

5 Zusammenfassung

Die 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11 β HSD) des Meerschweinchens ist ein Mitglied der „short-chain alcohol dehydrogenase“ Superfamilie und ist für die reversible Umwandlung von Kortisol zu Kortison zuständig. Nur Kortisol, die 11-Hydroxy-Form, ist am Gluko- und Mineralokortikoidrezeptor aktiv, so dass die 11 β HSD eine entscheidende Rolle bei der Wirkung und Selektivität der Steroidhormone spielt.

Bislang sind zwei Isoenzyme bekannt: Die 11 β HSD Typ 1 (11 β HSD1) ist in fast allen Geweben nachweisbar und funktioniert *in vivo* fast ausschließlich als reduzierendes und damit aktivierendes Enzym. Sie ist vermutlich für die Feinregulation des „Glukokortikoid-Tonus“ in den verschiedenen Zielgeweben verantwortlich.

Die 11 β HSD Typ 2 (11 β HSD2) ist ein ausschließlich oxidierendes und damit inaktivierendes Enzym, das die Protektion des Mineralokortikoidrezeptors vor hohen Kortisolkonzentrationen gewährleistet und dementsprechend exklusiv in den mineralokortikoiden Zielgeweben exprimiert wird.

Nach Vorarbeiten der Arbeitsgruppe, in denen die Isoenzyme des Meerschweinchens in Leber (11 β HSD1) und Niere (11 β HSD1/2) charakterisiert wurden, war das Ziel dieser Arbeit den Einfluss von Stress (=ACTH-Injektionen) auf die Aktivität dieser Isoformen in Leber- und Nierengewebeschnitten zu untersuchen. Außerdem sollte eine Charakterisierung der Isoenzyme in Homogenaten weiterer Organe durchgeführt werden.

Zunächst wurden Leber- und Nierengewebeschnitte von sechs Meerschweinchen hinsichtlich ihres Kortisolmetabolismus nach dreitägiger subkutaner *in vivo* ACTH (=Adrenocorticotropes Hormon) -Behandlung untersucht. Als Kontrollgruppe dienten dieselbe Anzahl von Tieren, die mit Kochsalzlösung (NaCl) behandelt wurden. Unmittelbar nach der Tötung wurden die Gewebeschnitte mit radioaktiv markiertem Kortisol oder Kortison inkubiert. Danach wurden die Steroide mittels Dünnschichtchromatographie getrennt und der Umsatz (in Prozent) errechnet. Es zeigte sich nach ACTH-Behandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe eine hochsignifikante Zunahme der Reduktionsreaktion in Leber (70,3% ACTH vs. 50,2% NaCl) und Niere (56,8% ACTH vs. 39,6% NaCl). Gleichzeitig kam es zu einer signifikanten Abnahme der Oxidationsreaktion in beiden Organen (Leber: 23,9% ACTH vs. 33,7% NaCl; Niere: 28,6% ACTH vs. 33,9% NaCl), so dass das Reaktionsgleichgewicht nach dreitägiger

ACTH *in vivo* Behandlung eindeutig zu Gunsten des Kortisols verschoben wurde. In der Analyse des 24h-Urins vor und nach Behandlung zeigte sich dementsprechend eine signifikante Zunahme des Verhältnisses von Tetrahydrokortisol/Tetrahydrokortison, was Ausdruck einer Steigerung der hepatischen 11 β HSD1 Aktivität ist.

Zudem wurden mittels Radioimmunoassay die Konzentration verschiedener Steroide im Plasma der ACTH- und Kontrolltiere unmittelbar nach der Tötung gemessen. Hierbei zeigte sich erwartungsgemäß eine hochsignifikante Zunahme von Kortisol und Kortison bei den mit ACTH vorbehandelten Tieren. Ebenso waren Progesteron, 17-OH-Progesteron und Androstendion in der ACTH-Gruppe signifikant erhöht.

Zusammenfassend konnten wir in den Untersuchungen an Gewebeschnitten zeigen, dass die Erhöhung des Plasmakortisolspiegels durch ACTH nicht ausschließlich durch adrenale Sekretion verursacht wird, sondern auch durch verstärkte hepatische und renale Aktivierung (=Reduktion) von inaktivem Kortison zu Kortisol. Dies ist sehr wahrscheinlich durch eine Aktivitätssteigerung der 11 β HSD1 in diesen Organen bedingt. Daher scheint vor allem die Leber als relativ großes Organ mit hoher 11 β HSD1-Aktivität neben den Nebennieren zur Stressadaptation durch eine gesteigerte Kortisolproduktion beizutragen, wohingegen andere Organe, die 11 β HSD1 exprimieren, vermutlich ihren Bedarf an aktivem Glukokortikoid in einer auto- oder parakrinen Weise über dieses Enzym regulieren.

Des Weiteren führten wir Homogenatuntersuchungen an Leber, Niere, Nebenniere, Kolon, Herz und Lunge durch, um deren Isoenzymausstattung mittels Kosubstratabhängigkeit zu charakterisieren. Hierbei wurde das Gewebe homogenisiert und ebenfalls mit radioaktiv markiertem Kortisol oder Kortison, sowie gegebenenfalls mit Kosubstrat inkubiert. Die Auftrennung der Steroide erfolgte wiederum mittels Dünnschichtchromatographie.

Eine gesicherte Reduktaseaktivität mit NADPH Präferenz als Ausdruck einer 11 β HSD1 Aktivität zeigte sich in absteigender Reihenfolge in Leber, Niere, Nebenniere und Lunge der Meerschweinchen. Andererseits ließ sich eine Oxidaseaktivität mit NAD⁺ Präferenz als Ausdruck einer 11 β HSD2 Aktivität in Niere, Nebenniere, Kolon, Lunge und Herz nachweisen (ebenfalls in absteigender Reihenfolge).

In der Leber zeigte sich zudem eine NAD⁺-abhängige Oxidation, die bei fehlender Expression der 11 β HSD2 in diesem Organ Ausdruck der Aktivität eines dritten, von unserer Arbeitsgruppe bereits zuvor charakterisierten Isoenzym in der Meerschweinchenleber ist.