

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. G. Ertl

**Pharmakokinetik der subkutanen Hydrocortisonapplikation
im Vergleich zur intramuskulären Gabe bei Patienten mit
einer chronischen Nebenniereninsuffizienz**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Stephanie Burger-Stritt
aus Ettikon

Würzburg, Februar 2014

Referentin: Priv.-Doz. Dr. med. Stefanie Hahner
Korreferentin: Prof. Dr. med. Martina Prelog
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.Juli. 2014

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG.....	1
1.1. Die Nebenniere und ihre Hormone	1
1.2. Nebenniereninsuffizienz	5
1.2.1. Definition und Historisches	5
1.2.2. Epidemiologie.....	5
1.2.3. Primäre Nebenniereninsuffizienz	5
1.2.4. Sekundäre und tertiäre Nebenniereninsuffizienz.....	7
1.2.5. Diagnostik.....	7
1.2.6. Therapie der Nebenniereninsuffizienz.....	9
1.3. Nebennierenkrisen	11
1.3.1. Definition und Epidemiologie	11
1.3.2. Ursachen	11
1.3.3. Symptome.....	12
1.3.4. Therapie	12
1.3.5. Prävention (Patientenschulung, Notfallausweis und Notfallkits).....	13
1.4. Relevanz und Ziel der Arbeit.....	14
1.5. Fragestellungen der Arbeit	15
2. MATERIAL UND METHODEN.....	17
2.1. Studientyp.....	17
2.2. Studienmedikament	18
2.3. Studienpatienten	19
2.3.1. Ein- und Ausschlusskriterien.....	19
2.3.2. Nebenniereninsuffizienzregister und Patientenrekrutierung	19
2.4. Studienablauf	20

2.4.1.	Die Untersuchungstage (Studien- und Kontrollintervention).....	20
2.4.2.	Probenentnahme	21
2.4.3.	Sicherheit (Dokumentation von unerwünschten Ereignissen)	22
2.4.4.	Fragebogen	25
2.5.	Laborbestimmungen.....	30
2.5.1.	ACTH und Cortisol (Serum- und Speichelcortisol)	30
2.5.2.	Lumineszenzimmunoassey	30
2.5.3.	Immunoassay-Analyseautomat.....	33
2.6.	Datenschutz	36
2.7.	Datenauswertung	37
2.8.	Statistische Analyse.....	39
2.9.	Qualität der Studie und Studienmonitoring.....	40
2.10.	Selbstversuch	40
3.	ERGEBNISSE.....	41
3.1.	Selbstversuch	41
3.2.	Die Studienpatienten.....	42
3.2.1.	Alters- und Geschlechtsverteilung.....	42
3.2.2.	Daten zur Nebenniereninsuffizienz	43
3.2.3.	Körperlicher Status (Untersuchungsbefunde)	43
3.2.4.	Begleiterkrankungen und Medikamente.....	44
3.3.	Pharmakokinetik	45
3.3.1.	Cortisol-Werte	45
3.3.2.	ACTH-Werte	59
3.4.	Vergleich der unerwünschten Ereignisse nach s.c. und i.m. Injektion	61
3.5.	Fragebogen	67
3.5.1.	Fragen zum bisherigen Krankheitsverlauf.....	67

3.5.2. Nebennierenkrisen	70
3.5.3. Eigeninjektion von Hydrocortison.....	72
4. DISKUSSION	75
5. ZUSAMMENFASSUNG und AUSBLICK	83
6. LITERATURVERZEICHNIS	86

DANKSAGUNG

LEBENS LAUF

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Aa. - *Arteriae*

A. - *Arteria*

ACTH - Adrenocorticotrophes Hormon

AE - Adrenalektomie

AGS - Adrenogenitales Syndrom

ANOVA - einfaktorielles Varianzanalyse / *analysis of variance*

AUC - *Area under the curve*

AUMC - *Area under the moment curve*

BMI - Body Mass Index

C1 - Konzentration 1

C2 - Konzentration 2

C_{av} - durchschnittliche Konzentration

CBG - *Corticosteroid-Binding-Globulin*

C_{max} - maximale Konzentration

C_{min} - minimale Konzentration

CRF - *Case Report Form* / Dokumentationsbogen

CRH - Corticotropin-*Releasing* Hormon

DHEA - Dehydroepiandrosteron

HF - Herzfrequenz

i.m. - intramuskulär

i.v. - intravenös

ke - Eliminationskonstante

KOF - Körperoberfläche

MRT - *Mean residence time*

MSH - Melanozyten stimulierendes Hormon

MW - Mittelwert

NaCl - Natriumchloridlösung (0,9%) / Kochsalzlösung

NN - Nebenniere

NNI - Nebenniereninsuffizienz

NNK - Nebennierenkrise

PAS - polyglanduläres Autoimmunsyndrom

PAT - Patient

PN - Patientennummer

POMC - Proopiomelanocortin

RAAS - Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

rpm - rotation per minute (Umdrehungen pro Minute)

RR - Blutdruck nach Riva-Rocci

s.c. - subkutan

STABW - Standardabweichung

SUE - schwere unerwünschte Ereignisse

t_{>36µg/dl} - Zeitpunkt, bei dem eine Konzentration von 36 µg/dl überschritten wurde

t_{1/2} - Halbwertszeit

Δt - Zeitintervall

t_{max} - Zeitpunkt, an welchem die maximale Konzentration erreicht ist

TSH - Thyreoidea-stimulierendes Hormon

UE - unerwünschte Ereignisse

V. - *Vena*

1. EINLEITUNG

1.1. Die Nebenniere und ihre Hormone

Die Nebenniere (*Glandula suprarenalis*) ist eine paarig angelegte Drüse, die retroperitoneal dem oberen Nierenpol aufsitzt und aus Mark und Rinde besteht. Die arterielle Versorgung der Nebenniere (NN) wird durch die Nebennierenarterien, *Arteriae (Aa.) suprarenales superior* aus der *Arteria (A.) phrenica inferior*, der *A.suprarenalis media* direkt aus der *Aorta abdominalis* und der *A.suprarenalis inferior* aus der *A.renalis* gewährleistet. Der venöse Rückfluss hingegen erfolgt über je eine *Vena (V.) suprarenalis*, die rechts direkt in die *V.cava inferior* und links in die *V.renalis* mündet.¹

Während die Nebennierenrinde mesodermalen Ursprungs ist, entsteht das Nebennierenmark aus Zellen der Neuralleiste (Ektoderm). Diese Chromaffinoblasten sind ebenfalls Vorläuferzellen des sympathischen Nervensystems.^{1,2} Im Mark werden die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin synthetisiert und sezerniert.² Unter anderem regulieren sie die Anpassung des Körpers an Belastungssituationen. So vermittelt Adrenalin über seine Wirkung an beta2-Adrenorezeptoren der Bronchien eine Relaxation der glatten Muskulatur und somit eine Dilatation der Bronchien. Adrenalin und Noradrenalin induzieren des Weiteren, über ihre Wirkung am alpha1-Adrenorezeptor, via Vasokonstriktion eine Steigerung des Blutdrucks sowie über den beta1-Adrenorezeptor einen positiv chronotropen Effekt am Herzen.³ Die Zellen des Nebennierenmarks werden dabei von präganglionären cholinergen sympathischen Neuronen innerviert.²

Die Nebennierenrinde wiederum wird in drei Zonen (*Zona reticularis*, *Zona glomerulosa*, *Zona fasciculata*) unterteilt, in welchen verschiedene Hormone synthetisiert werden (Abbildung 1a-b). In der an das Mark angrenzenden *Zona reticularis* werden neben den Glucocorticoiden vor allem auch geschlechtsunabhängig Sexualhormone, genauer Androgene und Androgenvorläufer, wie Dehydroepiandrosteron (DHEA), Androstendion und Testosteron produziert.³ Androgene haben eine anabole Wirkung, sind am Skelettwachstum beteiligt und beeinflussen die Ausbildung sekundärer Geschlechtsmerkmale (typisch männliche Verteilung der Körperbehaarung, Bartwuchs etc.).⁴ Die unter der Kapsel liegende *Zona*

glomerulosa ist der Syntheseort der Mineralocorticoide, wie Aldosteron, welches eine wichtige Rolle in der Regulation des Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts einnimmt. Aldosteron wirkt an den zytosolischen Mineralocorticoidrezeptoren im distalen Tubulus sowie an den Sammelrohren der Niere und stimuliert hier die Rückresorption von Natrium und Sekretion von Kalium, Magnesium und Protonen. Dies führt wiederum zu einer vermehrten Rückresorption von Wasser und verursacht in Folge dessen, durch die intravasale Volumenzunahme einen Anstieg des Blutdrucks. Die Regulation der Aldosteronsekretion erfolgt über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS).^{3,4}

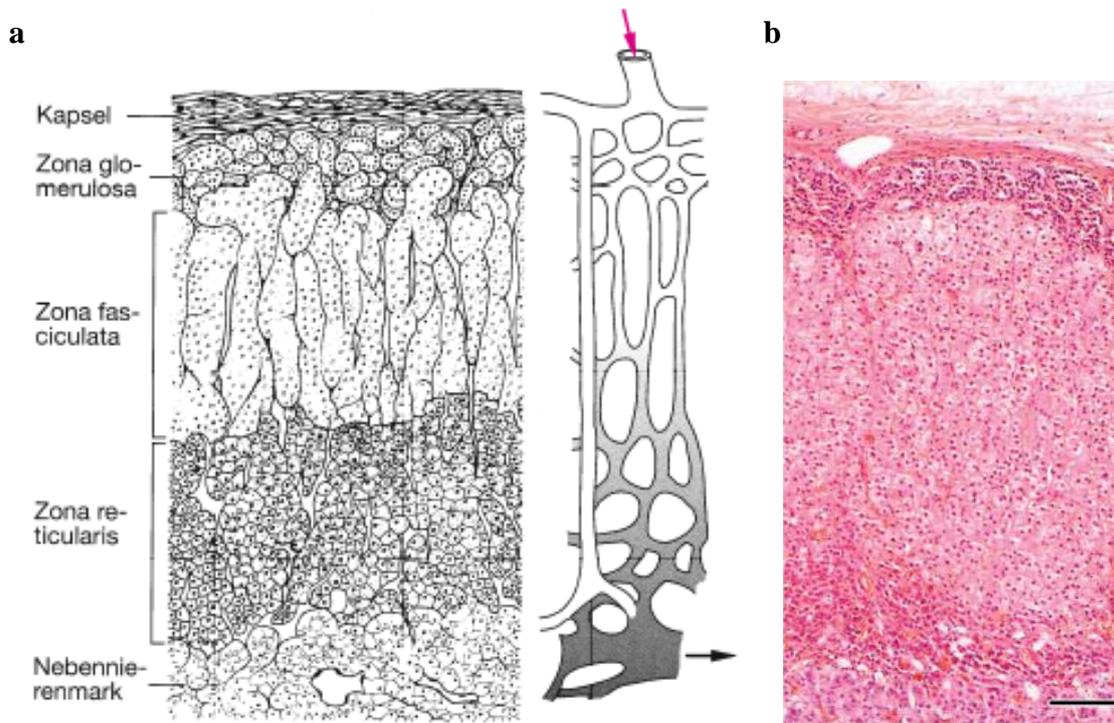


Abbildung 1: Histologie der Nebenniere; (a) Senkrechter Schnitt durch die NN mit Darstellung des Gefäßsystems⁵; (b) Darstellung der Nebenniere in HE-Färbung (Balken=100 µm)⁶

In der mittigen *Zona fasciculata* werden Glucocorticoide und dabei vor allem das Steroidhormon Cortisol gebildet. Das sogenannte Stresshormon Cortisol hat seine Hauptfunktion in der Anpassung des Körpers an Belastungssituationen jeglicher Art.

Hierzu erfolgt bei physischen und psychischen Belastungen, wie zum Beispiel Sport, Infektionen und Unfällen eine vermehrte Sekretion von Cortisol. Seine Wirkung wird durch die Bindung an den intrazellulären Glucocorticoidrezeptor sowie auch über den Mineralocorticoidrezeptor vermittelt, welche beide der Steroidhormonrezeptorfamilie angehören. Die Bindung an diese Rezeptoren fördert, z. B. durch die Stimulation der hepatischen Gluconeogenese und die Hemmung der zellulären Aufnahme von Glucose, vor allem die Bereitstellung von Energiesubstraten.⁷ Weiter besitzt Cortisol eine suppressive Wirkung auf das Immunsystem, beeinflusst die neuronale Erregbarkeit, hat eine geringfügige mineralocorticoide Wirkung, sensibilisiert für die Wirkung von Katecholaminen und fördert deren Ausschüttung.³ Die Cortisolsekretion unterliegt einer zirkadianen Rhythmik, wobei die Sekretion ihren Höhepunkt in den frühen Morgenstunden erreicht und dann im Verlauf des Tages abnimmt.^{3,8} Der Transport von Cortisol im Blut erfolgt zu etwa 80% durch Bindung an das Transportprotein *Corticosteroid-Binding-Globulin* (CBG) und zu 10% durch Bindung an Albumin. Die Cortisolbindungskapazität wird mit den täglichen Höhen des Cortisolspiegels erreicht. Höhere Konzentrationen an Cortisol führen zu einer Sättigung des CBG und damit zu einem Anstieg des biologisch wirksamen freien Cortisols.³

Die Regulation der Sekretion von Glucocorticoiden in der NN erfolgt überwiegend über die hypothalamisch-hypophysäre Achse. Das im Hypothalamus gebildete Corticotropin-*Releasing* Hormon (CRH) wird pulsatil und in zirkadianer Rhythmik sezerniert und stimuliert die Synthese von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) aus Proopiomelanocortin (POMC). Neben ACTH wird unter anderem auch das Melanozyten stimulierende Hormon (MSH) aus POMC synthetisiert. ACTH wird von der Adenohypophyse ausgeschüttet und stimuliert die Produktion von Cortisol in der *Zona fasciculata* der NN. Der ansteigende Cortisolspiegel im Blut, führt durch eine negative Rückkopplung wiederum zu einer verminderten Sekretion von CRH und ACTH und somit zu einer reduzierten Sekretion von Cortisol.³ Im Gegensatz hierzu steigern niedrige Cortisolspiegel die Sekretion von ACTH. Weitere Faktoren, welche die Sekretion von CRH und damit von ACTH und Cortisol steigern, sind physische und psychische Belastungssituationen, Infektionen, Fieber, Hypoglykämien und Alkohol.³ Eine graphische Darstellung der Regulation der Cortisolsekretion kann der Abbildung 2 entnommen werden.

Darüberhinaus, besteht eine Interaktion zwischen der Synthese von Cortisol in der Nebennierenrinde und den im Nebennierenmark synthetisierten Katecholaminen.⁹ Im Einzelnen spielen Glucocorticoide eine wichtige Rolle in der Synthese von Katecholaminen in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks.¹⁰⁻¹² Glucocorticoide werden hierbei für die Expression der Phenylethanolamin-N-Methyltransferase (PNMT) benötigt. Die PNMT ist wiederum für die Generierung von Adrenalin aus Noradrenalin von Bedeutung.¹³ Es ist davon auszugehen, dass ein Mangel an Glucocorticoiden zu einer verminderten Sekretion von Katecholaminen führt.^{12,14-16}

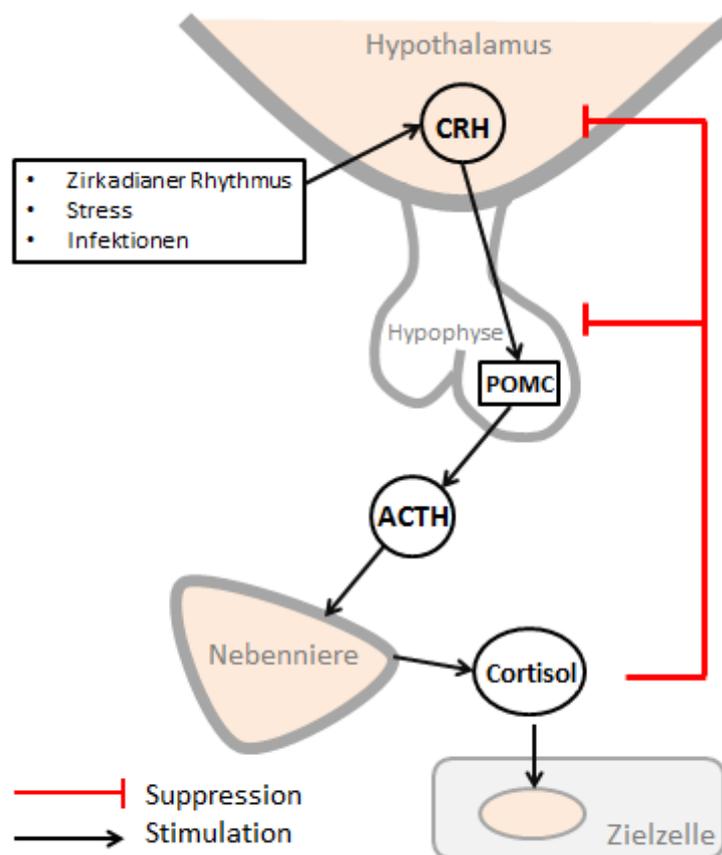


Abbildung 2: Übersicht über die Regulation der Cortisolsekretion; Stimulation der Cortisolsekretion und Mechanismus der negativen Rückkopplung (Darstellung orientiert an Abbildungen aus Deetjen, Speckmann, Hescheler: *PHYSIOLOGIE* 4.Auflage und Löffler, Petrides: *Biochemie und Pathobiochemie* 7.Auflage).^{3,7}

1.2. Nebenniereninsuffizienz

1.2.1. Definition und Historisches

Thomas Addison beschrieb 1855 zum ersten Mal ein klinisches Syndrom, welches sich unter anderem durch eine Hyperpigmentierung der Haut und Trägheit äußert und durch eine Zerstörung der NN verursacht wird.¹⁷ Seine Aufzeichnungen beinhalteten die ersten Beschreibungen einer autoimmunen Adrenalitis in der Literatur. Im Jahre 1856 verwendete Trousseau erstmals den Terminus Morbus Addison, der bis heute für eine primäre Nebenniereninsuffizienz (NNI), verursacht durch eine autoimmune Adrenalitis, verwendet wird.¹⁸

Eine NNI führt zu einer verminderten oder gänzlich fehlenden Synthese adrenaler Hormone. In erster Linie sind dabei Cortisol sowie zum Teil zusätzlich Aldosteron und adrenale Androgene betroffen.¹⁹ Anhand der übergeordneten Ursache für die Entstehung einer NNI erfolgt die Einteilung in eine primäre, sekundäre oder tertiäre NNI.²⁰

1.2.2. Epidemiologie

Die NNI kommt mit einer Prävalenz von ca. 240-420 pro eine Million Einwohner vor, wobei Frauen etwas häufiger erkranken als Männer.^{19,21} Obwohl die NNI eine seltene Erkrankung ist, zeigt sich eine eher zunehmende Inzidenz.^{17,22} Die primäre NNI weist eine Prävalenz von etwa 93-104 pro eine Million und die sekundäre NNI von 150-280 pro eine Million Einwohner auf.¹⁷

1.2.3. Primäre Nebenniereninsuffizienz

Die primäre NNI entwickelt sich aufgrund einer intraadrenalen Störung. Hierbei können verschiedene Ursachen durch eine Schädigung der NN zu einer Störung der adrenalen Hormonsekretion führen. Sowohl angeborene, raumfordernde, traumatische, infektiöse als auch autoimmunologische Ursachen können die NNI bedingen.¹⁹ In Entwicklungsländern stellt die im Rahmen einer Tuberkuloseinfektion auftretende infektiöse Adrenalitis eine Hauptursache für eine NNI dar.²³ Neben der Tuberkulose können aber auch eine HIV-Infektion/AIDS sowie Mykosen die Ursache für eine NNI sein.¹⁹ Die in den Industrienationen vorkommende NNI entsteht hingegen hauptsächlich

durch eine Zerstörung des Nebennierengewebes im Zuge eines autoimmunen Prozesses. Hierbei können bei mindestens 80% der Patienten Autoantikörper gegen Steroidbiosyntheseenzyme, meistens die 21-Hydroxylase, nachgewiesen werden.^{19,24} Diese Autoimmunadrenatitis kann isoliert oder auch im Rahmen von polyglandulären Autoimmunsyndromen (PAS) auftreten.¹⁷ Bei 15% der Patienten mit einer Autoimmunadrenatitis tritt dabei das PAS Typ I (Autoimmune Polyendokrinopathie Candidiasis ektodermale Dystrophie (APECED)- Genmutation) auf, welches zusätzlich durch einen Hypoparathyreoidismus sowie eine mukokutane Candidiasis gekennzeichnet ist. Beim häufigeren PAS Typ II (Humanes Leukozytenantigen (HLA)-Assoziation) tritt neben der Autoimmunadrenatitis eine autoimmune Thyreoiditis auf. Zusätzlich zeigen die Patienten des Öfteren weitere Erkrankungen, wie z. B. eine primäre Gonadeninsuffizienz, einen Diabetes mellitus Typ I, eine Vitiligo oder eine chronisch atrophische Gastritis.^{17,18,25} Zu den seltenen kongenitalen Erkrankungen, die eine NNI verursachen können, gehört das Adrenogenitale Syndrom (AGS) (z. B. verursacht durch einen Defekt der 21-Hydroxylase), verschiedene Formen der kongenitalen Nebennierenhyperplasie (z. B. verursacht durch eine Mutation des Transkriptionsfaktors DAX-1, X-chromosomale Vererbung), die Adrenoleukodystrophie (Mutation im ABCD1-Gen, X-chromosomal rezessive Vererbung), das Tripel-A-Syndrom (adrenale Insuffizienz, Achalasie, Alakrimie; autosomal rezessive Vererbung) und das familiäre Glucocorticoid-Defizienz-Syndrom (ACTH-Resistenz, autosomal rezessive Vererbung).^{19,26-30} Weitere seltene Ursachen sind eine Infiltration der NN durch einen Tumor, eine Nebenniereneinblutung oder auch die bilaterale Adrenalektomie.¹⁷

Die klinische Manifestation der primären NNI äußert sich in Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Gewichtsverlust und gastrointestinalen Beschwerden, wie Übelkeit und Erbrechen. Weiter zeigt sich die primäre NNI besonders durch eine Hyperpigmentierung der Haut, die vor allem an den Mamillen, Schleimhäuten und Handlinien sichtbar ist. In Folge des Mineralocorticoiddefizits können eine Hypotonieneigung, Elektrolytstörungen und folglich ein Salzhunger entstehen. Bei Frauen kann es des Weiteren zusätzlich zu einem Libidoverlust, trockener Haut und dem Verlust von Achsel- und Schambehaarung kommen.¹⁹

1.2.4. Sekundäre und tertiäre Nebenniereninsuffizienz

Während die Ursache der primären NNI in der NN selbst liegt, ist die Ursache der sekundären NNI in der Hypophyse lokalisiert. Eine verminderte oder fehlende Sekretion des hypophysären Hormons ACTH führt zu einer unzureichenden Stimulation der NN. Auch bei niedrigen Cortisolwerten ist hier die normalerweise kompensatorisch vermehrte Sekretion von ACTH nicht mehr möglich. Aufgrund der ausbleibenden ACTH-Stimulation wird Cortisol von der eigentlich funktionstüchtigen NN nicht synthetisiert.¹⁹

Die Hauptursache einer sekundären NNI sind Tumoren der Hypophyse (Hypophysenadenome, Hypophysenkarzinome, Craniopharyngeome, Meningeome und Metastasen).¹⁷ Zu den weniger häufigen Ursachen gehören z. B. eine kraniale Radiatio, die lymphozytäre Hypophysitis, das Sheehan-Syndrom (postpartaler Hypopituitarismus), ein kongenitaler ACTH-Mangel (POMC-Enzymdefekt), eine Infiltration der Hypophyse (z. B. durch Tuberkulose oder Sarkoidose), ein Schädel-Hirn-Traumata, oder auch eine langfristige Glucocorticoideinnahme im Rahmen anderer Erkrankungen.^{17,31-33}

Neben den auch bei der primären NNI auftretenden Symptomen, tritt bei einer sekundären NNI durch eine verminderte Produktion von POMC jedoch typischerweise eine Blässe der Haut auf. Des Weiteren ist die Synthese und Sekretion der Mineralocorticoide bei der sekundären NNI nicht beeinträchtigt, da diese über das RAAS gesteuert werden.^{17,19}

Die tertiäre NNI ist auf eine Störung im Hypothalamus zurückzuführen. Dabei kommt es zu einer fehlenden oder unzureichenden Sekretion von CRH.¹⁹

1.2.5. Diagnostik

Neben der größtenteils unspezifischen klinischen Manifestation der NNI, gibt es auch laborchemische Veränderungen, die auf eine NNI hinweisen können. Bei der primären NNI kann sowohl das Mineralocorticoiddefizit, als auch das Glucocorticoiddefizit, zu einer Hyponatriämie sowie einer Hyperkaliämie führen. Die begleitend auftretende Dehydratation und Hypotonie kann wiederum eine Erhöhung der Retentionsparameter verursachen. Seltener können eine Hyperkalzämie, Anämie, Eosinophilie und / oder eine Lymphozytose beobachtet werden. Die Spiegel an Thyroidea-stimulierendem

Hormon (TSH) sind, durch das Wegfallen der hemmenden Wirkung von Cortisol auf die TSH-Synthese, oft erhöht. Aufgrund der zirkadianen Rhythmik und möglichen kurzfristigen Erhöhungen sind die basalen ACTH- und Cortisolwerte in der NNI-Diagnostik meistens wenig aussagekräftig.¹⁹

Bei Verdacht auf eine NNI wird standardmäßig ein ACTH-Kurztest durchgeführt. Hierbei werden 250 µg synthetisches ACTH intravenös (i.v.) verabreicht und das Serumcortisol zum Zeitpunkt 0, (30) und 60 min nach Injektion bestimmt.^{19,34,35} Bei einer suffizienten Nebennierenfunktion kommt es zu einem Anstieg des Serumcortisols auf > 500 nmol/l oder 18 µg/dl.^{36,37} Bei unzureichender Stimulierbarkeit der NN wird zusätzlich die morgendliche basale Konzentration von ACTH im Plasma herangezogen. So kann zwischen einer primären und sekundären NNI differenziert werden. Ein basaler ACTH-Spiegel oberhalb des Referenzbereiches spricht für eine primäre, erniedrigte ACTH-Spiegel für eine sekundäre oder tertiäre NNI.^{36,38} Eine weitere Möglichkeit zur Diagnostik einer Störung der Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (ACTH-Cortisol) stellt der Insulin-Hypoglykämietest dar. Eine Hypoglykämie ist ein Stressor, welcher unter anderem zur Sekretion von ACTH führt. Ein Cortisolanstieg im Serum über 500 nmol/l spricht dabei gegen eine sekundäre NNI und umgekehrt.^{35,36,39}

Als Hinweis auf eine autoimmunologische Ursache der NNI ist es in einigen Fällen möglich Autoantikörper gegen z. B. die 21-Hydroxylase oder die 17-alpha-Hydroxylase nachzuweisen.^{36,40} Beim Nachweis von Autoantikörpern werden, zum Ausschluss einer Beteiligung anderer Organsysteme (z. B. Schilddrüse, Gonaden), weitere diagnostische Schritte vorgenommen.¹⁹

Des Weiteren kann DHEA im Serum bestimmt werden, welches sowohl bei der primären als auch der sekundären NNI erniedrigt vorliegen kann.^{19,41}

Wird eine primäre NNI diagnostiziert, erfolgt zusätzlich die Bestimmung von Serumaldosteron und der Plasma-Renin-Konzentration. Wenn auch die *Zona glomerulosa* mit betroffen ist, zeigt sich hier ein erniedrigtes Serumaldosteron und eine erhöhte Plasma-Renin-Konzentration.³⁸

Wird bei Neugeborenen und Kindern eine primäre NNI diagnostiziert, so wird bei Verdacht auf eine Störung der Steroidbiosynthese eine molekulargenetische Diagnostik zur Charakterisierung z. B. eines entsprechenden Enzymdefekts durchgeführt.³⁶

Ein bildgebendes Verfahren wird nicht standardmäßig bei jeder Diagnose einer NNI eingesetzt. Bei Verdacht auf eine Einblutung in die NN, eine Neoplasie oder infektiöse Infiltration wird eine Computertomographie oder Magnetresonanztomographie und bei Verdacht auf eine Infiltration im Bereich der Hypophyse eine kraniale Magnetresonanztomographie durchgeführt.^{17,19} Des Weiteren kann es bei Verdacht auf eine infektiöse Adrenitis notwendig sein, zusätzliche Diagnostik, wie z. B. einen Tuberkulintest und eine Röntgen-Thorax-Aufnahme, einzuleiten.¹⁹

1.2.6. Therapie der Nebenniereninsuffizienz

Im Rahmen einer Substitutionstherapie werden bei nebenniereninsuffizienten Patienten die fehlenden Hormone ersetzt. Sowohl bei der primären als auch bei der sekundären NNI wird das Hormon Cortisol durch die tägliche Einnahme von Hydrocortison substituiert. Neben Hydrocortison können jedoch auch andere Präparate, wie z. B. Prednisolon verwendet werden.¹⁹ Da eine gesunde und funktionierende NN eine tägliche Menge von 5-10 mg Cortisol pro m² Körperoberfläche produziert, beträgt die Standardsubstitutionsdosis von Hydrocortison durchschnittlich ungefähr 15-30 mg pro Tag.^{42,43} Entsprechend der physiologischen zirkadianen Rhythmik der Cortisolsekretion, wird der Hauptanteil des täglichen Hydrocortisonbedarfs morgens nach dem Aufstehen eingenommen. Mittags und abends erfolgt bei den meisten Patienten die Einnahme einer geringeren Hydrocortisondosis. Eine typische Verteilung der täglichen Hydrocortisoneinnahme wäre: 10-15 mg morgens, 0-10 mg mittags und 0-5 mg abends.^{17,19} Eine individuelle Anpassung der täglichen Einnahme von Hydrocortison an verschiedene Belastungssituationen (z. B. grippale Infekte, physischer/psychischer Stress) durch Patienten mit einer NNI ist hierbei von entscheidender Wichtigkeit. Bei umschriebener körperlicher Belastung (z. B. intensive sportliche Betätigungen) können 5-10 mg direkt vor der Belastungssituation eingenommen werden. Bei leichter körperlicher Belastung sollte die reguläre Tagesdosis auf das Doppelte erhöht werden. Bei starker körperlicher Belastung (z. B. Operationen) sollten 100 mg Hydrocortison in 5%iger Glukoselösung über 24 Stunden verabreicht werden. In Krankheitssituationen mit Erbrechen oder Diarrhoen, ist eine parenterale Gabe von Hydrocortison von entscheidender Bedeutung.¹⁹ Wie bereits erwähnt, gibt es Alternativen zu einer Standardsubstitutionstherapie mit Hydrocortison, wobei z. B. Prednisolon verwendet

werden kann. Prednisolon bietet den Vorteil, dass es als morgendliche Einmaldosis von 5 mg verabreicht werden kann.⁴⁴ Neben der 5-6 fach stärkeren Wirkung und einer längeren Wirkdauer von 12-18 Stunden, ist auch die fehlende mineralocorticoide Wirkung von Prednisolon zu erwähnen.⁴⁵ Allerdings sind langfristige Nebenwirkungen des potenteren Prednisolon im Vergleich zum physiologischeren Hydrocortison nicht genau eruiert.⁴⁴ Um aktuelle Substitutionstherapien zu verbessern, gibt es mittlerweile Ansätze um eine genauere Nachahmung der zirkadianen Rhythmik zu erreichen. Hierzu wurde die zirkadiane i.v. Verabreichung von Hydrocortison bei Patienten mit einem AGS,⁴⁶ sowie die subkutane (s.c.) Verabreichung von Hydrocortison mittels Insulinpumpe bei Patienten mit einem Morbus Addison erprobt.⁴⁷ Des Weiteren gibt es oral verfügbare Verzögerungspräparate, wie z. B. Plenadren, Chronocort oder Lodotra.⁴⁸⁻⁵⁰ Plenadren ermöglicht als Zwei-Phasen-Hydrocortison-Präparat durch die sofortige und zeitlich verzögerte Freisetzung von Hydrocortison eine einmal tägliche, morgendliche Einnahme. Eine erste klinische Studie mit Plenadren bei chronisch nebenniereninsuffizienten Patienten ergab eine Verbesserung im Bereich der Einstellung kardiovaskulärer Risikofaktoren (Gewichtsreduktion, verbesserte Blutdruckeinstellung, positiver Effekt im Glukosemetabolismus) und der Lebensqualität.⁵⁰⁻⁵² Das modifizierte Prednisolon-Präparat Lodotra ermöglicht, durch eine verzögerte Freisetzung, einen Anstieg des Cortisolspiegels in den frühen Morgenstunden vor dem Erwachen. Die Einnahme von Lodotra führte bei Patienten mit einer chronischen NNI zu einer Reduktion von Beschwerden, wie Abgeschlagenheit.^{50,53,54} Ein weiteres neues Hydrocortison-Verzögerungspräparat, welches nach abendlicher Applikation die physiologische Cortisolfreisetzung ebenfalls gut nachzuahmen scheint, ist Chronocort.^{48,50,55-57}

Die Überwachung der individuellen Substitutionsdosis orientiert sich an klinischen Zeichen der Über- und Untersubstitution.^{17,19} Zeichen einer Übersubstitution können ein arterieller Hypertonus, Adipositas, Osteoporose, steroidinduzierte gestörte Glukosetoleranz und Hautveränderungen, wie z. B. eine Atrophie sein. Zeichen einer Untersubstitution ist eine vermehrte Ausprägung der typischen NNI-Symptomatik, wie z. B. eine zunehmende Abgeschlagenheit, Hypotonie oder eine Gewichtsreduktion.^{58,59} Bei der primären NNI wird, als Ausgleich für das fehlende Aldosteron, zusätzlich Fludrocortison eingenommen. Die tägliche Dosis an Fludrocortison beträgt 0,05-

0,2 mg.^{17,19} Die Kontrolle der Substitutionstherapie mit Fludrocortison kann anhand von Blutdruckmessungen, Serum -Natrium und -Kalium sowie der Plasma-Renin-Aktivität erfolgen.³⁸ Da auch Cortisol an den Mineralocorticoidrezeptor binden kann, trägt dabei auch die tägliche Dosis an Hydrocortison zum Mineralocorticoidpool bei (20 mg Hydrocortison entsprechen der Wirkung von ca. 0,05 mg Fludrocortison).¹⁹

In einzelnen Fällen kann bei Frauen, die z. B. an Libidoverlust leiden, auch eine *Off-label*-Substitution mit DHEA (tägliche Dosis: 25-50 mg) versucht werden. Die Substitution von DHEA kann sich positiv auf die Stimmung und die Sexualität auswirken.^{41,60,61} Ein routinemäßiger Einsatz ist aktuell jedoch nicht praktikabel.⁶²

Trotz einer entsprechenden Standardsubstitutionstherapie scheint jedoch die Lebensqualität von Patienten mit einer chronischen NNI beeinträchtigt zu sein.⁶³ So leiden einige Nebenniereninsuffiziente Patienten an vermehrter Müdigkeit und Erschöpfbarkeit, verminderter Vitalität sowie Schlafstörungen.⁶⁴⁻⁶⁶

1.3. Nebennierenkrisen

1.3.1. Definition und Epidemiologie

Eine Nebennierenkrise (NNK) ist eine lebensbedrohliche Verschlechterung des Allgemeinzustandes, als Folge eines Ungleichgewichtes von Cortisolbedarf und Cortisolverfügbarkeit.⁶⁷ Patienten mit einer chronischen NNI haben ihr Leben lang ein erhöhtes Risiko eine NNK zu erleiden.⁶⁸

NNK treten mit einer Häufigkeit von 6,3 Krisen pro 100 Patientenjahre auf.⁶⁹ Dabei wird angenommen, dass NNK zu einer erhöhten Mortalität bei Patienten mit einer chronischen NNI beitragen.⁶⁹⁻⁷¹ Neue Daten einer aktuell noch nicht publizierten prospektiven Analyse zeigen, mit 7,6 Krisen pro 100 Patientenjahre, eine sogar noch höhere Krisenhäufigkeit mit einer Krisenmortalität von 3%.⁷²

1.3.2. Ursachen

Eine NNK kann im Rahmen der Erstmanifestation einer NNI, oder auch nach Diagnose im weiteren Krankheitsverlauf auftreten. Eine situationsangepasste Steigerung der Cortisolsekretion durch eine gesunde NN, spielt eine zentrale Rolle in der Adaption des Organismus an unterschiedliche Stresssituationen. Eine akute NNK tritt daher vor allem

in Situationen auf, in welchen ein Mehrbedarf an Cortisol durch die gestörte Funktion der NN nicht abgedeckt werden kann. Eine solche Dekompensation kann in Belastungssituationen jeglicher Art auftreten.⁶⁷ Die häufigste Ursache sind dabei gastrointestinale und sonstige fieberhafte Infekte. Weitere Ursachen sind Operationen, intensive physische Belastung, das Vergessen oder Absetzen der Substitutionstherapie, Unfälle und psychischer Stress.^{69,73} Gerade Patienten mit vielen Begleiterkrankungen haben daher ein erhöhtes Risiko eine NNK zu erleiden.⁷⁴ Das relative Risiko an einem der Hauptkrisenauslöser zu versterben, zeigt sich in einer schwedischen Analyse bei fieberhaften Infekten um das Siebenfache erhöht.⁷¹

1.3.3. Symptome

Eine NNK äußert sich in einer dramatischen Verschlechterung des Allgemeinzustandes. Oftmals kommt es dabei zu einer schnellen Ausbildung der Symptomatik.⁶⁹ Die Patienten zeigen eine ausgeprägte Hypotonie, bis hin zu einer Schocksymptomatik. Weiterer Symptome sind ein allgemeines Schwächegefühl, gastrointestinale Beschwerden und febrile Temperaturen.^{67,75} In einigen Fällen präsentierten sich NNK als akutes Abdomen.⁷⁶ Des Weiteren können zentralnervöse Komplikationen durch eine Hyponatriämie ausgelöst werden.⁶⁷

1.3.4. Therapie

Von entscheidender Bedeutung ist die sofortige Verabreichung einer hohen Dosis an Hydrocortison. Zunächst sollten unverzüglich 100 mg Hydrocortison parenteral, wenn möglich i.v., verabreicht werden. Anschließend sollten 100-200 mg Hydrocortison im Verlauf von 24 Stunden appliziert werden.^{67,77} Zusätzlich sollte für eine ausreichende Flüssigkeitszufuhr in Form von Kochsalzlösung über einen i.v. Zugang unter Kontrolle der Kreislaufparameter gesorgt werden. Aufgrund der hohen Dosis an Hydrocortison und dessen Wirkung am Mineralocorticoidrezeptor ist akut keine Substitution von Fludrocortison nötig.⁶⁷ Je nachdem welche Ursache der NNK zugrunde liegt, ist zusätzlich eine kausale Therapie des Auslösers von Nöten (z. B. eine antibiotische Therapie).¹⁹

Besonders wichtig ist allerdings, dass es durch ungenügende Erfahrung im Umgang mit nebenniereninsuffizienten Patienten oder diagnostischen Maßnahmen keinesfalls zu einer Verzögerung der lebenswichtigen Therapieeinleitung und einer Klinikeinweisung kommt.^{19,74}

1.3.5. Prävention (Patientenschulung, Notfallausweis und Notfallkits)

Um das Entstehen von NNK zu verhindern und ein schnelles Handeln im Falle einer beginnenden NNK zu erreichen, ist die Schulung von Patienten mit einer NNI entscheidend. Die Patienten sollten in regelmäßigen Abständen ambulant von einem Endokrinologen betreut und geschult werden.^{67,74,78}

Nebenniereninsuffiziente Patienten sollten über ein solides Grundwissen über ihre Erkrankung verfügen und wissen, in welchen Situationen sie ihre tägliche Hydrocortisondosis anpassen müssen.^{67,77,79,80} Zusätzlich ermöglicht ein Notfallausweis den Patienten, sich in Notfallsituationen hinsichtlich ihrer Erkrankung auszuweisen. Der Notfallausweis enthält wichtige Informationen zum Patienten, der NNI im Allgemeinen und der notfallmäßigen Therapie. Ferner sollte den Patienten ein Notfallkit, bestehend aus einer Ampulle Hydrocortison für Injektionszwecke (100 mg Hydrocortison), verschrieben werden. Durch Schulungen der Patienten in der Eigeninjektion von Hydrocortison ist es ihnen nicht nur möglich, durch den Besitz einer Hydrocortisonampulle die schnelle Injektion durch z. B. einen Hausarzt zu ermöglichen, sondern auch durch eine Eigeninjektion die Verabreichung von Hydrocortison selbstständig durchzuführen.^{77,79} Bisher besteht für nebenniereninsuffiziente Patienten die Möglichkeit im Rahmen einer Patientenschulung die intramuskuläre (i.m.) Injektion von Hydrocortison zu erlernen.⁸¹ Eine mögliche, gut zu erreichende Injektionsstelle für die Eigeninjektion ist dabei die laterale Oberschenkelmuskulatur (*Musculus quadriceps femoris*). Des Weiteren besteht, vor allem auch bei Kindern, die Möglichkeit Hydrocortison in Notfallsituationen rektal zu applizieren.^{82,83}

So kann zur Prävention oder bei einer beginnenden Krise die Zeit bis zu einem Arztkontakt überbrückt werden.

1.4. Relevanz und Ziel der Arbeit

Um NNK zu vermeiden, werden Patienten mit einer chronischen NNI wiederholt in der Eigenanpassung von Glucocorticoiden geschult. Des Weiteren erhalten die Patienten einen Notfallausweis und zudem idealerweise ein Notfallkit, bestehend aus einer Ampulle Hydrocortison für Injektionszwecke.⁷⁷ Während in Situationen, wie einem leichten grippalen Infekt, die Eigenanpassung der oralen Hydrocortisondosis ausreichend scheint, ist es in anderen Situationen, wie Erbrechen, essentiell eine parenterale Gabe von Hydrocortison zu erhalten.^{17,44,74} Da eine i.v. Gabe von Hydrocortison nur durch einen Arzt durchgeführt werden kann, dieser jedoch oftmals nicht direkt erreichbar ist und auch meistens wenig Erfahrung im Umgang mit nebenniereninsuffizienten Patienten hat, kann es zu lebensbedrohlichen Verzögerungen der wichtigen Gabe von Hydrocortison kommen.⁶⁹ In Großbritannien gibt es hierzu bereits neue, erfolgreich umgesetzte Leitlinien zum präklinischen Einsatz von Hydrocortison.⁸¹ Um den Patienten in präklinischen Situationen ein gewisses Maß an Unabhängigkeit zu ermöglichen, erfolgen Schulungen in der Eigeninjektion von Hydrocortison. Offiziell besteht neben der i.v. Verabreichung von Hydrocortison eine Zulassung für die i.m. Gabe.⁸¹ Allerdings führen längst nicht alle der Patienten ein Notfallkit mit sich.^{69,74} Zusätzlich scheint die i.m. Injektion für viele Patienten eine große Hemmschwelle darzustellen und wird deshalb in Notfallsituationen nicht konsequent genug eingesetzt. Eine s.c. Verabreichung von Hydrocortison wäre eine für die Patienten leicht durchzuführende Alternative. Erfahrungsgemäß besteht bezüglich der s.c. Applikation von Medikamenten eine höhere Akzeptanz (z. B. s.c. Selbstinjektion von Insulin bei Diabetikern, von Heparin bei Patienten in der postoperativen Phase oder von Hormonpräparaten bei Hypophyseninsuffizienz). In einer Studie aus Norwegen, an welcher insgesamt sieben Patienten mit einem Morbus Addison teilnahmen, wurde mittels Insulinpumpe Hydrocortison kontinuierlich s.c. appliziert, um so das physiologische Cortisolprofil nachzuahmen. Hierbei konnten durch die s.c. Gabe von Hydrocortison suffiziente Wirkspiegel erreicht werden. Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet.⁴⁷ Ebenso wurde eine s.c. Gabe von Hydrocortison mit Hilfe einer Insulinpumpe bei einem 14-jährigen Jungen mit einem AGS bereits erfolgreich eingesetzt.⁸⁴ In einem weiteren Patientenfall, eines Jugendlichen mit einem AGS, konnten ähnliche Ergebnisse gezeigt werden.⁸⁵ Des

Weiteren erfolgt die s.c. Applikation von Hydrocortison seit vielen Jahren im Rahmen unbeabsichtigter Paravasation von Chemotherapeutika.⁸⁶ Auch bei einem Selbstversuch durch die Studienkoordinatoren (n=3), welcher in Vorbereitung auf diese klinische Studie mit Patienten durchgeführt wurde, wurde die s.c. Applikation von Hydrocortison vorab erfolgreich untersucht.

Ziel war es daher, die Pharmakokinetik und die Sicherheit der s.c. Hydrocortisonapplikation für den Einsatz in Krisensituationen im Vergleich zur i.m. Gabe zu evaluieren. Langfristig besteht die Hoffnung darin, einen späteren routinemäßigen Einsatz der s.c. Notfalltherapie mit Hydrocortison zu etablieren und dadurch die Zahl letal verlaufender NNK zu senken.

1.5. Fragestellungen der Arbeit

- (1) Werden nach s.c. Injektion von Hydrocortison innerhalb eines akzeptablen Zeitraumes sichere Wirkspiegel erreicht?**
- (2) Wie stellte sich das Nebenwirkungsprofil einer s.c. Injektion von Hydrocortison dar?**
- (3) Wie verhalten sich Pharmakokinetik und Sicherheitsprofil der s.c. im Vergleich zur i.m. Gabe von Hydrocortison?**
- (4) Würde eine s.c. Injektion von Hydrocortison im Vergleich zur i.m. Injektion von Nebenniereninsuffizienten Patienten bevorzugt werden?**

Primärer Studienendpunkt ist die Zeit bis zum Erreichen eines als sicher erachteten Wirkspiegels von 36 µg/dl Cortisol im Serum (verdoppelter Cut-Off-Wert von 18 µg/dl des ACTH-Kurztest, bei dessen Erreichen im klinischen Alltag der NNI-Diagnostik von einer suffizienten Nebennierenfunktion ausgegangen wird). Weitere Studienendpunkte beinhalten die minimale, maximale und durchschnittliche Konzentration von Cortisol, die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Konzentration von Cortisol, die Fläche unter der Cortisolkonzentrations-Kurve vom Zeitpunkt 0 bis 240 min nach Applikation, die mittlere Verweildauer, die Halbwertszeit und die Fluktuation.

Sekundäre Studienendpunkte sind die Sicherheit der s.c. Applikation von Hydrocortison sowie die Wirkung der Glucocorticoidgabe auf den ACTH-Spiegel.

Ein weiterer sekundärer Studienendpunkt ist die Patientenakzeptanz gegenüber der s.c. Applikation, im Vergleich zur i.m. Gabe, welche anhand eines Fragebogens evaluiert wurde.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Studientyp

Bei dieser Arzneimittelstudie handelt es sich um eine pharmakokinetische (Bioäquivalenz-) Studie, bei welcher die Pharmakokinetik der s.c. im Vergleich zur i.m. Applikation von Hydrocortison untersucht wurde. Des Weiteren wurde die Sicherheit der s.c. Applikation von Hydrocortison sowie die Patientenzufriedenheit gegenüber beiden Applikationsarten untersucht. Eine Kontrollintervention wurde anhand einer s.c. Verabreichung von Kochsalzlösung (0,9%ige Natriumchloridlösung = NaCl) durchgeführt. Hinsichtlich des Studiendesigns wurde die Studie als eine offene, randomisierte, *cross-over* Studie durchgeführt. Jeder Studienpatient erhielt dabei aufgeteilt auf drei Untersuchungstage alle Studieninterventionen, jedoch in unterschiedlicher Abfolge (*cross-over*). Hierfür wurde jedem der teilnehmenden Studienpatienten, in der Reihenfolge der Zusage zu einer Studienteilnahme, eine Patientenidentifikationsnummer zugeteilt. Anschließend wurde wiederum jeder Patientenidentifikationsnummer eine Abfolge des Studienverlaufs zugewiesen. Durch das Losverfahren wurden die Studienpatienten auf zwei mögliche Interventionsarme aufgeteilt (Abbildung 3). Bei allen Patienten wurde am ersten Untersuchungstag zunächst die Kontrollintervention mit Kochsalzlösung durchgeführt. Sechs Patienten erhielten anschließend am zweiten Untersuchungstag die s.c. und am dritten Untersuchungstag die i.m. Studienintervention (1. Interventionsarm). Weitere sechs Patienten erhielten wiederum am zweiten Untersuchungstag die i.m. und am dritten Untersuchungstag die s.c. Studienintervention (2. Interventionsarm).

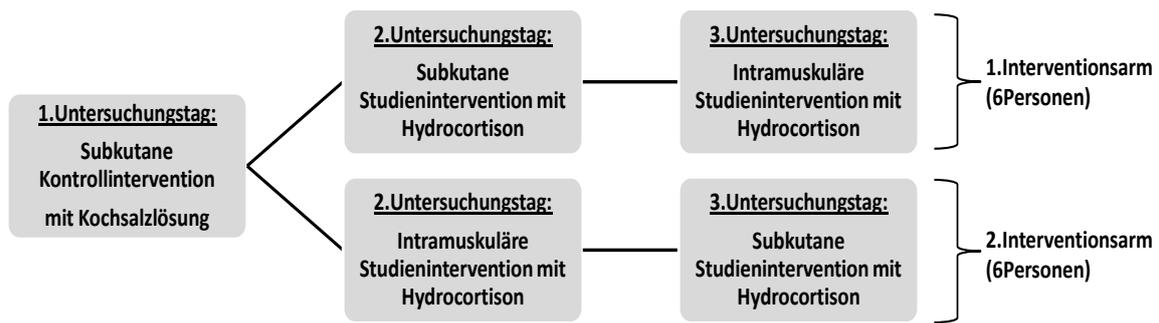


Abbildung 3: Verteilung der Studienpatienten auf zwei Interventionsarme.

Die Abbildung zeigt die beiden Interventionsarme, auf welche die zwölf teilnehmenden Studienpatienten randomisiert wurden. Alle Studienpatienten erhielten alle Studieninterventionen, allerdings in zwei unterschiedlichen Abfolgen.

2.2. Studienmedikament

Bei dem eingesetzten Studienmedikament handelt es sich um das bereits für die i.v. und i.m. Injektion zugelassene Hydrocortisonpräparat der Firma Pfizer (Zulassungsnummer: 6177448.00.00).

Der Wirkstoff besteht aus Hydrocortison-21-hydrogensuccinat und Natriumsalzen. Die Mischampulle beinhaltet 100 mg Hydrocortison in Pulverform sowie 2 ml Lösungsmittel (Benzylalkohol (Konservierungsmittel), Natriumhydrogenphosphat-Monohydrat, Dinatriumhydrogenphosphat-Heptahydrat und Wasser).

Der eingesetzte Wirkstoff Hydrocortison entspricht chemisch dem körpereigenen Hormon Cortisol. Die Glucocorticoiddosis von 100 mg entspricht der vierfachen Tagesdosis einer Standardsubstitutionsdosis nebenniereninsuffizienter Patienten und ist die aktuell eingesetzte Dosis für die i.m. Eigeninjektion von Hydrocortison in Notfallsituationen.

Jeweils kurz vor den Injektionen wurde aus dem Pulver und dem Lösungsmittel die Injektionslösung hergestellt. Durch Druck auf die Ampulle ließ sich dabei der Gummistopfen lösen, welcher sich zwischen dem pulverförmigen Hydrocortison und dem Lösungsmittel befand, wodurch sich die beiden Bestandteile der Ampulle vermischen konnten. Nach leichtem Schwenken der Ampulle wurde abgewartet, bis eine klare Lösung entstanden war. Anschließend konnte die Lösung in die vorbereiteten

Spritzen aufgezogen und verabreicht werden. Für die s.c. Injektion wurden dabei eine 1 ml-Feindosierungsspritze und eine Einmalkanüle der Firma Braun, für die i.m. Injektion eine 2 ml-Spritze und eine Einmalkanüle der Firma Braun verwendet. Insgesamt wurden 24 der beschriebenen Hydrocortisonpräparate verabreicht. Alle 24 Präparate besaßen dieselbe Chargennummer (Nr.:Y07336). Vor jeder Intervention mit dem Studienmedikament wurden die Chargennummer und das Haltbarkeitsdatum überprüft. Die Verwendung der Studienpräparate wurde schriftlich dokumentiert.

2.3. Studienpatienten

Die Gruppengröße wurde nach der „*EMA notes for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*“ auf zwölf Patienten festgelegt.

2.3.1. Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden einwilligungsfähige männliche und weibliche Probanden mit einer chronischen primären NNI infolge einer Autoimmunadrenalitis oder einer bilateralen Adrenalektomie unter Standardglucocorticoidsubstitutionstherapie (Erstdiagnose mindestens 12 Monate zurückliegend), stabiler aktueller Medikamenteneinnahme, negativem Schwangerschaftstest und einer adäquaten Kontrazeption, die das 18. Lebensjahr erreicht oder überschritten hatten.

Als Ausschlusskriterien wurden ein Diabetes mellitus, Fieber am Untersuchungstag, orale Kontrazeption (Einnahme der „Pille“), Schwangerschaft oder Stillzeit, Unverträglichkeit gegenüber einem der Bestandteile der Studienmedikation, Niereninsuffizienz (Kreatinin > 2,5 ULN) sowie größere Hautläsionen im Injektionsgebiet, die durch eine Injektion verschlechtert werden oder zu einer Beeinträchtigung der Wirkung des Studienmedikaments führen könnten, festgelegt.

2.3.2. Nebenniereninsuffizienzregister und Patientenrekrutierung

Die Teilnehmer wurden aus dem Patientengut bzw. anhand des Nebenniereninsuffizienzregisters des Schwerpunktes Endokrinologie der Universitätsklinik Würzburg rekrutiert. Das Nebenniereninsuffizienzregister umfasst über 150 Patienten mit chronischer primärer NNI. Die Kontaktaufnahme erfolgte vor

allem telefonisch und im Rahmen von routinemäßigen Ambulanzbesuchen am Schwerpunkt Endokrinologie der Universitätsklinik Würzburg. Alle interessierten Patienten wurden mündlich über den Studienverlauf informiert und erhielten eine schriftliche Patienteninformation. Bei Interesse an einer Studienteilnahme wurden zunächst die Ein- und Ausschlusskriterien anhand einer mündlichen Befragung und vorliegender Patientenakten des Schwerpunktes Endokrinologie überprüft. Anschließend wurden mit den potentiellen Studienpatienten Termine vereinbart. In einem persönlichen Aufklärungsgespräch hatten die Patienten erneut die Möglichkeit Fragen zu stellen, die Ein- und Ausschlusskriterien wurden neuerlich überprüft und die Einwilligungserklärung durch den Patienten und die Studienärztin unterzeichnet.

2.4. Studienablauf

Ein Flussdiagramm zum gesamten Studienablauf findet sich in Abbildung 5.

2.4.1. Die Untersuchungstage (Studien- und Kontrollintervention)

Nach einer mündlichen und schriftlichen Information zum Studienverlauf wurden die teilnehmenden Studienpatienten zu drei Untersuchungstagen an den Schwerpunkt Endokrinologie der Universitätsklinik in Würzburg einbestellt. Eine schriftliche Einwilligungserklärung wurde am ersten Untersuchungstag unterzeichnet.

Vor Beginn der Studienintervention am ersten Untersuchungstag wurden die Ein- und Ausschlusskriterien erneut überprüft und bei allen prämenopausalen weiblichen Studienteilnehmerinnen ein Schwangerschaftstest zum Ausschluss einer Schwangerschaft durchgeführt. Es folgte eine ausführliche Anamneseerhebung sowie eine internistische körperliche Untersuchung aller Organsysteme. Zusätzliche Vorerkrankungen und Auffälligkeiten der körperlichen Untersuchung wurden in einem Dokumentationsbogen/*Case Report Form* (CRF) festgehalten.

Die Studienpatienten bekamen ein Studientagebuch und die Instruktion alle Auffälligkeiten, die in Zusammenhang mit den Studieninterventionen stehen könnten, darin zu notieren.

Weiter bekamen die Patienten die Anweisung, ihre Standardsubstitutionstherapie mit Glucocorticoiden an den Untersuchungstagen zu unterbrechen. Hydrocortison sollte am Morgen der Untersuchungstage pausiert und erst am Ende der jeweiligen

Studienintervention eingenommen werden. Alle sonstigen Medikamente konnten wie immer eingenommen werden. Die Patienten mussten nicht nüchtern erscheinen und konnten auch im Verlauf des Untersuchungstages, nicht jedoch direkt vor oder zum Zeitpunkt einer Probenentnahme, Essen und Trinken.

An allen drei Untersuchungstagen wurde vor Beginn der Studienintervention eine venöse Verweilkanüle am Unterarm gelegt.

Bei jedem Studienpatienten erfolgte am ersten Untersuchungstag die s.c. Kontrollintervention mit physiologischer NaCl-Lösung. Dabei wurde simultan zweimal 1 ml NaCl-Lösung s.c. in den Unterbauch injiziert. Am zweiten und dritten Untersuchungstag erfolgte abwechselnd die s.c. und i.m. Verabreichung von Hydrocortison. Bei der s.c. Verabreichung wurde simultan zweimal 1 ml Hydrocortison in den Unterbauch appliziert. Bei der i.m. Verabreichung wurden 2 ml Hydrocortison in die laterale Oberschenkelmuskulatur injiziert. Alle Injektionen wurden standardisiert durch die Studienkoordinatoren durchgeführt.

Nach den jeweiligen Injektionen wurden die Injektionsorte, direkt nach Injektion und nach 240 min, photographisch dokumentiert.

Am letzten Untersuchungstag erhielten die Patienten einen Fragebogen zum bisherigen Krankheitsverlauf und den Studieninterventionen. Des Weiteren erhielten die Patienten einen frankierten Rücksendeumschlag mit der Bitte, das Studientagebuch drei Tage nach der letzten Studienintervention zurück zu senden.

2.4.2. Probenentnahme

Die Proben wurden zu den Zeitpunkten -10, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180 und 240 min nach der jeweiligen Studienintervention entnommen (Abbildung 4).

Zur Bestimmung von Cortisol im Serum erfolgte die Blutentnahme (in Serumröhrchen) zu allen festgelegten Zeitpunkten. Zur Bestimmung von Cortisol im Speichel erfolgte die Entnahme von Speichelproben ebenfalls zu allen festgelegten Zeitpunkten. Die Studienpatienten wurden zuvor über die korrekte Abgabe von Speichelproben informiert. Die Wattebausche mussten für mehrere Sekunden eingespeichelt werden. Dazu sollten die Wattebausche so lange in einer Backetasche der Patienten verbleiben, bis diese gut durchnässt waren. Die Blutentnahmen zur Bestimmung von ACTH im

Plasma erfolgten zu den Zeitpunkten -10, 0, 10, 45, 75, 120, 150, 180 und 240 min. Bei den für die Probenentnahme verwendeten Röhrchen handelte es sich um EDTA-Röhrchen. Da das ACTH zu den instabilen Peptidhormonen gehört, wurden die für die ACTH-Bestimmung entnommenen Probenröhrchen direkt nach der Entnahme auf Eis gelagert, schnellst möglich in das zuständige Labor der Universitätsklinik transportiert und innerhalb von 30 min zentrifugiert.

Alle Blut- und Speichelproben wurden für 5 min bei 4000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Direkt im Anschluss erfolgte die Bestimmung der Cortisol- und ACTH-Werte aus den entnommenen Blutproben. Die Speichelproben hingegen wurden nach der Zentrifugation und anschließendem Entfernen des Wattebausches bei -20 °C eingefroren und Cortisol im Speichel nach Abschluss aller Untersuchungstage bestimmt.

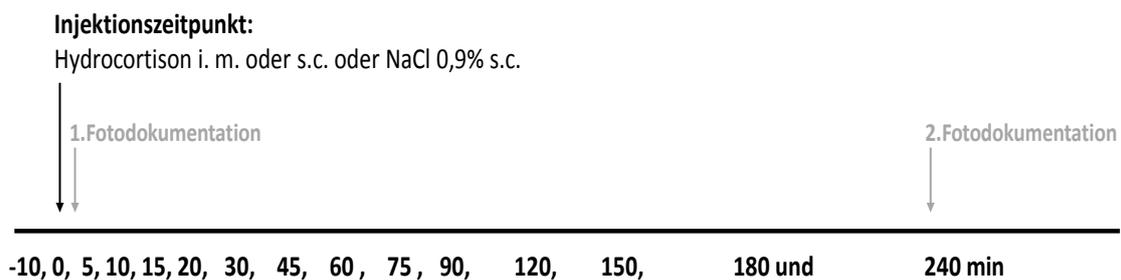


Abbildung 4: Graphische Darstellung der Probenentnahme-, Injektions- und Fotodokumentationszeitpunkte

2.4.3. Sicherheit (Dokumentation von unerwünschten Ereignissen)

Da die Studienpatienten an allen drei Untersuchungstagen ihre tägliche, morgendliche Hydrocortisoneinnahme pausieren mussten und Hydrocortison erst im Anschluss an die Untersuchung (mittags-nachmittags) einnehmen konnten, erfolgte eine teilstationäre Aufnahme der ersten drei Studienpatienten jeweils für den ersten Untersuchungstag. Dies ist besonders darauf zurückzuführen, dass am ersten Untersuchungstag die Kontrollintervention mit Kochsalzlösung stattfand, bei welcher kein Hydrocortison

appliziert wurde. Bei ausbleibenden Komplikationen wurde für alle weiteren Patienten und Untersuchungstage eine ambulante Betreuung geplant.

Da die Substitutionstherapie mit Hydrocortison an den Untersuchungstagen unterbrochen werden musste, bei der Kontrolluntersuchung mit Kochsalzlösung kein Hydrocortison appliziert wurde und die Effizienz der s.c. Applikation von Hydrocortison vorerst noch als unsichere Intervention angesehen werden musste, wurde (um Komplikationen zu vermeiden) der Beginn der Untersuchungstage auf morgens zwischen 8.00 Uhr und 11.00 Uhr festgelegt. So konnte spätestens nachmittags um 15.00 Uhr, direkt im Anschluss an die Intervention, oral Hydrocortison eingenommen werden. Den Studienpatienten wurde empfohlen noch einige Zeit bis zum Eintreten der Hydrocortisonwirkung in der Klinik zu verweilen.

Die Dokumentation unerwünschter Ereignisse (UE) erfolgte zum Zeitraum der Interventionen mit Hilfe des CRF. Es wurde das Auftreten von akuten Hautreaktionen (z. B. Rötungen und Schwellungen) und sonstigen Reaktionen (z. B. subjektive Angabe von Schmerzen durch den Studienpatient) dokumentiert. Die Injektionsorte wurden direkt nach der Injektion und nach 240 min fotografisch dokumentiert. In regelmäßigen Abständen wurden die Studienpatienten zu Beschwerden bzw. bemerkten Veränderungen, wie z. B. einer zunehmenden Müdigkeit, befragt.

Da mit Ausnahme der ersten drei teilstationär aufgenommenen Patienten die Studie in ambulanter Betreuung durchgeführt wurde, erhielten die Studienpatienten am ersten Untersuchungstag ein Studientagebuch für die Dokumentation von UE außerhalb der Klinik. Die Studienpatienten wurden am ersten Untersuchungstag über die Art der Dokumentation instruiert. Das Studientagebuch enthielt für jeden Untersuchungstag sowie die zwei darauf folgenden Tage vorgesehene Felder zur Dokumentation. Des Weiteren enthielt das Studientagebuch eine Tabelle mit einer Auflistung potentieller Nebenwirkungen (Hämatom, Rötung, Juckreiz, Schwellung, Schmerzen usw.), die von den Studienpatienten angekreuzt werden konnten. Drei Tage nach dem letzten Untersuchungstag sendeten die Studienpatienten das Studientagebuch zur abschließenden Auswertung zurück zum Studienzentrum.

Im Anschluss an den Untersuchungstag mit s.c. Injektion von Hydrocortison wurden alle Patienten am dritten und siebten Tag nach der Intervention telefonisch kontaktiert, um gezielt Beschwerden bzw. UE zu erfragen. Zusätzlich erhielten alle teilnehmenden

Studienpatienten vor Studienbeginn Kontaktdaten, um bei auftretenden UE mit der zuständigen Studienärztin in Kontakt treten zu können. Die Patienten erhielten des Weiteren die Instruktion sich beim Auftreten von UE ärztlich vorzustellen.

Alle in den CRFs dokumentierten Beschwerden und Auffälligkeiten wurden stets sofort in weitere Erfassungsbögen für unerwünschte und ernste unerwünschte Ereignisse (SUE) übertragen.

Nach der Erfassung UE wurden diese in regelmäßigen Abständen durch die Studienkoordinatoren besprochen und in ihrer Schwere bewertet. Die Bewertung erfolgte anhand der angegebenen Beschwerden nach den „*Common Terminology Criteria for Adverse Events*“ des *National Cancer Institute* (NCI) (CTCAE, Version 4.0; <http://ctep.cancer.gov/reporting/ctc.html>). UE die nicht über das NCI CTCAE definiert wurden, wurden nach der in Tabelle 1 aufgeführten Skala eingeteilt. Des Weiteren erfolgte eine Kausalitätsprüfung zwischen den aufgetretenen UE und der Studienintervention. Das Auftreten von mehr als zwei schwerwiegenden UE wurde als Abbruchkriterium definiert und hätte einen Abbruch der Studie zur Folge gehabt. Ebenso bestand für jeden Studienpatienten die Möglichkeit, zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen, seine Studienteilnahme vorzeitig zu beenden.

Tabelle 1: Übersicht zur Einteilung der UE

Grad	Schwere	Folge
1	mild	keine Einschränkungen, keine therapeutische Konsequenz
2	moderat	minimale medizinische Intervention (Therapie)
3	schwer	medizinische Intervention (Therapie), stationäre Aufnahme möglich
4	lebensbedrohend	medizinische Intervention (Therapie), stationäre Aufnahme
5	letal	Tod

2.4.4. Fragebogen

Am dritten und letzten Untersuchungstag erhielten die Studienpatienten einen Fragebogen. Die Studienpatienten hatten die Möglichkeit, den Fragebogen direkt im Anschluss an die letzte Studienintervention nach Entfernung der venösen Verweilkanüle auszufüllen.

Der Fragebogen enthielt Fragen zum bisherigen Krankheitsverlauf, zu NNK, zur Prävention von NNK und zu den einzelnen Studieninterventionen (s.c. versus i.m. Injektion). So sollte die bisherige Erfahrung mit NNK und der Prävention sowie die subjektive Präferenz der Patienten bezüglich der verschiedenen Applikationsarten erfasst werden. Der Fragebogen umfasste insgesamt 20 Fragen, wovon 19 Fragen in *Multiplechoice*-Form und eine Frage offen mit Freitextfeld gestellt waren. Die einzelnen Fragen können den Tabellen 2-6 entnommen werden.

Table 2: Fragebogen; Fragen zum bisherigen Krankheitsverlauf

Nr.	Fragen zum Krankheitsverlauf	Antwortmöglichkeiten
1.	Wie gut kommen sie aktuell mit Ihrer Nebenniereninsuffizienz zurecht?	von 1=sehr gut bis 5=sehr schlecht
2.	Fühlen Sie sich durch die Nebenniereninsuffizienz in Ihrer Freizeit eingeschränkt?	Ja oder Nein (Wenn Ja, durch Was?)
3.	In welcher Situation erhöhen Sie Ihre „Cortison-Dosis“? (Mehrfachantworten möglich)	Fieber / Infekte, beruflicher Stress, privater Stress, vor Operationen, vor sportlicher Betätigung, nie, andere (Welche?)
4.	Wie häufig passen Sie ihre tägliche Dosis „Cortison“ an?	häufig (> 1 mal / Woche), gelegentlich (> 1 mal/Monat), selten (< 1 mal/ Monat), nie

Tabelle 3: Fragebogen; Fragen zu Notfallausweis und Notfallkit

Nr.	Fragen zu Notfallausweis und Notfallkit	Antwortmöglichkeiten
5.	Besitzen sie einen Notfallausweis?	Ja oder Nein
6.	Werden Sie regelmäßig während ambulanter Kontrolltermine im „richtigen Umgang mit Belastungssituationen/Krisen“ geschult?	Ja oder Nein (Wenn ja, wie häufig?)
7.	Haben Sie eine Notfallausrüstung/ Notfall-Kit (z.B. Ampulle Hydrocortison für Injektionszwecke)?	Ja oder Nein
8.	Wurden Sie im Umgang mit einer Notfallausrüstung medizinisch geschult?	Ja oder Nein

Tabelle 4: Fragebogen; Fragen zu Nebennierenkrisen

Nr.	Fragen zu Nebennierenkrisen	Antwortmöglichkeiten
9.	Ist eine Nebennierenkrise vor bekannt werden Ihrer Nebennierenerkrankung aufgetreten?	Ja oder Nein
10.	Haben Sie im bisherigen Verlauf Ihrer Erkrankung eine Nebennierenkrise erlitten?	Ja oder Nein (Wenn ja, wie oft?)
11.	In welchen Situationen sind solche Krisen aufgetreten, nachdem Ihre Nebennieren-Erkrankung bereits bekannt war?	Fieberhafter Infekt, Magen-Darm- Infekt, Operation, Vergessen der „Cortison“- Präparat-Einnahme, Unfall, sehr starke körperliche Aktivität, Harnwegsinfekt, Absetzen der Medikamente durch einen Arzt, Absetzen der Medikamente durch eigene Entscheidung, psychischer Stress, nicht bekannt, sonstige Situationen (Welche?)
12.	Wie oft haben Sie eine notfallmäßige Gabe eines „Cortison-Präparates“ in Form einer Spritze oder Infusion benötigt, nachdem die Erkrankung bei Ihnen bekannt war?	noch nie, einmal, zweimal, dreimal, viermal, häufiger (bitte angeben)

Table 5: Fragebogen; Fragen zur Eigeninjektion von Hydrocortison

Nr.	Fragen zur Eigeninjektion von Hydrocortison	Antwortmöglichkeiten
13.	Haben Sie sich schon einmal selbst in einer Notfallsituation „Cortison“ injiziert?	Ja oder Nein (Wenn ja, wie?)
14.	Wenn nein, würden Sie sich nach entsprechender Schulung ein „Cortison-Präparat“ in einer Notfallsituation spritzen?	Ja oder Nein
15.	Würde es Ihnen ein „Gefühl von Sicherheit“ geben, wenn Sie wüssten, dass Sie sich in Notfallsituationen selbst Cortison injizieren könnten?	Ja oder Nein
16.	Meinen Sie dadurch eine verbesserte Lebensqualität erreichen zu können (weil Sie dann z.B. eher bereit wären eine Auslandsreise anzutreten)?	Ja oder Nein

Table 6: Fragebogen; Fragen zur Studienteilnahme

Nr.	Fragen zur Studienteilnahme	Antwortmöglichkeiten
17.	Wie haben Sie die Untersuchungstage bzw. die verschiedenen Verabreichungsarten empfunden?	Freifeld für Kommentare
18.	Haben Sie nach der Verabreichung der „Cortison- Präparate“ Veränderungen an sich bemerkt?	Ja oder Nein (Wenn ja, Angabe im Dokumentationsbogen)
19.	Käme es für Sie, nach Teilnahme an dieser Studie, in Frage sich selbst Hydrocortison in einer Notfallsituation zu spritzen?	Ja oder Nein
20.	Wie würden Sie sich das „Cortison-Präparat“ lieber spritzen?	in den Muskel (intramuskulär), unter die Haut (subkutan) am Bauch

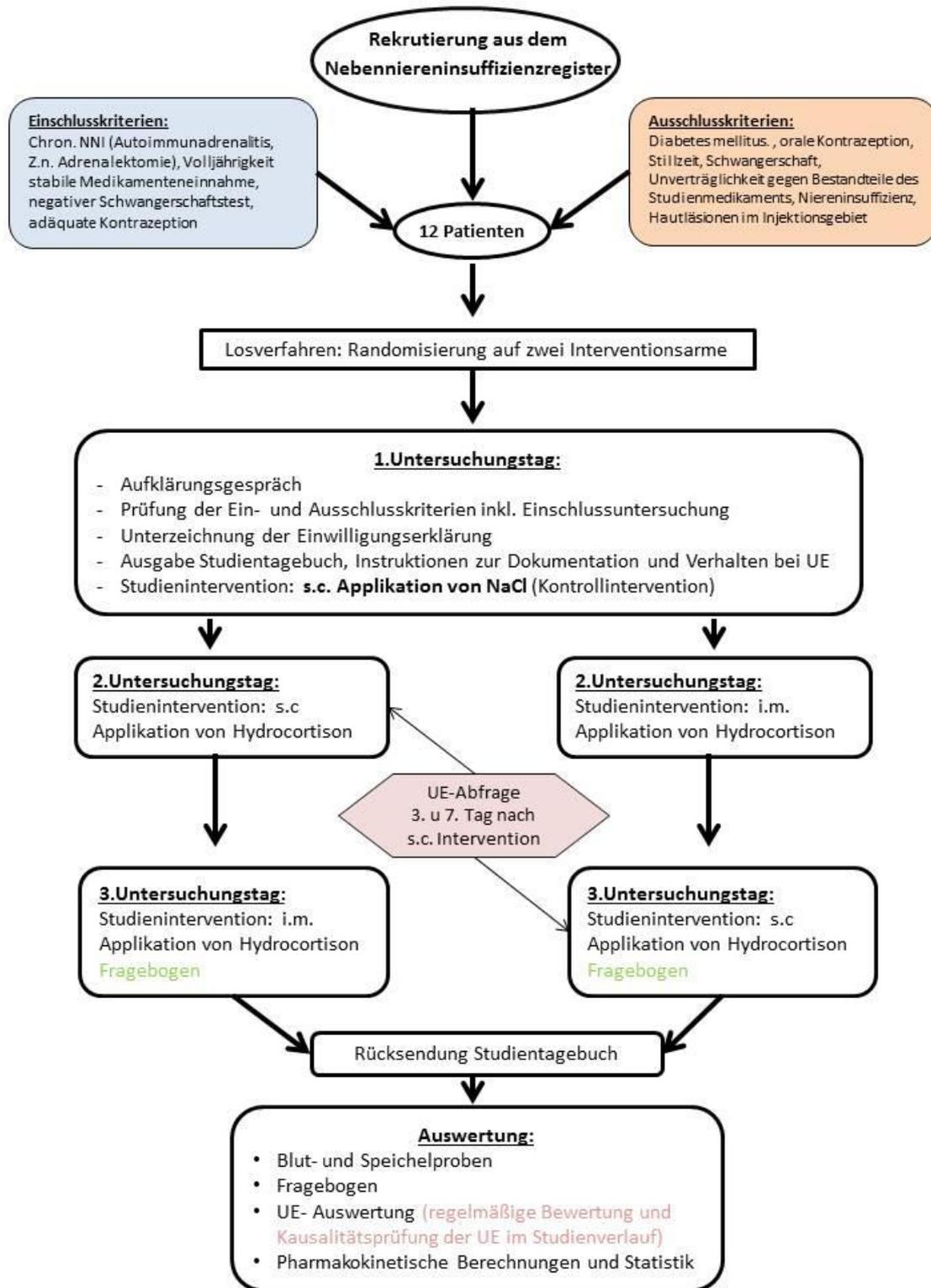


Abbildung 5: Schematische Übersicht über den gesamten Studienablauf von der Patientenrekrutierung bis zur Datenauswertung

2.5. Laborbestimmungen

2.5.1. ACTH und Cortisol (Serum- und Speichelcortisol)

Die Bestimmung von Cortisol erfolgte in Serum und Speichel. Die Ergebnisse der Serum- und Speichelcortisolbestimmung wurden in der Einheit $\mu\text{g/dl}$ erfasst. Die Bestimmung von ACTH erfolgte aus dem Blutplasma. Die Ergebnisse der ACTH-Bestimmung wurden in der Einheit nmol/l angegeben. Die Bestimmung von Cortisol im Serum und Speichel sowie die Bestimmung von ACTH wurden mit Hilfe eines Lumineszenzimmunoassays durchgeführt. Die ACTH- und Serumcortisolwerte wurden mit dem Immulite 2000 von Siemens (Immunoassay-Analyseautomat) ermittelt.

2.5.2. Lumineszenzimmunoassay

Die Bestimmung von Cortisol aus dem Speichel erfolgte mit Hilfe eines kompetitiven Lumineszenzimmunoassays.

Bei den verwendeten Kits (IBL, Chargennummer: LCO 256, LCO 262) wurde darauf geachtet, dass sie eine der beiden genannten Chargennummern aufwiesen. Vor jeder Verwendung wurde das Haltbarkeitsdatum überprüft. Die verwendeten Materialien bzw. Komponenten des Kits sind in den Tabellen 7 und 8 angegeben.

Nach Zentrifugation und Entfernung des Wattebausches wurden die Speichelcortisolproben bei -20 Grad Celsius eingefroren und zur Bestimmung wieder aufgetaut. Anschließend wurden die Speichelcortisolproben mit Hilfe eines Vortexers durchmischt und erneut bei 2500 rpm für 4 min zentrifugiert. Im Rahmen der Testvorbereitung wurden alle Testreagenzien auf einen Mischer gelegt und dort bis zur jeweiligen Verwendung belassen.

Der Test wurde mit jeweils 50 μl der Standards, Kontrollen und Speichelproben durchgeführt, welche in die entsprechenden Wells der Mikrotiterplatte pipettiert wurden. Um den Pipettierfehler zu minimieren, wurden Doppelbestimmungen durchgeführt. Das Pipettierschema kann Abbildung 6 entnommen werden. Anschließend wurden mit Hilfe einer Multiplex-Eppendorf-Pipette 100 μl Enzymkonjugat in jedes Well pipettiert. Die unbekannte Menge des Antigens (Cortisol im Speichel) in der Probe und die bekannte Menge an enzymkonjugiertem Antigen (Enzymkonjugat) konkurrierten hierbei um die Bindungsstellen, der an die Mikrotiterplatte gebundenen Antikörper.

Tabelle 7: Auflistung der verschiedenen Komponenten des verwendeten KITS

MENGE	KOMPONENTE	SYMBOL
1 x 12 x 8	Mikrotiterplatte Beschichtet mit anti-Cortisol Antikörpern (Kaninchen), weiß gefärbt.	MTP
1 x 10 ml	Enzymkonjugat Gelb gefärbt. Gebrauchsfertig. Enthält Cortisol (chromatographisch gereinigt), konjugiert mit HRP, Stabilisatoren.	ENZCONJ
1 x 2,5 ml 1 x 6 x 0,5 ml	Standard A-G Gebrauchsfertig. Enthält Cortisol, Puffer, 0,1% BSA, 0,01% ProClin, Konzentrationen: 0; 0,03; 0,06; 0,20; 0,60; 1,50; 4,00 µg/dl.	CAL A-G
2 x 0,5 ml	Kontrolle 1+2 Gebrauchsfertig. Enthält Cortisol, niedrig und hoch konzentriert, Puffer, 0,1% BSA, 0,01% ProClin.	CONTROL 1+2
2 x 3 ml	Chemilumineszenzreagenz 1+2 Gebrauchsfertig. Reagenz 1: enthält Luminol-Verstärker. Reagenz 2: enthält Peroxidlösung, Stabilisatoren.	LUMINREAG 1+2
1 x 50 ml	Waschpuffer Konzentrat (10 x) Enthält: Phosphatpuffer, Tween, Stabilisatoren.	WASHBUF CONC
2 x	Haftklebefolie	FOIL

Tabelle 8: Auflistung der zusätzlich verwendeten Materialien, welche nicht im KIT enthalten sind

MATERIAL	ERGÄNZENDE INFORMATION
Pipetten	Volumina: 5; 20; 50; 100; 1000 µl
Multipette Eppendorf	Volumina: 25 und 50 µl
Vortex-Mischer	X
Mikropipette	8-Kanal Mikropipette mit Reagenziengefäßen
Waschflasche	Flasche mit 450ml bidestilliertem Wasser zur Herstellung der Waschlösung
Luminometer	Lumineszenz Immunoassay-Messgerät, VICTOR
Zusätzliche Kontrolle 3	Hergestellt aus klinikinternem Repertoire
Weitere Materialien	Papiertücher, Pipettenspitzen, Stoppuhr, Alufolie

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	A	E	K ₂	4	8	12	16	20	24	28
B	A	E	K ₂	4	8	12	16	20	24	28
C	B	F	1	5	9	13	17	21	25	29
D	B	F	1	5	9	13	17	21	25	29
E	C	G	2	6	10	14	18	22	26	30
F	C	G	2	6	10	14	18	22	26	30
G	D	K ₁	3	7	11	15	19	23	27	K ₃
H	D	K ₁	3	7	11	15	19	23	27	K ₃

Abbildung 6: Darstellung des Pipettierschemas auf der Mikrotiterplatte. Doppelbestimmungen der Wells A-G beinhalten Standard A-G. Doppelbestimmungen der Wells K1, K2 und K3 beinhalten die drei Kontrollen. Doppelbestimmungen der Wells 1-30 beinhalten die Speichelproben der Patienten.

Die Mikrotiterplatte wurde anschließend mit einer Haftklebefolie und Alufolie abgedeckt und vorsichtig von Hand geschüttelt. Es folgte eine Inkubationszeit von drei Stunden bei Raumtemperatur. Während der Inkubationszeit erfolgte die Herstellung des Waschpuffers und der Substratlösung-Mischung. Dazu wurde der Waschpuffer 1:10 mit destilliertem Wasser (Spüllösung, Firma Braun) verdünnt und die Chemilumineszenz-Reagenzien 1 + 2 im Verhältnis 1:1 gemischt. Nach der Inkubationszeit und dem Entfernen der Schutzfolie wurde die Inkubationslösung verworfen und die Mikrotiterplatte vier Mal mit je 250 µl vorbereitetem Waschpuffer gewaschen. Hierbei wurde nicht gebundenes Enzymkonjugat entfernt. Die restliche Flüssigkeit wurde zwischenzeitlich auf Papiertüchern ausgeklopft. Anschließend wurden in der gleichen zeitlichen Verzögerung, mit welcher anschließend die Messungen durchgeführt wurden (ca. 2 Sekunden), je 50 µl der vorbereiteten Lumineszenz-Substratlösung in jedes Well pipettiert. Nach 10 Minuten erfolgte die Bestimmung der relativen Lumineszenzeinheiten und die elektronische Berechnung der Cortisolwerte im Speichel in der Einheit µg/dl mit dem Luminometer. Die Intensität der Lumineszenz war dabei umgekehrt proportional zur Antigenkonzentration (Cortisolkonzentration) in den Proben. Die Ergebnisse wurden anhand der Standardkurve durch ein entsprechendes Computerprogramm bestimmt. Anschließend konnten die Standardkurve betrachtet, die Kontrollen verglichen und die Ergebnisse abgelesen werden.

Bei einer unzureichenden Menge an Speichel, konnte in einzelnen Fällen keine Bestimmung durchgeführt werden. Nicht messbare Speichelcortisolwerte, bei zu niedrigem Cortisol im Speichel (1. Untersuchungstag), wurden mit dem Wert 0 angegeben. Bei nicht messbaren Speichelcortisolwerten (durch sehr hohe Werte an Cortisol im Speichel am 2. und 3. Untersuchungstag) oder Werten oberhalb des vorgegebenen Messbereiches von 4,0 µg/dl, wurden die Messungen mit einer Verdünnung von 1:4, 1:20 oder 1:30 wiederholt. Die Verdünnungen erfolgten mit dem Standard A / Nullstandard.

2.5.3. Immunoassay-Analyseautomat

Die Bestimmung von Cortisol im Serum und ACTH im Blutplasma erfolgte mit Hilfe des Immulite 2000 der Firma Siemens (Immunoassay-Analyseautomat). Bei dem Immulite 2000 handelt es sich um ein automatisches Analysesystem zur Durchführung

von Chemilumineszenz-Immunoassays. In festgelegten regelmäßigen Abständen erfolgen dokumentierte Wartungen bzw. Qualitätskontrollen. Für alle ACTH-Bestimmung der Studie wurde stets das gleiche Kit verwendet. Vor jedem Einsatz des Kits erfolgte eine Kalibrierung.

Nach Zentrifugation der Blutproben wurde in die verwendeten EDTA-Röhrchen ein Stempel eingeführt, um die korpuskulären Blutbestandteile abzutrennen. Die Serumröhrchen wiederum enthielten bereits spezielle Kügelchen (beschichtetes Granulat und Polyacrylester Gel), durch welche die korpuskulären Bestandteile nach Zentrifugation bereits abgesunken am Boden vom Serum getrennt wurden. Aus dem Serum bzw. dem Blutplasma erfolgte die Bestimmung von Cortisol bzw. ACTH mit dem Immulite 2000. Für die Bestimmung von ACTH aus dem Plasma wurden mindestens 75 µl EDTA-Plasma benötigt. Für die Bestimmung von Cortisol aus dem Serum wurden mindestens 10 µl Serum benötigt. Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 9 aufgelistet. Die einzelnen Schritte der automatischen Analyse durch den Immulite können der Tabelle 10 entnommen werden.

Im Anschluss konnten die Ergebnisse abgelesen werden. Proben, welche Cortisolwerte von größer gleich 50 µg/dl aufwiesen wurden verdünnt. Die Verdünnung erfolgte automatisch mit einem speziellen Verdünnungsreagenz in einem 1:5 Verhältnis (siehe Tabelle 9). ACTH-Werte von kleiner gleich 5 nmol/l wurden in der Auswertung mit dem Wert 0 gleichgesetzt. Proben deren Messung ACTH-Werte größer gleich 1250 nmol/l ergaben, wurden verdünnt. Die Verdünnung erfolgte in einem Verhältnis von 1:10 mit einem Verdünnungsreagenz, hergestellt aus mehreren Patientenseren (n=20) mit nachgewiesenen ACTH-Werten kleiner gleich 5 nmol/l.

Tabelle 9: Übersicht über verwendete Materialien; Immulite 2000

Materialien Cortisol-Bestimmung	Materialien ACTH-Bestimmung
Cortisol-Kugeln (Polystyrolkugel beschichtet mit polyklonalem anti-human Cortisol-Antikörpern vom Hase)	ACTH-Kugeln (Polystyrolkugel beschichtet mit monoklonalen anti-human ACTH-Mausantikörpern)
Cortisol-Reagenzbehälter (Alkalische Phosphatase konjugiert mit Cortisol in einem Puffer mit Konservierungsmittel)	ACTH-Reagenzbehälter (2 Reagenzien: Proteinpuffer/Serummatrix und polyklonale ACTH-Kaninchenantikörper mit alkalischer Phosphatase konjugiert in Puffer mit Konservierungsmittel)
Cortisol-Kalibratoren	ACTH-Kalibratoren
Chemolumineszenz-Substratmodul	Chemolumineszenz-Substratmodul
Waschmodul	Waschmodul
Reaktionsgefäße	Reaktionsgefäße
Multikontrolle (3 Konzentrationen)	ACTH-Kontrollmodul
Destilliertes Wasser	Destilliertes Wasser
Verdünnungsreagenz (Multiverdünnung 1; konzentriertes, prozessiertes normales Humanserum, mit nicht nachweisbarem Gehalt an Cortisol, DHEA-SO ₄ , PAP, Progesteron, Testosteron, Gesamt T ₃ , Gesamt T ₄ und Troponin I)	Verdünnungsreagenz (hergestellt aus Patientenseren mit nachgewiesenen ACTH-Werten kleiner gleich 5 nmol/l)
Teströhrchen und Röhrchenverschlüsse für die Verdünnung	

Tabelle 10: Übersicht über die automatisch durchgeführten Schritte des Immulite 2000 zur Bestimmung von Cortisol und ACTH

Automatischer Bearbeitungsschritt durch den Immulite 2000	
1.	Zugabe einer assayspezifischen Polystyrolkugel, beschichtet mit spezifischen Antikörpern, zum Reaktionsgefäß.
2.	Pipettieren der Probe, der assayspezifischen Reagenz und Wasser auf die Polystyrolkugel.
3.	Bewegen des Reaktionsgefäßes in den Inkubationsbereich (Inkubation bei 37 Grad Celsius und anhaltendem Schütteln des Reaktionsgefäßes).
4.	Waschen des Reaktionsgefäßes.
5.	Hinzufügen des Substrates (Emission von Licht durch die chemilumineszente Reaktion).
6.	Messung der emittierten Lichtmenge mit Hilfe eines Photoverstärkers (Lichtmenge ist proportional zur Menge der ursprünglich in der Probe vorhandene Analysesubstanz).
7.	Berechnung und Drucken der Testergebnisse.

2.6. Datenschutz

Alle Patienten wurden mit Hilfe einer schriftlichen Patienteninformation schriftlich und mündlich von der Prüffärztin aufgeklärt. Die Patienten hatten ausreichend und insgesamt immer mindestens 24 Stunden Bedenkzeit. Am Ende des Aufklärungsgesprächs wurde die Einwilligungserklärung inklusive Datenschutzerklärung von dem teilnehmenden Studienpatienten und der Prüffärztin unterzeichnet.

Während der Prüfung wurden erhobene Befunde in der Prüfstelle handschriftlich in den CRFs festgehalten und elektronisch gespeichert. Die Speicherung der für die klinische Studie wichtigen Daten sowie die Auswertung und Weitergabe von Daten erfolgte ausschließlich pseudonymisiert. Jedem Patienten wurde vor Beginn der Studie eine Patientenidentifikationsnummer zugeteilt. Ausschließlich die Studienkoordinatoren hatten die Möglichkeit, den Nummern den jeweiligen Patienten zu zuordnen.

Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der personenbezogenen Daten war unwiderruflich. Die Teilnahme an der Studie konnte jedoch jederzeit, auch ohne Angabe von Gründen, durch die teilnehmenden Patienten beendet werden.

2.7. Datenauswertung

Die Datenanalyse erfolgte in erster Linie deskriptiv.

Es wurden die Geschwindigkeiten des Anstieges der gemessenen Cortisolspiegel nach s.c. und i.m. Injektion von Hydrocortison und nach s.c. Injektion von Kochsalzlösung (Kontrollintervention) verglichen. Der Vergleich erfolgte für die gemessenen Serum- und Speichelcortisolwerte.

Die Hypothese war einen relevanten, als sicher erachteten Wirkspiegel von Cortisol im Serum innerhalb einer Zeit von 30 min zu erreichen. Die Höhe des als sicher erachteten Wirkspiegels wurde auf eine Serumcortisolkonzentration von $c=36 \mu\text{g/dl}$ festgelegt. Diese Konzentration entspricht der doppelten Konzentration an Cortisol im Serum, die bei der Durchführung eines routinemäßigen ACTH-Tests (z. B. im Rahmen der Nebenniereninsuffizienzdiagnostik), als Zeichen einer suffizienten Nebennierenfunktion angesehen wird ($c=18 \mu\text{g/dl}$).

Ebenso wurde der zeitliche Verlauf der an den drei verschiedenen Studieninterventionstagen gemessenen ACTH-Werte verglichen.

Des Weiteren erfolgte, bezüglich der Geschwindigkeit des Anstieges der gemessenen Serumcortisolkonzentrationen, ein Gruppenvergleich zwischen den Studienpatienten mit einem Body-Mass-Index (BMI) von $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ und $> 25 \text{ kg/m}^2$, für die s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison.

Die graphische Darstellung für ACTH- und Cortisolspiegel aufgetragen gegen die Zeit [min] erfolgte mit Microsoft Excel sowie mit SigmaPlot (Systat Software Inc).

Die Patientenzufriedenheit gegenüber den verschiedenen Applikationsarten wurde anhand des Fragebogens, ebenfalls mit Hilfe von Microsoft Excel, tabellarisch und graphisch ausgewertet.

Die Auswertung der aufgetretenen UE erfolgte anhand der CRF-Dokumentation und der Studientagebücher bzw. den speziellen Bögen für UE und SUE. Es erfolgte ein Vergleich der UE zwischen s.c. und i.m. Applikation, hinsichtlich der Häufigkeit und der Art der Beschwerden.

Die Berechnung der pharmakokinetischen Daten erfolgte mit Microsoft Excel. Folgende pharmakokinetische Daten wurden, für die Serumcortisolwerte nach s.c. und i.m. Injektion von Hydrocortison, erhoben bzw. berechnet (siehe auch Tabelle 11):

C_{\max} , C_{\min} , C_{av} , t_{\max} , $t_{>36\mu\text{g/dl}}$, AUCt, MRT, $t_{1/2}$, *fluctuation*.

Tabelle 11: *Analysierte pharmakokinetische Parameter*

Symbol	Einheit	Bedeutung
C_{\max}	$\mu\text{g/dl}$	Maximale Serumcortisolkonzentration nach Applikation von Hydrocortison innerhalb 240 min
C_{\min}	$\mu\text{g/dl}$	Minimale Serumcortisolkonzentration nach Applikation von Hydrocortison innerhalb 240 min
C_{av}	$\mu\text{g/dl}$	Durchschnittliche Cortisolkonzentration im Blut über 240 min
t_{\max}	min	Zeitpunkt der maximalen Serumcortisolkonzentration innerhalb 240 min nach Applikation von Hydrocortison
$t_{>36\mu\text{g/dl}}$	min	Zeit bis zum Erreichen einer Serumcortisolkonzentration von 36 $\mu\text{g/dl}$ nach Applikation von Hydrocortison
AUCt		Area under the curve, Fläche unter der Kurve (Kurve der Serumcortisolkonzentrationen nach Gabe von Hydrocortison zu verschiedenen Zeitpunkten bis 240 min nach Applikation)
MRT	min	Mean residence time, Mittlere Verweildauer
$t_{1/2}$	h	Halbwertszeit nach maximaler Serumcortisolkonzentration
fluctuation		Fluktuation, Schwankung $(C_{\max}-C_{\min})/C_{\text{av}}$

Die Werte C_{\max} , C_{\min} , C_{av} , t_{\max} , $t_{>36\mu\text{g/dl}}$ konnten anhand der Serum- / Speichel-Konzentrationskurven abgelesen werden.

Die Berechnung der $\text{AUC}_{0-240\text{min}}$ erfolgte mit Hilfe der Trapezregel. Zunächst wurden hierfür die gemessenen Cortisolwerte (y-Werte) gegen die Zeit (x-Werte) aufgetragen und die Fläche unter der Kurve in mehrere Trapeze unterteilt. Durch eine Flächenberechnung der einzelnen Trapeze und Addition der einzelnen berechneten Flächen konnte die $\text{AUC}_{0-240\text{min}}$ bestimmt werden.

Die Berechnung der MRT erfolgte durch Division der *Area under the moment curve* (AUMC) durch die $AUC_{0-240\text{min}}$. Die AUMC wurde wiederum mit Hilfe der oben beschriebenen Trapezregel bestimmt. Hierbei wurde jedoch das Produkt der Substanzkonzentration c und der Zeit t ($c \cdot t$) gegen die Zeit (t) aufgetragen und die darunter liegende Fläche berechnet.

Für die Berechnung der Halbwertszeit wurde zunächst die Eliminationskonstante (k_e) bestimmt. Folgende Formel wurde für die Berechnung der Eliminationskonstanten angewendet: $k_e = (\ln(C1) - \ln(C2)) / \Delta t$. Für die Konzentration 1 ($C1$) wurde die maximale Konzentration an Cortisol nach Injektion und für die Konzentration 2 ($C2$) der Folgewert von $C2$ verwendet. Für die anschließende Berechnung der Halbwertszeit wurde folgende Formel verwendet: $t_{1/2} = \ln(2) / k_e$.

2.8. Statistische Analyse

Für die statistische Datenauswertung wurde die Software PASW Statistics 20 (IBM SPSS, IBM Corp.) verwendet.

Um die Pharmakokinetik der s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison zu vergleichen wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Die Ergebnisse werden als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (STABW) angegeben. Das 95%-Konfidenzintervall, Minimum, Maximum und P-Werte wurden berechnet. Unterschiede im Gruppenvergleich (i.m. versus s.c.) wurden bei einem p-Wert von kleiner 0,05 ($p < 0,05$) als signifikant bewertet.

Diese statistische Auswertung wurde für die gemessenen Serumcortisolwerte für die pharmakokinetischen Parameter C_{\max} , C_{\min} , C_{av} , t_{\max} , $t_{>36\mu\text{g/dl}}$, AUC_t , MRT, $t_{1/2}$ und *fluctuation* durchgeführt. Für die bestimmten Speichelcortisolwerte erfolgte lediglich die statistische Auswertung der Parameter C_{\max} , C_{av} , t_{\max} , AUC_t , MRT und $t_{1/2}$. Die statistische Auswertung für den Vergleich der Patientengruppen mit einem $BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$ und einem $BMI > 25 \text{ kg/m}^2$, erfolgte für die s.c. und die i.m. Injektion von Hydrocortison für die pharmakokinetischen Parameter C_{\max} , C_{av} , t_{\max} , AUC_t , MRT und $t_{1/2}$.

Um den Einfluss des BMI auf die pharmakokinetischen Parameter zu untersuchen, wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson durchgeführt.

2.9. Qualität der Studie und Studienmonitoring

Alle Dokumentationen wurden regelmäßig durch die Studienkoordinatoren kontrolliert und auf Plausibilität überprüft. Ebenso wurden die Studienpatienten regelmäßig zu Ein- und Ausschlusskriterien befragt. Entsprechend der GCP-Leitlinien (CPMP/ICH/135/95) werden alle Daten für mindestens 10 Jahre archiviert. Ein externes Studienmonitoring wurde von der Zentrale für Klinische Studien (ZKS) in Würzburg durchgeführt. Im Rahmen von vier Monitoringterminen wurden Formalitäten und alle Ergebnisse und Übertragungen der Ergebnisse auf ihre Richtigkeit und Plausibilität überprüft. Alle Monitoringberichte werden ebenfalls für mindestens 10 Jahre archiviert.

2.10. Selbstversuch

Um die s.c. Hydrocortisonapplikation hinsichtlich ihrer Effizienz und Sicherheit vorab zu evaluieren, wurde ein Selbstversuch mit drei an der Studie beteiligten nebennierengesunden Personen (P1, P2, P3) durchgeführt.

Die Untersuchung begann um 18.00 Uhr abends, so dass auch bei nebennierengesunden Personen physiologischer Weise niedrige basale Cortisolspiegel erwartet werden konnten. Zunächst wurde eine venöse Verweilkanüle im Bereich der Ellenbeuge gelegt. Es folgte eine Blutabnahme sowie die Entnahme einer Speichelprobe zum Zeitpunkt 0 min vor Applikation. Im Anschluss wurden 25 mg Hydrocortison (von Pfizer) in 0,5 ml Lösungsmittel gelöst und s.c. in den Unterbauch injiziert. Weitere Proben wurden zu den Zeitpunkten 7 ½, 15, 22 ½, 30, 45 und 60 min zur Bestimmung von Cortisol im Serum und Speichel entnommen. Zur Dokumentation möglicher UE erfolgte eine Fotodokumentation zu den Zeitpunkten 1 min, 60 min und 24 Stunden.

Die Auswertung und graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Microsoft Excel.

3. ERGEBNISSE

3.1. Selbstversuch

In dem vor Studienbeginn durchgeführten Selbstversuch zeigte sich nach s.c. Applikation von 25 mg Hydrocortison ein Anstieg der Serum- und Speichelcortisolkonzentration, ohne dass UE beobachtet werden konnten.

Es kam zu dem erwarteten deutlichen Anstieg von Cortisol im Serum (Abbildung 7; MW \pm STABW; C_{\max} $46,7 \pm 6,7 \mu\text{g/dl}$) und Speichel (Abbildung 8; MW \pm STABW; C_{\max} $4 \pm 1,1 \mu\text{g/dl}$). Spätestens 30 min nach s.c. Applikation konnte bei allen drei Probanden ein Anstieg von Cortisol im Serum über $36 \mu\text{g/dl}$ beobachtet werden (Abbildung 7; MW \pm STABW; $t_{>36\mu\text{g/dl}}$ $25 \pm 8,7 \text{ min}$). Die s.c. Applikation von Hydrocortison wurde gut vertragen. Es kam zu keinen sichtbaren lokalen Reaktionen. Lediglich ein leichtes, wenige Minuten anhaltendes „Brennen“ am Injektionsort kurz nach Injektion, wurde von zwei der teilnehmenden Personen (P1, P2) bemerkt.

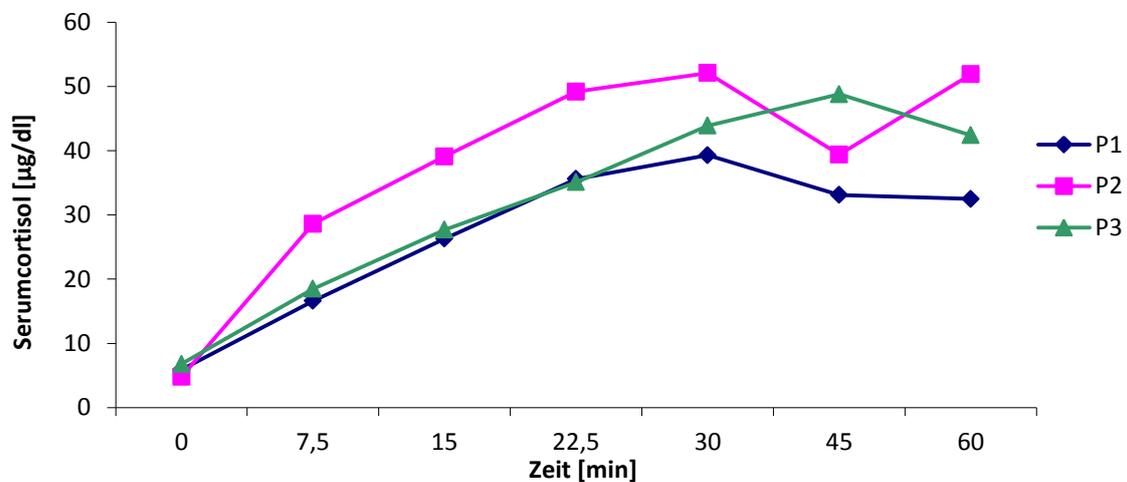


Abbildung 7: Selbstversuch; Serumcortisol aufgetragen gegen die Zeit

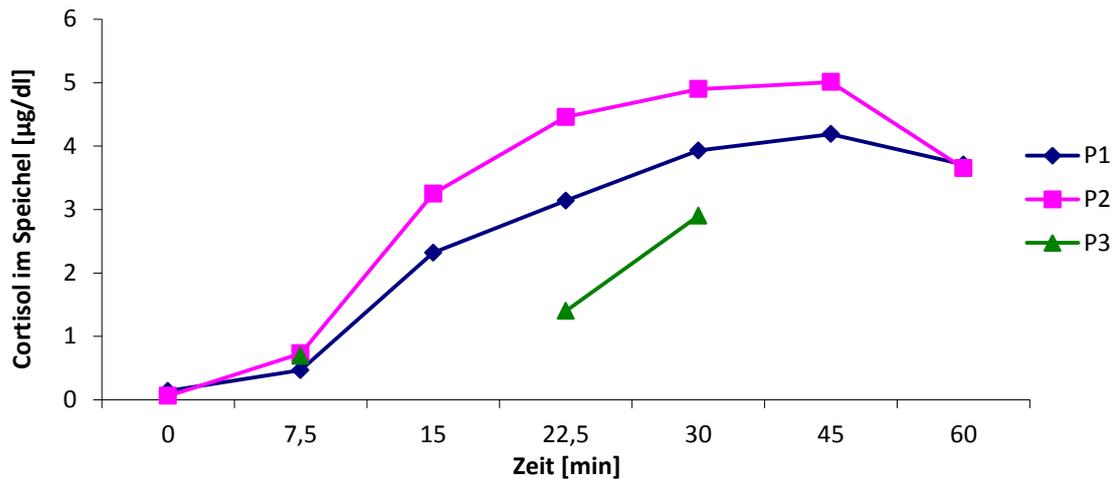


Abbildung 8: Selbstversuch; Speichelcortisol aufgetragen gegen die Zeit

3.2. Die Studienpatienten

3.2.1. Alters- und Geschlechtsverteilung

Von den zwölf teilnehmenden Studienpatienten waren sieben weiblich und fünf männlich. Die Geschlechterverteilung erfolgte zufällig. Der Median des Patientenalters belief sich auf 47,5 Jahre. Der jüngste Studienpatient war zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 29 Jahre, der älteste Patient 62 Jahre alt. Folglich ergibt sich eine Spannweite von 33 Jahren. Angaben zu BMI und Körperoberfläche (KOF) der Studienpatienten können Tabelle 12 entnommen werden.

Tabelle 12 : Demographische Patientendaten in der Übersicht (n=12)

Median (Spannweite)	
Alter [a]	47,5 (29 – 62)
Geschlecht	
weiblich	n = 7
männlich	n = 5
BMI [kg /m²]	26,3 (20,8 – 29,8)
KOF [m²]	1,9 (1,6 – 2,2)

BMI: Body Mass Index, KOF: Körperoberfläche

3.2.2. Daten zur Nebenniereninsuffizienz

Die Erstdiagnose einer primären NNI lag bei Studieneinschluss bei allen zwölf Studienpatienten mindestens 1 Jahr zurück. Alle Studienpatienten litten an einem autoimmun bedingten Morbus Addison. Im Rahmen ihrer Substitutionstherapie nahmen alle Studienpatienten zum Studienzeitpunkt oral Hydrocortison, in einer täglichen Dosis zwischen 15 und 30 mg, ein. Zusätzlich nahmen elf der Patienten Fludrocortison in einer Dosis zwischen 0,05 und 0,15 mg ein (Patient 1, 2, 4-12). Eine Patientin nahm zusätzlich DHEA ein (Patient 2). Alle Patienten gaben ein gutes Allgemeinbefinden und Zufriedenheit gegenüber der Einstellung ihrer Substitutionstherapie an. Eine Übersicht zum Krankheitsverlauf und der Substitutionstherapie befindet sich in Tabelle 13.

Tabelle 13: Ursache, Krankheitsdauer und Substitutionstherapie der NNI

	Median (Spannweite)
Ursache der NNI	
M. Addison	n=12
Krankheitsdauer [Jahre]	11 (1 - 42)
Hydrocortisondosis / d [mg] n=12	22,5 (15 - 30)
Fludrocortison /d [mg] n=11	0,09 (0,05 - 0,15)
DHEA n=1	10 mg (3 x / Woche)

3.2.3. Körperlicher Status (Untersuchungsbefunde)

Alle durchgeführten körperlichen Untersuchungen zu Beginn der Studie erwiesen sich hinsichtlich einer möglichen Studienteilnahme als unauffällig. Die Auskultation von Herz und Lunge sowie die Herzfrequenz und die Blutdruckmessung nach Riva-Rocci erwiesen sich als nicht pathologisch (siehe Tabelle 14). Die Injektionsorte im Bereich des unteren Abdomens und des rechten Oberschenkels wurden inspiziert. Keiner der

Patienten wies bedenkliche Hautläsionen auf. Zeichen eines fieberhaften Infekts wurden an jedem Untersuchungstag erfragt.

Tabelle 14: Im Rahmen der körperlichen Untersuchung erfasste Parameter

	MW ± STABW
HF [Herzschläge / min]	72 ± 10
RR [mmHg]	
diastolisch	79 ± 7
systolisch	115 ± 18

MW: Mittelwert, STABW: Standardabweichung, HF: Herzfrequenz, RR: Blutdruck

3.2.4. Begleiterkrankungen und Medikamente

Zusätzlich zu der im Fokus dieser Studie stehenden primären NNI hatten einige der Patienten weitere Begleiterkrankungen. Neun der Studienpatienten waren an einem PAS erkrankt (Tabelle 15). Neben der Autoimmunadrenalitis waren sieben Patienten an einer Hashimoto-Thyreoiditis erkrankt (Tabelle 15). Deshalb bestand bei diesen Patienten eine medikamentöse Dauertherapie mit L-Thyroxin (Median, Spannweite; 125 µg/d, 50-175). Des Weiteren waren zwei der weiblichen Probandinnen an einer primären Ovarialinsuffizienz erkrankt (Patient 5, Patient 9). Eine Hormontherapie mit Östrogenen bestand zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses nicht. Bei einem weiteren Patienten zeigte sich zusätzlich eine Vitiligo (Patient 11). Eine Übersicht über weitere das Endokrinum betreffende Erkrankungen findet sich in Tabelle 15 und 16.

Tabelle 15: Übersicht über weitere das Endokrinum betreffende Erkrankungen

Patienten (n=12)	
PAS	n=9
PAS II	n=8
mit Hashimoto-Thyreoiditis	n=7
mit primärer Ovarialinsuffizienz	n=2
PAS mit	
Z.n. Autoimmunhyperthyreose	n=2
Typ Basedow	
Vitiligo	n=1

PN: Patientenummer, PAS: polyglanduläres Autoimmunsyndrom

Tabelle 16: Individuelle Patientenübersicht zu endokrinologischen Begleiterkrankungen

Patient	PAS	HATY	POI	VI
1	X	X		
2	X			
3		X		
4				
5	X		X	
6	X			
7	X	X		
8	X	X		
9	X	X	X	
10				
11	X	X		
12	X	X		X

PAS: polyglanduläres Autoimmunsyndrom, HATY: Hashimoto-Thyreoiditis, POI: primäre Ovarialinsuffizienz, VI: Vitiligo

3.3. Pharmakokinetik

3.3.1. Cortisol-Werte

Die am ersten Untersuchungstag durchgeführte s.c. Applikation von NaCl ergab, wie zu erwarten, bei allen zwölf teilnehmenden Studienpatienten niedrige bzw. unter der Nachweisgrenze liegende Serumcortisolwerte (Abbildung 9). Acht Patienten zeigten keine nachweisbare Serumcortisolkonzentration. Vier der Patienten zeigten hingegen

eine sehr geringe Restproduktion von Cortisol. Bei Ihnen konnten Serumcortisolwerte zwischen 1,1 und 2 $\mu\text{g}/\text{dl}$ beobachtet werden (Abbildung 9).

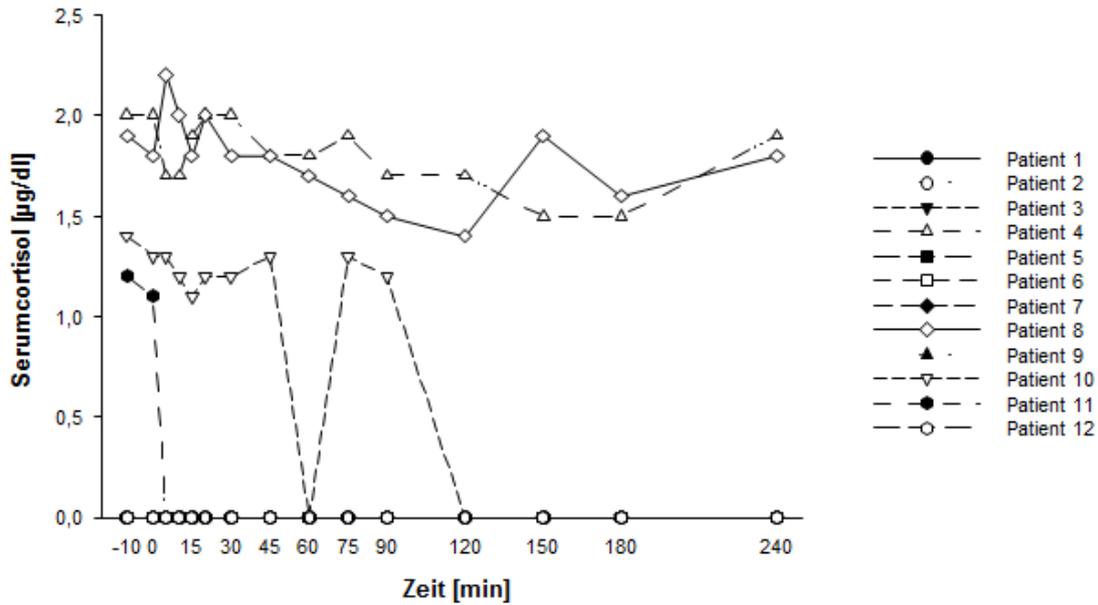


Abbildung 9: Individuelle Serumcortisolkonzentrations-Zeit-Kurven nach s.c. Gabe von NaCl

Die Messung der Speichelcortisolkonzentrationen nach s.c. Applikation von NaCl am 1. Untersuchungstag ergab ebenfalls sehr niedrige oder unterhalb der Nachweisgrenze liegende Werte für Cortisol im Speichel. Der niedrigste messbare Wert betrug 0,002 $\mu\text{g}/\text{dl}$, der höchste gemessene Wert 0,28 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Des Weiteren konnten bei zwei der zwölf Patienten (Patient 6, Patient 12) jeweils zwei Speichelcortisolwerte und bei einem Patienten (Patient 7) drei Speichelcortisolwerte nicht bestimmt werden, da die Patienten eine unzureichende Menge an Speichel abgaben. Bei Patient 6 handelte es sich um die Speichelproben der Zeitpunkte -10 und 5 min. Bei Patient 7 handelte es sich um die Speichelproben der Zeitpunkte 15, 30 und 60 min. Bei Patient 12 handelte es sich um die Speichelproben der Zeitpunkte 45 und 60 min. Die Ergebnisse der Speichelcortisolbestimmungen sind in Abbildung 10 graphisch dargestellt.

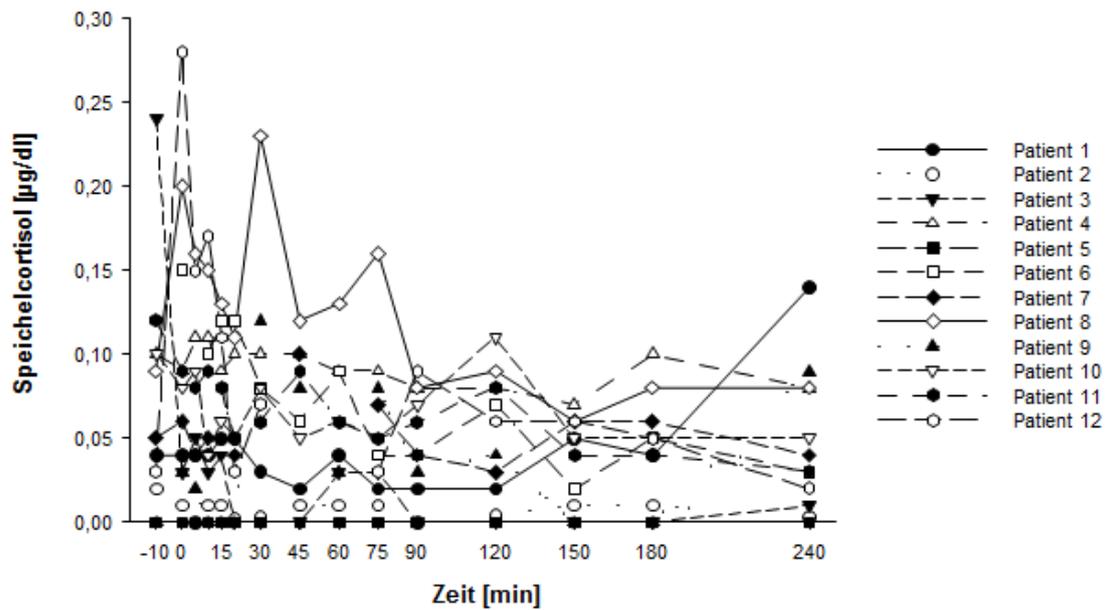


Abbildung 10: Individuelle Speichelcortisolkonzentrations-Zeit-Kurven nach s.c. Gabe von NaCl

Sowohl die Serum- als auch die Speichelcortisolkonzentrationen lagen am ersten Untersuchungstag bei allen Patienten unterhalb des Normwertbereichs (Abbildung 9 und 10). In Tabelle 17 ist die durchschnittliche Restproduktion von Cortisol durch die nebenniereninsuffizienten Patienten dargestellt.

Tabelle 17: Mittelwert und Standardabweichung aller (-10 bis 240 min) gemessenen Cortisolwerte im Serum und Speichel am 1. Untersuchungstag (Kontrollintervention mit NaCl)

	MW ± STABW
Serumcortisolkonzentration [µg/dl]	0,4 ± 0,7
Speichelcortisolkonzentration [µg/dl]	0,06 ± 0,05

MW: Mittelwert ; STABW: Standardabweichung

Am zweiten und dritten Untersuchungstag wurden die Serum- und Speichelcortisolwerte nach s.c. und i.m. Applikation von 100 mg Hydrocortison bestimmt.

Nach i.m. Applikation von Hydrocortison konnte ein deutlicher und schneller Anstieg der Cortisolwerte im Serum und im Speichel gemessen werden. Der maximale Wert nach i.m. Injektion von Hydrocortison wurde bei 177 $\mu\text{g/dl}$ Cortisol im Serum gemessen (Patient 2). Der niedrigste bestimmte maximale Wert ergab eine Serumcortisolkonzentration von 67,3 $\mu\text{g/dl}$ (Patient 5). Siehe auch Abbildung 11.

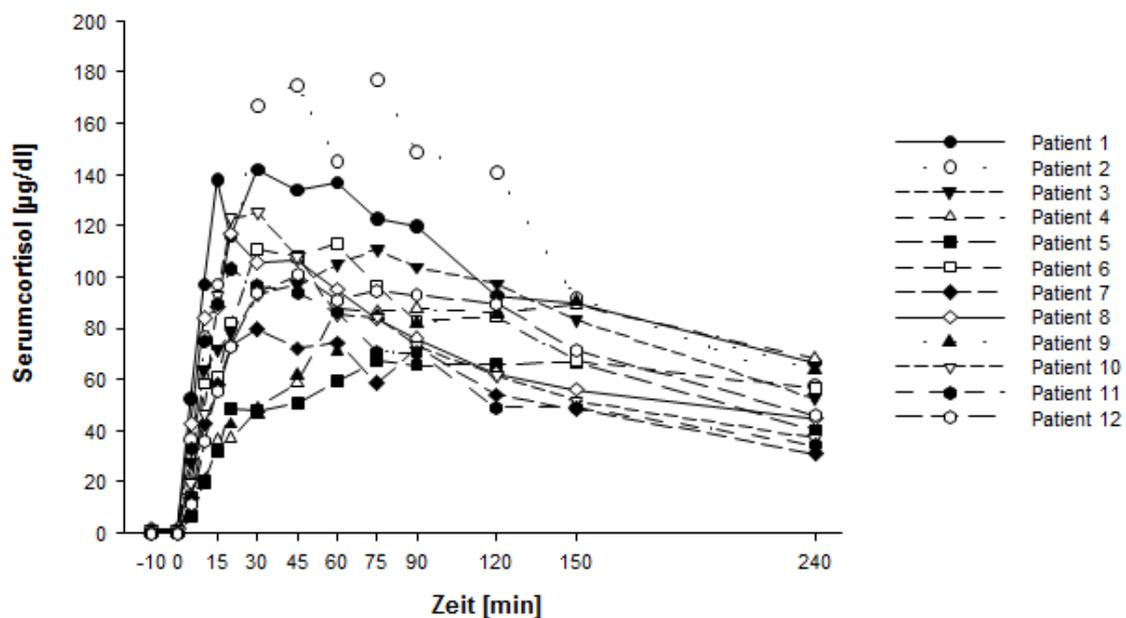


Abbildung 11: Individuelle Serumcortisolprofile aufgetragen gegen die Zeit nach i.m. Gabe von Hydrocortison

Auch nach s.c. Applikation von Hydrocortison konnte bei allen Patienten ein deutlicher Anstieg der Cortisolkonzentration im Serum und Speichel beobachtet werden. Nach s.c. Injektion von Hydrocortison ergab der höchste, bei einem Patienten gemessene Wert eine Serumcortisolkonzentration von 153 $\mu\text{g/dl}$ (Patient 2). Der niedrigste maximale Wert nach s.c. Applikation von Hydrocortison erreichte 50,9 $\mu\text{g/dl}$ (Patient 7). Siehe auch Abbildung 12.

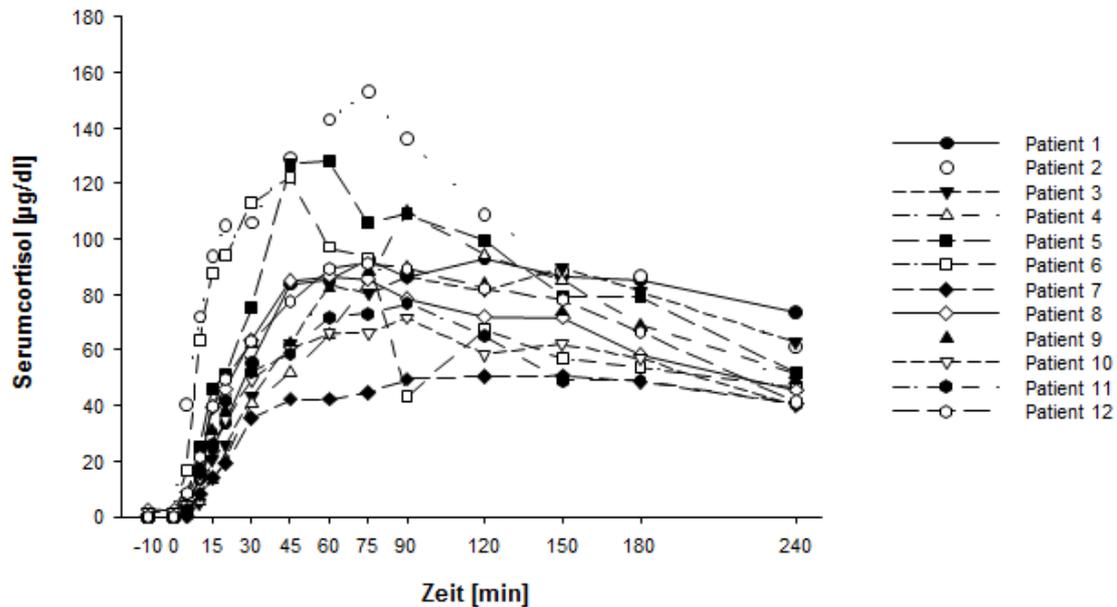


Abbildung 12: Individuelle Serumcortisolprofile aufgetragen gegen die Zeit nach s.c. Gabe von Hydrocortison

Sowohl nach i.m. als auch s.c. Applikation von Hydrocortison konnte demnach ein deutlicher Anstieg von Cortisol beobachtet werden (MW \pm STABW von C_{\max} [$\mu\text{g}/\text{dl}$] i.m. versus s.c.; $109,9 \pm 29,2$ versus $96,8 \pm 27,5$). Alle Patienten zeigten, sowohl nach i.m. als auch nach s.c. Applikation, einen Anstieg der Serumcortisolkonzentration über die als sicher erachtete Grenze von $36 \mu\text{g}/\text{dl}$. Im Vergleich zur s.c. Gabe erfolgte nach i.m. Injektion von Hydrocortison der Anstieg der Cortisolkonzentration über den als sicher erachteten Wert von $36 \mu\text{g}/\text{dl}$ (MW \pm STABW von $t_{>36/\mu\text{g}/\text{dl}}$ [min] i.m. versus s.c. $10,8 \pm 5,2$ versus $22,1 \pm 11,2$; $p=0,004$) um ungefähr 11 min schneller. So erreichten alle Patienten nach i.m. Gabe von Hydrocortison die Grenze von $36 \mu\text{g}/\text{dl}$ nach spätestens 30 min, wohingegen nach s.c. Gabe ein Patient diesen Wert erst nach 45 min erreichte.

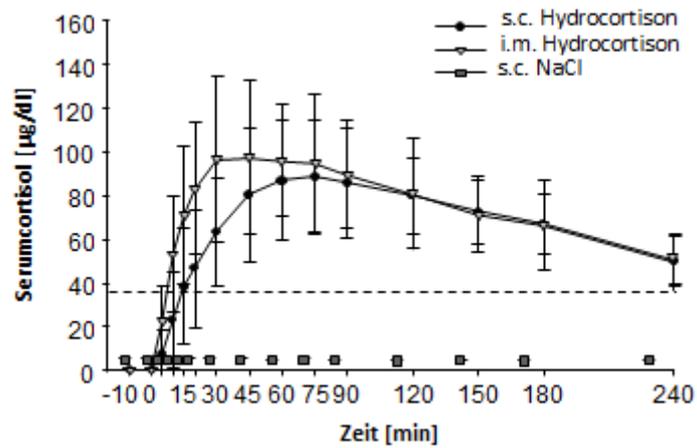
Auch zum Zeitpunkt der letzten Probenentnahme, 240 min nach Applikation, zeigten alle Patienten noch immer deutlich erhöhte Werte an Cortisol im Serum (C_{av} [$\mu\text{g}/\text{dl}$] i.m. versus s.c.; $74,8 \pm 20$ versus $60,8 \pm 17,1$; $p=0,078$). Hierbei zeigt sich, dass nach s.c. Applikation alle Patienten auch 240 min nach Verabreichung noch eine

Serumcortisolkonzentration von über 36 µg/dl aufwiesen. Nach i.m. Applikation war die Serumcortisolkonzentration jedoch bei zwei Patienten (Patient 7 und 11) zu diesem Zeitpunkt (240 min) bereits wieder unter die Grenze von 36 µg/dl abgefallen (Patient 7: 31 µg/dl; Patient 11: 34,4 µg/dl).

Auch anhand der gemessenen Speichelcortisolwerte war nach i.m. und s.c. Applikation von Hydrocortison ein Anstieg der Cortisolkonzentration bei beiden Verabreichungsarten zu beobachten. Beim Vergleich der beiden Verabreichungsarten konnte eine Diskrepanz in der Geschwindigkeit des Cortisolanstieges beobachtet werden, mit einem schnelleren Anstieg der Speichelcortisolkonzentration nach i.m. Gabe (t_{\max} [µg/dl] i.m. versus s.c.; $51,3 \pm 27,5$ versus $73,8 \pm 21,7$; $p=0,036$). Ebenso wurde nach i.m. im Vergleich zur s.c. Gabe eine durchschnittlich höhere Speichelcortisolkonzentration erreicht (C_{av} [µg/dl] i.m. versus s.c.; $27,9 \pm 10,5$ versus $19,6 \pm 8,5$; $p=0,046$).

Der Zeitverlauf der durchschnittlichen Serum- bzw. Speichelcortisolkurven nach i.m. und s.c. Hydrocortisonapplikation, können den Abbildungen 13 a-b entnommen werden.

a



b

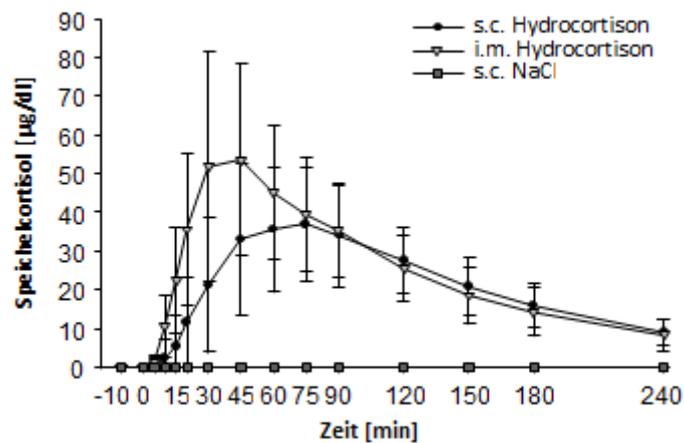


Abbildung 13: Durchschnittliche Cortisolwerte nach s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison im Vergleich; s.c. Applikation von NaCl als Kontrolle; (a) Serum- und (b) Speichelcortisolkonzentration aufgetragen gegen die Zeit; die gestrichelte Linie zeigt die als sicher erachtete Grenze von 36 µg/dl Cortisol im Serum.

Zum statistischen Vergleich der beiden Verabreichungsarten wurde eine einfaktorielle ANOVA sowohl für die bestimmten Serum- als auch für die Speichelcortisolwerte durchgeführt (Tabelle 18 und 19).

Nach i.m. Applikation von Hydrocortison konnten keine signifikant höheren maximalen und durchschnittlichen Serumcortisolwerte erreicht werden (C_{\max} i.m. versus s.c. $p=0,27$; C_{av} i.m. versus s.c. $p=0,078$). Auch der Anstieg der Serumcortisolkonzentration bzw. die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumcortisolkonzentration nach i.m. Gabe von Hydrocortison war nicht signifikant unterschiedlich (t_{\max} i.m. versus s.c. $p=0,165$). Die Zeit bis zum Erreichen des als sicher erachteten Wirkspiegels von $36 \mu\text{g}/\text{dl}$ war jedoch nach i.m. Gabe von Hydrocortison mit $10,8 \pm 5,2$ min im Vergleich zu $22,1 \pm 11,2$ min nach s.c. Gabe von Hydrocortison signifikant kürzer ($p=0,004$).

Der Vergleich der $\text{AUC}_{0-240 \text{ min}}$ ($p=0,318$) wies, wie die Halbwertszeit ($p=0,9$) und die MRT ($p=0,116$) keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Verabreichungsarten auf. Allerdings zeigte sich nach s.c. Gabe von Hydrocortison, wenn auch nicht signifikant, eine im Durchschnitt etwas längere mittlere Verweildauer im Serum ($119,1 \pm 10,2$ min nach s.c. Gabe versus $112,1 \pm 10,5$ min nach i.m. Gabe von Hydrocortison). Die Fluktuation der Serumcortisolkonzentration um die mittlere Serumcortisolkonzentration war nach s.c. Applikation, im Vergleich zur i.m. Gabe, signifikant höher ($1,5 \pm 0,2$ nach s.c. Gabe versus $1,2 \pm 0,2$ nach i.m. Gabe von Hydrocortison; $p=0,02$). Schwankungen der Serumcortisolkonzentrationen sind demzufolge nach s.c. Applikation deutlicher.

Tabelle 18: Pharmakokinetische Kenngrößen in der Übersicht, Serumcortisol nach s.c. versus i.m. Applikation von Hydrocortison

	MW±STABW	CI 95%	MIN	MAX	P
C_{max} [µg/dl]					
i.m.	109,9 ± 29,2	91,4 – 128,5	67,3	177,0	0,270
s.c.	96,8 ± 27,5	79,34 – 114,3	50,9	153,0	
C_{av} [µg/dl]					
i.m.	74,8 ± 20,0	62,1 – 87,5	48,8	117,1	0,078
s.c.	60,8 ± 17,1	79,3 – 71,7	34,4	101,9	
t_{max} [min]					
i.m.	65,8 ± 51,3	33,3 – 98,4	20	180	0,165
s.c.	91,3 ± 33,5	70,0 – 112,5	45	150	
t_{>36µg/dl} [min]					
i.m.	10,8 ± 5,2	7,6 – 14,1	5	20	0,004
s.c.	22,1 ± 11,2	15,0 – 29,2	5	45	
AUC₀₋₂₄₀[µg/dl*min]					
i.m.	17997,3±4332,3	15244,7–20749,9	12789	28207	0,318
s.c.	16335,5±3608,2	14043,0–18628,1	10208	24244	
MRT [min]					
i.m.	112,1 ± 10,5	105,5 – 118,8	100,4	130,8	0,116
s.c.	119,1 ± 10,2	112,6 – 125,6	99,7	131,1	
t_{1/2} [h]					
i.m.	2,2 ± 1,5	1,3 – 3,1	1,0	6,4	0,9
s.c.	4,7 ± 4,7	1,7 – 7,7	0,8	16,6	
fluctuation					
i.m.	1,2 ± 0,2	1,1 – 1,3	0,8	1,4	0,02
s.c.	1,5 ± 0,2	1,4 – 1,6	1,1	2,0	

C_{max}: maximale Serumcortisolkonzentration; C_{av}: durchschnittliche Serumcortisolkonzentration; t_{max}: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumcortisolkonzentration; t_{>36µg/dl}: Zeit bis zum Erreichen einer Serumcortisolkonzentration von 36 µg/dl; AUC₀₋₂₄₀: Area under the curve 0 bis 240 min; MRT: Mean residence time; t_{1/2}: Halbwertszeit; MW: Mittelwert; STABW: Standardabweichung, CI: Konfidenzintervall, MIN: minimaler Wert; MAX: maximaler Wert; p-Wert: p < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet und fett markiert. Die statistische Auswertung erfolgte anhand einer einfaktoriellen ANOVA.

Beim Vergleich der im Speichel bestimmten Cortisolkonzentrationen nach i.m. und s.c. Gabe von Hydrocortison zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied (p=0,065) der maximal erreichten Serumcortisolkonzentrationen. Die durchschnittliche Konzentration von Cortisol im Speichel über 240 Minuten war jedoch nach i.m. Gabe von Hydrocortison signifikant höher (C_{av} [µg/dl] i.m. versus s.c.; 27,9 ± 10,5 versus 19,6 ± 8,5; p=0,046). Hier zeigte sich bei den Ergebnissen der

Speichelcortisolauswertung eine deutlichere Diskrepanz zwischen s.c. und i.m. Verabreichungsart. Ebenso signifikant war die kürzere Dauer bis zum Erreichen der maximalen Speichelcortisolkonzentration nach i.m. Applikation (t_{\max} [$\mu\text{g}/\text{dl}$] i.m. $51,3 \pm 27,5$ min versus s.c. $73,8 \pm 21,7$ min; $p=0,036$). Die $\text{AUC}_{0-240 \text{ min}}$ und die Halbwertszeit waren, in Übereinstimmung mit den Serumcortisolwerten, für beide Verabreichungsarten nicht signifikant unterschiedlich. Die MRT ergab bei der Auswertung der Speichelcortisolwerte, einen deutlicheren und signifikanten ($p=0,006$) Unterschied zwischen beiden Verabreichungsarten, mit einer längeren MRT nach s.c. Gabe (MRT [min] i.m. $91,3 \pm 17,8$ versus s.c. $110,2 \pm 12,3$).

Tabelle 19: Pharmakokinetische Kenngrößen in der Übersicht; Speichelcortisol nach s.c. versus i.m. Applikation von Hydrocortison

	MW \pm STABW	CI 95%	MIN	MAX	P
C_{max} [$\mu\text{g}/\text{dl}$]					
i.m.	$58,7 \pm 26,0$	42,2 – 75,2	24,5	111,2	0,065
s.c.	$41,3 \pm 16,9$	30,6 – 52,1	16,3	69,3	
C_{av} [$\mu\text{g}/\text{dl}$]					
i.m.	$27,9 \pm 10,5$	21,2 – 34,5	13,7	49,4	0,046
s.c.	$19,6 \pm 8,5$	14,2 – 25,0	8,1	37,0	
t_{max} [min]					
i.m.	$51,3 \pm 27,5$	33,8 – 68,7	30	120	0,036
s.c.	$73,8 \pm 21,7$	60,0 – 87,5	45	120	
AUC₀₋₂₄₀ [$\mu\text{g}/\text{dl} \cdot \text{min}$]					
i.m.	$6177,9 \pm 2096,5$	4845,8–7509,9	3379,2	10503,5	0,238
s.c.	$5196,4 \pm 1862,8$	4012,8–6380,0	2335,6	8329,3	
MRT [min]					
i.m.	$91,3 \pm 17,8$	80,0–102,6	65,8	128,5	0,006
s.c.	$110,2 \pm 12,3$	102,4–118,0	92,0	131,3	
t_{1/2} [h]					
i.m.	$4,6 \pm 9,8$	-1,7 – 10,8	0,4	35,3	0,666
s.c.	$3,3 \pm 7,2$	1,14 – 5,4	0,7	10,7	

C_{max}: maximale Speichelcortisolkonzentration; C_{av}: durchschnittliche Speichelcortisolkonzentration; t_{max}: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Speichelcortisolkonzentration; AUC₀₋₂₄₀: Area under the curve 0 bis 240 min; MRT: Mean residence time; t_{1/2}: Halbwertszeit; MW: Mittelwert; STABW: Standardabweichung, CI: Konfidenzintervall, MIN: minimaler Wert; MAX: maximaler Wert; p: $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet und fett gedruckt. Die statistische Auswertung erfolgte anhand einer einfaktoriellen ANOVA.

Zur Beurteilung der Abhängigkeit der erreichten Cortisolkonzentrationen nach s.c. und i.m. Gabe von Hydrocortison vom BMI, wurden die Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt; eine Gruppe mit Patienten, welche einen normwertigen BMI (18-25 kg/m² bzw. ≤ 25 kg/m²) aufwiesen und eine Gruppe mit übergewichtigen Patienten (BMI > 25 kg/m²). Unter den Studienpatienten befanden sich fünf normalgewichtige (Patient 2, 5, 6, 10, 12) und sieben übergewichtige (Patient 1, 3, 4, 7, 8, 9, 11) Patienten. Der Vergleich der gemessenen Serumcortisolwerte bezogen auf den BMI zeigte nach i.m. Gabe einen ähnlichen zeitlichen Verlauf der Wirkspiegel in beiden BMI-Gruppen. Nach s.c. Gabe hingegen zeigte sich bei den übergewichtigen Patienten ein geringerer Anstieg der Serumcortisolwerte (Abbildung 14a-c).

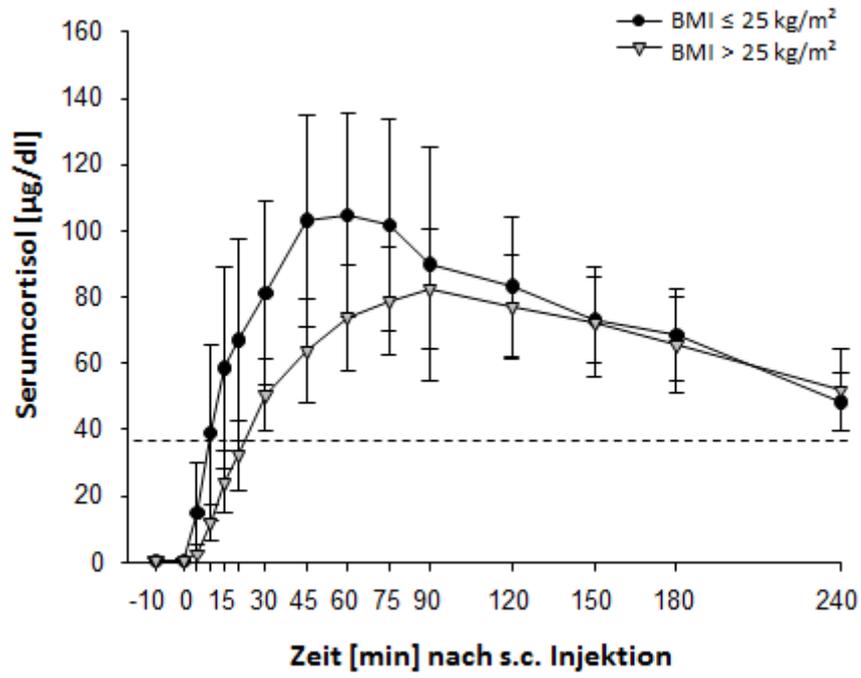
Nach s.c. Verabreichung von Hydrocortison konnte eine signifikante negative Korrelation zwischen BMI und C_{max} (r=-0,728; p=0,007), C_{av} (r =-0,745; p=0,005), AUC (r=-0,637; p=0,026) und eine positive Korrelation zwischen BMI und MRT (r = 0,776; p =0,003) beobachtet werden. Für t_{max} konnte keine signifikante Korrelation mit dem BMI der Patienten beobachtet werden (r=0,492; p=0,104).

Nach i.m. Verabreichung von Hydrocortison konnte keine signifikante Korrelation zwischen BMI und allen pharmakokinetischen Parametern festgestellt werden.

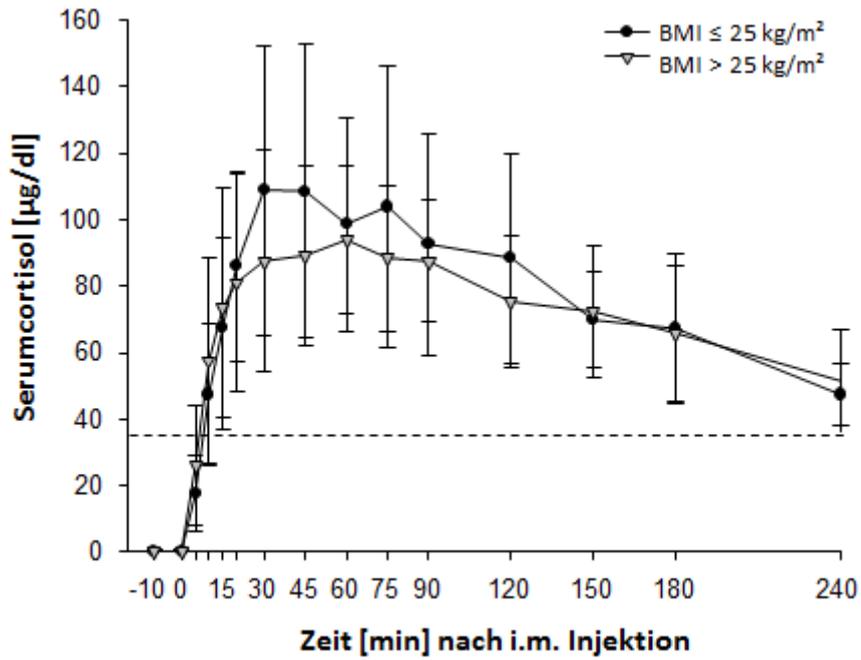
Weiter konnten beim Vergleich der pharmakokinetischen Parameter innerhalb der Patientengruppe mit einem BMI ≤ 25 kg/m² keine signifikanten Unterschiede nach s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison beobachtet werden. Demgegenüber ergab der Vergleich innerhalb der Patientengruppe mit einem BMI > 25 kg/m² signifikante Unterschiede zwischen der s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison bezüglich C_{av} (53 ± 9 µg/dl versus 73 ± 18 µg/dl, p=0,02), t_{>36 µg/dl} (27 ± 11 min versus 10 ± 5 min, p=0,002) und MRT (125 ± 6 min versus 113 ± 12 min, p=0,036).

Weiter zeigten sich nach s.c. Injektion von Hydrocortison, im Gegensatz zur i.m. Injektion, signifikante Unterschiede beim Gruppenvergleich BMI > 25 kg/m² und ≤ 25 kg/m² bezüglich t_{max} (107 ± 34 min versus 69 ± 17 min; p=0,045) und MRT (125 ± 6 min versus 110 ± 9 min; p=0,005). Eine tabellarische Darstellung findet sich in Tabelle 20 und 21.

a



b



c

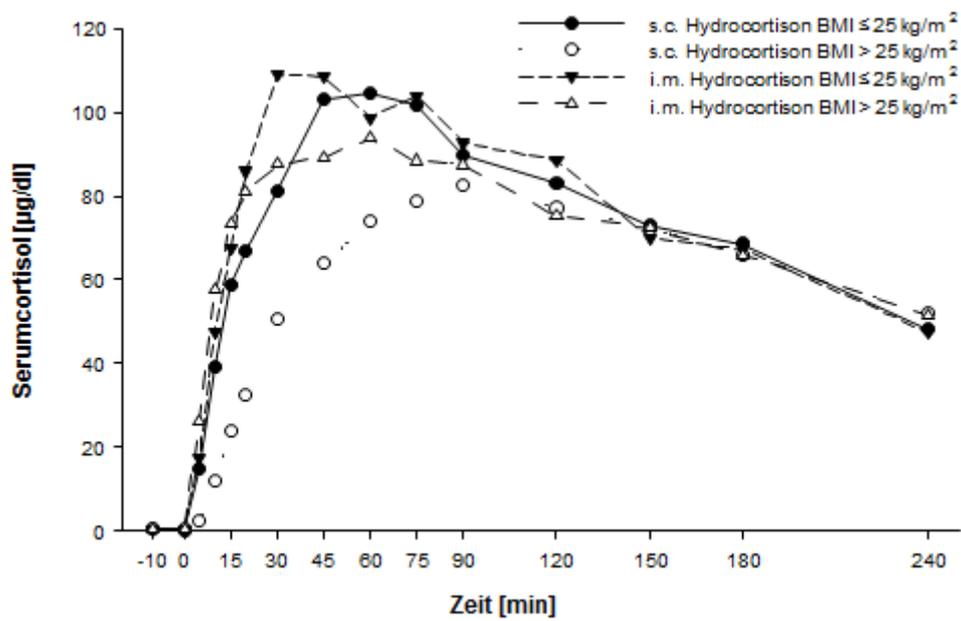


Abbildung 14a-c: Serumcortisol (MW und STABW) im Vergleich von Patienten mit einem BMI $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ versus Patienten mit einem BMI $> 25 \text{ kg/m}^2$ nach s.c. (a) und i.m. (b) Gabe von Hydrocortison. Übersicht i.m. versus s.c. BMI-Gruppen (c).

Tabelle 20: Pharmakokinetische Werte nach i.m. Injektion bei Patienten mit einem BMI > 25 kg/m² und einem BMI ≤ 25 kg/m² (Serumcortisolkonzentrationen)

	MW±STABW	CI 95%	MIN	MAX	p
C_{max} [µg/dl]					
BMI > 25 kg/m ²	105 ± 21	86 – 124	80	142	0,52
BMI ≤ 25 kg/m ²	117 ± 40	67 - 166	67	177	
C_{av} [µg/dl]					
BMI > 25 kg/m ²	73 ± 18	57 – 89	55	106	0,74
BMI ≤ 25 kg/m ²	77 ± 25	46 - 108	49	117	
t_{max} [min]					
BMI > 25 kg/m ²	72 ± 67	10 - 134	20	180	0,64
BMI ≤ 25 kg/m ²	57 ± 20	33 - 81	30	75	
AUC₀₋₂₄ [µg/dl*min]					
BMI > 25 kg/m ²	17550 ± 3532	14284 – 20816	12789	23494	0,69
BMI ≤ 25 kg/m ²	18624 ± 5663	11593 - 25655	13404	28207	
MRT [min]					
BMI > 25 kg/m ²	113 ± 12	102 – 125	102	131	0,71
BMI ≤ 25 kg/m ²	111 ± 9	100 - 121	100	123	
t^{1/2} [h]					
BMI > 25 kg/m ²	2,2 ± 0,6	-0,6 – 5,1	1,0	6,4	0,90
BMI ≤ 25 kg/m ²	2,3 ± 2,3	1,6 – 2,7	1,2	3,0	

BMI: Body-Mass-Index; C_{max}: maximale Speichelcortisolkonzentration; C_{av}: durchschnittliche Speichelcortisolkonzentration; t_{max}: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Speichelcortisolkonzentration; AUC₀₋₂₄₀: Area under the curve 0 bis 240 min; MRT: Mean residence time; t^{1/2}: Halbwertszeit; MW: Mittelwert; STABW: Standardabweichung, CI: Konfidenzintervall, MIN: minimaler Wert; MAX: maximaler Wert; p: p < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet und fett gedruckt. Die statistische Auswertung erfolgte anhand einer einfaktoriellen ANOVA.

Tabelle 21: Pharmakokinetische Parameter nach s.c. Injektion von Hydrocortison bei Patienten mit einem BMI > 25 kg/m² und ≤ 25 kg/m² (Serumcortisolwerte)

	MW±STABW	CI 95%	MIN	MAX	p
C_{max} [µg/dl]					
BMI > 25 kg/m ²	85 ± 18	69 - 102	51	110	0,08
BMI ≤ 25 kg/m ²	113 ± 32	74 - 153	72	153	
C_{av} [µg/dl]					
BMI > 25 kg/m ²	53 ± 9	44 - 62	34	63	0,05
BMI ≤ 25 kg/m ²	72 ± 20	47 - 97	47	102	
t_{max} [min]					
BMI > 25 kg/m ²	107 ± 34	76 - 139	60	150	0,045
BMI ≤ 25 kg/m ²	69 ± 17	48 - 90	45	90	
AUC₀₋₂₄ [µg/dl*min]					
BMI > 25 kg/m ²	15165 ± 2767	12606 - 17724	10208	18449	0,20
BMI ≤ 25 kg/m ²	17974 ± 4309	12624 - 23324	12977	24244	
MRT [min]					
BMI > 25 kg/m ²	125 ± 6	120 - 131	118	131	0,005
BMI ≤ 25 kg/m ²	110 ± 9	100 - 121	100	122	
t^{1/2} [h]					
BMI > 25 kg/m ²	6,0 ± 5,0	1,4 - 10,7	2,1	16,6	0,27
BMI ≤ 25 kg/m ²	2,9 ± 3,8	-1,9 - 7,7	0,8	9,8	

BMI: Body-Mass-Index; C_{max}: maximale Speichelcortisolkonzentration; C_{av}: durchschnittliche Speichelcortisolkonzentration; t_{max}: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Speichelcortisolkonzentration; AUC₀₋₂₄₀: Area under the curve 0 bis 240 min; MRT: Mean residence time; t^{1/2}: Halbwertszeit; MW: Mittelwert; STABW: Standardabweichung, CI: Konfidenzintervall, MIN: minimaler Wert; MAX: maximaler Wert; p: p < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet und fett gedruckt. Die statistische Auswertung erfolgte anhand einer einfaktoriellen ANOVA.

3.3.2. ACTH-Werte

Die nach s.c. Gabe von NaCl gemessenen ACTH-Konzentrationen im Blutplasma zeigten bei vorliegender primärer NNI unter einer Pause der Hydrocortisoneinnahme erwartungsgemäß erhöhte Werte. Elf der zwölf Studienpatienten (Patient 1-3, 5-12) hatten sehr stark erhöhte, eine Studienpatientin (Patient 4) nur leicht erhöhte Werte. Der maximal gemessene ACTH-Wert lag bei 1840 nmol/l im Plasma (Patient 11). Der geringste gemessene Maximalwert eines Patienten (Patient 4) lag hingegen bei 11,8 nmol/l im Plasma. Dieser Patient wies allerdings auch die deutlichste

Nebennierenrestfunktion auf (MW \pm STABW der Serumcortisolkonzentration am 1. Untersuchungstag: $1,8 \pm 0,2 \mu\text{g/dl}$).

Die durchschnittliche ACTH-Konzentration der teilnehmenden Studienpatienten am Kontrolltag lag bei $621,3 \pm 424,5 \text{ nmol/l}$ (Normbereich 0-46 nmol/l). Die im Rahmen der unzureichenden Cortisolsekretion bei einer primären NNI fehlende negative Rückkopplung auf Hypophyse und Hypothalamus und deren Funktionstüchtigkeit waren demnach deutlich sichtbar. Am zweiten und dritten Untersuchungstag zeigten sich zu den Zeitpunkten vor der s.c. bzw. der i.m. Applikation von Hydrocortison (-10 und 0 min) ebenfalls hohe ACTH-Spiegel.

Nach s.c. und i.m. Verabreichung von Hydrocortison konnte jedoch, durch den nun negativen Rückkopplungsmechanismus, eine deutliche Suppression der ACTH-Sekretion beobachtet werden. Zwischen den Zeitpunkten 10 und 120 min nach Injektion erfolgte ein stetiger Abfall der ACTH-Konzentration. Im Zeitraum zwischen den Zeitpunkten 120 und 240 min blieb die Suppression weiterhin bestehen. Ein Patient (Patient 5) zeigte an beiden Untersuchungstagen mit Hydrocortisongabe zu den Zeitpunkten 180 und 240 min eine so stark ausgeprägte Suppression, dass die ACTH-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze lag. Die ACTH-Suppression erreichte an beiden Untersuchungstagen ihren maximalen Effekt zum Zeitpunkt 240 min. Die maximale ACTH-Suppression erfolgt somit zeitlich versetzt zur maximalen Serumcortisolkonzentration. Eine graphische Darstellung der ACTH-Spiegel nach s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison, sowie nach s.c. Applikation von NaCl, kann Abbildung 15 entnommen werden.

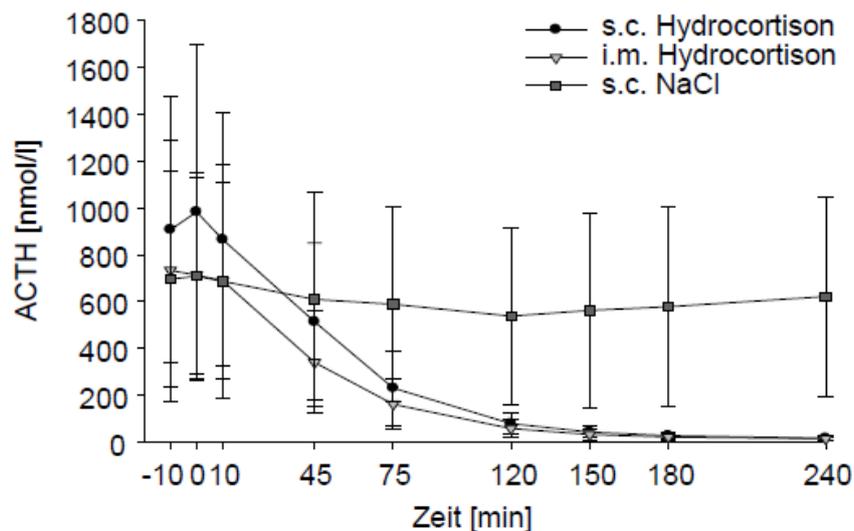


Abbildung 15: ACTH-Profile nach s.c. Applikation von NaCl, bzw. nach s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison; Plasma-ACTH-Spiegel aufgetragen gegen die Zeit

3.4. Vergleich der unerwünschten Ereignisse nach s.c. und i.m. Injektion

An keinem der drei Untersuchungstage und den darauf folgenden Tagen traten schwerwiegende unerwünschte Ereignisse auf. Es zeigten sich lediglich, sowohl nach i.m. als auch nach s.c. Injektion, milde UE. Dabei schienen die auftretenden Beschwerden vielmehr mit der Injektion an sich, als mit der verabreichten Substanz Hydrocortison in Zusammenhang zu stehen.

Am ersten Untersuchungstag nach s.c. Injektion von NaCl gaben drei Patienten (Patient 8, 9 und 10) an, direkt nach Injektion ein „Brennen“ am Injektionsort zu verspüren, welches für einige Minuten anhielt.

Beim Vergleich der s.c. und der i.m. Injektion von Hydrocortison zeigte sich, dass nach s.c. Injektion weniger Beschwerden angegeben wurden. So gaben neun Patienten (Patient 1, 2, 5 und 7-12) nach i.m. Gabe von Hydrocortison Beschwerden an und lediglich sechs Patienten (Patient 2 und 4-8) nach s.c. Gabe von Hydrocortison (siehe Abbildung 16).

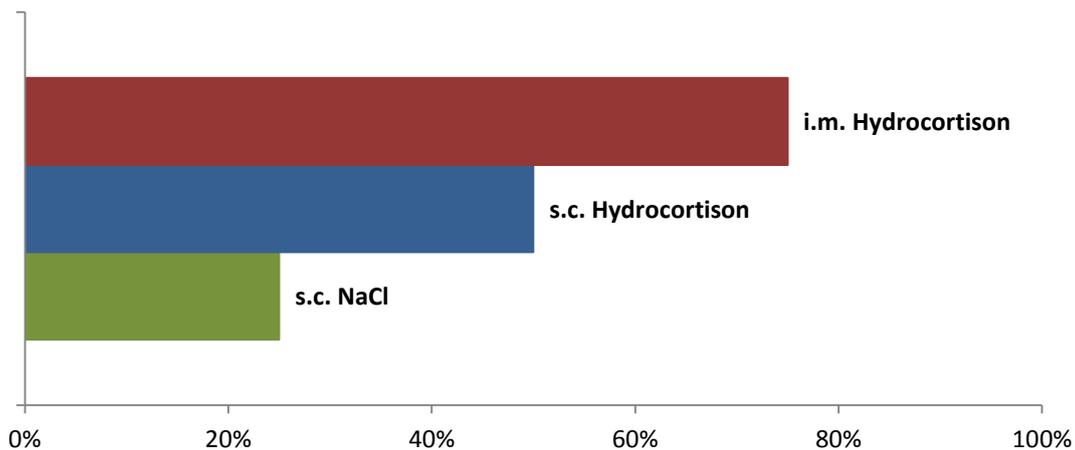


Abbildung 16: Auftreten von unerwünschten Ereignissen nach s.c. Applikation von NaCl sowie s.c. und i.m. Applikation von Hydrocortison

Nach i.m. Applikation von Hydrocortison, klagten sieben der zwölf Patienten (Patient 1, 2, 5, 7, 8, 10 und 11) über ein „Druckgefühl“ am Injektionsort während und direkt nach der Injektion. Bei sechs der Patienten (Patient 1, 5, 7, 8, 10 und 11) hielt das Druckgefühl auch nach der Injektion für einige Zeit (zwischen 15 und 60 min) an. Zwei weitere Patienten (Patient 10 und 12) klagten nach der Injektion über „ziehende“ Schmerzen im gesamten rechten Bein. Bei Patient 10 hielten diese für 30 min und bei Patient 12 für 90 min an.

Jeweils zwei Patienten klagten nach i.m. Applikation (Patient 9 und 10) und s.c. Applikation (Patient 4 und 5) von Hydrocortison über ein „Brennen“ am Injektionsort. Über Schmerzen direkt am Injektionsort klagten zwei Patienten nach i.m. und ein Patient nach s.c. Injektion. Nach i.m. Injektion hatte Patient 9 Schmerzen, welche über 240 min persistierten und Patient 10 Schmerzen für 30 min. Nach der s.c. Injektion von Hydrocortison hatte Patient 8 für 30 min anhaltende Schmerzen.

Ein Patient spürte des Weiteren für 25 min nach s.c. Injektion von Hydrocortison einen kurzzeitigen Juckreiz am Injektionsort.

Eine graphische Darstellung der UE kann Abbildung 17 entnommen werden.

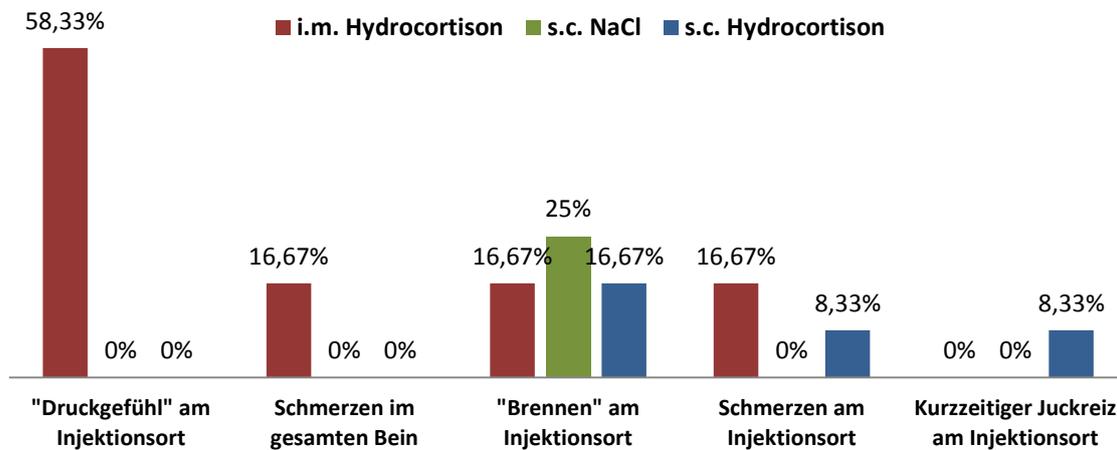
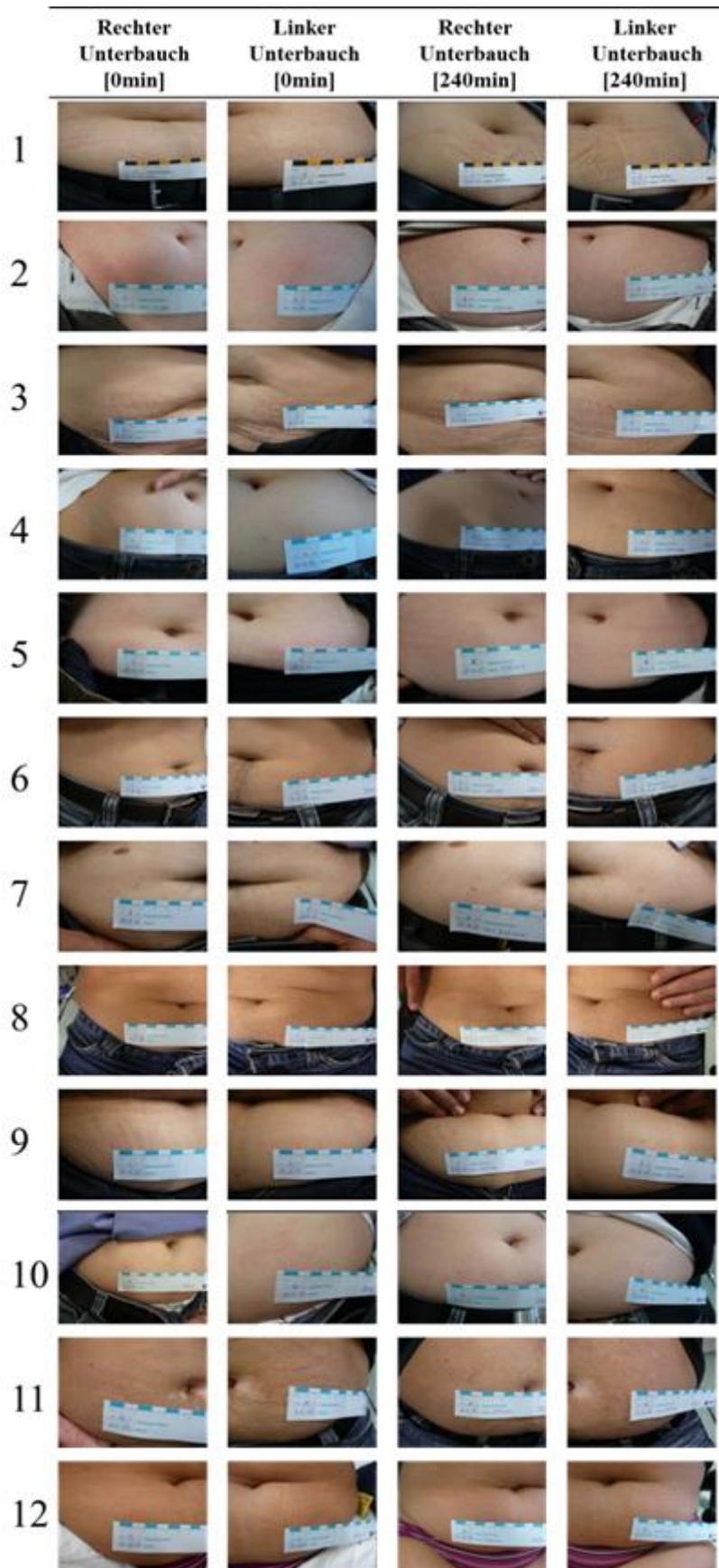


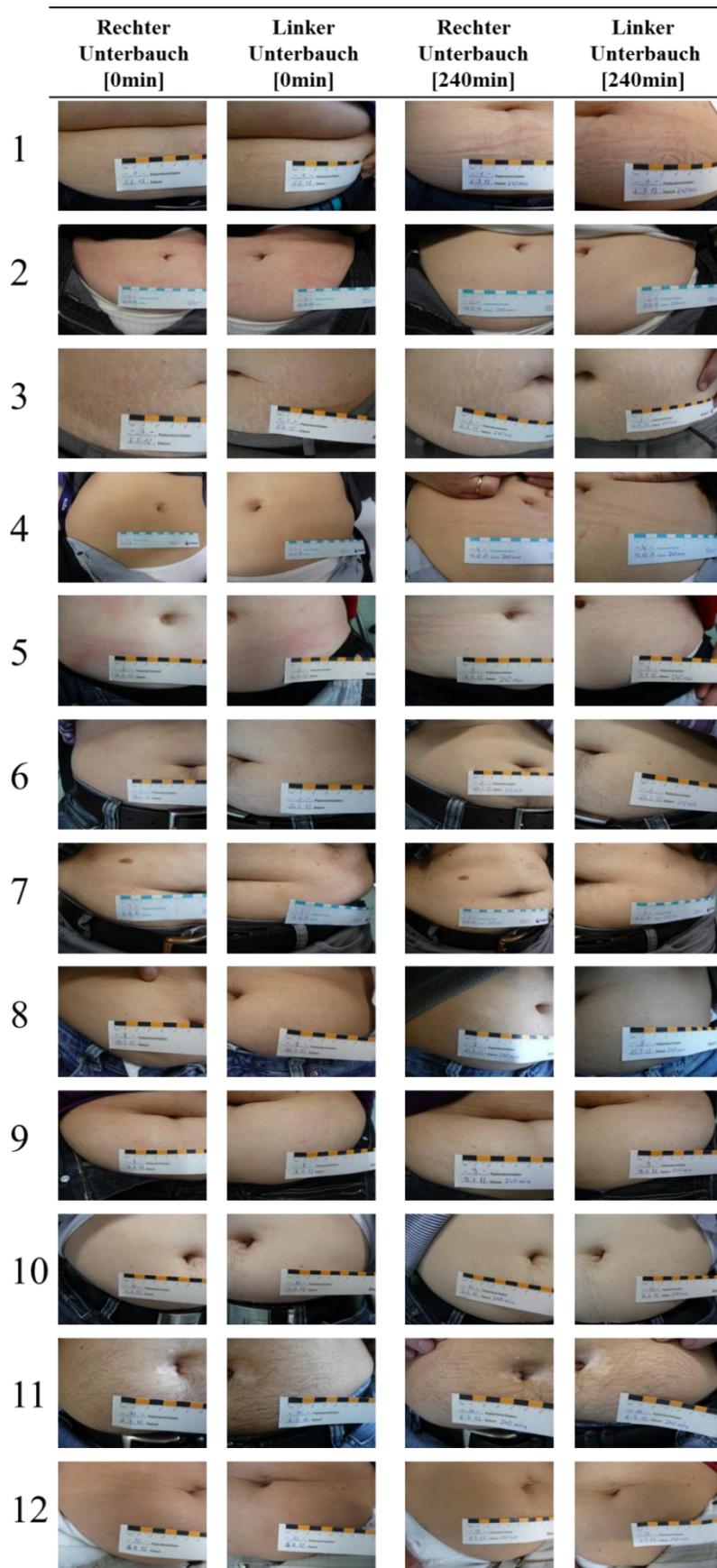
Abbildung 17: Übersicht der einzelnen UE nach s.c. Gabe von NaCl, bzw. nach s.c. und i.m. Gabe von Hydrocortison

Die Injektionsorte wurden an jedem Untersuchungstag unmittelbar nach der Injektion sowie nach 240 min fotodokumentiert. Es waren zu keinem Zeitpunkt akute Hautreaktionen sichtbar. Eine Übersicht über die Fotodokumentation findet sich in den Abbildungen 18a-c.

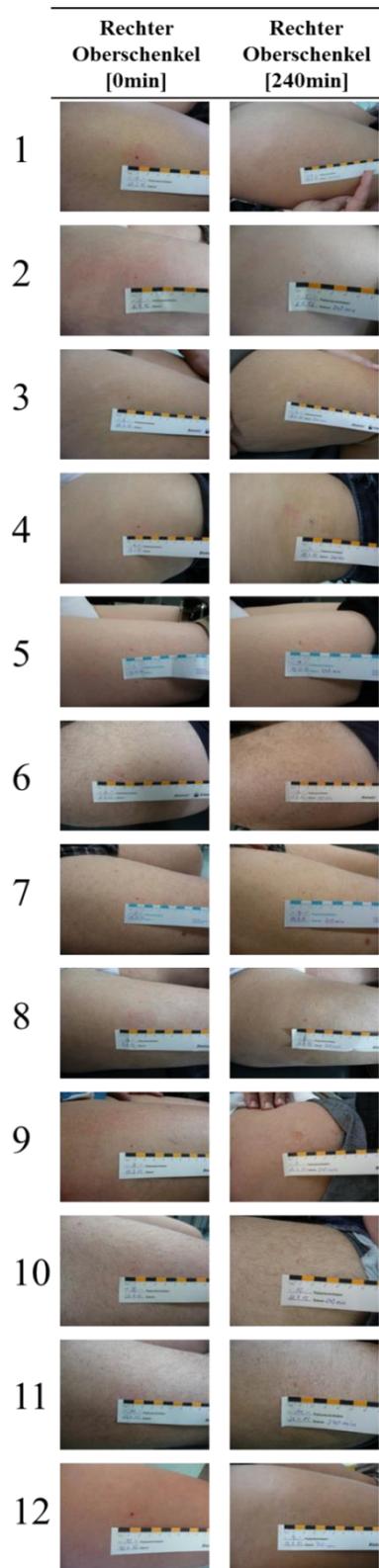
a



b



c



Abbildungen 18a-c: Fotodokumentation nach s.c. Injektion von NaCl (a) sowie nach s.c. (b) und i.m. (c) Injektion von Hydrocortison

3.5. Fragebogen

3.5.1. Fragen zum bisherigen Krankheitsverlauf

Die anhand eines Fragebogens durchgeführte Patientenbefragung zum bisherigen Krankheitsverlauf ergab, dass alle zwölf Patienten aktuell sehr gut (n=9 Patienten) oder gut (n=3 Patienten) mit ihrer NNI zurechtkommen (Abbildung 19a). Allerdings fühlen sich 42% (n=5) der Patienten durch ihre NNI in ihrer Freizeit eingeschränkt. 58% (n=7) der Patienten hingegen gaben an, auch in Ihrer Freizeit nicht durch ihre NNI beeinträchtigt zu sein (Abbildung 19b). Die tägliche Hydrocortisondosis wird von drei Patienten häufig (> 1 Mal in der Woche), von fünf Patienten gelegentlich (> 1 Mal im Monat), von drei Patienten selten (< 1 Mal im Monat) und von einem Patienten nie angepasst (Abbildung 19d). Eine Erhöhung der täglichen Hydrocortisondosis wurde am häufigsten, in 92% (n=11 Patienten), bei Fieber und Infekten vorgenommen. 67% der Patienten (n=7) gaben an, vor operativen Eingriffen ihre Hydrocortisondosis angepasst zu haben. 50% der Patienten (n=6) erhöhten ihre Dosis im Rahmen von beruflichem Stress und 17% (n=2) in privaten Stresssituationen. Bei sportlicher Betätigung erhöhten 42% der Patienten (n=5) ihre Dosis. 17% der Patienten (n=2) gaben an, in anderen Situationen wie bei schwerer körperlicher Arbeit (Patient 7) und im Falle von starker Müdigkeit / Erschöpfung (Patient 9) ihre tägliche Hydrocortisondosis angepasst zu haben (Abbildung 19c).

Zehn der teilnehmenden Studienpatienten gaben an, regelmäßig im Umgang mit Belastungssituationen und Krisen geschult zu werden (Abbildung 20a). Alle zwölf Studienpatienten gaben an, einen Notfallausweis zu besitzen (Abbildung 20b). Bei Studieneinschluss hatten neun der Patienten ein Notfallkit, von welchen acht Patienten bereits im Umgang mit dem Notfallkit geschult worden waren. Ein Patient gab an, ein Notfallkit zu besitzen, jedoch bisher nicht im richtigen Umgang damit geschult worden zu sein. Ein weiterer Patient gab an, theoretisch im Umgang mit einem Notfallkit geschult worden zu sein, allerdings noch kein Notfallkit zu besitzen. Die Angaben zum Notfallkit können auch Abbildung 20c-d entnommen werden.

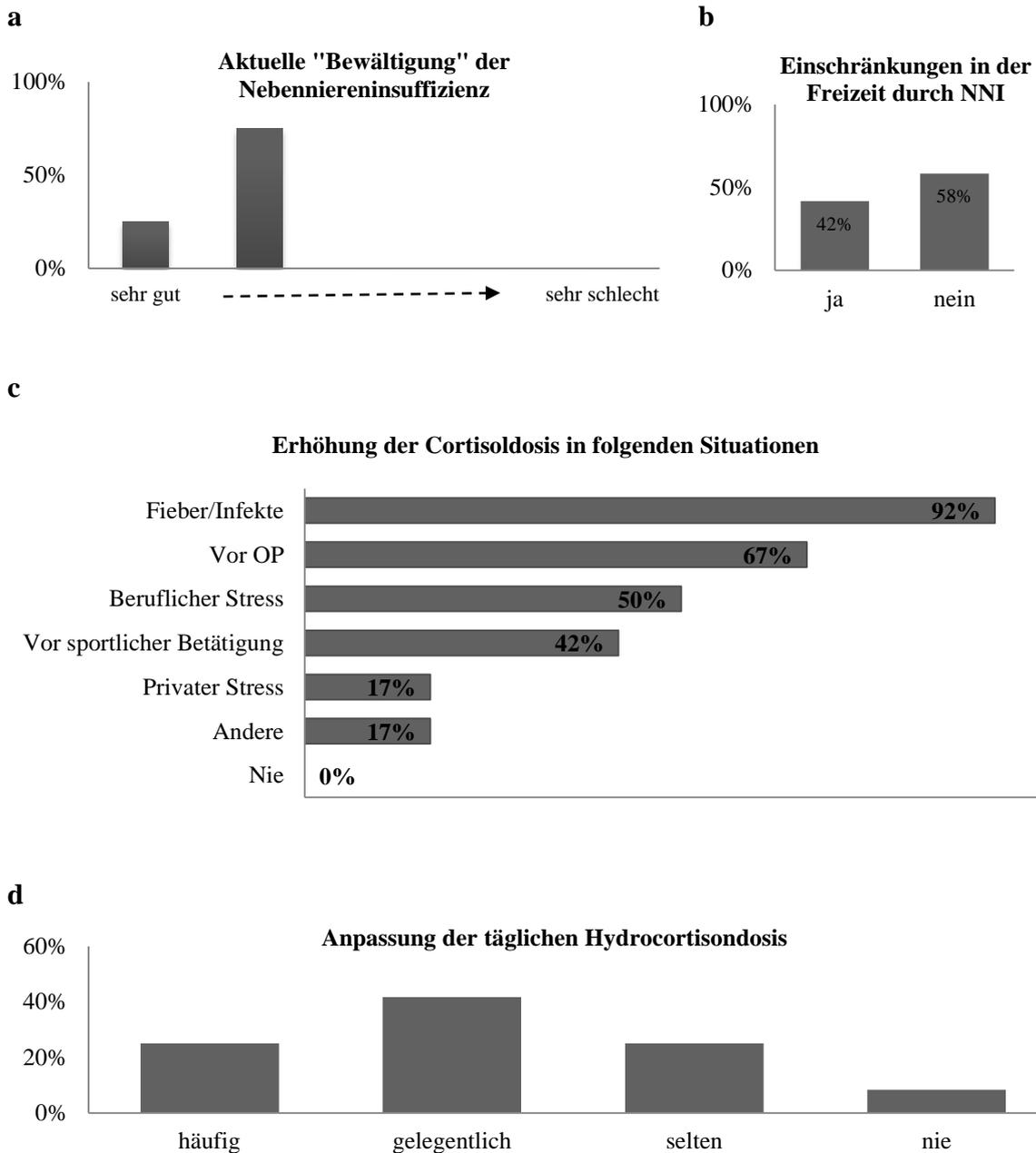


Abbildung 19a-d: Fragebogen zum Krankheitsverlauf; **(a)** Wie gut kommen sie aktuell mit Ihrer Nebenniereninsuffizienz zurecht? **(b)** Fühlen Sie sich durch die Nebenniereninsuffizienz in Ihrer Freizeit eingeschränkt? **(c)** In welcher Situation erhöhen Sie Ihre „Cortison-Dosis“? **(d)** Wie häufig passen Sie ihre tägliche Dosis „Cortison“ an?

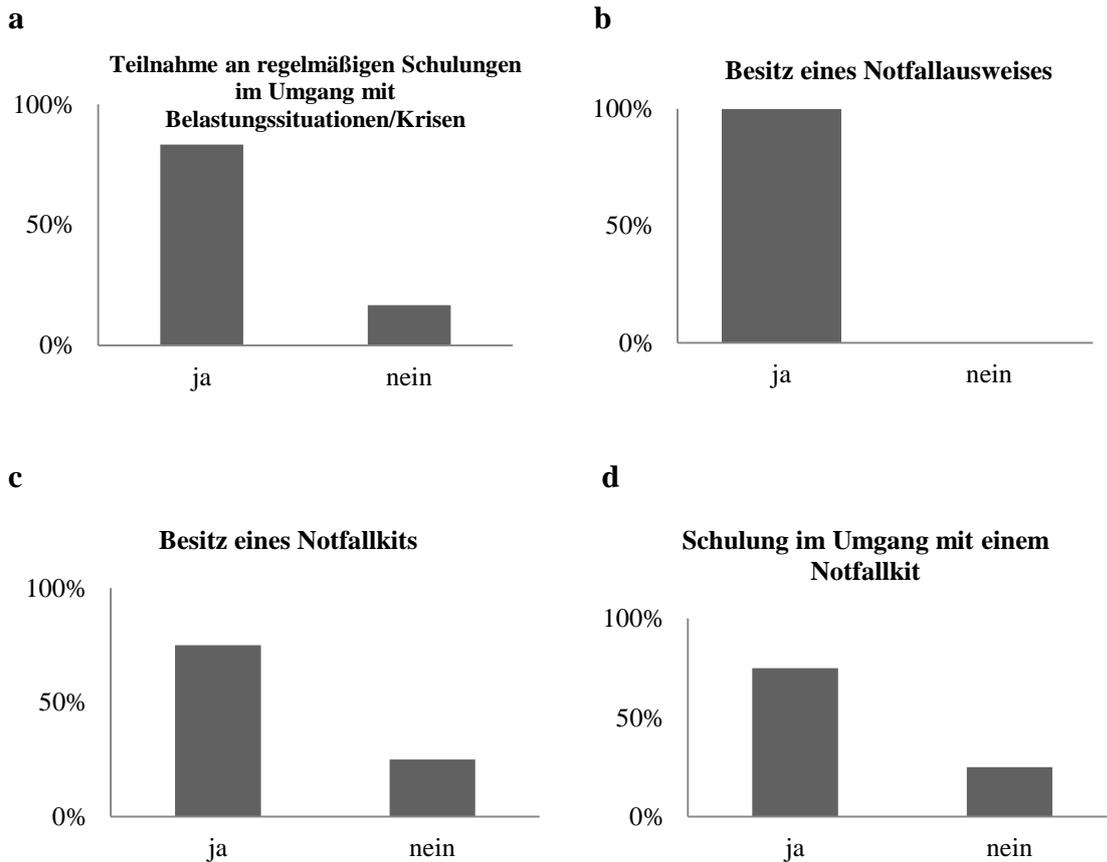


Abbildung 20a-d: Fragen zu Notfallausweis und Notfallkit; **(a)** Werden Sie regelmäßig während ambulanter Kontrolltermine im „richtigen Umgang mit Belastungssituationen/Krisen“ geschult? **(b)** Besitzen sie einen Notfallausweis? **(c)** Haben Sie eine Notfalleusrüstung / Notfall-Kit (z. B. Ampulle Hydrocortison für Injektionszwecke)? **(d)** Wurden Sie im Umgang mit einer Notfalleusrüstung medizinisch geschult?

3.5.2. Nebennierenkrisen

Die Fragen zum Auftreten von NNK zeigten, dass acht der teilnehmenden Studienpatienten bereits eine NNK erlitten hatten. Durch eine rückwirkende Begutachtung konnte bei sechs Patienten das Auftreten einer NNK, vor der endgültigen Diagnosestellung einer NNI, vermutet werden (Abbildung 21b). Im Krankheitsverlauf, nach Diagnosestellung, traten bei sechs der zwölf Patienten NNK auf (Abbildung 21a). Bei fünf Patienten trat je eine Krise im Krankheitsverlauf auf. Ein Patient gab an, bereits drei NNK erlitten zu haben. Insgesamt wurden demnach 8 NNK in 166 Patientenjahren festgestellt. Bei den Studienpatienten konnte somit eine Krisenhäufigkeit von 4,82 Krisen pro 100 Patientenjahre berechnet werden.

Als häufigste Ursache für die Entwicklung einer NNK wurden Infektionskrankheiten angegeben. 33,33% der Studienpatienten, die bereits eine NNK (n=6) erlitten haben, gaben einen fieberhaften oder einen Magen-Darm-Infekt als auslösenden Faktor für die jeweiligen NNK an. Als weitere Ursachen wurden starke körperliche Belastung (16,67%), psychischer Stress (16,67%) und Unfälle (16,67%) angegeben. Unter „sonstige Situationen“ (16,67%) wurde von einer Patientin eine akute Appendizitis als krisenauslösenden Faktor angegeben. Eine Übersicht zur Ätiologie der NNK findet sich in Abbildung 21c.

Im Rahmen von NNK und auch präventiv bei beginnenden NNK erhielten sechs Patienten bereits notfallmäßig parenteral ein „Cortisonpräparat“. Zwei dieser Patienten benötigten zweimal und zwei weitere Patienten sogar dreimal eine parenterale Verabreichung von Glucocorticoiden (Abbildung 21d).

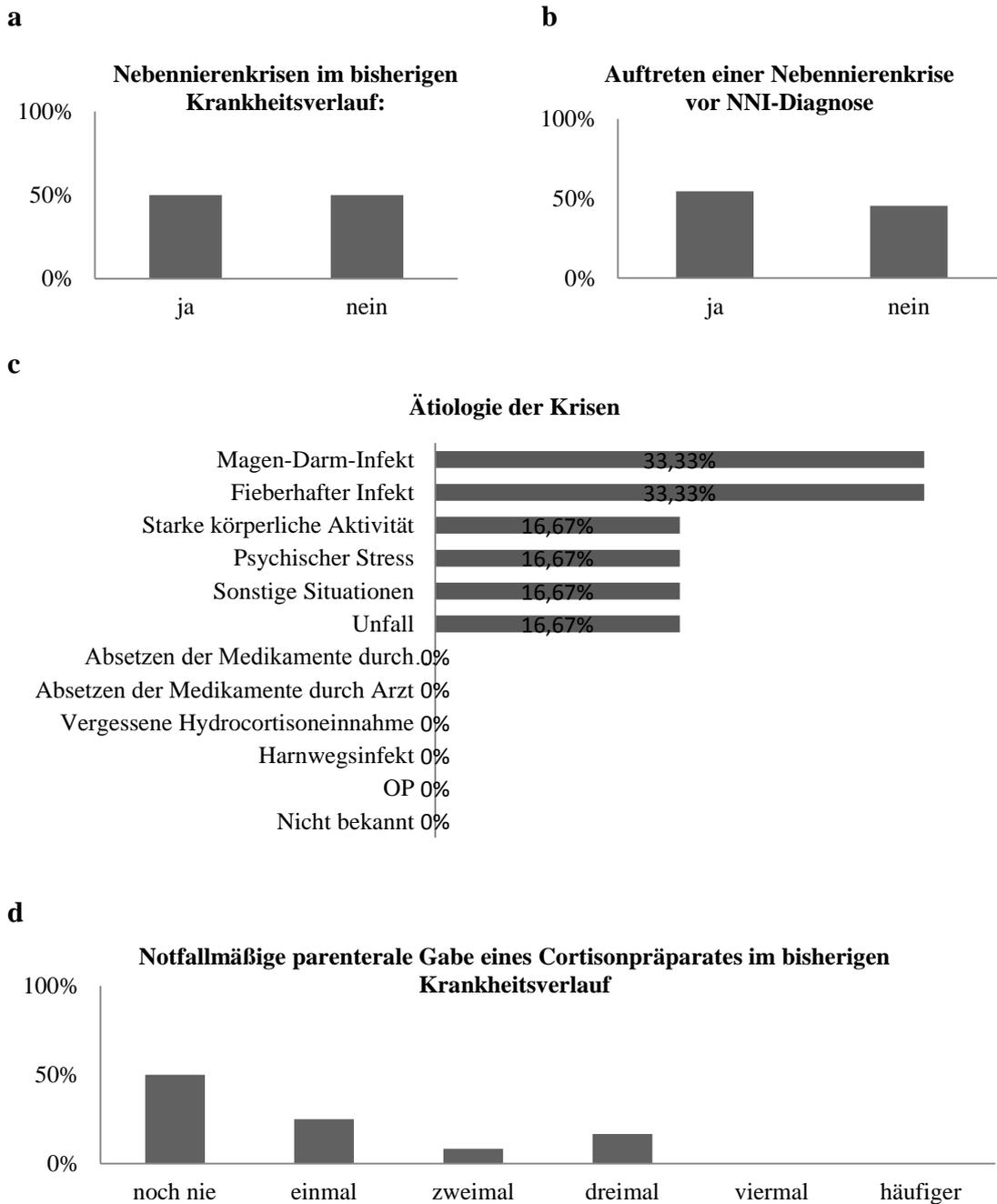


Abbildung 21a-d: Fragen zu Nebennierenkrisen; (a) Haben Sie im bisherigen Verlauf Ihrer Erkrankung eine Nebennierenkrise erlitten? (b) Ist eine Nebennierenkrise vor bekannt werden Ihrer Nebennierenerkrankung aufgetreten? (c) In welchen Situationen sind solche Krisen aufgetreten nachdem Ihre Nebennieren-Erkrankung bereits bekannt war? (d) Wie oft haben Sie eine notfallmäßige Gabe eines „Cortison-Präparates“ in Form einer Spritze oder Infusion benötigt, nachdem die Erkrankung bei Ihnen bekannt war?

3.5.3. Eigeninjektion von Hydrocortison

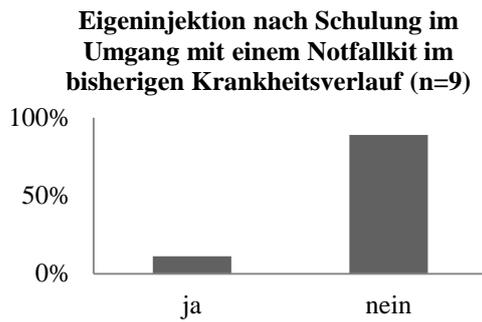
Von den neun Studienpatienten, die sich zu Studienbeginn bereits im Besitz eines Notfallkits befanden, gab nur ein Patient an, dieses bereits verwendet zu haben (Abbildung 22a). Allerdings gaben alle zwölf Studienpatienten an, sich nach entsprechender Schulung eine Eigeninjektion von Hydrocortison zuzutrauen (Abbildung 22b). Ebenso gaben elf der Patienten an, dass sie durch die Möglichkeit der Eigeninjektion ein „Sicherheitsgefühl“ erhalten würden (Abbildung 22c). Neun Patienten glaubten sogar, durch die Möglichkeit der Eigeninjektion eine Verbesserung ihrer Lebensqualität zu erreichen (Abbildung 22d).

Bei den spezifischen Fragen zum Studienverlauf gaben drei der Patienten (Patient 5, 8, 10) an, „Veränderungen an sich bemerkt zu haben“ (Abbildung 23a). Alle weiteren Patienten hingegen schienen die aufgetretenen leichten UE nicht als relevante UE bzw. Nebenwirkungen wahrzunehmen. Auch in einem Freifeld für Kommentare, welches zehn der Patienten ausfüllten, gaben die Patienten an, die Studienteilnahme als angenehm und komplikationslos erlebt zu haben.

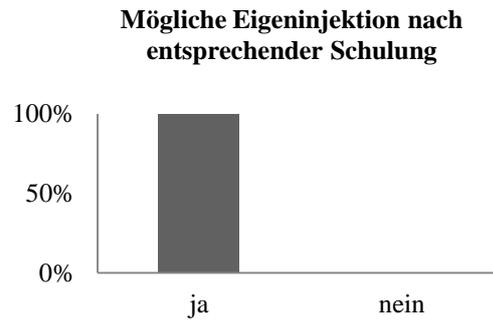
An dieser Stelle wurde nochmals von allen Studienpatienten angegeben, dass sie eine Eigeninjektion in einer Notfallsituation (speziell nach Teilnahme an dieser Studie) durchführen würden (Abbildung 23b).

Bei der letzten Frage nach der Präferenz bezüglich einer Verabreichungsart, zeigte sich deutlich, dass die s.c. gegenüber der i.m. Eigeninjektion bevorzugt werden würde (Abbildung 23c). Elf der Studienpatienten würden eine s.c. der i.m. Eigeninjektion vorziehen. Ein Studienpatient gab keine Präferenz an.

a



b



c



d

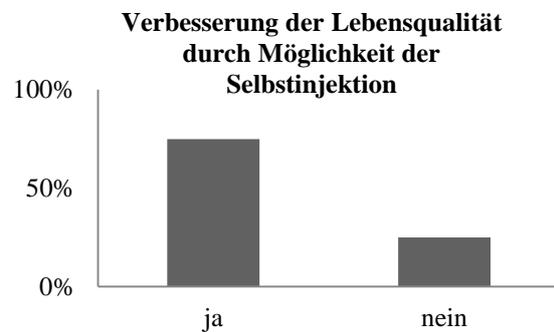
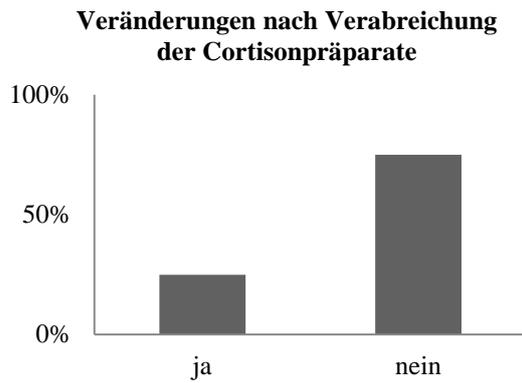
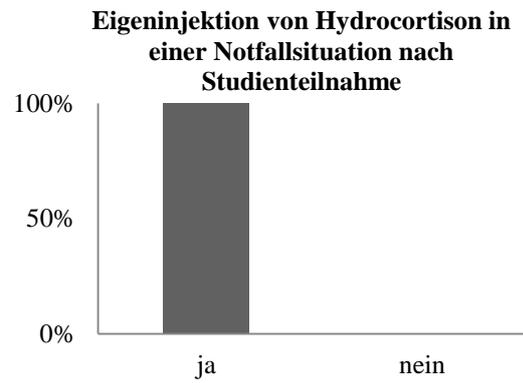


Abbildung 22a-d: Fragebogen zur Eigeninjektion von Hydrocortison; **(a)** Haben Sie sich schon einmal selbst in einer Notfallsituation „Cortison“ injiziert? **(b)** Wenn nein, würden Sie sich nach entsprechender Schulung ein „Cortison-Präparat“ in einer Notfallsituation spritzen? **(c)** Würde es Ihnen ein „Gefühl von Sicherheit“ geben, wenn Sie wüssten, dass Sie sich in Notfallsituationen selbst Cortison injizieren könnten? **(d)** Meinen Sie dadurch eine verbesserte Lebensqualität erreichen zu können (weil Sie dann z. B. eher bereit wären eine Auslandsreise anzutreten)?

a



b



c

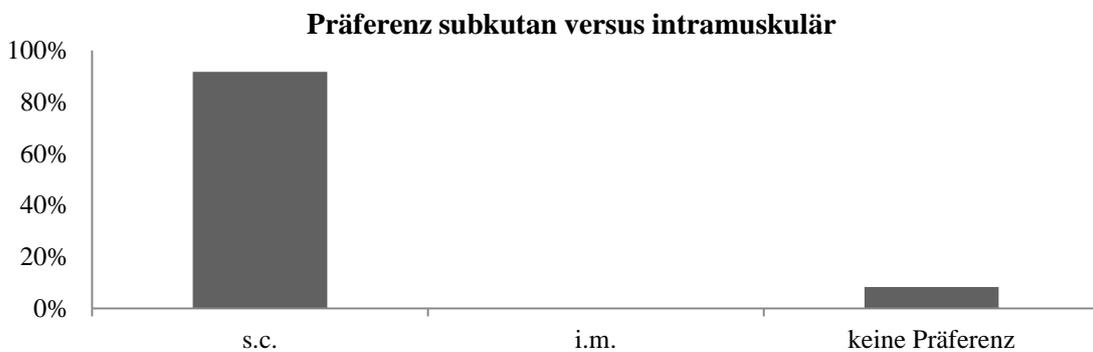


Abbildung 23a-c: Fragebogen zur Studienteilnahme (a) Haben Sie nach der Verabreichung der „Cortison- Präparate“ Veränderungen an sich bemerkt? (b) Käme es für Sie, nach Teilnahme an dieser Studie, in Frage sich selbst Hydrocortison in einer Notfallsituation zu spritzen? (c) Wie würden Sie sich das „Cortison-Präparat“ lieber spritzen?

4. DISKUSSION

Trotz verschiedener Ansatzpunkte zur Prävention lebensbedrohlicher NNK, besteht für nebenniereninsuffiziente Patienten weiterhin ein beträchtliches Risiko eine NNK zu erleiden.^{69,74} Neben einer Patientenschulung im Umgang mit NNK und dem Mitführen eines Notfallausweises, erfolgt seit einiger Zeit die Schulung in der i.m. Eigeninjektion von Hydrocortison. Die Patienten erhalten hierbei ein Notfallkit, bestehend aus einer Ampulle Hydrocortison für Injektionszwecke, um sich zur Prävention von NNK Hydrocortison selbst zu applizieren.^{67,77,79} Neuere Studien dokumentieren neben dem Risiko für NNK im Krankheitsverlauf auch eine erhöhte Mortalität infolge einer NNK, sodass der Prävention von NNK eine sehr hohe Bedeutung zukommt.⁶⁹⁻⁷¹ Entscheidender Bestandteil einer adäquaten Therapie der beginnenden NNK ist die schnelle Versorgung mit ausreichend hohen Dosen an Glucocorticoiden. Unter anderem erfolgt, aufgrund der Seltenheit der Erkrankung, die Notfalltherapie jedoch oftmals nicht adäquat.⁶⁹ Um die Morbidität und Mortalität von NNK zu senken, ist die Eigeninjektion von Hydrocortison ein besonders effektiver Ansatzpunkt für eine Verbesserung.⁷⁹ Da jedoch für viele Patienten eine i.m. Injektion eine große Hemmschwelle darzustellen scheint, stellt die s.c. Eigeninjektion von Hydrocortison eine praktikablere Alternative dar. Im Rahmen dieser Arbeit wurde zum ersten Mal die s.c. Injektion von Hydrocortison, zur Prävention von lebensbedrohlichen NNK, untersucht.

Wie erwartet zeigte sich unter den an der Studie teilnehmenden Patienten eine deutliche Präferenz gegenüber der s.c. im Vergleich zur i.m. Eigeninjektion.

Die Auswertung der erhobenen pharmakokinetischen Daten zeigt, dass die s.c. im Vergleich zur i.m. Injektion von Hydrocortison eine gute und effiziente Alternative für den Einsatz in Krisensituationen darstellt.

Alle Studienpatienten erreichten den prädefinierten und als sicher erachteten Serumcortisolspiegel von 36 µg/dl. Dieser Cortisolwert wurde basierend auf dem Cut-off-Wert festgelegt, welcher nach supraphysiologischer ACTH-Stimulation im ACTH-Kurztest gefordert wird, um von einer ausreichenden adrenocorticalen Funktion ausgehen zu können. Bei Erreichen eines Cortisolwertes von 18 µg/dl im Serum, 30-60 min nach Gabe von 250 µg ACTH, wird entsprechend von einer suffizienten NN-Funktion ausgegangen.^{36,37,87} Um ein hohes Maß an Sicherheit zu erlangen, wurde eine

Verdopplung dieses zu erreichenden Wertes auf 36 µg/dl vorgenommen. Studien, in welchen Serumcortisolkonzentrationen nebennierengesunder Personen in Notfallsituationen untersucht wurden, zeigen, dass durchschnittlich Serumcortisolkonzentrationen < 36 µg/dl erreicht werden. Hierbei befinden sich durchschnittlich gemessene Serumcortisolkonzentrationen bei Schwerkranken und intensivmedizinisch betreuten Patienten in einem Bereich um ~ 25 µg/dl.⁸⁸⁻⁹⁷ Demnach muss berücksichtigt werden, dass der bei dieser Studie als sicher erachtete Wirkspiegel von 36 µg/dl mit einer gewissen Sicherheitsspanne relativ hoch angesetzt wurde.

Elf der teilnehmenden Studienpatienten erreichten nach s.c. Applikation von Hydrocortison, den Zielwirkspiegel innerhalb von 30 min und ein Studienpatient nach 45 Minuten. Im Durchschnitt erreichten die Patienten den definierten Grenzwert von 36 µg/dl nach ca. 22 min ($t_{>36 \mu\text{g/dl}}$: $22,1 \pm 11,2$ min). Somit ist ein ausreichend schneller Anstieg der Serumcortisolkonzentration nach s.c. Injektion von Hydrocortison, für den Einsatz in Notfallsituationen zur Prävention von NNK gewährleistet.

Der Vergleich der s.c. mit der i.m. Applikationsart zeigt erwartungsgemäß einen schnelleren Anstieg der Serumcortisolspiegel nach i.m. Gabe, was aufgrund der besseren Durchblutung von Muskelgewebe zu erwarten war und bereits für andere Medikamente gezeigt werden konnte.⁹⁸ Nach i.m. Injektion von Hydrocortison erreichten alle Patienten, innerhalb der angestrebten Zeit von 30 min, einen Serumcortisolwert > 36 µg/dl. Diesbezüglich fand sich ein signifikanter Unterschied gegenüber der s.c. Applikation, mit einem durchschnittlich um 11 min schnelleren Anstieg der Serumcortisolkonzentration auf 36 µg/dl nach i.m. Gabe ($t_{>36\mu\text{g/dl}}$ $10,8 \pm 5,2$ min nach i.m. Gabe versus $22,1 \pm 11,2$ min nach s.c. Gabe; $p=0,004$). Der Vorteil der s.c. Injektion besteht allerdings vor allem darin, dass eine deutlich größere Patientenakzeptanz gegenüber dieser Verabreichungsart besteht. Dies ist von hoher Relevanz, da nur durch eine zeitnahe und gesicherte Anwendung ein entsprechender therapeutischer Effekt erzielt werden kann. Viele Patienten haben bereits selbst oder in ihrem Familien- und Bekanntenkreis Erfahrungen im Umgang mit s.c. Injektionen sammeln können (z. B. s.c. Injektionen von Insulin bei einem Diabetes mellitus, oder von fraktioniertem Heparin im Rahmen einer Immobilisation). Elf der zwölf Studienpatienten geben eine deutliche Präferenz gegenüber der s.c. Injektion an. Nur eine Studienpatientin gab keine Präferenz gegenüber beiden Verabreichungsarten an. Es

ist demnach davon auszugehen, dass die s.c. Eigeninjektion in Krisensituationen konsequenter eingesetzt wird und somit die Zahl letal verlaufender Krisen gesenkt werden könnte. Auch für Angehörige von chronisch nebenniereninsuffizienten Patienten könnte eine s.c. Injektion eine geringere Hemmschwelle darstellen. Möglicherweise wäre es somit auch für Familienmitglieder, mit geringer oder keiner Erfahrung mit Injektionen, leichter Hydrocortison in einer Notfallsituation s.c. zu applizieren.

Es konnten keine wesentlichen unerwünschten Ereignisse beobachtet werden, die gegen einen routinemäßigen Einsatz der s.c. Eigeninjektion von Hydrocortison sprechen würden. Die sowohl nach i.m. als auch nach s.c. Injektion von Hydrocortison aufgetretenen UE waren lediglich kurzzeitig persistierend, von milder Ausprägung und vor allem auf die Injektion an sich und nicht auf die verabreichte Substanz Hydrocortison zurückzuführen. Es traten an keinem Untersuchungstag schwere unerwünschte Ereignisse auf. Allerdings lässt sich festhalten, dass nach s.c. im Vergleich zur i.m. Injektion weniger UE angegeben wurden (50% versus 75% der Patienten, Abbildung 16). Auch andere Studien, in welchen Patienten mit einem M.Addison oder AGS über eine Insulinpumpe s.c. Hydrocortison appliziert wurde, konnten zeigen, dass bei dieser Verabreichungsart suffiziente Wirkspiegel erreicht werden können, ohne dass relevante Nebenwirkungen auftreten.^{47,84,85} Somit kann bei s.c. Applikation von Hydrocortison von einer sicheren und für den routinemäßigen Einsatz geeigneten Anwendung ausgegangen werden.

Eine Diskrepanz zwischen der s.c. und der i.m. Applikation von Hydrocortison zeigt sich unter Berücksichtigung des BMI der Patienten. Nach i.m. Gabe von Hydrocortison zeigen übergewichtige ($BMI > 25\text{kg/m}^2$) und normalgewichtige ($BMI \leq 25\text{kg/m}^2$) Patienten gleichwertige Verläufe der Serumcortisolspiegel. Nach s.c. Injektion von Hydrocortison ergeben sich allerdings deutliche Unterschiede zwischen normalgewichtigen und übergewichtigen Patienten. Hierbei kann eine signifikante Korrelation zwischen BMI und C_{\max} ($r = -0,728$; $p = 0,007$), C_{av} ($r = -0,745$; $p=0,005$), AUC ($r = -0,637$; $p=0,026$) und MRT ($r = 0,776$; $p = 0,003$) beobachtet werden. Die Serumcortisolspiegel nach s.c. Gabe sind bei Normalgewichtigen annähernd gleich den Wirkspiegeln nach i.m. Gabe (Abbildung 14). Bei Übergewichtigen sind hingegen deutlich niedrigere Wirkspiegel zu beobachten (s.c. versus i.m. Gabe, $C_{\text{av}} 53 \pm 9 \mu\text{g/dl}$

versus $73 \pm 18 \mu\text{g/dl}$, $p=0.02$). Zusätzlich zeigt sich ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Fluktuation nach s.c. und i.m. Applikation ($p=0,02$), mit einer höheren Fluktuation nach s.c. Gabe. Diese Diskrepanzen könnten auf die Menge an s.c. abdominellem Fettgewebe zurückzuführen sein. Dies führt zu der Überlegung, ob nebenniereninsuffizienten Patienten individuell bzw. BMI-abhängig, eine der beiden Verabreichungsarten empfohlen werden sollte. So könnte Patienten mit einem normwertigen BMI sowohl die s.c. als auch die i.m. Gabe empfohlen werden, wohingegen übergewichtigen Patienten eher die i.m. Applikation nahegelegt werden sollte. Eine weitere Überlegung ist, dass sich Patienten mit einem hohen BMI, über 25 kg/m^2 , eine höhere Dosis an Hydrocortison applizieren sollten. So könnte an Stelle der in dieser Studie verwendeten 100 mg Hydrocortison, 150-200 mg Hydrocortison in Form mehrerer zeitlich leicht versetzter Injektionen appliziert werden. Da die aktuell zugelassenen Hydrocortisonampullen auf eine Konzentration von 50 mg/ml eingestellt sind, wären jedoch zwei bis vier Injektionen an unterschiedlichen Stellen des Unterbauchs eine problematische Konsequenz. Jedoch gilt es zu beachten, dass eine erfolgte s.c. Verabreichung von Hydrocortison, mit potentiell geringeren erreichten Serumcortisolkonzentrationen, einer aufgrund der größeren Hemmschwelle eventuell nicht oder deutlich verzögert erfolgenden i.m. Injektion vorzuziehen wäre. Des Weiteren bevorzugten elf der Studienpatienten die s.c. Gabe trotz der zweimaligen simultanen Injektion gegenüber der einmaligen i.m. Injektion, was erneut für eine große Patientenakzeptanz gegenüber der s.c. Verabreichungsart spricht.

In diesem Zusammenhang muss auch eine mögliche Verfälschung der pharmakokinetischen Werte durch eine mehrfache Injektion berücksichtigt werden. Ein weiterer wichtiger Ansatzpunkt der NNK-Prävention ist deshalb auch die Anpassung der Hydrocortisonkonzentration der Injektionslösung zur s.c. Applikation. Folglich wäre es vorteilhaft im Ausland bereits eingesetzte, höher konzentrierte Präparate dem Zulassungsprozess in Deutschland zu unterziehen, um so die Eigeninjektion auf eine einzelne Injektion zu reduzieren und damit zu vereinfachen. Ein solches mit 100 mg Hydrocortison / ml höher konzentriertes, in Großbritannien zugelassenes Präparat ist z. B. Efcortisol.⁹⁹

Sowohl bei der s.c. als auch bei der i.m. Injektion von 100 mg Hydrocortison werden deutlich supraphysiologische Cortisolspiegel erreicht. Allerdings ist, wie auch im

Rahmen der NNK-Prävention (z. B. im perioperativen Management von Patienten mit einer NNI)¹⁹ gehandhabt, ein kurzfristiger Cortisolexzess im Falle einer drohenden NNK eher zu tolerieren, als das Risiko einer möglicherweise letal verlaufenden manifesten NNK.

Die im Rahmen einer NNK eintretende Schocksymptomatik, welche mit einer verminderten Durchblutung des abdominellen Fettgewebes einhergeht, ist (da die Resorption von Hydrocortison beeinträchtigt sein könnte) ein zusätzlicher kritischer Punkt bei der s.c. Injektion. Bei einer i.m. Injektion ist in diesem Falle bei einer besseren Durchblutung der Muskulatur auch von einer besseren Resorption auszugehen. Da jedoch im Rahmen einer Schocksymptomatik generell von einer geringeren Resorption auszugehen ist, ist deshalb schnellstmöglich, vor allem bei bereits manifesten NNK, immer die i.v. Injektion von Hydrocortison anzustreben. Allerdings liegt der Anwendungsschwerpunkt der Eigeninjektion nicht vorrangig in der Therapie einer manifesten NNK mit bereits eingetretener Schocksymptomatik, sondern vor allem in der Therapie beginnender NNK bzw. in der Nebennierenkrisenprävention. So sollte die Eigeninjektion sofort nach Beginn der Symptomatik eines gastrointestinalen Infekts vor dem Eintreten einer NNK durchgeführt werden, um anschließend unverzüglich einen Arztkontakt herzustellen. Bei einer frühzeitigen Injektion ist davon auszugehen, dass das verabreichte Hydrocortison noch ausreichend resorbiert und die Ausbildung einer manifesten NNK verhindert werden kann. Nichts desto trotz wäre der Vergleich zwischen s.c. und i.m. Injektion von Hydrocortison bei intensivmedizinisch betreuten Patienten (catecholaminpflichtige und beatmete Patienten) ein interessanter Ansatz zur Beurteilung der Pharmakokinetik und UE im Rahmen einer eingeschränkten Durchblutung des s.c. Fettgewebes. Anhand der MRT zeigen sich jedoch wiederum Vorteile einer langsameren Resorption von Hydrocortison aus dem s.c. Fettgewebe. Hier ergeben sich signifikant längere mittlere Verweilzeiten von Cortisol im Serum nach s.c. Injektion (MRT in min nach i.m. $112,1 \pm 10,5$, nach s.c. $119,1 \pm 10,2$). Demnach ist zwar die Geschwindigkeit der Resorption von Cortisol geringer, jedoch andererseits die Verweildauer im Serum und somit die Wirkung von Cortisol verlängert. Durch die verlängerte MRT nach s.c. Gabe, könnten Patienten demnach von einer länger anhaltenden Prävention einer NNK profitieren.

Die Analyse der pharmakokinetischen Parameter des Speichelcortisols zeigten ähnliche Ergebnisse, wie die Auswertung der Serumcortisolwerte. In der Speichelcortisolbestimmung zeigt sich nach beiden Applikationsarten ein deutlicher Anstieg der Cortisolwerte. Hierbei waren jedoch die durchschnittlichen Speichelcortisolwerte nach i.m. Gabe (C_{av} in $\mu\text{g}/\text{dl}$ $27,9 \pm 10,5$) von Hydrocortison signifikant ($p=0,046$) höher, als nach s.c. Gabe (C_{av} in $\mu\text{g}/\text{dl}$ $19,6 \pm 8,5$). Ebenfalls ergab sich eine signifikant ($p=0,036$) verlängerte durchschnittliche Zeit bis zum Erreichen der maximalen Speichelcortisolwerte nach s.c. Gabe (t_{max} in min $73,8 \pm 21,7$), im Vergleich zur i.m. Applikation (t_{max} in min $51,3 \pm 27,5$). Andererseits zeigte sich auch ein signifikanter Unterschied ($p=0,006$) der MRT, mit einer deutlich verlängerten MRT nach s.c. Gabe (MRT in min bei i.m. $91,3 \pm 17,8$; bei s.c. $110,2 \pm 12,3$). Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass bei der mittels Lumineszenzimmunoassay erfolgten Speichelcortisolbestimmung, insbesondere bei hohen Cortisolkonzentrationen, die eine entsprechende Verdünnung notwendig machten, eine gewisse Messunsicherheit besteht. Dies könnte die Unterschiede in der pharmakokinetischen Auswertung von Speichelcortisol- und Serumcortisolwerten erklären. Es kann davon ausgegangen werden, dass eine Bestimmung der Speichelcortisolwerte mittels Massenspektrometrie messgenauerer Werte ergeben hätte.

Die ACTH-Suppression ergab, im Hinblick auf die Applikationsart, keinen wesentlichen Unterschied (Abbildung 15). Dies spricht somit für eine vergleichbare biologische Wirksamkeit von Hydrocortison nach i.m. und s.c. Applikation, was für einen Einsatz der s.c. Injektion als effektive Alternative zur i.m. Gabe in der Nebennierenkrisenprävention spricht.

Die Grundvoraussetzung für den Einsatz der s.c. Eigeninjektion von Hydrocortison ist, wie auch bei der i.m. Injektion, eine ausführliche und regelmäßige Schulung. Neben der Verbesserung der NNK-Prävention, durch die Eigeninjektion von Hydrocortison, könnte von dieser Möglichkeit jedoch auch eine gewisse Gefahr ausgehen. So könnten Patienten fälschlicherweise glauben eine beginnende NNK selbständig und ohne ärztliche Betreuung bewältigen zu können. Deshalb sollten die Patienten nicht nur wissen in welchen Situationen und in welcher Weise eine Eigeninjektion durchgeführt werden muss, sondern auch dass die Eigeninjektion generell keine endgültige Therapie einer beginnenden NNK ist und nur zur Überbrückung der Zeit bis zu einem

Arztkontakt dient. Bei allen Studienpatienten konnten, bis zur letzten Probenentnahme (240 min nach s.c. Injektion), Serumcortisolkonzentrationen von über 36 µg/dl gemessen werden. Demnach scheint die s.c. Eigeninjektion von Hydrocortison über einen Zeitraum von mindestens vier Stunden suffiziente Wirkspiegel zu gewährleisten und würde folglich Patienten mit einer beginnenden NNK eine ausreichend lange Zeitspanne zur Herstellung eines Arztkontakts ermöglichen. Weiter kann jedoch auch vermutet werden, dass die Eigeninjektion nicht nur zur Überbrückung der Zeit bis zu Herstellung eines Arztkontaktes, sondern in Ausnahmesituationen auch zur Therapie der beginnenden NNK ausreichen würde. So könnte ein kritischer Zeitraum, von z. B. kurzzeitigem Erbrechen im Rahmen eines gastrointestinalen Infekts, durch regelmäßige Injektionen alle 4 Stunden bis zum Sistieren der Symptomatik überwunden werden, wenn z. B. im Rahmen eines Auslandsaufenthalts kein kurzfristiger Arztkontakt möglich ist. Chronisch nebenniereninsuffizienten Patienten sollte demnach empfohlen werden, z. B. beim Antritt einer längeren Reise, mehrere Ampullen Hydrocortison zur Eigeninjektion mit sich zu führen.

Generell sollte auch die Praktikabilität des Injektionszubehörs verbessert werden. Aktuell müssen die Patienten, sowohl für die i.m. als auch die s.c. Applikation, die Injektionslösung selbstständig mischen, mit einer größeren Kanüle in die Spritze aufziehen und anschließend die Kanüle wechseln um die Injektion durchzuführen. Der Einsatz von Fertigspritzen oder fertigen Injektions-Pens, die ohne Vorbereitung zur sofortigen Eigeninjektion zu verwenden wären, würden die Eigeninjektion stark vereinfachen und möglicherweise zu einem vermehrten Einsatz führen.

Insgesamt stellt die s.c. Eigeninjektion von Hydrocortison, insbesondere bei normgewichtigen Patienten eine gute und sichere Alternative zur i.m. Gabe dar. Um die Hemmungen im Umgang mit Notfallkits abzubauen, ist neben einer regelmäßigen Schulung in der Anwendung der s.c. Eigeninjektion, auch der mögliche Einsatz von Fertigspritzen / -pens ein wichtiger Schritt, um die Anzahl der lebensbedrohlichen Krisen zu senken und den Patienten ein Gefühl von Sicherheit zu ermöglichen. Unabhängig von der Verabreichungsart ist es aber vor allem wichtig, dass alle chronisch nebenniereninsuffizienten Patienten mit einem Notfallkit ausgestattet und im Umgang damit geschult werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass diese Studie zum ersten Mal die s.c. Injektion von Hydrocortison im Vergleich zur zugelassenen i.m. Gabe untersucht, um die NNK-Prävention durch den Einsatz von Notfallkits zu verbessern. Um die Prävention von NNK durch Notfallkits noch genauer zu beurteilen, könnten weitere Untersuchungen, z. B. an Intensivpatienten, von Bedeutung sein.

5. ZUSAMMENFASSUNG und AUSBLICK

Patienten mit chronischer Nebenniereninsuffizienz (NNI) haben ein hohes Risiko, eine lebensbedrohliche Nebennierenkrise (NNK) zu erleiden.⁶⁸ Hauptauslöser sind insbesondere gastrointestinale und fieberhafte Infekte, sowie Unfälle, Operationen, psychische und physische Belastungssituationen.^{69,73} Häufig entwickeln sich dabei NNK innerhalb weniger Stunden und können rasch zu einem letalen Verlauf führen, bevor den betroffenen Patienten suffiziente ärztliche Hilfe gewährleistet werden kann.⁶⁹ Zur Prävention solcher NNK, werden nebenniereninsuffiziente Patienten wiederholt in der Eigenanpassung ihrer Glucocorticoiddosis in Belastungssituationen geschult.^{67,74,78} Sie erhalten einen Notfallausweis und werden zusätzlich mit einem Notfallkit, bestehend aus einer Ampulle Hydrocortison für Injektionszwecke, ausgestattet.^{77,79} Da Patienten jedoch nach wie vor (zum Beispiel im Rahmen von Gastroenteritiden durch ungenügende enterale Resorption des Hydrocortisons) an NNK versterben, sind eine Verbesserung der Krisenprävention und des Notfallmanagements dringend anzustreben.⁶⁹⁻⁷¹ Um den Patienten in Krisensituationen ein höheres Maß an Unabhängigkeit zu ermöglichen, erfolgen daher mittlerweile Schulungen in der Eigeninjektion von Hydrocortison. Aktuell besteht hier eine Zulassung für die intramuskuläre (i.m.) Verabreichung. Es ist jedoch anzunehmen, dass die i.m. Eigeninjektion für viele Patienten eine große Hemmschwelle darstellt und daher in Krisensituationen nicht konsequent genug angewandt wird.⁶⁹ Die subkutane (s.c.) Verabreichung von Hydrocortison wäre eine für die Patienten leicht durchzuführende und äquivalente Alternative. Erfahrungsgemäß besteht bezüglich einer s.c. Applikation von Medikamenten eine höhere Akzeptanz, da diese in vielen anderen Bereichen, wie z. B. der s.c. Selbstinjektion von Insulin bei Diabetikern oder der Injektion von Heparin in der postoperativen Phase oder bei der Injektion von Hormonpräparaten im Rahmen einer Hypophyseninsuffizienz, bereits regelmäßig Anwendung findet und bei vielen Patienten bekannt ist.

Ziel der Studie war es daher, die Pharmakokinetik und die Sicherheit der s.c. Hydrocortisonapplikation für einen routinemäßigen Einsatz in Krisensituationen im Vergleich zur i.m. Gabe zu evaluieren. Für die Studie wurden zwölf Patienten mit einer chronischen NNI eingeschlossen. Ihnen wurde an drei verschiedenen Untersuchungstagen s.c. Kochsalzlösung (Kontrollintervention), sowie s.c. und i.m.

100 mg Hydrocortison injiziert. An jedem Untersuchungstag, wurden Speichelproben sowie über eine venöse Verweilkanüle Blutproben zu 15 Zeitpunkten (0 bis 240 min nach Injektion) entnommen und asserviert. Anhand der pharmakokinetischen Profile zeigte sich, dass sowohl die i.m. als auch die s.c. Applikation von Hydrocortison zu suffizienten Wirkspiegeln ($> 36 \mu\text{g}/\text{dl}$) von Cortisol im Serum führt. Wie erwartet zeigte sich bei der i.m. Injektion von Hydrocortison ein etwas schnellerer Anstieg der Cortisolkonzentration. Andererseits ergab sich nach der s.c. Injektion von Hydrocortison eine längere mittlere Verweildauer im Blut. Des Weiteren wurde nach s.c. Applikation eine stärkere Abhängigkeit der Serumcortisolprofile vom BMI der Patienten beobachtet. Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse traten nicht auf. Leichte unerwünschte Ereignisse, ließen sich vielmehr auf die Injektion an sich, als auf die applizierte Substanz Hydrocortison zurückführen und waren überwiegend bei der i.m. Applikation zu beobachten. Die Beurteilung der Patientenzufriedenheit anhand eines Fragebogens zeigte deutlich, dass die Patienten die s.c. gegenüber der i.m. Eigeninjektion bevorzugen würden. Weiterhin wurde deutlich, dass die Bedrohung durch NNK, für einige Patienten auch eine Einschränkung der Lebensqualität bedeutet und dass sie sich durch die Möglichkeit der Eigeninjektion sicherer fühlen würden. Alle Patienten würden sich nach Studienteilnahme eine Eigeninjektion von Hydrocortison zutrauen. Diese Ergebnisse zeigen, dass die s.c. Applikation von Hydrocortison eine geeignete Alternative zur i.m. Injektion darstellt; besonders für Patienten mit einem normwertigen BMI und im Falle von beginnenden NNK, bevor es evtl. zur Beeinträchtigung der Zirkulation im Schock und einer möglicherweise unzureichenden Resorption bei einer Minderdurchblutung des Fettgewebes kommt. Da die Patienten die s.c. der i.m. Applikation deutlich vorziehen würden, kann davon ausgegangen werden, dass nebenniereninsuffiziente Patienten die s.c. Eigeninjektion konsequenter einsetzen würden. Durch eine geringere Hemmschwelle gegenüber der s.c. Gabe und einem folglich vermehrten Einsatz der Eigeninjektion bei beginnenden Krisen, könnte die Zahl der NNK und deren Mortalität gesenkt werden. Allerdings ist die i.m. Verabreichung von Hydrocortison auch weiterhin als eine sehr gute und schneller wirksamere Art der Eigeninjektion zu betrachten, die den Patienten in erster Linie empfohlen werden kann. Zur Krisenprävention sollte zukünftig, zusätzlich zum Notfallausweis und der generellen Aufklärung, der Schwerpunkt auch auf eine individuelle Schulung im

richtigen Umgang mit der Eigeninjektion von Hydrocortison in Notfallsituationen gelegt werden. Des Weiteren sollte generell neben der Optimierung der Substitutionstherapie auch die Verbesserung des Krisenmanagements mit im Fokus der NNI-Forschung stehen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Lippert H. Lehrbuch Anatomie : 184 Tabellen (ed 7., erw. Aufl.). München [u.a.]: Elsevier; 2006.
2. Sobotta J, Welsch U, Sobotta W. Lehrbuch Histologie : Zytologie, Histologie, mikroskopische Anatomie ; mit 21 Tabellen (ed 1. Aufl.). München [u.a.]: Elsevier; 2003.
3. Deetjen P, Alzheimer C, Deetjen Speckmann H. Physiologie : mit 88 Tabellen ; plus CD-ROM mit Prüfungsfragen und allen Abbildungen ; [Lern-Tipp: nach neuer AO] (ed 4., vollst. überarb. Aufl.). München [u.a.]: Elsevier; 2005.
4. Rassow J, Deutzmann R, a RNu. Duale Reihe Biochemie (ed 2. Aufl.). [s.l.]: Georg Thieme Verlag; 2008.
5. Schiebler TH. Anatomie : Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskatalogs (ed 9., vollst. überarb. Aufl.). Berlin [u.a.]: Springer Medizin; 2005.
6. Junqueira LCU, Carneiro J, Gratzl M. Histologie. Springer-Lehrbuch. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2005.
7. Löffler G, Petrides PE, Löffler P. Biochemie und Pathobiochemie : mit 218 Tabellen ; [mit Poster] (ed 7., völlig neu bearb. Aufl.). Berlin [u.a.]: Springer; 2003.
8. Crown A, Lightman S. Why is the management of glucocorticoid deficiency still controversial: a review of the literature. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63(5):483-492.
9. Bornstein SR. Restoring adrenomedullary function. *Horm Metab Res*. 2005;37(8):461-462.
10. Axelrod J, Reisine TD. Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*. 1984;224(4648):452-459.
11. Doupe AJ, Landis SC, Patterson PH. Environmental influences in the development of neural crest derivatives: glucocorticoids, growth factors, and chromaffin cell plasticity. *J Neurosci*. 1985;5(8):2119-2142.
12. Zuckerman-Levin N, Tiosano D, Eisenhofer G, Bornstein S, Hochberg Z. The importance of adrenocortical glucocorticoids for adrenomedullary and physiological response to stress: a study in isolated glucocorticoid deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(12):5920-5924.
13. Wong DL, Siddall B, Wang W. Hormonal control of rat adrenal phenylethanolamine N-methyltransferase. Enzyme activity, the final critical pathway. *Neuropsychopharmacology*. 1995;13(3):223-234.
14. Weise M, Mehlinger SL, Drinkard B, et al. Patients with classic congenital adrenal hyperplasia have decreased epinephrine reserve and defective glucose elevation in response to high-intensity exercise. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):591-597.
15. Tutunculer F, Saka N, Arkaya SC, Abbasoglu S, Bas F. Evaluation of adrenomedullary function in patients with congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res*. 2009;72(6):331-336.
16. Merke DP, Chrousos GP, Eisenhofer G, et al. Adrenomedullary dysplasia and hypofunction in patients with classic 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med*. 2000;343(19):1362-1368.

17. Arlt W, Allolio B. Adrenal insufficiency. *Lancet*. 2003;361(9372):1881-1893.
18. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R. Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr Rev*. 2002;23(3):327-364.
19. Allolio B. *Praktische Endokrinologie* (ed 2. Aufl.). München: Elsevier; 2010.
20. Reddy P. Clinical approach to adrenal insufficiency in hospitalised patients. *Int J Clin Pract*. 2011;65(10):1059-1066.
21. Willis AC, Vince FP. The prevalence of Addison's disease in Coventry, UK. *Postgrad Med J*. 1997;73(859):286-288.
22. Lovas K, Husebye ES. High prevalence and increasing incidence of Addison's disease in western Norway. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;56(6):787-791.
23. Soule S. Addison's disease in Africa--a teaching hospital experience. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;50(1):115-120.
24. Betterle C, Morlin L. Autoimmune Addison's disease. *Endocr Dev*. 2011;20:161-172.
25. Neufeld M, Maclaren NK, Blizzard RM. Two types of autoimmune Addison's disease associated with different polyglandular autoimmune (PGA) syndromes. *Medicine (Baltimore)*. 1981;60(5):355-362.
26. Forest MG. Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hum Reprod Update*. 2004;10(6):469-485.
27. Landau Z, Hanukoglu A, Sack J, et al. Clinical and genetic heterogeneity of congenital adrenal hypoplasia due to NR0B1 gene mutations. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;72(4):448-454.
28. Moser HW. Adrenoleukodystrophy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy. *Brain*. 1997;120 (Pt 8):1485-1508.
29. Cooray SN, Chan L, Metherell L, Storr H, Clark AJ. Adrenocorticotropin resistance syndromes. *Endocr Dev*. 2008;13:99-116.
30. Sarathi V, Shah NS. Triple-A syndrome. *Adv Exp Med Biol*. 2010;685:1-8.
31. Powrie JK, Powell M, Ayers AB, Lowy C, Sonksen PH. Lymphocytic adenohypophysitis: magnetic resonance imaging features of two new cases and a review of the literature. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;42(3):315-322.
32. Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Gruters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet*. 1998;19(2):155-157.
33. Krasner AS. Glucocorticoid-induced adrenal insufficiency. *JAMA*. 1999;282(7):671-676.
34. Wood JB, Frankland AW, James VH, Landon J. A Rapid Test of Adrenocortical Function. *Lancet*. 1965;1(7379):243-245.
35. Grinspoon SK, Biller BM. Clinical review 62: Laboratory assessment of adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(4):923-931.
36. Lehnert H, Begum N, Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel : 154 Tabellen* (ed 3., komplett überarb. und erw. Aufl.). Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2010.
37. Clark PM, Neylon I, Raggatt PR, Sheppard MC, Stewart PM. Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: implications for the

investigation of hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;49(3):287-292.

38. Oelkers W, Diederich S, Bahr V. Diagnosis and therapy surveillance in Addison's disease: rapid adrenocorticotropin (ACTH) test and measurement of plasma ACTH, renin activity, and aldosterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75(1):259-264.

39. Tuchelt H, Dekker K, Bahr V, Oelkers W. Dose-response relationship between plasma ACTH and serum cortisol in the insulin-hypoglycaemia test in 25 healthy subjects and 109 patients with pituitary disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;53(3):301-307.

40. Betterle C, Volpato M, Pedini B, Chen S, Smith BR, Furmaniak J. Adrenal-cortex autoantibodies and steroid-producing cells autoantibodies in patients with Addison's disease: comparison of immunofluorescence and immunoprecipitation assays. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(2):618-622.

41. Arlt W, Callies F, van Vlijmen JC, et al. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N Engl J Med*. 1999;341(14):1013-1020.

42. Kraan GP, Dullaart RP, Pratt JJ, Wolthers BG, Drayer NM, De Bruin R. The daily cortisol production reinvestigated in healthy men. The serum and urinary cortisol production rates are not significantly different. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(4):1247-1252.

43. Kerrigan JR, Veldhuis JD, Leyo SA, Iranmanesh A, Rogol AD. Estimation of daily cortisol production and clearance rates in normal pubertal males by deconvolution analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(6):1505-1510.

44. Hahner S, Allolio B. Therapeutic management of adrenal insufficiency. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009;23(2):167-179.

45. Quinkler M. [Addison's disease]. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2012;107(6):454-459.

46. Merza Z, Rostami-Hodjegan A, Memmott A, et al. Circadian hydrocortisone infusions in patients with adrenal insufficiency and congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;65(1):45-50.

47. Lovas K, Husebye ES. Continuous subcutaneous hydrocortisone infusion in Addison's disease. *Eur J Endocrinol*. 2007;157(1):109-112.

48. Newell-Price J, Whiteman M, Rostami-Hodjegan A, et al. Modified-release hydrocortisone for circadian therapy: a proof-of-principle study in dexamethasone-suppressed normal volunteers. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;68(1):130-135.

49. Langenheilm J, Ventz M, Hinz A, Quinkler M. Modified-Release Prednisone Decreases Complaints and Fatigue Compared to Standard Prednisolone in Patients with Adrenal Insufficiency. *Horm Metab Res*. 2012.

50. Grossman A, Johannsson G, Quinkler M, Zelissen P. THERAPY OF ENDOCRINE DISEASE: Perspectives on the management of adrenal insufficiency: clinical insights from across Europe. *Eur J Endocrinol*. 2013;169(6):R165-175.

51. Johannsson G, Nilsson AG, Bergthorsdottir R, et al. Improved cortisol exposure-time profile and outcome in patients with adrenal insufficiency: a prospective randomized trial of a novel hydrocortisone dual-release formulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(2):473-481.

52. Johannsson G, Bergthorsdottir R, Nilsson AG, Lennernas H, Hedner T, Skrtic S. Improving glucocorticoid replacement therapy using a novel modified-release hydrocortisone tablet: a pharmacokinetic study. *Eur J Endocrinol.* 2009;161(1):119-130.
53. Langenheim J, Ventz M, Hinz A, Quinkler M. Modified-release prednisone decreases complaints and fatigue compared to standard prednisolone in patients with adrenal insufficiency. *Horm Metab Res.* 2013;45(2):96-101.
54. Buttgereit F, Doering G, Schaeffler A, et al. Efficacy of modified-release versus standard prednisone to reduce duration of morning stiffness of the joints in rheumatoid arthritis (CAPRA-1): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet.* 2008;371(9608):205-214.
55. Debono M, Ghobadi C, Rostami-Hodjegan A, et al. Modified-release hydrocortisone to provide circadian cortisol profiles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(5):1548-1554.
56. Verma S, Vanryzin C, Sinaii N, et al. A pharmacokinetic and pharmacodynamic study of delayed- and extended-release hydrocortisone (Chronocort) vs. conventional hydrocortisone (Cortef) in the treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(4):441-447.
57. Whitaker MJ, Debono M, Huatan H, Merke DP, Arlt W, Ross RJ. An oral multiparticulate, modified-release, hydrocortisone replacement therapy that provides physiological cortisol exposure. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013.
58. Arlt W, Rosenthal C, Hahner S, Allolio B. Quality of glucocorticoid replacement in adrenal insufficiency: clinical assessment vs. timed serum cortisol measurements. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64(4):384-389.
59. Peacey SR, Guo CY, Robinson AM, et al. Glucocorticoid replacement therapy: are patients over treated and does it matter? *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997;46(3):255-261.
60. Hunt PJ, Gurnell EM, Huppert FA, et al. Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease in a randomized, double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(12):4650-4656.
61. Johannsson G, Burman P, Wiren L, et al. Low dose dehydroepiandrosterone affects behavior in hypopituitary androgen-deficient women: a placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(5):2046-2052.
62. Alkatib AA, Cosma M, Elamin MB, et al. A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials of DHEA treatment effects on quality of life in women with adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(10):3676-3681.
63. Debono M, Price JN, Ross RJ. Novel strategies for hydrocortisone replacement. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2009;23(2):221-232.
64. Hahner S, Loeffler M, Fassnacht M, et al. Impaired subjective health status in 256 patients with adrenal insufficiency on standard therapy based on cross-sectional analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(10):3912-3922.
65. Lovas K, Loge JH, Husebye ES. Subjective health status in Norwegian patients with Addison's disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002;56(5):581-588.
66. Lovas K, Husebye ES, Holsten F, Bjorvatn B. Sleep disturbances in patients with Addison's disease. *Eur J Endocrinol.* 2003;148(4):449-456.

67. Hahner S, Arlt W, Allolio B. [Adrenal crisis. Diagnostic and therapeutic management of acute adrenal cortex insufficiency]. *Internist (Berl)*. 2003;44(10):1243-1252.
68. Reisch N, Willige M, Kohn D, et al. Frequency and causes of adrenal crises over lifetime in patients with 21-hydroxylase deficiency. *Eur J Endocrinol*. 2012;167(1):35-42.
69. Hahner S, Loeffler M, Bleicken B, et al. Epidemiology of adrenal crisis in chronic adrenal insufficiency: the need for new prevention strategies. *Eur J Endocrinol*. 2010;162(3):597-602.
70. Erichsen MM, Lovas K, Fougner KJ, et al. Normal overall mortality rate in Addison's disease, but young patients are at risk of premature death. *Eur J Endocrinol*. 2009;160(2):233-237.
71. Bergthorsdottir R, Leonsson-Zachrisson M, Oden A, Johannsson G. Premature mortality in patients with Addison's disease: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(12):4849-4853.
72. Stefanie Hahner CS, Felix Beuschlein, Martin Fassnacht, Katharina Lang, Marcus Quinkler & Bruno Allolio. Adrenal crisis and general morbidity in chronic adrenal insufficiency prospectively assessed in 472 patients. 13th European Congress of Endocrinology. Rotterdam, The Netherlands: Stefanie Hahner; 2011.
73. Martin C, Steinke T, Bucher M, Raspe C. [Perioperative Addisonian crisis]. *Anaesthesist*. 2012;61(6):503-511.
74. White K, Arlt W. Adrenal crisis in treated Addison's disease: a predictable but under-managed event. *Eur J Endocrinol*. 2010;162(1):115-120.
75. Lelubre C, Lheureux PE. Epigastric pain as presentation of an addisonian crisis in a patient with Schmidt syndrome. *Am J Emerg Med*. 2008;26(2):251 e253-254.
76. Balasubramanian SS, Bose D. Adrenal crisis presenting as an acute abdomen. *Anaesthesia*. 2006;61(4):413-414.
77. Allolio B, Lang K, Hahner S. Addisonian crisis in a young man with atypical anorexia nervosa. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(2):115-121.
78. Mulder AH, Nauta S, Pieters GF, Hermus AR. [Addisonian crisis in patients with known adrenal insufficiency: the importance of early intervention]. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 2008;152(27):1497-1500.
79. Wass JA, Arlt W. How to avoid precipitating an acute adrenal crisis. *BMJ*. 2012;345:e6333.
80. Repping-Wuts HJ, Stikkelbroeck NM, Noordzij A, Kerstens M, Hermus AR. A glucocorticoid education group meeting: an effective strategy for improving self-management to prevent adrenal crisis. *Eur J Endocrinol*. 2013;169(1):17-22.
81. Quinkler M, Hahner S. What is the best long-term management strategy for patients with primary adrenal insufficiency? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;76(1):21-25.
82. Newrick PG, Braatvedt G, Hancock J, Corrall RJ. Self-management of adrenal insufficiency by rectal hydrocortisone. *Lancet*. 1990;335(8683):212-213.
83. Ni Chroinin M, Fallon M, Kenny D, Moriarty S, Hoey H, Costigan C. Rectal hydrocortisone during vomiting in children with adrenal insufficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2003;16(8):1101-1104.
84. Bryan SM, Honour JW, Hindmarsh PC. Management of altered hydrocortisone pharmacokinetics in a boy with congenital adrenal hyperplasia

- using a continuous subcutaneous hydrocortisone infusion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(9):3477-3480.
85. Tuli G, Rabbone I, Einaudi S, et al. Continuous subcutaneous hydrocortisone infusion (CSHI) in a young adolescent with congenital adrenal hyperplasia (CAH). *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2011;24(7-8):561-563.
86. Tsavaris NB, Karagiaouris P, Tzannou I, et al. Conservative approach to the treatment of chemotherapy-induced extravasation. *J Dermatol Surg Oncol.* 1990;16(6):519-522.
87. Abdu TA, Elhadd TA, Neary R, Clayton RN. Comparison of the low dose short synacthen test (1 microg), the conventional dose short synacthen test (250 microg), and the insulin tolerance test for assessment of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in patients with pituitary disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(3):838-843.
88. Lipiner-Friedman D, Sprung CL, Laterre PF, et al. Adrenal function in sepsis: the retrospective Corticus cohort study. *Crit Care Med.* 2007;35(4):1012-1018.
89. Sharshar T, Bastuji-Garin S, De Jonghe B, et al. Hormonal status and ICU-acquired paresis in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2010;36(8):1318-1326.
90. Salluh JJ, Bozza FA, Soares M, et al. Adrenal response in severe community-acquired pneumonia: impact on outcomes and disease severity. *Chest.* 2008;134(5):947-954.
91. du Cheyron D, Bouchet B, Cauquelin B, et al. Hyperreninemic hypoaldosteronism syndrome, plasma concentrations of interleukin-6 and outcome in critically ill patients with liver cirrhosis. *Intensive Care Med.* 2008;34(1):116-124.
92. Dimopoulou I, Stamoulis K, Ilias I, et al. A prospective study on adrenal cortex responses and outcome prediction in acute critical illness: results from a large cohort of 203 mixed ICU patients. *Intensive Care Med.* 2007;33(12):2116-2121.
93. Kyle UG, Jolliet P, Genton L, et al. Clinical evaluation of hormonal stress state in medical ICU patients: a prospective blinded observational study. *Intensive Care Med.* 2005;31(12):1669-1675.
94. Goodman S, Sprung CL, Ziegler D, Weiss YG. Cortisol changes among patients with septic shock and the relationship to ICU and hospital stay. *Intensive Care Med.* 2005;31(10):1362-1369.
95. Ray DC, Macduff A, Drummond GB, Wilkinson E, Adams B, Beckett GJ. Endocrine measurements in survivors and non-survivors from critical illness. *Intensive Care Med.* 2002;28(9):1301-1308.
96. Sprung CL, Annane D, Keh D, et al. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med.* 2008;358(2):111-124.
97. Oppert M, Reinicke A, Graf KJ, Barckow D, Frei U, Eckardt KU. Plasma cortisol levels before and during "low-dose" hydrocortisone therapy and their relationship to hemodynamic improvement in patients with septic shock. *Intensive Care Med.* 2000;26(12):1747-1755.
98. Voortman G, Mannaerts BM, Huisman JA. A dose proportionality study of subcutaneously and intramuscularly administered recombinant human follicle-stimulating hormone (Follistim*/Puregon) in healthy female volunteers. *Fertil Steril.* 2000;73(6):1187-1193.

99. Amdipharm. Patient Information Leaflet GB 727-0895-APIL, EfcortisolTM injection, hydrocortisone sodium phosphate. In: Amdipharm RH, Miles Gray Road, Basildon, Essex SS14 3AF ed: Amdipharm; 2013.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Zunächst möchte ich mich bei Frau Priv.-Doz. Dr. Stefanie Hahner und Herrn Prof. Dr. Bruno Allolio für die Möglichkeit bedanken, meine Doktorarbeit in der Endokrinologie der Uniklinik Würzburg zu absolvieren. Danke, für die Möglichkeit mich diesem Thema widmen zu dürfen, für die gute Zusammenarbeit und die Hilfestellung bei der Beantwortung offener Fragen und den schlussendlich doch immer lösbaren Problemen, die im Verlauf dieser Arbeit auftraten.

Mein ganz besonderer Dank gilt dabei vor allem Frau Priv.- Doz. Dr. Stefanie Hahner für die großartige und intensive Betreuung, die ausführlichen Erklärungen und die stetige Hilfe als Doktormutter. Jederzeit konnte ich mich bei Fragen an sie wenden und vor allem ihr verdanke ich, dass mir die Durchführung meiner Doktorarbeit so viel Freude bereitet hat. Sie hat mein bestehendes Interesse für die klinische Endokrinologie und auch die Forschung in jeder Hinsicht verstärkt.

Des Weiteren möchte ich mich bei dem ganzen Team der Abteilung Endokrinologie der Uniklinik Würzburg bedanken. Insbesondere bei Herrn Walter Rüger für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung der Untersuchungstage. Ein großes Dankeschön gilt auch allen MTAs des endokrinologischen Labors, besonders Frau Angelika Luthe und Frau Jutta Dünninger, für ihre Hilfe bei der Probenauswertung.

Ein großes Dankeschön gilt auch den 12 Studienpatienten für deren Studienteilnahme und das Vertrauen in diese klinische Studie.

Zum Schluss möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie, meinem Mann und meinen Freunden bedanken. Vielen Dank an meine Eltern und meine Schwester, dass ihr mich immer unterstützt und mir mein Studium ermöglicht habt. Mein allergrößtes Dankeschön geht an meinen Mann, Simon. Danke für deine Hilfe. Ich bin froh, dass du an meiner Seite und immer für mich da bist und mich bei all meinen Entscheidungen unterstützt oder diese auch kritisch hinterfragst.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN:

Name: Stephanie Burger-Stritt
geb. Burger
Geburtsdatum: 11.11.1986
Geburtsort: Baden (Schweiz)

AUSBILDUNG:

10/2009 - 11/2013 Studium der Humanmedizin in Würzburg
12/2011 - heute Medizinische Doktorandin im Fachbereich Endokrinologie,
Universitätsklinikum Würzburg
Titel der Dissertation: Pharmakokinetik der subkutanen
Hydrocortisonapplikation im Vergleich zur intramuskulären Gabe
bei Patienten mit chronischer Nebenniereninsuffizienz
(PHYSICA-Studie; EudraCT-Nr. 2011-002687-25)
04/2007 - 09/2009 Studium der Humanmedizin in Gießen
09/1997 - 07/2006 Klettgaugymnasium in Tiengen

PRAXISERFAHRUNG:

Praktisches Jahr:

04/2013 - 07/2013 Innere Medizin, Universitätsklinikum Würzburg
12/2012 - 04/2013 Chirurgie, Universitätsklinikum Würzburg
08/2012 - 12/2012 Neurologie, Universitätsklinikum Würzburg

Famulaturen:

03/2012 Innere Medizin /Ambulanz, Universitätsklinikum Würzburg
03/2011 Innere Medizin/ Endokrinologie , Universitätsklinikum Würzburg
08/2010 Notaufnahme, Spital Waldshut
03/2010 Innere Medizin/Kardiologie, Universitätsklinikum Würzburg
08/2009 Allgemein Chirurgie, Spital Waldshut

Krankenpflegepraktikum:

08/2006 – 10/2006 Unfallchirurgie, Spital Waldshut

Außerschulische Seminare:

09/2005 - 07/2006 Teilnahme am Hochrheinseminar für biotechnologische Arbeitsmethoden

PUBLIKATIONEN:

05/2013 Hahner S*, Burger-Stritt S*, Allolio B; Subcutaneous hydrocortisone administration for emergency use in adrenal insufficiency; European Journal of Endocrinology 2013
(*gemeinsame Erstautorenschaft)

Würzburg, 24. Februar 2014

Name: Stephanie Burger-Stritt

Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die Dissertation selbständig angefertigt habe. Übernommene Inhalte wurden von mir eindeutig gekennzeichnet.

Die Gelegenheit zum Promotionsverfahren wurde mir nicht kommerziell vermittelt. Insbesondere wurde keine Person oder Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuer bzw. Betreuerinnen für die Anfertigung von Dissertationen sucht.

Ich erkläre weiterhin, dass ich die Regeln der Universität Würzburg über gute wissenschaftliche Praxis eingehalten habe.

Meine Dissertation wurde weder vollständig noch teilweise schon einmal einer anderen Fakultät mit dem Ziel, einen akademischen Grad zu erzielen, vorgelegt.

Ich habe bis zum heutigen Tag keine akademischen Grade erworben, noch versucht solche zu erwerben.

Es wurde mir kein akademischer Grad entzogen, noch wurde gegen mich diesbezüglich ein strafrechtliches Ermittlungsverfahren oder Disziplinarverfahren eingeleitet.

Datum

Unterschrift