

血中 DHEA 濃度の個人差と抗酸化機能について

国立健康
栄養研究所 木村典代

(共同研究者) 同 樋口 満

共立女子大学 加藤達雄

Individual Difference of the DHEA Concentration and its Antioxidant Activity

by

Michiyo Kimura, Mitsuru Higuchi
*National Institute of Health and
Nutrition, Division of Health Promotion*

Tatsuo Kato
Kyoritsu Women's University

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the individual difference of the dehydroepiandrosterone (DHEA) concentration which could be associated with antioxidative capacity in young adult women.

The urinary DHEA and 11-deoxy 17-ketosteroid (deoxy 17KS) excretion of the 80 untrained women and 77 trained women were measured with gas chromatography. The DHEA and deoxy 17KS excretion of trained women were significantly lower than those of control women.

The modification of chromosomal damage in lymphocytes induced by oxidative stress were evaluated by administration of DHEA and its metabolites (DHEA sulfate, testosterone and androstenedione) by the micronucleus assay using WIL2-NS cell line. The spontaneous and X-ray irradiated micronucleus frequencies in lymphocytes did not change by the 25 μ M and 2.5 μ M of the DHEA and DHEA sulfate.

These results suggest the possibility that in human study the serum DHEA and DHEA sulfate concentrations could be decreased by the regularly performed vigorous training, however, the antioxidative activity of DHEA could not be clarified, and that in vitro study DHEA and its metabolites have no antioxidative activity.

要 旨

我々は、血中 dehydroepiandrosterone (DHEA) 濃度の個人差と DHEA の抗酸化能について検討することを目的として、一般女子 80 名および運動鍛練者 77 名の DHEA 排泄量と 11-deoxy 17-ketosteroid (deoxy17KS) 量をガスクロマトグラフィにて測定した。また、血中 DHEA 濃度の個人差の影響をみるために、リンパ球培養細胞 (WIL2-NS 細胞) を用いて、DHEA および DHEA より生成されるステロイド (DHEA sulfate, testosterone, androstenedione) の濃度の違いによる DNA 酸化損傷の影響を小核試験法にて検討した。その結果、運動鍛練者の DHEA 排泄量および deoxy17KS 排泄量は一般女子に比して明らかに少なかった。また、自然生成する有小核リンパ球と X 線照射による有小核リンパ球の出現率は、25 μM もしくは 2.5 μM の DHEA および DHEAS で変わらなかった。

本研究の結果、継続的な激しいトレーニングによって DHEA 血中濃度が低下することが示唆された。しかし、小核試験では、DHEA および DHEAS の濃度による明らかな抗酸化力の違いは認められなかった。

緒 言

我々は、これまでに健康成人女性を対象として尿中に排泄される dehydroepiandrosterone (DHEA) を測定し、正常な女性にも約 20% に DHEA 排泄高値者が存在することを認めた¹⁾。また、尿中排泄量は血中における DHEA 濃度を反

映することを示した²⁾。DHEA は ACTH 刺激によって副腎皮質で産生される弱い男性ホルモンで、女性にとっては主たる男性ホルモンである。臨床的には DHEA の著しい高値で多毛症や男性的な体格が形成されることが報告されている³⁾。また、近年になって、DHEA は抗酸化作用、抗ガン作用、長寿、抗心筋梗塞作用、免疫作用、抗骨粗鬆症作用などとの関連で注目されるようになってきている。しかし、その明確な作用についてはいまだに明らかではない。

DHEA の抗酸化作用についての報告では、グルコース 6 リン酸脱水素酵素 (G6PDH) の活性を阻害し、NADPH の生成を抑制するために、フリーラジカルの生成を妨げるというものや^{4), 5), 6)}、ヒドロキシルラジカルのスカベンジャーになるという報告もある⁷⁾。また、Bocuzzi ら⁸⁾ の報告によると、ラットに DHEA を投与すると、銅イオンの刺激によって惹起される脂質過酸化が抑えられたという。さらに放射線照射により、乳腺組織の発ガンイニシエーションを行った雌ラットに、女性ホルモン剤を投与すると、96% の高率に乳ガンを発生することが報告されているが、このプロモーション期間中に 0.6% DHEA を混ぜた餌でラットを飼育すると、乳ガンの発生率が 35% まで低下し、統計的に有意な予防効果が認められたという⁹⁾。

しかし、運動時の酸化反応との関連で DHEA の作用について研究した報告は少なく、1990 年に Schauer ら¹⁰⁾ がラットに DHEA 液を投与し、その後の抗酸化酵素の活性変化をみたものがあるが、他はほとんど検討されていない。

前述のように血中における DHEA の濃度には明らかな個人差が存在することと、血中 DHEA 濃度の高い者は平均余命が長く、かつ免疫能力が高いという報告から¹¹⁾、血中の DHEA が酸化ストレスに対しても、有利に働いている可能性が考えられる。そこで、我々は血中 DHEA 濃度の個人差と、DHEA の抗酸化能について検討するために、まず、運動鍛練者の DHEA 産生と DHEA 濃度の検討を行った。高強度の運動を行っている鍛練者と、日頃運動を行っていない一般女性の DHEA 血中濃度の比較を行い、次に DHEA の血中濃度の違いが、X線照射によって引き起こされる二次的な酸化ストレスによって DNA の損傷・修復能にどのような影響を及ぼすかを *in vitro* の実験によって検討した。

1. 方法

試薬：DHEA, DHEA-sulfate (DHEAS), androstenedione (ASD), Androsterone (An), Etiocholanolone (Et), サルファターゼ, N-tetracosane, サイトカラシン B, ギムザ液は Sigma 社製を用いた。Testosterone (T), ジメチルスルフォキシド (DMSO), 酢酸ナトリウム, 水酸化ナトリウム, クロロホルム, ジクロロメタン, ヘキサン, クレアチニン測定用キットは和光純薬社製, RPMI1640, 子牛血清, 抗生物質, グルタミン, HBSS は GIBCO 社製を用いた。TMS 誘導化剤は東京化成製, Ficoll-Paque は Pharmacia Biotech 社製を使用した。WIL2-NS 培養細胞 (ATCC no.CRL8155) は, A.A.Morley の研究室 (Finders Medical Centre, Bedford Park,

Australia) より取り寄せた。

1. 1 DHEA 排泄量の検討

対象：対象は、本研究の目的を説明し研究協力の同意が得られた、健康若年女性（以下一般女子）80名と、体育学部もしくは実業団に所属し、週に4回以上3時間程度の運動を行っている同年代の女子（以下鍛練者）77名であった。鍛練者は運動の種類によって、球技選手（バスケットボール11名、バレーボール11名、サッカー6名、テニス15名、計43名）、陸上長距離選手（18名）、ボート選手（16名）の3群に分けた。なお、鍛練者はいずれも高校、大学と継続的に部活動を行っていた者である（表1）。

尿中 DHEA および代謝産物の測定：Pike ら¹²⁾の方法によりガスクロマトグラフィ法にて実施した。すなわち、尿 2.5 ml を pH5.15 に調整、サルファターゼを加え加水分解を行い、クロロホルムで抽出、0.1N 水酸化ナトリウムおよび蒸留水で洗浄、クロロホルム層を窒素気流下にて乾固した。内部標準物質として N-tetracosane を添加し、TMS 誘導化剤を加え、100℃ 30 分間インキュベート後、ヘキサン 0.2 ml にて溶解、1 μ l をガスクロマトグラフ (GC-17A, 検出器 FID: 島津製作所製) に注入した。キャピラリーカラムは TC-1 0.25mm \times 30m ϕ 0.25 μ m (GLサイエンス製) を用いた。本法による DHEA, An, Et 定量の再現性はそれぞれ CV3.2%, 1.8%, 2.6% と良好であった。尿試料の採取は、全対象者の卵胞期、午前 (8~11 時) に行い、DHEA および deoxy 17KS (DHEA + An + Et) の排泄量を測定した。

表 1 被検者の身体特性

		年 齢	身長 (cm)	体重 (kg)	BMI(kg/m ²)
一般女子	n=80	21.6 \pm 0.7	157.5 \pm 5.0	51.2 \pm 8.2	20.6 \pm 2.8
運動鍛練者	n=77	20.1 \pm 1.6	162.4 \pm 4.5	54.6 \pm 7.5	20.7 \pm 2.3
球 技	n=43	19.5 \pm 0.9	163.0 \pm 4.4	57.3 \pm 6.7	21.5 \pm 2.0
陸上長距離	n=18	21.3 \pm 2.5	160.1 \pm 4.3	45.6 \pm 3.5	17.8 \pm 1.1
ボ ー ト	n=16	20.5 \pm 1.2	163.4 \pm 4.3	57.7 \pm 4.0	21.6 \pm 1.3

鍛練者においては通常トレーニング期間の練習開始前安静時に卵胞期午前尿を採取した。ステロイドホルモン排泄量に関する検討はクレアチニン比を用いた。

過酸化脂質の測定：同チームで練習を行っているボート選手11名の血清過酸化脂質の測定は、外注（SRL株に委託：TBA酸法）にて行った。

1. 2 in vitro系による抗酸化能の検討

リンパ球DNA酸化損傷の測定：血中DHEA濃度の個人差モデルとして、WIL2-NS培養細胞を使い、サイトカラシンBを用いた小核試験法にて検討した¹³⁾。WIL2-NS細胞（ 5×10^5 個/ml in HBSS）に低濃度モデルとして2.5 μ Mと高濃度モデルとして25 μ MのDHEAを加え、1時間37℃でインキュベートした。また、コントロールとしてDHEA無添加のものも作成した。さらに生体内でDHEAから生成されるDHEAS, ASD, Tにおける影響についても検討した。その後、軟X線装置（OM120RS, オーミック社製）を用い、0.5GyのX線を照射するものとししないものを作り、HBSSで細胞を洗浄後、RPMI1640培地（10% FCS, 1%抗生物質, 1%グルタミン）に入れ、サイトカラシンB（終濃度4.5 μ g/ml）を加え、37℃, 5% CO₂の条件下で42時間インキュベートした。培養後、DMSOを加え（終濃度5%以下）、懸濁し、サイトスピン（Shandon Southern Products, Cheshire, UK）にかけ、ギムザ染色を行った。この標本を600倍の顕微鏡下で観察して1つの細胞中に2個の核を有する細胞を500個以上カウントし、その中の小核を有する細胞（有小核リンパ球）の出現率を算出した。なお、分析はtriplicateで行った。

統計：2群間における尿中ステロイド排泄量の平均値の差の検定には、対応のないStudentのt検定を行った。また、鍛練者の尿中ステロイド排泄量および有小核リンパ球の出現率の検定には、一

元配置の分散分析を用い、有意な分散がみられたものに関してはposthocテストを行った。いずれも危険率5%未満をもって有意と判定した。

2. 結果

2. 1 DHEA排泄量の検討

尿DHEA排泄量は鍛練者の方が一般女子よりも有意に少なかった（ $p < 0.001$ ）。またdeoxy 17KS排泄量もDHEA排泄量と同様な結果となり、鍛練者の排泄量は一般女子との間に有意差を認めた（ $p < 0.001$, 図1）。鍛練者の中では陸上長距離選手のDHEA排泄量がボート選手よりも低い傾向はあったが有意差は認められなかった（図2）。図3に一般女子と鍛練者のDHEA排泄量のヒストグラムを示した。過去のDHEA排泄量の報告より¹⁾、0.75 μ g/mg·cr以上をDHEA排泄高値群、0.75 μ g/mg·cr以下をDHEA排泄低値群として2

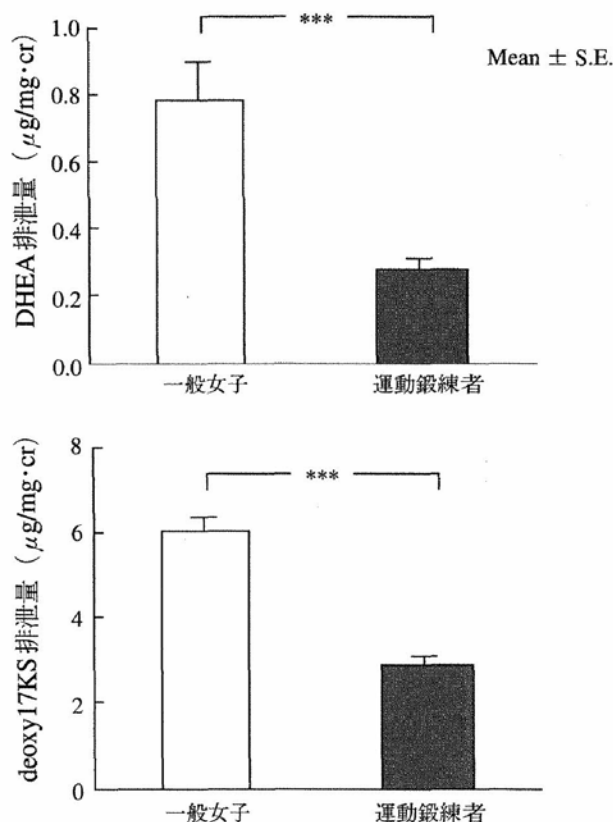


図1 DHEA排泄量（上段）およびdeoxy17KS排泄量（下段） *** $p < 0.001$
 DHEA: dehydroepiandrosterone
 deoxy17KS: 11-deoxy 17-ketosteroid
 (DHEA+androsterone+etiocolanolone)

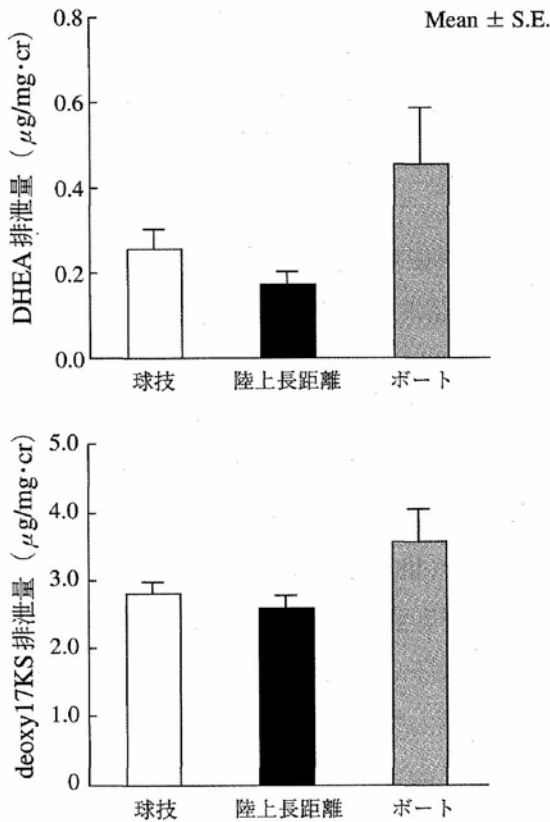


図2 運動鍛練者のDHEA排泄量(上段)およびdeoxy17KS排泄量(下段)

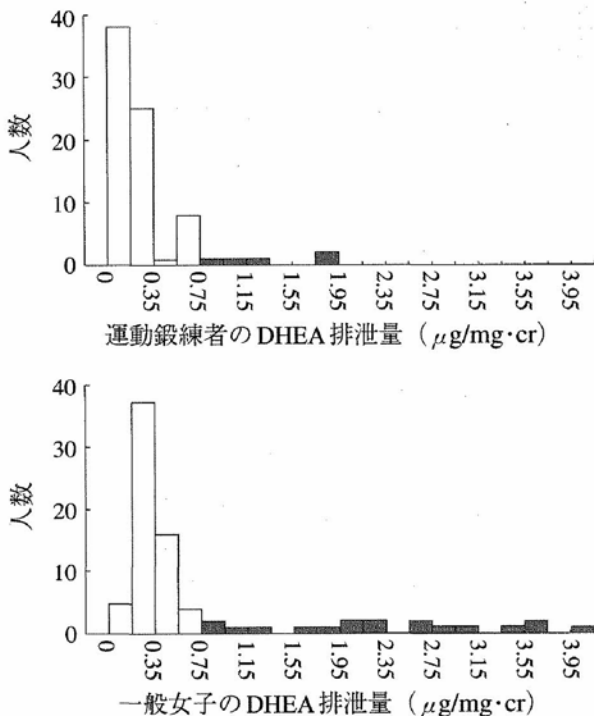


図3 運動鍛練者(上段)及び一般女子(下段)のDHEA排泄量のヒストグラム
□ DHEA排泄低値者 ■ DHEA排泄高値者

分すると、分布はいずれもDHEA排泄低値に集中し、右側に尾を引く形となったが、一般女子ではDHEA排泄高値者が全体の約20% (80人中18人) 存在したのに対して、鍛練者では約6% (77人中5人) であった。これより継続的に運動を続けている者は、血中DHEA量が有意に低下することが示唆された。

2.2 血清過酸化脂質の検討

ボート選手16名のうち、4名がDHEA排泄高値群に含まれたため、この4名を含む同一チームのボート選手11名について、血中過酸化脂質量を測定し、DHEA排泄高値者と低値者と比較を行った。しかし両群間に明らかな違いはみられなかった。

2.3 in vitro系による抗酸化能の検討

図4に自然生成する(-Xray)有小核リンパ球の出現率の結果を示した。低濃度モデルにおいては、DHEA添加における有小核リンパ球の出現率はコントロールと変わらず、DHEAS, ASD, Tについても変化はみられなかった。また、高濃度モデルにおいても低濃度モデル同様の結果であった。図5にはX線照射(+Xray)による有小核リンパ球の出現率を示した。低濃度モデルにおいては、いずれのステロイドでも変化はみられな

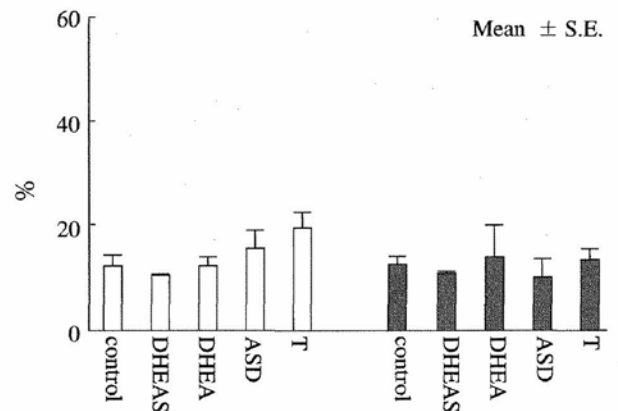


図4 自然生成による有小核リンパ球の出現率
DHEA: dehydroepiandrosterone, DHEAS: DHEAsulfate
ASD: androstenedione, T: testosterone
□ 2.5 μM ■ 25 μM

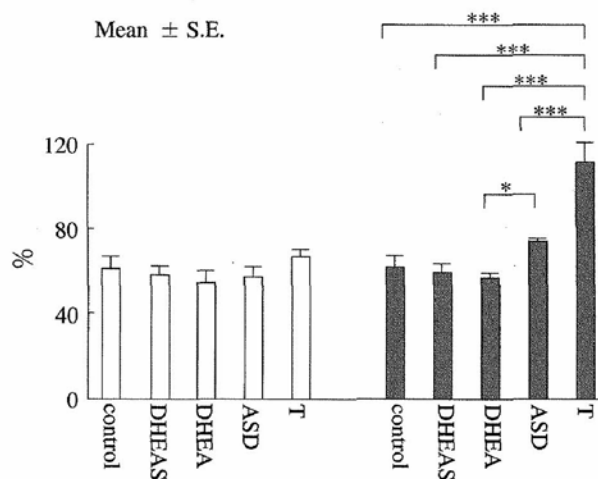


図5 X線照射による有核リンパ球の出現率
 DHEA : dehydroepiandrosterone, DHEAS : DHEAsulfate
 ASD : androstenedione, T : testosterone
 □ 2.5 μM ■ 25 μM
 *p<0.05 ***p<0.001

かったが、高濃度モデルにおいては、TとASDで明らかな増加を示した。X線照射による2次の酸化損傷を与えても、DHEAおよびDHEASの血中濃度によって、有核リンパ球の出現率は低下せず、抗酸化作用は認められなかった。しかし、DHEAから代謝変換されるTおよびASDは血中に高濃度に存在した場合、種々の酸化ストレスによってDNAダメージを引き起こす可能性が示唆された。

3. 考 察

運動時の酸素消費量は安静時に比して、最大20倍まで増加し、活性酸素の発生が一層高まると考えられる。運動時間、強度が高くなればより多くの活性酸素が発生することが予測される。そこで、運動鍛練者のDHEA濃度が、運動時に惹起される活性酸素に対する抗酸化力を検討するために、まず運動者のDHEA(S)排泄量を検討した。今回対象となった運動鍛練者77名のDHEA(S)排泄量は、一般女子に比して明らかに低値を示し、0.75 μg/cr·mg以上はわずか5名で、うち4名はボート選手であった。Pestellら¹⁴⁾は長期的な運動ストレスにより、血中ACTHの上昇をみ

ており、Lugerら¹⁵⁾、Witeertら¹⁶⁾も運動鍛練者は安静時の血中ACTH濃度が高いことを報告している。長期間の運動によって、血中コルチゾール濃度は、ACTHの分泌に伴って増加したというものが多い。一方、運動鍛練者の血中DHEA濃度に関しては報告が少なく結果も統一されていない¹⁶⁾。しかし、運動に限らず、長期ストレスで血中コルチゾールは上昇、DHEA(S)濃度は低下するというのが一般的な見解のようである¹¹⁾。一過性の運動時には、多くの研究者が運動中、運動終了直後にACTH、コルチゾール、DHEAS、ASD、T等の血中濃度の上昇を認めている^{18), 19), 20)}。同じ、ACTHの支配下にありながら、長期ストレスによってコルチゾールとDHEA(S)がまったく異なる動態を示すのは興味深い。運動鍛練者のDHEA(S)排泄量が少ない理由については、今回の結果からは明らかにできないが、多くの血中抗酸化物質が、継続的な運動により低値を示すことから、DHEA(S)も他の抗酸化物質と同様に抗酸化剤として働いている可能性も考えられる。今回、DHEA排泄高値を示した鍛練者5名のうち4名はボート選手であり、この4名を含む同一チームの11名について、血中過酸化脂質量を測定した。DHEA排泄高値群と低値群の2群で比較したが、両者の間には明らかな違いはみられなかった。今後、他の血中抗酸化物質等についても血中DHEA量と比較検討する必要があると思われる。

DHEAの抗酸化作用については、現在のところまだ統一された見解は得られていないが、前述のように、その働きを大別すると、銅イオンによって惹起されるヒドロキシラジカル等の活性酸素種に対してDHEAが直接作用して、脂質過酸化を抑えるというもの^{7), 8), 21)}と、核酸合成に必要なG6PDHの活性をDHEAが阻害するために、間接的に活性酸素の生成を抑制するというもの^{4), 5), 6)}と、DHEAが種々の抗酸化酵素の生成に関与する

という報告がみられる¹⁰⁾。しかし、その一方で、DHEAによって活性酸素が生成されるという報告も散見される^{22), 23)}。

DHEAおよびDHEASは、ヒトをはじめとする霊長類には他の動物種に比してかなり高い血中濃度で存在しているステロイドである。また、微弱ながらも男性ホルモン作用があることも知られ、その活性は両者ともTの5%程度と考えられている。本来、ステロイドホルモンの作用は、核内受容体にリガンドとして結合することで発揮される。しかし、DHEAについては、まだその受容体がクロニングされておらず、DHEAが末梢組織で強い生理活性を持つTやジヒドロテストステロン、もしくはエストロジェンに変化することでその作用を発揮するという説が有力である¹¹⁾。そこで、今回、我々はヒト培養系リンパ球を用いて、DHEAおよびその生成ステロイドの抗酸化力について検討した。DHEASはDHEAの100~200倍近い濃度で血中に存在しており、その濃度はおよそ2.5~10 μ Mであったので²⁾、低濃度モデルとして2.5 μ M、高濃度モデルを25 μ Mに設定した。X線照射による2次的な酸化損傷に対する抑制効果は、DHEAおよびDHEASにおいては認められなかった。しかし、高濃度Tでは1時間という短いインキュベーションで、X線照射後の有核リンパ球の出現率が明らかに増加し、高濃度ASDでもわずかながら有核リンパ球出現率が増加したことから、男性ホルモン作用が強い程、酸化損傷を増幅させる可能性が考えられた。これらの作用が、ステロイドホルモンの構造上の問題なのか、または核内受容体と結合してからの作用であるか、その他の化学的反応であるかは、今回からの結果からは明らかでない。今回の系においては、DHEA(S)自身には明らかな抗酸化力は認められられず、また、逆に酸化促進の影響もみられなかった。しかし、DHEAはASD、Tの前駆体であるため、血中DHEA濃度が著しく高く、かつASDやTへ

の変換が高いと、DNAの酸化損傷につながる可能性が示唆された。DHEAは、欧米においては健康食品として販売されており、日本においてもサプリメントとして注目されている物質である。経口投与はDHEAのみならず、T、ASDの血中濃度を上昇させることも考えられ、その使用には注意が必要と思われる。

4. 結 論

1. 今回、我々は血中DHEA濃度の個人差と、DHEAの抗酸化能について検討するために、運動鍛練者のDHEA産生とDHEA濃度の検討を行った。

2. DHEA産生を反映すると考えられる尿中deoxy17KSと血中DHEA量を反映する尿中DHEA(S)は、運動の種類ではその値に明らかな違いはみられなかった。しかし、一般女子と比較すると、運動鍛練者のDHEA産生量、血中濃度はいずれも明らかな低値を示した。

3. 血中DHEA濃度の個人差モデルとして、リンパ球WIL2-NS培養細胞を用い、DHEA濃度の違いが、酸化ストレスに対してどのように影響するかを小核試験法にて検討した。DHEAおよびその体内変換ステロイドであるDHEASとASD、Tの高濃度および低濃度液について検討した結果、DHEAおよびDHEASの濃度の違いによって酸化損傷度に変化はみられなかった。しかし、2次的酸化損傷を与えた場合、ASD、Tは高濃度で有小核細胞の出現率が高くなった。

謝 辞

研究助成を賜りました財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深く感謝致します。また、本研究の遂行にあたり、試料提供して下さった多くの被検者のみなさんと、小核試験の測定に際し、ご指導いただきました国立健康・栄養研究所応用食品部の梅垣敬三博士および測定に協力し

てくださいました杉澤彩子さんに心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) 武安典代, 加藤達雄; 健康若年成人女子の尿中ステロイドホルモン排泄: 特にDHEAについて, *臨床病理*, **461**, 241-1246 (1998)
- 2) 木村典代, 樋口 満, 加藤達雄; RIAによる尿中dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) 測定法の検討, **48**, 567-574 (2000)
- 3) 加藤達雄; 副腎皮質の異常, 内科学書第1巻 (監修, 吉利和, 山村雄一), 中山書店, p228-259 (1987)
- 4) Di Monaco M., Pizzini A., Gatto V., Leonardi L., Gallo M., Brignardello E. and Boccuzzi G.; Role of glucose-6-phosphate dehydrogenase inhibition in the antiproliferative effects of dehydroepiandrosterone on human breast cancer cells, *Br. J. Cancer*, **75**, 589-592 (1997)
- 5) Aragno M., Tamagno E., Poli G., Boccuzzi G., Brignardello E. and Danni O.; Prevention of carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in liver microsomes from dehydroepiandrosterone-pretreated rats, *Free Radic. Res.*, **21**, 427-435 (1994)
- 6) Araghiniknam M., Chung S., Nelson-White T., Eskelson C. and Watson R. R.; Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans, *Life Sci.*, **59**, PL147-157 (1996)
- 7) Tamagno E., Aragno M., Boccuzzi G., Gallo M., Parola S., Fubini B., Poli G. and Danni O.; Oxygen free radical scavenger properties of dehydroepiandrosterone, *Cell Biochem. Funct.*, **16**, 57-63 (1998)
- 8) Boccuzzi G., Aragno M., Seccia M., Brignardello E., Tamagno E., Alband E., Danni O. and Bellomo G.; Protective effect of dehydroepiandrosterone against copper-induced lipid peroxidation in the rat, *Free Rad. Biol. med.*, **22**, 1289-1294 (1997)
- 9) Inano H., Ishii-Ohba H., Suzuki K., Yamanouchi H., Onoda M. and Wakabayashi K.; Chemoprevention by dietary dehydroepiandrosterone against promotion / progression phase of radiation-induced mammary tumorigenesis in rats, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **54**, 47-53 (1995)
- 10) Schauer J. E., Schelin A., Hanson P. and Stratman F.W.; Dehydroepiandrosterone and a β -agonist, energy transducers, alter antioxidant enzyme systems; Influence of chronic training and acute exercise in rats, *Arch. Biochem. Biophys.*, **283**, 503-511 (1990)
- 11) 後藤公宣, 高柳涼一, 名和田新; DHEA, DHEA-S, ホルモンと臨床, **46**, 増刊号, 292-302 (1998)
- 12) Pike A.W., Moynihan C., Kibler S., Marsh P.G. and Fennessey P.V; Semi-micro quantitative analysis of complex urinary steroid mixtures in healthy and diseased states, *J.Chromatogr.*, **306**, 39-50 (1984)
- 13) Umegaki K. and Fenech M.; Cytokinesis-block micronucleus assay in WIL2-NS cells, a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils, *Mutagenesis*, **15**, 261-269 (2000)
- 14) Pestell R. G., Hurley D. M. and Vandongen R.; Biochemical and hormonal changes during a 1000km ultramarathon, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **16**, 353-361 (1989)
- 15) Luger A., Deuster P. A., Gold P. W., Loriaux D. L. and Chrousos G. P.; Hormonal responses to the stress of exercise, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **245**, 273-280 (1988)
- 16) Wittert G. A., Livesey J. H., Espiner E. A. and Donald R. A.; Adaptation of the hypothalamopituitary adrenal axis to chronic exercise stress in humans, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **28**, 1015-1019 (1996)
- 17) Ronkainen H. R., Pakarinen A. J. and Kauppila A. J.; Adrenocortical function of female endurance runners and joggers, *Med. Sci. sports*

- Exerc.*, 18, 385-389 (1986)
- 18) Cumming D.C., Brunsting L.A., Strich G., Ries A.L. and Rebar R.W. ; Reproductive hormone increases in response to acute exercise in men, *Med. Sci. sports Exerc.*, 18, 369-373 (1986)
- 19) Kraemwer W.J., Hakkinen K., Newton R.U., McCormick M., Nindl B.C., Volek J.S., Gotshalk L.A., Fleck S.J., Campbell W.W., Gordon S.E., Farrell P.A. and Evans W.J. ; Acute hormonal responses to heavy resistance exercise in younger and older men, *Eur. J. appl. Physiol.*, 77, 206-211 (1998)
- 20) Pantaleoni M., Barini A., Valerio L., Zizzo G., Coletta F. and Velardo A. ; Changes in the blood levels of adrenal hormones after prolonged physical activity, *Minerva. Endocrinol.*, 16, 17-20 (1991)
- 21) Bastianetto S., Ramassamy C., Poirier J. and Quirion R. ; Dehydroepiandrosterone (DHEA) protects hippocampal cells from oxidative stress-induced damage, *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 20, 35-41 (1999)
- 22) Goldfarb A.H., McIntosh M.K. and Boyer B.T. ; Vitamin E attenuates myocardial oxidative stress induced by DHEA in rested and exercised rats, *J. Appl. Physiol.*, 80, 486-490 (1996)
- 23) Goldfarb A.H., McIntosh M.K., Boyer B.T. and Fatouros J. ; Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA-treated and exercised rats, *J. Appl. Physiol.*, 76, 1630-1635 (1994)