

## 1. Einleitung

Es gibt mindestens zwei Zustände, bei denen die therapeutische Hemmung der Kontraktion in der glatten Muskulatur erwartungsgemäß wichtige Konsequenzen haben würde. Diese sind Asthma und die hypoxisch bedingte pulmonale Vasokonstriktion mit nachfolgender pulmonaler Hypertonie. Alveoläre Hypoventilation führt zu einer Vasokonstriktion (Euler-Liljestrand-Mechanismus) mit Druckanstieg im arteriellen Schenkel, welchen man therapeutisch senken könnte. Beide sind wesentliche Ursachen von Morbidität und Mortalität bei prädisponierten Patienten. Die derzeitige Therapie für beide Zustände ist von sehr begrenztem Wert, nicht zuletzt weil die Basismechanismen, die den glatten Muskeltonus regulieren, ungenügend verstanden werden. Hypoxie allein kann eine Membrandepolarisation der pulmonalen arteriellen glatten Muskelzellen (SMCs, engl.: smooth muscle cells) auslösen. Wahrscheinlich sind verschiedene Typen von membranösen Ionenkanälen an der Vermittlung der SMC-Depolarisation und an der hypoxisch bedingten pulmonalen Vasokonstriktion beteiligt (1).

Beim Asthma ist der exakte Mechanismus nicht bekannt. Zur Behandlung bemüht man sich um eine Relaxation der Luftwege mit verschiedenen Agenzien, die auf Membranrezeptoren, Ionenkanäle oder andere Kontraktions- bzw. Relaxationsmechanismen wirken. Zusätzlich erschweren hier die Entzündungsreaktion und der Umbau der Luftwege eine effektive Therapie.

Bei beiden Zuständen - der pulmonalen Hypertonie und dem Asthma - gibt es drei Möglichkeiten, die therapeutische Relevanz haben könnten:

- A. Blockade des Auslösers der glatten Muskelkontraktion
- B. Blockade der Faktoren, die eine Kontraktion begünstigen
- C. Blockade der Faktoren, die eine Relaxation hemmen

Dehydroepiandrosteron hat schon in der Vergangenheit gezeigt, dass es kalziumaktivierte Kaliumkanäle aktiviert. In dieser Arbeit wurde die Möglichkeit geprüft, dass DHEA als Relaxans der glatten Muskulatur fungiert.

## 1.1. Die glatte Muskulatur

Die glatte Muskulatur ist verantwortlich für die Kontraktilität von Hohlorganen wie z. B. der Blutgefäße, der Trachea, des Gastrointestinaltraktes oder der Blase. Ihre Struktur unterscheidet sich stark von der Skelettmuskulatur, obwohl sie eine ähnliche isometrische Kraft entwickeln kann. Die Geschwindigkeit der Kontraktion im glatten Muskel beträgt allerdings nur einen Bruchteil von der im Skelettmuskel. Das auffallendste Merkmal der glatten Muskulatur ist ein Mangel an sichtbaren Quervernetzungen (daher auch der Name glatt). Die glatten Muskelfasern sind wesentlich kleiner als Skelettmuskelfasern (2).

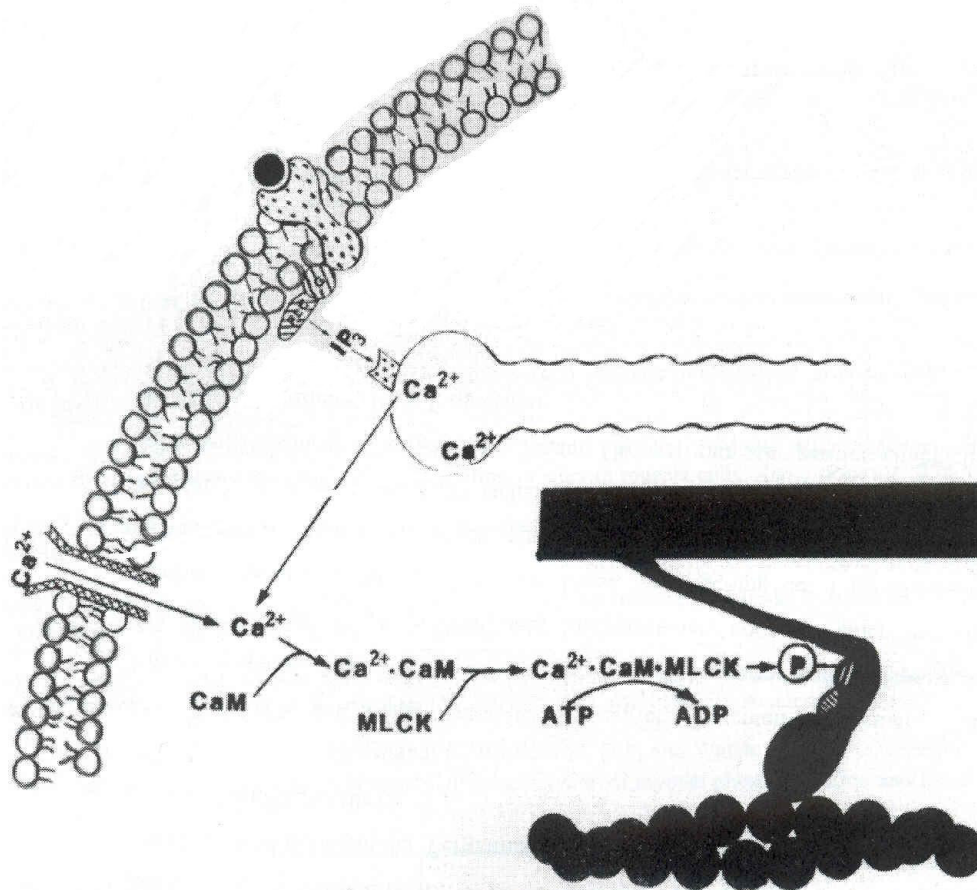
Weiterhin steht die glatte Muskulatur primär unter Kontrolle des autonomen Nervensystems, während der Skelettmuskel unter Kontrolle des somatischen Nervensystems steht. Nervale Stimulation löst im glatten Muskel wie auch im Skelettmuskel eine Membrandepolarisation aus. Im glatten Muskel unterscheidet man zwei Arten der Erregungsauslösung (3):

- 1.) Die elektromechanische Kopplung, d.h. eine Erregung (elektrochemisches Signal) löst ein mechanisches Ereignis (Kontraktion) aus. Hierbei ist Kalzium der Vermittler, der vom Extrazellulärraum ins intrazelluläre Wasser eintritt (4).
- 2.) Die pharmakomechanische Kopplung, die auf einer Rezeptoraktivierung durch Drogen oder Hormone basiert und eine Muskelkontraktion unabhängig von einer Veränderung des Membranpotentials auslöst (4). Die Vermittlung erfolgt über Kalzium, welches aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt wird (5).

Die mechanischen Ereignisse des glatten Muskels in der Wand von Hohlorganen haben zwei Bedeutungen: 1.) Seine tonische Kontraktion behält die Organdimensionen gegen auferlegte Last bei; 2.) Kraftentwicklung und Muskelverkürzung wie im Skelettmuskel.

Der glatte Muskel enthält kein Troponin, statt dessen gibt es zwei andere dünne Filamentproteine: Caldesmon und Calponin. Beide Proteine weisen Bindungsstellen für Aktin, Tropomyosin und  $\text{Ca}^{2+}$ -Calmodulin auf. Caldesmon hat außerdem eine Bindungsstelle für Myosin. Ihre physiologische Rolle ist nicht bekannt (6).

Im quergestreiften Muskel aktiviert Kalzium die Kontraktion durch Bindung an das zu den dünnen Filamenten gehörige Protein Troponin (7), während im glatten Muskel Kalzium an Calmodulin bindet. Zum Ablauf der Kontraktion im glatten Muskel siehe Abbildung 1.



**Abbildung 1.** Schema der glatten Muskelkontraktion (aus Bárány 1996, 8)

Das Aktin des glatten Muskels ist dem des Skelettmuskels sehr ähnlich, jedoch gibt es einen großen Unterschied in der Aktivierung der Myosin-ATPase durch Aktin. In der glatten Muskulatur muss Myosin phosphoryliert sein, damit die Aktinaktivierung stattfindet (8).

### ***1.1.1. Bedeutung von Kalzium für Kontraktion und Relaxation im glatten Muskel***

Kalzium spielt im glatten Muskel wie auch im Skelettmuskel eine zentrale Rolle. Wie schon erwähnt, ist im glatten Muskel allerdings nicht Troponin Ziel des zyttoplasmatischen Kalziums, sondern es aktiviert die Myosin-Leichtkettenkinase. Diese ist nur dann enzymatisch aktiv, wenn sie mit  $Ca^{2+}$ -Calmodulin assoziiert ist. In Übereinstimmung mit In-vitro-Experimenten, hört der intakte glatte Muskel auf, sich zu kontrahieren, wenn Kalzium aus der Lösung entfernt wird oder wenn es mit Hilfe von EDTA gebunden wird.

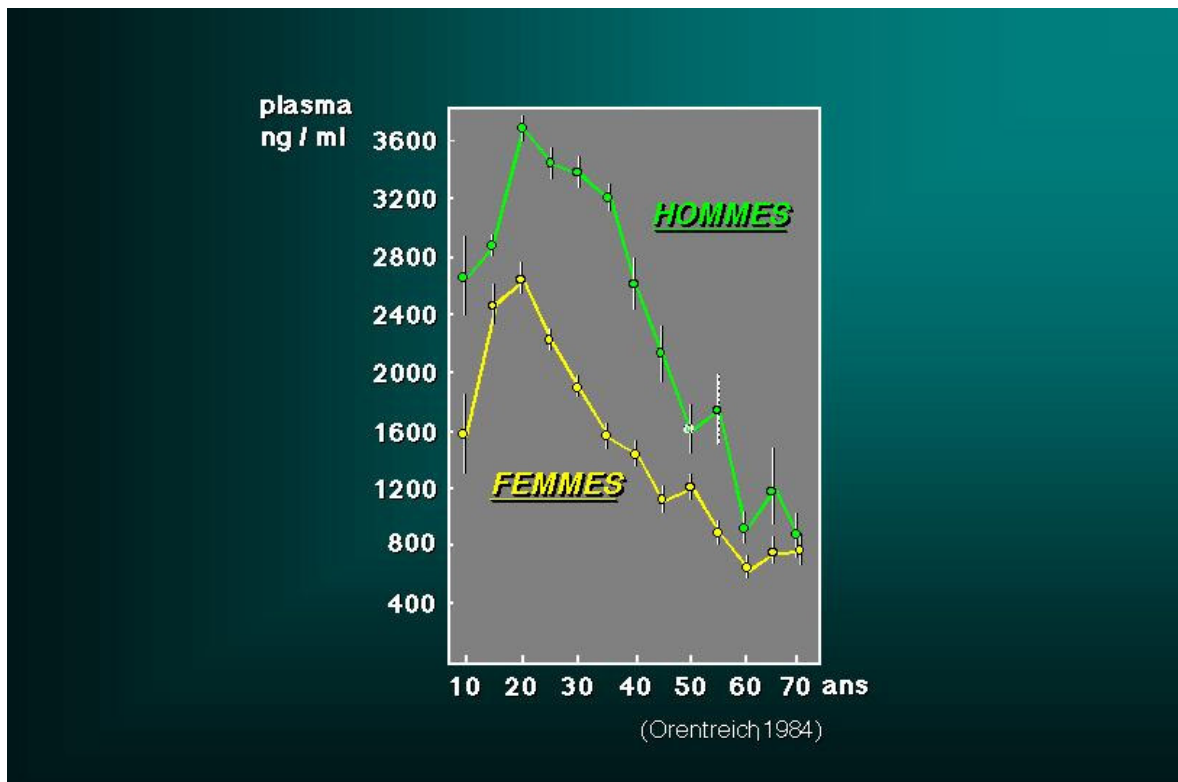
Um in vivo eine Relaxation auszulösen, muss der Kalziumspiegel im Sarkoplasma wieder bis auf den Ruhewert zurückgeführt werden (9).

Folgende Mechanismen sind daran beteiligt, den  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegel abzusenken:

- 1.) Die kalziumtransportierende ATPase der Plasmamembran (PMCA) pumpt  $\text{Ca}^{2+}$  vom Inneren der Zelle in den Extrazellulärraum (10, 11).
- 2.) Die kalziumtransportierende ATPase des sarko(endo)plasmatischen Retikulums (SERCA) pumpt  $\text{Ca}^{2+}$  in das SR (12, 13, 14).
- 3.) Das Kalziumtransportsystem – Natrium-Kalzium-Austauscher (NCX) - der Plasmamembran kann  $\text{Ca}^{2+}$  entweder in die Zelle oder aus der Zelle transportieren, abhängig vom Natrium-, Kalzium- und Kaliumgradienten an der Membran. In den meisten Zellen werden 3  $\text{Na}^+$  gegen 1  $\text{Ca}^{2+}$  ausgetauscht (15, 16, 17).
- 4.) Die mitochondriale Kalziumpumpe transportiert  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem Sarkoplasma in die Mitochondrien (18, 19).

## 1.2. Dehydroepiandrosteron und seine Wirkungen

DHEA (3-hydroxy-5-androsten-17-on) und sein Sulfatester Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) sind die Hauptsekretionsprodukte der Nebennierenrinde. Die exakte physiologische Rolle von DHEA ist unbekannt. Die Konzentrationen im Serum liegen bei 4-7  $\mu\text{g/l}$  für DHEA und bei 1000-3000  $\mu\text{g/l}$  für DHEAS. Die Serum-DHEA-Konzentrationen nehmen mit fortschreitendem Alter ab (Abbildung 2) und die DHEA-Ergänzung machte als Medikation gegen den Alterungsprozess Furore.



**Abbildung 2.** Altersverlauf der DHEA-Serumkonzentration (Orentreich et al. 1984, 20)

In dieser Grafik ist der Serumspiegel von DHEA (in ng/ml) bei Männern (grün) und Frauen (gelb) in Abhängigkeit vom Alter (in Jahren) dargestellt

Jedoch beruhen diese Schlussfolgerungen auf Experimenten an Nagetieren mit einer gänzlich anderen DHEA-Physiologie. Beim Menschen ist DHEA eine entscheidende Vorstufe der Sexualhormone (siehe Abbildung 3) und beeinflusst indirekt endokrine Abläufe, die der Konversion zu Androgenen und Östrogenen folgen. Außerdem wirkt es als Neurohormon über Neurotransmitterrezeptoren im Gehirn.



4 Jahre später warf eine Gruppe von Wissenschaftlern aus Frankreich nochmals einen kritischen Rückblick auf alle existierenden Studien und schlussfolgerte:

- 1) es gibt keinen Beweis für einen protektiven Effekt von DHEA bei Frauen und
- 2) Männer mit einem niedrigen DHEA- bzw. DHEAS-Plasmaspiegel sind gefährdet, eine koronare Herzkrankheit zu entwickeln (25).

Eine neuere Studie von 2001 bei Männern (n = 963) und Frauen (n = 1171) älter als 65 Jahre zeigte, dass die allgemeine und kardiovaskuläre Sterblichkeit am höchsten war bei Männern mit den niedrigsten DHEA-Konzentrationen, wohingegen bei Frauen kein signifikanter Zusammenhang zwischen zirkulierendem Dehydroepiandrosteronsulfat und Mortalität gefunden wurde (26).

Auch bei 40–70-jährigen Männern (Ausgangszeitpunkt) ergab eine prospektive populationsbasierende Zufallsstichprobe (n = 1709), dass die Serum-DHEA-Spiegel im umgekehrtem Verhältnis zur KHK stehen (27). Die Resultate bestätigten frühere Beweise einer Vorherbestimmung der KHK durch niedriges DHEA/DHEAS bei Männern.

Bezüglich der allogenen Herztransplantatvaskulopathie stellte sich heraus, dass die Plasmaspiegel von DHEAS mit dem Ausmaß der koronaren Arteriosklerose und der beschleunigten koronaren allogenen Vaskulopathie umgekehrt assoziiert sind (28).

Die allogene Herztransplantatvaskulopathie ist möglicherweise geringer, wenn der DHEA-Spiegel nicht vermindert ist. Man hat 61 Herztransplantatempfänger untersucht und herausgefunden, dass die Plasmaspiegel des gesamten und des freien Dehydroepiandrosterons der Versuchspersonen geringer waren, bei denen sich eine allogene Herztransplantatvaskulopathie entwickelte. Geringe Plasmaspiegel von DHEA begünstigen und hohe Spiegel verzögern demnach wahrscheinlich die Entwicklung einer koronaren allogenen Vaskulopathie (29).

### ***1.2.2. DHEA und Thrombozyten***

DHEA löst eine konzentrationsabhängige In-vitro- und In-vivo-Hemmung der Thrombozytenaggregation aus. Die beobachtete Hemmung der Thrombozytenaggregation ist mit einer Reduktion der Thromboxan-B<sub>2</sub>-Produktion verbunden. Die Hemmung der Plättchenaktivität durch DHEA kann zu den vermeintlichen antiatherogenen und kardioprotektiven Wirkungen beitragen (30).

### *1.2.3. Die Wirkung von DHEA/DHEAS auf die glatte Muskulatur der Blutgefäße*

1995 haben die Ergebnisse von Barbagallo et al. den Beweis für eine direkte vaskuläre Wirkung von DHEAS geliefert in Konzentrationen, welche die zirkulierenden Spiegel in vivo reflektieren. In diesem Tierexperiment hat sich gezeigt, dass DHEAS eine signifikante dosisabhängige Relaxation von isolierten helikalen Streifen einer Rattenschwanzarterie auslöst. In isolierten glatten Gefäßmuskelzellen hemmte DHEAS reversibel Kaliumchlorid (30 mmol/l)-induzierte Anstiege des freien zytosolischen Kalziums, was die Möglichkeit nahe legt, dass die Gefäßwirkung über eine Modulation des intrazellulären Kalziummetabolismus bewirkt wird. Sie stellten die Hypothese auf, dass DHEAS physiologisch als Puffer gegenüber einer großen Vielfalt von depolarisierenden und konstriktorischen hormonalen Stimuli dient (31).

Farrukh et al. berichteten, dass die Verabreichung von Kortikosteroiden eine deutliche Hemmung der Lipidperoxid- oder Thromboxan-A<sub>2</sub>-vermittelten pulmonalen Vasokonstriktion bewirkte (32). Die intramuskuläre Applikation von Progesteron - einem Derivat des Stammmoleküls Pregnenolon und einer Vorstufe von DHEA - soll eine Relaxation der glatten Muskulatur auslösen (33). Des Weiteren soll Deoxykortikosteronazetat - ein anderes Derivat des Pregnenolon - sowohl eine akute als auch eine chronische Änderung des membranösen Ionentransportes von glatten Muskelzellen der Aorta auslösen. Möglicherweise tragen diese Alterationen zu einer Änderung der vaskulären Reaktivität und der Hypertrophie bei, die mit einem Bluthochdruck einhergehen (34).

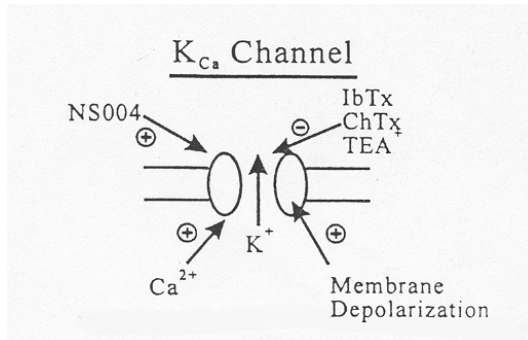
Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass die steroidinduzierte pulmonale Gefäßerschaffung über Membranhyperpolarisation vermittelt ist.

#### *1.2.3.1. Kaliumkanäle*

In vaskulären SMCs wird der Gefäßtonus größtenteils durch das Membranpotential ( $E_m$ ) bestimmt, welches wiederum hauptsächlich von Kaliumkanälen kontrolliert wird. Zu den Kaliumkanälen gehören: die kalziumaktivierten Kaliumkanäle ( $K_{Ca}$ ) (35, 36, 37), die ATP-sensitiven Kaliumkanäle ( $K_{ATP}$ ) (38, 39) und die verzögerten Gleichrichtungskaliumkanäle ( $K_{dr}$ ) (36), synonym den spannungsaktivierten Kaliumkanälen. 1994 wurde berichtet, dass alveoläre Hypoxie die Amplitude der verzögerten Gleichrichtungskaliumkanäle in pulmonalen glatten Muskelzellen kleiner Arterien von Ratten reduziert (39).



Beobachtungen von Peng und Kollegen in humanen pulmonalen glatten Muskelzellen deuteten darauf hin, dass kalziumaktivierte Kaliumkanäle als negativer Feedbackmechanismus fungieren können, um dem akuten Effekt der Hypoxie und anderen agonisteninduzierten Membrandepolarisationen entgegenzuwirken. Chronische Hypoxie führt allerdings zu einer verminderten Aktivität dieser Kanäle, die hauptsächlich einer verringerten Sensitivität gegenüber dem Membranpotential und freiem Kalzium geschuldet ist (40, 41).



**Abbildung 4.** Der kalziumaktivierte Kaliumkanal (Nelson MT et al. 1995, 81)

Die gereinigten Toxinpeptide wie z. B. Charybdotoxin (CTX), Iberitoxin und Tetraethylammonium (TEA) sind bekannte Inhibitoren der kalziumaktivierten Kanäle (42). Über die  $K_{Ca}$ -Agonisten ist jedoch wenig bekannt.

#### 1.2.3.2. DHEA und Kaliumkanäle

1999 bestätigten Peng, Hoidal und Farrukh mittels Patch-clamp-Technik ihre frühere Vermutung. Sie fanden heraus, dass chronische Hypoxie in menschlichen pulmonalen glatten Muskelzellen eine Abnahme der hochamplitudigen, high-noise und Charybdotoxin-sensitiven  $K_{Ca}$  bewirkt. Neu war jedoch der Einfluss von DHEA auf die Kaliumkanäle. DHEA kehrte die Effekte der chronischen Hypoxie auf die kalziumaktivierten Kaliumkanäle um, zeigte jedoch keine Wirkung auf die niedrigamplitudigen, low-noise und 4-Aminopyridin-sensitiven  $K_{dr}$ . Die erhöhte Kaliumkanalaktivierung von beiden Seiten der Membran erfolgte über einen cAMP- und cGMP-unabhängigen Stoffwechselweg (43).

In isolierten Frettchenlungen verursachte schwere alveoläre Hypoxie (3%  $O_2$ ; 5%  $CO_2$ ; 92%  $N_2$ ) eine anfängliche Zunahme der pulmonalen Hypertonie. Auch hier bewirkte DHEA eine nahezu vollständige Umkehr dieser Hypertonie, die ebenso wie in humanen

pulmonalen glatten Muskelzellen durch eine cAMP- und cGMP-unabhängige Zunahme der Aktivität von kalziumaktivierten Kaliumkanälen ausgelöst wurde (44).

#### ***1.2.4. DHEA und Arteriosklerose***

Mögliche antiarteriosklerotische Wirkungen werden ebenfalls den Effekten von DHEA zugeschrieben. Als man die Verkalkung der Aorta bei 69 Männern und 119 Frauen untersuchte, stellte man fest, dass die Steroidkonzentrationen bei den Versuchspersonen mit aortaler Verkalkung deutlich geringer waren als bei denen ohne (45). Diese Befunde entsprechen den Ergebnissen, die man bei Tieren erhielt. Dehydroepiandrosteron-Fütterung reduziert die streifige Verfettung der Aorta bei Kaninchen, die mit Cholesterin gefüttert wurden, um 30 bis 40%. Verglichen mit Kontrollen hatten die DHEA-gefütterten Tiere ähnliche Plasmaspiegel des gesamten, VLDL-, LDL- und des HDL-Cholesterins, der Kortikoide und der Östrogene. Sie hatten allerdings höhere Plasmaspiegel der gesamten, VLDL- und der LDL-Triglyzeride und geringere Konzentrationen der HDL-Triglyzeride als die Kontrollgruppe. DHEA hemmt demnach die streifige Verfettung der Aorta unabhängig von Änderungen des Plasmaniveaus des gesamten und des LDL-Cholesterins (46).

Im Gegensatz dazu erniedrigte die postmenopausale DHEA-Gabe (25 mg pro Tag) in einer 6 Monate dauernden Studie das HDL-Cholesterin, während es den insulinähnlichen Wachstumsfaktor 1 (IGF-1) nach drei Monaten erhöhte (47).

Man vermutet, dass diese und ähnliche antiarteriosklerotische Wirkungen von Dehydroepiandrosteron/Dehydroepiandrosteronsulfat rezeptorvermittelt sind. Bei Kaninchen wurde in einer vaskulären glatten Muskelzellreihe (SM-3) die Zellproliferation und -migration in Anwesenheit von DHEAS gehemmt. Wahrscheinlich ist dieser inhibitorische Effekt von DHEAS über eine verminderte Interaktion der SM-3-Zellen mit Fibronectin bedingt. Die Scatchardanalyse enthüllte das Vorhandensein von zwei Populationen von DHEAS-Bindungsstellen in der Kernfraktion und einer kleineren Anzahl in der zytosolischen Fraktion (48).

### ***1.2.5. DHEA und die Proliferation glatter Muskelzellen***

DHEA beeinflusst wahrscheinlich die Proliferation von glatten Muskelzellen. DHEA und sein potentes Analogon 16 $\alpha$ -Bromoepiandrosteron verminderten die Bindung des Transkriptionsfaktors AP-1 an die DNA. Diese Bindung ist wichtig für die Expression von Genen, welche die DNA-Synthese und die Entwicklung des Zellzyklus vermitteln. So reduzierten DHEA und sein Analogon erheblich die Proliferation in Primärkulturen von glattem Trachealmuskel der Ratte. Auf diese Weise könnten sie sich in der Behandlung des asthmatischen Umbaus der Luftwege beim Menschen als nützlich erweisen (49).

Die durch Mitogene aktivierte Proteinkinase (MAP-Kinase), zyklisches AMP und Prostaglandin E<sub>2</sub> könnten an der Hemmung der Proliferation durch DHEA beteiligt sein. Die Zielsetzung einer Untersuchung war es herauszufinden, ob Dehydroepiandrosteron die wachstumsfaktorinduzierte MAP-Kinase modifiziert. Der Thrombozyten-abgeleitete Wachstumsfaktor BB (PDGF-BB), der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) und der basische Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF), nicht aber der Insulin-ähnliche Wachstumsfaktor (IGF) I stimulierten die MAP-Kinaseaktivität in humanen männlichen glatten Muskelzellen der Aorta. Nur die MAP-Kinase-Aktivierung durch PDGF-BB wurde durch die Vorbehandlung mit DHEA reduziert, wobei die MAP-Kinase-Aktivierung durch EGF oder bFGF unbeeinflusst blieb. Durch PDGF-BB erhöhte sich das intrazelluläre zyklische AMP, welches die MAP-Kinase negativ reguliert. Die Zunahme von zyklischem AMP durch PDGF-BB verstärkte sich durch Vorbehandlung mit DHEA, obgleich DHEA alleine das zyklische AMP nicht veränderte. Weder EGF noch bFGF beeinflussten das zyklische AMP mit oder ohne DHEA-Vorbehandlung. Die durch PDGF-induzierte Sekretion von Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) wurde durch Behandlung mit DHEA erhöht. Die Resultate dieses Experiments lassen vermuten, dass DHEA in humanen männlichen glatten Muskelzellen der Aorta die PDGF-BB-induzierte MAP-Kinase-Aktivierung über eine PGE<sub>2</sub>-Überproduktion und den folgenden cAMP-abhängigen Weg hemmt (50).

2002 untersuchten Williams et al. die Wirkungen von DHEA auf die Proliferation humaner vaskulärer glatter Muskelzellen (VSMCs) in An- und Abwesenheit eines Östrogen- und eines Androgenantagonisten. DHEA hemmte signifikant PDGF-BB-induzierte Anstiege der VSMC-Proliferation. Keiner der beiden Rezeptorantagonisten änderte den hemmenden Einfluss von DHEA. Folglich inhibiert DHEA die VSMC-Proliferation beim Menschen über einen Androgen- bzw. Östrogen-unabhängigen Mechanismus, vermutlich über einen DHEA-spezifischen Rezeptor, der den ERK-1-

Signalübertragungsweg einbezieht. ERK-1 ist ein Mitglied der MAP-Kinase-Superfamilie (51).

### ***1.2.6. Interaktionen zwischen DHEA und Prostaglandinen***

Möglicherweise verbirgt sich hinter den beobachteten Effekten von DHEA eine veränderte Prostaglandinproduktion. Man hat die Prostaglandinproduktion am Myometrium untersucht und zwar an Kulturen von Myometriumzellen prämenopausaler Patientinnen: In der Anwesenheit von DHEAS in Konzentrationen von  $10^{-6}$  M und höher stieg die PGE<sub>2</sub>-Produktion deutlich an. Es liegt demzufolge nahe, dass Steroidhormone Regulationsfaktoren in der Produktion von Prostaglandinen am Myometrium sind (52).

### ***1.2.7. DHEA und Neuroprotektion***

DHEA und DHEAS können als neurotrophische oder neuroprotektive Faktoren funktionieren, um die Neuronen des zentralen Nervensystems (ZNS) vor einer Reihe von Verletzungen einschließlich der Erregungstoxizität zu schützen. Dieses Experiment bewertete die pharmakologischen Effekte von DHEAS in einem Model der reversiblen Ischämie des Rückenmarkes. Lapchak et al. verschlossen zeitweise die infrarenale Aorta von Kaninchen und bestimmten die Dauer der Ischämie P(50), bei der sich mit 50%-iger Wahrscheinlichkeit eine doppelseitige Lähmung entwickelte. Die DHEA-Behandlung 5 Minuten nach Beginn des Verschlusses verlängerte im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant die P(50). Außerdem war der DHEAS-Effekt dauerhaft, da auch nach 4 Tagen ein signifikanter Unterschied messbar war. Allerdings zeigte sich bei DHEAS-Gabe 30 Minuten nach dem Verschluss keine Neuroprotektion mehr. Wahrscheinlich sind GABA(A)-Rezeptoren an dem neuroprotektiven Effekt beteiligt. Diese Untersuchung legt nahe, dass Neurosteroiden einen wesentlichen therapeutischen Vorteil in der Behandlung des ischämischen Schlaganfalls bringen können (53).

### ***1.2.8. DHEA bei Asthma***

Es ist noch nicht genau klar, wie der DHEA-Spiegel bei Asthmapatienten verändert ist. Weibliche Patientinnen mit „intrinsischem“ Bronchialasthma - ohne Steroidtherapie für mindestens drei Monate - zeigten niedrige Blutkonzentrationen des gesamten (proteinungebundenen + proteingebundenen) und des freien (biologisch aktiven, proteinungebundenen) Kortisons, des Dehydroepiandrosterons und des Dehydroepiandrosteronsulfats, sowie eine geringe Harnausscheidung der DHEA-Metaboliten (54).

Eine weitere Studie bezüglich löslichem CD30, Dehydroepiandrosteronsulfat und Dehydroepiandrosteron wurde bei atopischen und nicht-atopischen Kindern (8-15 Jahre alt; n = 36) durchgeführt. Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede der DHEAS- und DHEA-Spiegel bei atopischen und nicht-atopischen Kindern (55).

1996 untersuchten Weinstein et al. die Sexualsteroiden bei 22 postmenopausalen, asthmatischen und 22 altersentsprechenden postmenopausalen, nichtasthmatischen Frauen. Das durchschnittliche Niveau von DHEAS, DHEA, Östradiol und Östron war bei den Asthmapatientinnen geringer im Vergleich zu den nichtasthmatischen Versuchspersonen (56).

In einer früheren Untersuchung (1990) bestimmten Mileva et al. den Basisspiegel und den 24-h-Rhythmus der Sekretion verschiedener Sexualsteroiden bei 26 Männern (19-50 Jahre alt) mit Bronchialasthma. Bei 55% dieser Patienten fand man eine unterschiedlich starke Zunahme des DHEAS-Basisspiegels im anfallsfreien Intervall (57).

### ***1.2.9. DHEA als Immunmodulator***

Dehydroepiandrosteron moduliert das Immunsystem. Eine Gruppe älterer Männer mit niedrigen DHEA-Spiegeln, der täglich eine hohe Dosis DHEA (50 mg) über 20 Wochen gegeben wurde, erfuhr eine signifikante Aktivierung des Immunsystems (58). Bei postmenopausalen Frauen wurde zu Beginn und nach drei Wochen einer DHEA-Ergänzung die Immunfunktion bestimmt. Nach den drei Wochen fanden sich eine verminderte Anzahl an T-Helferzellen und eine erhöhte Anzahl an natürlichen Killerzellen. Obwohl die Reaktion der T-Zellen auf Wachstumsförderung und auf Interleukin-6 gehemmt war, stieg die Toxizität der natürlichen Killerzellen erheblich. Diese Daten liefern den Beweis für einen immunmodulierenden Effekt bei Frauen (59).

Weiterhin führte DHEA zu besseren Überlebenschancen nach einem septischen Ereignis bei Mäusen. Die immunstimulierende Wirkung wird von einer reduzierten Freisetzung des Tumor-Nekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und einer verbesserten Aktivität der T-Zell-Immunität begleitet (60). Dabei blockiert DHEA nicht nur die toxininduzierte Produktion pathophysiologischer Konzentrationen des TNF- $\alpha$ , sondern auch die Produktion des Interleukins 1 (61).

24 Stunden nach einer traumatischen Blutung bei Mäusen wurden durch DHEA-Behandlung die verminderten Splenozyten- und Makrophagenfunktionen wiederhergestellt. Außerdem erhöhte eine dreitägige DHEA-Gabe signifikant das Überleben der Tiere, die an einer folgenden Sepsis litten (62).

Ein anderer Befund, der möglicherweise im Zusammenhang mit dem Immunsystem steht, ist die Tatsache, dass DHEA-Therapie positive Auswirkungen auf Patienten mit einem systemischen Lupus erythematodes (SLE) hat. Sie führt zu einer Verbesserung der allgemeinen Leistung und der funktionellen Aktivität (63, 64).

### 1.3. Die gegenwärtige Studie

Aus den oben aufgeführten verschiedenen Wirkungen von DHEA leitet sich ein breites Spektrum potentieller Einsatzgebiete ab. Allerdings sind noch nicht alle Wirkungen von DHEA hinreichend untersucht, auch nicht die möglichen Nebenwirkungen bei routinemäßiger Anwendung ohne strenge Indikation. Wir gingen in dieser Studie vor allem der Wirkung von DHEA auf die glatte Muskulatur auf den Grund. DHEA öffnet kalziumaktivierte Kaliumkanäle und vermindert den hypoxieinduzierten pulmonalen Gefäßwiderstand in Frettchenlungen, vermutlich durch Relaxation der glatten arteriellen Muskulatur. Es gibt jedoch nur wenig Daten über die direkten Wirkungen von DHEA auf die Kontraktilität der glatten Muskulatur, besonders der Bronchialmuskulatur.

Für die Untersuchung haben wir einen experimentellen Ansatz mit einem System gewählt, in dem die Wirkungen von DHEA auf Aorten- bzw. Trachealringe von Ratten in einem organischen Bad durch Bestimmung der isometrischen Muskelkontraktion untersucht werden konnten. Es bestehen zu diesem Versuchsaufbau schon Vorergebnisse bezüglich DHEA und seiner Effekte auf Aorta und Trachea der Ratte. Pavlovic et al. stellten fest, dass DHEA die glatte Muskulatur von Aorta und Trachea der Ratte relaxiert. Des Weiteren haben sie den Einfluss der Kaliumkanalblocker Tetraethylammonium (TEA), Glibenclamid (GLIB), 4-Aminopyridin (4-AP) und Charybdotoxin (ChTx) untersucht. Die Kaliumkanalblocker konnten die Relaxation weder verhindern noch umkehren (65).

Peng, Hoidal und Farrukh haben mit der Patch-clamp-Technik gearbeitet (36, 40, 41, 43, 44). Sie erforschten vor allem die Kaliumkanäle in vivo und in vitro. Bei dieser Technik liegt der Schwerpunkt bei den Ionenkanälen.

Mit der von uns angewandten Technik ist eine vielseitige Analyse der Fragestellung möglich. Man kann auf diese Weise den Einfluss verschiedener Arzneimittel bestimmen und direkte Veränderungen der Muskelspannung verfolgen. Ziel der Arbeit ist es, die funktionelle Signifikanz des potentiellen Kaliumkanalöffners DHEA als glattes Muskelrelaxans in Aorta und Trachea der Ratte zu bestimmen. Dazu wurden in einzelnen Versuchen unterschiedliche Substanzen und Faktoren, die Einfluss auf die durch DHEA ausgelöste Erschlaffung haben könnten, geprüft. Es sollten Mechanismen, die dabei eine Rolle spielen, aufzeigt werden oder belegt werden, dass sie keine Bedeutung für die Wirkungsweise von DHEA haben.