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

Bioverfügbarkeit verschiedener Darreichungsformen von clathriertem Dehydroepiandrosteron (DHEA) gegenüber nativem DHEA bei Frauen mit Nebennierenrindeninsuffizienz

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Susann Margot Louise Günther

aus Haibach

Würzburg, Januar 2006

Referent: Prof. Dr. med. Bruno Allolio
Koreferent: Prof. Dr. med. Marc Sütterlin

Dekan: Prof. Dr. med. Georg Ertl
Tag der mündlichen Prüfung: 11.07.2006

Die Promovendin ist Ärztin

1.) Einleitung 1
1.1. Dehydroepiandrosteron (DHEA): Struktur, Biosynthese, Sekretion 3
1.2. Regulation der adrenalen Androgensynthese 7
1.3. Wirkmechanismen von DHEA 8
1.3.1. Endokrine und intrakrine Wirkung 8
1.3.2. Neurosteroidale Wirkung 11
1.3.3. Spezifische Wirkung über einen membrangebundenen Rezeptor 11
1.3.4. Interaktionen mit dem Immunsystem 12
1.4. Einfluss von DHEA auf verschiedene Organsysteme 12
1.4.1. Zentrales Nervensystem 12
1.4.2. Somatotrope Achse 14
1.4.3. Lipid- und Insulinsensitivität 15
1.4.4. Muskel- und Fettgewebe 16
1.4.5. Haut 16
1.4.6. Knochen 16
1.4.7. Immunsystem 17
1.4.8 Vaskuläres System 18
1.5. Studien zur Bioverfügbarkeit von exogen zugeführtem DHEA 18
1.5.1. Studien mit supraphysiologischen DHEA-Dosen 18
1.5.2. Studien mit physiologischen DHEA-Dosen 19
1.5.3. Studien mit nicht-oraler Applikation von DHEA 23
1.6. Clathrierung als Prinzip zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit 23
1.7. Fragestellungen 24

2.) Patientinnen und Methoden 26
2.1. Patientinnen
2.1.1. Einschlusskriterien 26
2.1.2. Ausschlusskriterien 26
2.2. Studienaufbau 27
2.2.1. Studiendesign 27
2.2.2. Studienablauf 27
2.3. Darreichungsform der Prüfsubstanzen 29
2.3.1. DHEA-nativ 29
2.3.2. DHEA-Clathrate 29
2.4. Hormonbestimmungen 29
2.4.1. DHEA 30
2.4.2. DHEA-S 32
2.5. Statistik 34

3.) Ergebnisse 34
3.1. Serumkonzentrationen von DHEA 34
3.2. Serumkonzentrationen von DHEA-S 37

4.) Diskussion 42

5.) Zusammenfassung 46

6.) Literaturverzeichnis 48

1. Einleitung

Dehydroepiandrosteron (DHEA) ist in der letzten Zeit immer häufiger in der Laienpresse als „Jungbrunnen“ und „Quelle der ewigen Jugend“ beworben wurden. In der Bevölkerung wird das Interesse geweckt, diese „Wunderpille“ zu erwerben. In den USA und Kanada begannen daraufhin etliche ältere Bürger mit einer unkontrollierten Einnahme von DHEA, denn DHEA gilt in den USA nicht als Medikament, sondern als Nahrungsmittelzusatz und ist somit frei erhältlich. Seine Herstellung unterliegt damit nicht dem Arzneimittelgesetz und wird demnach auch nicht überwacht. In stichprobenartigen Messungen von unterschiedlichen US-Präparationen, die als „DHEA 25 mg“ ausgewiesen waren, lagen die tatsächlich gemessenen DHEA-Mengen zwischen 0 und 140 mg [1].

Zunächst einmal muss gegen eine unkritische Einnahme von DHEA appelliert werden, denn die Auswirkungen einer DHEA-Therapie bei älteren Menschen mit nur relativem DHEA-Mangel gelten noch nicht als ausreichend erforscht.

Aber wie verhält es sich bei Patienten mit einem DHEA-Mangel, z.B. bei Patienten mit einer primären oder sekundären Nebennierenrindeninsuffizienz?

Die Substitutionstherapie mit Mineralokortikoiden und Glukokortikoiden ermöglicht den Patienten mit Nebenniereninsuffizienz heutzutage eine relativ gute Lebensqualität und wird standardisiert durchgeführt.

Obwohl DHEA und sein Sulfatester DHEA-S mengenmäßig die bedeutendsten Hormone der menschlichen Nebennierenrinde sind, gehören sie noch nicht zur standardisierten Substitutionstherapie bei Ausfall der Nebennierenrinde.

In den letzten Jahrzehnten standen diese zwei Hormone vermehrt im Mittelpunkt der Forschung. Es konnte gezeigt werden, dass DHEA über zwei verschiedene Möglichkeiten Einfluss auf den Organismus nehmen kann: Zum einen stellt DHEA das wichtigste Vorläuferhormon der Androgene und Östrogene im menschlichen Körper dar. Zum anderen wirkt DHEA direkt auf das zentrale Nervensystem, das Immunsystem, den Knochen- und Lipidstoffwechsel und auf die Zellproliferation.

Morales und Yen behandelten 1994 dreißig Männer und Frauen zwischen 40 und 70 Jahren in einer doppelblinden placebo-kontrollierten Crossover-Studie über drei Monate mit 50 mg DHEA täglich [2]. Hochinteressant war dabei, dass 67% der Männer und 80% der Frauen unter DHEA eine Besserung ihres Wohlempfindens angaben.

Ein Jahr zuvor hatten Riedel et al. gezeigt, dass Addison-Patienten trotz adäquater Gluko- und Mineralokortikoidsubstitution gegenüber gesunden Individuen häufig eine niedrigere Lebensqualität haben [3].

Die Lebensqualität von Patienten mit Nebennierenrindeninsuffizienz stand auch bei Arlt et al. in einer doppelblinden, placebo-kontrollierten, randomisierten Crossover-Studie im Mittelpunkt, in der erkrankte Frauen über 4 Monate mit 50 mg DHEA täglich behandelt wurden. Die Standardhormonersatztherapie dieser Patientinnen bestand aus Gluko- und Mineralokortikoiden, während DHEA bisher nicht ersetzt wurde. In der psychometrischen Diagnostik fand sich in allen Skalen eine signifikante Verbesserung des Wohlbefindens. Vor allem zeigte sich eine ausgeprägte Abnahme der Ängstlichkeit und der Depressivität [4].

Weiterhin hatte die DHEA-Einnahme, wahrscheinlich vermittelt durch die Konversion von DHEA zu aktiven Androgenen, einen Einfluss auf das sexuelle Erleben der Patientinnen. Es kam zu einem hochsignifikanten Anstieg der Zufriedenheit mit den seelischen und körperlichen Anteilen des Sexuallebens. Zusätzlich zu den Veränderungen im Bereich des Wohlbefindens und der Sexualität kam es zu positiven Effekten an der Haut und den Haaren [4].

Diese Studie konnte zeigen, dass Frauen mit Nebennierenrindeninsuffizienz offensichtlich definitiv von einer Hormonersatztherapie mit DHEA profitieren.

Durch weitere nachfolgende Studien konnten die positiven Ergebnisse dieser ersten Studie bestätigt werden [5-8].

Daher sollte zusätzlich zur standardisierten Gluko- und Mineralokortikoidbehandlung von Patienten mit Nebennierenrindeninsuffizienz eine Therapie mit DHEA angedacht werden.

Zurzeit werden intensive Bemühungen unternommen, damit DHEA als Medikament für die Behandlung von Nebennierenrindeninsuffizienz in Deutschland zugelassen und somit die Kostenübernahme durch die Krankenkassen erleichtert wird.

Von den Pharmafirmen „Jenapharm“ und „Actimex srl“ wurden verschiedene patentierbare galenische Zubereitungen von DHEA entwickelt, die in „in vitro“-Studien eine verbesserte galenische Verfügbarkeit (Desintegration und Dissolution) gegenüber nativem DHEA zeigten [9].

Durch unsere Studie sollte nun in vivo die Bioverfügbarkeit dieser verschiedenen Clathrate gegenüber nativem DHEA untersucht werden.

Im Folgenden werden wissenschaftliche Grundlagen zu DHEA einschließlich seiner klinischen Bedeutung und Bioverfügbarkeit dargestellt, um daraus die Fragestellung abzuleiten.

1.1. Dehydroepiandrosteron (DHEA): Struktur, Biosynthese, Sekretion

Dehydroepiandrosteron (DHEA; 5-Androsten-3β-ol-17-on) und dessen sulfatierte Form Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEA-S) sind die wichtigsten in der Zona reticularis der Nebennierenrinde (NNR) gebildeten Hormone.
Die Nebenniere ist hierbei, neben geringfügiger Synthese in Ovar und Testes, die Hauptquelle der DHEA-Sekretion, denn nach adrenaler Suppression durch Dexamethason ist ein über 90 %iger Abfall der zirkulierenden DHEA(S)-Konzentrationen im Serum [10] zu verzeichnen. Außerdem haben Patienten mit NNR-Insuffizienz pathologisch niedrige Serumkonzentrationen [11-13], unabhängig von ihrer Gonadenfunktion [14].
DHEA entsteht aus Cholesterin, das aus drei zusammenhängenden C-6-Ringstrukturen (A-C), einem C-5 Ring (D), zwei Methylgruppen und einer Kohlenstoffseitenkette aufgebaut ist und damit 27 Kohlenstoffatome besitzt.
Im ersten Schritt der Steroidhormonsynthese wird die C-6-Einheit aus der langen Seitenkette des Cholesterins durch eine hydrolytische Spaltung entfernt, so dass Pregnenolon (C-21-Steroidhormon) entsteht. Die Spaltung wird durch das Enzym 20,22-Desmolase katalysiert.

Die Umwandlung von Cholesterin in Pregnenolon dient allen Steroidhormonsynthesen als Ausgangsreaktion und wird durch ACTH von der Hypophyse gesteuert.
Aus Pregnenolon können nun auf unterschiedlichen Synthesewegen Glukokortikoide, Mineralokortikoide und adrenale Androgene gebildet werden (**Abb. 1**).

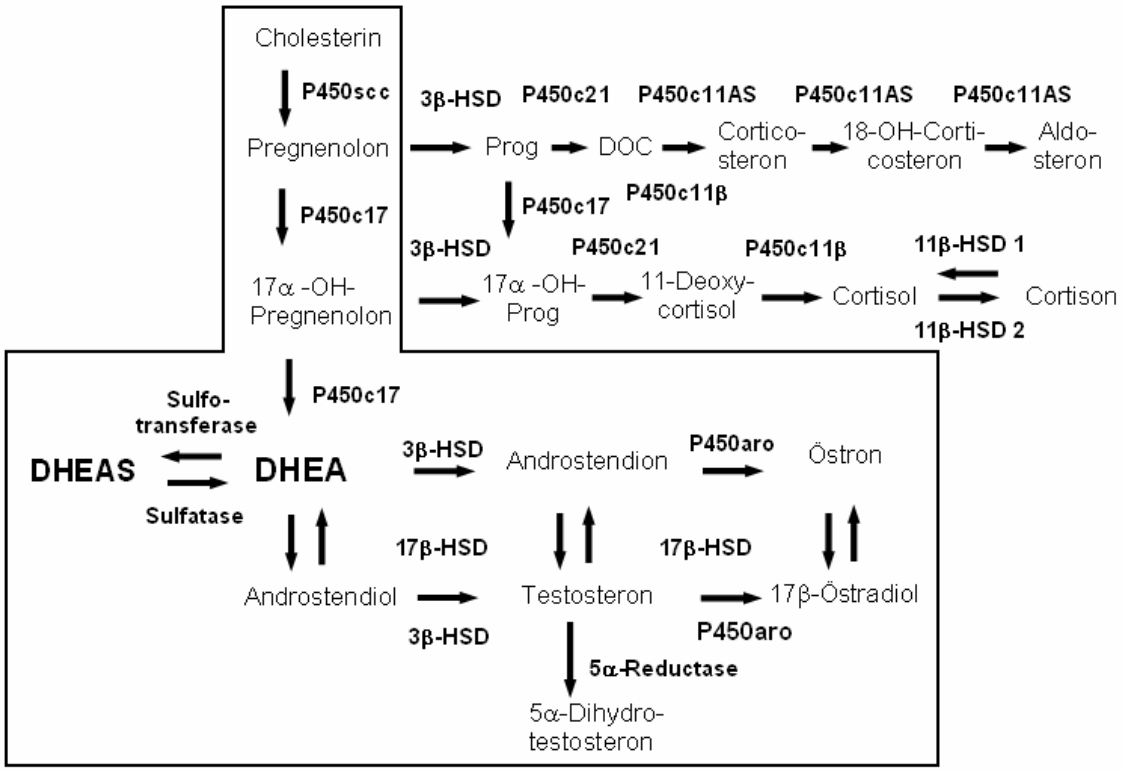

Abb. 1: Steroidbiosyntheseweg von Cholesterin zu Androgenen und Östrogenen

Bei der Synthese von DHEA wird zuerst das C-17-Kohlenstoffatom von Pregnenolon hydroxyliert. Anschließend wird die aus C-20 und C-21 bestehende Seitenkette am Ring D abgespaltet, so dass aus 17α-Hydroxy-Pregnenolon DHEA entsteht.

Die beiden letzten Schritte werden von dem Enzym P450c17 vermittelt, das sowohl eine 17α-Hydroxylase-Aktivität wie eine 17,20-Lyase-Aktivität besitzt. Obwohl P450c17 bei zwei sehr verschiedenen enzymatischen Reaktionen als Katalysator dient, wird beim Menschen nur eine Form des Enzyms exprimiert, das durch ein einziges Gen codiert wird [15]. Wie alle P450 Typ II-Enzyme ist P450c17 mikrosomal lokalisiert und benötigt für eine effiziente Katalyse obligat P450 Oxidoreduktase als Elektronendonor. Die 17,22-Lyase-Aktivität wird durch eine Interaktion des P450c17 Moleküls mit Cytochrom b5 gesteigert.

Des Weiteren dient P450c17 auch bei der Bildung von 17α-Hydroxy-Progesteron (17-OHP) aus Progesteron mit seiner 17α-Hydroxylase-Aktivität als Katalysator. Die Wirkung seiner 17,20-Lyase-Aktivität bei der Konversion von 17-OHP zu Androstendion ist äußerst gering [16], so dass die Biosynthese von Androstendion beim

Menschen ausschließlich aus DHEA durch die enzymatische Aktivität der 3β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (3βHSD) erfolgt.
DHEA (Molekulargewicht: 288,41) besteht aus 19 Kohlenstoffatomen und hat an Position C-17 eine Ketogruppe (**Abb. 2**).

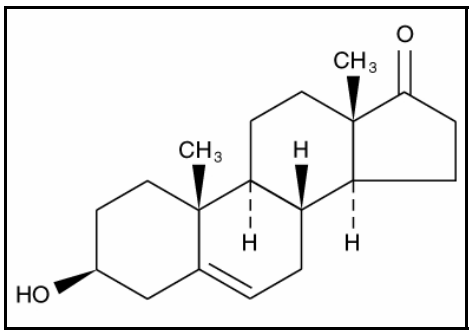

Abb. 2: Chemische Grundstruktur von Dehydroepiandrosteron
(DHEA: 5-Androsten-3ß-ol-17-on)

DHEA-Sulfat (Molekulargewicht: 371) wird durch die Übertragung einer Sulfatgruppe an die 3β-Hydroxy-Gruppe am Ring A des DHEA unter Mithilfe der DHEA-Sulfotransferase gebildet [17].

Im Gegensatz zu beiden anderen Hauptprodukten der Steroidbiosynthese in der menschlichen Nebenniere, Cortisol und Aldosteron, zeigt DHEA beim Menschen und bei höheren Primaten einen altersabhängig stark unterschiedlichen Verlauf [18, 19]. Auch zeigt DHEA dabei ein diurnales Sekretionsmuster ähnlich dem Cortisol, das sich aber zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr wieder verliert [20]. In der fetalen Nebenniere werden große Mengen DHEA gebildet, so dass Neugeborene sehr hohe Blutspiegel haben, die jedoch im Laufe des ersten Lebensjahres rasch auf kaum messbare Werte abfallen [21]. Erst zwischen dem 6. und 10. Lebensjahr, dem Zeitpunkt der sog. Adrenarche [12, 22], beginnen die Serumkonzentrationen von DHEA und DHEA-S kontinuierlich anzusteigen bis zum Erreichen des individuellen Maximums um das 30. Lebensjahr, dabei liegen die Werte der Männer deutlich über denen der Frauen. Darauf folgt – bei Frauen und Männer gleich – ein langsamer aber

kontinuierlicher Abfall auf wesentlich niedrigere Werte um das 50. Lebensjahr („Adrenopause“) und schließlich im hohen Alter auf 10-20 % der Maximalwerte [18] (**Abb. 3**).

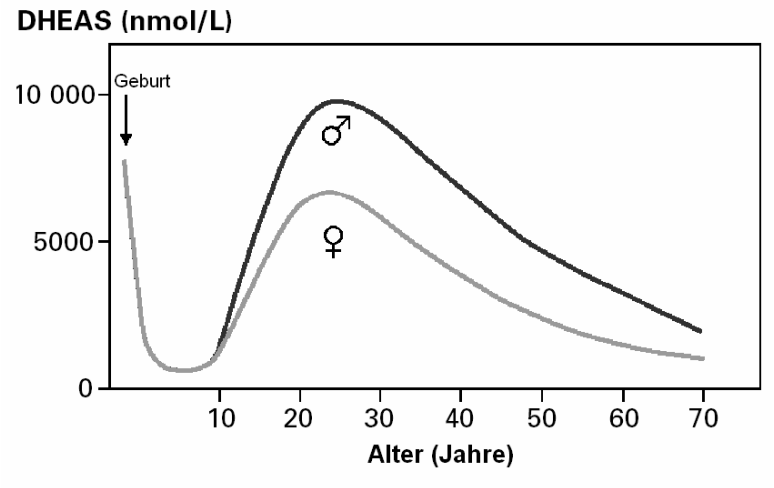

Abb. 3: Altersabhängiger Verlauf der Serumkonzentration von DHEA-S

(Arlt, W., DHEA and aging, Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 2004, 18 (3))

In einer Studie, in der die Hormonantwort nach Gabe von Cortocotropin-releasing hormone (CRH) untersucht wurde, zeigte sich auch hier eine altersassoziierte Abnahme der DHEA-Antwort, wohingegen keine altersbedingten Veränderungen in der ACTH- oder Cortisolantwort zu sehen waren [23].

In immunhistochemischen Studien konnte gezeigt werden, dass die Expression der 3βHSD in der adrenalen Zona reticularis ab dem 8. Lebensjahr deutlich abnimmt [24, 25]. Weiterhin kommt es ab dem 5. Lebensjahr zu einem Anstieg der Enzymaktivitäten von P450c17, P450 Oxidoreduktase, Cytochrom b5 und der DHEA-Sulfotransferase in der Zona reticularis [25]. Diese zwei Änderungen der Enzymexpressionen könnten den Beginn der Adrenarche erklären, wobei die zugrunde liegenden regulatorischen Prozesse noch unklar sind.

Die entsprechenden Veränderungen für den mit dem Alter einhergehenden Abfall der DHEA-Konzentrationen sind bisher noch nicht geklärt. Da sich weder der Rhythmus noch das Ausmaß der ACTH-abhängigen Cortisolsekretion altersassoziiert verändern, ist die Ursache für die Adrenopause nicht durch die hypophysären ACTH-Ausschüttung zu erklären. Die einzige beschriebene altersassoziierte Veränderung ist die Abnahme der

Breite der Zona reticularis [26], wobei der Grund hierfür in apoptotischen Phänomenen oder vaskulären Umwandlungen im intraadrenalen Kapillarbett gesucht wird.

1.2. Regulation der adrenalen Androgensynthese

Die Regulation der Nebennierenandrogenbildung ist von vielen komplexen Faktoren abhängig. Die DHEA(S)-Sekretion kann dabei in jedem Lebensalter durch ACTH stimuliert werden [27, 28]. Dabei folgt die DHEA-Sekretion der pulsatilen ACTH-Freisetzung. Die Maximalwerte der DHEA-Konzentration werden zwischen 5 Uhr und 10 Uhr morgens erreicht [29].

Das Sekretionsmuster für DHEA ist dabei im gesamten Tagesverlauf synchron mit dem des Cortisols, wie auch des Androstendions und Testosterons. Die Konzentration des DHEA-S ist dahingegen recht konstant, da einerseits die Menge des neusezernierten DHEA-S sehr gering ist gegenüber dem vorhandenen Plasmapool und andererseits die lange Halbwertszeit von 10-20 Stunden stärkere kurzfristige Schwankungen verhindert [29, 30].

Es gibt aber zudem auch eine ACTH-unabhängige Regulation, denn beim hypophysektomierten und gonadektomierten Schimpansen kommt es nach einer ACTH-Gabe nur zum Anstieg der Cortisolkonzentration, nicht aber der DHEA-Konzentration im Serum [31]. Als „Cortical Androgen Stimulating Hormones“ (CASH) wurden, meist widersprüchlich, verschiedene Proopiomelanocortin (POMC)-Derivate für die Regulation verantwortlich gemacht. Einem 18 Aminosäuren langen Peptid aus dem N-terminalen Bereich des POMC wurde eine spezifische Stimulation des DHEA in adulten NNR-Zellen zugeschrieben [32]; dieses Peptid erwies sich in anderen Arbeitsgruppen [33, 34] an humanen adulten und fetalen Zellen als wirkungslos.

Zahlreiche klinische Beobachtungen weisen auf eine gesonderte Regulation der adrenalen Androgene hin, wie z. B. die Dissoziation der Cortisolsekretion beim Stress. Die relative DHEA-Abnahme mag dabei darauf beruhen, dass ACTH die 3βHSD-Aktivität bzw. Expression stimuliert. Dementsprechend liegen auch bei Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom und Salzverlust bei 21-Hydroxylase-Mangel – in Korrelation zu erhöhten ACTH-Spiegeln - erniedrigte Delta5-Steroide (wie DHEA(S)) vor, während die Delta4-Steroide (wie Androstendion) eine deutliche Erhöhung zeigen [35-38].

In klinischen Studien und in NNR-Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass zudem Prolaktin in supraphysiologischen Konzentrationen stimulierend auf die adrenale Androgensynthese wirkt. Bei Patienten mit Prolaktinom wird je nach Grad der Prolaktinerhöhung eine positive Korrelation zu den DHEA- und DHEA-S-Spiegeln gefunden. Auch konnte durch Zugabe von Prolaktin zu ACTH-stimulierten NNR-Zellkulturen eine Steigerung der DHEA- und DHEA-S-Produktion erreicht werden. Die Ursache dieser direkt mit ACTH synergistischen Wirkung von Prolaktin auf die Synthese von DHEA wird in der partiellen Hemmung der Aktivität der 3βHSD vermutet [39].

Des Weiteren hat Insulin-Like-Growth-Factor (IGF I) eine regulative endokrine und autokrine Funktion bei der Nebennierenandrogensynthese. IGF I stimuliert an NNR-Zellen von Rindern die ACTH-Rezeptorzahl und erhöht die RNA-Expression von Enzymen, die an der adrenalen Androgensynthese beteiligt sind. Gleichzeitig bilden ACTH-inkubierte bovine NNR-Zellen selbst IGF I und IGF I-Bindungsproteine [33].

Körpereigene opiatähnliche Peptide, wie Dynorphin A und Met-Enkephalin, steigern dosisabhängig ebenso die ACTH-stimulierte DHEA(S)-Synthese in fetalen NNR-Zellen [40].

Ein nicht zu vernachlässigender Punkt in der Steuerung der adrenalen Androgensynthese liegt in der Modulation durch die Konzentration von Coenzymen. Dies betrifft die 17,22-Lyase-Aktivität des P450c17 Moleküls. Die Enzymaktivität steigt proportional zur Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten aus dem Elektronendonorsystemen Cytochrom b5 und NADPH-P450- Reduktase an, so dass eine Differenzierung zur Androgenbildung erfolgen kann [41].

1.3. Wirkmechanismen von DHEA

1.3.1. Endokrine und intrakrine Wirkung

DHEA ist in der physiologischen Situation der obligate Präkursor jeglicher Sexualsteroidsynthese beim Menschen. Androgene und Östrogene werden einerseits intragonadal aus DHEA hergestellt, andererseits werden sie in peripheren Zielzellen durch lokal synthetisierte Steroidbiosynthese-Enzyme aus DHEA generiert. Dabei wird zunächst Androstendion mittels 3βHSD aus DHEA gebildet. Außer in der

Nebennierenrinde wird Androstendion bei beiden Geschlechtern zu 40 % auch in den Gonaden produziert, wobei es bei Frauen in der Follikelphase sogar bis zu 70 % aus den Ovarien stammt [42]. Androstendion wird dann durch gewebsspezifische Isoenzyme der 17β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (17βHSD) und durch die P450-Aromatase weiter zu Testosteron oder Östrogen konvertiert.
Zudem kann DHEA peripher auch zu Intermediär-Steroiden metabolisiert werden, deren Funktion aber noch nicht geklärt ist.
Der Begriff „Intrakrinologie“ wurde dabei für das Prinzip von Sexualsteroid-Biosynthese, -Wirkung und -Metabolismus in ein und derselben peripheren Zielzelle geprägt [43].

Die Konversion zu Androgenen und Östrogenen kann nur am lipophilen DHEA, das nur in geringen Serumkonzentrationen vorhanden ist, nach Aufnahme in die Zelle erfolgen. DHEA muss dazu aus seiner mit 500-1000 fach höheren Konzentration im Blut zirkulierenden, hydrophilen Speicherform, dem DHEA-S, gewonnen werden. Dabei wird durch das mikrosomal exprimierte Enzym Steroid-Sulfatase (STS) vom DHEA-S die Sulfatgruppe hydrolytisch abgespalten. Für die STS ist eine weit gestreute Gewebe-Expression beschrieben worden [44-46]. Umgekehrt wird DHEA zur temporären Inaktivierung mit einem Sulfatrest durch die DHEA-Sulfotransferase, die beim Menschen in Leber, Nebenniere, Niere und Dünndarm beschrieben wurde [47-50], verestert. Die differentielle Gewebsexpression der STS und der DHEA-Sulfotransferase reguliert die Bioverfügbarkeit von DHEA durch Gleichgewichtssteuerung zwischen Inaktivierung von DHEA durch seine Sekretion als Sulfatester oder Aktivierung über seine Konversion in Richtung Sexualsteroide. Bei Untersuchungen der Pharmakokinetik von DHEA und DHEA-S nach DHEA-Gabe wurde gezeigt, dass DHEA und DHEA-S einer kontinuierlichen Interkonversion unterliegen [10, 51]. Dabei wird angenommen, dass bei Frauen 64 % und bei Männern 74 % des täglich produzierten DHEA-S zu DHEA umgewandelt werden, aber nur 13 % des DHEA wieder zu DHEA-S konvertiert wird [52].
In einer kürzlich veröffentlichten Studie von Hammer et al., in der acht gesunden jungen Männern 100mg DHEA oral, bzw. 25mg DHEA-S intravenös verabreicht wurden, stand die DHEA/DHEA-S-Interkonversion im Mittelpunkt. Nach beiden Applikationsformen stiegen die DHEA-S-Konzentrationen gegenüber den Basalwerten in ähnlicher Weise an, so dass kein signifikanter Unterschied in der AUC (0-6h) (area

under the curve) bestand. Bezüglich der DHEA-Konzentrationen gab es allerdings deutliche Unterschiede. Nach der oralen Einnahme von 100mg DHEA stiegen die DHEA-Konzentrationen erwartungsgemäß an. Demgegenüber zeigte sich nach der intravenösen DHEA-S Applikation kein signifikanter Anstieg der DHEA-Konzentration, so dass die AUC (0-6h) einen nahezu identischen Wert wie am Kontrolltag ergab. Es gab also keine signifikante Konversion von DHEA-S zu DHEA. Dies wurde zudem durch die Tatsache belegt, dass nach der DHEA-Einnahme signifikante Anstiege für Androstendion, Östron und Androstandiol-Glukuronid gemessen wurden, wohingegen nach DHEA-S-Applikation kein Anstieg der Metabolite zu verzeichnen war [53].

Dies legt eine eher geringe Bedeutung der hepatischen Sulfatase in der Regulation des Verhältnisses zwischen zirkulierendem DHEA-S und DHEA nahe, wohingegen die hepatische Sulfotransferase eine ergiebige Konversion von DHEA zu DHEA-S bewirkt. Diese Ergebnisse, die auch durch in vitro – Untersuchungen bestätigt wurden, stellen die bisher gültige Vorstellung einer freien Interkonversion zwischen DHEA und DHEA-S in Frage.

Bei der Konversion zu Sexualsteroiden zeigte sich in Studien zur Pharmakokinetik und Biokonversion bei Probanden mit niedrigen DHEA-S-Serumkonzentrationen nach DHEA-Gabe ein sexuell dimorphes Muster, mit signifikant erhöhten zirkulierenden Androgenen bei der Frau [10] und zirkulierenden Östrogenen beim Mann [51]. Die zirkulierenden Sexualsteroid-Konzentrationen eignen sich aber nicht, die Biokonversion vollständig abzubilden. Um die intrakrine gewebsspezifische Konversion von DHEA besser bewerten zu können, werden daher die Metaboliten der Sexualsteroide teils mitgemessen. In einer Studie an gesunden älteren Männern konnte nach DHEA-Gabe zwar kein Anstieg der zirkulierenden Androgene gefunden werden, aber 5α-Androstan-3α,17β-diol-Glucuronid (ADG), der Hauptmetabolit von Dihydrotestosteron [54, 55], der nur im peripheren Androgen-Zielgewebe synthetisiert wird, stieg deutlich an [51].

1.3.2. Neurosteroidale Wirkung

Neben der indirekten Wirkung von DHEA im Gefolge seiner Biokonversion zu Androgenen und/oder Östrogenen im peripheren Zielgewebe, wirkt DHEA auch direkt als Neurosteroid durch Interaktion mit Neurotransmitter-Rezeptoren im Gehirn. Baulieu und Arbeitsgruppe konnten erstmals die Synthese von DHEA im zentralen Nervensystem (ZNS) belegen: sie wiesen eine gleich bleibend hohe DHEA-Konzentration im Hirngewebe von Ratten nach, denen Wochen zuvor die Nebennieren und Gonaden entfernt worden waren [56].
In anderen Arbeiten konnte die Expression von P450c17 im Gehirn und damit die intrazerebrale de novo-Synthese von DHEA nachgewiesen werden [57]. Auch erfolgt eine effektive Weiterkonversion von DHEA zu Sexualsteroiden und Intermediär-Steroiden durch nachgewiesene Steroidbiosynthese-Enzyme [35-37, 58, 59].
Auf dieser Wirkebene haben Compagnone und Mellon [60] nachgewiesen, dass DHEA und DHEA-S direkt und differenziert auf das neuronale Wachstum und die kortikale Organisation einwirken. DHEA übt als allosterischer Antagonist des γ-Aminobuttersäure ($GABA_A$)-Rezeptors [61, 62] und als Modulator der über den Sigma-Rezeptor vermittelten N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Antwort [63] seine Wirkung aus. Der dabei entstehende intrazelluläre Calcium-Anstieg kann durch einen Antagonisten des NMDA-Rezeptors verhindert werden [60].
DHEA kann also als klassisches Neurosteroid angesehen werden, da es alle Kriterien (Synthese und Wirkung im ZNS) hierfür erfüllt.

1.3.3. Spezifische Wirkung über einen membrangebundenen Rezeptor

Obgleich bisher kein spezifischer DHEA-Rezeptor geklont werden konnte, verstärken sich die Hinweise darauf, dass es eine direkte DHEA-Wirkung gibt.
So wurden auf murinen und humanen T-Lymphozyten [64, 65], sowie kürzlich auf Endothelzellen [66] Bindungsstellen mit hoher Affinität für DHEA gefunden. Zudem konnte gezeigt werden, dass DHEA möglicherweise über einen G-Protein-gebundenen Plasmamembranrezeptor die Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) in Endothelzellen aktiviert [66, 67]. Ebenso wurde eine von Androgen- und Östrogen-Rezeptor unabhängige DHEA-Wirkung über die extrazelluläre Kinase I vermittelte

Phosphorylierung in menschlichen glatten Gefäßmuskelzellen gefunden [68], was eine direkte DHEA-Wirkung über spezifische Rezeptoren an Gefäßzellen nahe legt.

1.3.4. Interaktionen mit dem Immunsystem

Svec und Porter untersuchten in einer Meta-Analyse von 112 Studien denkbare biologische Effekte von DHEA bei Nagern (n=95) und Menschen (n=17). Sie zogen daraus die Schlussfolgerung, dass innerhalb des physiologischen Serumkonzentrationsbereiches mit immunologischen Effekten von DHEA zu rechnen ist [69].
DHEA scheint der Entwicklung des Immunsystems im Alter entgegen zu wirken: im höheren Lebensalter wird normalerweise ein Abfall des zirkulierenden Interleukin 2 (IL-2) und ein Anstieg des Interleukin 6 (IL-6) verzeichnet, in in-vitro-Untersuchungen stimuliert DHEA aber die Sekretion von IL-2 durch T-Lymphozyten [70] und hemmt die IL-6 Produktion der mononuklearen Blutzellen [71]. Außerdem verstärkt DHEA in vitro die Lipopolysaccharid-induzierte Monozytenaktivierung [72, 73].
Eine Weiterkonversion von DHEA in humanen Makrophagen durch lokal exprimierte Steroidbiosynthese-Enzyme wurde erst vor kurzem beschrieben [74], was die Folgerung zuläßt, dass auch die immunologischen Effekte von DHEA nur indirekt, nach Weiterkonversion zu anderen Steroiden, zur Wirkung kommen.

1.4. Einfluss von DHEA auf verschiedene Organsysteme

1.4.1. Zentrales Nervensystem

Morales und Yen behandelten 1994 dreißig Männer und Frauen zwischen 40 und 70 Jahren in einer doppelblinden placebo-kontrollierten Crossover-Studie über drei Monate mit 50 mg DHEA täglich [2]. Hoch interessant war dabei, dass 67 % der Männer und 80 % der Frauen unter DHEA eine Besserung ihres Wohlbefindens angaben; vor allem in den Bereichen Stimmungslage, Gefühl der Entspannung, tieferer Schlaf, Tatkräftigkeit und Bewältigung von starken Beanspruchungen zeigten sich erstaunlich positive Auswirkungen. Allerdings wurden diese Befunde nicht mit einer standardisierten psychometrischen Evaluation erhoben.

In zwei nachfolgenden Studien wurden dann gesunde 60- bis 84-jährige Männer mittels einer Activity of daily living (ADL)-Skala [75] und gesunde 50- bis 70-jährige Männer mit validierten Fragebögen zu Wohlbefinden, Stimmung und Sexualität [76] analysiert. In beiden Studien ergaben sich keine signifikanten Effekte einer mehrmonatigen DHEA-Gabe.

Ebenso wenig konnte Van Niekerk et al. in einer placebo-kontrollierten randomisierten Studie mit einer Einnahme von 50mg DHEA pro Tag für die Dauer von dreizehn Monaten eine - durch validierte Fragebögen geprüfte - Verbesserung des Wohlbefinden und der kognitiven Leistungen nachweisen [77].

In der bisher größten Studie von Baulieu et al. an 140 Frauen und 140 Männern (60-79 Jahre) wurde der Einfluss von 50mg DHEA pro Tag standardisiert untersucht. Auch hier besserte sich weder das Wohlbefinden noch die kognitiven Leistungen [78].

Zusammenfassend zeigen die Studien an älteren Probanden nur sehr geringe Wirkungen von DHEA auf das zentrale Nervensystem verglichen mit der Placebowirkung. Die Ursache hierfür könnte aber auch daran liegen, dass in allen genannten Studien nur gesunde Probanden mit einem ausgesprochenen guten Allgemeinzustand eingeschlossen wurden, so dass die Möglichkeit einer Verbesserung des Befindens relativ beschränkt war.

Bei Patienten mit NNR-Insuffizienz hingegen, die an einem pathologischen DHEA-Defizit leiden, führt die tägliche Einnahme von DHEA zur signifikanten Verbesserung des Wohlbefindens [4, 6]. Die Analyse der Einzelskalen ergab eine besonders ausgeprägte Verbesserung für Ängstlichkeit und Depressivität [4], sowie der Stimmung, Ermüdungserscheinungen und des Selbstwertgefühls [6]. Da sich diese Effekte erst nach mehrmonatiger DHEA-Gabe einstellen, geht man von komplexeren Adaptationsprozessen im ZNS aus.

Auch bei einer basalen Beeinträchtigung des Wohlbefindens bei Patienten mit endogener Depression [79] bzw. bei Frauen mit im Rahmen der Perimenopause aufgetretener Midlife-Dysthymie [80] zeigte sich nach DHEA-Therapie eine signifikante Verbesserung der Stimmung.

Bei Patienten mit myotoner Dystrophie verbesserte eine DHEA-Gabe signifikant die Skalenwerte auf der ADL-Skala [81]. Und auch in zwei Studien an Patienten mit Multipler Sklerose verbesserte sich nach DHEA-Gabe das Wohlbefinden, der Alltag konnte leichter bewältigt werden und ein vermehrter Antrieb war feststellbar [82, 83].

Außerdem zeigte sich eine Beeinflussung des Schlafes - mit Zunahme des REM-Schlafes und der Sigma-Frequenz im EEG - nach einer Einzeldosis von 500 mg DHEA, die gesunden Probanden gegeben wurde [84].

Hochinteressant waren die Veränderungen im Bereich der Sexualität, die mittels visueller Analogskalen erfasst wurden: hier kam es bei Frauen mit NNR-Insuffizienz zu einem hochsignifikanten Anstieg nicht nur von sexuellem Interesse, sondern auch von Zufriedenheit mit dem seelischen wie dem körperlichen Anteil des sexuellen Erlebens [4]. Diese Ergebnisse wurden in einer Studie an Frauen mit sekundärer NNR-Insuffizienz, die mit 20 bis 30 mg DHEA pro Tag für sechs Monate behandelt wurden, bestätigt. Zusätzlich zeigte sich eine signifikante Verbesserung des Durchhaltevermögens und des Antriebs, was durch die Ehepartner der Patientinnen beurteilt wurde [5].
Bei 40- bis 60-jährigen Männern mit erektiler Dysfunktion, zeigte sich nach DHEA-Gabe eine signifikante Verbesserung der erektilen Funktion und anderer Sexualitäts-Aspekte [85], wohingegen in einer Studie bei älteren Männern mit basal ungestörter sexueller Funktion keine weitere Verbesserung der Sexualität unter DHEA-Gabe erreicht werden konnte [76].
Somit erscheint es wahrscheinlich, dass DHEA Zustände mit eingeschränkter bzw. gestörter Stimmung und Sexualität verbessern kann.

1.4.2. Somatotrope Achse

Morales diskutierte die von ihm aufgestellte Hypothese, ob die verbesserte Leistungsfähigkeit und Befindenslage auch auf die Wirkung von IGF I zurückzuführen ist, denn er beobachtete nach dreimonatiger DHEA-Gabe einen signifikanten Anstieg der Serum-Konzentration von IGF I [2]. IGF I (Somatomedin C), das in der Leber produziert wird, ist ein durch hypophysäres growth hormone (GH) gesteuerter Wachstumsfaktor. Es bindet an Insulin-Rezeptoren, senkt dadurch den Blutglucosespiegel und hemmt dazu den Proteinkatabolismus. In nachfolgenden Studien herrschte bezüglich der somatotropen Achse Heterogenität in den Ergebnissen: teils waren die IGF I-Konzentrationen unverändert [78, 86, 87], zum Teil leicht, aber signifikant ansteigend im physiologischen Normbereich [88, 89]. In einer Studie an

Frauen mit NNR-Insuffizienz fand sich nur bei den Patientinnen mit primärer NNR-Insuffizienz, d.h. mit funktionsfähiger Hypophyse, ein Anstieg des zirkulierenden IGF I, die Veränderung der Stimmung aber bei allen Patientinnen [4]. Daraus lässt sich folgern, dass der IGF I-Anstieg offensichtlich auf der hypothalamo-hypophysären Ebene vermittelt wird und nicht verantwortlich für die Einflüsse auf das Wohlbefinden ist.

1.4.3. Lipid- und Insulinsensitivität

Wie bereits erwähnt, kann DHEA sowohl als Androgen- als auch als Östrogenvorläufer dienen und somit dementsprechende unterschiedliche Wirkung auf das Lipoproteinsystem haben. Dabei bewirken Androgene eine Senkung des „high density lipoproteins“ (HDL) und eine Erhöhung der „low density lipoproteins“ (LDL). Bei hohen Östrogenspiegeln kommt es dagegen zu hohen HDL- und niedrigen LDL-Konzentrationen. In Studien mit eindeutig supraphysiologischen Dosen DHEA wie 1600 mg täglich zeigte sich bei gesunden jungen Männern eine signifikante LDL-Cholesterinabnahme (7 %) bei unveränderten Androgenkonzentrationen [90]. Bei postmenopausalen Frauen mit einer identischen DHEA-Gabe von 1600 mg pro Tag kam es zu einem neunfachen Anstieg der Androgene und einem Abfall des HDL-Cholesterins (20-30 %) [91]. Dies verdeutlicht nochmals, wie die geschlechtsspezifische Biokonversion von DHEA seine biologischen Auswirkungen beeinflusst.

In Studien, die physiologische (25-50 mg/d) bzw. leicht supraphysiologische (100 mg/d) DHEA-Dosen verwendeten, fand sich bei Frauen ein signifikanter Abfall von Apolipoprotein A1 [86, 88] und HDL-Cholesterin [2, 4, 86-88], jedoch nicht bei Männern [2, 88]. Dazu passend stieg bei Frauen der Androgenspiegel signifikant an, nicht aber bei den Männern. Ein signifikanter HDL-Abfall - auch bei Männern - fand sich in einer Studie mit einer Tagesdosis von 100 mg DHEA. Dieser Abfall wurde jedoch von steigenden Testosteron- und 17β-Östradiol-Serumkonzentrationen begleitet [75].

Bezüglich der Insulinempfindlichkeit zeigten sich bei Frauen mit Nebennierenrindeninsuffizienz und auch bei gesunden älteren Probanden keine Veränderungen unter DHEA-Substitution [2, 88, 92-94]. Demgegenüber beobachteten Diamond et al. in einer Studie an 15 Frauen, die mit einer 10% DHEA-Creme behandelt

wurden, niedrigere Nüchterglucose- und Insulinwerte. Es zeigten sich aber keine Veränderungen für die AUC während eines oralen Glucosetoleranztestes [87].

1.4.4. Muskel- und Fettgewebe

In allen Studien mit Doppelblind-Design fand sich keine Veränderung der Körperzusammensetzung [2, 4, 75, 86, 94]. Davon setzt sich die Arbeitsgruppe von Yen ab, die einen Anstieg der Magermasse und der Muskelkraft bei gleichzeitigem Abfall der Fettmasse bei älteren Männern, die über sechs Monate mit 100 mg pro Tag DHEA behandelt wurden, verzeichneten [92]. Zu den gleichen Ergebnissen kam man auch in zwei open label-Studien mit DHEA bei älteren Männern bzw. Frauen [87, 89]. In Studien mit supraphysiologischen Dosen von 1600 mg/d zeigte sich bei Männern eine signifikante Abnahme der Körper-Fettmasse [90] und keine Veränderung der Fettmasse bei Frauen [91].

1.4.5. Haut

Bei den Auswirkungen von DHEA auf die Haut ist vor allem der signifikante Anstieg der Talgproduktion zu nennen [78, 87]. Bei 20 % der behandelten Frauen mit NNR-Insuffizienz kam es zu Hautunreinheiten [4], wohingegen sich bei gesunden, älteren Probanden eine Verbesserung des Hautbildes, ein Anstieg der Hautoberflächen-Hydrierung und eine Abnahme der Pigmentation im Gesicht zeigten [78].

1.4.6. Knochen

Bei den Wirkungen von DHEA bei gesunden, älteren Personen und bei Patienten mit NNR-Insuffizienz auf die Knochenmetabolismus-Marker liegt ein heterogenes Bild vor. Dies reicht von ansteigenden oder gleich bleibenden Knochenaufbau-Markern bis zum Abfall oder Gleichbleiben der Knochenabbau-Marker. In der bisher größten placebo-kontrollierten Studie, bei der 280 gesunde Probanden im Alter von 60 bis 79 Jahren untersucht wurden, stieg nach zwölfmonatiger DHEA-Gabe bei Frauen unter 70 Jahren

die Knochendichte am Schenkelhals signifikant an. Bei den über 70-jährigen Frauen stieg die Knochendichte am Radius leicht an, wohingegen bei Männern jedoch keine Änderung zu sehen war [78]. Auch in zwei offenen Studien wurden leichte Anstiege der Knochendichte gesehen, deren Aussagekraft allerdings auf Grund des fehlenden Placebovergleichs sehr gering einzustufen ist [89, 95]. In zwei weiteren placebo-kontrollierten Studien wurden keine Veränderungen der Knochendichte nach sechsmonatiger DHEA-Gabe beobachtet [86, 88]. Für eine zuverlässige Beurteilung von DHEA-Effekten auf die Knochendichte sollte daher die Studiendauer mindestens zwölf Monate betragen und immer im Placebo-Vergleich durchgeführt werden.

1.4.7. Immunsystem

Erstmals wurde 1993 der Einfluss von DHEA auf das Immunsystem an elf postmenopausalen Frauen in einer randomisierten, doppelt-blinden, placebo-kontrollierten Studie mit einer täglichen Gabe von 50 mg DHEA über drei Wochen untersucht. Es kam zu einer Abnahme der $CD4^+$-Helferzellen und einem Anstieg der Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) $CD8^+/CD56^+$. Die Zytotoxizität der NK-Zellen stiegt trotz verminderter mitogener und IL-6 Antwort dramatisch an [96], was durch Mc Lachlan bestätigt wurde [72]. In weiteren Studien an gesunden älteren Männern, die über 20 Wochen mit 50 mg DHEA behandelt wurden, nahmen die T-Zellen mit γ/Δ-Rezeptor kontinuierlich und signifikant zu. Auch die Anzahl der NK-Zellen und deren Zytotoxizität stiegen nach 18-20 Wochen an [92]. Des Weiteren wurde eine Zunahme der Anzahl der Monozyten, der B-Zellen, der T-Zell-Rezeptore und der löslichen IL-2-Rezeptoren gesehen [97]. Bezüglich der IL-6-Sekretion in Abhängigkeit von DHEA bietet sich ein heterogenes Bild: teils zeigt sich eine Abnahme [71, 98], sie bleibt gleich [73] oder es kommt zu einer Steigerung [99].

Im Tierexperiment wurde an NZB/NZW-Mäusen gezeigt, dass deren antinukleare Antikörper nach Zugabe von DHEA zum Futter abnahmen und sich die Entwicklung von Proteinurie und Tod verlangsamte [100].

So untersuchte van Vollenhoven an Patientinnen mit mäßigem Systemischen Lupus erythematodes (SLE), die in der Regel niedrige DHEA(S)- und Androgenspiegel und einen deutlich verminderten Androgen/Östrogen-Quotienten haben [101], die Effekte einer Gabe von 200 mg/d über 3 bzw. 6 Monate. Die Krankheitsaktivität war signifikant

rückläufig und die Proteinurie verbesserte sich bei zwei Drittel der Patientinnen [102]. Diese Ergebnisse bestätigten sich in weiteren Studien, wobei sich zusätzlich noch eine signifikant Befindlichkeits-Verbesserung zeigte und der Bedarf der Patienten an Prednison reduziert werden konnte [103, 104].

1.4.8 Vaskuläres System

Für Männer (> 50 Jahre) - nicht aber für Frauen - konnte gezeigt werden, dass ein umgekehrtes Verhältnis bezüglich der DHEA-S-Konzentration im Serum und dem Tod durch kardiovaskuläre Erkrankungen besteht [105-107]. Zudem wurde durch Herrington et al. bei Männer – nicht aber bei Frauen – einen Zusammenhang zwischen niedrigen DHEA-S-Werten und dem Bestehen einer koronaren Arteriosklerose aufgezeigt [108].
In einer Studie an Frauen (n = 1171) und Männern (n = 963), die älter als 65 Jahre waren, wurde bei Männern mit niedrigen DHEA-S-Werten – nicht bei Frauen – eine höhere Sterblichkeit an kardiovaskulären Erkrankungen nachgewiesen [109].

1.5. Studien zur Bioverfügbarkeit von exogen zugeführtem DHEA

1.5.1. Studien mit supraphysiologischen DHEA-Dosen

In einer Studie von Nestler et al. an zehn gesunden jungen Männern wurde über 28 Tage eine DHEA-Dosis von 1600mg/d (4*400mg/d) verabreicht. Die DHEA-S-Konzentrationen stiegen um das 2,5 bis 3,5 fache an [90].

In einer Studie von Welle et al. an acht gesunden Männern wurde die gleiche Dosis (4*400mg/d) über ebenfalls 28 Tage gegeben. Hier fand sich ein Anstieg der DHEA-S-Konzentrationen um das 9-fache gegenüber den Basalwerten [110].

Mortola und Yen verabreichten in einer Studie an postmenopausalen Frauen über 28 Tage 4*400mg DHEA pro Tag. Nach der ersten 400 mg - Dosis stieg die DHEA-Konzentration um das 6-fache (tmax nach 3 Stunden), die DHEA-S-Konzentration um das 12-fache (tmax nach 4 Stunden) an, was eine unmittelbare Resorption und

Konversion von DHEA zu DHEA-S nahe legt. Nach 2 Wochen war die DHEA-Konzentrationen um das 15-fache und die DHEA-S-Konzentrationen um das 20-fache angestiegen, so dass deutlich supraphysiologische Androgenkonzentrationen gemessen wurden [91].

1.5.2. Studien mit physiologischen DHEA-Dosen

Während in den bisher erwähnten Studien die Pharmakokinetik von supraphysiologischen DHEA-Dosen betrachtet wurde, gibt es auch eine Anzahl an Studien, die die Resorption, den Metabolismus und die Wirkungen von niedrigeren DHEA-Dosen überprüfen sollten. Viele Studien enthalten allerdings keine detaillierten Pharmakokinetikdaten.

Buster et al. versuchten durch Verabreichung von 150 mg bzw. 300 mg DHEA in mikronisierter Form (Partikelgrösse < 10µm) an acht postmenopausalen Frauen den „First-Pass-Effekt“ der Leber zu mildern. Außerdem sollte die Leber durch eine beigefügte Lipidmatrix auf dem Weg der Lymphbahnen umgangen werden. Hierdurch sollte die Bioverfügbarkeit des substituierten DHEA erhöht und die hepatische Umwandlung von DHEA zu Androgenen mit deren unerwünschten Auswirkungen verringert werden. Die erreichten DHEA-Konzentrationen mit 150 mg mikronisiertem DHEA lagen durchaus höher als nach einer Einzeldosis von 400mg kristallinem DHEA, die bei Mortola und Yen erzielt wurden [91, 111].
Die DHEA-Konzentrationen stiegen für die 150mg-Dosis (300mg-Dosis) um das 7-fache (11,5-fache), für die DHEA-S-Konzentrationen um das 14-fache (20-fache). Die Maximalkonzentration wurde jeweils nach 3-4 Stunden erreicht [111].

In einer Studie von Morales et al. wurde eine Dosis von 50 mg DHEA an gesunden Frauen und Männern (40-70 Jahre) über drei Monate am Abend verabreicht. Dadurch konnten die DHEA und DHEA-S-Konzentrationen auf Werte von Erwachsenen in der zweiten Lebensdekade angehoben und hier im weiteren Verlauf der Studie stabil gehalten werden [112].

Morales et al. untersuchten zudem an acht gesunden älteren Männern und acht gesunden älteren Frauen (50-65 Jahre) die Auswirkungen einer sechsmonatigen Einnahme von 100 mg DHEA pro Tag. Hier konnten die DHEA-Werte in den Normbereich junger Erwachsener (Männer: 3-fache, Frauen: 5-fache Steigerung der Basalwerte) und die DHEA-S-Werte leicht über den Normbereich angehoben werden [88].

In einer weiteren Studie von Casson et al. wurden 25 mg mikronisiertes DHEA über sechs Monate an dreizehn postmenopausale Frauen verabreicht. Nach zwei Monaten waren die Konzentrationen von DHEA und DHEA-S auf prämenopausale Werte angestiegen, wohingegen die Bioverfügbarkeit für DHEA nach sechs Monaten deutlich verringert war und sich nicht von den Basalwerten und Placebowerten unterschied [86].

Baulieu et al. untersuchten an 140 gesunden älteren Männern und 140 gesunden älteren Frauen (60-79 Jahre) die Auswirkungen einer täglichen Applikation 50 mg DHEA über zwölf Monate. Hierbei kam es bei den Männern nach sechs Monaten zu deutlich angestiegenen DHEA-S-Konzentrationen in den Bereich von jungen Erwachsenen. Nach zwölf Monaten waren die DHEA-S-Werte wieder leicht abgefallen (nur in der Gruppe Männer < 70 Jahren). Ebenso stiegen die DHEA-S-Konzentrationen bei den Frauen deutlich an, so dass sie über dem Normbereich für junge Erwachsene lagen. Nach zwölf Monaten fielen die DHEA-S-Werte wieder ab, so dass sie nun innerhalb des Normbereiches lagen. In dieser Langzeitstudie über zwölf Monate kam es also zu keiner Akkumulation von DHEA-S [78].

In den bisher erwähnten Studien dienten gesunde Frauen und Männer unterschiedlichen Alters als Probandinnen. In den nun folgenden Studien wurden Patienten mit Nebennierenrindeninsuffizienz (NNRI) eingeschlossen.

Bei Arlt et al. erhielten 24 Frauen (23-59 Jahre) mit NNRI neben ihrer bisherigen Glucokortikoid- und Mineralokortikoidtherapie eine morgendliche orale Dosis von 50 mg DHEA pro Tag für insgesamt 4 Monate. Hierunter konnten die am Basaltag deutlich erniedrigten Konzentrationen für DHEA, DHEA-S, Androstendion und Testosteron in den Normbereich für junge Erwachsene angehoben werden [4].

In einer Studie von Hunt et al. an Frauen und Männern mit NNRI wurden ebenfalls 50 mg DHEA täglich oral verabreicht. Bei den Frauen wurden die gleichen Ergebnisse wie bei Arlt et al. [4] erzielt, wohingegen bei den Männern nur die DHEA und DHEA-S-Konzentrationen, nicht aber die Androgenkonzentrationen in den physiologischen Bereich angehoben werden konnten [6].

Auch in einer Studie von Gebre-Medhin et al. an neun Frauen mit NNRI wurden unter täglicher Substitution von 50 mg DHEA pro Tag für die Konzentrationen von DHEA, DHEA-S, Androstendion und Testosteron physiologische Werte erzielt, wohingegen nach Einnahme von 200 mg DHEA pro Tag supraphysiologische Werte erreicht wurden [7].

Johannson et al. untersuchten an 38 Frauen mit sekundärer NNRI die Einnahme von 20-30 mg DHEA pro Tag. Hierdurch wurden die Konzentrationen von DHEA und DHEA-S in den Normbereich angehoben, wohingegen für Androstendion und Testosteron nur Werte unterhalb des Referenzbereiches gemessen wurden [5].

Während die bisher genannten Studien keine detaillierten Pharmakokinetikdaten bieten, werden im Folgenden Studien vorgestellt, die genauere Bioverfügbarkeitsdaten enthalten. Mit den Ergebnissen dieser Studien werden entsprechende Resultate unserer eigenen Studie zu vergleichen sein.

In einer Studie von Arlt et al. wurden Daten zur Pharmakokinetik und Biokonversion von DHEA an neun gesunden Frauen (19-30 Jahre) nach bewusst durch Dexamethasongaben erzeugter Nebennierenrindensuppression erhoben. An den Untersuchungstagen wurden 50 mg, bzw. 100 mg DHEA oral verabreicht.
Durch die Einmalgabe von 50 mg DHEA konnte die DHEA- und DHEA-S-Suppression vollständig aufgehoben werden, so dass über ca. 12 Stunden physiologische Konzentrationen erreicht wurden. Die Maximalkonzentration unter 50 mg DHEA für DHEA (DHEA-S) von 31,65 nmol/l (15,66 µmol/l) wurde nach ca. 2,7 h (ca. 2,9 h) erreicht. Die AUC (0-12h) lag bei 241 nmol/l*h (139,6 µmol/l*h), d.h. für DHEA entspricht sie annährend den Werten vom Kontrolltag, wohingegen für DHEA-S supraphysiologische Werte erreicht wurden.

Mit der Dosis von 100 mg DHEA wurden deutlich supraphysiologische Werte für DHEA und DHEA-S erzielt. Die Maximalkonzentration unter 100 mg DHEA für DHEA (DHEA-S) von 67,5 nmol/l (26,62 µmol/l) wurde nach ca. 2,4 h (ca. 2,8 h) erreicht. Die AUC (0-12h) lag mit 383 nmol/l*h (213.3 µmol/l*h) sowohl für DHEA, als auch für DHEA-S deutlich über den Werten des Kontrolltages [10].

In einer weitern Studie erhoben Arlt et al. pharmakokinetische Daten an vierzehn gesunden älteren Männern (50-70 Jahre), die einen erniedrigten DHEA-S-Ausgangswert (DHEA-S < 4,1 µmol/l) hatten, nach Einnahme von 50 mg und 100 mg DHEA.
In dieser Studie wurden durch 50 mg DHEA die DHEA- und DHEA-S-Konzentrationen in den Bereich von jungen Männern angehoben, wohingegen 100 mg DHEA zu deutlich supraphysiologischen Konzentrationen führten.
Unter 50 mg DHEA wurden die Maximalkonzentrationen für DHEA (DHEA-S) von 36,7 nmol/l (12,4 µmol/) nach ca. 2,6 h (ca. 4,1 h) erreicht. Die AUC (0-12h) lag bei 176,1 nmol/l*h (113,6 µmol/L*h), was einem Anstieg auf 234 % (342 %) gegenüber den Basalwerten der Probanden entspricht.
Mit der Dosis von 100 mg DHEA wurden Maximalkonzentrationen für DHEA (DHEA-S) von 58,7 nmol/l (18,8 µmol/l) nach ca. 2,5 h (ca. 3,6 h) erzielt. Die AUC (0-12h) lag bei 317,6 nmol/l*h (163,8 µmol/l*h), was einem Anstieg auf 323 % (494 %) verglichen mit den Werten vom Basaltag entspricht [51].

Young et al. untersuchten an sechs Frauen und vier Männern (32-65 Jahre) mit Hypophyseninsuffizienz und einem damit verbundenem völligen Ausfall der adrenalen und gonadalen Steroidproduktion, die Bioverfügbarkeit nach oraler Gabe von 50 mg und 200 mg DHEA.
Nach Einnahme von 50 mg konnten die am Basaltag nicht nachweisbaren DHEA- und DHEA-S-Werte auf physiologische Werte junger Erwachsener angehoben werden, wohingegen nach 200 mg DHEA deutlich supraphysiologische Konzentrationen erreicht wurden.
Die Maximalkonzentration von 12,8 nmol/l von DHEA wurde nach 50 mg Gabe nach ca. 2 Stunden erreicht. Für DHEA-S wurde eine Maximalkonzentration von 15,6 µmol/l nach ca. 4 Stunden gemessen. In dieser Studie wurden keine AUC-Werte berechnet [113].

1.5.3. Studien mit nicht-oraler Applikation von DHEA

Labrie et al. verwendete eine 20% Lösung (10ml DHEA, 50% Ethanol, 50% USO Propylen-Glykol) an gesunden Männern und Frauen (60-70 Jahre) für die Dauer von 14 Tagen transdermal, um so den First-Pass-Effekt der Leber zu umgehen. Die DHEA-Konzentrationen lagen nach perkutaner Applikation bei den Männern und Frauen um 175-200 % über denen der Basalwerte. Die DHEA-S-Konzentrationen stiegen um 90-130 % gegenüber den Ausgangswerten an [114].

1995 verglichen Yen et al. die Bioverfügbarkeit von 50 mg DHEA nach sublingualer versus oraler Applikation. Bei DHEA-S gab es keinen Unterschied in der Pharmakokinetik, wohingegen die DHEA-Konzentrationen innerhalb der ersten beiden Stunden nach sublingualer Applikation deutlich höher lagen als nach der oralen Applikation [92].

Casson et al. untersuchten an acht prämenopausalen Frauen die Verabreichung von 150 mg mikronisiertem DHEA, die als Tablette in die pars posterior fornicis vaginae platziert wurde und verglichen die Ergebnisse mit der oralen Verabreichung von 150 mg mikronisiertem DHEA. Sie erreichten nach der vaginalen Applikation einen DHEA-Anstieg über 12 Stunden ähnlich der DHEA-Konzentration nach oraler Gabe. Nach vaginaler Platzierung kam es aber zu keinem Anstieg von DHEA-S und Testosteron, so dass man von einer fehlenden Biotransformation des vaginal verabreichten DHEA ausgehen muss [115].

1.6. Clathrierung als Prinzip zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit

In den oben erwähnten Studien mussten mindestens 50 mg natives DHEA zum Ausgleich eines bestehenden DHEA-Mangels eingesetzt werden, was an der geringen Bioverfügbarkeit nativem DHEA-S liegt, die auch Folge seiner verminderten Wasserlöslichkeit ist.
Cyclodextrin-Verbindungen haben sich als eine effektive Methode zur Überwindung dieses Problems erwiesen. Diese können nämlich die Löslichkeitseigenschaften und die

Bioverfügbarkeit von schlecht wasserlöslichen Medikamenten, einschließlich verschiedener Steroide, verbessern [116-119].

Darüber hinaus haben jüngste Arbeiten gezeigt, dass das Hinzufügen einer geeigneten dritten Substanz, wie z.B. Glycin, sowohl die löslichkeitsvermittelnde, als auch die komplexbildende Fähigkeit der Cyclodextrine gegenüber mehrerer Arzneimitteln positiv verändern kann [120, 121]. Deshalb wurden verschiedene Clathrate (multikomponente Komplexe) entwickelt, die die Bioverfügbarkeit von DHEA unterschiedlich beeinflussen.

Clathrate sind allgemein Einschlussverbindungen (Einlagerungsverbindungen). Es sind molekulare Dispersionen von Wirkstoffen (Gast) in speziellen Hilfsstoffen (Wirt), von denen man drei verschiedene Typen kennt: Gittereinschluss-, Moleküleinschluss- und Inklusionsverbindungen.

Gittereinschlussverbindungen lassen sich nach der Form des Hohlraumes noch einmal unterteilen in Kanal- und Käfig-Einschlussverbindungen, wobei z.B. Harnstoff oder Desoxycholsäure als Wirte dienen können. Moleküleinschlussverbindungen werden durch Cyclodextrine repräsentiert. Der dritte Typ – Inklusionsverbindungen – wird durch gequollene Makromoleküle vertreten.

Bei den DHEA-Clathraten liegt der zweite Typ – die Moleküleinschlussverbindungen – vor.

Sie bestehen alle aus nativem DHEA, alpha-Cyclodextrin und Glycin und wurden durch eine mechanisch-chemische Aktivierung unter Verwendung eines hochenergetischen vibrierenden Mahlwerkes hergestellt [9]. Die einzelnen Clathrate unterscheiden sich durch das Verhältnis der einzelnen Bestandteile zueinander. DHEA-Clathrat ist keine neue chemische Formulierung von DHEA, sondern eine neue galenische Aufarbeitung.

1.7. Fragestellungen

Vor dem Hintergrund des möglichen zukünftigen Einsatzes von DHEA in der Substitutionstherapie der Nebennierenrindeninsuffizienz sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Ist die in vivo-Bioverfügbarkeit von clathriertem DHEA besser als die von nativem DHEA?

2. Unterscheiden sich die verschiedenen Clathrate in ihrer Bioverfügbarkeit?

3. Ist es möglich durch Clathrierung des DHEA die erzielten DHEA- und DHEA-S-Konzentrationen länger im physiologischen Referenzbereich zu halten?

4. Kann durch Clathrierung eine Dosiseinsparung erreicht werden?

5. Welche Clathrierungsform ist für eine Substitutionstherapie bei Frauen mit Nebennierenrindeninsuffizienz am besten geeignet?

2. Patientinnen und Methoden

Um diese Fragen zu beantworten, haben wir an 16 Frauen mit primärer oder sekundärer Nebennierenrindeninsuffizienz eine offene, randomisierte 4-fach Einzeldosis „crossover“ Studie mit vier verschiedenen DHEA-Präparationen durchgeführt.

2.1. Patientinnen

2.1.1. Einschlusskriterien

In diese Studie wurden 16 Patientinnen aufgenommen, von denen neun an einer primären und sieben an einer sekundären Nebennierenrinden-Insuffizienz erkrankt sind. Diese waren im Alter von 29 bis 55 Jahren, wobei das Durchschnittsalter bei 41.7 ± 6.4 Jahren lag. Der Body Mass Index (BMI) lag zwischen 18.2 und 27.4 kg/m² (Mittelwert 23.3 ± 2.9 kg/m²).
Die körperliche Untersuchung und die laborchemischen Ergebnisse durften keine pathologischen und für die Studie relevanten Befunde ergeben.
Als Kriterium für die bestehende chronische NNR-Insuffizienz musste der DHEA-S Wert im Serum kleiner als 800 ng/ml sein und damit unter dem Normbereich für Frauen liegen.
Desweiteren wurde eine in den letzten drei Monaten stabil durchgeführte Substitutionstherapie (z.B. Thyroxin, Glucokortikoide, Mineralokortikoide, Estrogen/Progesteron, Wachstumshormone) gefordert.
Nachdem die Patientinnen ausführlich in mündlicher und schriftlicher Form über Art und Zweck der Studie aufgeklärt worden waren, unterzeichneten alle Studienteilnehmerinnen eine Einverständniserklärung über das durch die Ethikkomission der Universität Würzburg genehmigte Studienprotokoll.

2.1.2. Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren akute Infektionen, thromboembolische Vorerkrankungen, arterielle Hypertonie, Leber- und Nierenerkrankungen, schwerwiegende

viszeralchirugische Eingriffe und chronische Erkrankungen, die Einflüsse auf die Absorption, den Metabolismus oder die Elimination der Nahrung haben und letztlich ein nicht stabil eingestellter Diabetes mellitus.
Weiterhin führten Schwangerschaft, Stillzeit und eine nicht sicher durchgeführte Kontrazeption zum Studienausschluss. Anamnestisch durften keine Arzneimittel-unverträglichkeit oder Arzneimittelallergie, keine in den letzten drei Monaten durchgeführte Blutspende ≥ 500 ml sowie keine unausgewogene Ernährung, übermäßiger Kaffeegenuss sowie kein Drogen-, Alkohol- oder Tabakabusus vorliegen.
Routineblut- und Urinuntersuchungen durften keine für die Studie relevanten Abweichungen vom Referenzbereich ergeben (z.B. Hämoglobin < 10.5 g/dl).

2.2. Studienaufbau

2.2.1. Studiendesign

Die Untersuchungen wurden in Form einer offenen, randomisierten, four-way single-dose crossover Studie durchgeführt.

2.2.2. Studienablauf

Die sechzehn eingeschlossenen Patientinnen wurden an insgesamt fünf Studientagen ganztägig untersucht.
Der erste Studientag diente als Kontrolltag, an dem die endogenen DHEA- und DHEA-S-Spiegel (baseline) jeder Patientin ermittelt wurden.
Die Patientinnen wurden dann in vier Untergruppen eingeteilt und eine randomisierte Abfolge der vier Untersuchungstage mit Einnahme der Prüfsubstanzen Test 1, Test 2, Test 3 und Test 4 wurde zugeordnet.

Die Prüfsubstanzen für Test 1 und Test 2 wurden als Kapseln zur oralen Einnahme von der Firma Jenapharm (Jena, Deutschland) bereitgestellt.

- Test 1: „25 mg n-DHEA“ = 2 Kapseln à 12,5 mg natives DHEA
- Test 2: „25 mg c-DHEA“ = 2 Kapseln à 12,5 mg DHEA-Clathrat

Die Prüfsubstanzen für Test 3 und Test 4 waren Filmtabletten zur oralen Einnahme, die von der Firma Actimex srl (Piacenza, Italien) zur Verfügung gestellt wurden:

- Test 3: „25 mg c-DHEA-25%“ = 2 Tabl. à 12,5 mg DHEA-Clathrat-25% fast release
- Test 4: „25 mg c-DHEA-50%“ = 2 Tabl. à 12,5 mg DHEA-Clathrat-50% fast release

Zwischen den Untersuchungstagen musste ein Mindestabstand (wash-out) von sieben Tagen und ein Maximalzeitraum von dreißig Tagen eingehalten werden. Nach dem Kontrolltag war keine Auswaschphase nötig.
Sowohl am Kontrolltag, als auch an den Studientagen erschienen die Patientinnen um 7.30 Uhr in der Endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg. Die Einhaltung einer zehnstündigen Nüchternphase und einer strikten Alkohol-, Nikotin- und Koffeinkarenz wurde abgefragt. Anschließend folgten die Erhebung einer Kurzanamnese, die Überprüfung der Vitalparameter und das Anlegen einer venösen Plastikverweilkanüle mit Dreiwegehahn. Um die folgenden Blutentnahmen ohne erneute Punktionen zu ermöglichen und die Gerinnung innerhalb der Kanüle zu verhindern, wurde eine langsam laufende NaCl-Lösung angeschlossen. Zunächst erfolgten um 8.30 Uhr und um 9.00 Uhr Kontrollblutentnahmen zur Bestimmung der Sicherheitsparameter. Im Anschluss wurde dann an den Untersuchungstagen die jeweilige Prüfsubstanz mit 150 ml Mineralwasser oral verabreicht.
Im Verlauf des Tages fanden dann weitere Blutentnahmen in folgenden Abständen zum Einnahmezeitpunkt statt: 0.30, 1.00, 1.30, 2.00, 2.30, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00, 8.00, 10.00 Stunden. Zu den Zeitpunkten 1.30 und 5.30 Stunden nach Einnahme der Prüfsubstanz konnte ein standardisiertes Frühstück, bzw. Mittagessen eingenommen werden. Die Verweilkanüle wurde nach der letzten Blutentnahme um 19.00 Uhr gezogen und die Patientinnen konnten über Nacht das Klinikum verlassen.
Am darauf folgenden Morgen fand die letzte (24.00 h) Blutentnahme durch einfache Venenpunktion statt.
Die vollen 10ml-Monovetten wurden jeweils circa 30 Minuten bei Raumtemperatur zur Koagulation gebracht und anschließend bei 3000 rpm zehn Minuten lang zentrifugiert.

Der Serumüberstand wurde dann in Aliquots aufgeteilt und bis zur Analyse bei -20° Celsius eingefroren.

2.3. Darreichungsform der Prüfsubstanzen

2.3.1. DHEA-nativ

Die bei Test 1 eingesetzten Kapseln mit 12,5 mg nativem DHEA wurden von der Firma Jenapharm (Jena, Deutschland) bereitgestellt. Es handelte sich hierbei um Hartgelatine-Kapseln, die mit Pulver gefüllt waren.
Die nativen DHEA-Kapseln hatten ein mittleres Gewicht von 136,26 mg. Die Zerfallszeit (disintegration time) lag bei 5 Minuten und die Zerfallsrate (disintegration rate) betrug 94,5 % nach 60 Minuten.

2.3.2. DHEA-Clathrate

Bei Test 2 wurden Kapseln mit 12,5 mg DHEA-Clathrat von der Firma Jenapharm (Jena, Deutschland) bereitgestellt. Es handelte sich hierbei um Hartgelatine-Kapseln, die mit Pulver gefüllt waren. Das mittlere Gewicht der DHEA-Clathrat-Kapseln lag bei 136,78 mg. Die Zerfallszeit (disintegration time) betrug 6 Minuten und die Zerfallsrate (disintegration rate) wurde mit 77,9 % nach 60 Minuten angegeben.

Bei Test 3 und Test 4 wurden die Filmtabletten der Firma Actimex srl (Piacenza, Italien) verwendet. Das mittlere Gewicht betrug 420 mg und die Zerfallszeit (disintegration time) lag bei 15 Minuten.

2.4. Hormonbestimmungen

Die Serumkonzentrationen der Zielparameter DHEA und DHEA-S wurden durch kommerziell erhältliche etablierte Radioimmunoassays (RIAs) gemessen.

2.4.1. DHEA

Der verwendete RIA stammt von der Firma Diagnostic Systems Laboratories (DSL) (Sinsheim, Deutschland).

Testprinzip:

Das Verfahren beruht auf dem Grundprinzip eines Radioimmunoassays, wobei ^{125}J-markiertes DHEA und nicht radioaktiv markiertes DHEA in den Patientenproben um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen eines hochspezifischen Antikörpers konkurrieren. Die Menge von ^{125}J-markierten DHEA, das an die Antikörper gebunden ist, ist umgekehrt proportional zur DHEA-Konzentration in der Probe. Die Trennung von freiem und gebundenem DHEA erfolgt nach einer Inkubationszeit durch Fällung mit einer Präzipitationslösung (Gemisch aus zweitem Antikörper und Polyethylenglykol). Die Überstände werden nach der Zentrifugation dekantiert und die Radioaktivität wird im gamma-Counter gemessen. Anhand von Standardproben mit bekannten DHEA-Konzentrationen wird eine Standardkurve erstellt, an der die Konzentrationen der unbekannten Patientenproben abgelesen werden können.

Assay-Durchführung:

Zur Erstellung der Standardkurve werden je 100 µl der DHEA-Standards (0-30 ng/ml) mit 500 µl Tracerlösung und 100 µl DHEA-Antiserum in einem Polystyrol-Röhrchen versetzt. Zur Bestimmung der Proben werden 100 µl des Patientenserums mit 500 µl Tracerlösung und 100 µl DHEA-Antiserum versetzt. Mit den Kontrollseren I und II wird genau so verfahren. Nun werden alle Röhrchen 30 Sekunden lang geschüttelt und 60 Minuten bei 37° Celsius (Wasserbad) inkubiert. Danach wird zu allen Röhrchen 1000 µl präzipitierende Reagenz hinzugefügt. Nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten bei Raumtemperatur, werden dann alle Röhrchen für 15 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Anschließend wird der Röhrcheninhalt dekantiert und zuletzt werden alle Röhrchen 1 Minute im gamma-Counter gezählt.

Die Bestimmung der Standards, Kontrollen und Proben wurde in Doppelbestimmung durchgeführt. Des Weiteren wurden zur Qualitätssicherung alle Proben eines Patienten in einem RIA anhand derselben Standardkurve gemessen und zusätzlich je drei interne Kontrollseren bei jedem RIA verwendet.

Das im Test verwendete DHEA-Antiserum zeigt nach Angaben des Herstellers folgende Kreuzreaktivitäten:

Substanz	**% Kreuzreaktivität**
DHEA	100
DHEA-sulfate	0.020
Isoandrosterone	0.733
Androstenedione	0.460
5α-Androstane-3,17-dione	0.240
11-Deoxycortisol	0.061
Progesterone	0.045
5-Androstene-3ß,17ß-diol	0.041
Androsterone	0.034
Dexamethasone	0.031
Testosterone	0.028
19-Hydroxyandrostenedione	0.023
Androstanolon-5 α-dihydrotestosterone	0.011
5ß-Androsten-3α-ol-17-one	0.010
5α-Androstane-3α-17ß-diol	0.008
5ß-Androstane-3,17-dione	0.005
Norethindrone	0.001
Spironolactone	0.0002
4-Androsten-17ß-ol-3,11-dione	0.0001
4-Androsten-17α-ethinyl-17ß-ol-3-one	Nn
5ß-Androstane-3α-17ß-diol	Nn
5ß-Androstane-3ß-17ß-diol	Nn
Aldosterone	Nn
Corticosterone	Nn
Cortisol	Nn
Danazol	Nn
Estriol	Nn
Estrone	Nn
Norethindone	Nn
Triamcinolone	Nn
Nn = Nicht nachweisbar (<0,001)	

Die Intraassay- bzw. Interassay-Varianz (in Klammern) betrug für niedrige Plasmakonzentrationen 2,55 % (5,49 %), für mittlere 2,46 % (4,75 %) und für hohe Konzentrationen 2,39 % (5,57 %).

2.4.2. DHEA-S

Der verwendete RIA stammt von der Firma DPC Biermann (Bad Nauheim, Deutschland).

Testprinzip:

Das Verfahren beruht auf dem Grundprinzip eines Festphasen-Radioimmunoassays, wobei Serum-DHEA-S und ^{125}J-markiertes DHEA-S um eine begrenzte Zahl von Bindungsstellen hochspezifischer Antikörper konkurrieren, die auf der Innenwandung von Polypropylen-Röhrchen immobilisiert sind (solid phase). Nach Beendigung der Gleichgewichtseinstellung der Reaktion wird das freie, nicht an die Antikörper gebundene DHEA-S abgeschüttet oder abgesaugt und die Radioaktivität der Röhrchen im gamma-Counter gemessen. Die Menge von ^{125}J-markierten DHEA-S, das an die Antikörper gebunden ist, ist umgekehrt proportional zur DHEA-S-Konzentration in der Probe. Aus der Aktivität der Standardproben mit bekannten DHEA-S Konzentrationen wird eine Standardkurve erstellt, aus der anhand der Aktivität der Patientenproben, die DHEA-S-Konzentrationen abgelesen werden können.

Assay-Durchführung:

Zur Erstellung der Standardkurve werden je 50 µl der DHEA-S-Standards (0-10000 ng/ml) mit 1000 µl Tracerlösung in einem Polystyrol-Röhrchen gemischt. Zur Bestimmung der Proben werden 50 µl des Patientenserums mit 1000 µl Tracerlösung versetzt. Mit den Kontrollseren I und II wird genau so verfahren. Nun werden alle Röhrchen 30 Sekunden lang geschüttelt und anschliessend 30 Minuten bei 37° Celsius im Wasserbad inkubiert. Danach wird der Röhrcheninhalt dekantiert und alle Röhrchen werden 1 Minute im gamma-Counter gezählt.

Die Bestimmung der Standards, Kontrollen und Proben wurde in Doppelbestimmung durchgeführt. Zusätzlich wurden zur Qualitätssicherung alle Proben eines Patienten in

einem RIA anhand derselben Standardkurve gemessen und zudem je ein internes Kontrollserum bei jedem RIA verwendet.

Das im Test verwendete DHEA-S-Antiserum zeigt nach Angaben des Herstellers folgende Kreuzreaktivitäten:

Substanz	**% Kreuzreaktivität**
DHEAS	100
Estrone-3-SO_4	0.25
ß-Estradiol-3-SO_4-17-glucuronide	0.046
DHEA-glucuronide	0.17
Androsterone glucuronide	0.04
Androsterone-SO_4	0.55
DHEA	0.57
Androstenedione	1.21
Androsterone	0.28
Testosterone	0.37
5α-Dihydrotestosterone	0.085
Estrone	0.09
Progesterone	0.038
Cortisol	Nn
Aldosterone	Nn
Estradiol	0.02
Estriol	0.01
19-Hydroxyandrostenedione	0.15
	Nn = Nicht nachweisbar

Die Intraassay- bzw. Interassay-Varianz (in Klammern) betrug für niedrige Plasmakonzentrationen 5,1 % (11 %), für niedrig-mittlere 3,8 % (7,7 %), für hoch-mittlere 4,4 % (6,3 %) und für hohe Konzentrationen 5,3 % (8,1 %).

2.5. Statistik

Alle Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung (STABW) angegeben. Es wurden, neben den einzelnen Mittelwerten für die Serumkonzentrationen im Tagesprofil, zusätzlich die Maximalkonzentration „c max“ im Verlauf eines Studientages und der Zeitpunkt „t max“, an dem die Maximalkonzentration erreicht wurde, angegeben. Die Flächen unter den Konzentrations-Zeitkurven (AUC) wurden durch Verwendung der Methode der summativen Trapezoide berechnet.
Die Mittelwerte der Konzentrationen der Hormone, AUC, t max und c max wurden zur Prüfung auf signifikante Unterschiede mit Hilfe des Wilcoxon signed rank Tests und des t-Tests ausgewertet. Bei einem p-Wert von $\leq$ 0,05 wurde von Signifikanz gesprochen.
Aufgrund des Ausfalls einer Patientin in der zweiten Hälfte der Studie, wurden bei der Erstellung der Statistik nur 15 Personen ausgewertet. So lagen normalverteilte Daten aus verbundenen Stichproben vor und Paarvergleiche waren möglich.

3. Ergebnisse

Die Serumkonzentrationen von DHEA und DHEA-S wurden an den vier Studientagen jeweils über 24 Stunden und am Kontrolltag (baseline) über 10 Stunden ermittelt. Um die Werte der Studientage mit denen vom Kontrolltag vergleichen zu können, extrapolierten wir die 10-Stunden-Werte des Kontrolltages auf 24-Stunden-Werte, da bei den Patientinnen mit NNR-Insuffizienz in den Stunden 11-24 keinerlei Veränderungen zu erwarten sind.

3.1. Serumkonzentrationen von DHEA

Am Kontrolltag lag die Konzentration von DHEA unterhalb des Normbereiches (Normbereich für Frauen im Alter von 22 bis 80 Jahren: 2,8-36,4 nmol/l), wie es beim Vorliegen einer NNR-Insuffizienz charakteristisch ist. Hierbei zeigten sich auch keine

größeren Tagesschwankungen, so dass sich eine mittlere Serumkonzentration von 2,1 ± 1,7 nmol/ml für DHEA ergab. Die AUC (0-24h) für DHEA am Kontrolltag betrug 51,5 ± 34,1 nmol/l*h.

Nach oraler Einmalgabe von 25 mg DHEA-nativ (Test 1) kam es zu einem mäßigen Anstieg der DHEA-Serumkonzentration. Die Maximalkonzentration von 17,5 ± 7,5 nmol/l wurde nach 2,03 ± 0.70 h (= t max) erreicht. Anschließend folgte ein langsamer und stetiger Abfall der Serumkonzentration bis zu einem 24-Stunden-Wert von 7,9 ± 2,4 nmol/l. Für die ermittelte Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurven bis 24 Stunden nach der Applikation (AUC 0-24h) ergab sich 188,3 ± 56,1 nmol/l*h.

Nach der Einnahme einer Einmaldosis von 25 mg DHEA-clathrat (Test 2) stieg die Konzentrationskurve für DHEA in den ersten 90 Minuten flacher und auch verzögert gegenüber der nativen DHEA-Kurve an. Bei 1.30 h kam es zur Überschneidung der Kurve von DHEA-n und einem steilen Anstieg der DHEA-c-Kurve. Im weiteren Verlauf lagen die Werte von DHEA-c über denen des nativen DHEA. Beim Zeitpunkt 2,07 ± 0,42 h nach Applikation der Testsubstanz 2 wurde die Maximalkonzentration von 39,3 ± 21,2 nmol/l erreicht, so dass die DHEA-Konzentration im Blut kurzzeitig oberhalb des Normbereiches lag. Hierauf fiel die Kurve zunächst sehr steil und ab dem Zeitpunkt 4 h flacher ab, bis nach 24h die Serumkonzentration für DHEA 7,7 ± 2,1 nmol/l betrug. Bei diesem Kurvenverlauf von DHEA-c fiel auf, dass die Testsubstanz zu einem raschen und starken Anfluten von DHEA im Blut führte. Diese hohen Konzentrationen nahmen dann aber ebenso schnell wieder ab, was sich in der Kurve in einer scharfen und hohen einzelnen Zacke widerspiegelte. Die AUC (0-24h) für DHEA nach Gabe von DHEA-c betrug 235,4 ± 103,7 nmol/l*h und war damit um 25 % ($p<0,05$) größer als beim nativen DHEA.

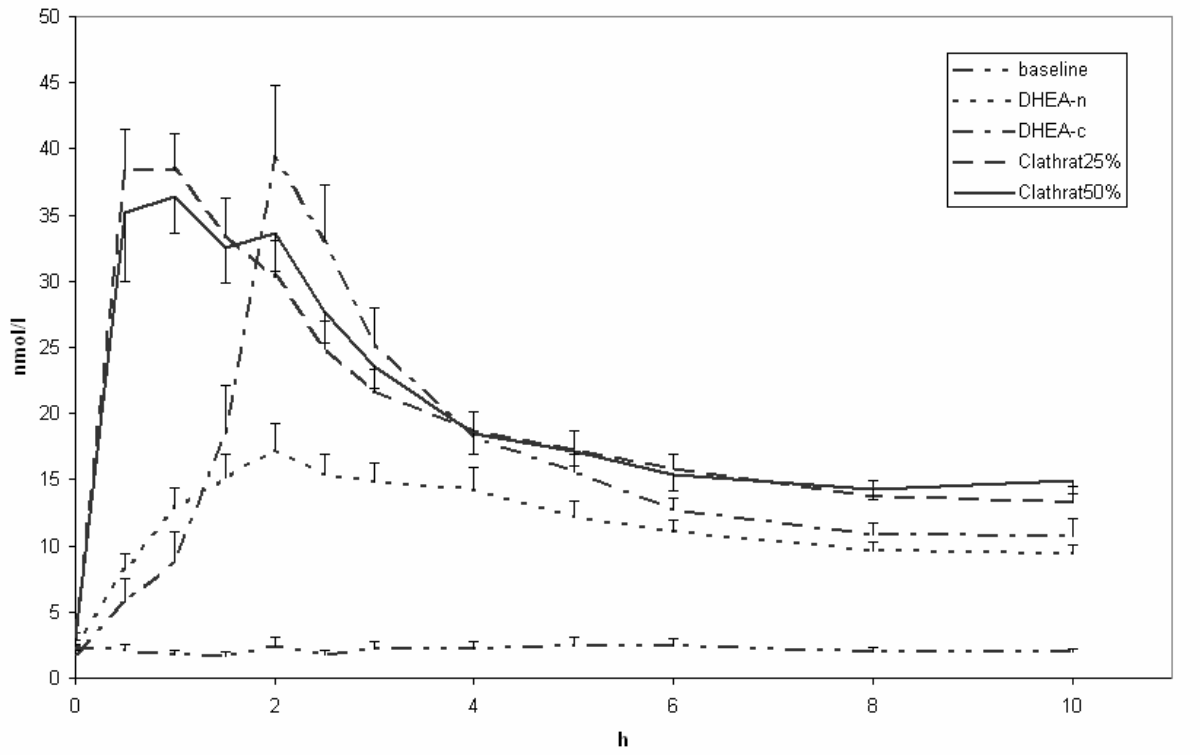

Abb. 4: Serumkonzentrationen von DHEA: 0-10 h (Mittelwert +/- SEM)

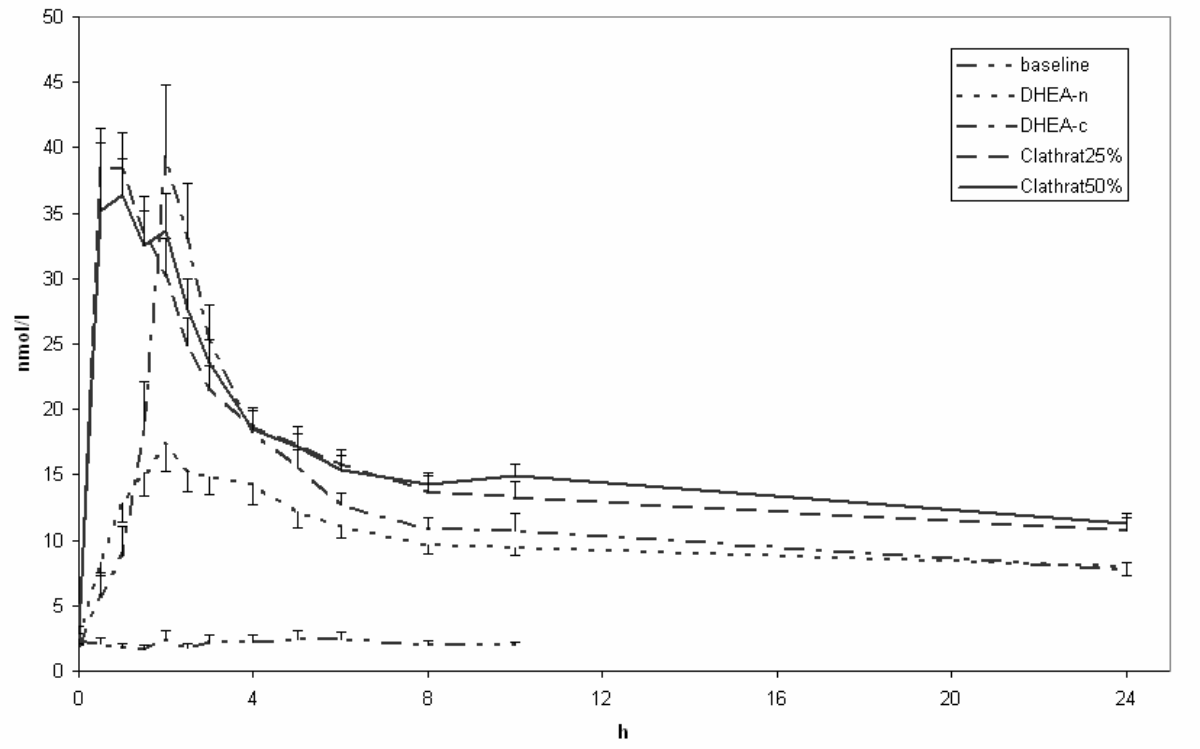

Abb. 5: Serumkonzentrationen von DHEA: 0-24 h (Mittelwert +/- SEM)

Die Konzentrations-Kurve für DHEA nach oraler Einnahme von 25 mg DHEA-clathrat-25% (Test 3) stieg gegenüber Test 1 und Test 2 noch steiler und schneller an, so dass schon beim Zeitpunkt 0,83 ± 0,54 h nach Einnahme der Substanz die Maximalkonzentrationen von 38,4 ± 10.7 nmol/l erreicht wurde. Damit lag die Serumkonzentration auch hier oberhalb des Normbereiches. Nach einem kleinen Plateau im Gipfelpunkt der Kurve fiel die Konzentration von DHEA bis zum Zeitpunkt 5 h nach Applikation zügig und anschließend langsamer ab bis zu einem Wert von 10,8 ± 3,6 nmol/l nach 24 Stunden. Die AUC (0-24h) bei Einnahme von DHEA-clathrat-25% war mit einem Wert von 317,7 ± 104,7 nmol/l*h um 69 % ($p<0,001$) größer als nach Einnahme von DHEA-n.

Nach der Applikation von 25 mg DHEA-clathrat-50% (Test 4) stieg die Konzentrationskurve ebenso steil und fast so schnell wie die DHEA-c25%-Kurve, so dass die Maximalkonzentration, die nach 1,03 ±0,63 h erreicht wurde und mit einem Wert von 36,4 ± 10,7 nmol/l auch oberhalb des Normbereiches lag. Nach einer leichten Abnahme der Konzentration wurde im weiteren Verlauf der Kurve ein zweiter Gipfel erreicht, der niedriger war als der erste Gipfel. Der im Anschluss folgende Abfall der Kurve war bis zum Zeitpunkt 4 h relativ steil und danach fiel die Konzentration langsam aber stetig ab, bis auf 11,3 ± 2,8 nmol/l nach 24 Stunden. Damit war bei dieser Testsubstanz nach 24 Stunden noch die höchste Konzentration von DHEA im Blut vorhanden. Auch wurde nach Einnahme von DHEA-clathrat-50% mit 335,2 ± 93,2 nmol/l*h der höchste Wert für die AUC (0-24h) erreicht, die damit um 78 % ($p<0,0001$) größer war als bei DHEA-nativ.

3.2. Serumkonzentrationen von DHEA-S

Die Konzentration von DHEA-Sulfat am Kontrolltag zeigte keine circadiane Rhythmik und auch keine größeren Schwankungen, so dass die mittlere Konzentration bei 0,2 ± 0,3 µmol/l lag. Damit lag diese unterhalb des Normbereichs, der für Frauen im Alter von 22 bis 80 Jahren von 1,0 bis 11,7 µmol/l definiert ist. Die relativ große Standardabweichung ergab sich, da die Funktion der Nebenniere bei den Patientinnen unterschiedlich stark eingeschränkt war. Die AUC über 24 Stunden betrug für DHEA-S am Kontrolltag 5,5 ± 6,9 µmol/l*h.

Am ersten Studientag nach Einnahme von 25 mg DHEA-nativ (Test 1) stieg die Konzentration von DHEA-S bis zur maximalen Serumkonzentration von 4,4 ± 1,6 µmol/l nach 2,50 ± 1,50 h (= t max) an. Hierauf fiel die Konzentrationskurve allmählich und kontinuierlich bis zum Wert von 1,7 ± 0,6 µmol/l nach 24 Stunden ab. Die AUC (0-24h) betrug für DHEA-S 54,6 ± 11,1 µmol/l*h.

Nach der Einnahme einer Einmaldosis von 25 mg DHEA-clathrat (Test 2) verlief der Anstieg der Konzentrationskurve für DHEA-S in den ersten eineinhalb Stunden flacher und auch langsamer gegenüber der nativen DHEA-Kurve. Im weiteren Verlauf stiegen die Konzentrationswerte von DHEA-c aber sehr schnell bis zum Erreichen der Maximalkonzentration von 6,3 ± 2,3 µmol/l zum Zeitpunkt 2,17 ± 0,55 h nach Einnahme an. Der folgende Abfall der Kurve verlief gleichmäßig, wobei er bis 5 h nach Applikation der Testsubstanz beschleunigter war als nach der 5-ten Stunde. Die Endkonzentration nach 24 Stunden betrug für DHEA-S 1,7 ± 0,7 µmol/l. Die AUC (0-24h) nach Gabe von DHEA-c hatte den Wert 67,5 ± 22,5 µmol/l*h und entsprach damit einer Steigerung um 24 % gegenüber der nativen DHEA-Form, die allerdings nicht signifikant war (p = 0,053).

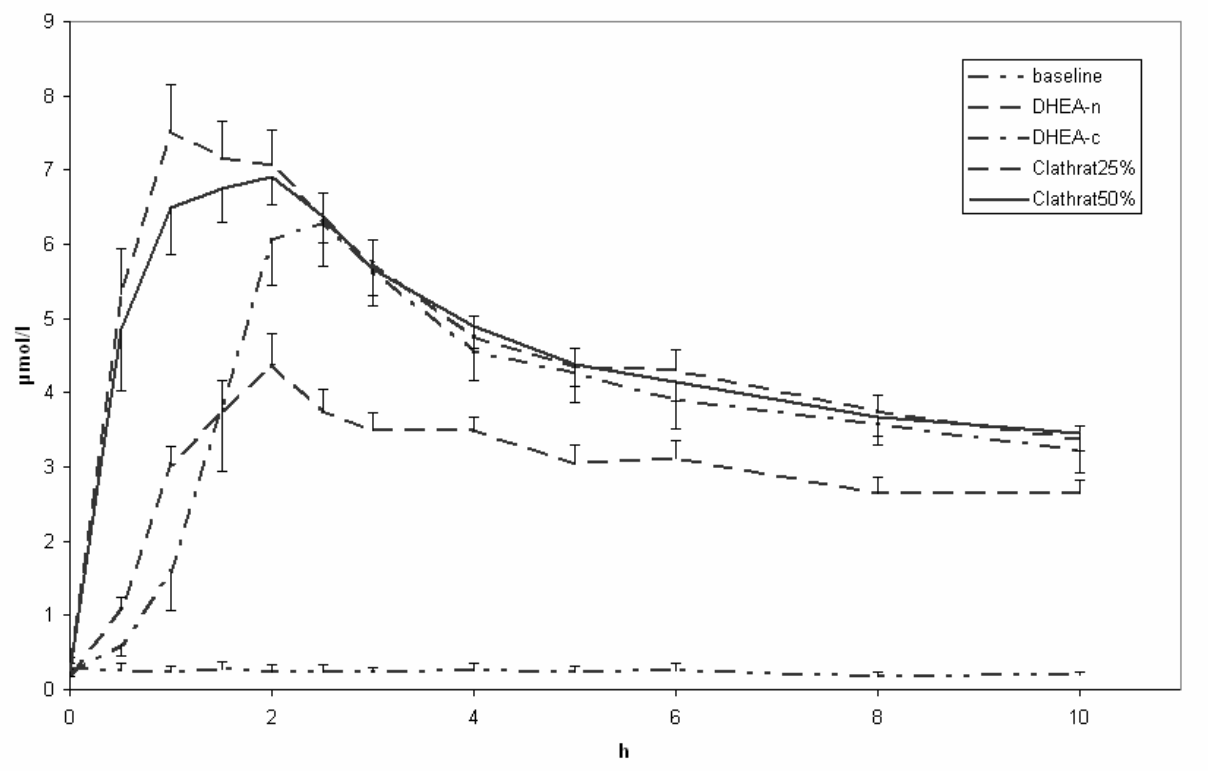

Abb. 6: Serumkonzentrationen von DHEA-S: 0-10 h (Mittelwert +/- SEM)

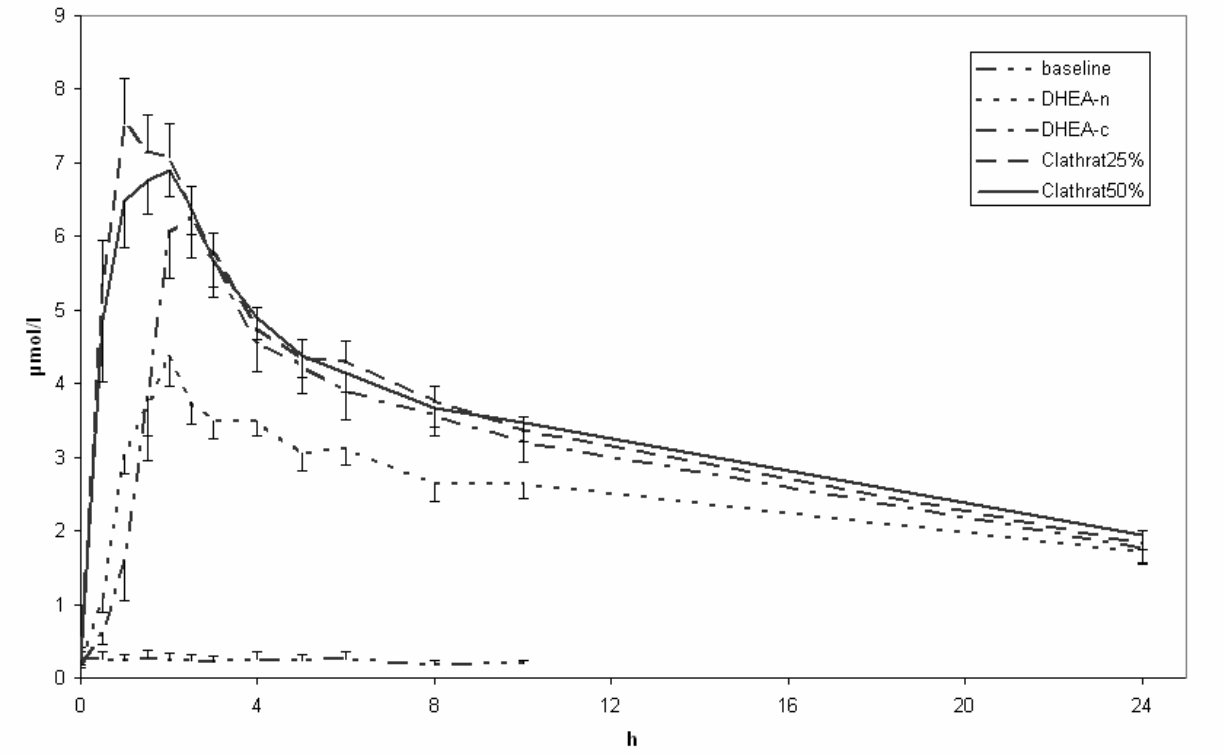

Abb. 7: Serumkonzentrationen von DHEA-S: 0-24 h (Mittelwert +/- SEM)

Die Kurve der Konzentration für DHEA-S nach oraler Einnahme von 25 mg DHEA-clathrat-25% (Test 3) zeigte den steilsten und höchsten Anstieg, so dass schon beim Zeitpunkt 1,40 ± 0,50 h nach Einnahme der Substanz die Maximalkonzentration von 7,5 ± 2,4 µmol/l erreicht wurde. Innerhalb der nächsten vier Stunden fiel die Kurve zügig, danach langsam bis auf 1,8 ± 0,7 µmol/l nach 24 Stunden ab. Mit einem Plus von 44 % ($p<0,0001$) gegenüber dem DHEA-n wurde nach Gabe von DHEA-c-25% die größte AUC (0-24h) mit 78,4 ± 21,7 µmol/l*h erreicht.

Der Verlauf der Konzentrationskurve von DHEA-clathrat-50% (Test 4) verlief zunächst ebenso steil wie bei Testsubstanz 3. Im Gipfelpunkt der Kurve war der Anstieg allerdings etwas flacher, was zu einer niedrigeren Maximalkonzentration von 6,9 ± 1,4 µmol/l nach 1,73 ± 0,82 h führte. Auch im Abfall der Kurve verlief die Kurve von Testsubstanz 4 nahezu identisch mit Test 3, so dass nach 24 h noch 1,9 ± 0,8 µmol/l DHEA-S im Blut vorhanden war. Durch Applikation von DHEA-clathrat-50% wurde daher eine AUC (0-24h) von 77,1 ± 21,5 µmol/l*h erreicht, was einer Steigerung um 41 % ($p<0,001$) gegenüber dem nativen DHEA bedeutete.

Tab. 1: Mittelwerte +/- SEM von pharmakokinetischen Parametern für **DHEA**

	Kontrolltag (baseline)	DHEA-nativ	DHEA-c	DHEA-c25%	DHEA-c50%
AUC 0-10h (nmol/l*h)	21,29 ± 16,05	96,79 ± 35,91	136,1 ± 58,42 $p < 0{,}001$	179,1 ± 54,81 $p < 0{,}0001$	181,9 ± 55,86 $p < 0{,}0001$
AUC 0-24h (nmol/l*h)	51,48 ± 34,05	188,3 ± 56,12	235,4 ± 103,7 $p < 0{,}05$	317,7 ± 104,7 $p < 0{,}001$	335,2 ± 93,15 $p < 0{,}0001$
c max (nmol/l)		17,25 ± 7,51	39,28 ± 21,16 $p < 0{,}01$	38,44 ± 10,70 $p < 0{,}01$	36,37 ± 10,71 $p < 0{,}01$
t max (h)		2,03 ± 0,70	2,07 ± 0,42 NS ($p = 0{,}46$)	0,83 ± 0,54 $p < 0{,}01$	1,03 ± 0,63 $p < 0{,}01$

Tab. 2: Mittelwerte +/- SEM von pharmakokinetischen Parametern für **DHEA-S**

	Kontrolltag (baseline)	DHEA-nativ	DHEA-c	DHEA-c25%	DHEA-c50%
AUC 0-10h (µmol/l*h)	2,29 ± 3,03	27,47 ± 6,39	36,18 ± 11,77 $p < 0{,}05$	45,23 ± 11,65 $p < 0{,}000001$	42,40 ± 9,93 $p < 0{,}0001$
AUC 0-24h (µmol/l*h)	5,50 ± 6,95	54,63 ± 11,12	67,48 ± 22,51 NS ($p = 0{,}053$)	78,40 ± 21,65 $p < 0{,}0001$	77,07 ± 21,49 $p < 0{,}001$
c max (µmol/l)		4,39 ± 1,61	6,29 ± 2,26 $p < 0{,}05$	7,53± 2,43 $p < 0{,}01$	6,90 ± 1,43 $p < 0{,}05$
t max (h)		2,50 ± 1,50	2,17 ± 0,55 NS ($p = 0{,}86$)	1,40 ± 0,50 $p < 0{,}01$	1,73 ± 0,82 NS ($p = 0{,}21$)

<u>Legende:</u>
AUCs für DHEA-nativ/c/c25%/c50% nach Subtraktion des Kontrolltages
NS: Nicht signifikant
Signifikanzprüfung immer im Vergleich mit DHEA-nativ

4. Diskussion

In unsere Studie wurde nach oraler Einmalgabe von 25 mg DHEA-nativ (Test 1) eine DHEA-Maximalkonzentration von 17,5 ± 7,5 nmol/l erreicht. In der Studie von Arlt et al. an gesunden Frauen nach Nebennierenrindensuppression durch Dexamethasongaben wurde dagegen die doppelte Dosis von 50 mg DHEA verabreicht, die erwartungsgemäß zu einer deutlich höheren Maximalkonzentration (31,65 nmol/l) führte [4].
Betrachtet man die Maximalkonzentrationen für DHEA nach Verabreichung von 25 mg clathriertem DHEA (Test 2-4) wurden durch alle drei Clathrierungsformen mehr als doppelt so hohe DHEA-Konzentrationen wie durch 25 mg natives DHEA erreicht (Test 2: 39,28 nmol/l, Test 3: 38,44 nmol/l, Test 4: 36,37 nmol/l), wobei sich die Maximalkonzentrationen der verschiedenen Clathrierungsformen nicht wesentlich voneinander unterschieden.
Verglichen mit den Ergebnissen der oben genannten Studie von Arlt et al. [4] kann man also durch nur 25 mg DHEA-Clathrat eine höhere Maximalkonzentration für DHEA als durch 50 mg natives DHEA erreichen.

Für DHEA-S lag die Maximalkonzentration in unserer Studie nach 25 mg DHEA-nativ (Test 1) (4,4 ± 1,6 µmol/l) erwartungsgemäß deutlich unter den Werten, die Arlt et al. nach Gabe von 50 mg DHEA (15,66 µmol/l) an gesunden Frauen, nach Nebennierenrindensuppression durch Dexamethasongaben [4], erzielten.
Nach Einnahme von 25 mg clathriertem DHEA (Test 2-4) wurden höhere Maximalkonzentrationen als durch 25 mg natives DHEA erreicht (Test 2: 6,3 ± 2,3 µmol/l, Test 3: 7,5 ± 2,4 µmol/l, Test 4: 6,9 ± 1,4 µmol/l), wobei sich die unterschiedlichen Clathrierungsformen nicht wesentlich in Bezug auf die Maximalkonzentration von DHEA-S unterschieden.

Beim Vergleich der AUCs (vgl. Tab.1) ergaben sich in unseren Studie folgende Daten: die AUC (0-24h) für DHEA nach Gabe von DHEA-c (Test 2) war um 25 % größer als beim nativen DHEA. Die AUC (0-24h) für DHEA nach Einnahme von DHEA-clathrat-25% (Test 3) war um 69 % größer als nach Einnahme von DHEA-n. Und nach Einnahme von DHEA-clathrat-50% (Test 4) wurde der höchste Wert für die AUC (0-24h) für DHEA erreicht, der um 78 % größer war als bei DHEA-nativ.

Die AUC (0-24h) für DHEA-S (vgl. Tab.2) nach Gabe von DHEA-c (Test 2) brachte eine Steigerung um 24 % gegenüber der nativen DHEA-Form. Nach Gabe von DHEA-c-25% (Test 3) wurde die größte AUC (0-24h) für DHEA-S mit einer Steigerung von 44 % gegenüber dem nativen DHEA erzielt. Durch Applikation von DHEA-clathrat-50% (Test 4) war die AUC (0-24h) für DHEA-S um 41 % größer als bei nativem DHEA.

Die Bioverfügbarkeit von clathriertem DHEA ist also bei allen drei Clathrierungsformen besser als die von nativem DHEA.
Dabei unterscheiden sich die verschiedenen Clathrate durchaus in ihrer Bioverfügbarkeit. Anhand der AUCs (0-24h) für DHEA (vgl.Tab.1) kann man feststellen, dass die Clathrate in Tablettenform (Test 3 und 4) - in Bezug auf die Bioverfügbarkeit - denen in Kapselform (Test 2) überlegen sind. Die beste Bioverfügbarkeit kann man für DHEA-clathrat-50% (Test 4) postulieren.

Die Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentrationen (tmax) für DHEA in unserer Studie nach 25 mg nativem DHEA (2,03 ± 0.70 h) ist mit der bei Arlt et al. zu vergleichen (ca. 2,7 h). In weiteren Studien von Arlt und Young et al. wurde nach Einnahme von 50 mg DHEA die Maximalkonzentration von DHEA nach ca. 2,6 bzw. ca. 2,0 Stunden erreicht [51, 113].
Die verschiedenen Clathrate zeigten bezüglich des Zeitpunktes, an dem die Maximalkonzentration von DHEA erreicht wurde, unterschiedliche Ergebnisse.
So unterschied sich tmax in Test 2 (DHEA-c) mit ca. 2,07 h nicht von tmax durch natives DHEA. Dahingegen wurde in Test 3 (DHEA-clathrat-25%) und Test 4 (DHEA-clathrat-50%) deutlich früher (Test 3: ca. 0,83 h, Test 4: ca. 1,03 h) die Maximalkonzentration von DHEA erreicht. Die galenische Verfügbarkeit (Desintegration und Dissolution) von den in Tablettenform gegebenen DHEA-Clathraten (Test 3 und 4) scheint demnach besser als die von nativem DHEA und DHEA-Clathrat in Kapselform (Test 2), so dass es zu einer schnelleren Resorption von DHEA kommt.
Verglichen mit dem normalen DHEA-Sekretionsmuster bei Gesunden, bei denen die Maximalwerte der DHEA-Konzentration zwischen 5 Uhr und 10 Uhr morgens erreicht werden [29], erscheint diese schnelle Anflutung im Blutkreislauf - innerhalb der ersten Stunde nach Einnahme - aber eher unphysiologisch.

Vergleicht man die DHEA-Konzentrationen, die 24 Stunden nach Einnahme der verschiedenen DHEA-Darreichungsformen noch im Serum gemessen wurden, war kein wesentlicher Unterschied zwischen nativem DHEA (Test 1) (7,9 ± 2,4 nmol/l) und DHEA-c in Kapselform (Test 2) (7,7 ± 2,1 nmol/l) auszumachen. Nach Einnahme von clathriertem DHEA als Tabletten (Test 3 und Test 4) waren dahingegen nach 24 Stunden noch deutlich höhere DHEA-Serumkonzentrationen im Blut vorhanden (DHEA-clathrat-25% (Test 3): 10,8 ± 3,6 nmol/l, DHEA-clathrat-50% (Test 4): 11,3 ± 2,8 nmol/l).
Betrachtet man den angestrebten physiologischen Referenzbereich für die DHEA-Konzentration im Serum (Normbereich von DHEA im Serum für Frauen im Alter von 22 bis 80 Jahren: 2,8-36,4 nmol/l) so stellt man fest, dass nach allen DHEA-Darreichungsformen (Test1 bis Test 4) die DHEA-Konzentration bereits 30 Minuten nach Einnahme der Testsubstanz im angestrebten Referenzbereich lag. Ebenso lagen die 24-Stunden-Werte nach allen vier verschiedenen Darreichungsformen innerhalb des Referenzbereiches, wobei nach Einnahme von DHEA-Clathrat in Form von Tabletten (Test 3 und Test 4) deutlich höhere 24-Stunden-Werte erzielt wurden (siehe oben).

Folglich könnte man durch Gabe einer geringeren Dosis von DHEA-Clathrat in Tablettenform (Test 3 und Test 4), z.B. 15-20 mg, die DHEA-Serumkonzentrationen immer noch lang genug im physiologischen Referenzbereich halten.
Durch die Dosiseinsparung könnte man zudem die Überschreitung des Normbereiches für die DHEA-Serumkonzentration, die sowohl nach Einnahme von 25 mg DHEA-clathrat-25% (Test 3), als auch nach Gabe von 25 mg DHEA-clathrat-50% (Test 4) eingetreten war, vermeiden. Diese Dosiseinsparung von DHEA würde zudem zu einer niedrigeren Leberbelastung führen.
Bisweilen wurde auf verschiedenen Wegen versucht, die Bioverfügbarkeit des substituierten DHEA zu erhöhen und die hepatische Umwandlung von DHEA zu Androgenen mit deren unerwünschten Auswirkungen zu verringern. Buster et al. versuchten durch Verabreichung von DHEA in mikronisierter Form (Partikelgrösse < 10µm) den „First-Pass-Effekt“ in der Leber zu mildern. Außerdem sollte die Leber durch eine beigefügte Lipidmatrix auf dem Weg der Lymphbahnen umgangen werden [111].
Labrie et al. verwendete eine 20% Lösung (10ml DHEA, 50% Ethanol, 50% USO Propylen-Glykol) transdermal, um so den First-Pass-Effekt in der Leber zu umgehen

[114] und Casson et al. untersuchten die Verabreichung von mikronisiertem DHEA, das als Tablette in die pars posterior fornicis vaginae platziert wurde war, um so ebenfalls das Portalsystem zu umgehen [115].

Ob durch eine Dosiseinsparung von DHEA in Form von clathriertem DHEA die hepatische Umwandlung von DHEA zu Androgenen mit deren unerwünschten Auswirkungen verringert werden kann, muss in weiteren Studien untersucht werden, in denen auch die Hormone des down-stream-Metabolismus von DHEA mitbestimmt werden sollten.

Ob DHEA-Clathrate auch zu einer Steigerung der klinischen Wirkung führen, muss in künftigen Wirksamkeitsstudien überprüft werden.

Auch hierbei ist die Mitbestimmung der Metabolite von DHEA nach Gabe von DHEA-Clathrat sinnvoll, um die wahrscheinlich durch Konversion von DHEA zu aktiven Androgenen und Östrogenen vermittelte Wirkung im Zusammenhang mit der Klinik zu deuten.

5. Zusammenfassung

Bei Patientinnen mit chronischer Nebennierenrindeninsuffizienz liegt - neben dem Mangel an Glukokortikoiden und Mineralokortikoiden - ein Defizit an adrenalen Androgenen, nämlich Dehydroepiandrosteron (DHEA) und seinem Sulfatester DHEA-S vor. Obwohl DHEA und DHEA-S mengenmäßig die bedeutendsten Hormone der menschlichen Nebennierenrinde sind, gehören sie noch nicht zur standardisierten Substitutionstherapie bei Ausfall der Nebennierenrinde.

In Untersuchungen der letzten Jahre konnte jedoch wiederholt gezeigt werden, dass Frauen mit Nebennierenrindeninsuffizienz offensichtlich definitiv von einer Hormonersatztherapie mit DHEA profitieren.

Damit DHEA künftig als Medikament für die Behandlung von Nebennierenrindeninsuffizienz zugelassen werden kann, wurden verschiedene patentierbare galenische Zubereitungen von DHEA – DHEA-Clathrate – entwickelt, die in „in vitro“-Studien eine verbesserte galenische Verfügbarkeit (Desintegration und Dissolution) gegenüber nativem DHEA zeigten.

In unsere Studie wurde nun an 16 Frauen (Durchschnittsalter bei 41.7 ± 6.4 Jahre) mit primärer oder sekundärer Nebennierenrindeninsuffizienz die „in vivo“-Bioverfügbarkeit der verschiedenen Clathrate gegenüber nativem DHEA untersucht.

Hierfür wurden an insgesamt fünf Untersuchungstagen jeweils über 24 Stunden Blutentnahmen durchgeführt, nachdem jeweils Placebo, 25 mg DHEA-nativ (Kapsel), 25 mg DHEA-clathrat (Kapsel), 25 mg DHEA-clathrat-25% (Tablette) oder 25 mg DHEA-clathrat-50% (Tablette) oral verabreicht worden waren.

Die Serumkonzentrationen der Zielparameter DHEA und DHEA-S wurden durch kommerziell erhältliche etablierte Radioimmunoassays (RIAs) gemessen. Die „area under the curve“ (AUC), die Maximalkonzentration (cmax) und der Zeitpunkt, an dem die Maximalkonzentration erreicht wurde (tmax) wurden ermittelt.

Nach Einnahme von Placebo wurden erwartungsgemäß DHEA- und DHEA-S-Konzentrationen unterhalb des Normbereiches ohne tageszeitliche Schwankungen gemessen.

Die Bioverfügbarkeit der DHEA-Clathrate war gegenüber dem nativen DHEA deutlich höher, wobei nach Einnahme von 25 mg DHEA-clathrat-50% die höchste Bioverfügbarkeit erzielt wurde.

Nach Einnahme der Clathrate in Tablettenform kam es gegenüber dem nativen DHEA und der Clathrate in Kapselform zu einer schnelleren Resorption von DHEA, was für eine bessere galenische Verfügbarkeit von den in Tablettenform gegebenen DHEA-Clathraten spricht.

Die DHEA-Serumkonzentrationen lagen nach Einnahme von clathriertem DHEA als Tabletten fast über den ganzen Untersuchungstag hinweg im physiologischen Referenzbereich, wobei kurzfristig supraphysiologische Werte erreicht wurden.

Folglich könnte man durch Gabe einer geringeren Dosis von DHEA-Clathrat in Tablettenform, z.B. 15-20 mg, die DHEA-Serumkonzentrationen ohne Überschreitung des Normbereiches immer noch lang genug im physiologischen Referenzbereich halten. Diese Dosiseinsparung hätte eine niedrigere Leberbelastung durch DHEA zur Folge.

Ob DHEA-Clathrate auch zu einer Steigerung der klinischen Wirkung führen, muss in künftigen Wirksamkeitsstudien überprüft werden.

6. Literaturverzeichnis

1. **Parasrampuria, J., K. Schwartz, and R. Petesch**, *Quality control of dehydroepiandrosterone dietary supplement products.* Jama, 1998. 280(18): p. 1565.
2. **Morales, A.J., J.J. Nolan, J.C. Nelson, et al.**, *Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age.* J Clin Endocrinol Metab, 1994. 78(6): p. 1360-7.
3. **Riedel, M., A. Wiese, T.H. Schurmeyer, et al.**, *Quality of life in patients with Addison's disease: effects of different cortisol replacement modes.* Exp Clin Endocrinol, 1993. 101(2): p. 106-11.
4. **Arlt, W., F. Callies, J.C. van Vlijmen, et al.**, *Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency.* N Engl J Med, 1999. 341(14): p. 1013-20.
5. **Johannsson, G., P. Burman, L. Wiren, et al.**, *Low dose dehydroepiandrosterone affects behavior in hypopituitary androgen-deficient women: a placebo-controlled trial.* J Clin Endocrinol Metab, 2002. 87(5): p. 2046-52.
6. **Hunt, P.J., E.M. Gurnell, F.A. Huppert, 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): p. 4650-6.
7. **Gebre-Medhin, G., E.S. Husebye, H. Mallmin, et al.**, *Oral dehydroepiandrosterone (DHEA) replacement therapy in women with Addison's disease.* Clin Endocrinol (Oxf), 2000. 52(6): p. 775-80.
8. **Gurnell, E.M. and V.K. Chatterjee**, *Dehydroepiandrosterone replacement therapy.* Eur J Endocrinol, 2001. 145(2): p. 103-6.
9. **Mora, P.C., M. Cirri, S. Guenther, et al.**, *Enhancement of dehydroepiandrosterone solubility and bioavailability by ternary complexation with alpha-cyclodextrin and glycine.* J Pharm Sci, 2003. 92(11): p. 2177-84.
10. **Arlt, W., H.G. Justl, F. Callies, et al.**, *Oral dehydroepiandrosterone for adrenal androgen replacement: pharmacokinetics and peripheral conversion to androgens and estrogens in young healthy females after dexamethasone suppression.* J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(6): p. 1928-34.
11. **Yamaji, T., M. Ishibashi, F. Takaku, et al.**, *Serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations in secondary adrenal insufficiency.* J Clin Endocrinol Metab, 1987. 65(3): p. 448-51.
12. **Sizonenko, P.C. and L. Paunier**, *Hormonal changes in puberty III: Correlation of plasma dehydroepiandrosterone, testosterone, FSH, and LH with stages of puberty and bone age in normal boys and girls and in patients with Addison's disease or hypogonadism or with premature or late adrenarche.* J Clin Endocrinol Metab, 1975. 41(5): p. 894-904.
13. **Cutler, G.B., Jr., S.E. Davis, R.E. Johnsonbaugh, et al.**, *Dissociation of cortisol and adrenal androgen secretion in patients with secondary adrenal insufficiency.* J Clin Endocrinol Metab, 1979. 49(4): p. 604-9.
14. **Urban, M.D., P.A. Lee, J.P. Gutai, et al.**, *Androgens in pubertal males with Addison's disease.* J Clin Endocrinol Metab, 1980. 51(4): p. 925-9.

15. **Picado-Leonard, J. and W.L. Miller**, *Cloning and sequence of the human gene for P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase): similarity with the gene for P450c21.* DNA, 1987. 6(5): p. 439-48.
16. **Auchus, R.J., T.C. Lee, and W.L. Miller**, *Cytochrome b5 augments the 17,20-lyase activity of human P450c17 without direct electron transfer.* J Biol Chem, 1998. 273(6): p. 3158-65.
17. **Stryer, L.**, *Biochemie, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, N.Y.* 1991.
18. **Orentreich, N., J.L. Brind, R.L. Rizer, et al.**, *Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood.* J Clin Endocrinol Metab, 1984. 59(3): p. 551-5.
19. **Cutler, G.B., Jr., M. Glenn, M. Bush, et al.**, *Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals, and primates.* Endocrinology, 1978. 103(6): p. 2112-8.
20. **Liu, C.H., G.A. Laughlin, U.G. Fischer, et al.**, *Marked attenuation of ultradian and circadian rhythms of dehydroepiandrosterone in postmenopausal women: evidence for a reduced 17,20-desmolase enzymatic activity.* J Clin Endocrinol Metab, 1990. 71(4): p. 900-6.
21. **Genazzani, A.R., F. Facchinetti, C. Pintor, et al.**, *Proopiocortin-related peptide plasma levels throughout prepuberty and puberty.* J Clin Endocrinol Metab, 1983. 57(1): p. 56-61.
22. **Forest, M.G., E. de Peretti, M. David, et al.**, *[Does adrenarche really play a determining role in pubertal development? A study of the dissociations between adrenarche and gonadarche. The failure of dehydroepiandrosterone sulfate treatment in delayed adrenarche].* Ann Endocrinol (Paris), 1982. 43(6): p. 465-95.
23. **Pavlov, E.P., S.M. Harman, G.P. Chrousos, et al.**, *Responses of plasma adrenocorticotropin, cortisol, and dehydroepiandrosterone to ovine corticotropin-releasing hormone in healthy aging men.* J Clin Endocrinol Metab, 1986. 62(4): p. 767-72.
24. **Gell, J.S., B.R. Carr, H. Sasano, et al.**, *Adrenarche results from development of a 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase-deficient adrenal reticularis.* J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(10): p. 3695-701.
25. **Suzuki, T., H. Sasano, J. Takeyama, et al.**, *Developmental changes in steroidogenic enzymes in human postnatal adrenal cortex: immunohistochemical studies.* Clin Endocrinol (Oxf), 2000. 53(6): p. 739-47.
26. **Parker, C.R., Jr., R.L. Mixon, R.M. Brissie, et al.**, *Aging alters zonation in the adrenal cortex of men.* J Clin Endocrinol Metab, 1997. 82(11): p. 3898-901.
27. **Carr, B.R., C.R. Parker, Jr., L. Milewich, et al.**, *Steroid secretion by ACTH-stimulated human fetal adrenal tissue during the first week in organ culture.* Steroids, 1980. 36(5): p. 563-74.
28. **Huhtaniemi, I.**, *Studies on steroidogenesis and its regulation in human fetal adrenal and testis.* J Steroid Biochem, 1977. 8(5): p. 491-7.
29. **Rosenfeld, R.S., B.J. Rosenberg, D.K. Fukushima, et al.**, *24-Hour secretory pattern of dehydroisoandrosterone and dehydroisoandrosterone sulfate.* J Clin Endocrinol Metab, 1975. 40(5): p. 850-5.
30. **Lachelin, G., M. Barnett, and B.R. Hopper**, *Adrenal function in normal women and women with the polycystic ovarian syndrome.* J Clin Endocrinol Metab, 1979. 49(892-898).

31. **Albertson, B.D., W.C. Hobson, B.S. Burnett, et al.**, *Dissociation of cortisol and adrenal androgen secretion in the hypophysectomized, adrenocorticotropin-replaced chimpanzee.* J Clin Endocrinol Metab, 1984. 59(1): p. 13-8.
32. **Parker, L.N., E.T. Lifrak, and W.D. Odell**, *A 60,000 molecular weight human pituitary glycopeptide stimulates adrenal androgen secretion.* Endocrinology, 1983. 113(6): p. 2092-6.
33. **Penhoat, A., P. Sanchez, C. Jaillard, et al.**, *Human proopiomelanocortin-(79-96), a proposed cortical androgen- stimulating hormone, does not affect steroidogenesis in cultured human adult adrenal cells.* J Clin Endocrinol Metab, 1991. 72(1): p. 23-6.
34. **Mellon, S.H., J.E. Shively, and W.L. Miller**, *Human proopiomelanocortin-(79-96), a proposed androgen stimulatory hormone, does not affect steroidogenesis in cultured human fetal adrenal cells.* J Clin Endocrinol Metab, 1991. 72(1): p. 19-22.
35. **Steckelbroeck, S., D.D. Heidrich, B. Stoffel-Wagner, et al.**, *Characterization of aromatase cytochrome P450 activity in the human temporal lobe.* J Clin Endocrinol Metab, 1999. 84(8): p. 2795-801.
36. **Steckelbroeck, S., M. Watzka, R. Reichelt, et al.**, *Characterization of the 5alpha-reductase-3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase complex in the human brain.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(3): p. 1324-31.
37. **Stoffel-Wagner, B., M. Watzka, S. Steckelbroeck, et al.**, *Expression of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1, 2, 3 and 4 in the human temporal lobe.* J Endocrinol, 1999. 160(1): p. 119-26.
38. **Young, J., B. Couzinet, M. Pholsena, et al.**, *Plasma 3 beta-hydroxy-delta 5-steroids in patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency.* J Clin Endocrinol Metab, 1994. 78(2): p. 299-304.
39. **Higuchi, K., H. Nawata, T. Maki, et al.**, *Prolactin has a direct effect on adrenal androgen secretion.* J Clin Endocrinol Metab, 1984. 59(4): p. 714-8.
40. **Nelson, L., S. Mesiano, and R.B. Jaffe**, *Opioid peptides and activing modulate production of androgens and glucocorticoids by the human fetal adrenal.* Proc Ann Mtg, Endocrine Soc, 1992. Abs. 1591.
41. **Sakai, Y., T. Yanase, T. Hara, et al.**, *Mechanism of abnormal production of adrenal androgens in patients with adrenocortical adenomas and carcinomas.* J Clin Endocrinol Metab, 1994. 78(36-40).
42. **Abraham, G.E.**, *Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle.* J Clin Endocrinol Metab, 1974. 39(2): p. 340-6.
43. **Labrie, F.**, *Intracrinology.* Mol Cell Endocrinol, 1991. 78(3): p. C113-8.
44. **Fujikawa, H., F. Okura, Y. Kuwano, et al.**, *Steroid sulfatase activity in osteoblast cells.* Biochem Biophys Res Commun, 1997. 231(1): p. 42-7.
45. **Haning, R.V., Jr., R.J. Hackett, R.I. Boothroid, et al.**, *Steroid sulphatase activity in the human ovarian corpus luteum, stroma, and follicle: comparison to activity in other tissues and the placenta.* J Steroid Biochem, 1990. 36(1-2): p. 175-9.
46. **Martel, C., M.H. Melner, D. Gagne, et al.**, *Widespread tissue distribution of steroid sulfatase, 3 beta- hydroxysteroid dehydrogenase/delta 5-delta 4 isomerase (3 beta-HSD), 17 beta-HSD 5 alpha-reductase and aromatase activities in the rhesus monkey.* Mol Cell Endocrinol, 1994. 104(1): p. 103-11.
47. **Barker, E.V., R. Hume, A. Hallas, et al.**, *Dehydroepiandrosterone sulfotransferase in the developing human fetus: quantitative biochemical and*

immunological characterization of the hepatic, renal, and adrenal enzymes. Endocrinology, 1994. 134(2): p. 982-9.
48. **Her, C., C. Szumlanski, I.A. Aksoy, et al.**, *Human jejunal estrogen sulfotransferase and dehydroepiandrosterone sulfotransferase: immunochemical characterization of individual variation.* Drug Metab Dispos, 1996. 24(12): p. 1328-35.
49. **Luu-The, V., I. Dufort, N. Paquet, et al.**, *Structural characterization and expression of the human dehydroepiandrosterone sulfotransferase gene.* DNA Cell Biol, 1995. 14(6): p. 511-8.
50. **Sharp, S., E.V. Barker, M.W. Coughtrie, et al.**, *Immunochemical characterisation of a dehydroepiandrosterone sulfotransferase in rats and humans.* Eur J Biochem, 1993. 211(3): p. 539-48.
51. **Arlt, W., J. Haas, F. Callies, et al.**, *Biotransformation of oral dehydroepiandrosterone in elderly men: significant increase in circulating estrogens.* J Clin Endocrinol Metab, 1999. 84(6): p. 2170-6.
52. **Bird, C.E. and e. al.**, *Dehydroepiandrosterone sulfate: kinetics of metabolism in normal young men and women.* Clin. Invest. Med., 1984. 7: p. 119-122.
53. **Hammer, F., S. Subtil, P. Lux, et al.**, *No evidence for hepatic conversion of dehydroepiandrosterone (DHEA) sulfate to DHEA: in vivo and in vitro studies.* J Clin Endocrinol Metab, 2005. 90(6): p. 3600-5.
54. **Giagulli, V.A., L. Verdonck, R. Giorgino, et al.**, *Precursors of plasma androstanediol- and androgen-glucuronides in women.* J Steroid Biochem, 1989. 33(5): p. 935-40.
55. **Moghissi, E., F. Ablan, and R. Horton**, *Origin of plasma androstanediol glucuronide in men.* J Clin Endocrinol Metab, 1984. 59(3): p. 417-21.
56. **Corpechot, C., P. Robel, M. Axelson, et al.**, *Characterization and measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in rat brain.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1981. 78(8): p. 4704-7.
57. **Compagnone, N.A., A. Bulfone, J.L. Rubenstein, et al.**, *Steroidogenic enzyme P450c17 is expressed in the embryonic central nervous system.* Endocrinology, 1995. 136(11): p. 5212-23.
58. **Zwain, I.H. and S.S. Yen**, *Dehydroepiandrosterone: biosynthesis and metabolism in the brain.* Endocrinology, 1999. 140(2): p. 880-7.
59. **Zwain, I.H. and S.S. Yen**, *Neurosteroidogenesis in astrocytes, oligodendrocytes, and neurons of cerebral cortex of rat brain.* Endocrinology, 1999. 140(8): p. 3843-52.
60. **Compagnone, N.A. and S.H. Mellon**, *Dehydroepiandrosterone: a potential signalling molecule for neocortical organization during development.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. 95(8): p. 4678-83.
61. **Demirgoren, S., M.D. Majewska, C.E. Spivak, et al.**, *Receptor binding and electrophysiological effects of dehydroepiandrosterone sulfate, an antagonist of the GABAA receptor.* Neuroscience, 1991. 45(1): p. 127-35.
62. **Majewska, M.D., S. Demirgoren, C.E. Spivak, et al.**, *The neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate is an allosteric antagonist of the GABAA receptor.* Brain Res, 1990. 526(1): p. 143-6.
63. **Bergeron, R., C. de Montigny, and G. Debonnel**, *Potentiation of neuronal NMDA response induced by dehydroepiandrosterone and its suppression by progesterone: effects mediated via sigma receptors.* J Neurosci, 1996. 16(3): p. 1193-202.

64. **Meikle, A.W., R.W. Dorchuck, B.A. Araneo, et al.**, *The presence of a dehydroepiandrosterone-specific receptor binding complex in murine T cells.* J Steroid Biochem Mol Biol, 1992. 42(3-4): p. 293-304.
65. **Okabe, T., M. Haji, R. Takayanagi, et al.**, *Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T lymphocytes.* J Clin Endocrinol Metab, 1995. 80(10): p. 2993-6.
66. **Liu, D. and J.S. Dillon**, *Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3).* J Biol Chem, 2002. 277(24): p. 21379-88.
67. **Simoncini, T., P. Mannella, L. Fornari, et al.**, *Dehydroepiandrosterone modulates endothelial nitric oxide synthesis via direct genomic and nongenomic mechanisms.* Endocrinology, 2003. 144(8): p. 3449-55.
68. **Williams, M.R., S. Ling, T. Dawood, et al.**, *Dehydroepiandrosterone inhibits human vascular smooth muscle cell proliferation independent of ARs and ERs.* J Clin Endocrinol Metab, 2002. 87(1): p. 176-81.
69. **Svec, F. and J.R. Porter**, *The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans.* Proc Soc Exp Biol Med, 1998. 218(3): p. 174-91.
70. **Daynes, R.A., D.J. Dudley, and B.A. Araneo**, *Regulation of murine lymphokine production in vivo. II. Dehydroepiandrosterone is a natural enhancer of interleukin 2 synthesis by helper T cells.* Eur J Immunol, 1990. 20(4): p. 793-802.
71. **Straub, R.H., L. Konecna, S. Hrach, et al.**, *Serum dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate are negatively correlated with serum interleukin-6 (IL-6), and DHEA inhibits IL-6 secretion from mononuclear cells in man in vitro: possible link between endocrinosenescence and immunosenescence.* J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(6): p. 2012-7.
72. **McLachlan, J.A., C.D. Serkin, and O. Bakouche**, *Dehydroepiandrosterone modulation of lipopolysaccharide-stimulated monocyte cytotoxicity.* J Immunol, 1996. 156(1): p. 328-35.
73. **Delpedro, A.D., M.J. Barjavel, Z. Mamdouh, et al.**, *Activation of human monocytes by LPS and DHEA.* J Interferon Cytokine Res, 1998. 18(2): p. 125-35.
74. **Schmidt, M., M. Kreutz, G. Loffler, et al.**, *Conversion of dehydroepiandrosterone to downstream steroid hormones in macrophages.* J Endocrinol, 2000. 164(2): p. 161-9.
75. **Flynn, M.A., D. Weaver-Osterholtz, K.L. Sharpe-Timms, et al.**, *Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans [see comments].* J Clin Endocrinol Metab, 1999. 84(5): p. 1527-33.
76. **Arlt, W., F. Callies, I. Koehler, et al.**, *Dehydroepiandrosterone supplementation in healthy men with an age-related decline of dehydroepiandrosterone secretion.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(10): p. 4686-92.
77. **van Niekerk, J.K., F.A. Huppert, and J. Herbert**, *Salivary cortisol and DHEA: association with measures of cognition and well-being in normal older men, and effects of three months of DHEA supplementation.* Psychoneuroendocrinology, 2001. 26(6): p. 591-612.

78. **Baulieu, E.E., G. Thomas, S. Legrain, et al.**, *Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: contribution of the DHEAge Study to a sociobiomedical issue.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. 97(8): p. 4279-84.
79. **Wolkowitz, O.M., V.I. Reus, E. Roberts, et al.**, *Dehydroepiandrosterone (DHEA) treatment of depression.* Biol Psychiatry, 1997. 41(3): p. 311-8.
80. **Bloch, M., P.J. Schmidt, M.A. Danaceau, et al.**, *Dehydroepiandrosterone treatment of midlife dysthymia [see comments].* Biol Psychiatry, 1999. 45(12): p. 1533-41.
81. **Sugino, M., N. Ohsawa, T. Ito, et al.**, *A pilot study of dehydroepiandrosterone sulfate in myotonic dystrophy.* Neurology, 1998. 51(2): p. 586-9.
82. **Roberts, E. and T.J. Fauble**, *Oral DHEA in Multiple Sclerosis, Results of a phase-one, open study.* in : The Biological Role of Dehydroepiandrosterone (Kalimi, M., Regelson, W.), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1990: p. 81-83.
83. **Calabrese, V.P., E.R. Isaacs, and W. Regelson**, *DHEA in Multiple Sclerosis: Positiv effects on the fatigue syndrome in a non-randomized study.* in : The Biological Role of Dehydroepiandrosterone (Kalimi, M., Regelson, W.), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1990: p. 95-100.
84. **Friess, E., L. Trachsel, J. Guldner, et al.**, *DHEA administration increases rapid eye movement sleep and EEG power in the sigma frequency range.* Am J Physiol, 1995. 268(1 Pt 1): p. E107-13.
85. **Reiter, W.J., A. Pycha, G. Schatzl, et al.**, *Dehydroepiandrosterone in the treatment of erectile dysfunction: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study.* Urology, 1999. 53(3): p. 590-4; discussion 594-5.
86. **Casson, P.R., N. Santoro, K. Elkind-Hirsch, et al.**, *Postmenopausal dehydroepiandrosterone administration increases free insulin-like growth factor-I and decreases high-density lipoprotein: a six-month trial.* Fertil Steril, 1998. 70(1): p. 107-10.
87. **Diamond, P., L. Cusan, J.L. Gomez, et al.**, *Metabolic effects of 12-month percutaneous dehydroepiandrosterone replacement therapy in postmenopausal women.* J Endocrinol, 1996. 150 Suppl: p. S43-50.
88. **Morales, A.J., R.H. Haubrich, J.Y. Hwang, et al.**, *The effect of six months treatment with a 100 mg daily dose of dehydroepiandrosterone (DHEA) on circulating sex steroids, body composition and muscle strength in age-advanced men and women.* Clin Endocrinol (Oxf), 1998. 49(4): p. 421-32.
89. **Villareal, D.T., J.O. Holloszy, and W.M. Kohrt**, *Effects of DHEA replacement on bone mineral density and body composition in elderly women and men.* Clin Endocrinol (Oxf), 2000. 53(5): p. 561-8.
90. **Nestler, J.E., C.O. Barlascini, J.N. Clore, et al.**, *Dehydroepiandrosterone reduces serum low density lipoprotein levels and body fat but does not alter insulin sensitivity in normal men.* J Clin Endocrinol Metab, 1988. 66(1): p. 57-61.
91. **Mortola, J.F. and S.S. Yen**, *The effects of oral dehydroepiandrosterone on endocrine-metabolic parameters in postmenopausal women.* J Clin Endocrinol Metab, 1990. 71(3): p. 696-704.
92. **Yen, S.S., A.J. Morales, and O. Khorram**, *Replacement of DHEA in aging men and women. Potential remedial effects.* Ann N Y Acad Sci, 1995. 774: p. 128-42.

93. **Casson, P.R., L.C. Faquin, F.B. Stentz, et al.**, *Replacement of dehydroepiandrosterone enhances T-lymphocyte insulin binding in postmenopausal women.* Fertil Steril, 1995. 63(5): p. 1027-31.
94. **Callies, F., M. Fassnacht, J.C. van Vlijmen, et al.**, *Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency: effects on body composition, serum leptin, bone turnover, and exercise capacity.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(5): p. 1968-72.
95. **Labrie, F., P. Diamond, L. Cusan, et al.**, *Effect of 12-month dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone, vagina, and endometrium in postmenopausal women.* J Clin Endocrinol Metab, 1997. 82(10): p. 3498-505.
96. **Casson, P.R., R.N. Andersen, H.G. Herrod, et al.**, *Oral dehydroepiandrosterone in physiologic doses modulates immune function in postmenopausal women.* Am J Obstet Gynecol, 1993. 169(6): p. 1536-9.
97. **Khorram, O., L. Vu, and S.S. Yen**, *Activation of immune function by dehydroepiandrosterone (DHEA) in age-advanced men.* J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 1997. 52(1): p. M1-7.
98. **Young, D.G., G. Skibinski, J.I. Mason, et al.**, *The influence of age and gender on serum dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S), IL-6, IL-6 soluble receptor (IL-6 sR) and transforming growth factor beta 1 (TGF-beta1) levels in normal healthy blood donors.* Clin Exp Immunol, 1999. 117(3): p. 476-81.
99. **Young, D.G., G. Skibinski, A. Skibinska, et al.**, *Preliminary studies on the effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on both constitutive and phytohaemagglutinin (PHA)-inducible IL-6 and IL-2 mRNA expression and cytokine production in human spleen mononuclear cell suspensions in vitro.* Clin Exp Immunol, 2001. 123(1): p. 28-35.
100. **Lucas, J.A., S.A. Ahmed, M.L. Casey, et al.**, *Prevention of autoantibody formation and prolonged survival in New Zealand black/New Zealand white F1 mice fed dehydroisoandrosterone.* J Clin Invest, 1985. 75(6): p. 2091-3.
101. **Lahita, R.G., H.L. Bradlow, E. Ginzler, et al.**, *Low plasma androgens in women with systemic lupus erythematosus.* Arthritis Rheum, 1987. 30(3): p. 241-8.
102. **van Vollenhoven, R.F., E.G. Engleman, and J.L. McGuire**, *An open study of dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus.* Arthritis Rheum, 1994. 37(9): p. 1305-10.
103. **van Vollenhoven, R.F., E.G. Engleman, and J.L. McGuire**, *Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus. Results of a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial.* Arthritis Rheum, 1995. 38(12): p. 1826-31.
104. **van Vollenhoven, R.F.**, *Dehydroepiandrosterone in the treatment of systemic lupus erythematosus.* Rheumatology (Oxford), 2000. 39(8): p. 929-30.
105. **Barrett-Connor, E., K.T. Khaw, and S.S. Yen**, *A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate, mortality, and cardiovascular disease.* N Engl J Med, 1986. 315(24): p. 1519-24.
106. **Barrett-Connor, E. and D. Goodman-Gruen**, *Dehydroepiandrosterone sulfate does not predict cardiovascular death in postmenopausal women. The Rancho Bernardo Study.* Circulation, 1995. 91(6): p. 1757-60.
107. **Barrett-Connor, E. and K.T. Khaw**, *Absence of an inverse relation of dehydroepiandrosterone sulfate with cardiovascular mortality in postmenopausal women [letter].* N Engl J Med, 1987. 317(11): p. 711.

108. **Herrington, D.M., G.B. Gordon, S.C. Achuff, et al.**, *Plasma dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in patients undergoing diagnostic coronary angiography [corrected and republished with original paging, article originally printed in J Am Coll Cardiol 1990 Oct;16(4):862-70].* J Am Coll Cardiol, 1990. 16(6): p. 862-70.
109. **Trivedi, D.P. and K.T. Khaw**, *Dehydroepiandrosterone sulfate and mortality in elderly men and women.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(9): p. 4171-7.
110. **Welle, S., R. Jozefowicz, and M. Statt**, *Failure of dehydroepiandrosterone to influence energy and protein metabolism in humans.* J Clin Endocrinol Metab, 1990. 71(5): p. 1259-64.
111. **Buster, J.E., P.R. Casson, A.B. Straughn, et al.**, *Postmenopausal steroid replacement with micronized dehydroepiandrosterone: preliminary oral bioavailability and dose proportionality studies.* Am J Obstet Gynecol, 1992. 166(4): p. 1163-8; discussion 1168-70.
112. **Morales, A.J., J.J. Nolan, J.C. Nelson, et al.**, *Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age [published erratum appears in J Clin Endocrinol Metab 1995 Sep;80(9):2799].* J Clin Endocrinol Metab, 1994. 78(6): p. 1360-7.
113. **Young, J., B. Couzinet, K. Nahoul, et al.**, *Panhypopituitarism as a model to study the metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) in humans.* J Clin Endocrinol Metab, 1997. 82(8): p. 2578-85.
114. **Labrie, F., A. Belanger, L. Cusan, et al.**, *Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens and estrogens but of their metabolites: intracrinology.* J Clin Endocrinol Metab, 1997. 82(8): p. 2403-9.
115. **Casson, P.R., A.B. Straughn, E.S. Umstot, et al.**, *Delivery of dehydroepiandrosterone to premenopausal women: effects of micronization and nonoral administration.* Am J Obstet Gynecol, 1996. 174(2): p. 649-53.
116. **Frömming, K. and J. Szejtli**, *Cyclodextrins in pharmacy.* Davis JED, Iawamoto T, Lipkowski L, Saenger W, editors. Topics in inclusion science. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994.
117. **Duchene, D.**, *Cyclodextrins and their industrial uses.* Paris: De Santé, 1994.
118. **Uekama, K., F. Hirayama, and T. Irie**, *Cyclodextrin Drug Carrier Systems.* Chem Rev, 1998. 98(5): p. 2045-2076.
119. **Uekama, K., T. Fujinaga, F. Hirayama, et al.**, *Inclusion complexation of steroid hormones with cyclodextrins in water and in the solid phase.* Int J Pharm, 1982. 10(1-15).
120. **Loftsson, T. and M.E. Brewster**, *Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization.* J Pharm Sci, 1996. 85(10): p. 1017-25.
121. **Loftsson, T., H. Fridriksdóttir, A.M. Sigurdardóttir, et al.**, *The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation.* Int J Pharm, 1994. 110(169-177).

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. B. Allolio für die Überlassung des Themas, die freundliche und geduldige Unterstützung, Begleitung und Förderung meiner Arbeit.

Sehr herzlich danke ich Frau PD. Dr. W. Arlt für ihre stetige Motivation und unermüdliche Bereitschaft zur kritischen Auseinandersetzung mit meiner Arbeit.

Ferner danke ich den Mitarbeitern des Endokrinologischen Labors der Medizinischen Klinik I der Universität Würzburg für die Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit.

Zu herzlichen Dank verpflichtet bin ich schließlich den Patientinnen für ihr Interesse und ihre aktive Mitarbeit an dieser Arbeit.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Susann Margot Louise Günther
Geburtsdatum	20.09.1977
Geburtsort	Leipzig
Familienstand	ledig

Ausbildung

Schulausbildung:	1984 – 1989	43. POS Walter Ulbricht in Leipzig	
	1989 – 1997	St. Gotthard Gymnasium Niederalteich	
Studium:	1997 – 1999	Humanmedizin in Hamburg	(Physikum 8/99)
	1999 – 2004	Humanmedizin in Würzburg	(1. Staatsexamen 3/01) (2. Staatsexamen 3/03) (3. Staatsexamen 5/04)

Praktisches Jahr:	I. Innere Medizin	(04/03 – 08/03) , Klinikum Aschaffenburg
	II. Pädiatrie	(08/03 – 12/03) , Kinderklinik Aschaffenburg
	III. Chirurgie	(12/03 – 03/04) , Klinikum Aschaffenburg

Berufstätigkeit

07-09 / 2004	Ärztin im Praktikum	(Kinderklinik, Aschaffenburg)
ab 10 / 2004	Assistenzärztin	(Kinderklinik, Aschaffenburg)

Publikationen

1.) **Mora, P.C., M. Cirri, S. Guenther, et al.**,
Enhancement of dehydroepiandrosterone solubility and bioavailability by ternary complexation with alpha-cyclodextrin and glycine. J Pharm Sci, 2003. 92(11): p. 2177-84.

Haibach, den 18.01.2006

S. Günther

Susann Günther