.42 dargestellte Ejektionsfraktion unterschied sich an Tag 11 des Versuchs in den Behandlungsgruppen nicht signifikant voneinander.

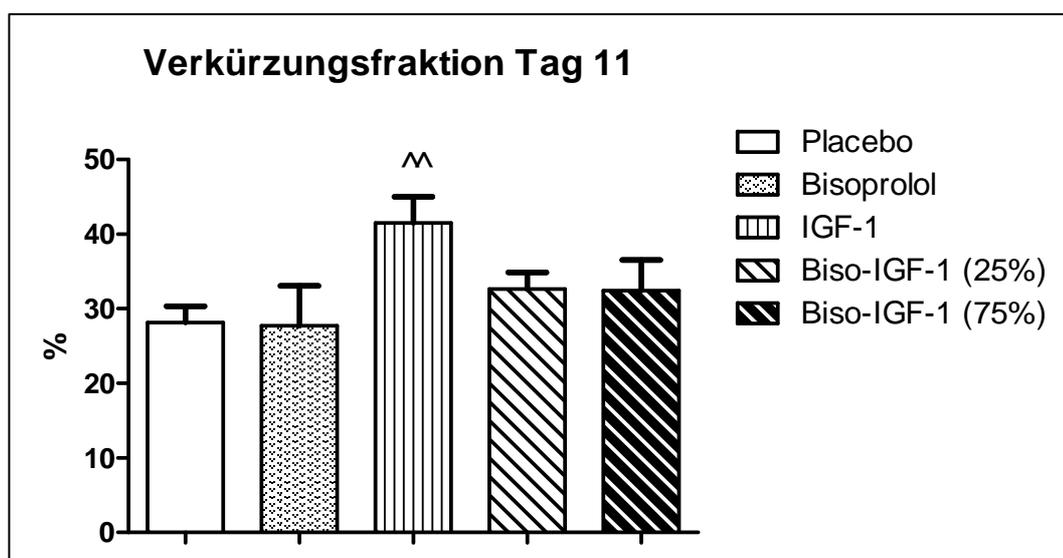


Abb. 3.43: Durchschnittliche Verkürzung des linken Herzens während des Pumpvorgangs. Kruskal-Wallis  $p=0,0028$ . ^^  $p<0,01$  vs. Placebo. Placebo:  $n=33$ , Bisoprolol:  $n=8$ , IGF-1:  $n=14$ , Biso-IGF-1 (25%):  $n=6$ , Biso-IGF-1 (75%):  $n=6$ .

Abb. 3.43 zeigt die seitens der IGF-1 Behandlungsgruppe signifikant bessere Verkürzungsfraction im Vergleich zu den anderen Behandlungsgruppen, die sich nicht signifikant voneinander unterschieden.

## 4 Diskussion

Das Vorhandensein einer Kachexie bei Tumorerkrankungen ist ein Anzeichen für eine schlechte Prognose [19]. Derzeitige präventive und therapeutische Möglichkeiten sind größtenteils wirkungslos [2]. Laut Warren et al. sterben 22% der Patienten, die das Endstadium einer Tumorerkrankung erreicht haben an der Begleiterkrankung Kachexie [221].

Mit Hilfe der vorliegenden Studie sollte in einem Rattenmodell der Tumor-Kachexie der Einfluss von Bisoprolol und IGF-1 einzeln, sowie in der Kombination ergründet werden. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf folgende Parameter gelegt:

- Mortalität
- Tumoreigenschaften
- Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung, Organgewicht
- Spontane Aktivität, Futteraufnahme
- Herzfunktion

Dazu wurde ein an der Ratte bereits etabliertes, international weit verbreitetes Modell der Tumor-Kachexie verwandt- das sogenannte Yoshida AH-130 Hepatoma Modell. Dieses Ratten-Modell hat den Vorteil, dass der Tumor eine große Reproduzierbarkeit besitzt [220]. Außerdem kommt es infolge des typischen Verlaufs der Erkrankung bei diesem Modell zu weniger Variabilitäten, wodurch geringere Tierzahlen im Vergleich zu anderen Modellen benötigt werden. Das Yoshida AH-130 Hepatom enthält vor allem wenig differenzierte Zellen, die sich in relativ kurzer Zeit (1 Tag) verdoppeln [222]. Das exponentielle Wachstum des Tumors erstreckt sich von Tag 2 bis 7 nach Inokulation [223]. Ab dem siebten Tag stellt sich ein Plateau ein [223, 224]. In der letzten Phase seines Wachstums erzeugt der Tumor eine Anorexie [224]. Die Zellmasse des Tumors macht bei einer 200 g schweren Ratte ab dem 7. Tag ca. 1% des Körpergewichts aus. Es kommt zur Bildung von Aszitesflüssigkeit [220]. Die Tiere verlieren sowohl Muskel- als auch Fettmasse [225, 226] und sterben unbehandelt 14 bis 16 Tage nach Tumoringokulation [220].

Die 8 Shamtiere sind eine wichtige Gruppierung im Rahmen des gesamten Versuchs, weil sie die natürliche Entwicklung der Tiere widerspiegeln und deren Ergebnisse somit als Referenzwerte angesehen werden können.

## 4.1 Placebo-Sham vs. Placebo-Tumor

### 4.1.1 Mortalität

In der Shamgruppe ist erwartungsgemäß kein Tier innerhalb des Versuchszeitraums gestorben. Dagegen erreichten nur 2 von 37 Tieren der Tumorgruppe das Ende des Versuchszeitraums, womit bei unbehandelten Tieren, bei denen das Yoshida AH-130 Hepatoma Modell eingesetzt wird, zu rechnen ist [220, 227]. Die Tiere zeigen etwa 10 Tage nach der Tumordinokulation einen ausgesprochen aufgetriebenen Bauch und starben bzw. mussten infolge der ausgebreiteten Infiltration des Tumors vorzeitig getötet werden [220].

### 4.1.2 Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung und Organgewichte

Aufgrund der identischen Körpergewichte beider Gruppen zu Beginn des Versuchs ist ein direkter Vergleich der durchschnittlichen absoluten Endgewichte ohne Tumor beider Gruppen zulässig. Das Endgewicht in der Tumorgruppe ( $147,95 \pm 2,56$  g) war erwartungsgemäß signifikant niedriger als das der Shamtiere ( $268,38 \pm 5,30$  g). Die Tiere der Tumorgruppe nahmen im Durchschnitt  $4,74 \pm 0,17$  g pro Tag ab und hatten dadurch einen Gesamtgewichtsverlust von 27%. Im Gegensatz dazu nahmen die Shamtiere täglich  $3,88 \pm 0,23$  g zu, wodurch ein Gesamtgewichtszuwachs von 21% zustande kam. Die Gewichtsentwicklung verlief in den einzelnen Gruppen nicht linear. Da die Todeszeitpunkte der Tiere unterschiedlich waren, wurde der Gesamtverlust an Gewicht, Fett bzw. fettfreier Masse des einzelnen Tieres in Relation zur Überlebensdauer gesetzt. Aus den Einzelwerten für den täglichen Verlust wurde der Mittelwert der gesamten Gruppe berechnet. Dies gilt auch für die nachfolgenden Gruppenvergleiche.

Aufgrund der im zweitägigen Abstand durchgeführten Messungen mit Hilfe des Kernresonanztomographen ist es möglich, Aussagen zur Veränderung der Gewebeszusammensetzung, die im Laufe dieser Studie auftraten, zu machen. Prozentual gesehen, verlor die Tumorgruppe im Verlauf 26,4% ihrer fettfreien Masse. Die Shamtiere hatten im Vergleich dazu einen Zuwachs von 25,9% fettfreier Masse. Der Verlust der Fettmasse belief sich in der Tumorgruppe auf 64,5% in Relation zum Ausgangsgewicht.

Die Shamgruppe gewann 50,5% der ursprünglichen Fettmasse dazu. Außerdem wurde der durchschnittliche tägliche Zuwachs bzw. Verlust an fettfreier Masse sowie Fettmasse bestimmt.

Sowohl der Anteil der fettfreien Masse, als auch der Fettmasse ist in der Shamgruppe gestiegen. Dagegen kam es in der Tumorgruppe täglich zu einem Verlust von  $3,51 \pm 0,15$  g fettfreier Masse und  $0,99 \pm 0,05$  g Fett, wodurch sich beide Versuchsgruppen signifikant voneinander differenziert haben (siehe Abb. 3.5 und 3.6). Die Zahlen bestätigen, dass der bei der Tumor-Kachexie auftretende Gewichtsverlust sowohl durch den Verlust von Fett- als auch Muskelmasse gekennzeichnet ist [228]. Betroffen sind nicht nur die peripheren, sondern auch die respiratorischen Skelettmuskeln.

Der Verlust von Muskelmasse scheint in kachektischen Zuständen hauptsächlich auf einem vermehrten Proteinabbau zu beruhen. In einem Versuch von Tessitore et al. zum Yoshida AH-130 Hepatom, kam es zu einem zwei- bis dreifach gesteigerten Proteinabbau, der damit den dominierenden Prozess im Proteinmetabolismus darstellte, was in der Konsequenz zu einem Proteinverlust führte [229]. Zahlreiche Studien belegen, dass bei einer Kachexie ein Großteil der Muskelproteine vom UPS abgebaut wird [230-232]. Beispielsweise zeigten Llovera und Temparis et al., dass bei Ratten die Implantation des Yoshida AH-130 Hepatoms in einer Hochregulation des UPS resultierte, was anhand der erhöhten mRNA-Spiegel der Ubiquitin- und Proteasomen-Untereinheiten [230, 232, 233], sowie der Erhöhung des intrazellulären Ubiquitins und der mit Ubiquitin konjugierten Proteine zu erkennen war [230].

Alle entnommenen Muskeln waren in der Tumorgruppe signifikant leichter als in der Shamgruppe ( $p < 0,0001$ ). Am deutlichsten wurde der Unterschied bezüglich der Skelettmuskelmasse beim *Musculus gastrocnemius*, was auch Tessitore et al. gezeigt haben [234]. In der Tumorgruppe war sein Gewicht verglichen mit der Shamgruppe um 44,7% niedriger. Auch der EDL unterlag mit einem Gewichtsunterschied zwischen beiden Versuchsgruppen von 42,1% einem starken Abbau. Der *M. soleus* war in der Tumorgruppe nur 30,3% leichter im Vergleich zur Shamgruppe. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass die roten, langsamen Muskelfasern, aus denen der *M. soleus* besteht, einem verzögerten Abbau unterliegen [107, 235, 236] verglichen mit den schnellen, weißen Fasern, die der EDL enthält [237]. Da der *M. gastrocnemius* ein gemischter Muskel ist, der sowohl langsame, rote, als auch schnelle, weiße Fasern enthält, war der Muskelschwund verhältnismäßig stärker ausgeprägt verglichen mit dem *M. soleus* [235].

Die Menge des interskapulären braunen Fettgewebes ist in der Tumorgruppe im Vergleich zur Shamgruppe um rund 64% reduziert gewesen. Zu einem Verlust an braunem Fettgewebe kam es auch in anderen Studien zum Yoshida AH-130 Hepatom [226, 238, 239]. Der Verlust an Fettgewebe ist u.a. das Resultat einer gesteigerten lipolytischen Aktivität der HSL, woraus eine vermehrte Freisetzung von Glycerin und Fettsäuren folgt [53, 91]. In einer Studie an rund 300 Patienten mit gastrointestinalen Tumoren konnten Agustsson et al. zeigen, dass eine gesteigerte lipolytische Aktivität bei kachektischen Patienten vorliegt, da die Plasmakonzentrationen an Fettsäuren und Glycerin im Vergleich zu den Kontrollgruppen doppelt so hoch waren. Zudem stellten sie heraus, dass die Expression der HSL mRNA im Fettgewebe kachektischer Patienten um 50% höher war verglichen mit den Kontrollgruppen [240].

Eine weitere Ursache ist die herabgesetzte Aktivität der Lipoproteinlipase, ein Enzym, das für die Spaltung von endo- und exogenen Triacylglycerinen (Lipoproteine) verantwortlich ist [53]. Dies konnte in verschiedenen tierexperimentellen Studien, die unterschiedliche Tumormodelle genutzt haben, veranschaulicht werden [241-243]. Der Verlust an Muskel- und Fettmasse und der sich daraus ergebende, oben beschriebene Gewichtsverlust in der Tumorgruppe ist auf die durch den Tumor verursachten Veränderungen im Stoffwechsel zurück zu führen, durch die katabole Prozesse die Oberhand über anabole Prozesse gewinnen [15]. Zudem ist die verminderte Nahrungsaufnahme (siehe Kapitel 4.1.3) mitverantwortlich für den Gewichtsverlust, was auch in anderen Studien gezeigt werden konnte [244, 245]. Auch der Aktivitätsrückgang (siehe Kapitel 4.1.3), der wiederum einen Muskelabbau nach sich zieht, könnte zum Gewichtsverlust beigetragen haben [246].

Die Organe der Tumorgruppe waren, bis auf die Nebennieren, signifikant leichter verglichen mit den normal entwickelten Organen der Tiere der Shamgruppe (siehe Tabelle 3.2), was auch Costelli et al. berichteten [244]. Die Ursache hierfür ist der mit der Tumor-Kachexie einhergehende Gewebsschwund (Atrophie) der Organe, auch „Multi-organ damage“ genannt [227], der zu einem Funktionsausfall der Organe führen kann, was beispielsweise anhand der Verschlechterung der Herzfunktion deutlich wird. Die Organ- und Geweberrückbildung ist in erster Linie durch einen Verlust an Proteinen gekennzeichnet, der, wie Tessitore et al. herausstellten, entweder durch einen verstärkten Katabolismus, wie beispielsweise in der Leber oder durch eine verminderte Syntheserate, wie im Herzen hervorgerufen wird [234].

In der vorliegenden Studie war das durchschnittliche Herzgewicht der Tumorgruppe rund 35,9% niedriger als das der Shamgruppe, was die Vermutung nahe legt, dass nicht nur die Synthese kardialer Proteine in der Tumorgruppe beeinträchtigt war, sondern auch ein verstärkter Proteinabbau stattgefunden haben muss.

Die Nebennieren der Tumortiere waren im Gegensatz zu denen der Shamgruppe schwerer, was auch Tessitore et al. gezeigt haben [234]. Eine Ursache hierfür stellt möglicherweise die katabole Stoffwechsellage der Tumortiere dar, in der die Nebennierenrinde vermehrt katabole Hormone (Cortisol) bereitstellt [4]. Die Ausschüttung von Cortisol fördert die Gluconeogenese v.a. aus Aminosäuren, aber auch aus Fettsäuren, sowie die Glykogenbildung in der Leber, was der Energiebereitstellung dient.

Die Hemmung der Proteinsynthese durch Cortisol hat eine verminderte Synthese entzündungsfördernder Substanzen, und damit eine entzündungshemmende Wirkung zur Folge.

Außerdem wurde eine Dysregulation des autonomen Nervensystems mit gesteigerter Aktivierung des Sympathikus bei Tumor-Kachexiepatienten beobachtet [80], die mit erhöhten Catecholaminkonzentrationen (Adrenalin, Noradrenalin) einher ging [247]. Obendrein war auch die Ausscheidung adrenerger Substanzen mit dem Urin bei kachektischen Tumorpatienten erhöht [83]. Eine zusätzliche Aktivierung des Sympathikus mit gesteigerter Noradrenalinausschüttung als kompensatorischer Reaktion auf die funktionellen Störungen des Herzens [248] (siehe Kapitel 4.1.3) kommt wahrscheinlich erschwerend hinzu.

### **4.1.3 Spontane Aktivität und Futteraufnahme**

Sowohl die spontane Aktivität, als auch die Futteraufnahme können als Indikatoren für die Lebensqualität bei Tieren angesehen werden. Bauhofer et al. haben gezeigt, dass diese Parameter (sowie die Körpertemperatur und die Wasseraufnahme), mit deren Hilfe das Krankheitsverhalten der Tiere erfasst werden kann, ein Äquivalent zur Lebensqualität beim Menschen darstellen [249].

Die spontane Aktivität ist an Tag 10 im Vergleich zu Tag -1 des Versuchs in beiden Gruppen zurückgegangen, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß. In der Tumorgruppe kam es zu einer fast vierfach stärkeren Abnahme der Bewegungsintensität verglichen mit der Shamgruppe, die einen Rückgang von rund 19,1% zu verzeichnen hatte.

Es ist anzunehmen, dass ein Rückgang der Bewegungsintensität bei gesunden Ratten in diesem Rahmen als normal angesehen werden kann und sich möglicherweise mit dem Älterwerden und damit ruhigerem Verhalten der Tiere erklären lässt. Obendrein haben sich die Tiere nach 10 Tagen vermutlich an den Ablauf gewöhnt und verhalten sich dementsprechend ruhiger. Dagegen konnte man bei den Tumortieren zusätzlich mit einer Abnahme der Bewegungsintensität ab dem Tag 7 nach der Tumorinokulation rechnen, da die Bewegungsintensität der Tiere nach Erreichen der Plateauphase des Tumorwachstums abnimmt [250]. Auch in anderen tierexperimentellen Tumor-Kachexie-Modellen wurde ein Rückgang der Aktivität beobachtet [251-253]. Die Bewegungsintensität der Tiere ist, ähnlich wie bei der chronischen Herzinsuffizienz, die nicht selten mit einer Kachexie einhergeht [153, 247, 254-256], nicht nur durch die schnelle Ermüdung der Skelettmuskeln limitiert, sondern auch durch die möglicherweise auftretende Dyspnoe infolge der Veränderungen der Atemmuskulatur [257]. Hinzu kommt die eventuell eingeschränkte Ausdehnungsfähigkeit der Lunge als Folge der Verlagerung des Zwerchfells nach kranial (siehe Kap. 4.3.2), die eine Atemdepression nach sich ziehen kann [258].

In der Tumorgruppe ging die Futterraufnahme um 84% zurück. Die Shamgruppe nahm am Tag 10 3,2% weniger Futter auf ( $p < 0,0001$ ). Der durch den Tumor verursachte Rückgang der Futterraufnahme entspricht den in anderen Studien, in denen das Yoshida AH-130 Hepatom-Modell zur Anwendung kam, gemachten Beobachtungen [226, 234, 238, 239]. Ursache für die reduzierte Nahrungsmenge ist u.a. die durch den Tumor induzierte Anorexie [224]. Die in der Shamgruppe verzehrte Nahrungsmenge stimmt in etwa mit der Menge, die auch schon an Tag -1 des Versuchs aufgenommen wurde überein, was auch Costelli et al. gezeigt haben [259].

#### 4.1.4 Herzfunktion

Die an Tag 0 des Versuchs ermittelten echokardiographischen Parameter verhalten sich in beiden Gruppen in etwa gleich (siehe Tabelle 3.3). Dies sollte erwartungsgemäß auch so sein, da die Tiere aus derselben Zucht stammen, gleich alt sind, ähnliche Ausgangsgewichte haben und gesund sein sollten.

Bei den an Tag 11 erhobenen echokardiographischen Daten sind bis auf das systolisch ermittelte interventrikuläre Septum und die E/A-Ratio (siehe Tabelle 3.4) alle Parameter signifikant unterschiedlich. Die Werte der Shamgruppe können als Normwerte angesehen werden, da es sich bei dieser Gruppe um gesunde Tiere handelt.

Die signifikant dünneren Septen und Wände der Tumorgruppe resultieren in einer geringeren Herzmasse, was mit dem Muskelmasseverlust, ausgelöst durch die Tumor-Kachexie in unmittelbarem Zusammenhang steht. Schlag- und Herzminutenvolumen sind damit aufgrund der reduzierten Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels in der Tumorgruppe deutlich vermindert gewesen, was auch anhand der geringen enddiastolischen und erhöhten endsystolischen Ventrikelfüllung nachzuvollziehen ist. Die reduzierte Ejektions- und Verkürzungsfraction spiegelt ebenso die unverkennbar verschlechterte Pumpleistung des Herzens der Tiere der Tumorgruppe wider.

Der Verlust an fettfreier Masse ist ein Hauptmerkmal der Tumor-Kachexie, wovon nicht nur die Skelettmuskulatur, sondern auch die kardialen Proteine betroffen sind [239]. Aufgrund der katabolen Stoffwechsellage bei Tumor-Kachexiepatienten, entwickelt sich im gesamten Organismus eine Muskelschwäche, die am Herzen eine linksventrikuläre systolische Dysfunktion nach sich ziehen kann.

Ein reduziertes Herzminutenvolumen in der frühen Entwicklungsphase einer Herzinsuffizienz führt zur Minderperfusion von Organen, die kompensatorisch in einer Aktivierung des adrenergen Systems und der anschließenden Freisetzung von Neurohormonen wie Noradrenalin resultiert [260]. Infolge dessen wird kurzfristig die Kontraktionskraft des Ventrikels gesteigert, der Gefäßwiderstand, das Herzminutenvolumen sowie der Blutdruck erhöht. Die anhaltende adrenerge Aktivierung steigert den Sauerstoffbedarf im Myokard. Die Ischämie und der oxidative Stress nehmen zu. Durch die periphere Vasokonstriktion, die einen Anstieg der Vor- und Nachlast bewirkt, erfährt der Ventrikel eine zusätzliche Belastung. Zudem wirken hohe Catecholaminspiegel kardiotoxisch [261]. Communal et al. zeigten, dass Noradrenalin zur Apoptose von Herzmuskelzellen führt [262].

Die E/A-Ratio, als Maß für die diastolische Relaxation/Füllung und damit ein Parameter für eine mögliche diastolische Dysfunktion, war in der Tumorgruppe geringfügig, aber nicht signifikant kleiner. Erst ein Quotient  $<1$  wäre ein Anzeichen für eine diastolische Funktionsstörung.

Die Tumorgruppe verdeutlicht mit ihrer merklich geschwächten Herzfunktion, dass sich infolge der unbehandelten Tumor-Kachexie u.a. auch eine Herzinsuffizienz entwickeln kann.

Es gibt eine Vielzahl tierexperimenteller Methoden, um eine Tumor-Kachexie zu erzeugen. Das Yoshida AH-130 Hepatoma Modell ist ein etabliertes Kachexie-Modell an der Ratte, was im Rahmen dieser Studie bestätigt werden konnte.

Es gibt offensichtliche Übereinstimmungen zwischen dem Erscheinungsbild des hier eingesetzten experimentellen Tumor-Kachexie-Modells und den Symptomen, die bei einem kachektischen Patienten auftreten, der sich im Endstadium einer Tumorerkrankung befindet. Beispielsweise haben die Tiere der Tumorgruppe im Verlauf des Versuchs rund 27,2% ihres Ausgangsgewichts verloren.

Die Nahrungsaufnahme ist in der Tumorgruppe im Schnitt um ca. 84% zurückgegangen. Auch die Bewegungsintensität hat zum Ende des Versuchs hin stark abgenommen.

Diese Kriterien, sowie der tägliche Verlust an fettfreier Masse von  $3,51 \pm 0,15$  g in der Tumorgruppe sind ein Hinweis darauf, dass das in diesem Versuch angewandte Tumor-Modell valide ist. Zusammenfassend ist zu sagen, dass die oben genannten Kriterien mit den Veränderungen übereinstimmen, wie sie u.a. bei Tumorpatienten im Endstadium ihrer Erkrankung beobachtet werden [263, 264].

## 4.2 Placebo vs. IGF-1

### 4.2.1 Mortalität

Die Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung zeigte mit einer Überlebensrate von 21% eine signifikant verminderte Mortalität ( $p=0,0315$ ) im Vergleich zur Placebogruppe, die eine Überlebensrate von 5% hatte. Zur Mortalität unter dem Einsatz von rhIGF-1 wurden in Tumor-Kachexie-Studien bisher keine Angaben gemacht.

In der Studie an CHF147 Hamstern mit progressiver dilatativer Kardiomyopathie, die mit rhIGF-1 behandelt wurden, konnte eine allgemein verbesserte Überlebensrate und eine längere Lebenserwartung beobachtet werden [254]. Serose et al. zeigten, dass die längere Lebenserwartung der Hamster mit einer verzögerten Entwicklung der DCM durch die Gabe von rhIGF-1 zusammenhängt.

Bei der hohen IGF-1 Dosierung hingegen konnte keine Tendenz zur verminderten Mortalität beobachtet werden, da mit einer Überlebensrate von 20% kein signifikanter Unterschied zur Placebogruppe bestand ( $p=0,23$ ). Bei einem erneuten Versuch sollten die Gruppengrößen erweitert werden, um die statistische Power zu erhöhen.

### 4.2.2 Tumoreigenschaften

Das Volumen der Tumorflüssigkeit der drei Versuchsgruppen hat sich nicht signifikant voneinander unterschieden. Bei der intraperitonealen Flüssigkeitsansammlung handelt es sich um einen Tumorzites. Die Hepatomzellen in der Bauchhöhlenflüssigkeit verursachen eine Peritonitis carcinomatosa, wobei die Menge der in der Flüssigkeit frei liegenden Tumorzellen mit großer Schwankungsbreite variieren kann [219]. Auch bei anderen malignen Tumorerkrankungen wurden Peritonealkarzinosen, die zum malignen Aszites geführt haben, beobachtet [265-268]. Einerseits blockieren die ins Bauchfell eingewanderten Tumorzellen durch ihre Lage die dortigen Lymphabflüsse und verhindern so den Abtransport der Flüssigkeit [269]. Hinzu kommt, dass durch die erweiterten Gefäße des Bauchfells verstärkt Flüssigkeit und Serumalbumin in die Bauchhöhle fließt [270]. Eine weitere Ursache sind möglicherweise Matrix-Metalloproteinasen, die bei zahlreichen Tumorerkrankungen verstärkt nachgewiesen wurden [268, 271].

Diese Enzyme sind am Abbau der extrazellulären Matrix beteiligt und scheinen eine entscheidende Rolle bei der Tumorausbreitung und Metastasierung zu spielen [271]. Studien haben gezeigt, dass die intraperitoneale Applikation von Inhibitoren der Metalloproteinasen das Tumorwachstum, dessen Metastasierung und die Entwicklung des malignen Aszites hemmen [272]. Ein weiterer begünstigender Faktor für den Aszites ist mit großer Wahrscheinlichkeit der durch die Mangelernährung ausgelöste Albuminmangel, wodurch der kolloidosmotische Druck sinkt, welcher für die Höhe des Wasserbindungsvermögens maßgeblich ist [273].

Auch was die Gesamtzellzahl betrifft, die in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung am höchsten und in der Placebogruppe am niedrigsten war, gab es statistisch keinen relevanten Unterschied, was die Vermutung nahe legt, dass keine der IGF-1 Dosierungen das Tumorwachstum negativ oder positiv beeinflusst hat. Aufgrund des ubiquitären Vorkommens von IGF-1 Rezeptoren sowie der wachstumsfördernden, proliferativen, anti-apoptischen und die Zelldifferenzierung fördernden Eigenschaften [274] von IGF-1 in zahlreichen Geweben wäre es möglich, dass IGF-1 die Vermehrung sich schnell teilender Zellen vorantreibt [2, 171], was im Rahmen dieser Studie nicht beobachtet wurde. Auch in zahlreichen anderen tierexperimentellen Tumor-Kachexiemodellen [24, 125, 275, 276] blieb der erwartete Einfluss von IGF-1 auf das Tumorwachstum aus.

### **4.2.3 Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung und Organgewichte**

Die Körperzusammensetzung und daraus resultierend auch das Gewicht der mit IGF-1 behandelten Gruppen unterschieden sich bereits zu Beginn des Versuchs signifikant von den entsprechenden Werten der Placebogruppe. Dies spielt beim Vergleich der Gruppen untereinander insofern eine Rolle, als dass die zu untersuchenden Parameter nicht direkt, sondern in Relation zu ihrem Ausgangswert der jeweiligen Gruppe betrachtet werden müssen.

Mithilfe der niedrigen IGF-1 Dosierung konnte dem Verlust von fettfreier Masse sowie Fettmasse am besten entgegengewirkt werden, was sich auch im durchschnittlichen Gesamtgewicht bei Versuchsende niederschlägt, das noch 81,5% des Ausgangsgewichts beträgt. Der tägliche Verlust fettfreier Masse von  $2,20 \pm 0,60$  g resultierte in einer Reduktion auf 82,5%, der tägliche Fettverlust von  $0,92 \pm 0,15$  g in einer Reduktion auf 43,2% des Ausgangswertes. Auch die Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung konnte, verglichen mit der Placebogruppe, den Gewebsverlust begrenzen.

Tägliche Abnahmen von  $2,29 \pm 0,51$  g fettfreier Masse und  $0,83 \pm 0,09$  g Fettmasse hatten bei den Tieren der IGF-1 Gruppe eine Reduktion auf 80,2% und 42,7% ihrer Ausgangswerte zur Folge. Das Endgewicht macht 79,8% des ursprünglichen Gewichts aus.

Verglichen mit der Shamgruppe, die einen Gewichtszuwachs von 21,7% erfahren hat wird zwar deutlich, dass die Behandlung mit IGF-1 die Kachexie nicht umkehren konnte, aber zumindest das Ausmaß der Gewebs- und Gewichtsreduktion gegenüber der Placebogruppe, die bei Versuchsende durch einen täglichen Gewichtsverlust von  $4,74 \pm 0,17$  g nur noch 72,8% ihres ursprünglichen Körpergewichts aufweist, verringert werden konnte. Der tägliche Verlust von  $3,51 \pm 0,15$  g fettfreier Masse und  $0,99 \pm 0,05$  g Fettmasse führte zu einer Reduktion auf 73,6% und 35,5% der Ausgangswerte. Die Unterschiede zur Placebogruppe erreichten aber nur hinsichtlich der fettfreien Masse statistische Signifikanz.

Im Gegensatz dazu existiert eine Studie an Ratten, denen ebenfalls das Yoshida AH-130 Ascites Hepatom implantiert wurde. Die Tiere erhielten eine tägliche Dosis von 5 mg/kg IGF-1 subkutan [24]. In dieser Studie blieb der positive Einfluss von IGF-1 auf den Gewichtsverlauf allerdings aus.

In einer anderen Studie an CD2F1 Mäusen, denen das Colon-26 Adenokarzinom implantiert wurde, konnte nach einer intraperitonealen Behandlung mit 25 µg/kg IGF-1 zweimal täglich bzw. mit 0,5 Einheiten Insulin zweimal pro Tag ebenfalls keine Milderung der Kachexie beobachtet werden [275].

Die ausbleibende oder unzureichende Wirksamkeit von IGF-1 hinsichtlich des Körpergewichts kann möglicherweise wie folgt erklärt werden. Zum einen können einige Faktoren, wie die regulatorischen Gegenspieler des Hormons oder Cytokine die Bioaktivität von IGF-1 hemmen [277]. Zum anderen hat exogen verabreichtes IGF-1 eine kurze Halbwertszeit, was dessen Bioverfügbarkeit einschränkt [278], die durch seine Bindungsproteine moduliert wird [171].

Im Gegensatz zu den oben geschilderten Ergebnissen, konnte die zweimal tägliche Behandlung von C 57 BL Mäusen, denen das Methylcholanthren Sarkom implantiert wurde, mit dem rhIGF-1/IGFBP-3 Komplex in einer Dosierung von 5 µg/g Körpergewicht, den Gesamtgewichtsverlust gegenüber den Kontrolltieren begrenzen [276]. In einer weiteren Studie zum Methylcholanthren Sarkom an Ratten, in der die Tiere allein mit IGF-1 behandelt wurden, dokumentierte man ebenfalls einen positiven Einfluss auf das Körpergewicht [279].

Die Muskelatrophie wird definiert als ein Verlust von 5-10% Muskelmasse [280]. Ein Verlust von Protein der Myofibrillen in katabolen Zuständen wird durch die Ausschüttung proinflammatorischer Cytokine vermittelt und geht mit einem Abfall der Konzentration von IGF-1 im Blut und in der Muskulatur einher [24, 281].

IGF-1 ist durch seine Fähigkeit das Wachstum voranzutreiben und den Proteinabbau zu hemmen eine wichtige Determinante der Muskelmasse [199]. Höchstwahrscheinlich hemmt IGF-1 die Muskelatrophie, indem es den Atrogin-1 abhängigen Abfall von MyoD und die daraus resultierende, durch den MHC-Abbau herbeigeführte Muskelatrophie verhindert. In einer *in vitro* Studie allerdings schlug der Versuch, die durch TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  induzierte Muskelzellatrophie in C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> Myotuben mittels Gabe von IGF-1 umzukehren, fehl [281]. Trotz Aktivierung der Akt/Foxo- und GSK-3 $\beta$ -Signalwege, sowie der Hemmung der Ubiquitin-Ligase Atrogin-1, konnte IGF-1 der Muskelatrophie nur in geringem Umfang entgegen wirken. Dies legt die Vermutung nahe, dass die Atrophie auch durch andere Mechanismen, wie z.B. durch die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B, dessen Bildung bei Entzündungen aktiviert ist und der die Hochregulation der E3 Ubiquitin-Ligase MuRF-1 induziert, eingeleitet wird [198, 281]. In der bereits zuvor erwähnten Studie von Dehoux et al. [281] war die durch TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  ausgelöste Muskelatrophie hauptsächlich auf eine Reduktion des Transkriptionsfaktors MyoD [282] und der daraus folgenden Abnahme der MHC zurückzuführen, was auch in einem tierexperimentellen Modell der Tumor-Kachexie gezeigt werden konnte [283]. Auch andere *in vivo* Modelle haben beschrieben, dass IGF-1 die durch pro-inflammatorische Cytokine induzierte Muskelatrophie nicht verhindern konnte [284, 285]. Zudem können katabole Hormone, wie beispielsweise Glukokortikoide und katabole Bedingungen die Signalwirkung von IGF-1 derartig beeinträchtigen, dass die Phosphorylierung von FOXO (=Inhibierung) reduziert ist und damit die Expression von MAFbx und MuRF-1 steigt [121, 286].

Das Muskelwachstum fördert IGF-1, indem es Muskelsatellitenzellen aktiviert und deren Differenzierung auslöst [287]. In adulten Muskelzellen erfolgt eine Stimulation der Proteinsynthese durch IGF-1, indem PI(3)K/Akt aktiviert wird [282]. Daraus folgt die Phosphorylierung nachgeschalteter Faktoren, wie des mTOR, sowie des 4E-BP1 (4E-binding protein1) und der p70S6K (70-kDa ribosomal protein S6 kinase) [282].

Es existieren nur vereinzelt tierexperimentelle Studien zu unterschiedlichen Tumor-Kachexie-Modellen, die Aussagen zur Körperzusammensetzung nach Behandlung mit anabol wirksamen Stoffen getroffen haben. Außerdem sind die Ergebnisse der verschiedenen Studien uneinheitlich.

Ng et al. zeigten in der zuvor bereits erwähnten Studie, dass IGF-1 einen positiven Einfluss auf die fettfreie Masse und damit auch auf die Gewichtsentwicklung hatte [279]. Diese Arbeitsgruppe hat erstmalig veranschaulicht, dass IGF-1 den Verlust fettfreier Masse einschränkt, was für dessen Beteiligung an der Aufrechterhaltung und Regulation der Skelettmuskulatur bei Tumorerkrankungen spricht.

Verglichen mit der hier vorliegenden Studie, gab es gewisse Unterschiede hinsichtlich des Versuchsablaufs. So hat man beispielsweise einen anderen Rattenstamm (Fischer 344) und ein anderes Tumor-Kachexiemodell eingesetzt. Zudem wurde IGF-1 zehn Tage nach Tumorimplantation bis zum Tag 17 des Versuchs in anderen Dosierungen (200 und 400 µg/Tag) über osmotische Minipumpen appliziert.

Eine andere Arbeitsgruppe hat in einer Studie zum Methylcholanthren Sarkom an Ratten beschrieben, dass die Behandlung mit 2 Einheiten Insulin/100 g Körpergewicht/Tag, verglichen mit der Placebogruppe, den Gehalt an Körperfett und daraus resultierend das Körpergewicht erhöhen konnte [288].

Der Vergleich der beiden IGF-1 Monotherapien ergab sowohl zu Beginn, als auch am Ende der vorliegenden Studie im Hinblick auf das Gewicht sowie den Gehalt an fettfreier Masse und Fettmasse keine signifikanten Unterschiede.

Das Gewicht der vier Muskeln, sowie die Masse des retroperitonealen weißen und interskapulären braunen Fettgewebes ist in beiden Behandlungsgruppen größer als in der Placebogruppe, was sich mit den zuvor geschilderten Ergebnissen für den Gesamtgehalt an Fett und fettfreier Masse deckt, wobei der Vergleich der Organengewichte infolge der bereits zu Beginn des Versuchs bestehenden signifikanten Gewichtsunterschiede vorsichtig erfolgen sollte.

Allerdings war die Erhaltung der Muskelmasse in beiden Behandlungsgruppen beim *M. soleus* am geringsten ausgeprägt, sodass der Unterschied zur Placebogruppe auch nicht signifikant ausfiel. Der *M. soleus* gehört zu den langsamen, roten Muskelfasern und ist demzufolge im Zuge des tumorbedingten Muskelabbau weniger stark betroffen [107, 235, 236]. Auch die Gewichte der *Mm. gastrocnemici* in der oben genannten Studie von Ng et al. reflektieren den Gewichtszuwachs der Tiere, die mit IGF-1 behandelt wurden [279]. Im Gegensatz dazu, blieb in einer Studie mit ähnlich angelegtem Versuchsablauf von Costelli et al., der positive Einfluss einer Therapie mit IGF-1 auf die Muskelmasse und das Fettgewebe aus [24], wobei im Unterschied zur vorliegenden Studie die maximale Versuchsdauer nur 7 Tage betrug. Möglicherweise wäre bei einer längeren Versuchsdauer auch ein positiver Einfluss von IGF-1 auf die Körpergewebe zu sehen gewesen. Auch Lazarus et al. konnten keinen begünstigenden Einfluss von IGF-1 und Insulin auf das epididymale Fettgewebe der C-26 Mäuse feststellen [275].

Bei den IGF-1 Behandlungsgruppen untereinander gab es hinsichtlich der Muskeln sowie des braunen und weißen Fettgewebes keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Tabelle 3.8 macht deutlich, dass die Organe der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung am schwersten waren, gefolgt von der Gruppe der hohen Dosierung, wobei der Unterschied zwischen IGF-1 (0,3 mg) und der Placebogruppe nur bei der Leber, der Milz sowie der linken und rechten Niere statistisch signifikant war. Bei den Nebennieren existierte ein uneinheitliches Bild.

In einem tierexperimentellen Herzinsuffizienzmodell wurden nach der Behandlung mit IGF-1, wie auch im vorliegenden Versuch, erhöhte Gewichte für die Leber, die Milz und die Nieren beobachtet [289]. Diese Werte reflektieren offensichtlich die wachstumsfördernden Eigenschaften von IGF-1.

#### **4.2.4 Spontane Aktivität und Futteraufnahme**

Die Dokumentation der spontanen Aktivität und der Futteraufnahme verdeutlicht, dass bei der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung der geringste Aktivitätsrückgang (49%) vorlag und an Tag 10 die größte Futtermenge aufgenommen wurde, woraus ein Rückgang der Futteraufnahme um 56% verglichen mit Tag -1 resultierte. Damit bestand ein signifikanter Unterschied zur Placebogruppe, die mit einer Aktivitätsreduktion um 71% und einer reduzierten Futteraufnahme um 84% am schlechtesten im Gruppenvergleich abschneiden.

Die Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung reiht sich mit einer Aktivitätseinbuße von 61% und einer Abnahme der verzehrten Futtermenge um 72% zwischen den beiden zuvor genannten Gruppen ein, wobei der Unterschied zu diesen nicht signifikant ausfiel. Diese Ergebnisse stehen in Zusammenhang mit den Beobachtungen bezüglich des Gewichtsverlaufs, der Körperzusammensetzung und der Organgewichte.

In Relation zur Shamgruppe, deren Aktivität um 18% zurückging, nahm die Bewegungsintensität in der Placebo-Tumorgruppe 3,9 Mal, in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung 2,7 Mal und in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung 3,4 Mal so stark ab.

Die Futteraufnahme der Shamgruppe war verglichen mit Tag -1 nur um 3% verringert. Die Ausbildung der tumorinduzierten Anorexie wurde zwar durch die Behandlung mit IGF-1 nicht verhindert, aber zumindest konnte die niedrige IGF-1 Dosierung die Anorexie geringfügig einschränken.

In einer Studie mit Fischer 344 Ratten, denen das Methylcholanthren Sarkom transplantiert wurde, war Insulin in einer Dosis von 2 Einheiten/100g Körpergewicht/Tag imstande, die Futteraufnahme zu erhöhen [290].

Deren Daten für die aufgenommene Futtermenge (rund 9,2 g/Tag) entsprechen in etwa den Werten für die verzehrte Nahrungsmenge bei den Tieren der niedrigen IGF-1 Dosierung im vorliegenden Versuch (rund 8,9 g/Tag). Die Aktivität der Tiere hingegen wurde durch die Gabe von Insulin nicht beeinflusst. Im vorliegenden Versuch allerdings, konnte die niedrige IGF-1 Dosierung den Rückgang der Aktivität verringern, was wiederum nicht nur mit der Wahl des Medikaments, sondern auch mit den unterschiedlichen Versuchsbedingungen (Rattenspezies, Tumormodell, Futterart usw.) zusammenhängen könnte.

In einer anderen Studie zum Methylcholanthren Sarkom [279] war die Futteraufnahme, wie auch in der vorliegenden Studie, bei allen tumortragenden Gruppen, ob sie Placebo oder IGF-1 erhielten reduziert im Vergleich zu den Shamtieren, obwohl keine Signifikanz zustande kam. Allerdings nahm in der oben genannten Studie die Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung (400 µg) am meisten Futter und die Placebotiere mehr als die Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung (200 µg) zu sich, was nicht mit den im vorliegenden Versuch gemachten Beobachtungen übereinstimmt. Die bereits oben erwähnten Abweichungen im Versuchsablauf (unterschiedliches Tumormodell, andere Rattenspezies, unterschiedliche Dosierung, Applikationsweise und -dauer von IGF-1 usw.) sind mit großer Wahrscheinlichkeit mitverantwortlich für die Unterschiede in den erzielten Ergebnissen.

Ferrando et al. zeigten in einer Studie, dass die katabole Reaktion der Muskulatur gegenüber Cortisol im Zusammenhang mit einem Aktivitätsrückgang gesteigert sein kann [291].

Vermutlich wird durch die Aktivitätsabnahme die Tätigkeit kataboler Mediatoren gesteigert und gleichzeitig die Wirksamkeit anaboler Therapien (z.B. Insulin, IGF-1) gehemmt oder verhindert. Dies wäre eine mögliche Ursache für den in der vorliegenden Studie mäßigen Therapieerfolg seitens der Behandlung mit IGF-1. Die sich daraus ergebende Konsequenz wäre, körperliche Aktivität als ein Bestandteil in die Therapie mit aufzunehmen, weil die alleinige Behandlung mit anabolen Substanzen nicht den gewünschten Erfolg hervorbringt.

## 4.2.5 Herzfunktion

Weder in humanen, noch tierexperimentellen Studien der Tumor-Kachexie wurden bislang Daten zur Herzfunktion erhoben, wodurch sich der Vergleich der erzielten Ergebnisse schwierig gestaltet. Deshalb wird an dieser Stelle auf tierexperimentelle Studien verwiesen, in denen auf verschiedene Weisen eine Herzinsuffizienz induziert wurde und in denen die Tiere mit rhIGF-1 behandelt wurden.

Die Herzinsuffizienz geht oftmals mit einer Kachexie einher [153, 247, 254-256]. Es kommt zu Veränderungen der Körperzusammensetzung, die alle Gewebe betreffen, aber in erster Linie durch einen frühen Verlust von Muskelmasse gekennzeichnet sind [292]. Nahrungsmangel, Malabsorption und eine gesteigerte Aktivität des Sympathikus führen zu einem erhöhten Ruheenergieumsatz und sind ebenso an der Ausbildung der kardialen Kachexie beteiligt wie zahlreiche Komponenten des aktivierten Immunsystems (z.B. TNF- $\alpha$ ) [255]. Zudem soll der Verlust an Muskelmasse durch oxidativen Stress via reaktiver Sauerstoffspezies [293] und der Xanthinoxidase [294] begünstigt werden.

An Tag 0 des Versuchs gab es bei der Datenerhebung signifikante Unterschiede zwischen den IGF-1 Therapien und der Placebogruppe, was die enddiastolisch und -systolisch gemessenen Hinterwände sowie die linksventrikuläre Masse betrifft. Zudem war das diastolisch ermittelte interventrikuläre Septum der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung signifikant größer als das der Placebogruppe. Auch das Schlagvolumen der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung war, statistisch gesehen, größer als das der anderen beiden Gruppen (siehe Tabelle 3.9).

Die bereits vor Tumorinokulation bestehenden Unterschiede bezüglich der oben genannten Parameter stehen vermutlich mit den zu Beginn des Versuchs vorhandenen Abweichungen beim Körpergewicht und bei der Körperzusammensetzung in Zusammenhang.

Aus diesem Grund wird der Schwerpunkt, wo es unumgänglich wird, wiederum auf die Veränderungen der zu betrachtenden Parameter in Relation zum Ausgangswert gelegt. Signifikante Unterschiede unter den drei Versuchsgruppen an Tag 11 existieren bei der LVEF, LVFS, bei den systolisch und diastolisch ermittelten Diametern sowie interventrikulären Septen und LVHW, der Masse des linken Ventrikels, sowie den endsystolischen Volumina. Zwar sind die an Tag 11 ermittelten Wandstärken und die linksventrikuläre Masse beider IGF-1 Gruppen größer als die der Placebogruppe, aber in Relation zur 1. Messung hat in den beiden Behandlungsgruppen stellenweise ein stärkerer Gewebsabbau stattgefunden.

Die an Tag 11 vorliegenden echokardiographischen Parameter zeigen seitens der IGF-1 Behandlungsgruppen eine stärker ausgeprägte Abnahme der in der Diastole ermittelten Hinterwand des linken Ventrikels (IGF-1 0,3mg: auf 81,5%, IGF-1 3mg: auf 90%; Placebo: auf 93,1%). Die systolisch gemessene Hinterwand des linken Ventrikels war hingegen in der Placebogruppe am dünnsten (Placebo: auf 75,9%, IGF-1 0,3mg: 78,4%; IGF-1 3mg: 79,8%). Allerdings hat sich die Masse des linken Ventrikels beider Behandlungsgruppen verhältnismäßig stärker reduziert (IGF-1 0,3mg: auf 69%; IGF-1 3mg: auf 73,5%), als in der Placebogruppe (auf 76,2%). Die Dicke des interventrikulären Septums hingegen blieb, in der Diastole ermittelt, bei der niedrigen IGF-1 Dosierung gleich und nahm in der Gruppe der hohen Dosierung zu (+18,8%), verglichen mit der Placebogruppe (-3,2%). Das endsystolisch ermittelte interventrikuläre Septum war in allen Versuchsgruppen dünner in Relation zum Ausgangswert, jedoch war der Gewebsverlust der beiden Behandlungsgruppen weniger ausgeprägt (IGF-1 0,3mg: -4,4%; IGF-1 3mg: -1,1%) im Vergleich zur Placebogruppe (-20%). Zusammenfassend betrachtet zeigt sich, die einzelnen Wandstärken betreffend, ein uneinheitliches Bild.

Das enddiastolische Volumen war an Tag 11 des Versuchs in allen 3 Gruppen verringert (Placebo: um 29,8%; IGF-1 0,3mg: um 28,6%; IGF-1 3mg: um 44,9%), am stärksten jedoch in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung. Am Ende der Systole war das Volumen in der Placebogruppe um 40% vergrößert. In der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung lag ein um 6,4% und in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung ein um 17,7% erniedrigtes endsystolisches Volumen verglichen mit Tag 0 der Messung vor. Daraus ergibt sich in der Placebogruppe ein um 53,3%, in der Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung ein um 35,6% und in der Gruppe der hohen IGF-1 Dosierung ein um 50,3% größeres Schlagvolumen im Vergleich zur ersten Messung.

Es existieren Studien, die belegen, dass IGF-1 die Synthese kardialer DNA und Proteine vorantreibt, den Proteinabbau an isolierten Herzmuskelzellen reduziert [295, 296] und den programmierten Zelltod (Apoptose) verhindert [297].

Die Apoptose wird in vielen Zelltypen durch die Hemmung bestimmter Caspasen (Proteasen) unterbunden [298]. Zudem steigerte IGF-1 die Entwicklung von Myofibrillen in Langzeitkulturen adulter Rattenherzmuskelzellen [299]. Auf der anderen Seite kann eine GH/IGF-1 Defizienz zur kardialen Atrophie und Beeinträchtigung der Herzfunktion führen [300-302].

Trotz des zuvor erwähnten, zum Teil verhältnismäßig höheren Gewebsverlust am Herzen, reflektieren die Funktionsparameter eine signifikant bessere Leistung des Herzens beider IGF-1 Gruppen verglichen mit der Placebogruppe.

Die Verkürzungsfraction war in den IGF-1 Gruppen rund 1,5 Mal höher als in der Placebogruppe ( $28,13 \pm 2,23\%$ ).

Die bessere Kontraktilität wird auch anhand der signifikant kleineren endsystolischen Diameter und Volumina beider Behandlungsgruppen deutlich. Resultat ist eine rund 1,3 Mal bessere Ejektionsfraction der IGF-1 Gruppen gegenüber der Placebogruppe ( $48,94 \pm 2,77\%$ ).

In einer Studie an 7-8 Monate alten CHF147 Hamstern mit angeborener progressiver dilatativer Kardiomyopathie führte die kurzzeitige Applikation (19 Tage) von 25 µg IGF-1 über osmotische Minipumpen zu einer Verbesserung der Herzfunktion [254]. Auch andere tierexperimentelle und humane Studien an gesunden sowie an herzinsuffizienten Individuen [289, 303-305] verdeutlichen die positive Wirksamkeit von IGF-1 am Herzen. Die Verbesserung der Herzfunktion basiert möglicherweise auf einer Induktion der Expression kontraktile Proteine [287, 296], auf den positiv inotropen Eigenschaften von IGF-1 sowie auf seiner Fähigkeit, die Nachlast zu senken [304, 306].

Zwischen den beiden Gruppen der IGF-1 Dosierungen bestanden hinsichtlich der Herzparameter an Tag 11 keine Unterschiede.

## 4.3 Vergleich aller Versuchsgruppen

Die niedrige Dosierung von IGF-1 (0,3 mg) ist als effektive Dosis in die Kombinationstherapien eingegangen. Obwohl es hinsichtlich der Wirksamkeit keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden IGF-1 Dosierungen gab, fiel die Wahl aufgrund möglicher Nebenwirkungen auf die niedrige IGF-1 Dosierung.

### 4.3.1 Mortalität

Die Mortalität war weder beim Vergleich der vier Behandlungsgruppen untereinander ( $p=0,45$ ), noch nach Einbeziehung der Placebogruppe ( $p=0,08$ ) in den Vergleich signifikant besser seitens der Kombinationstherapien. Die Bisoprolol-gruppe ging mit der besten Überlebensrate von 63% aus dem Gesamtgruppenvergleich hervor, was die in Studien an herzinsuffizienten Patienten gemachten Beobachtungen bestätigt, dass Bisoprolol die Mortalität reduziert [156, 157]. Es folgen die Gruppe der Kombination 75% und die Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung mit einer Überlebensrate von 25% bzw. 21%. Am schlechtesten, abgesehen von der Placebogruppe (5%), schnitt die Gruppe der Kombination 25% (14%) ab.

Synergistische Effekte bei der Reduktion der Sterblichkeit gab es nicht. Eine mögliche Ursache wäre, dass die nötigen therapeutischen Wirkspiegel im Zuge der Reduktion der Einzeldosen auf 25% bzw. 75% nicht erreicht wurden.

### 4.3.2 Tumoreigenschaften

Es gab weder beim Vergleich der vier Behandlungsgruppen untereinander, noch bei der Gegenüberstellung mit der Placebogruppe signifikante Unterschiede hinsichtlich der Tumormenge und der Gesamtzellzahl. Damit konnte weder für die IGF-1 Gruppe (wie bereits in Kapitel 4.2.2 besprochen), noch für die Bisoprololgruppe oder die Gruppen der Kombinationsbehandlungen ein begünstigender oder hemmender Einfluss auf das Wachstum der Tumorzellen festgestellt werden.

In der Literatur wurden bisher keine Aussagen dazu getroffen, welchen Einfluss die Menge der Tumorflüssigkeit oder die Anzahl der Tumorzellen auf bestimmte Parameter, die auch in der vorliegenden Studie untersucht wurden (Gewichtsentwicklung, Körperzusammensetzung, Überleben usw.), ausübt.

Unsere Arbeitsgruppe hat keinen Zusammenhang zwischen einer höheren Gesamtzellzahl, wie sie beispielsweise in der Bisoprololgruppe vorlag und einer Verschlechterung der ermittelten Parameter feststellen können. Die durchschnittliche Gesamtzellzahl der Tumorflüssigkeit der Placebogruppe war im Vergleich zur Gesamtzellzahl der anderen Versuchsgruppen relativ niedrig ( $2211,51 \pm 227,27$ ), womit sich die Aussage von Yoshida bestätigen lässt, dass die Menge der in der Tumorflüssigkeit vorhandenen Tumorzellen einer ziemlichen Schwankungsbreite unterliegen kann [219]. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, dass zwischen der Gesamtzellzahl des Tumors und seiner Malignität kein Zusammenhang besteht.

In der Humanmedizin spricht man im Zusammenhang mit einem intraabdominalen Druckanstieg und den daraus resultierenden Verdrängungserscheinungen vom sogenannten „abdominalen Kompartmentsyndrom“ [258, 307].

Neben einem schweren Aszites sind folgende Ursachen für einen erhöhten abdominalen Druck bekannt: heftige stumpfe und penetrierende Traumen der Bauchhöhle, rupturierte Aneurysmen der Bauchaorta, retroperitoneale Blutungen, Pneumoperitoneum, Neoplasien, Pankreatitiden usw. [308].

Es bestehen Parallelen zwischen den vom Tumoraszites hervorgerufenen Beeinträchtigungen und den funktionellen Störungen, wie sie in Verbindung mit dem abdominalen Kompartmentsyndrom beschrieben wurden.

Die kraniale Verlagerung des Zwerchfells infolge des abdominalen Druckanstiegs kann eine reduzierte Ausdehnungsfähigkeit der Lunge sowie einen erhöhten pulmonalen Gefäßwiderstand als Resultat einer verminderten alveolären Sauerstoffspannung und eines erhöhten intrathorakalen Drucks nach sich ziehen. Eine Atemdepression bzw. Lungenfunktionsstörung mit Hypoxie und Hyperkapnie kann die Konsequenz sein [258], weshalb im vorliegenden Versuch auch einige Tiere vorzeitig getötet werden mussten.

Mit der Kompression von Gefäßen (Vena cava inferior/caudalis, Vena portae) durch die Tumorflüssigkeit wird die Blutzirkulation beeinträchtigt. Die daraus resultierende Druckerhöhung, auch im intrathorakalen Raum (Vena cava superior/cranialis und inferior/caudalis), die zudem die Kompression des Herzens und eine Reduktion der enddiastolischen Füllung verursacht, beeinflusst den Kreislauf ebenso nachteilig. Zusätzlich sorgt der erhöhte Gefäßwiderstand als Ergebnis der arteriellen Vaskonstriktion und des abdominalen Druckanstiegs für ein reduziertes Schlagvolumen, was nur teilweise durch eine Erhöhung der Herzfrequenz und Steigerung der Kontraktionskraft kompensiert werden kann. Letztendlich wird mit dem Rückgang des Herzminutenvolumens [258, 307] die Dysfunktion des Herzens deutlich, wie sie auch bei der Placebogruppe im vorliegenden Versuch anzutreffen war.

Weitere Funktionsstörungen der Bauchorgane, die sich infolge des erhöhten abdominalen Drucks und der beeinträchtigten Blutzirkulation manifestieren können, sind u.a.: Oligurie/Anurie, Azotämie, Niereninsuffizienz, Nierenversagen, Stoffwechselstörungen und beeinträchtigte Barrierefunktion des Magen-Darm-Trakts infolge der Minderperfusion, septische Komplikationen infolge des Übertritts von Bakterien aus dem Gastrointestinaltrakt und daraus resultierende Funktionsstörungen/Versagen anderer Organe usw. [258]. Diese Funktionsstörungen konnten allerdings bei den Versuchstieren der vorliegenden Studie anhand der alleinigen klinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchung nicht mit Sicherheit diagnostiziert bzw. ausgeschlossen werden.

### **4.3.3 Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung und Organengewichte**

Auch der Gesamtgruppenvergleich zeigte signifikante Unterschiede bezüglich des Ausgangsgewichts und der ursprünglichen Körperzusammensetzung gegenüber der IGF-1 Gruppe, die zu Beginn verglichen mit den übrigen Versuchsgruppen schwerer war und mehr Fettmasse sowie fettfreie Masse aufwies.

Insgesamt gesehen hatte die Bisoprololgruppe den größten Effekt bei der Erhaltung des Gewichts (89% des ursprünglichen Gewichts), obwohl ihre durchschnittlichen täglichen Einbußen größer waren, als die der Gruppe der Kombination 75%, welche 87% ihres Ausgangsgewichts bewahren konnte.

Die meisten Studien, die den Einfluss einer Therapie mit  $\beta$ -Blockern auf die Gewichtsentwicklung und die Körperzusammensetzung untersucht haben, konnten zeigen, dass diese einen Gewichtszuwachs bzw. Zuwachs der Fettmasse bewirken [161, 309]. Dagegen haben Kovacic et al. lediglich einen positiven Einfluss auf die Gewichtsentwicklung bei nicht-kachektischen Herzinsuffizienzpatienten unter der Gabe von Carvedilol (nicht-selektiv), nicht aber Bisoprolol (selektiv) registrieren können [310]. Lainscak et al. räumen eine zu geringe Dosierung als mögliche Ursache für einen ausbleibenden Effekt auf die Gewichtsentwicklung ein [161]. Andererseits wurde in zahlreichen Studien gezeigt, dass die voneinander abweichenden metabolischen Eigenschaften der selektiven und nicht-selektiven  $\beta$ -Blocker hinsichtlich der Glykogenolyse und Lipolyse [311-313] für die uneinheitlichen Ergebnisse bei der Gewichtsentwicklung und Körperzusammensetzung verantwortlich sind.

Lohmann et al. sprechen sogar davon, dass hochselektive  $\beta$ -Blocker wie Bisoprolol „metabolisch neutral“ sind [313], was ihren bevorzugten Einsatz bei Bluthochdruck, Arrhythmien, Herzinsuffizienz usw. rechtfertigt. Laut Welle et al. wird der Grundumsatz und daraus resultierend der Gesamtenergieumsatz durch die Gabe von  $\beta$ -Blockern herabgesetzt [314], was eine Zunahme des Gewichts bewirkt.

Zudem wurde sowohl in tierexperimentellen, als auch in klinischen Studien nachgewiesen, dass Bisoprolol und auch andere  $\beta$ -Blocker anti-inflammatorische Wirkungen, v.a. im Hinblick auf TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$ , nicht aber IL-6 besitzen [162, 315, 316], was als Erklärung für den geringeren Gewichtsverlust ebenfalls in Betracht gezogen werden kann. Cytokine können nicht nur an der Ausbildung einer Anorexie beteiligt sein [33], sondern sind auch imstande, den Fett- und Proteinabbau zu steigern, sowie die Fett- und Proteinsynthese zu hemmen [34-37].

In der Placebogruppe kam es mit einem täglichen Verlust von  $4,74 \pm 0,17$  g zu einer Gesamtreduktion auf 73% des Ausgangsgewichts.

Bezogen auf die Gewichtsentwicklung zeigte sich die alleinige Therapie mit IGF-1 bzw. der niedriger dosierten Kombination nicht so erfolgreich wie die Behandlung mit Bisoprolol oder der höher dosierten Kombination. In der Gruppe der Kombination 25% belief sich der durchschnittliche tägliche Gewichtsverlust auf  $2,75 \pm 1,16$  g, in der IGF-1 Gruppe auf  $3,02 \pm 0,8$  g, die damit noch 80% bzw. 82% ihres ursprünglichen Gewichts erhalten konnten. Am geringsten war der tägliche Gewichtsverlust mit  $1,77 \pm 1,28$  g in der Gruppe der Kombination 75% und mit  $2,03 \pm 1,54$  g in der Bisoprololgruppe ausgeprägt. Folglich konnten sie 87% bzw. 89% ihres zu Versuchsbeginn bestehenden Gewichts erhalten.

Statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich der Endgewichte und des täglichen Gewichtsverlustes bestanden bei der Bisoprololgruppe, der Gruppe der Kombination 75% und der IGF-1 Gruppe im Vergleich zur Placebogruppe, wobei das Augenmerk bei diesem Vergleich doch eher auf die Entwicklung des Gewichts in Relation zum Ursprungsgewicht gelegt werden sollte, aufgrund der bereits zu Versuchsbeginn vorhandenen signifikanten Differenzen.

Was die Körperzusammensetzung betrifft, so war auch der Verlust der fettfreien Masse mit  $1,15 \pm 1,12$  g pro Tag und 11% insgesamt in der Gruppe der Kombination 75%, sowie mit  $1,36 \pm 1,09$  g täglich und einem Gesamtverlust von 10% in der Bisoprololgruppe am geringsten ausgeprägt. Möglicherweise konnte Bisoprolol den durch Cytokine induzierten Proteinabbau [115] durch die Hemmung ihrer Aktivität verringern [162, 315, 316].

Der ähnliche tägliche Verlust fettfreier Masse in der IGF-1- und Kombinationsbehandlungsgruppe 25% ( $2,20 \pm 0,6$  g und  $2,23 \pm 0,86$  g) führte in der IGF-1 Gruppe zu einer Reduktion um 17%, wogegen die niedrigere Dosierung der Kombination 21% fettfreie Masse verloren hat. In der Placebogruppe resultierte ein täglicher Verlust von  $3,51 \pm 0,15$  g fettfreier Masse in einer Gesamtreduktion auf 74%.

Die Bisoprololgruppe hat mit einem täglichen Verlust von  $0,41 \pm 0,26$  g insgesamt 28% ihrer ursprünglichen Masse an Fett verloren. Damit erzielte im Gesamtgruppenvergleich wiederum die Behandlung mit Bisoprolol den größten Erfolg bei der Einschränkung des Fettmasseverlusts. Diese Tatsache deckt sich mit der vielfach beschriebenen Eigenschaft von  $\beta$ -Blockern, die Fettmasse zu erhöhen [161], was zum Teil auf die Hemmung der adrenerg stimulierten Lipolyse zurückzuführen ist [160]. Hinzu kommt der bereits erwähnte inhibierende Einfluss Bisoprolols auf Entzündungsmediatoren wie beispielsweise TNF- $\alpha$ , die imstande sind, die Lipoproteinlipase zu hemmen bzw. im Fall von TNF- $\alpha$  die Lipolyse in menschlichen Fettzellen auch direkt zu stimulieren [95].

Ein Verlust von  $0,65 \pm 0,23$  g Fett pro Tag führte in der Gruppe der Kombination 75% zu einer Gesamtreduktion um 45%. Es schließen sich die IGF-1 Gruppe ( $0,92 \pm 0,15$  g) und die Gruppe der Kombination 25% ( $0,78 \pm 0,19$  g) an, bei denen sich der Gesamtverlust auf 57% bzw. 58% belief. In der Placebo-Tumorgruppe stellte sich mit einem täglichen Verlust von  $0,99 \pm 0,05$  g Fett, ein Gesamtverlust von 65% ein. Weder der Vergleich der vier Medikationen untereinander, noch der Gesamtgruppenvergleich zeigten eine signifikante Differenz.

Ein synergistischer Effekt hinsichtlich der Gewichtsentwicklung und Körperzusammensetzung konnte tendenziell nur in der Gruppe der Kombination 75% beobachtet werden, bei der sich eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung erahnen lässt. Diese Medikation vermochte der Tumor-Kachexie besser entgegen zu wirken als die alleinige Behandlung mit IGF-1, nicht aber mit Bisoprolol.

Der Vergleich der Nebennieren fiel zwar, statistisch gesehen, nicht signifikant aus, (siehe Tabelle 3.14), dennoch waren die Nebennieren der Bisoprololgruppe gegenüber den übrigen Behandlungsgruppen am leichtesten, was mit großer Wahrscheinlichkeit auf die durch den  $\beta$ -Blocker induzierte Hemmung der aktivierenden Wirkung der Stresshormone [152] und der daraus resultierenden Senkung des Sympathiko-tonus [317] zurückzuführen ist. Infolge der reduzierten Sympathikusaktivität, werden Catecholamine sowie katabole Hormone (Cortisol) in geringerem Umfang benötigt und dementsprechend in geringerem Umfang in der Nebenniere bereitgestellt [318, 319]. Hinzu kommt, dass die Tiere der Bisoprololgruppe offensichtlich am besten imstande waren, dem tumorinduzierten Katabolismus ent-

gegen zu steuern, was vermutlich zudem eine geringere Bereitstellung des Cortisols erforderlich machte.

Bei den verbleibenden Versuchsgruppen war keine Kontinuität bei den Gewichten der Nebennieren festzustellen.

Möglicherweise sind die zum Teil sehr großen Schwankungsbreiten bei den Gewichten der Nebennieren innerhalb der einzelnen Gruppen eine plausible Erklärung für die beobachtete Unstetigkeit hinsichtlich ihrer Gewichte (IGF-1: 27,1-45,8 mg; Kombi 25%: 28,7-59,6 mg; Placebo: 21-69 mg) und ließen sich mit einer Erhöhung der Tierzahlen vermeiden.

Der Gesamtgruppenvergleich zeigte gegenüber der Placebogruppe erhöhte, wenn auch nicht signifikant veränderte Gewichte beim Herz, der Lunge, der Leber, dem braunen interskapulären Fett, dem M. gastrocnemius, M. soleus sowie dem EDL.

Zudem waren die Milz, die Nieren, das retroperitoneale weiße Fett sowie der M. tibialis in den vier Medikationsgruppen signifikant schwerer gegenüber der unbehandelten Gruppe. Allerdings bot sich, wie bereits bei den Nebennieren, ein wechselhaftes Bild bei den Organgewichten in den einzelnen Behandlungsgruppen.

Auch hier zeigte sich die Gruppe der Kombination 75% gegenüber der niedrig dosierten Kombinationsbehandlung deutlich überlegen. Der Anteil des weißen und braunen Fetts zum Versuchsende war in der Bisoprololgruppe, gefolgt von der IGF-1 Gruppe am höchsten. Allerdings stimmt die bei der IGF-1 Gruppe gemachte Beobachtung hinsichtlich des weißen und braunen Fettgewebes nicht mit der Entwicklung der Gesamtfettmasse des Körpers überein. Die IGF-1 Gruppe hatte mit 57% den zweitgrößten Verlust an Fettmasse neben der Gruppe der niedrigen Kombination zu verzeichnen. Mit großer Wahrscheinlichkeit sind die niedrigeren Mittelwerte für den Gehalt an weißem Fett der übrigen Gruppen, bei denen ein geringerer Verlust der Gesamtfettmasse auftrat, auf die große Schwankungsbreite innerhalb der Gruppen zurück zu führen. Einige Tiere hatten beispielsweise gar kein weißes Fett mehr und andere wiederum einen Fettgehalt im vierstelligen Bereich (mg).

Die vier Muskeln waren in der Gruppe der Kombination 25% am leichtesten, gefolgt von der Bisoprololgruppe, obwohl diese paradoxerweise den geringsten Gesamtverlust an fettfreier Masse aufwies, was vermutlich mit der Tatsache im Zusammenhang steht, dass die Bisoprololgruppe zu Versuchsbeginn leichter war, im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen.

Die Behandlung mit der höher dosierten Kombination konnte die Masse des M. gastrocnemius und M. soleus am besten erhalten. Diese Tatsache spiegelt sich auch in der Entwicklung der fettfreien Masse wider. Mit der Kombination 75% gelang die Erhaltung der fettfreien Masse am zweitbesten.

In der IGF-1 Gruppe wurden stattdessen die höchsten Gewichte beim M. tibialis und EDL festgestellt, was sich möglicherweise wiederum mit den signifikant höheren Ausgangswerten für das Körpergewicht erklären lässt, da im Anschluss an die Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung, die Gruppe der niedrigen IGF-1 Dosierung den größten Verlust an fettfreier Masse in Relation zum Ausgangsgewicht zu verzeichnen hatte.

#### 4.3.4 Spontane Aktivität und Futteraufnahme

Die geringste Aktivitätsänderung wurde in der Bisoprololgruppe beobachtet (-42%), gefolgt von der IGF-1 Gruppe, deren Aktivität um 49% zurückging. Im Anschluss daran kam die Gruppe der Kombination 75% mit einer Aktivitätsabnahme von 54% und die Gruppe der Kombination 25%, deren Aktivität um 63% zurückging.

Am stärksten nahm die spontane Aktivität in der Placebogruppe ab (71%), so dass der Gesamtgruppenvergleich signifikant ausfiel. Verglichen mit der Shamgruppe, deren Aktivitätsabnahme 18% betrug, ist die Aktivität in der Bisoprololgruppe 2,3 Mal, in der IGF-1 Gruppe 2,7 Mal, in der Gruppe der höher dosierten Kombination 3 Mal, in der Gruppe der Kombination 25% 3,5 Mal und in der Placebogruppe 3,9 Mal so stark zurückgegangen.

Es gibt Studien, die belegen, dass die Therapie mit  $\beta$ -Blockern einen positiven Einfluss auf die Lebensqualität der Patienten nimmt [320, 321]. In der CIBIS-Studie wurde festgestellt, dass 21% der mit Bisoprolol therapierten Patienten im Gegensatz zu 15% der unbehandelten Patienten ihre Einstufung in der NYHA-Klassifikation verbessern konnten ( $p < 0,03$ ), obwohl auch 13% der Bisoprololpatienten verglichen mit 11% der Patienten aus der unbehandelten Gruppe eine Verschlechterung (n.s.) zeigten. Auch die Zahl der Therapieabbrüche infolge von Nebenwirkungen war in beiden Gruppen ähnlich (Bisoprolol: 23%; Placebo: 16%; n.s.) [156]. In der Studie von Issa und Kollegen konnte ein Trend zur Verbesserung der Lebensqualität der herzinsuffizienten Patienten festgestellt werden [322].

Das Ausmaß des Rückgangs der Nahrungsaufnahme deckt sich mit den Beobachtungen, die hinsichtlich der spontanen Aktivität gemacht wurden. Die Futteraufnahme war an Tag 10 verglichen mit Tag -1 in der Bisoprololgruppe um 43%, in der IGF-1 Gruppe um 57%, in der Gruppe der Kombination 75% um 61% und in der Gruppe der Kombination 25% um 71% reduziert. Die anti-inflammatorische Wirkung von Bisoprolol [162, 315, 316] hat mit großer Wahrscheinlichkeit dazu geführt, dass die durch TNF- $\alpha$  induzierte Anorexie [33], abgeschwächt wurde.

Auch in der Placebogruppe war die Futterraufnahme am stärksten reduziert (84%) und der Gesamtgruppenvergleich zeigte ein signifikantes Ergebnis.

Diese Daten stehen in direktem Zusammenhang mit den Beobachtungen, die hinsichtlich des Gewichtsverlaufs und der Körperzusammensetzung gemacht wurden.

Von synergistischen Effekten der beiden Monotherapien kann hinsichtlich der Lebensqualität nicht gesprochen werden.

### 4.3.5 Herzfunktion

Signifikante Unterschiede unter den fünf Behandlungsgruppen hinsichtlich der Herzparameter an Tag 0 des Versuchs bestanden bereits beim diastolisch gemessenen interventrikulären Septum, dem Schlagvolumen, bei den diastolisch und systolisch gemessenen LVHW, bei der linksventrikulären Masse sowie beim Herzminutenvolumen (siehe Tabelle 3.15). Wie in Kapitel 4.2.5 bereits erwähnt, sind die stärkeren Wände und die größere Masse des linken Ventrikels der IGF-1 Gruppe mit großer Wahrscheinlichkeit auf das signifikant größere Körpergewicht zu Versuchsbeginn, das aus einem höheren Gehalt an Fett sowie fettfreier Masse resultiert, zurück zu führen.

Am 11. Versuchstag gab es unter den Behandlungsgruppen signifikante Unterschiede beim diastolisch und systolisch ermittelten interventrikulären Septum, beim endsystolischen Diameter und Volumen, bei der Herzfrequenz sowie bei der LVFS (siehe Tabelle 3.16).

Bei den Durchmessern der interventrikulären Septen zeigte sich ein uneinheitliches Bild. In der Diastole war das interventrikuläre Septum der Bisoprololgruppe am stärksten, gefolgt von der IGF-1 Gruppe, der Gruppe der Kombination 25% und 75% sowie der Placebogruppe. Verglichen mit Tag 0 der Messung hat lediglich das IVS der Bisoprololgruppe (+24,8%) und der Gruppe der niedrigen Kombination (+9%) einen Zuwachs erfahren. Bei der Gruppe der Kombination 75% (-1,9%) und der Placebogruppe (-3,2%) kam es zu einer Reduktion der Wandstärke. Das Septum der IGF-1 Gruppe blieb unverändert.

Das stärkste systolisch ermittelte interventrikuläre Septum brachte die IGF-1 Gruppe hervor. In absteigender Reihenfolge schließen sich die Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung, die Bisoprololgruppe, die Gruppe der Kombination 75% und die Placebogruppe an. In Relation zur 1. Messung hat sich der interventrikuläre Septumdurchmesser aller Gruppen reduziert.

Am deutlichsten war die Abnahme in der Placebogruppe und der Gruppe der hohen Kombinationsbehandlung zu sehen (-20%), gefolgt von der Bisoprololgruppe (-10,4%) und der Gruppe der niedrigen Kombination (-10,2%). Die IGF-1 Gruppe zeigte mit -4,4% die geringste Reduktion.

Erwartungsgemäß lag damit in der Placebogruppe (-24%) die geringste linksventrikuläre Masse vor, gefolgt von der IGF-1 Gruppe, die zudem den größten Verlust linksventrikulärer Masse im Vergleich zum Tag 0 des Versuchs zu verzeichnen hatte (-31%).

Alle anderen Medikationen (Kombination 75%: -14,1%; Kombination 25%: -12,3%), insbesondere die Therapie mit Bisoprolol (+3,1%) konnten dem Gewebsverlust am Herzen etwas entgegenwirken, obwohl dennoch ein deutlicher Unterschied zu den Kontrolltieren zu sehen war, die ihre ursprüngliche linksventrikuläre Masse um 20% steigern konnte.

Der kleinste endsystolische Durchmesser sowie das niedrigste endsystolische Volumen lag in der IGF-1 Gruppe vor, was mit einer physiologischen Verkürzung des Herzens vergleichbar ist, da die Shamtiere einen ähnlichen Diameter ( $3,09 \pm 0,16$  mm) und ein ähnliches endsystolisches Volumen ( $58,49 \pm 7,44$  ml) aufwiesen.

Der hemmende Einfluss Bisoprolols auf das sympathische System [248, 323] führte auch im vorliegenden Versuch zu einer Absenkung der Herzfrequenz ( $211,33 \pm 25,53$ ), die damit signifikant niedriger gegenüber der Placebogruppe und IGF-1 Gruppe ( $343,33 \pm 19,12$  und  $343,00 \pm 15,16$ ) war. In den Kombinationsbehandlungsgruppen unterschieden sich die Herzfrequenzen kaum voneinander (25%:  $247,43 \pm 27,09$  und 75%:  $244,38 \pm 32,96$ ) und lagen etwas über der der Bisoprololgruppe, wodurch sich wiederum jeweils ein signifikanter Unterschied zur Placebogruppe und IGF-1 Gruppe ergab. Dies verdeutlicht, dass der in der Kombinationsbehandlung enthaltene Anteil von Bisoprolol ebenfalls zu einer Abnahme der Anzahl der Herzkontraktionen pro Minute geführt hat, wobei der Einfluss nicht so stark ausgeprägt war, wie bei der alleinigen Gabe von Bisoprolol.

Auch das Herzminutenvolumen der IGF-1 Gruppe, das nur halb so groß war, wie das der Shamgruppe ( $98,47 \pm 21,05$  ml), war dennoch größer als das der übrigen Versuchsgruppen, auch wenn dieser Unterschied nicht signifikant war. Das Herzminutenvolumen der Bisoprololgruppe war ähnlich reduziert wie das der Placebogruppe, was sich mit der Erniedrigung der Herzfrequenz durch den  $\beta$ -Blocker erklären lässt [156, 157]. Das reduzierte Herzminutenvolumen der Placebogruppe hingegen war das Resultat eines verminderten Schlagvolumens, das sich infolge der nachlassenden Kontraktilität des Herzmuskels in einer verstärkten Füllung des Ventrikels am Ende der Systole äußert.

Die Herzminutenvolumina der Kombinationstherapien lagen nur knapp über denen der Placebo- und Bisoprololgruppe, wodurch ein gewisses Zusammenspiel der beiden Monotherapien reflektiert wird.

Die Funktionsparameter LVEF und LVFS zeigten sich in der IGF-1 Behandlungsgruppe am besten und waren, verglichen mit denen der Shamgruppe nur um 15% bzw. 20% schlechter. Eine 15% schlechtere Ejektionsfraktion im Vergleich zur IGF-1 Gruppe lag in der Gruppe der Kombination 25% vor, die damit der Bisoprololgruppe und der hohen Kombinationsbehandlung überlegen war. Dies gilt gleichermaßen für die Verkürzungsfraktion, nur dass hier die Behandlung mit Bisoprolol den geringsten Erfolg herbeiführte.

Die relativ schlechten Funktionsparameter der Bisoprololgruppe sind sehr wahrscheinlich auf die negativ chrono- und inotropen Eigenschaften des  $\beta$ -Blockers zurück zu führen [156, 157]. Dagegen konnte in klinischen Langzeitstudien mit Bisoprolol eine Verbesserung der Auswurffraktion [324, 325] und Verkürzungsfraktion [326] beobachtet werden. Obwohl die Herzfrequenz bereits bei der ersten Behandlung mit Bisoprolol absinkt, benötigt es einige Monate bis eine Verbesserung der linksventrikulären Funktion deutlich wird und die negativ inotropen Eigenschaften Bisoprolols genügend ausgeglichen werden können [326].

## 5 Zusammenfassung

Das Tumor-Kachexie-Syndrom stellt eine häufige Begleiterscheinung maligner tumoröser Erkrankungen dar, verschlechtert deren Prognose zusätzlich und führt bei bis zu 22% der Patienten zum Tode.

Bislang bestehende therapeutische Strategien sind keineswegs befriedigend, ebenso wenig wie die neueren Therapieansätze. Klinische Studien an herzinsuffizienten Patienten mit kardialer Kachexie zeigten, dass der Einsatz des  $\beta$ -Blockers Bisoprolol einen positiven Einfluss auf die Gewichtsentwicklung genommen hat. Auch der Wachstumsfaktor IGF-1, ein Mediator des Wachstumshormons (GH), wird nicht nur aufgrund seiner anabolen Eigenschaften als ein möglicher Bestandteil bei der Therapie der Tumor-Kachexie in Betracht gezogen.

Der erste Teil dieser Studie war darauf ausgerichtet, die effektive Dosis der beiden Monotherapien (Bisoprolol: 5 mg/kg/d oder 50 mg/kg/d bzw. IGF-1: 0,3 mg/kg/d oder 3 mg/kg/d) zu ermitteln. In der zweiten Phase des Versuchs ist die kombinierte Gabe von jeweils 75% und 25% der effektiven Dosierungen von Bisoprolol und IGF-1 untersucht worden.

Ziel dieser Studie war es, den Einfluss von Bisoprolol und IGF-1 einzeln und im Zusammenwirken miteinander bei tumortragenden Ratten auf die nachfolgend aufgelisteten Kriterien herauszuarbeiten:

- Mortalität
- Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung, Organgewicht
- spontane Aktivität, Futteraufnahme
- Herzfunktion

Dazu wurden in dieser randomisierten Doppelblindstudie 105 männlichen Wistar-Ratten  $10^8$  Zellen des AH-130 Yoshida Hepatoms (=Tumortiere, n=97) bzw. eine entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung (=Shamtiere, n=8) intraperitoneal appliziert. Alle zwei Tage wurde das Körpergewicht bestimmt und Daten zur Körperzusammensetzung erhoben. Die Aufzeichnung der spontanen Aktivität sowie der Futteraufnahme über einen Zeitraum von 24 Stunden erfolgte sowohl zwei Tage vor, als auch zehn Tage nach Inokulation der Tumorzellen resp. Kochsalzlösung. Die Messung funktionaler Herzparameter im Rahmen der echo-kardiographischen Untersuchung fand an Tag 0 und Tag 11 des Versuchs statt.

Die Therapie entsprechend der Gruppenzuteilung mit den jeweiligen Medikamenten bzw. einem Scheinmedikament (Placebo) begann 24 Stunden nach Applikation der Tumorzellen resp. Kochsalzlösung und erfolgte einmal täglich. An Tag 16, dem letzten Tag des Versuchsprotokolls, wurden alle, auch die nicht terminal kranken Tiere getötet.

Der Vergleich der Shamgruppe mit der Placebo-Tumorgruppe brachte eindeutig die Kachexie-erzeugende Wirkung des angewandten Tumormodells hervor und ermöglichte somit eine Feststellung vorhandener anti-kachektischer Effekte der eingesetzten Medikamente.

Weder die Monotherapien, noch deren Kombinationen miteinander hatten einen begünstigenden oder hemmenden Einfluss auf die Eigenschaften des Tumors (Zellzahl, Volumen).

Bezug nehmend auf die Entwicklung der Körperzusammensetzung und damit die Gewichtsentwicklung erzeugte die Behandlung mit Bisoprolol den größten anti-kachektischen Effekt, gefolgt von der Gruppe der Kombination 75%, bei der sich im Gegensatz zur Gruppe der Kombination 25% eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung andeutete. Die alleinige Behandlung mit IGF-1 vermochte es nicht der Tumor-Kachexie besser entgegen zu wirken, verglichen mit der Gruppe der höher dosierten Kombination, wohl aber im Vergleich zur Gruppe der Kombination 25%.

Die tumorinduzierte Anorexie wurde unter der Behandlung mit Bisoprolol und wenngleich etwas schwächer, durch IGF-1 am deutlichsten abgemildert. Auch der Aktivitätsrückgang war in diesen Gruppen am geringsten ausgeprägt. Die Kombinationen der beiden Monotherapien waren im Vergleich dazu nicht so erfolgreich, obwohl die Unterschiede diesbezüglich nicht signifikant ausfielen.

Die Ejektions- und Verkürzungsfraction spiegeln die Verbesserung der Herzfunktion durch die Gabe von IGF-1 wider, auch wenn keine Signifikanz gegenüber den verbleibenden Versuchsgruppen zustande kam. Nachfolgend zeigte sich die Gruppe der niedrigen Kombinationsbehandlung bezüglich der Herzfunktionsparameter der Bisoprololgruppe und der Gruppe der Kombination 75% überlegen.

Eine deutlich verbesserte Überlebensrate, verglichen mit der Placebogruppe, hatten die mit Bisoprolol behandelten Tiere. Auch unter der Behandlung mit der höher dosierten Kombination, IGF-1 und der Kombination 25% war die Mortalität reduziert, obwohl die Unterschiede nicht signifikant ausfielen.

Der ausbleibende Erfolg bei der Erhaltung der fettfreien Masse und damit dem Körpergewicht seitens der IGF-1-Behandlung lässt sich möglicherweise mit der Tatsache erklären, dass rhIGF-1 nicht stabil genug ist, um ausreichend hohe Wirkspiegel zu erreichen.

Eine Kombination aus rhIGF-1 und IGFBP-3 (SomatoKine<sup>®</sup>) könnte aufgrund der verlängerten Halbwertszeit die Einstellung eines höheren und beständigeren IGF-1-Serumspiegels ermöglichen. Auch die Konzentration im Gewebe könnte sich aufgrund der Stabilisierung durch den ternären Komplex und der damit reduzierten Clearance erhöhen.

Die überraschend schlechten funktionellen Herzparameter der Bisoprololgruppe sind vermutlich auf die negativ chrono- und inotropen Eigenschaften des  $\beta$ -Blockers zurück zu führen. Mit großer Wahrscheinlichkeit benötigt es einige Monate bis eine Verbesserung der funktionellen Herzparameter zu sehen ist, wie klinische Langzeitstudien belegen, obwohl es bereits ab der ersten Behandlung mit Bisoprolol zu einer Absenkung der Herzfrequenz kommt.

Generell ist zu sagen, dass die höher dosierte Kombination der beiden Monotherapien (75%) deutlich bessere Ergebnisse erzielte, verglichen mit der niedrigen Dosierung (25%), ohne dass von Synergien gesprochen werden kann.

## 6 Summary

### **The impact of bisoprolol and IGF-1 in particular as mono-therapy as well as in combination on the development of body weight, body composition, spontaneous activity and cardiac function in a rat model of cancer cachexia**

Cachexia is a frequent co-morbidity of malignant cancers and drastically affects patients' outcome. Up to 22% of the patients die as a result of cachexia. So far, existing as well as experimental therapeutic strategies are not satisfactory. Studies in a sub-group of chronic heart failure patients with cardiac cachexia showed that the application of the  $\beta$ -blocker bisoprolol positively influenced body weight development.

The growth factor IGF-1, mediator of growth hormone (GH) and an anabolically active messenger has been taken into consideration as one possible component of cancer-cachexia treatment.

The first part of this study was designed to find out the more effective dosage of both mono-therapies (bisoprolol: 5 mg/kg/d or 50 mg/kg/d resp. IGF-1: 0,3 mg/kg/d or 3 mg/kg/d). In the second part of the study the combined administration of respectively 75% and 25% of the more effective dosage of bisoprolol and IGF-1 was analyzed.

In this study, the impact of bisoprolol and IGF-1 in particular as mono-therapy as well as in combination on the following endpoints were assessed in a rat model of severe cancer cachexia:

- mortality
- body weight development, body composition, organ weight
- spontaneous activity, food intake
- cardiac function

For that purpose male Wistar 105 rats were inoculated with  $10^8$  AH-130 tumor cells (=tumor, n=97) resp. saline solution (=sham, n=8) into the peritoneal cavity. The study was performed in a randomized double-blind fashion. Every other day, rats were weighed and body composition data were assessed. Spontaneous activity and food intake were documented two days before as well as ten days after inoculation of tumor cells resp. saline solution over a period of 24 hours. The measurement of cardiac function by echocardiography was performed on day 0 and 11 of the study.

Twenty four hours after inoculation of the tumor cells resp. saline solution, daily treatment with the corresponding compounds resp. placebo was started. Animals were killed either on day 16 (maximum duration of the protocol) or prematurely if ethical endpoints were met.

The comparison between the sham group and the tumor-bearing untreated animals clearly displayed the cachexia-inducing impact of the tumor-model, hence, it is suitable for the detection of anti-cachectic effects of the used drugs.

Neither mono-therapy nor combination-therapy had any impact on the characteristics of the tumor (cell number, volume).

With regard to body weight and composition, the treatment with bisoprolol displayed the best anti-cachectic effect, followed by the group receiving a combination of 75% of the most effective single treatments. This group suggested a positive dose-effect-relationship compared to the group receiving a combination of 25% of the most effective single treatments. IGF-1 mono-therapy was not able to counteract tumor-cachexia better than the group receiving high dose combination, but the group receiving low dose combination.

The cancer-induced anorexia was most efficiently attenuated by the treatment with bisoprolol, followed by treatment with IGF-1. Also, the activity-level was best preserved in these groups. The combination of both drugs was not successful although there were no significant differences to respective mono-therapies.

An improved ejection fraction and fractional shortening reflect the enhancement of cardiac function by treatment with IGF-1, although it did not reach significance.

Subsequently the low dose combination appeared superior with regard to cardiac function compared to the groups treated with bisoprolol and the high dose combination.

The animals treated with bisoprolol demonstrated a significantly improved survival rate in comparison to the tumor-bearing untreated animals. The mortality also reduced under the treatment with the high dose combination, IGF-1 and the low dose combination, but did not reach significance.

Perhaps, the treatment failure of IGF-1 on body weight and particularly lean mass can be explained by the fact that rhIGF-1 was not stable enough to achieve effective levels. A combination of rhIGF-1 and IGFBP-3 (SomatoKine®) could adjust superior and constant IGF-1 levels because of the prolonged half life. The concentration in the tissue could also be increased because of the stabilization by the ternary complex and therefore the reduced clearance.

The negative chrono-and inotropic properties are most likely responsible for the poorer functional parameters of the bisoprolol-treated group in the present study.

Perhaps some months under treatment are needed until an improved cardiac function becomes apparent, as shown in clinical long-term studies, although heart rate reduction is noticed from the first application of bisoprolol.

The combination of both drugs did not lead to synergistic effects, although the high dose combination was more effective than the low dose combination, but failed to show an improvement compared to bisoprolol. Further studies on dosing are needed, if IGF-1 alone or in combination with bisoprolol are to be considered a therapy option for cancer cachexia.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Ferlay, J., Autier, P., Boniol, M., Heanue, M., Colombet, M., and Boyle, P., *Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006*. Ann Oncol, 2007. 18(3): p. 581-92.
2. Muscaritoli, M., Bossola, M., Aversa, Z., Bellantone, R., and Rossi Fanelli, F., *Prevention and treatment of cancer cachexia: new insights into an old problem*. Eur J Cancer, 2006. 42(1): p. 31-41.
3. Inui, A., *Cancer anorexia-cachexia syndrome: current issues in research and management*. CA Cancer J Clin, 2002. 52(2): p. 72-91.
4. MacDonald, N., Easson, A. M., Mazurak, V. C., Dunn, G. P., and Baracos, V. E., *Understanding and managing cancer cachexia*. J Am Coll Surg, 2003. 197(1): p. 143-61.
5. Tisdale, M. J., *Molecular pathways leading to cancer cachexia*. Physiology (Bethesda), 2005. 20: p. 340-8.
6. Baracos, V. E., *Cancer-associated cachexia and underlying biological mechanisms*. Annu Rev Nutr, 2006. 26: p. 435-61.
7. Evans, W. J., Morley, J. E., Argiles, J., Bales, C., Baracos, V., Guttridge, D., Jatoi, A., Kalantar-Zadeh, K., Lochs, H., Mantovani, G., Marks, D., Mitch, W. E., Muscaritoli, M., Najand, A., Ponikowski, P., Rossi Fanelli, F., Schambelan, M., Schols, A., Schuster, M., Thomas, D., Wolfe, R., and Anker, S. D., *Cachexia: a new definition*. Clin Nutr, 2008. 27(6): p. 793-9.
8. von Haehling, S., Genth-Zotz, S., Anker, S. D., and Volk, H. D., *Cachexia: a therapeutic approach beyond cytokine antagonism*. Int J Cardiol, 2002. 85(1): p. 173-83.
9. Teng Chung, T. and Hinds, C. J., *Treatment with GH and IGF-1 in critical illness*. Crit Care Clin, 2006. 22(1): p. 29-40, vi.
10. Morley, J. E., Thomas, D. R., and Wilson, M. M., *Cachexia: pathophysiology and clinical relevance*. Am J Clin Nutr, 2006. 83(4): p. 735-43.
11. Tisdale, M. J., *Biology of cachexia*. J Natl Cancer Inst, 1997. 89(23): p. 1763-73.
12. Rosenberg, I. H., *Sarcopenia: origins and clinical relevance*. J Nutr, 1997. 127(5 Suppl): p. 990S-991S.
13. Baumgartner, R. N., Koehler, K. M., Gallagher, D., Romero, L., Heymsfield, S. B., Ross, R. R., Garry, P. J., and Lindeman, R. D., *Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico*. Am J Epidemiol, 1998. 147(8): p. 755-63.
14. Argiles, J. M., *Cancer-associated malnutrition*. Eur J Oncol Nurs, 2005. 9 Suppl 2: p. S39-50.
15. Argiles, J. M., Busquets, S., and Lopez-Soriano, F. J., *The pivotal role of cytokines in muscle wasting during cancer*. Int J Biochem Cell Biol, 2005. 37(10): p. 2036-46.
16. Fearon, K. C. and Preston, T., *Body composition in cancer cachexia*. Infusionstherapie, 1990. 17 Suppl 3: p. 63-6.
17. Sharma, R. and Anker, S. D., *Cytokines, apoptosis and cachexia: the potential for TNF antagonism*. Int J Cardiol, 2002. 85(1): p. 161-71.
18. Argiles, J. M., Moore-Carrasco, R., Fuster, G., Busquets, S., and Lopez-Soriano, F. J., *Cancer cachexia: the molecular mechanisms*. Int J Biochem Cell Biol, 2003. 35(4): p. 405-9.
19. Argiles, J. M., Moore-Carrasco, R., Busquets, S., and Lopez-Soriano, F. J., *Catabolic mediators as targets for cancer cachexia*. Drug Discov Today, 2003. 8(18): p. 838-44.

20. Deans, D. A., Wigmore, S. J., Gilmour, H., Paterson-Brown, S., Ross, J. A., and Fearon, K. C., *Elevated tumour interleukin-1beta is associated with systemic inflammation: A marker of reduced survival in gastro-oesophageal cancer*. Br J Cancer, 2006. 95(11): p. 1568-75.
21. Todorov, P., Cariuk, P., McDevitt, T., Coles, B., Fearon, K., and Tisdale, M., *Characterization of a cancer cachectic factor*. Nature, 1996. 379(6567): p. 739-42.
22. Hirai, K., Hussey, H. J., Barber, M. D., Price, S. A., and Tisdale, M. J., *Biological evaluation of a lipid-mobilizing factor isolated from the urine of cancer patients*. Cancer Res, 1998. 58(11): p. 2359-65.
23. Barber, M. D., McMillan, D. C., Wallace, A. M., Ross, J. A., Preston, T., and Fearon, K. C., *The response of leptin, interleukin-6 and fat oxidation to feeding in weight-losing patients with pancreatic cancer*. Br J Cancer, 2004. 90(6): p. 1129-32.
24. Costelli, P., Muscaritoli, M., Bossola, M., Penna, F., Reffo, P., Bonetto, A., Busquets, S., Bonelli, G., Lopez-Soriano, F. J., Doglietto, G. B., Argiles, J. M., Baccino, F. M., and Rossi Fanelli, F., *IGF-1 is downregulated in experimental cancer cachexia*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2006. 291(3): p. R674-83.
25. Fearon, K. C. and Moses, A. G., *Cancer cachexia*. Int J Cardiol, 2002. 85(1): p. 73-81.
26. Cravo, M. L., Gloria, L. M., and Claro, I., *Metabolic responses to tumour disease and progression: tumour-host interaction*. Clin Nutr, 2000. 19(6): p. 459-65.
27. Argiles, J. M., Busquets, S., and Lopez-Soriano, F. J., *Cytokines in the pathogenesis of cancer cachexia*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2003. 6(4): p. 401-6.
28. Van Cutsem, E. and Arends, J., *The causes and consequences of cancer-associated malnutrition*. Eur J Oncol Nurs, 2005. 9 Suppl 2: p. S51-63.
29. Ramos, E. J., Suzuki, S., Marks, D., Inui, A., Asakawa, A., and Meguid, M. M., *Cancer anorexia-cachexia syndrome: cytokines and neuropeptides*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2004. 7(4): p. 427-34.
30. Moldawer, L. L., Rogy, M. A., and Lowry, S. F., *The role of cytokines in cancer cachexia*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1992. 16(6 Suppl): p. 43S-49S.
31. Maltoni, M., Fabbri, L., Nanni, O., Scarpi, E., Pezzi, L., Flamini, E., Riccobon, A., Derni, S., Pallotti, G., and Amadori, D., *Serum levels of tumour necrosis factor alpha and other cytokines do not correlate with weight loss and anorexia in cancer patients*. Support Care Cancer, 1997. 5(2): p. 130-5.
32. Plata-Salaman, C. R., *Central nervous system mechanisms contributing to the cachexia-anorexia syndrome*. Nutrition, 2000. 16(10): p. 1009-12.
33. Tracey, K. J., Morgello, S., Koplin, B., Fahey, T. J., 3rd, Fox, J., Aledo, A., Manogue, K. R., and Cerami, A., *Metabolic effects of cachectin/tumor necrosis factor are modified by site of production. Cachectin/tumor necrosis factor-secreting tumor in skeletal muscle induces chronic cachexia, while implantation in brain induces predominantly acute anorexia*. J Clin Invest, 1990. 86(6): p. 2014-24.
34. Gelin, J., Moldawer, L. L., Lonroth, C., Sherry, B., Chizzonite, R., and Lundholm, K., *Role of endogenous tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 for experimental tumor growth and the development of cancer cachexia*. Cancer Res, 1991. 51(1): p. 415-21.
35. Hauner, H., Petruschke, T., Russ, M., Rohrig, K., and Eckel, J., *Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture*. Diabetologia, 1995. 38(7): p. 764-71.

36. Hall-Angeras, M., Angeras, U., Zamir, O., Hasselgren, P. O., and Fischer, J. E., *Interaction between corticosterone and tumor necrosis factor stimulated protein breakdown in rat skeletal muscle, similar to sepsis*. *Surgery*, 1990. 108(2): p. 460-6.
37. Llovera, M., Lopez-Soriano, F. J., and Argiles, J. M., *Effects of tumor necrosis factor-alpha on muscle-protein turnover in female Wistar rats*. *J Natl Cancer Inst*, 1993. 85(16): p. 1334-9.
38. Matthys, P. and Billiau, A., *Cytokines and cachexia*. *Nutrition*, 1997. 13(9): p. 763-70.
39. Noguchi, Y., Yoshikawa, T., Matsumoto, A., Svaninger, G., and Gelin, J., *Are cytokines possible mediators of cancer cachexia?* *Surg Today*, 1996. 26(7): p. 467-75.
40. Sherry, B. A., Gelin, J., Fong, Y., Marano, M., Wei, H., Cerami, A., Lowry, S. F., Lundholm, K. G., and Moldawer, L. L., *Anticachectin/tumor necrosis factor-alpha antibodies attenuate development of cachexia in tumor models*. *Faseb J*, 1989. 3(8): p. 1956-62.
41. Matthys, P., Heremans, H., Opdenakker, G., and Billiau, A., *Anti-interferon-gamma antibody treatment, growth of Lewis lung tumours in mice and tumour-associated cachexia*. *Eur J Cancer*, 1991. 27(2): p. 182-7.
42. Skipworth, R. J., Stewart, G. D., Dejong, C. H., Preston, T., and Fearon, K. C., *Pathophysiology of cancer cachexia: much more than host-tumour interaction?* *Clin Nutr*, 2007. 26(6): p. 667-76.
43. Ishiko, O., Yasui, T., Hirai, K., Honda, K., Sumi, T., Nishimura, S., and Ogita, S., *Lipolytic activity of anemia-inducing substance from tumor-bearing rabbits*. *Nutr Cancer*, 1999. 33(2): p. 201-5.
44. Fearon, K. C., Falconer, J. S., Slater, C., McMillan, D. C., Ross, J. A., and Preston, T., *Albumin synthesis rates are not decreased in hypoalbuminemic cachectic cancer patients with an ongoing acute-phase protein response*. *Ann Surg*, 1998. 227(2): p. 249-54.
45. Barber, M. D., Fearon, K. C., McMillan, D. C., Slater, C., Ross, J. A., and Preston, T., *Liver export protein synthetic rates are increased by oral meal feeding in weight-losing cancer patients*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2000. 279(3): p. E707-14.
46. Baumann, H. and Gauldie, J., *The acute phase response*. *Immunol Today*, 1994. 15(2): p. 74-80.
47. Castell, J. V., Gomez-Lechon, M. J., David, M., Fabra, R., Trullenque, R., and Heinrich, P. C., *Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6*. *Hepatology*, 1990. 12(5): p. 1179-86.
48. Moshage, H., *Cytokines and the hepatic acute phase response*. *J Pathol*, 1997. 181(3): p. 257-66.
49. Henderson, J. T., Mullen, B. J., and Roder, J. C., *Physiological effects of CNTF-induced wasting*. *Cytokine*, 1996. 8(10): p. 784-93.
50. Wang, M. C. and Forsberg, N. E., *Effects of ciliary neurotrophic factor (CNTF) on protein turnover in cultured muscle cells*. *Cytokine*, 2000. 12(1): p. 41-8.
51. Watchorn, T. M., Waddell, I., Dowidar, N., and Ross, J. A., *Proteolysis-inducing factor regulates hepatic gene expression via the transcription factors NF-(kappa)B and STAT3*. *Faseb J*, 2001. 15(3): p. 562-4.
52. Argiles, J. M., Busquets, S., Moore-Carrasco, R., Figueras, M., Almendro, V., and Lopez-Soriano, F. J., *Targets in clinical oncology: the metabolic environment of the patient*. *Front Biosci*, 2007. 12: p. 3024-51.
53. Giovanni Mantovani, Stefan D. Anker, Akio Inui, John E. Morley, *Cachexia and wasting. A Modern Approach*. 2006: Springer-Verlag GmbH. 756.

54. Laviano, A., Meguid, M. M., and Rossi-Fanelli, F., *Cancer anorexia: clinical implications, pathogenesis, and therapeutic strategies*. *Lancet Oncol*, 2003. 4(11): p. 686-94.
55. Mantovani, G., Maccio, A., Massa, E., and Madeddu, C., *Managing cancer-related anorexia/cachexia*. *Drugs*, 2001. 61(4): p. 499-514.
56. Costa, G., *Cachexia, the metabolic component of neoplastic diseases*. *Cancer Res*, 1977. 37(7 Pt 2): p. 2327-35.
57. Ovesen, L., Allingstrup, L., Hannibal, J., Mortensen, E. L., and Hansen, O. P., *Effect of dietary counseling on food intake, body weight, response rate, survival, and quality of life in cancer patients undergoing chemotherapy: a prospective, randomized study*. *J Clin Oncol*, 1993. 11(10): p. 2043-9.
58. Tisdale, M. J., *Cachexia in cancer patients*. *Nat Rev Cancer*, 2002. 2(11): p. 862-71.
59. Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr., Seeley, R. J., and Baskin, D. G., *Central nervous system control of food intake*. *Nature*, 2000. 404(6778): p. 661-71.
60. Inui, A., *Cancer anorexia-cachexia syndrome: are neuropeptides the key?* *Cancer Res*, 1999. 59(18): p. 4493-501.
61. Gutierrez, E. G., Banks, W. A., and Kastin, A. J., *Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse*. *J Neuroimmunol*, 1993. 47(2): p. 169-76.
62. Katafuchi, T., Motomura, K., Baba, S., Ota, K., and Hori, T., *Differential effects of tumor necrosis factor-alpha and -beta on rat ventromedial hypothalamic neurons in vitro*. *Am J Physiol*, 1997. 272(6 Pt 2): p. R1966-71.
63. Sheppard, B. C., Venzon, D., Fraker, D. L., Langstein, H. N., Jensen, J. C., and Norton, J. A., *Prolonged survival of tumor-bearing rats with repetitive low-dose recombinant tumor necrosis factor*. *Cancer Res*, 1990. 50(13): p. 3928-33.
64. Torelli, G. F., Meguid, M. M., Moldawer, L. L., Edwards, C. K., 3rd, Kim, H. J., Carter, J. L., Laviano, A., and Rossi Fanelli, F., *Use of recombinant human soluble TNF receptor in anorectic tumor-bearing rats*. *Am J Physiol*, 1999. 277(3 Pt 2): p. R850-5.
65. Greene, D., Nail, L. M., Fieler, V. K., Dudgeon, D., and Jones, L. S., *A comparison of patient-reported side effects among three chemotherapy regimens for breast cancer*. *Cancer Pract*, 1994. 2(1): p. 57-62.
66. Taplin, S. C., Blanke, C. D., and Baughman, C., *Nursing care strategies for the management of side effects in patients treated for colorectal cancer*. *Semin Oncol*, 1997. 24(5 Suppl 18): p. S18-64-S18-70.
67. Meguid, M. M., Mughal, M. M., Debonis, D., Meguid, V., and Terz, J. J., *Influence of nutritional status on the resumption of adequate food intake in patients recovering from colorectal cancer operations*. *Surg Clin North Am*, 1986. 66(6): p. 1167-76.
68. Dewys, W. D., Begg, C., Lavin, P. T., Band, P. R., Bennett, J. M., Bertino, J. R., Cohen, M. H., Douglass, H. O., Jr., Engstrom, P. F., Ezdinli, E. Z., Horton, J., Johnson, G. J., Moertel, C. G., Oken, M. M., Perlia, C., Rosenbaum, C., Silverstein, M. N., Skeel, R. T., Sponzo, R. W., and Tormey, D. C., *Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group*. *Am J Med*, 1980. 69(4): p. 491-7.
69. Ovesen, L., Hannibal, J., and Mortensen, E. L., *The interrelationship of weight loss, dietary intake, and quality of life in ambulatory patients with cancer of the lung, breast, and ovary*. *Nutr Cancer*, 1993. 19(2): p. 159-67.
70. Rickard, K. A., Detamore, C. M., Coates, T. D., Grosfeld, J. L., Weetman, R. M., White, N. M., Provisor, A. J., Boxer, L. A., Loghmani, E. S., Oei, T. O., Yu, P. L., and Baehner, R. L., *Effect of nutrition staging on treatment delays and outcome in Stage IV neuroblastoma*. *Cancer*, 1983. 52(4): p. 587-98.

71. Andreyev, H. J., Norman, A. R., Oates, J., and Cunningham, D., *Why do patients with weight loss have a worse outcome when undergoing chemotherapy for gastrointestinal malignancies?* Eur J Cancer, 1998. 34(4): p. 503-9.
72. Rey-Ferro, M., Castano, R., Orozco, O., Serna, A., and Moreno, A., *Nutritional and immunologic evaluation of patients with gastric cancer before and after surgery.* Nutrition, 1997. 13(10): p. 878-81.
73. von Meyenfeldt, M., *Cancer-associated malnutrition: an introduction.* Eur J Oncol Nurs, 2005. 9 Suppl 2: p. S35-8.
74. Gordon, J. N., Green, S. R., and Goggin, P. M., *Cancer cachexia.* Qjm, 2005. 98(11): p. 779-88.
75. Zylicz, Z., Schwantje, O., Wagener, D. J., and Folgering, H. T., *Metabolic response to enteral food in different phases of cancer cachexia in rats.* Oncology, 1990. 47(1): p. 87-91.
76. Fredrix, E. W., Soeters, P. B., Wouters, E. F., Deerenberg, I. M., von Meyenfeldt, M. F., and Saris, W. H., *Effect of different tumor types on resting energy expenditure.* Cancer Res, 1991. 51(22): p. 6138-41.
77. Moses, A. W., Slater, C., Preston, T., Barber, M. D., and Fearon, K. C., *Reduced total energy expenditure and physical activity in cachectic patients with pancreatic cancer can be modulated by an energy and protein dense oral supplement enriched with n-3 fatty acids.* Br J Cancer, 2004. 90(5): p. 996-1002.
78. Giordano, A., Calvani, M., Petillo, O., Carteni, M., Melone, M. R., and Peluso, G., *Skeletal muscle metabolism in physiology and in cancer disease.* J Cell Biochem, 2003. 90(1): p. 170-86.
79. Shellock, F. G., Riedinger, M. S., and Fishbein, M. C., *Brown adipose tissue in cancer patients: possible cause of cancer-induced cachexia.* J Cancer Res Clin Oncol, 1986. 111(1): p. 82-5.
80. Strasser, F., Palmer, J. L., Schover, L. R., Yusuf, S. W., Pisters, K., Vassilopoulou-Sellin, R., DeGracia, B., Willey, J. S., and Bruera, E., *The impact of hypogonadism and autonomic dysfunction on fatigue, emotional function, and sexual desire in male patients with advanced cancer: a pilot study.* Cancer, 2006. 107(12): p. 2949-57.
81. Yun, A. J., Lee, P. Y., and Bazar, K. A., *Modulation of autonomic balance by tumors and viruses.* Med Hypotheses, 2004. 63(2): p. 344-51.
82. Hylander, A., Drott, C., Korner, U., Sandstrom, R., and Lundholm, K., *Elevated energy expenditure in cancer patients with solid tumours.* Eur J Cancer, 1991. 27(1): p. 9-15.
83. Drott, C., Svaninger, G., and Lundholm, K., *Increased urinary excretion of cortisol and catecholami-NES in malnourished cancer patients.* Ann Surg, 1988. 208(5): p. 645-50.
84. Mantovani, G., Maccio, A., Lai, P., Massa, E., Ghiani, M., and Santona, M. C., *Cytokine activity in cancer-related anorexia/cachexia: role of megestrol acetate and medroxyprogesterone acetate.* Semin Oncol, 1998. 25(2 Suppl 6): p. 45-52.
85. Rofe, A. M., Bourgeois, C. S., Coyle, P., Taylor, A., and Abdi, E. A., *Altered insulin response to glucose in weight-losing cancer patients.* Anticancer Res, 1994. 14(2B): p. 647-50.
86. Nolop, K. B., Rhodes, C. G., Brudin, L. H., Beaney, R. P., Krausz, T., Jones, T., and Hughes, J. M., *Glucose utilization in vivo by human pulmonary neoplasms.* Cancer, 1987. 60(11): p. 2682-9.
87. Mathupala, S. P., Rempel, A., and Pedersen, P. L., *Glucose catabolism in cancer cells. Isolation, sequence, and activity of the promoter for type II hexokinase.* J Biol Chem, 1995. 270(28): p. 16918-25.

88. Albrecht, J. T. and Canada, T. W., *Cachexia and anorexia in malignancy*. Hematol Oncol Clin North Am, 1996. 10(4): p. 791-800.
89. De Blaauw, I., Deutz, N. E., and Von Meyenfeldt, M. F., *Metabolic changes of cancer cachexia--second of two parts*. Clin Nutr, 1997. 16(5): p. 223-8.
90. Fearon, K. C., *The Sir David Cuthbertson Medal Lecture 1991. The mechanisms and treatment of weight loss in cancer*. Proc Nutr Soc, 1992. 51(2): p. 251-65.
91. Argiles, J. M., Alvarez, B., and Lopez-Soriano, F. J., *The metabolic basis of cancer cachexia*. Med Res Rev, 1997. 17(5): p. 477-98.
92. Tijerina, A. J., *The biochemical basis of metabolism in cancer cachexia*. Dimens Crit Care Nurs, 2004. 23(6): p. 237-43.
93. Mulligan, H. D. and Tisdale, M. J., *Lipogenesis in tumour and host tissues in mice bearing colonic adenocarcinomas*. Br J Cancer, 1991. 63(5): p. 719-22.
94. Berg, M., Fraker, D. L., and Alexander, H. R., *Characterization of differentiation factor/leukaemia inhibitory factor effect on lipoprotein lipase activity and mRNA in 3T3-L1 adipocytes*. Cytokine, 1994. 6(4): p. 425-32.
95. Zhang, H. H., Halbleib, M., Ahmad, F., Manganiello, V. C., and Greenberg, A. S., *Tumor necrosis factor-alpha stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP*. Diabetes, 2002. 51(10): p. 2929-35.
96. Drott, C., Persson, H., and Lundholm, K., *Cardiovascular and metabolic response to adrenaline infusion in weight-losing patients with and without cancer*. Clin Physiol, 1989. 9(5): p. 427-39.
97. Shaw, J. H. and Wolfe, R. R., *Fatty acid and glycerol kinetics in septic patients and in patients with gastrointestinal cancer. The response to glucose infusion and parenteral feeding*. Ann Surg, 1987. 205(4): p. 368-76.
98. Beck, S. A. and Tisdale, M. J., *Production of lipolytic and proteolytic factors by a murine tumor-producing cachexia in the host*. Cancer Res, 1987. 47(22): p. 5919-23.
99. Tisdale, M. J., *Cancer cachexia*. Langenbecks Arch Surg, 2004. 389(4): p. 299-305.
100. Russell, S. T., Hirai, K., and Tisdale, M. J., *Role of beta3-adrenergic receptors in the action of a tumour lipid mobilizing factor*. Br J Cancer, 2002. 86(3): p. 424-8.
101. Bing, C., Bao, Y., Jenkins, J., Sanders, P., Manieri, M., Cinti, S., Tisdale, M. J., and Trayhurn, P., *Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. 101(8): p. 2500-5.
102. Russell, S. T., Zimmerman, T. P., Domin, B. A., and Tisdale, M. J., *Induction of lipolysis in vitro and loss of body fat in vivo by zinc-alpha2-glycoprotein*. Biochim Biophys Acta, 2004. 1636(1): p. 59-68.
103. Bao, Y., Bing, C., Hunter, L., Jenkins, J. R., Wabitsch, M., and Trayhurn, P., *Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed and secreted by human (SGBS) adipocytes*. FEBS Lett, 2005. 579(1): p. 41-7.
104. Tisdale, M. J., *Tumor-host interactions*. J Cell Biochem, 2004. 93(5): p. 871-7.
105. Sanders, P. M. and Tisdale, M. J., *Effect of zinc-alpha2-glycoprotein (ZAG) on expression of uncoupling proteins in skeletal muscle and adipose tissue*. Cancer Lett, 2004. 212(1): p. 71-81.
106. Bing, C., Russell, S. T., Beckett, E. E., Collins, P., Taylor, S., Barraclough, R., Tisdale, M. J., and Williams, G., *Expression of uncoupling proteins-1, -2 and -3 mRNA is induced by an adenocarcinoma-derived lipid-mobilizing factor*. Br J Cancer, 2002. 86(4): p. 612-8.

107. Mitch, W. E. and Goldberg, A. L., *Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway.* N Engl J Med, 1996. 335(25): p. 1897-905.
108. Norton, J. A., Stein, T. P., and Brennan, M. F., *Whole body protein synthesis and turnover in normal man and malnourished patients with and without known cancer.* Ann Surg, 1981. 194(2): p. 123-8.
109. Baracos, V. E., *Regulation of skeletal-muscle-protein turnover in cancer-associated cachexia.* Nutrition, 2000. 16(10): p. 1015-8.
110. Tisdale, M. J., *Pathogenesis of cancer cachexia.* J Support Oncol, 2003. 1(3): p. 159-68.
111. Gronostajski, R. M., Goldberg, A. L., and Pardee, A. B., *The role of increased proteolysis in the atrophy and arrest of proliferation in serum-deprived fibroblasts.* J Cell Physiol, 1984. 121(1): p. 189-98.
112. Lecker, S. H., Solomon, V., Mitch, W. E., and Goldberg, A. L., *Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states.* J Nutr, 1999. 129(1S Suppl): p. 227S-237S.
113. Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G., and Christiansen, J. A., *Role of the calpain system in muscle growth.* Biochimie, 1992. 74(3): p. 225-37.
114. Schubert, U., Anton, L. C., Gibbs, J., Norbury, C. C., Yewdell, J. W., and Bennink, J. R., *Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes.* Nature, 2000. 404(6779): p. 770-4.
115. Melstrom, L. G., Melstrom, K. A., Jr., Ding, X. Z., and Adrian, T. E., *Mechanisms of skeletal muscle degradation and its therapy in cancer cachexia.* Histol Histopathol, 2007. 22(7): p. 805-14.
116. Cabal-Manzano, R., Bhargava, P., Torres-Duarte, A., Marshall, J., Bhargava, P., and Wainer, I. W., *Proteolysis-inducing factor is expressed in tumours of patients with gastrointestinal cancers and correlates with weight loss.* Br J Cancer, 2001. 84(12): p. 1599-601.
117. Groundwater, P., Beck, S. A., Barton, C., Adamson, C., Ferrier, I. N., and Tisdale, M. J., *Alteration of serum and urinary lipolytic activity with weight loss in cachectic cancer patients.* Br J Cancer, 1990. 62(5): p. 816-21.
118. Wieland, B. M., Stewart, G. D., Skipworth, R. J., Sangster, K., Fearon, K. C., Ross, J. A., Reiman, T. J., Easaw, J., Mourtzakis, M., Kumar, V., Pak, B. J., Calder, K., Filippatos, G., Kremastinos, D. T., Palcic, M., and Baracos, V. E., *Is there a human homologue to the murine proteolysis-inducing factor?* Clin Cancer Res, 2007. 13(17): p. 4984-92.
119. Gomes, M. D., Lecker, S. H., Jagoe, R. T., Navon, A., and Goldberg, A. L., *Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. 98(25): p. 14440-5.
120. Bodine, S. C., Latres, E., Baumhueter, S., Lai, V. K., Nunez, L., Clarke, B. A., Poueymirou, W. T., Panaro, F. J., Na, E., Dharmarajan, K., Pan, Z. Q., Valenzuela, D. M., DeChiara, T. M., Stitt, T. N., Yancopoulos, G. D., and Glass, D. J., *Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy.* Science, 2001. 294(5547): p. 1704-8.
121. Sandri, M., Sandri, C., Gilbert, A., Skurk, C., Calabria, E., Picard, A., Walsh, K., Schiaffino, S., Lecker, S. H., and Goldberg, A. L., *Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy.* Cell, 2004. 117(3): p. 399-412.
122. Cai, D., Frantz, J. D., Tawa, N. E., Jr., Melendez, P. A., Oh, B. C., Lidov, H. G., Hasselgren, P. O., Frontera, W. R., Lee, J., Glass, D. J., and Shoelson, S. E., *IKKbeta/NF-kappaB activation causes severe muscle wasting in mice.* Cell, 2004. 119(2): p. 285-98.

123. Kwak, K. S., Zhou, X., Solomon, V., Baracos, V. E., Davis, J., Bannon, A. W., Boyle, W. J., Lacey, D. L., and Han, H. Q., *Regulation of protein catabolism by muscle-specific and cytokine-inducible ubiquitin ligase E3alpha-II during cancer cachexia*. *Cancer Res*, 2004. 64(22): p. 8193-8.
124. Kisselev, A. F., Akopian, T. N., Castillo, V., and Goldberg, A. L., *Proteasome active sites allosterically regulate each other, suggesting a cyclical bite-chew mechanism for protein breakdown*. *Mol Cell*, 1999. 4(3): p. 395-402.
125. Ng, E. H. and Lowry, S. F., *Nutritional support and cancer cachexia. Evolving concepts of mechanisms and adjunctive therapies*. *Hematol Oncol Clin North Am*, 1991. 5(1): p. 161-84.
126. Loprinzi, C. L., Michalak, J. C., Schaid, D. J., Mailliard, J. A., Athmann, L. M., Goldberg, R. M., Tschetter, L. K., Hatfield, A. K., and Morton, R. F., *Phase III evaluation of four doses of megestrol acetate as therapy for patients with cancer anorexia and/or cachexia*. *J Clin Oncol*, 1993. 11(4): p. 762-7.
127. Bruera, E., Macmillan, K., Kuehn, N., Hanson, J., and MacDonald, R. N., *A controlled trial of megestrol acetate on appetite, caloric intake, nutritional status, and other symptoms in patients with advanced cancer*. *Cancer*, 1990. 66(6): p. 1279-82.
128. Neri, B., Garosi, V. L., and Intini, C., *Effect of medroxyprogesterone acetate on the quality of life of the oncologic patient: a multicentric cooperative study*. *Anticancer Drugs*, 1997. 8(5): p. 459-65.
129. Laviano, A., Meguid, M. M., Inui, A., Muscaritoli, M., and Rossi-Fanelli, F., *Therapy insight: Cancer anorexia-cachexia syndrome--when all you can eat is yourself*. *Nat Clin Pract Oncol*, 2005. 2(3): p. 158-65.
130. Moertel, C. G., Schutt, A. J., Reitemeier, R. J., and Hahn, R. G., *Corticosteroid therapy of preterminal gastrointestinal cancer*. *Cancer*, 1974. 33(6): p. 1607-9.
131. Willox, J. C., Corr, J., Shaw, J., Richardson, M., Calman, K. C., and Drennan, M., *Prednisolone as an appetite stimulant in patients with cancer*. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1984. 288(6410): p. 27.
132. Bruera, E., Roca, E., Cedaro, L., Carraro, S., and Chacon, R., *Action of oral methylprednisolone in terminal cancer patients: a prospective randomized double-blind study*. *Cancer Treat Rep*, 1985. 69(7-8): p. 751-4.
133. Della Cuna, G. R., Pellegrini, A., and Piazzini, M., *Effect of methylprednisolone sodium succinate on quality of life in preterminal cancer patients: a placebo-controlled, multicenter study. The Methylprednisolone Preterminal Cancer Study Group*. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1989. 25(12): p. 1817-21.
134. Popiela, T., Lucchi, R., and Giongo, F., *Methylprednisolone as palliative therapy for female terminal cancer patients. The Methylprednisolone Female Preterminal Cancer Study Group*. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1989. 25(12): p. 1823-9.
135. Kotler, D. P., *Cachexia*, in *Ann Intern Med*. 2000. p. 622-34.
136. Mercadante, S., *Parenteral versus enteral nutrition in cancer patients: indications and practice*. *Support Care Cancer*, 1998. 6(2): p. 85-93.
137. Jeejeebhoy, K. N., *Total parenteral nutrition: potion or poison?* *Am J Clin Nutr*, 2001. 74(2): p. 160-3.
138. Tisdale, M. J., *Cancer anorexia and cachexia*. *Nutrition*, 2001. 17(5): p. 438-42.
139. Tisdale, M. J., *Inhibition of lipolysis and muscle protein degradation by EPA in cancer cachexia*. *Nutrition*, 1996. 12(1 Suppl): p. S31-3.
140. Beck, S. A., Smith, K. L., and Tisdale, M. J., *Anticachectic and antitumor effect of eicosapentaenoic acid and its effect on protein turnover*. *Cancer Res*, 1991. 51(22): p. 6089-93.

141. Fearon, K. C., Von Meyenfeldt, M. F., Moses, A. G., Van Geenen, R., Roy, A., Gouma, D. J., Giacosa, A., Van Gossum, A., Bauer, J., Barber, M. D., Aaronson, N. K., Voss, A. C., and Tisdale, M. J., *Effect of a protein and energy dense N-3 fatty acid enriched oral supplement on loss of weight and lean tissue in cancer cachexia: a randomised double blind trial*. Gut, 2003. 52(10): p. 1479-86.
142. Rossi-Fanelli, F. and Cangiano, C., *Increased availability of tryptophan in brain as common pathogenic mechanism for anorexia associated with different diseases*. Nutrition, 1991. 7(5): p. 364-7.
143. Laviano, A., Meguid, M. M., Yang, Z. J., Gleason, J. R., Cangiano, C., and Rossi Fanelli, F., *Cracking the riddle of cancer anorexia*. Nutrition, 1996. 12(10): p. 706-10.
144. Kardinal, C. G., Loprinzi, C. L., Schaid, D. J., Hass, A. C., Dose, A. M., Athmann, L. M., Mailliard, J. A., McCormack, G. W., Gerstner, J. B., and Schray, M. F., *A controlled trial of cyproheptadine in cancer patients with anorexia and/or cachexia*. Cancer, 1990. 65(12): p. 2657-62.
145. Bruera, E., Neumann, C. M., Pituskin, E., Calder, K., Ball, G., and Hanson, J., *Thalidomide in patients with cachexia due to terminal cancer: preliminary report*. Ann Oncol, 1999. 10(7): p. 857-9.
146. Khan, Z. H., Simpson, E. J., Cole, A. T., Holt, M., MacDonald, I., Pye, D., Austin, A., and Freeman, J. G., *Oesophageal cancer and cachexia: the effect of short-term treatment with thalidomide on weight loss and lean body mass*. Aliment Pharmacol Ther, 2003. 17(5): p. 677-82.
147. Gordon, J. N., Trebble, T. M., Ellis, R. D., Duncan, H. D., Johns, T., and Goggin, P. M., *Thalidomide in the treatment of cancer cachexia: a randomised placebo controlled trial*. Gut, 2005. 54(4): p. 540-5.
148. D'Amato, R. J., Loughnan, M. S., Flynn, E., and Folkman, J., *Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. 91(9): p. 4082-5.
149. Gagnon, B. and Bruera, E., *A review of the drug treatment of cachexia associated with cancer*. Drugs, 1998. 55(5): p. 675-88.
150. Bristow, M. R., *beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure*. Circulation, 2000. 101(5): p. 558-69.
151. Gerber, J. G. and Nies, A. S., *Beta-adrenergic blocking drugs*. Annu Rev Med, 1985. 36: p. 145-64.
152. Reiter, M. J., *Cardiovascular drug class specificity: beta-blockers*. Prog Cardiovasc Dis, 2004. 47(1): p. 11-33.
153. Berry, C. and Clark, A. L., *Catabolism in chronic heart failure*. Eur Heart J, 2000. 21(7): p. 521-32.
154. Metra, M., Cas, L. D., di Lenarda, A., and Poole-Wilson, P., *Beta-blockers in heart failure: are pharmacological differences clinically important?* Heart Fail Rev, 2004. 9(2): p. 123-30.
155. Lancaster, S. G. and Sorkin, E. M., *Bisoprolol. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in hypertension and angina pectoris*. Drugs, 1988. 36(3): p. 256-85.
156. *A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS)*. CIBIS Investigators and Committees. Circulation, 1994. 90(4): p. 1765-73.
157. *The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial*. Lancet, 1999. 353(9146): p. 9-13.
158. McGavin, J. K. and Keating, G. M., *Bisoprolol: a review of its use in chronic heart failure*. Drugs, 2002. 62(18): p. 2677-96.
159. Sharma, A. M., Pischon, T., Hardt, S., Kunz, I., and Luft, F. C., *Hypothesis: Beta-adrenergic receptor blockers and weight gain: A systematic analysis*. Hypertension, 2001. 37(2): p. 250-4.

160. Koch, G., Franz, I. W., and Lohmann, F. W., *Effects of short-term and long-term treatment with cardio-selective and non-selective beta-receptor blockade on carbohydrate and lipid metabolism and on plasma catecholamines at rest and during exercise*. Clin Sci (Lond), 1981. 61 Suppl 7: p. 433s-435s.
161. Lainscak, M., Keber, I., and Anker, S. D., *Body composition changes in patients with systolic heart failure treated with beta blockers: a pilot study*. Int J Cardiol, 2006. 106(3): p. 319-22.
162. von Haehling, S., Genth-Zotz, S., Bolger, A. P., Kalra, P. R., Kemp, M., Adcock, I. M., Poole-Wilson, P. A., Dietz, R., and Anker, S. D., *Effect of noradrenaline and isoproterenol on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha production in whole blood from patients with chronic heart failure and the role of beta-adrenergic receptors*. Am J Cardiol, 2005. 95(7): p. 885-9.
163. Salmon, W. D., Jr. and Daughaday, W. H., *A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro*. J Lab Clin Med, 1957. 49(6): p. 825-36.
164. Rinderknecht, E. and Humbel, R. E., *The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin*. J Biol Chem, 1978. 253(8): p. 2769-76.
165. Pavelic, J., Matijevic, T., and Knezevic, J., *Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family*. Indian J Med Res, 2007. 125(4): p. 511-22.
166. Laron, Z., *Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone*. Mol Pathol, 2001. 54(5): p. 311-6.
167. Clark, R. G. and Robinson, I. C., *Up and down the growth hormone cascade*. Cytokine Growth Factor Rev, 1996. 7(1): p. 65-80.
168. Bondy, C. A., Underwood, L. E., Clemmons, D. R., Guler, H. P., Bach, M. A., and Skarulis, M., *Clinical uses of insulin-like growth factor I*. Ann Intern Med, 1994. 120(7): p. 593-601.
169. Le Roith, D., Bondy, C., Yakar, S., Liu, J. L., and Butler, A., *The somatomedin hypothesis: 2001*. Endocr Rev, 2001. 22(1): p. 53-74.
170. D'Ercole, A. J., *Insulin-like growth factors and their receptors in growth*. Endocrinol Metab Clin North Am, 1996. 25(3): p. 573-90.
171. Jones, J. I. and Clemmons, D. R., *Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions*. Endocr Rev, 1995. 16(1): p. 3-34.
172. Merimee, T. J., Zapf, J., and Froesch, E. R., *Insulin-like growth factors in the fed and fasted states*. J Clin Endocrinol Metab, 1982. 55(5): p. 999-1002.
173. Clemmons, D. R. and Van Wyk, J. J., *Factors controlling blood concentration of somatomedin C*. Clin Endocrinol Metab, 1984. 13(1): p. 113-43.
174. Leung, K. C., Johannsson, G., Leong, G. M., and Ho, K. K., *Estrogen regulation of growth hormone action*. Endocr Rev, 2004. 25(5): p. 693-721.
175. Clemmons, D. R., *Modifying IGF1 activity: an approach to treat endocrine disorders, atherosclerosis and cancer*. Nat Rev Drug Discov, 2007. 6(10): p. 821-33.
176. Yu, H. and Rohan, T., *Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression*. J Natl Cancer Inst, 2000. 92(18): p. 1472-89.
177. Kelley, K. M., Oh, Y., Gargosky, S. E., Gucev, Z., Matsumoto, T., Hwa, V., Ng, L., Simpson, D. M., and Rosenfeld, R. G., *Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics*. Int J Biochem Cell Biol, 1996. 28(6): p. 619-37.
178. Collett-Solberg, P. F. and Cohen, P., *The role of the insulin-like growth factor binding proteins and the IGFBP proteases in modulating IGF action*. Endocrinol Metab Clin North Am, 1996. 25(3): p. 591-614.
179. Grimberg, A., *Mechanisms by which IGF-I may promote cancer*. Cancer Biol Ther, 2003. 2(6): p. 630-5.

180. Sievers, C., Schneider, H. J., and Stalla, G. K., *Insulin-like growth factor-1 in plasma and brain: regulation in health and disease*. Front Biosci, 2008. 13: p. 85-99.
181. Juul, A., *Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease*. Growth Horm IGF Res, 2003. 13(4): p. 113-70.
182. Cohen, P., *Overview of the IGF-I system*. Horm Res, 2006. 65 Suppl 1: p. 3-8.
183. Ceda, G. P., Dall'Aglio, E., Maggio, M., Lauretani, F., Bandinelli, S., Falzoi, C., Grimaldi, W., Ceresini, G., Corradi, F., Ferrucci, L., Valenti, G., and Hoffman, A. R., *Clinical implications of the reduced activity of the GH-IGF-I axis in older men*. J Endocrinol Invest, 2005. 28(11 Suppl Proceedings): p. 96-100.
184. Brabant, G., von zur Muhlen, A., Wuster, C., Ranke, M. B., Kratzsch, J., Kiess, W., Ketelslegers, J. M., Wilhelmssen, L., Hulthen, L., Saller, B., Mattsson, A., Wilde, J., Schemer, R., and Kann, P., *Serum insulin-like growth factor I reference values for an automated chemiluminescence immunoassay system: results from a multicenter study*. Horm Res, 2003. 60(2): p. 53-60.
185. Juul, A., Bang, P., Hertel, N. T., Main, K., Dalgaard, P., Jorgensen, K., Muller, J., Hall, K., and Skakkebaek, N. E., *Serum insulin-like growth factor-I in 1030 healthy children, adolescents, and adults: relation to age, sex, stage of puberty, testicular size, and body mass index*. J Clin Endocrinol Metab, 1994. 78(3): p. 744-52.
186. Cara, J. F., Rosenfield, R. L., and Furlanetto, R. W., *A longitudinal study of the relationship of plasma somatomedin-C concentration to the pubertal growth spurt*. Am J Dis Child, 1987. 141(5): p. 562-4.
187. Rosenfield, R. I., Furlanetto, R., and Bock, D., *Relationship of somatomedin-C concentrations to pubertal changes*. J Pediatr, 1983. 103(5): p. 723-8.
188. Kaji, H., Ohashi, S., Abe, H., and Chihara, K., *Regulation of the growth hormone (GH) receptor and GH-binding protein mRNA*. Proc Soc Exp Biol Med, 1994. 206(3): p. 257-62.
189. Frystyk, J., Hojlund, K., Rasmussen, K. N., Jorgensen, S. P., Wildner-Christensen, M., and Orskov, H., *Development and clinical evaluation of a novel immunoassay for the binary complex of IGF-I and IGF-binding protein-1 in human serum*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. 87(1): p. 260-6.
190. Ho, K. Y., Veldhuis, J. D., Johnson, M. L., Furlanetto, R., Evans, W. S., Alberti, K. G., and Thorner, M. O., *Fasting enhances growth hormone secretion and amplifies the complex rhythms of growth hormone secretion in man*. J Clin Invest, 1988. 81(4): p. 968-75.
191. Yuen, K. C. and Dunger, D. B., *Therapeutic aspects of growth hormone and insulin-like growth factor-I treatment on visceral fat and insulin sensitivity in adults*. Diabetes Obes Metab, 2007. 9(1): p. 11-22.
192. Yuen, K. C. and Dunger, D. B., *Impact of treatment with recombinant human GH and IGF-I on visceral adipose tissue and glucose homeostasis in adults*. Growth Horm IGF Res, 2006. 16 Suppl A: p. S55-61.
193. Schoenle, E., Zapf, J., Humbel, R. E., and Froesch, E. R., *Insulin-like growth factor I stimulates growth in hypophysectomized rats*. Nature, 1982. 296(5854): p. 252-3.
194. Guler, H. P., Zapf, J., Scheiwiller, E., and Froesch, E. R., *Recombinant human insulin-like growth factor I stimulates growth and has distinct effects on organ size in hypophysectomized rats*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. 85(13): p. 4889-93.
195. Guler, H. P., Zapf, J., and Froesch, E. R., *Short-term metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor I in healthy adults*. N Engl J Med, 1987. 317(3): p. 137-40.

196. Jacob, R., Barrett, E., Plewe, G., Fagin, K. D., and Sherwin, R. S., *Acute effects of insulin-like growth factor I on glucose and amino acid metabolism in the awake fasted rat. Comparison with insulin.* J Clin Invest, 1989. 83(5): p. 1717-23.
197. Turkalj, I., Keller, U., Ninnis, R., Vosmeer, S., and Stauffacher, W., *Effect of increasing doses of recombinant human insulin-like growth factor-I on glucose, lipid, and leucine metabolism in man.* J Clin Endocrinol Metab, 1992. 75(5): p. 1186-91.
198. Glass, D. J., *Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways.* Int J Biochem Cell Biol, 2005. 37(10): p. 1974-84.
199. Heszele, M. F. and Price, S. R., *Insulin-like growth factor I: the yin and yang of muscle atrophy.* Endocrinology, 2004. 145(11): p. 4803-5.
200. Rommel, C., Bodine, S. C., Clarke, B. A., Rossman, R., Nunez, L., Stitt, T. N., Yancopoulos, G. D., and Glass, D. J., *Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways.* Nat Cell Biol, 2001. 3(11): p. 1009-13.
201. Humbel, R. E., *Insulin-like growth factors I and II.* Eur J Biochem, 1990. 190(3): p. 445-62.
202. Steele-Perkins, G., Turner, J., Edman, J. C., Hari, J., Pierce, S. B., Stover, C., Rutter, W. J., and Roth, R. A., *Expression and characterization of a functional human insulin-like growth factor I receptor.* J Biol Chem, 1988. 263(23): p. 11486-92.
203. Ullrich, A., Gray, A., Tam, A. W., Yang-Feng, T., Tsubokawa, M., Collins, C., Henzel, W., Le Bon, T., Kathuria, S., Chen, E., and et al., *Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity.* Embo J, 1986. 5(10): p. 2503-12.
204. Pandini, G., Frasca, F., Mineo, R., Sciacca, L., Vigneri, R., and Belfiore, A., *Insulin/insulin-like growth factor I hybrid receptors have different biological characteristics depending on the insulin receptor isoform involved.* J Biol Chem, 2002. 277(42): p. 39684-95.
205. Di Cola, G., Cool, M. H., and Accili, D., *Hypoglycemic effect of insulin-like growth factor-1 in mice lacking insulin receptors.* J Clin Invest, 1997. 99(10): p. 2538-44.
206. Laron, Z., *Clinical use of somatomedin-1: yes or no?* Paediatr Drugs, 1999. 1(3): p. 155-9.
207. Clemmons, D. R. and Underwood, L. E., *Clinical review 59: Uses of human insulin-like growth factor-I in clinical conditions.* J Clin Endocrinol Metab, 1994. 79(1): p. 4-6.
208. Clayton, P. E., Ayoola, O., and Whatmore, A. J., *Patient selection for IGF-I therapy.* Horm Res, 2006. 65 Suppl 1: p. 28-34.
209. Singleton, J. R. and Feldman, E. L., *Insulin-like growth factor-I in muscle metabolism and myotherapies.* Neurobiol Dis, 2001. 8(4): p. 541-54.
210. Savage, M. O., Camacho-Hubner, C., and Dunger, D. B., *Therapeutic applications of the insulin-like growth factors.* Growth Horm IGF Res, 2004. 14(4): p. 301-8.
211. Guevara-Aguirre, J., Vasconez, O., Martinez, V., Martinez, A. L., Rosenbloom, A. L., Diamond, F. B., Jr., Gargosky, S. E., Nonoshita, L., and Rosenfeld, R. G., *A randomized, double blind, placebo-controlled trial on safety and efficacy of recombinant human insulin-like growth factor-I in children with growth hormone receptor deficiency.* J Clin Endocrinol Metab, 1995. 80(4): p. 1393-8.

212. Ranke, M. B., Savage, M. O., Chatelain, P. G., Preece, M. A., Rosenfeld, R. G., and Wilton, P., *Long-term treatment of growth hormone insensitivity syndrome with IGF-I. Results of the European Multicentre Study. The Working Group on Growth Hormone Insensitivity Syndromes.* Horm Res, 1999. 51(3): p. 128-34.
213. Underwood, L. E., Backeljauw, P., and Duncan, V., *Effects of insulin-like growth factor I treatment on statural growth, body composition and phenotype of children with growth hormone insensitivity syndrome. GHIS Collaborative Group.* Acta Paediatr Suppl, 1999. 88(428): p. 182-4.
214. Schernhammer, E. S., Holly, J. M., Hunter, D. J., Pollak, M. N., and Hankinson, S. E., *Insulin-like growth factor-I, its binding proteins (IGFBP-1 and IGFBP-3), and growth hormone and breast cancer risk in The Nurses Health Study II.* Endocr Relat Cancer, 2006. 13(2): p. 583-92.
215. Sporn, M. B. and Todaro, G. J., *Autocrine secretion and malignant transformation of cells.* N Engl J Med, 1980. 303(15): p. 878-80.
216. Renehan, A. G., Zwahlen, M., Minder, C., O'Dwyer, S. T., Shalet, S. M., and Egger, M., *Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis.* Lancet, 2004. 363(9418): p. 1346-53.
217. Larsson, O., Girnita, A., and Girnita, L., *Role of insulin-like growth factor 1 receptor signalling in cancer.* Br J Cancer, 2005. 92(12): p. 2097-101.
218. Cohen, P., Clemmons, D. R., and Rosenfeld, R. G., *Does the GH-IGF axis play a role in cancer pathogenesis?* Growth Horm IGF Res, 2000. 10(6): p. 297-305.
219. Yoshida, T., *[Studies on ascites hepatoma; also a contribution to the cellular anatomy of malignant tumors during growth, and the individuality of single tumors.]* Virchows Arch, 1957. 330(1): p. 85-105.
220. Yoshida Tomizo, Muta Yoshio, Sasaki Ziniti, *Studien über das "Ascites Sarkom" (I).* 1944: p. 611-616.
221. Warren, S., *The immediate cause of death in cancer.* Am. J.. Med. Sci., 1932: p. 610-613.
222. Tessitore, L., Bonelli, G., Cecchini, G., Amenta, J. S., and Baccino, F. M., *Regulation of protein turnover versus growth state: ascites hepatoma as a model for studies both in the animal and in vitro.* Arch Biochem Biophys, 1987. 255(2): p. 372-84.
223. Tessitore, L., Bonelli, G., and Baccino, F. M., *Early development of protein metabolic perturbations in the liver and skeletal muscle of tumour-bearing rats. A model system for cancer cachexia.* Biochem J, 1987. 241(1): p. 153-9.
224. Marzabal, M., Garcia-Martinez, C., Comas, J., Lopez-Soriano, F. J., and Argiles, J. M., *A flow cytometric study of the rat Yoshida AH-130 ascites hepatoma.* Cancer Lett, 1993. 72(3): p. 169-73.
225. Llovera, M., Garcia-Martinez, C., Agell, N., Lopez-Soriano, F. J., and Argiles, J. M., *Muscle wasting associated with cancer cachexia is linked to an important activation of the ATP-dependent ubiquitin-mediated proteolysis.* Int J Cancer, 1995. 61(1): p. 138-41.
226. Lopez-Soriano, J., Argiles, J. M., and Lopez-Soriano, F. J., *Lipid metabolism in rats bearing the Yoshida AH-130 ascites hepatoma.* Mol Cell Biochem, 1996. 165(1): p. 17-23.
227. Noriki, S., Imamura, Y., Ikeda, T., Nakanishi, K., Miyoshi, N., Kohno, M., Mitsuda, K., and Fukuda, M., *Multi-organ damage (MOD) induced by cancer cachexia and its pathogenesis.* Basic Appl Histochem, 1989. 33(4): p. 337-46.

228. William J. Evans, John E. Morley, Josep Argilés, Connie Bales, Vickie Baracos, Denis Guttridge, Aminah Jatoi, Kamyar Kalantar-Zadeh, Herbert Lochs, Giovanni Mantovani, Daniel Marks, William E. Mitch, Maurizio Muscaritoli, Armine Najand, Piotr Ponikowski, Filippo Rossi Fanelli, Morrie Schambelan, Annemie Schols, Michael Schuster, David, and Thomas, Robert Wolfe, and Stefan D. Anker, *Cachexia: A new definition*.
229. Tessitore, L., Costelli, P., and Baccino, F. M., *Pharmacological interference with tissue hypercatabolism in tumour-bearing rats*. *Biochem J*, 1994. 299 (Pt 1): p. 71-8.
230. Llovera, M., Garcia-Martinez, C., Agell, N., Marzabal, M., Lopez-Soriano, F. J., and Argiles, J. M., *Ubiquitin gene expression is increased in skeletal muscle of tumour-bearing rats*. *FEBS Lett*, 1994. 338(3): p. 311-8.
231. Lorite, M. J., Thompson, M. G., Drake, J. L., Carling, G., and Tisdale, M. J., *Mechanism of muscle protein degradation induced by a cancer cachectic factor*. *Br J Cancer*, 1998. 78(7): p. 850-6.
232. Temparis, S., Asensi, M., Taillandier, D., Aourousseau, E., Larbaud, D., Obled, A., Bechet, D., Ferrara, M., Estrela, J. M., and Attaix, D., *Increased ATP-ubiquitin-dependent proteolysis in skeletal muscles of tumor-bearing rats*. *Cancer Res*, 1994. 54(21): p. 5568-73.
233. Baracos, V. E., DeVivo, C., Hoyle, D. H., and Goldberg, A. L., *Activation of the ATP-ubiquitin-proteasome pathway in skeletal muscle of cachectic rats bearing a hepatoma*. *Am J Physiol*, 1995. 268(5 Pt 1): p. E996-1006.
234. Tessitore, L., Costelli, P., Bonetti, G., and Baccino, F. M., *Cancer cachexia, malnutrition, and tissue protein turnover in experimental animals*. *Arch Biochem Biophys*, 1993. 306(1): p. 52-8.
235. Clark, C. M. and Goodlad, G. A., *Depletion of proteins of phasic and tonic muscles in tumour-bearing rats*. *Eur J Cancer*, 1971. 7(1): p. 3-9.
236. Mettauer, B., Zoll, J., Garnier, A., and Ventura-Clapier, R., *Heart failure: a model of cardiac and skeletal muscle energetic failure*. *Pflugers Arch*, 2006. 452(6): p. 653-66.
237. Ellisman, M. H., Rash, J. E., Staehelin, L. A., and Porter, K. R., *Studies of excitable membranes. II. A comparison of specializations at neuromuscular junctions and nonjunctional sarcolemmas of mammalian fast and slow twitch muscle fibers*. *J Cell Biol*, 1976. 68(3): p. 752-74.
238. Cremades, O., Parrado, J., Jover, M., Collantes de Teran, L., Gutierrez, J. F., and Bautista Palomas, J. D., *Nutritional treatment of cancer cachexia in rats. Use of a diet formulated with a crayfish enzymatic extract*. *Eur J Nutr*, 2007. 46(6): p. 347-53.
239. Busquets, S., Figueras, M. T., Fuster, G., Almendro, V., Moore-Carrasco, R., Ametller, E., Argiles, J. M., and Lopez-Soriano, F. J., *Anticachectic effects of formoterol: a drug for potential treatment of muscle wasting*. *Cancer Res*, 2004. 64(18): p. 6725-31.
240. Agustsson, T., Ryden, M., Hoffstedt, J., van Harmelen, V., Dicker, A., Laurencikiene, J., Isaksson, B., Permert, J., and Arner, P., *Mechanism of increased lipolysis in cancer cachexia*. *Cancer Res*, 2007. 67(11): p. 5531-7.
241. Noguchi, Y., Vydelingum, N. A., Younes, R. N., Fried, S. K., and Brennan, M. F., *Tumor-induced alterations in tissue lipoprotein lipase activity and mRNA levels*. *Cancer Res*, 1991. 51(3): p. 863-9.
242. Thompson, M. P., Koons, J. E., Tan, E. T., and Grigor, M. R., *Modified lipoprotein lipase activities, rates of lipogenesis, and lipolysis as factors leading to lipid depletion in C57BL mice bearing the preputial gland tumor, ESR-586*. *Cancer Res*, 1981. 41(8): p. 3228-32.
243. Lanza-Jacoby, S., Lansey, S. C., Miller, E. E., and Cleary, M. P., *Sequential changes in the activities of lipoprotein lipase and lipogenic enzymes during tumor growth in rats*. *Cancer Res*, 1984. 44(11): p. 5062-7.

244. Costelli, P., Carbo, N., Tessitore, L., Bagby, G. J., Lopez-Soriano, F. J., Argiles, J. M., and Baccino, F. M., *Tumor necrosis factor-alpha mediates changes in tissue protein turnover in a rat cancer cachexia model*. J Clin Invest, 1993. 92(6): p. 2783-9.
245. Mitch, W. E. and Price, S. R., *Mechanisms activating proteolysis to cause muscle atrophy in catabolic conditions*. J Ren Nutr, 2003. 13(2): p. 149-52.
246. Zhang, P., Chen, X., and Fan, M., *Signaling mechanisms involved in disuse muscle atrophy*. Med Hypotheses, 2007. 69(2): p. 310-21.
247. Anker, S. D. and Rauchhaus, M., *Insights into the pathogenesis of chronic heart failure: immune activation and cachexia*. Curr Opin Cardiol, 1999. 14(3): p. 211-6.
248. Foody, J. M., Farrell, M. H., and Krumholz, H. M., *beta-Blocker therapy in heart failure: scientific review*. Jama, 2002. 287(7): p. 883-9.
249. Bauhofer, A., Witte, K., Lemmer, B., Middeke, M., Lorenz, W., and Celik, I., *Quality of life in animals as a new outcome for surgical research: G-CSF as a quality of life improving factor*. Eur Surg Res, 2002. 34(1-2): p. 22-9.
250. Tomizo Yoshida, Yoshio Muta, Ziniti Sasaki, *Studien über das "Ascites Sarkom" (I)*. 1944: p. 611-616.
251. Popp, M. B., Brennan, M. F., and Morrison, S. D., *Resting and activity energy expenditure during total parenteral nutrition in rats with methylcholanthrene-induced sarcoma*. Cancer, 1982. 49(6): p. 1212-20.
252. Morrison, S. D., *Partition of energy expenditure between host and tumor*. Cancer Res, 1971. 31(2): p. 98-107.
253. Morrison, S. D., *Limited capacity for motor activity as a cause for declining food intake in cancer*. J Natl Cancer Inst, 1973. 51(5): p. 1535-9.
254. Serose, A., Salmon, A., Fisman, M. Y., and Fromes, Y., *Short-term treatment using insulin-like growth factor-1 (IGF-1) improves life expectancy of the delta-sarcoglycan deficient hamster*. J Gene Med, 2006. 8(8): p. 1048-55.
255. Conraads, V. M., Bosmans, J. M., and Vrints, C. J., *Chronic heart failure: an example of a systemic chronic inflammatory disease resulting in cachexia*. Int J Cardiol, 2002. 85(1): p. 33-49.
256. Anker, S. D. and Cicoira, M., *[Chronic heart failure and cardiac cachexia and links between the endocrine and immune systems]*. Z Kardiol, 1999. 88 Suppl 3: p. S18-S23.
257. Stassijns, G., Lysens, R., and Decramer, M., *Peripheral and respiratory muscles in chronic heart failure*. Eur Respir J, 1996. 9(10): p. 2161-7.
258. Bailey, J. and Shapiro, M. J., *Abdominal compartment syndrome*. Crit Care, 2000. 4(1): p. 23-9.
259. Costelli, P., Garcia-Martinez, C., Llovera, M., Carbo, N., Lopez-Soriano, F. J., Agell, N., Tessitore, L., Baccino, F. M., and Argiles, J. M., *Muscle protein waste in tumor-bearing rats is effectively antagonized by a beta 2-adrenergic agonist (clenbuterol). Role of the ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathway*. J Clin Invest, 1995. 95(5): p. 2367-72.
260. Chidsey, C. A. and Braunwald, E., *Sympathetic activity and neurotransmitter depletion in congestive heart failure*. Pharmacol Rev, 1966. 18(1): p. 685-700.
261. Rona, G., *Catecholamine cardiotoxicity*. J Mol Cell Cardiol, 1985. 17(4): p. 291-306.
262. Communal, C., Singh, K., Pimentel, D. R., and Colucci, W. S., *Norepinephrine stimulates apoptosis in adult rat ventricular myocytes by activation of the beta-adrenergic pathway*. Circulation, 1998. 98(13): p. 1329-34.

263. Fearon, K. C., Barber, M. D., Moses, A. G., Ahmedzai, S. H., Taylor, G. S., Tisdale, M. J., and Murray, G. D., *Double-blind, placebo-controlled, randomized study of eicosapentaenoic acid diester in patients with cancer cachexia*. J Clin Oncol, 2006. 24(21): p. 3401-7.
264. Fearon, K. C., Voss, A. C., and Hustead, D. S., *Definition of cancer cachexia: effect of weight loss, reduced food intake, and systemic inflammation on functional status and prognosis*. Am J Clin Nutr, 2006. 83(6): p. 1345-50.
265. Fastaia, J. and Dumont, A. E., *Pathogenesis of ascites in mice with peritoneal carcinomatosis*. J Natl Cancer Inst, 1976. 56(3): p. 547-50.
266. Feldman, G. B., Knapp, R. C., Order, S. E., and Hellman, S., *The role of lymphatic obstruction in the formation of ascites in a murine ovarian carcinoma*. Cancer Res, 1972. 32(8): p. 1663-6.
267. Nagy, J. A., Herzberg, K. T., Dvorak, J. M., and Dvorak, H. F., *Pathogenesis of malignant ascites formation: initiating events that lead to fluid accumulation*. Cancer Res, 1993. 53(11): p. 2631-43.
268. Adam, R. A. and Adam, Y. G., *Malignant ascites: past, present, and future*. J Am Coll Surg, 2004. 198(6): p. 999-1011.
269. Bronskill, M. J., Bush, R. S., and Ege, G. N., *A quantitative measurement of peritoneal drainage in malignant ascites*. Cancer, 1977. 40(5): p. 2375-80.
270. Runyon, B. A., Hoefs, J. C., and Morgan, T. R., *Ascitic fluid analysis in malignancy-related ascites*. Hepatology, 1988. 8(5): p. 1104-9.
271. Aslam, N. and Marino, C. R., *Malignant ascites: new concepts in pathophysiology, diagnosis, and management*. Arch Intern Med, 2001. 161(22): p. 2733-7.
272. Parsons, S. L., Watson, S. A., and Steele, R. J., *Phase I/II trial of batimastat, a matrix metalloproteinase inhibitor, in patients with malignant ascites*. Eur J Surg Oncol, 1997. 23(6): p. 526-31.
273. Tamsma, J. T., Keizer, H. J., and Meinders, A. E., *Pathogenesis of malignant ascites: Starling's law of capillary hemodynamics revisited*. Ann Oncol, 2001. 12(10): p. 1353-7.
274. Ibrahim, Y. H. and Yee, D., *Insulin-like growth factor-I and cancer risk*. Growth Horm IGF Res, 2004. 14(4): p. 261-9.
275. Lazarus, D. D., Kambayashi, T., Lowry, S., and Strassmann, G., *The lack of an effect by insulin or insulin-like growth factor-1 in attenuating colon-2-mediated cancer cachexia*. Cancer Lett, 1996. 103(1): p. 71-7.
276. Wang, W., Iresjo, B. M., Karlsson, L., and Svanberg, E., *Provision of rhIGF-I/IGFBP-3 complex attenuated development of cancer cachexia in an experimental tumor model*. Clin Nutr, 2000. 19(2): p. 127-32.
277. Lazarus, D. D., Moldawer, L. L., and Lowry, S. F., *Insulin-like growth factor-1 activity is inhibited by interleukin-1 alpha, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6*. Lymphokine Cytokine Res, 1993. 12(4): p. 219-23.
278. Ballard, F. J., Walton, P. E., Bastian, S., Tomas, F. M., Wallace, J. C., and Francis, G. L., *Effects of interactions between IGFBPs and IGFs on the plasma clearance and in vivo biological activities of IGFs and IGF analogs*. Growth Regul, 1993. 3(1): p. 40-4.
279. Ng, E. H., Rock, C. S., Lazarus, D. D., Stiano-Coico, L., Moldawer, L. L., and Lowry, S. F., *Insulin-like growth factor I preserves host lean tissue mass in cancer cachexia*. Am J Physiol, 1992. 262(3 Pt 2): p. R426-31.
280. Kotler, D. P., *Cachexia*. Ann Intern Med, 2000. 133(8): p. 622-34.
281. Dehoux, M., Gobier, C., Lause, P., Bertrand, L., Ketelslegers, J. M., and Thissen, J. P., *IGF-I does not prevent myotube atrophy caused by proinflammatory cytokines despite activation of Akt/Foxo and GSK-3beta pathways and inhibition of atrogen-1 mRNA*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007. 292(1): p. E145-50.

282. Guttridge, D. C., *Signaling pathways weigh in on decisions to make or break skeletal muscle*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004. 7(4): p. 443-50.
283. Costelli, P., Muscaritoli, M., Bossola, M., Moore-Carrasco, R., Crepaldi, S., Grieco, G., Autelli, R., Bonelli, G., Pacelli, F., Lopez-Soriano, F. J., Argiles, J. M., Doglietto, G. B., Baccino, F. M., and Rossi Fanelli, F., *Skeletal muscle wasting in tumor-bearing rats is associated with MyoD down-regulation*. *Int J Oncol*, 2005. 26(6): p. 1663-8.
284. Fang, C. H., Li, B. G., Sun, X., and Hasselgren, P. O., *Insulin-like growth factor I reduces ubiquitin and ubiquitin-conjugating enzyme gene expression but does not inhibit muscle proteolysis in septic rats*. *Endocrinology*, 2000. 141(8): p. 2743-51.
285. Criswell, D. S., Booth, F. W., DeMayo, F., Schwartz, R. J., Gordon, S. E., and Fiorotto, M. L., *Overexpression of IGF-I in skeletal muscle of transgenic mice does not prevent unloading-induced atrophy*. *Am J Physiol*, 1998. 275(3 Pt 1): p. E373-9.
286. Stitt, T. N., Drujan, D., Clarke, B. A., Panaro, F., Timofeyeva, Y., Kline, W. O., Gonzalez, M., Yancopoulos, G. D., and Glass, D. J., *The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors*. *Mol Cell*, 2004. 14(3): p. 395-403.
287. Florini, J. R., Ewton, D. Z., and Coolican, S. A., *Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis*. *Endocr Rev*, 1996. 17(5): p. 481-517.
288. Moley, J. F., Morrison, S. D., Gorschboth, C. M., and Norton, J. A., *Body composition changes in rats with experimental cancer cachexia: improvement with exogenous insulin*. *Cancer Res*, 1988. 48(10): p. 2784-7.
289. Duerr, R. L., Huang, S., Miraliakbar, H. R., Clark, R., Chien, K. R., and Ross, J., Jr., *Insulin-like growth factor-1 enhances ventricular hypertrophy and function during the onset of experimental cardiac failure*. *J Clin Invest*, 1995. 95(2): p. 619-27.
290. Moley, J. F., Morrison, S. D., and Norton, J. A., *Insulin reversal of cancer cachexia in rats*. *Cancer Res*, 1985. 45(10): p. 4925-31.
291. Ferrando, A. A., Stuart, C. A., Sheffield-Moore, M., and Wolfe, R. R., *Inactivity amplifies the catabolic response of skeletal muscle to cortisol*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. 84(10): p. 3515-21.
292. Anker, S. D., Ponikowski, P. P., Clark, A. L., Leyva, F., Rauchhaus, M., Kemp, M., Teixeira, M. M., Hellewell, P. G., Hooper, J., Poole-Wilson, P. A., and Coats, A. J., *Cytokines and neurohormones relating to body composition alterations in the wasting syndrome of chronic heart failure*. *Eur Heart J*, 1999. 20(9): p. 683-93.
293. Keith, M., Geranmayegan, A., Sole, M. J., Kurian, R., Robinson, A., Omran, A. S., and Jeejeebhoy, K. N., *Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 1998. 31(6): p. 1352-6.
294. Leyva, F., Anker, S. D., Godsland, I. F., Teixeira, M., Hellewell, P. G., Kox, W. J., Poole-Wilson, P. A., and Coats, A. J., *Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation*. *Eur Heart J*, 1998. 19(12): p. 1814-22.
295. Fuller, S. J., Mynett, J. R., and Sugden, P. H., *Stimulation of cardiac protein synthesis by insulin-like growth factors*. *Biochem J*, 1992. 282 ( Pt 1): p. 85-90.
296. Ito, H., Hiroe, M., Hirata, Y., Tsujino, M., Adachi, S., Shichiri, M., Koike, A., Nogami, A., and Marumo, F., *Insulin-like growth factor-I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes*. *Circulation*, 1993. 87(5): p. 1715-21.
297. Wang, L., Ma, W., Markovich, R., Chen, J. W., and Wang, P. H., *Regulation of cardiomyocyte apoptotic signaling by insulin-like growth factor I*. *Circ Res*, 1998. 83(5): p. 516-22.

298. Downward, J., *PI 3-kinase, Akt and cell survival*. Semin Cell Dev Biol, 2004. 15(2): p. 177-82.
299. Donath, M. Y., Zapf, J., Eppenberger-Eberhardt, M., Froesch, E. R., and Eppenberger, H. M., *Insulin-like growth factor I stimulates myofibril development and decreases smooth muscle alpha-actin of adult cardiomyocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. 91(5): p. 1686-90.
300. Amato, G., Carella, C., Fazio, S., La Montagna, G., Cittadini, A., Sabatini, D., Marciano-Mone, C., Sacca, L., and Bellastella, A., *Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH)-deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses*. J Clin Endocrinol Metab, 1993. 77(6): p. 1671-6.
301. Niebauer, J., Pflaum, C. D., Clark, A. L., Strasburger, C. J., Hooper, J., Poole-Wilson, P. A., Coats, A. J., and Anker, S. D., *Deficient insulin-like growth factor I in chronic heart failure predicts altered body composition, anabolic deficiency, cytokine and neurohormonal activation*. J Am Coll Cardiol, 1998. 32(2): p. 393-7.
302. Isgaard, J., Tivesten, A., Friberg, P., and Bengtsson, B. A., *The role of the GH/IGF-I axis for cardiac function and structure*. Horm Metab Res, 1999. 31(2-3): p. 50-4.
303. Cittadini, A., Stromer, H., Katz, S. E., Clark, R., Moses, A. C., Morgan, J. P., and Douglas, P. S., *Differential cardiac effects of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the rat. A combined in vivo and in vitro evaluation*. Circulation, 1996. 93(4): p. 800-9.
304. Donath, M. Y., Sutsch, G., Yan, X. W., Piva, B., Brunner, H. P., Glatz, Y., Zapf, J., Follath, F., Froesch, E. R., and Kiowski, W., *Acute cardiovascular effects of insulin-like growth factor I in patients with chronic heart failure*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(9): p. 3177-83.
305. Lee, W. L., Chen, J. W., Ting, C. T., Ishiwata, T., Lin, S. J., Korc, M., and Wang, P. H., *Insulin-like growth factor I improves cardiovascular function and suppresses apoptosis of cardiomyocytes in dilated cardiomyopathy*. Endocrinology, 1999. 140(10): p. 4831-40.
306. Ren, J., Samson, W. K., and Sowers, J. R., *Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathophysiological implications in heart disease*. J Mol Cell Cardiol, 1999. 31(11): p. 2049-61.
307. Etzion, Y., Barski, L., and Almog, Y., *Malignant ascites presenting as abdominal compartment syndrome*. Am J Emerg Med, 2004. 22(5): p. 430-1.
308. Eddy, V., Nunn, C., and Morris, J. A., Jr., *Abdominal compartment syndrome. The Nashville experience*. Surg Clin North Am, 1997. 77(4): p. 801-12.
309. Hryniewicz, K., Androne, A. S., Hudaihed, A., and Katz, S. D., *Partial reversal of cachexia by beta-adrenergic receptor blocker therapy in patients with chronic heart failure*. J Card Fail, 2003. 9(6): p. 464-8.
310. Kovacic, D., Marinsek, M., Gobec, L., Lainscak, M., and Podbregar, M., *Effect of selective and non-selective beta-blockers on body weight, insulin resistance and leptin concentration in chronic heart failure*. Clin Res Cardiol, 2008. 97(1): p. 24-31.
311. Miller, N. E., *Effects of adrenoceptor-blocking drugs on plasma lipoprotein concentrations*. Am J Cardiol, 1987. 60(9): p. 17E-23E.
312. Fogari, R., Zoppi, A., Corradi, L., Preti, P., Mugellini, A., and Lusardi, P., *Beta-blocker effects on plasma lipids during prolonged treatment of hypertensive patients with hypercholesterolemia*. J Cardiovasc Pharmacol, 1999. 33(4): p. 534-9.
313. Lohmann, F. W., Loesment, W. A., and Kaehler, H., *Beta-receptor blockade, physical activity, and metabolism*. J Cardiovasc Pharmacol, 1990. 16 Suppl 5: p. S45-52.

314. Welle, S., Schwartz, R. G., and Statt, M., *Reduced metabolic rate during beta-adrenergic blockade in humans*. *Metabolism*, 1991. 40(6): p. 619-22.
315. Ohtsuka, T., Hamada, M., Hiasa, G., Sasaki, O., Suzuki, M., Hara, Y., Shigematsu, Y., and Hiwada, K., *Effect of beta-blockers on circulating levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with dilated cardiomyopathy*. *J Am Coll Cardiol*, 2001. 37(2): p. 412-7.
316. Ichihara, S., Yamada, Y., Ichihara, G., Kanazawa, H., Hashimoto, K., Kato, Y., Matsushita, A., Oikawa, S., Yokota, M., and Iwase, M., *Attenuation of oxidative stress and cardiac dysfunction by bisoprolol in an animal model of dilated cardiomyopathy*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. 350(1): p. 105-13.
317. Ishiguro, H., Ikeda, T., Abe, A., Tsukada, T., Mera, H., Nakamura, K., Yusu, S., and Yoshino, H., *Antiarrhythmic effect of bisoprolol, a highly selective beta1-blocker, in patients with paroxysmal atrial fibrillation*. *Int Heart J*, 2008. 49(3): p. 281-93.
318. Wolfgang von Engelhardt, Gerhard Breves, *Physiologie der Haustiere*. Book, 2000: p. 650.
319. Hans-Hasso Frey, Wolfgang Löscher *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. Book, 2002: p. 609.
320. Tate, C. W., 3rd, Robertson, A. D., Zolty, R., Shakar, S. F., Lindenfeld, J., Wolfel, E. E., Bristow, M. R., and Lowes, B. D., *Quality of life and prognosis in heart failure: results of the Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial (BEST)*. *J Card Fail*, 2007. 13(9): p. 732-7.
321. Sauls, J. L. and Rone, T., *Emerging trends in the management of heart failure: Beta blocker therapy*. *Nurs Clin North Am*, 2005. 40(1): p. 135-48.
322. Issa, V. S., Guimaraes, G. V., Rezende, M. V., Cruz, F. D., Ferreira, S. M., Bacal, F., and Bocchi, E. A., *Effects of bisoprolol on cardiac function and exercise in patients with heart failure*. *Arq Bras Cardiol*, 2007. 88(3): p. 340-5.
323. Sabbah, H. N., *Biologic rationale for the use of beta-blockers in the treatment of heart failure*. *Heart Fail Rev*, 2004. 9(2): p. 91-7.
324. Dubach, P., Myers, J., Bonetti, P., Schertler, T., Froelicher, V., Wagner, D., Scheidegger, M., Stuber, M., Luchinger, R., Schwitzer, J., and Hess, O., *Effects of bisoprolol fumarate on left ventricular size, function, and exercise capacity in patients with heart failure: analysis with magnetic resonance myocardial tagging*. *Am Heart J*, 2002. 143(4): p. 676-83.
325. Nyolczas, N., Dekany, M., Fiok, J., and Preda, I., *Prediction of the effect of bisoprolol in dilated cardiomyopathy*. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2000. 14(5): p. 543-50.
326. Lechat, P., Escolano, S., Golmard, J. L., Lardoux, H., Witchitz, S., Henne-man, J. A., Maisch, B., Hetzel, M., Jaillon, P., Boissel, J. P., and Mallet, A., *Prognostic value of bisoprolol-induced hemodynamic effects in heart failure during the Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS)*. *Circulation*, 1997. 96(7): p. 2197-205.

# Publikationsverzeichnis

“IGF-1 treatment reduces weight loss and improves outcome in a rat model of cancer cachexia”, Springer et al.

In: Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle, JCSM, 2011.

# Danksagung

Hiermit sei allen gedankt, die durch ihre Hilfe und Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit überhaupt erst ermöglichten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. Stefan D. Anker, Kardiologe und Facharzt für Innere Medizin der Charité Berlin, für die Überlassung des Themas sowie die Betreuung und Begutachtung dieser Dissertation.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Achim Gruber für das Interesse an meiner Arbeit und die Übernahme eines Gutachtens bedanken.

Dr. rer. nat. Jochen Springer danke ich für seine intensive Betreuung während der Durchführung der Experimente und für seine jederzeit gewährte, immer freundliche und fachliche Unterstützung mit kompetenten Ratschlägen, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, v.a. den Tierpflegern am Center for Cardiovascular Research der Charité Berlin danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre.

Mein besonderer Dank geht an die Charité Berlin, deren zentraler Stipendienfonds diese Arbeit mit einem Promotionsstipendium förderte.

Bedanken möchte ich mich darüber hinaus bei Sandra Palus und Arne Hillmann, ohne die die statistischen Auswertungen der erhobenen Daten nicht möglich gewesen wäre.

Für das zeitintensive Korrekturlesen der Arbeit möchte ich mich bei Frau Maria und Herrn Dirk Michel herzlich bedanken.

Ein spezieller Dank ist an meine Kollegen Tanja Braun, Valerie Flach, Bettina Fritze und Kai Hartmann gerichtet, ohne deren Mitarbeit die Durchführung dieses Projekts nicht möglich gewesen wäre.

Tanja Braun, Kai Hartmann und meiner Freundin Katrin Heidemanns sei hiermit ganz besonders gedankt, weil sie mir durch Ihre Hilfe und immer wiederkehrende Aufmunterung gut über Zeiten kreativer Schwäche hinweggeholfen haben.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern Hans-Joachim und Petra Schmidt danke ich für die wertvolle Unterstützung während der gesamten Zeit meiner Ausbildung, von der Schulzeit, über das Studium bis zur Promotion.

# Selbständigkeitserklärung

„Ich, Katja Schmidt, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Der Einfluss von Bisoprolol und IGF-1 als alleinige Medikation und in Kombination auf Gewichtsverlauf, Körperzusammensetzung, spontane Aktivität und Herzfunktion in einem Rattenmodell der Tumor-Kachexie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Katja Schmidt

Bremen, 20.04.2011



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5787-9



9 783835 195787 9

Cover photo © Ginger Ale - Fotolia.com