

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeines /Gewicht

Das Durchschnittsgewicht aller 12 Meerschweinchen bei Anlieferung betrug $303,6 \pm 13,0$ g, das der ACTH-Untergruppe betrug $305,5 \pm 11,3$ g, das der Kontroll-Untergruppe $301,7 \pm 15,4$ g, was kein statistisch signifikanter Unterschied war.

Alle Tiere nahmen in der Beobachtungszeit deutlich an Gewicht zu (bei Tötung betrug das Gewicht im Mittel $373,8 \pm 15,9$ g). Bei Tötung waren die Tiere der ACTH-Gruppe ($377,2 \pm 10,4$ g) etwas schwerer als die Tiere der Kontrollgruppe ($370,5 \pm 20,5$ g), was allerdings statistisch nicht signifikant war.

3.2 Serum

Das durch Herzpunktion gewonnene Blutvolumen betrug zwischen 6 und 12 ml pro Tier. Das entspricht ungefähr 25-50 % des gesamten Blutvolumens eines Meerschweinchen. Die Serumwerte der verschiedenen Steroide sind Tabelle 2 zu entnehmen.

Bei den mit NaCl behandelten Meerschweinchen (Kontrollgruppe) lagen die Werte für F bei 483 bzw. 525 nmol/l und für Kortison bei 32 bzw. 54 nmol/l, je nach Bestimmungsmethode. In der Gruppe der Meerschweinchen, die über drei Tage mit ACTH behandelt worden waren, zeigte sich eine mehr als fünffache hochsignifikante Zunahme beider GK auf Werte von 2679 bzw. 2741 nmol/l für F und 188 bzw. 335 nmol/l für E.

Hierbei beträgt das Verhältnis von F zu E in der Kontrollgruppe 15,0 und unterscheidet sich nicht signifikant von dem der ACTH-behandelten Tiere (Verhältnis F/E = 14,6). Betrachtet man die Werte der RIA-Bestimmung, so ergab sich ein niedrigerer Quotient aus F/E von $9,7 \pm 3,3$ in der Kontrollgruppe, der ebenfalls keine statistisch signifikante Veränderung zu den ACTH-behandelten Tieren ($8,0 \pm 1,31$) aufwies.

Beim Progesteron, 17-Hydroxy-Progesteron und Androstendion zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Serumwerte bei den ACTH-behandelten Tieren im Vergleich zu der NaCl-behandelten Gruppe.

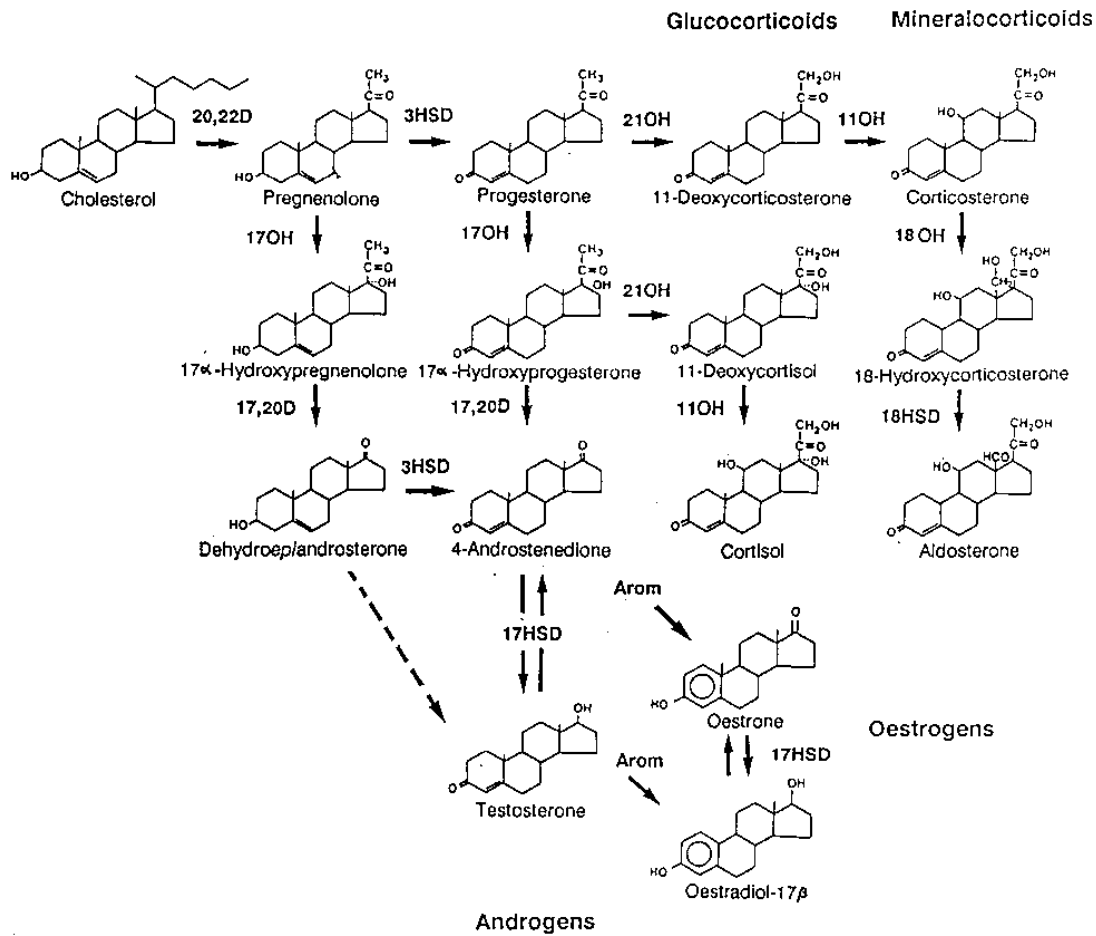


Abbildung 3. Hauptwege der Steroidbiosynthese (modifiziert nach [65]).

Tabelle 2. Serumkonzentrationen verschiedener Steroide von je sechs Meerschweinchen nach dreitägiger ACTH-Behandlung bzw. NaCl-Behandlung (Kontrollgruppe). * RIA; □ HPLC; Mittelwerte ± Standardabweichung.

(nmol/l)	NaCl-Tiere	ACTH-Tiere	t-test
Kortisol [□]	483 ± 188	2741 ± 442	p<0,001
Kortison [□]	32 ± 10	188 ± 42	p<0,001
Kortisol*	525 ± 194	2679 ± 640	p<0,001
Kortison*	55 ± 18	336 ± 62	p<0,001
Progesteron*	2,7 ± 0,3	10,9 ± 2,1	p<0,001
17-Hydroxy-Progesteron*	0,35 ± 0,15	2,32 ± 0,59	p<0,001
Androstendion*	2,3 ± 0,6	10,7 ± 4,7	p<0,005

3.3 *Urin*

Die Mengen an F und E im Urin der beiden Meerschweinchengruppen sind in Tabelle 3 angegeben. Nach dreitägiger Injektionsbehandlung fanden sich 364 $\mu\text{g/d}$ F im Urin der ACTH-behandelten Tieren im Gegensatz zu 30 $\mu\text{g/d}$ F bei den NaCl-behandelten Tieren. Ähnlich verhielt es sich mit der Ausscheidung von E im 24h-Urin (22,1 $\mu\text{g/d}$ nach ACTH-Injektion vs. 1,2 $\mu\text{g/d}$ nach NaCl-Injektion). Vor Beginn der Injektionen war weder bei F noch bei E ein signifikanter Unterschied der beiden Gruppen zu beobachten (44,5 $\mu\text{g/d}$ vs. 51,4 $\mu\text{g/d}$ F und 1,7 $\mu\text{g/d}$ vs. 2,5 $\mu\text{g/d}$ E im Urin).

Der Quotient aus F durch E im 24h-Urin blieb nach 3tägiger Behandlung mit ACTH im Vergleich zur Ausgangssituation nahezu unverändert (20,4 bzw. 20,7; Tabelle 4). In der Kontrollgruppe kam es hingegen zu einem starken Anstieg dieses Quotienten auf 35,9. Dieser Anstieg nach dreitägiger NaCl-Injektion erreichte jedoch weder im Vergleich zum Ausgangswert ($p= 0,194$; gepaarter t-test) noch im Vergleich mit der ACTH-behandelten Gruppe statistische Signifikanz ($p= 0,155$).

Die Tagesmengen von THF, alloTHF und THE im Urin der Meerschweinchen sind in Tabelle 5 angegeben. Es kam zu einem starkem Anstieg aller im Urin ausgeschiedenen Ring A-reduzierten Metabolite nach ACTH-Behandlung, wohingegen die Menge nach NaCl-Behandlung tendenziell leicht abfiel.

Der Quotient aus THFgesamt durch THE im Urin war nach dreitägiger ACTH-Behandlung im Vergleich zur NaCl-Behandlung signifikant erhöht (Abbildung 4).

Der Quotient aus THE durch E gilt als ein Maß der 5 β -Reduktase in der Leber [85]. Es zeigte sich hier ein signifikanter Abfall dieses Quotienten in der ACTH-Gruppe (3,3 vs. 1,3), während er sich in der NaCl-Gruppe tendenziell erhöhte (4,1 vs. 7,2; Abbildung 5).

Tabelle 3. Tagesmenge an Kortisol und Kortison im Urin der jeweils sechs ACTH- und NaCl-behandelten Meerschweinchen vor Behandlungsbeginn und am letzten Tag der Behandlung. Mittelwerte \pm Standardabweichung.

	Kontroll-Tiere (NaCl) ($\mu\text{g}/24\text{h}$)	ACTH-Tiere ($\mu\text{g}/24\text{h}$)	<i>t</i> -test (Kontrolle vs. ACTH)
Kortisol			
vor Injektion	44,5 \pm 13,6	51,4 \pm 17,9	$p = 0,468$
nach 3 Tagen Injektion (ACTH bzw. NaCl)	30,1 \pm 8,2	364,3 \pm 88,5	$p < 0,001$
<i>t</i> -test (vor/nach Injektionsbehandlung)	$p = 0,051$	$p < 0,001$	
Kortison			
vor Injektion	1,7 \pm 0,4	2,5 \pm 0,8	$p = 0,065$
nach 3 Tagen Injektion (ACTH bzw. NaCl)	1,2 \pm 0,8	22,1 \pm 10,7	$p < 0,001$
<i>t</i> -test (vor/nach Injektionsbehandlung)	$p = 0,143$	$p < 0,001$	

Tabelle 4. Quotient Kortisol/Kortison im Urin von ACTH-behandelten und NaCl-behandelten (Kontroll-Tiere) Meerschweinchen. Mittelwerte \pm Standardabweichung.

Quotient Kortisol/Kortison	NaCl	ACTH	<i>t</i> -test
vor Injektion	25,8 \pm 7,1	20,7 \pm 2,3	$p = 0,125$
nach 3 Tagen Injektion (ACTH bzw. NaCl)	35,9 \pm 22,4	20,4 \pm 10,2	$p = 0,155$

Tabelle 5. Tagesmenge an Ring A reduzierten Metaboliten im Urin der Meerschweinchen. THF = 5 β -Tetrahydrokortisol; alloTHF = 5 α -Tetrahydrokortisol; THFgesamt = THF + alloTHF; THE = Tetrahydrokortison. Mittelwert \pm Standardabweichung.

	THF ($\mu\text{g}/24\text{h}$)	alloTHF ($\mu\text{g}/24\text{h}$)	THFgesamt ($\mu\text{g}/24\text{h}$)	THE ($\mu\text{g}/24\text{h}$)
ACTH-Gruppe				
vor Injektion	8,9 \pm 3,3	4,9 \pm 0,8	13,9 \pm 3,3	8,2 \pm 2,7
nach Injektion	41,2 \pm 11,0	16,7 \pm 3,2	57,9 \pm 13,5	24,8 \pm 7,0
NaCl (Kontrollgruppe)				
vor Injektion	8,8 \pm 2,7	4,6 \pm 0,8	13,4 \pm 3,5	7,0 \pm 1,5
nach Injektion	7,0 \pm 1,7	3,6 \pm 0,6	10,7 \pm 2,1	6,4 \pm 2,1

11 β -HSD1-Aktivität: Quotient THFgesamt/THE im Urin

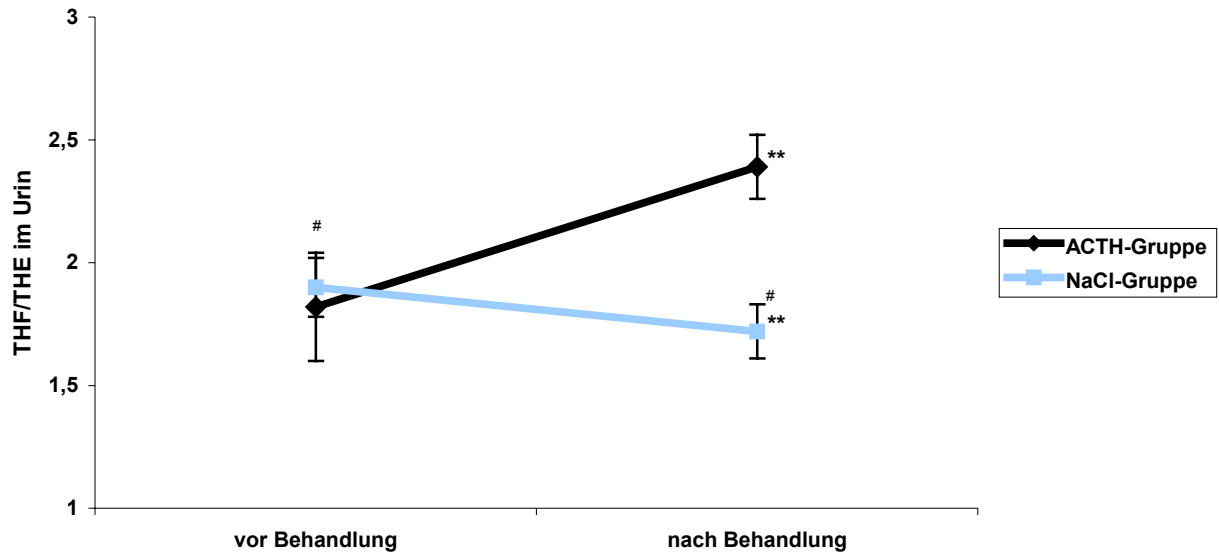


Abbildung 4. Quotient aus THFgesamt /THE im Urin von jeweils sechs ACTH- bzw. NaCl-behandelten Meerschweinchen. Mittelwerte \pm SEM. Signifikanter Unterschied (** = $p < 0,005$; t-test) des Quotienten nach Behandlung im Vergleich der NaCl- und ACTH-Gruppe. Ebenfalls signifikanter Unterschied des Quotienten in der ACTH-Gruppe vor und nach Behandlung (# = $p < 0,05$; t-test).

5 β -Reduktase-Aktivität: Quotient THE/E im Urin

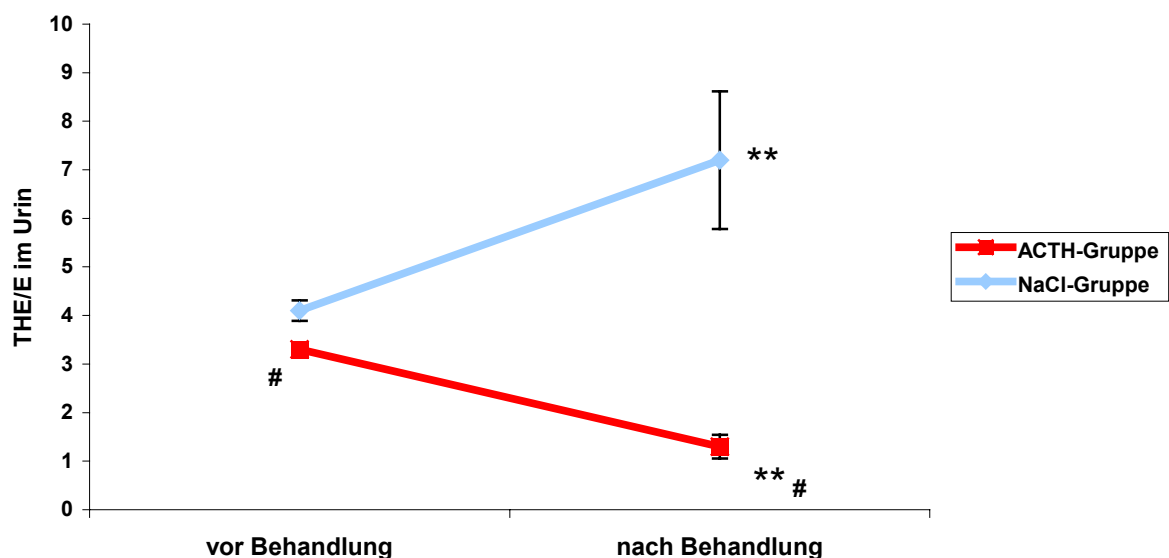


Abbildung 5. Quotient aus THE durch E im Urin von jeweils sechs ACTH-behandelten bzw. NaCl-behandelten Meerschweinchen. Mittelwerte \pm SEM. Signifikanter Unterschied ($p < 0,005$ **; t-test) des Quotienten nach Behandlung im Vergleich der NaCl- und ACTH-Gruppe. Ebenfalls signifikanter Unterschied des Quotienten in der ACTH-Gruppe vor und nach Behandlung ($p < 0,005$ #; t-test).

3.4 Gewebeschnitte /Leber

Bei den Inkubationen der Lebergewebeschnitte zeigte sich eine signifikant niedrigere Oxidationsrate der ACTH-behandelten Tiere gegenüber den NaCl-behandelten Tieren (23,9% vs. 33,7%; Abbildung 6).

Dagegen war die Reduktionsrate bei den ACTH-behandelten Tieren signifikant größer im Vergleich zu den NaCl-behandelten Tieren (70,3% vs. 50,2%; Abbildung 7).

Im Vergleich beider Reaktionsrichtungen der NaCl-behandelten Tiere zeigte sich eine stärkere Reduktions- als Oxidationsreaktion in den Gewebeschnitten der Leber (50,2% vs. 33,7%). Dieser Unterschied war nach ACTH-Gabe noch deutlich stärker ausgeprägt (70,3% vs. 23,9%).

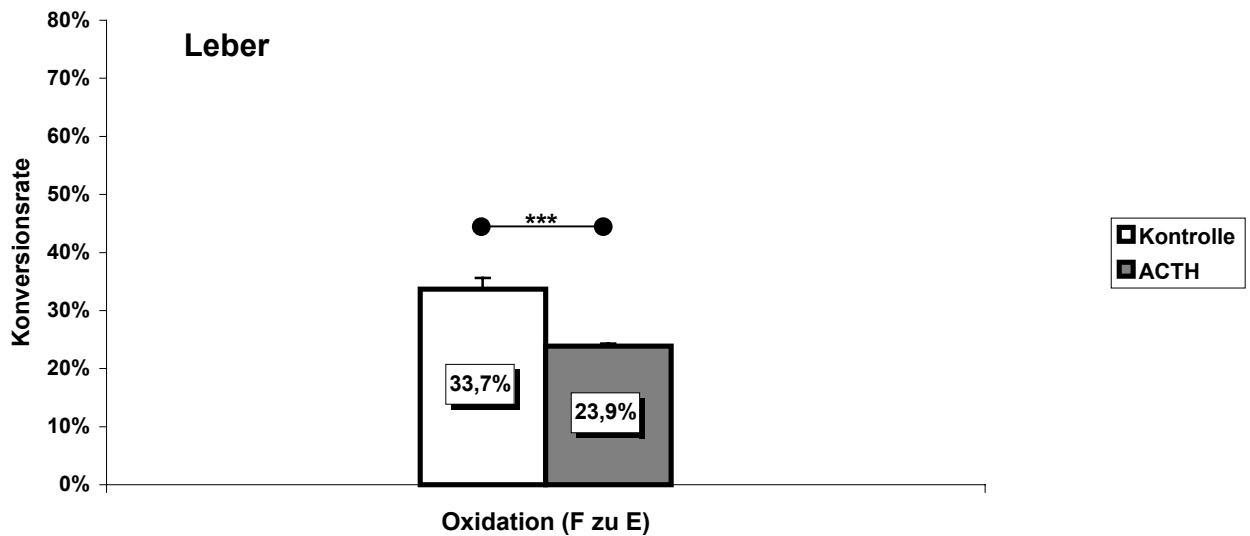


Abbildung 6. Konversion in % von Kortisol (F) zu Kortison (E) in Leberschnitten von jeweils sechs ACTH-behandelten Tieren und sechs NaCl-behandelten Tieren (Kontrolle). Mittelwerte \pm SEM; *** = $p < 0,005$ (t-test)

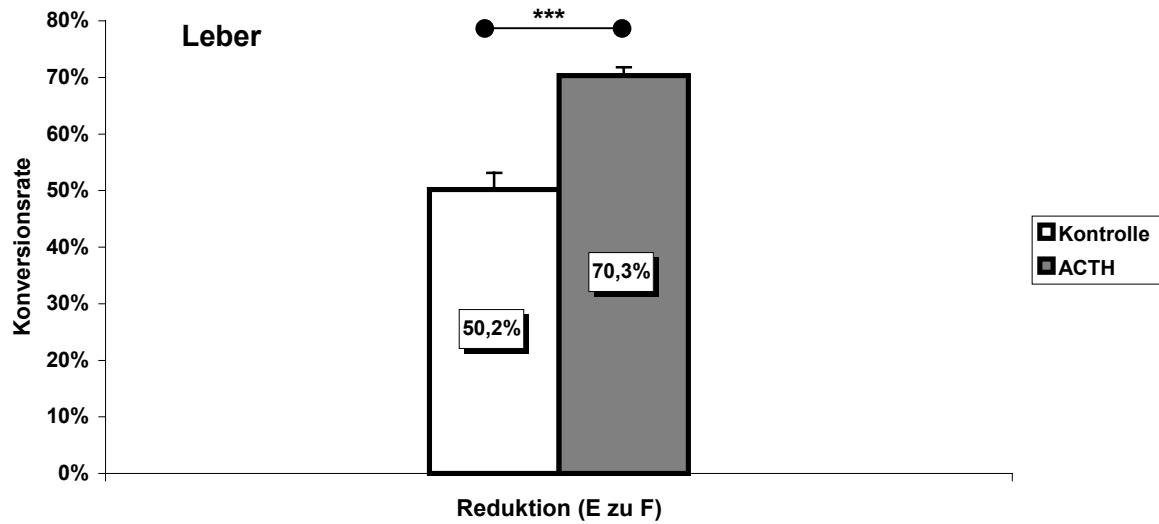


Abbildung 7. Konversion in % von Kortison (E) zu Kortisol (F) in Leberschnitten von jeweils sechs ACTH-behandelten Tieren und sechs NaCl-behandelten Tieren (Kontrolle). Die Inkubationszeit betrug 90 min. Mittelwerte \pm SEM; ** = $p < 0,001$ (t-test)

3.5 Gewebeschnitte / Niere

In den Nierengewebeschnitten lag die Oxidationsrate bei den ACTH-behandelten Tieren im Vergleich zu den NaCl-behandelten Tieren signifikant niedriger (28,6% vs 33,9%; Abbildung 8).

Die Reduktionsrate der Nierengewebeschnitte war -vergleichbar den Leberschnitten- bei den ACTH-behandelten Tieren signifikant größer als bei den NaCl-behandelten Tieren (56,8% vs. 39,6%; Abbildung 9).

Im Vergleich beider Reaktionsrichtungen der NaCl-behandelten Tiere überwog die Reduktionsreaktion (Reduktion 39,6%; Oxidation 33,9%; statistisch nicht signifikant). Dieses Reaktionsgleichgewicht verschob sich bei den ACTH-behandelten Tieren deutlich zugunsten der Reduktionsreaktion (Reduktion 56,8 %; Oxidation 28,6%; $p < 0,001$).

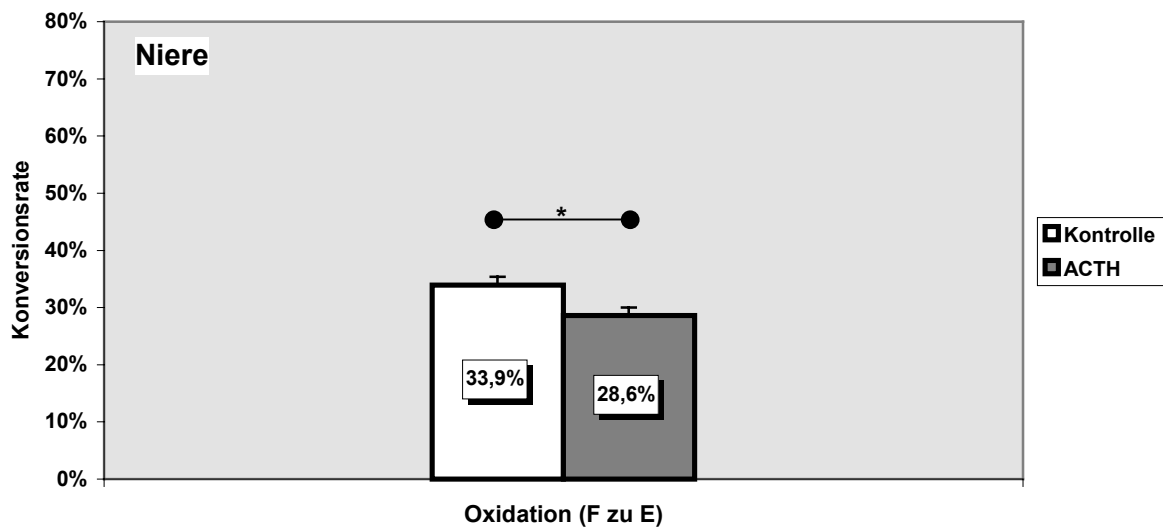


Abbildung 8. Konversion in % von Kortisol (F) zu Kortison (E) in Nierenrindenschnitten von jeweils sechs ACTH-behandelten und sechs NaCl-behandelten (Kontrolle) Meerschweinchen. Die Inkubationszeit betrug 90 min. Mittelwerte \pm S.E.M. * = $p < 0,05$ (t-test)

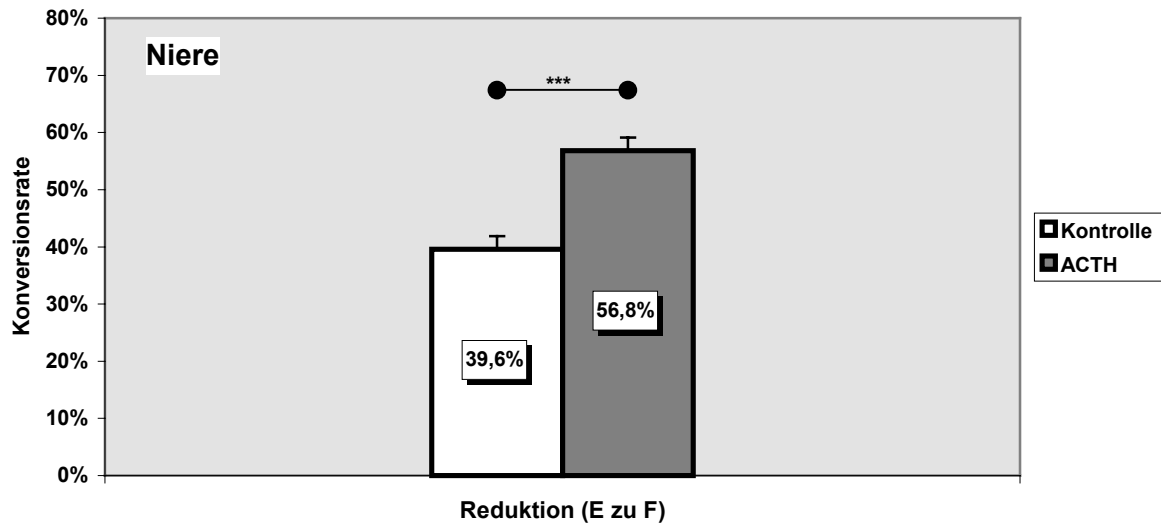


Abbildung 9. Konversion in % von Kortison (E) zu Kortisol (F) in Nierenrindenschnitten von jeweils sechs ACTH-behandelten und sechs NaCl-behandelten (Kontrolle) Meerschweinchen. Die Inkubationszeit betrug 90 min. Mittelwerte \pm SEM. *** = $p < 0,001$ (t-test)

3.6 Homogenate

3.6.1 Initialgeschwindigkeiten

In Vorversuchen wurde mittels verschiedener Inkubationsansätze, wobei Gewebemenge und Inkubationszeit variierten, Bedingungen ausgewählt, in denen sich die Konversionsraten in einem linearen Bereich bewegten. Die Ergebnisse dieser Vorversuche sind hier nicht dargestellt.

In Tabelle 6 ist ein Vergleich der Homogenatversuche der verschiedenen untersuchten Gewebe dargestellt, deren detaillierte Ergebnisse in den folgenden Kapiteln noch beschrieben werden.

Tabelle 6. Umsatzvergleich der verschiedenen Gewebe in $\text{nmol/mg/min} \times 10^{-8}$

Organ	Reduktion (E zu F)			Oxidation (F zu E)		
	-	NADH	NADPH	-	NAD ⁺	NADP ⁺
Leber	175,3	156,8	250,8	162,3	222,0	193,8
Nierenrinde	14,5	4,0	15,3	164,3	284,8	249,3
Nierenmark	5,3	5,5	12,5	139,5	320,0	197,0
Lunge	1,0	1,8	4,3	3,5	13,3	6,5
Nebenniere	3,3	29,3	27,5	59,5	60,5	60,0
Kolon	0,8	1,8	1,0	3,8	18,8	16,3
Herz	1,5	1,3	1,5	3,3	7,5	4,3

3.6.2 Leberhomogenate

Die Ergebnisse der Versuche zur Kosubstratpräferenz in Leberhomogenaten von Meerschweinchen sind in Abbildung 10 und 11 dargestellt.

Es zeigte sich in der Versuchsreihe ohne Zugabe von Kosubstrat, dass es bei beiden Reaktionsrichtungen zu einer ausgeprägten Konversion des angebotenen Substrats kommt (26,3% Reduktion und 48,7% Oxidation). Hierbei ist zu beachten, dass sich die Bedingungen beider Experimente hinsichtlich der Homogenatkonzentration voneinander unterscheiden, so daß sich pro eingesetzter Homogenatmenge vergleichbare Konversionsraten für beide Reaktionsrichtungen ergeben (Reduktion: $175,3 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min/; Oxidation: $162,3 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min/; siehe Tabelle 6).

Nach Zugabe von NADPH (10^{-3} M) kam es zu einer hochsignifikanten Zunahme der Reduktion auf eine Konversionsrate von 37,6%, wohingegen sich die Konversionsrate nach Zugabe von NADH etwas verringerte 23,5 % (nicht signifikant; siehe Abbildung 8).

Bei der Oxidationsreaktion beobachtete man sowohl nach Zugabe von NAD^+ als auch von NADP^+ eine hochsignifikante Zunahme der Konversionsrate im Vergleich zum Ansatz ohne Kosubstrat. Diese Zunahme war mit NAD^+ im Vergleich zum Ansatz mit NADP^+ signifikant stärker ausgeprägt (66,6% vs. 58,1%; siehe Abbildung 11).

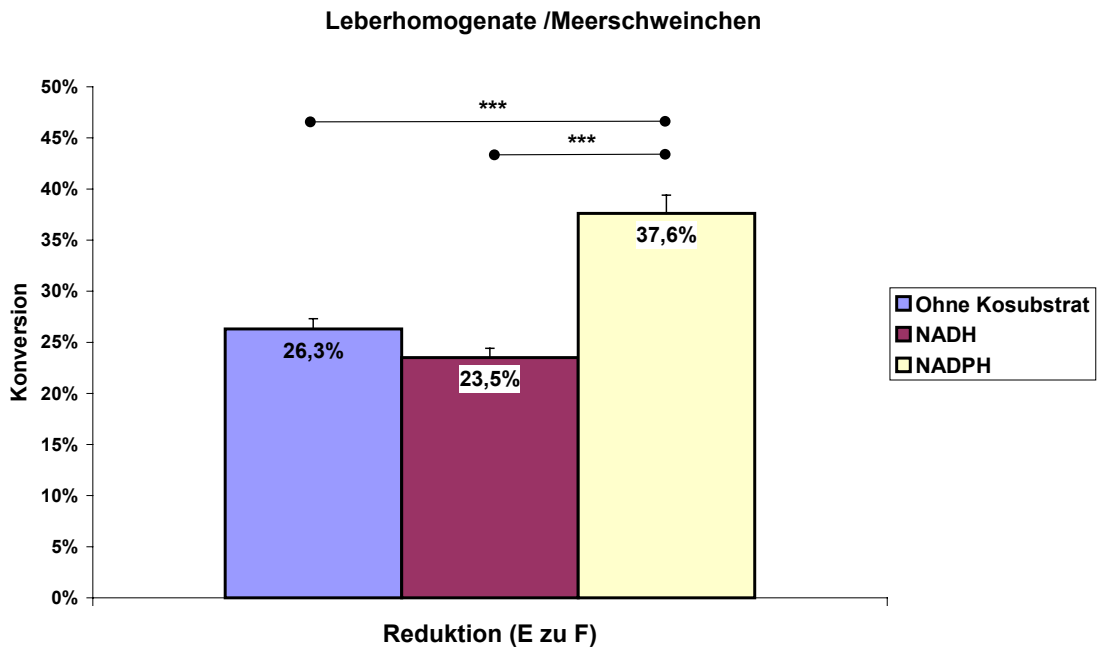


Abbildung 10 Konversion in % von E zu F in Leberhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH/NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 15 min bei einem Homogenatvolumen von 25 μ l pro Inkubat. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = $p < 0,001$ (t-test)

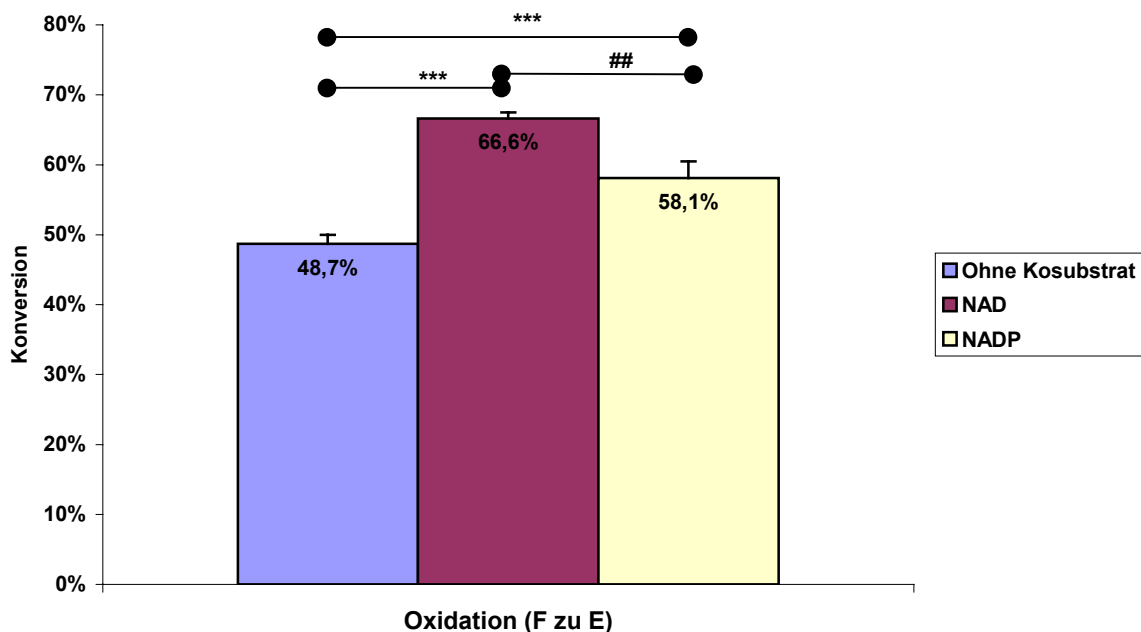


Abbildung 11. Konversion in % von F zu E in Leberhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺/NADP⁺ als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 15 min bei einem Homogenatvolumen von 50 μ l pro Inkubat. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten.*** = $p < 0,001$ (t-test). ## = $p < 0,01$ (Mann Whitney Rank Sum Test)

3.6.3 Nierenhomogenate

3.6.3.1 Nierenrindenhomogenate

Die Ergebnisse der Versuche zur Kosubstratpräferenz in Nierenrindenhomogenaten sind in Abbildung 12 und 13 dargestellt. Hierbei zeigte sich im Vergleich beider Ansätze ohne Kosubstrat bezogen auf Homogenatvolumen und Inkubationszeit eine deutliche Präferenz der Oxidationsreaktion mit einem mehr als zehnfachem Überwiegen der Konversion von F zu E (Oxidation: 49,3% \cong 164,3 x 10⁻⁸ nmol/mg/min; Reduktion: 28,8% \cong 14,5 x 10⁻⁸ nmol/mg/min; siehe Tabelle 6).

Nach Zugabe von NADH kam es bei der Reduktionsreaktion zu einem hochsignifikantem Abfall der Konversionsrate auf 8 % (Abbildung 12). Gab man NADPH als Kosubstrat hinzu, kam es in den Homogenaten der Nierenrinde zu keiner signifikanten Veränderung im Vergleich zum Versuch ohne Kosubstrat (30,5 % vs. 28,8 %; p = 0,629).

In Abbildung 13 stellen sich die Ergebnisse der Oxidationsreaktion in Nierenrindenhomogenaten dar. Man konnte eine hochsignifikante Zunahme der Konversion von F zu E unter Zugabe von NAD⁺ im Vergleich zur Inkubation ohne Kosubstrat beobachten (85,4 % vs. 49,3 %; p<0,001). Auch bei der Inkubation mit NADP⁺ war die Konversionsrate im Vergleich zur Inkubation ohne Kosubstrat hochsignifikant erhöht (74,8% vs. 49,3%; p<0,001). Allerdings war diese Zunahme signifikant geringer als bei Zugabe von NAD⁺ (74,8 % vs. 85,4 %; p<0,01).

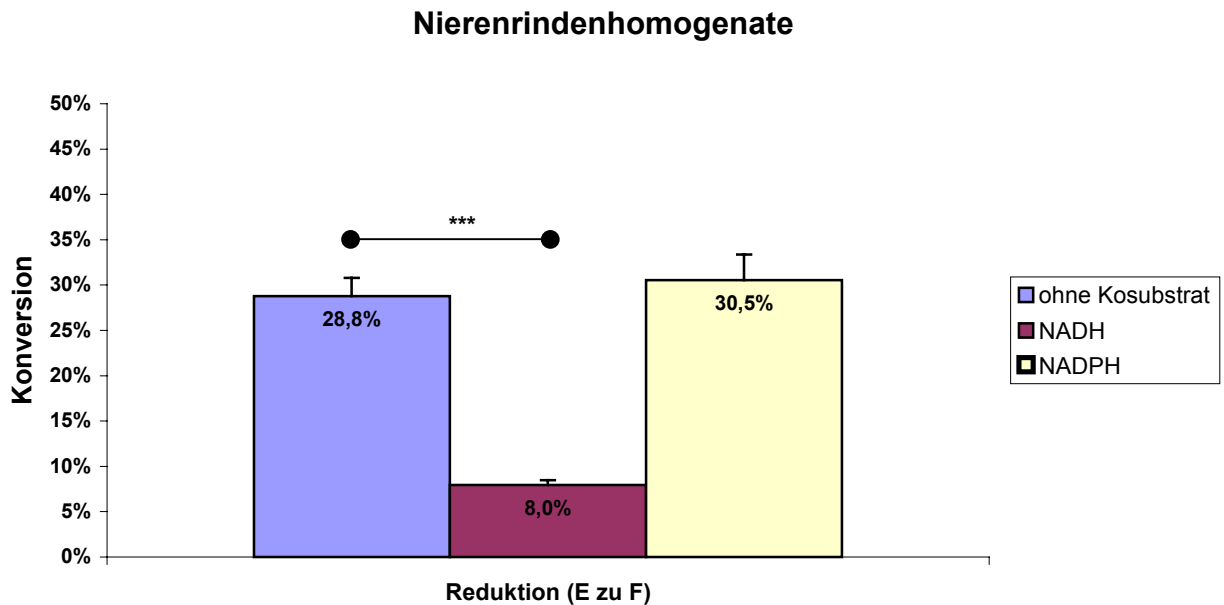


Abbildung 12 Konversion in % von E zu F in Nierenrindenhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH/NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 25 min bei einem Homogenatvolumen von 200µl. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = $p < 0,001$ (t-test)

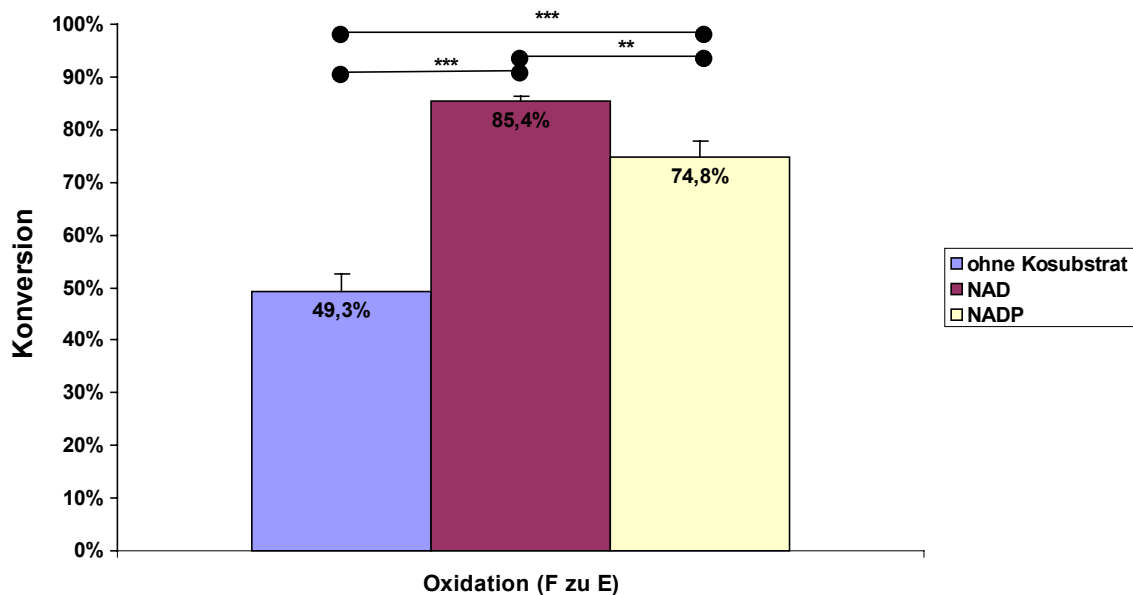


Abbildung 13. Konversion in % von F zu E in Nierenrindenhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺/NADP⁺ als Kosubstrat. Inkubationszeit 15 min; Homogenatvolumen 50µl. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = $p < 0,001$ (t-test). ** = $p < 0,01$ (t-test)

3.6.3.2 Nierenmarkhomogenate

In Abbildung 14 und 15 sind die Ergebnisse zur Kosubstratabhängigkeit der Nierenmarkhomogenate dargestellt. Im Vergleich beider Reaktionsrichtungen ohne Kosubstrat zeigte sich ein deutliches Überwiegen der Oxidation ($27,3\% \cong 139,5$ vs. $10,5\% \cong 5,3$ nmol/mg/min $\times 10^{-8}$; siehe Tabelle 6)

In den Versuchen zur Kosubstratabhängigkeit bei der Oxidationsreaktion (Abbildung 15) zeigte sich ein hochsignifikanter NAD^+ -abhängiger Anstieg der Konversionsrate ($22,3\%$ vs. $51,2\%$; $p < 0,001$). Ein hochsignifikanter Anstieg war nach Zugabe von NADP^+ ebenfalls zu beobachten, allerdings im Vergleich mit NAD^+ signifikant geringer ausgeprägt ($31,5\%$ mit NADP^+ vs. $51,2\%$ mit NAD^+ ; $p < 0,01$).

Bei der Reduktionsreaktion kam es nach Zugabe von NADH zu keiner wesentlichen Veränderung der Konversionsrate ($10,5\%$ vs. $11,0\%$; nicht signifikant; Abbildung 14). Gab man jedoch NADPH hinzu, erhöhte sich die Konversionsrate in den Nierenmarkhomogenaten hochsignifikant auf $27,2\%$ im Vergleich zum Versuch ohne Kosubstrat ($p < 0,001$).

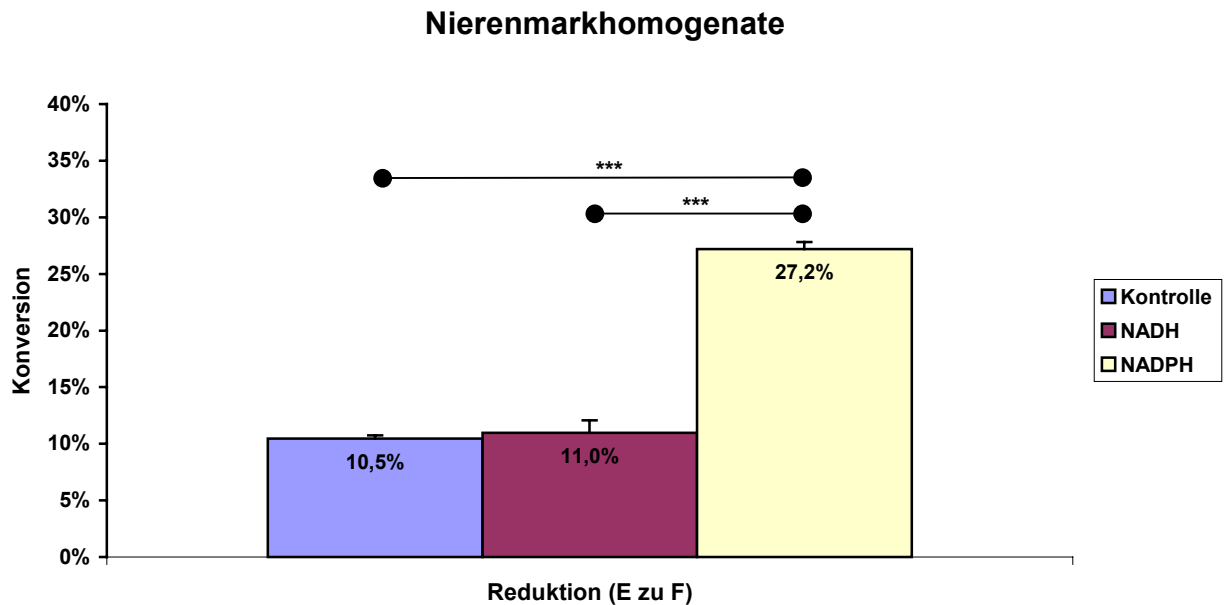


Abbildung 14. Konversion in % von E zu F in Nierenmarkhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH/NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 25 min bei einem Homogenatvolumen von 200 μ l. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = $p < 0,001$ (t-test).

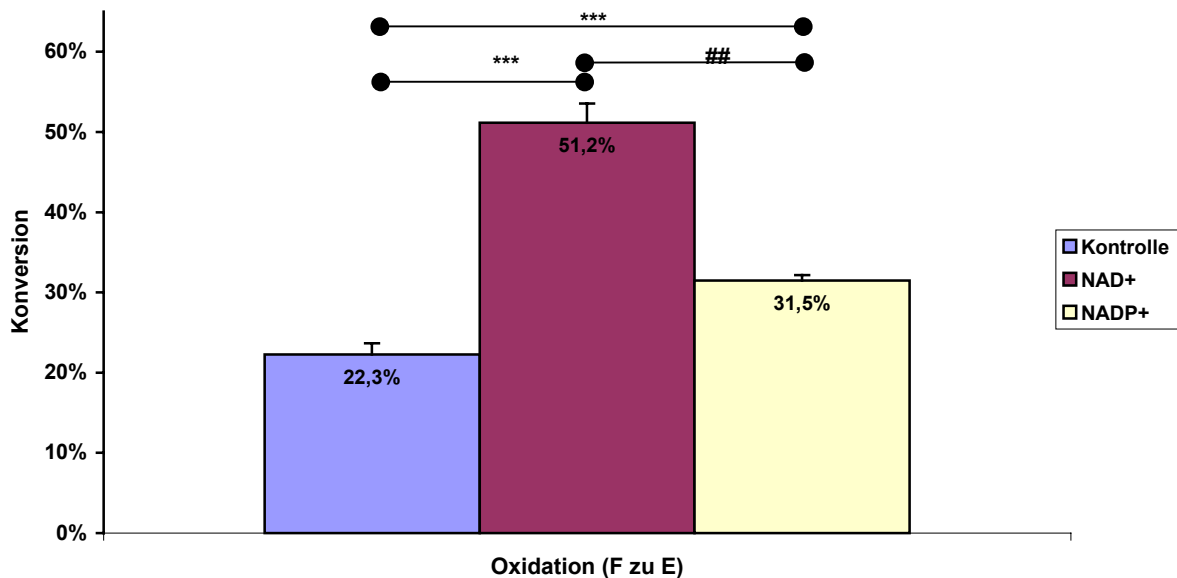


Abbildung 15. Konversion in % von Kortisol zu Kortison in Nierenmarkhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺/NADP⁺ als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 20 min bei einem Homogenatvolumen von 20 μ l pro Inkubat. Mittelwerte aus jeweils 5 Replikaten \pm SEM. *** = $p < 0,001$ (t-test). ## = $p < 0,01$ (Mann Whitney Rank Sum Test)

3.6.4 Lungenhomogenate

Abbildung 16 und Abbildung 17 zeigen die Ergebnisse der Lungenhomogenatinkubationen bei jeweils gleichen Inkubationsbedingungen. Im Vergleich beider Reaktionsrichtungen ohne Zugabe von Kosubstrat zeigte sich eine stärkere Oxidations- (12,2% bzw. $3,5 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min) als Reduktionsreaktion (3,7 % bzw. $1,0 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min).

Nach Zugabe von NADH kam es zu einer signifikanten Zunahme der Reduktionsrate auf 6,5 %; nach Zugabe von NADPH zu einer ebenfalls hochsignifikanten Zunahme auf 15,3%. Der Vergleich beider Reduktionsreaktionen unter Zugabe von Kosubstrat zeigte eine signifikant stärkere Konversion mit NADPH (15,3 % vs. 6,5 %; $p < 0,01$).

Bei der Oxidationsreaktion beobachtete man eine eindeutige NAD^+ -abhängige Zunahme der Konversion auf 47,9% (vs. 12,2% ohne Kosubstrat; $p < 0,01$), wohingegen die Umwandlungsrate unter Zugabe von NADP^+ ebenfalls signifikant auf 23,6% anstieg. Im Vergleich beider Versuchsansätze mit Kosubstrat war die Konversion unter Zugabe von NAD^+ signifikant größer als unter Zugabe von NADP^+ (47,9% vs. 23,6%; $p < 0,001$).

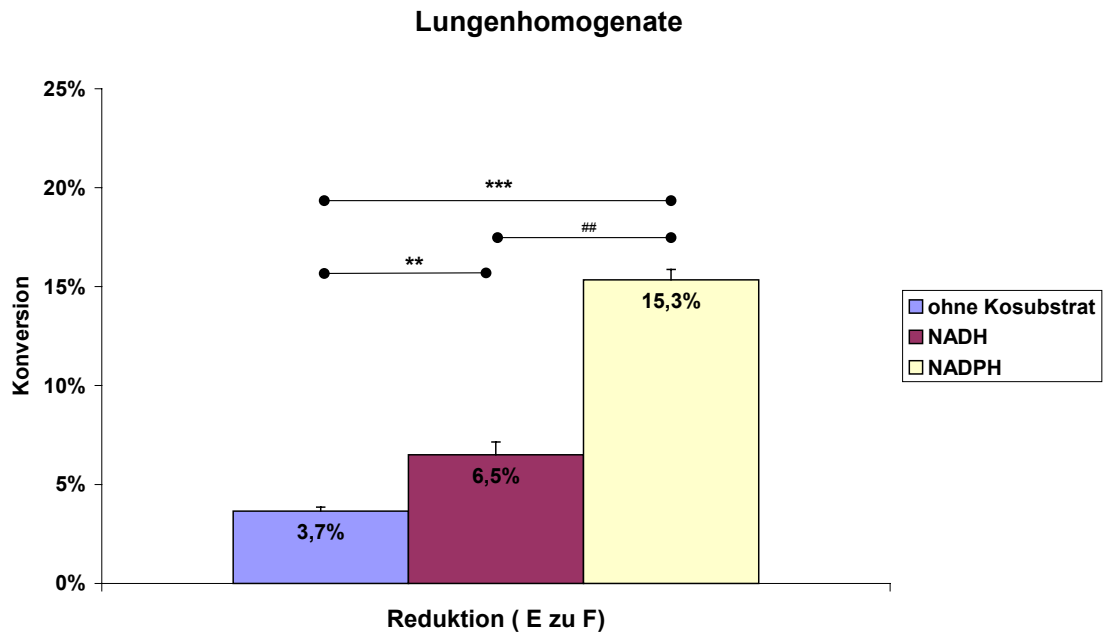


Abbildung 16. Konversion in % von E zu F in Lungenhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH bzw. NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 90 min bei einem Homogenatvolumen von 100 μ l. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. ## = $p < 0,01$ (Mann Whitney Rank Sum Test). ** = $p < 0,01$ *** = $p < 0,001$ (t-test)

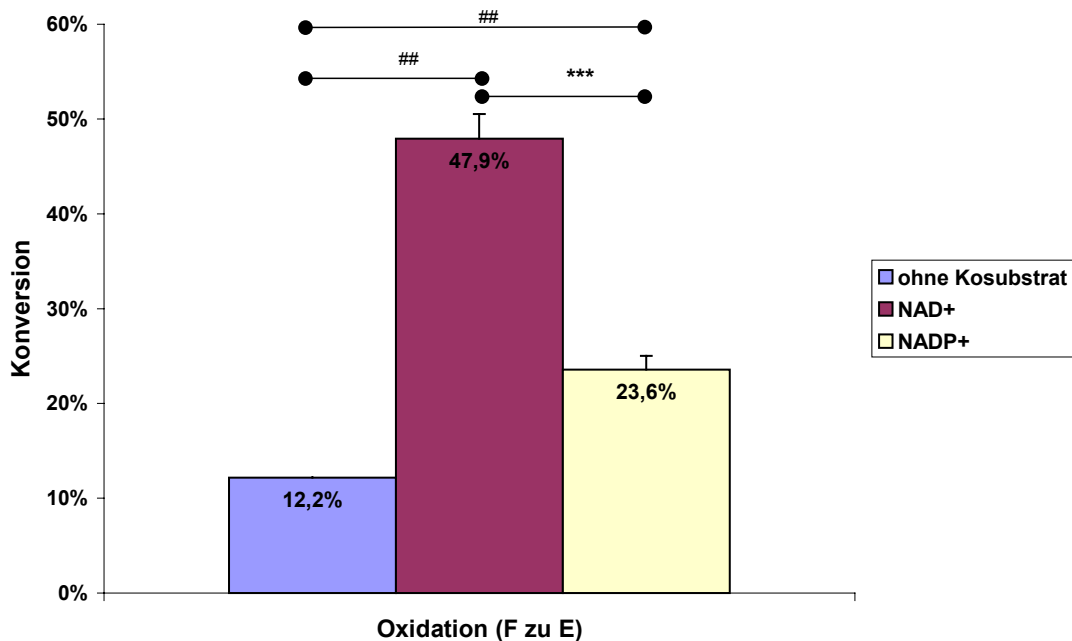


Abbildung 17. Konversion in % von F zu E in Lungenhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺ bzw. NADP⁺ als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 90 min bei einem Homogenatvolumen von 100 μ l. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = $p < 0,001$. ## = $p < 0,01$ (Mann Whitney Rank Sum Test)

3.6.5 Nebennierenhomogenate

In den Untersuchungen mit Nebennierenhomogenaten zeigte sich ohne Zugabe von Kosubstrat eine deutlich stärkere Oxidations- als Reduktionsreaktion ($7,8\% \cong 3,3$ vs. $21,4\% \cong 59,5 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min; siehe Tabelle 6)

Unter Zugabe sowohl von NADH als auch von NADPH kam es zu einer signifikanten Zunahme der Konversionrate auf 70,3% bzw. 66,2% im Vergleich zur Reduktionsreaktion ohne Zugabe von Kosubstrat. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Konversionsrate nach Zugabe von NADH im Vergleich zu NADPH ($p=0,276$).

Die in Abbildung 19 dargestellten Ergebnisse der Inkubationsversuche mit Nebennierenhomogenaten zeigen im Gegensatz zur Reduktionsreaktion eine von der Zugabe von Kosubstrat unabhängige und einheitliche Oxidationsrate von ungefähr 21%.

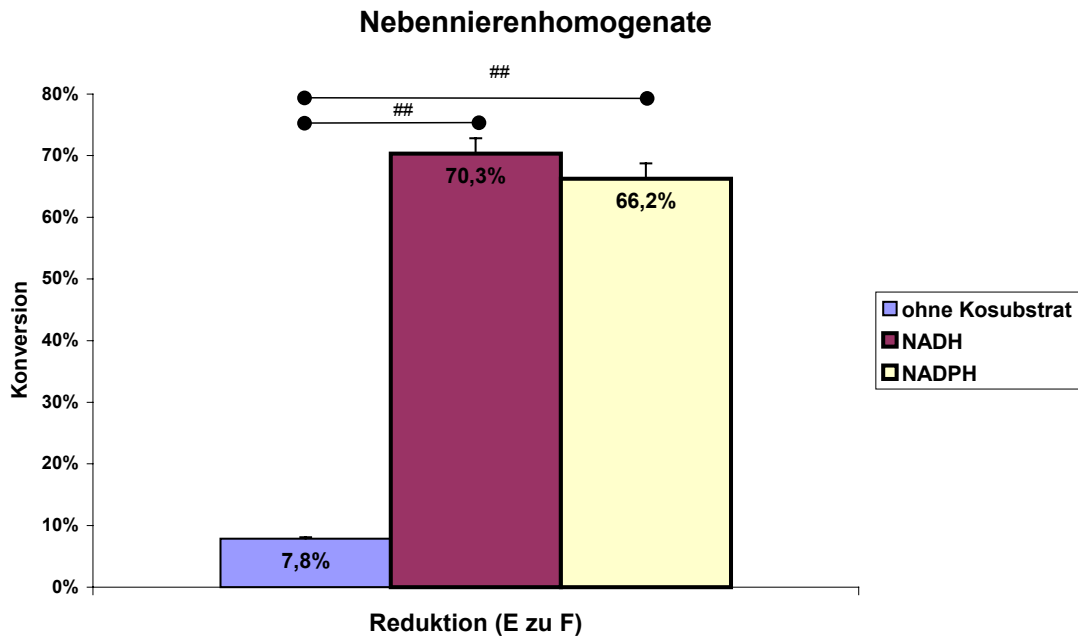


Abbildung 18 Konversion in % von E zu F in Nebennierenhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH/NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 60 min bei einem Homogenatvolumen von 100 μ l. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. ## = $p < 0,01$ (Mann Whitney Rank Sum Test)

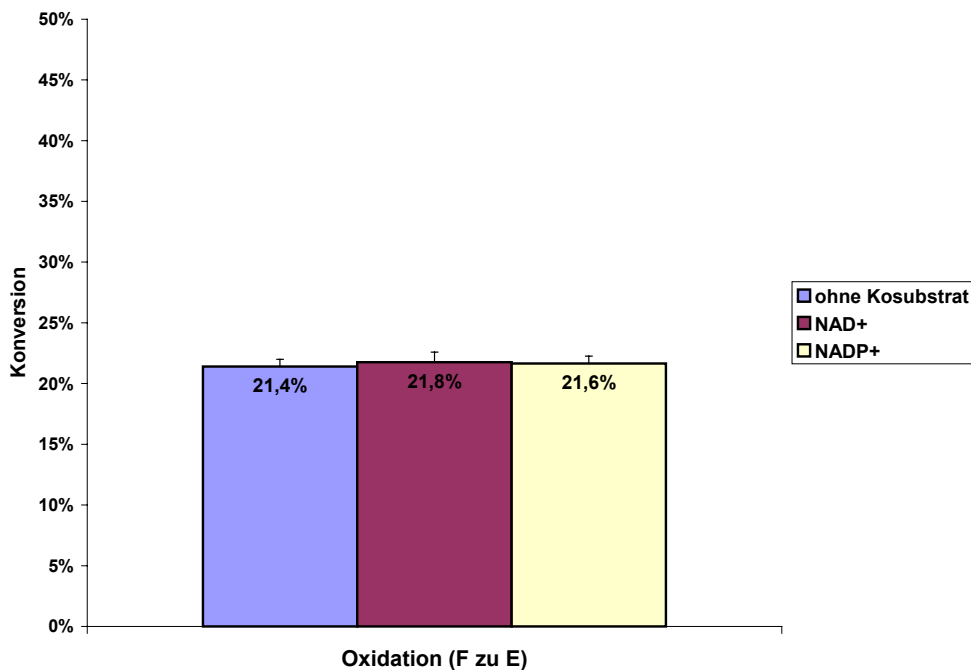


Abbildung 19. Konversion in % von F zu E in Nebennierenhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺/NADP⁺ als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 30 min bei einem Homogenatvolumen von 30 μ l pro Inkubat. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten.

3.6.6 Kolonhomogenate

Die Ergebnisse der Inkubationsversuche zur Kosubstratabhängigkeit der Kolonhomogenate kommen in Abbildung 20 und 21 zur Darstellung.

Vergleicht man die Inkubationsansätze ohne Zugabe von Kosubstrat, erkennt man ein deutliches Überwiegen der Oxidationsreaktion gegenüber der Reduktionsreaktion ($18,5\% \cong 3,8$ vs. $3,4\% \cong 0,8 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min; siehe Tabelle 6).

Die Konversion von E zu F (Reduktion) war dabei ohne Zugabe von Kosubstrat nur gering ausgeprägt (3,4%). Unter Zugabe von NADH (8,7%) und auch NADPH (5,1%) ließ sich im Vergleich zum Ansatz ohne Kosubstrat eine geringe, aber dennoch statistisch signifikante Zunahme der Konversionsraten erkennen (Abbildung 20).

Nach Zugabe von Kosubstrat bei der Oxidationsreaktion beobachtete man eine hochsignifikante Zunahme der Konversionsrate von 18,5% ohne Kosubstrat auf 90,5% mit NAD^+ und 77,8% mit NADP^+ (Abbildung 21). Die Konversionsrate war dabei unter Zugabe von NAD^+ signifikant größer als unter Zugabe von NADP^+ ($p < 0,001$).

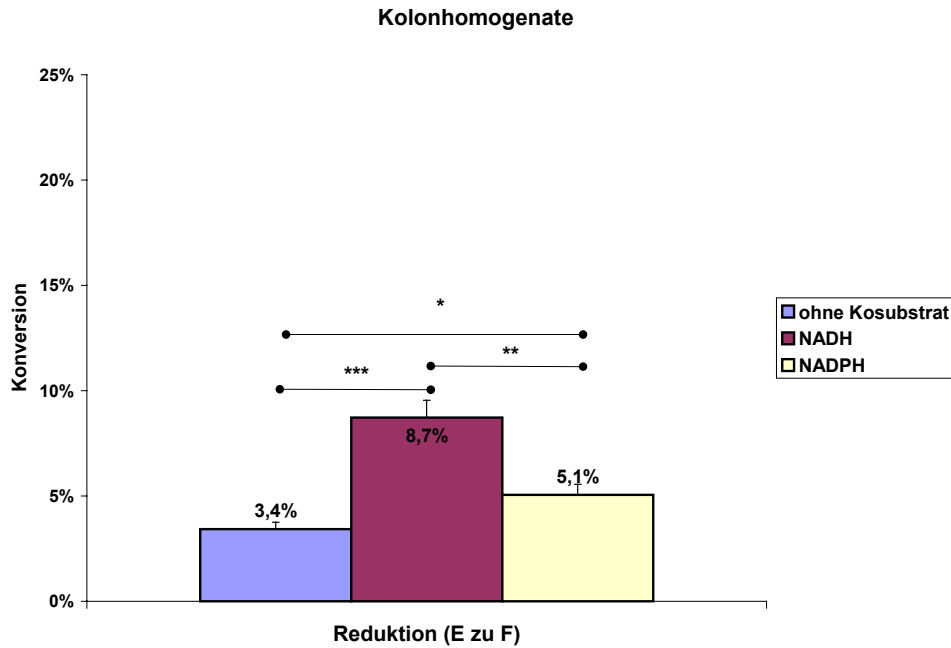


Abbildung 20. Konversion in % von Kortison zu Kortisol in Kolonhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH bzw. NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 60 min bei einem Homogenatvolumen von 200 μ l. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. * = $p < 0,05$ ** = $p < 0,01$ *** = $p < 0,001$ (t-test)

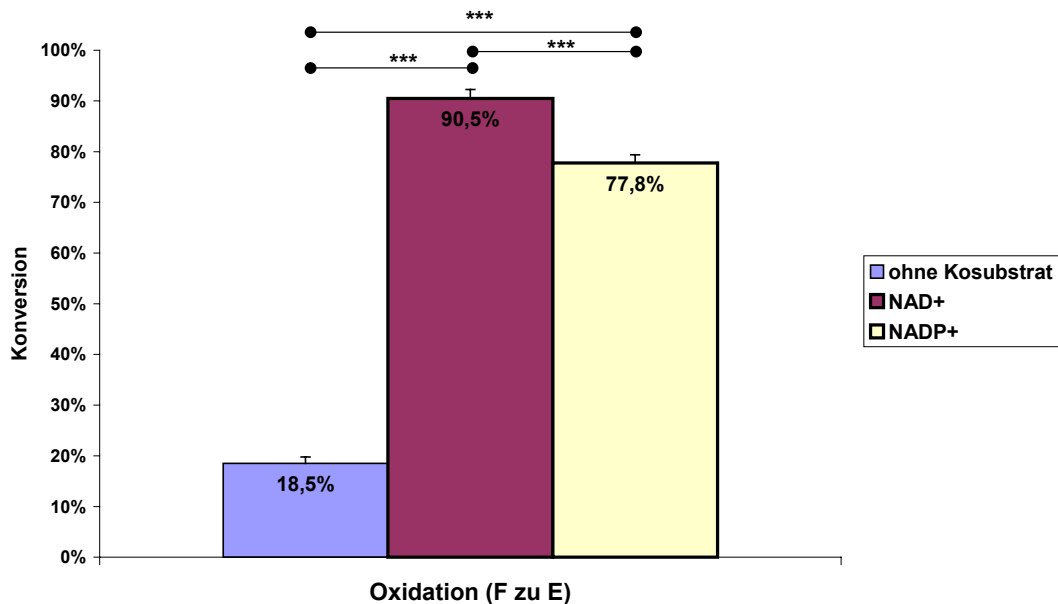


Abbildung 21. Konversion in % von Kortisol zu Kortison in Kolonhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺ bzw. NADP⁺ als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 60 min bei einem Homogenatvolumen von 200 μ l. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = $p < 0,001$ (t-test)

3.6.7 Herzhomogenate

Die Ergebnisse der Kosubstratabhängigkeit der Oxidation- und Reduktionsreaktion in Homogenaten des Herzens sind in Abbildung 22 und Abbildung 23 dargestellt. Hierbei zeigte sich ein Überwiegen der Oxidationsreaktion im Vergleich beider Ansätze ohne Kosubstrat (Oxidation: $15,2\% \cong 3,3 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min; Reduktion: $7,5\% \cong 1,5 \times 10^{-8}$ nmol/mg/min; siehe auch Tabelle 6).

Nach 60-minütiger Inkubation von 200µl Homogenat kam es bei der Reduktionsreaktion lediglich zu einer 7%igen Konversionsrate, die sich auch mit Zugabe von Kosubstrat nicht wesentlich veränderte (6% unter NADH; 8 % unter NADPH; Abbildung 22). Der Unterschied zwischen den beiden Ansätzen mit Kosubstrat erreichte dabei statistische Signifikanz, allerdings nicht im Vergleich mit dem Ansatz ohne Kosubstrat.

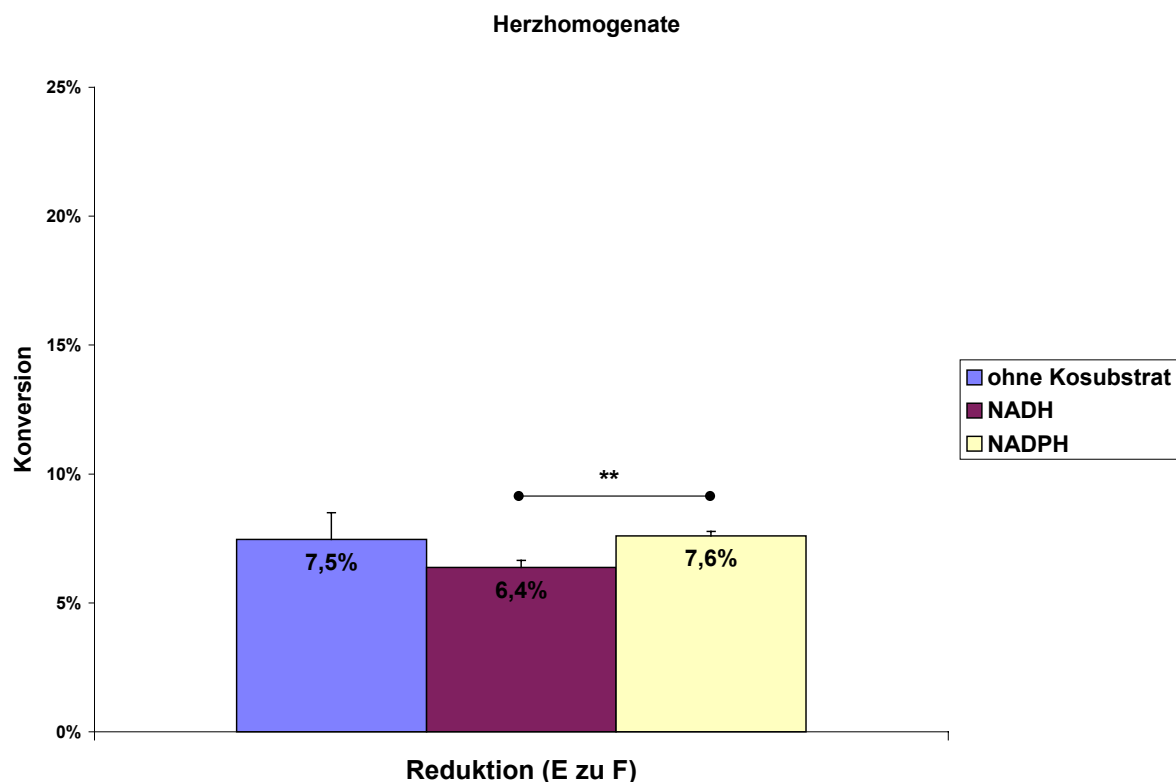


Abbildung 22. Konversion in % von Kortison zu Kortisol in Herzhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NADH bzw. NADPH als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 60 min bei einem Homogenatvolumen von 200µl. Mittelwerte \pm SEM aus jeweils 5 Replikaten. ** = $p < 0,01$ (t-test)

Bei der Oxidationsreaktion sah man eine deutliche Steigerung der Konversionraten unter Zugabe von Kosubstrat (15,2 % ohne Kosubstrat; 20,6% mit NADP⁺, 36,0 % mit NAD⁺; Abbildung 23), wobei die Steigerung durch NAD⁺ am größten war (alle Unterschiede statistisch signifikant).

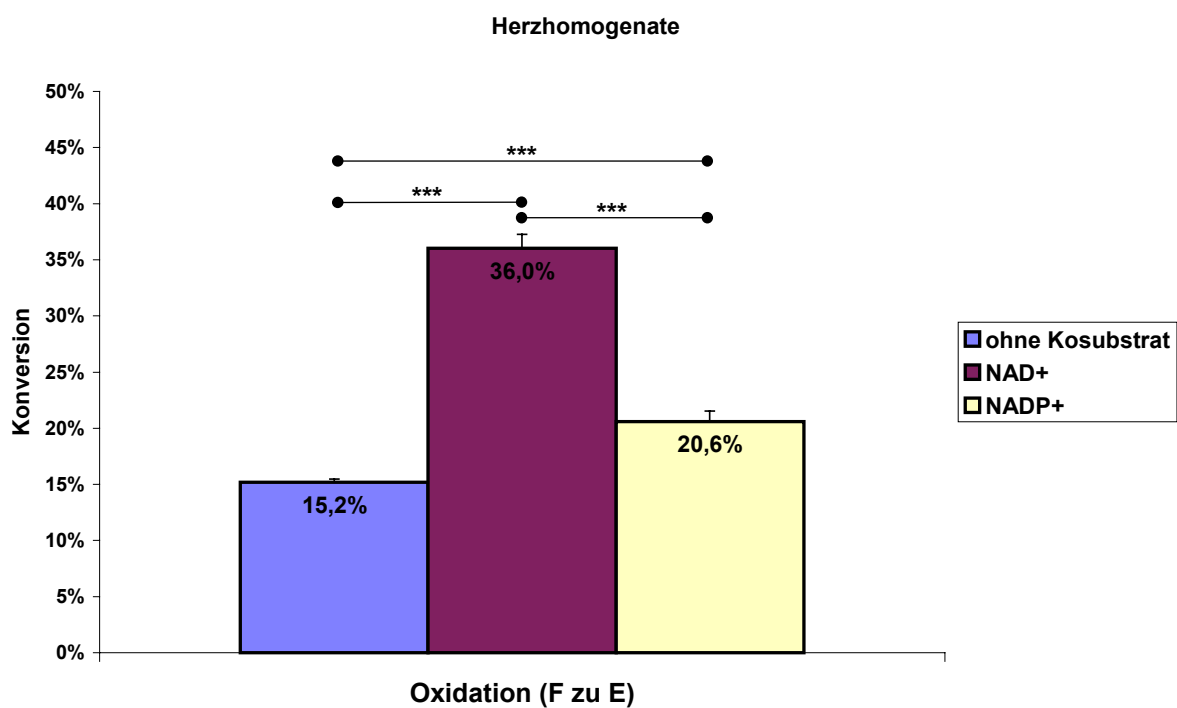


Abbildung 23. Konversion in % von Kortisol zu Kortison in Herzhomogenaten von Meerschweinchen unter Zugabe von NAD⁺ bzw. NADP⁺ als Kosubstrat. Die Inkubationszeit betrug 60 min bei einem Homogenatvolumen von 200µl. Mittelwerte ± SEM aus jeweils 5 Replikaten. *** = p<0,001 (t-test)