

1. Einleitung

1.1. Glukokortikoide und Mineralokortikoide

1.1.1. Physiologie

Als Kortikoide oder Kortikosteroide bezeichnet man eine Gruppe von Hormonen, die hauptsächlich in der Nebennierenrinde produziert werden und sich strukturell vom Steranmolekül herleiten. Sie werden nach ihrer Hauptwirkung unterschieden in Glukokortikoide, die durch Induktion von Enzymen der Glukoneogenese schnell verwertbare Substrate für den Energieverbrauch der Körperzellen zur Verfügung stellen und Mineralokortikoide, die durch Förderung der Rückresorption von Natrium und Wasser in den Ausscheidungsorganen Niere und Kolon für die Aufrechterhaltung des intra- und extravasalen Volumens sorgen.

Beide Hormongruppen entfalten also Wirkungen, die vor allem bei körperlicher Belastung und Anstrengung benötigt werden.

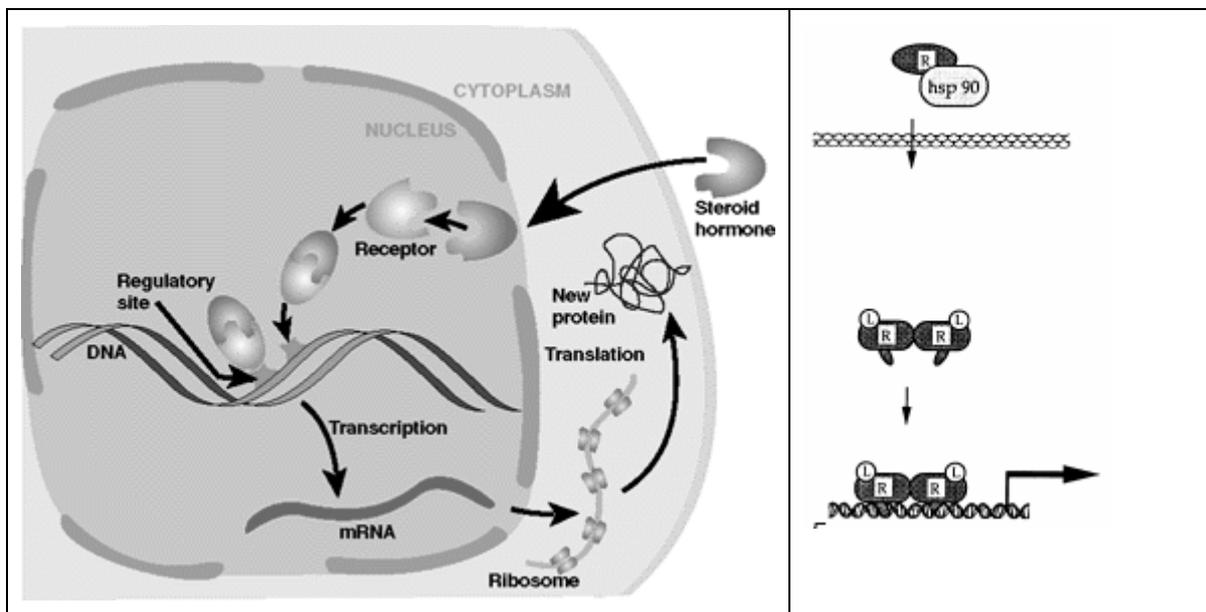


Abbildung 1: Wirkmechanismus von Steroidhormonen in Zielzellen. Rechts: Dimerbildung der Hormon-Rezeptorkomplexe. L = Ligand (Hormon), R = Rezeptor.

Der Wirkort der Steroidhormone liegt intrazellulär. Nach Passieren der Zellmembran bildet das Steroid einen Hormon-Rezeptor-Komplex mit dem zytosolischen Rezeptor, der in freiem Zustand mit einem *heat shock protein* assoziiert ist, verbindet sich mit einem zweiten Hormon-

Rezeptor-Komplex zu einem Dimer und wandert in den Zellkern. Hier bewirkt das Paar durch Interaktion mit spezifischen DNA-Sequenzen in der Promotor-Region des betreffenden Gens – den *glucocorticoid response elements* – eine veränderte Transkriptionsrate des Gens und damit eine veränderte Produktionsrate der kodierten Proteine (Abb.1). Auch die Interaktion mit anderen Transkriptionsfaktoren ohne direkte DNA-Interaktion ist als Wirkmechanismus beschrieben, und es gibt Hinweise, dass diese indirekten Wirkmechanismen die wichtigeren sind [1, 2].

Für die Kortikosteroide gibt es zwei Hormonrezeptoren, den Glukokortikoidrezeptor (GR) und den Mineralokortikoidrezeptor (MR) [3, 4]. Während der GR schon früh nahezu ubiquitär in allen Zellen nachgewiesen wurde, vermutete man den MR zunächst nur im Gewebe von Organen, die unmittelbar mit der Wasser-Elektrolythomöostase befasst sind: Niere und Kolon. In den letzten beiden Dekaden konnte der MR aber auch in vielen anderen Geweben nachgewiesen werden, insbesondere in Auge, Herzmuskel, ZNS und Gefäßwand [5-7].

Genetische Störungen, die die Bildung funktionstüchtiger GR verhindern, sind nicht mit dem Leben vereinbar [8]. *Knock-out*-Mäuse, die keine funktionstüchtigen MR besitzen können dagegen mit Natrium- und Flüssigkeitssubstitution am Leben gehalten werden [9].

Die bedeutendsten physiologischen Liganden für GR und MR sind beim Menschen Cortisol und Aldosteron. Allein die Nebennierenrinde (NNR) ist in der Lage, diese Hormone in zum Leben ausreichender Menge zu produzieren. Die Bildung von Cortisol unterliegt dabei hauptsächlich der Kontrolle der Hypothalamus-Hypophysen-Achse; fast alle Enzymsysteme der NNR werden durch das im Hypophysenvorderlappen gebildete Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) zur vermehrten Synthese von Cortisol stimuliert.

Die Produktion von Aldosteron unterliegt dagegen kaum dem hypothalamisch-hypophysären Regelkreis [10]: Seine Bildung wird hauptsächlich durch das Renin-Angiotensin-System kontrolliert (Abb.2).

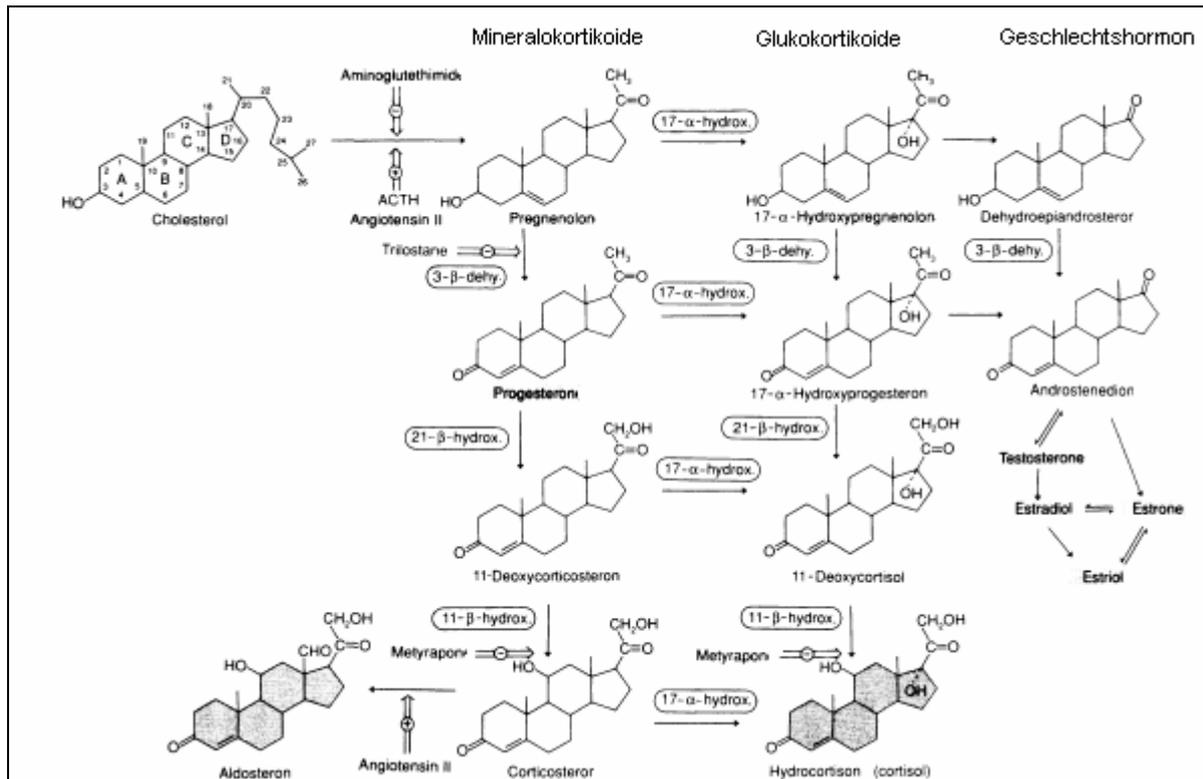


Abbildung 2: Biosynthese der Steroidhormone: Beteiligte Enzyme und Regulationsfaktoren

Die Produktion von Cortisol unterliegt einer ausgeprägten zirkadianen Schwankung und erreicht mit einem Plasmaspiegel von 25 µg/dl oder 690 nmol/l am frühen Morgen ihren Höhepunkt, um gegen Mitternacht auf Werte unter 5 µg/dl oder 135 nmol/l abzufallen [11].

Die Aldosteronproduktion wird dagegen stark durch die intravasalen Füllungsdrücke und die Serumnatriumkonzentration beeinflusst. Die gemessenen Plasmaspiegel liegen aber grundsätzlich um zwei Zehnerpotenzen niedriger als die des Cortisol; die Tagesproduktion liegt bei 150 µg. Etwa 95% des Cortisol im Plasma sind an Bindungsproteine gebunden. Seine Plasmahalbwertszeit beträgt etwa 90 Minuten.

Die Plasmaverweildauer von Aldosteron beträgt nur etwa 15 Minuten, es wird nur in geringem Maße an Albumin gebunden und wird bereits bei einmaliger Leberpassage vollständig aus dem Plasma eliminiert [12].

Die Elimination erfolgt vorwiegend über den Urin, aber auch über Galle und Stuhl. Der Ausscheidungsmetabolismus der Steroidhormone ist relativ einheitlich: Hydrierung der Δ⁴-Doppelbindung, Reduktion der C3-Ketogruppe, Reduktion der C20-Ketogruppe; Glucuronidierung und Sulfatierung zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit und Ausscheidung [13].

1.1.2. Pathophysiologie

1855 beschrieb *Addison* erstmals eine Reihe von Kranken, die unter Leistungsschwäche, Gewichtsverlust und Hyperpigmentierung litten und schließlich verstarben. Bei der Sektion zeigte sich, dass ihre Nebennieren zerstört waren. Im gleichen Jahr bewies *Brown-Séguard* im Tierversuch, dass die Entfernung der Nebennieren nicht mit dem Leben vereinbar ist.

1912 erschien *Cushings* Arbeit „The pituitary gland and its disorders“ in der das Krankheitsbild des Hypercortisolismus beschrieben wird. Schließlich veröffentlichte 1955 *Conn* seine Beschreibung des Hyperaldosteronismus.

Entsprechend den physiologischen Wirkungen des jeweiligen Hormons entwickelt sich auch das Krankheitsbild: Diabetes mellitus und Fettverteilungsstörungen, Ödembildung, Hypertonie, Hybernatriämie und Hypokaliämie durch den Exzess von Cortisol und Aldosteron; Gewichtsverlust, Hypotonie, Hypoglykämie und schließlich Koma und Tod durch den Mangel der beiden Hormone.

Ein isolierter Hyperaldosteronismus, wie von *Conn* beschrieben, führt zu Hypertonie und Hypokaliämie, aber auch zu Kardiomegalie und hypokaliämischen Paralysen, ohne die für den Hypercortisolismus typischen Fettverteilungsstörungen [14]. Ein isolierter Hypoaldosteronismus besteht selten und ist meist Folge eines Reninmangels [15, 16].

Obwohl jedoch bei der akuten Nebenniereninsuffizienz die fehlende mineralokortikoide Wirkung für einen Gutteil, und zwar für die akut bedrohlicheren Probleme wie Dehydratation und Kreislaufdepression, Hyperkaliämie und Herzrhythmusstörungen, verantwortlich ist, kann das Krankheitsbild – neben allgemein supportiven Maßnahmen wie Flüssigkeitssubstitution – durchaus mit Cortisol allein therapiert werden; eine Substitution von Aldosteron ist nicht nötig [17].

Es liegt also nahe, dass Cortisol auch eine mineralokortikoide Wirkung hat. Dies gilt aber nicht grundsätzlich auch für synthetische Cortisolderivate mit verminderter mineralokortikoider Potenz: Entwickelt sich unter Dauertherapie mit diesen eine NNR-Insuffizienz, kann es durchaus – auch im Rahmen dieses isolierten Cortisolmangels – zum Bild des akuten Mineralokortikoidmangels bis zur Addisonkrise kommen [18].

1.1.3. Pharmakologie

1948 gelang es *Kendall* in Zusammenarbeit mit der Firma Merck erstmals, Cortison, das 11-Dehydroderivat des Cortisol, in größerem Maßstab aus Rindergallensäuren zu synthetisieren.

Schon im gleichen Jahr erfolgte die erste therapeutische Anwendung durch *Hench*, nicht als Substitutionstherapie bei einem Cortisolmangelzustand, sondern bei einer Patientin mit chronischer Polyarthrit. Der Erfolg war durchschlagend, und die Cortisontherapie verbreitete sich in den folgenden Jahren rasch als Mittel der Wahl für alle möglichen akut oder chronisch entzündlichen Erkrankungen. 1950 erhielten *Kendall*, *Hench* und *Reichstein* für ihre Entdeckung den Nobelpreis.

Die sich bald verbreitende Erkenntnis, dass Arthritiden, Asthma und Autoimmunerkrankungen durch die Cortisontherapie nicht geheilt, sondern nur für die Dauer der Therapie unterdrückt werden und unter der Langzeittherapie schwerwiegende Nebenwirkungen auftreten, dämpfte den anfänglichen Enthusiasmus und nahm auch die Öffentlichkeit gegen dieses Arzneimittel ein. Das Spektrum der beobachteten Nebenwirkungen entsprach weitgehend dem klinischen Bild des Hypercortisolismus. Zur Erzielung einer Wirkung in den erkrankten Geweben waren scheinbar oft Dosierungen nötig, die im übrigen Organismus einem Kortikoidexzess gleichkamen.

Die Hauptindikationen für eine Glukokortikoidtherapie sind nach wie vor entzündliche, allergische und immunologische Erkrankungen, die gewünschte Wirkung ist also eine immunsuppressive oder immunmodulatorische. *Activator Protein 1* (AP-1) und *Nuclear Factor κ B* (NF κ B) vermitteln diese immunmodulierende Wirkung durch Unterdrückung der Transkription der Interleukine 1-6 und 11-13, Interferon γ und Tumornekrosefaktor α (TNF- α), sowie verschiedener Adhäsionsmoleküle [19-21]. Diese Unterdrückung des Immunsystems begünstigt opportunistische Infektionen [22]. Weitere unerwünschte Wirkungen begründen sich in der gesteigerten Ausprägung der physiologischen Wirkungen: Das wenig GR-selektive Steroid Cortisol führt über seine mineralokortikoide Wirkung zu Natrium- und Wasserretention und konsekutiv zu Ödembildung und Hypertonus. Aber auch GR-selektive Glukokortikoide hemmen die periphere Proteinsynthese und bewirken dadurch Haut- und Muskelatrophie und erhöhen den Plasmaglukosespiegel durch Induktion einer Insulinresistenz [23, 24]. Schließlich führen sie zu osteoporotischem Knochenabbau [25].

Die Effektivität der Glukokortikoidtherapie, systemisch und topisch, ist in Hunderten von randomisiert-kontrollierten Studien nachgewiesen. Während allerdings die Auswahl des verwendeten Steroids für die topische Therapie vielfältig untersucht ist, finden sich nur sehr wenige Arbeiten, die einzelne Substanzen in Hinblick auf ihre Eignung für die systemische Therapie spezieller Krankheitsbilder untereinander vergleichen.

1.1.4. Synthetische Cortisolderivate

Um Wirksamkeit und Nebenwirkungsprofil zu verbessern, wurden seit 1950 Modifikationen in das Cortisolgerüst eingeführt und die entstandenen Cortisolderivate im Tierversuch und in klinischen Prüfungen untersucht. Ein großer Fortschritt gelang 1954 mit der $\Delta 1$ -Dehydrierung von Ring A des Steroidgerüsts durch *Burnim et al.*:

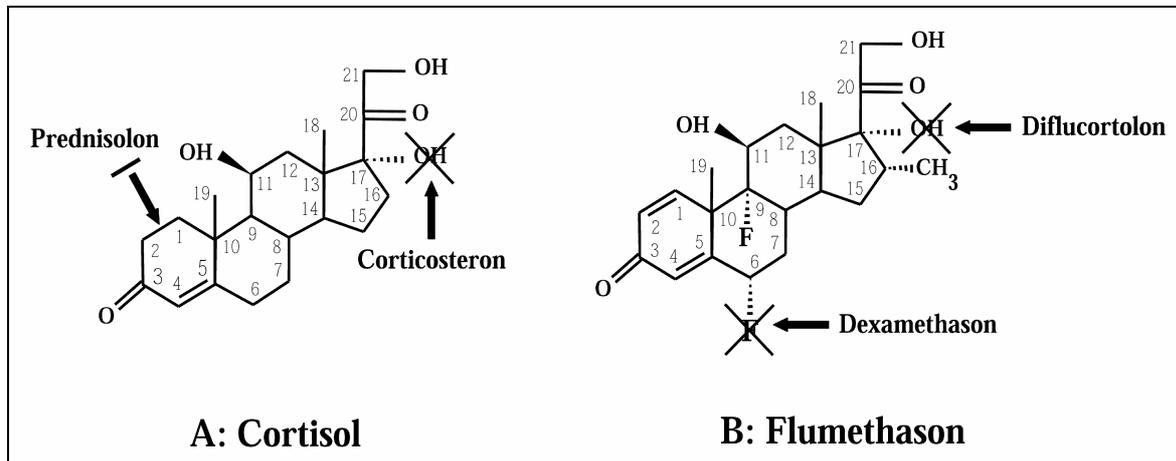


Abbildung 3: Cortisol enthält im Gegensatz zu Corticosteron eine OH-Gruppe an C 17. Cortisol und Prednisolon unterscheiden sich durch eine zusätzliche Doppelbindung ($\Delta 1$ -Dehydrokonfiguration) in Ring A. Flumethason enthält Fluoratome an Position 9 und 6, Dexamethason nur an C 9. Beide enthalten auch eine α -konfigurierte Methylgruppe an C 16. Bei Betamethason steht die Methylgruppe in β -Stellung.

Die neue Substanz Prednisolon besaß eine 4-5-mal stärkere antientzündliche Wirkung als Cortisol, bei gleichzeitig deutlich verminderter mineralokortikoider Wirkung, und gilt auch heute noch für viele Therapieanwendungen als Standard. Die Besonderheit des Cortisol, neben seinen glukokortikoiden auch mineralokortikoide Wirkungen zu haben, ist bei Substitution der Kortikoidmangelzustände sehr erwünscht [17, 18]; beim Einsatz als Antiphlogistikum oder Antiallergikum aber ungünstig. Flüssigkeitsretention mit Ödembildung, Hypokaliämie und Hypertonus waren zunächst die gefürchtetsten Nebenwirkungen der Cortisoltherapie.

Bald stellte sich allerdings heraus, dass Prednisolon in höheren Dosen durchaus mineralokortikoide Wirkungen hat und auch die glukokortikoiden Wirkungen auf Fett- und Knochenstoffwechsel problematisch waren. Auf der Suche nach dem idealen therapeutischen Kortikoid wurden nun vor allem die Auswirkungen von Methylierung und Halogenierung des Cortisol- und Prednisolongerüsts untersucht, hauptsächlich durch *Bush et al.* und *Fried et al.* [26, 27].

Substanz	Glykogenspeicher	Antiinflammatorisch	Natriumretention
Cortisol (standard)	1	1	1
Prednisolon	+	+	-
9- α -fluoro-Cortisol	++	++	++
9- α -fluoro-Prednisolon	++++	++++	+++
6- α -methyl-Prednisolon	++	++	--
16- α -methyl-Prednisolon	++	++	--
16-hydroxy-Prednisolon	++	++	--
9- α -fluoro-6- α -methyl-cortisol	+++	+++	--
9- α -fluoro-6- α -methyl-prednisolon	+++	+++	--
9- α -fluoro-16- α -methyl-cortisol	+++	+++	--
9- α -fluoro-16- α -methyl-prednisolon	++++	++++	--
9- α -fluoro-16- α -hydroxy-prednisolon	+++	+++	--

Tabelle 1: Glukokortikoide und mineralokortikoide Wirkungen verschiedener synthetischer Steroide *in vivo*.

Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen (*in vivo* Untersuchungen an Ratten) sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die antiinflammatorischen und glukokortikoiden Wirkungen sind proportional, ein reines Antiphlogistikum ohne glukokortikoide Nebenwirkungen gibt es nicht. Die Halogenierung an Position C9 bewirkt eine massive Verstärkung sowohl der glukokortikoiden wie auch der mineralokortikoiden Wirkungen. Auch die geringere Natriumretention durch Prednisolon wird durch die 9-Fluorierung aufgehoben: 9-fluoro-Prednisolon ist ein noch potenteres Mineralokortikoid als 9-fluoro-Cortisol. Eine nahezu komplette Aufhebung der mineralokortikoiden Wirkung lässt sich allerdings durch eine 6- oder 16- α -Methylierung und eine 16- α -Hydroxylierung erreichen. Dieser Effekt bleibt durch die Halogenierung unbeeinflusst.

1.1.5. Bedeutung der 11- β -Hydroxylgruppe

Die beiden physiologisch relevanten Kortikosteroide, Cortisol und Aldosteron, tragen an Position 11 ihres Steroidgerüsts eine in β -Konformation ausgerichtete Hydroxylgruppe.

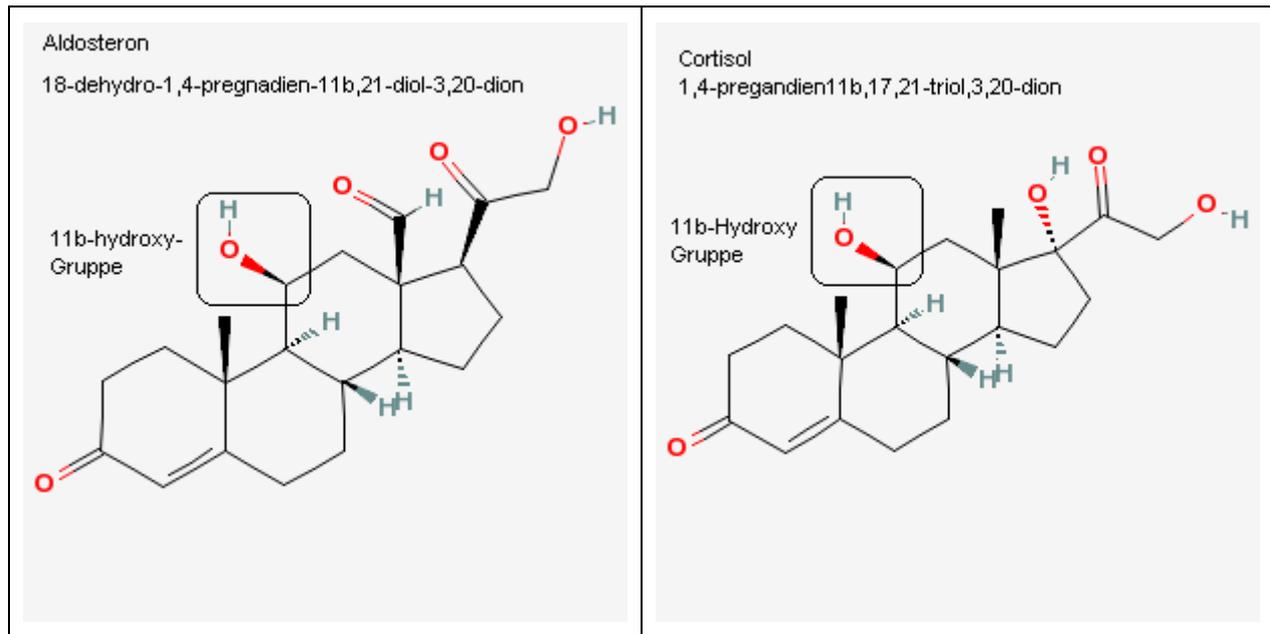


Abbildung 4: Bei Aldosteron schützt eine Ketogruppe an Position 18 die Hydroxylgruppe an C 11 vor Oxidation. Das Cortisol besitzt diese Struktur nicht.

Während die 11-Hydroxylgruppe beim Aldosteron stabil ist, findet sich in Plasma und Urin stets anteilig das 11-Dehydroderivat des Cortisols; das Cortison. Das Verhältnis von Cortisol zu Cortison im Urin des Menschen beträgt etwa 5:1 [28].

Bei der Erstsynthese durch die Firma Merck wurde aus technischen Gründen Cortison hergestellt. Schon nach wenigen Jahren wurde klar, dass das 11-Dehydroderivat Cortison (und später das Prednison) zwar bei oraler Anwendung ausgezeichnet, bei lokaler Gabe aber nur ungenügend wirksam ist [29]. Es handelt sich um ein *prodrug*, das im Körper erst in seine wirksame Form umgewandelt werden muss. Um wirksam zu sein müssen die Kortikosteroide in der 11-Hydroxyform vorliegen. *In vivo* wird für die Umwandlung der 11-Dehydro- in die 11-Hydroxyform ein Enzym benötigt: Die 11- β -Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 1 (11- β -HSD 1).

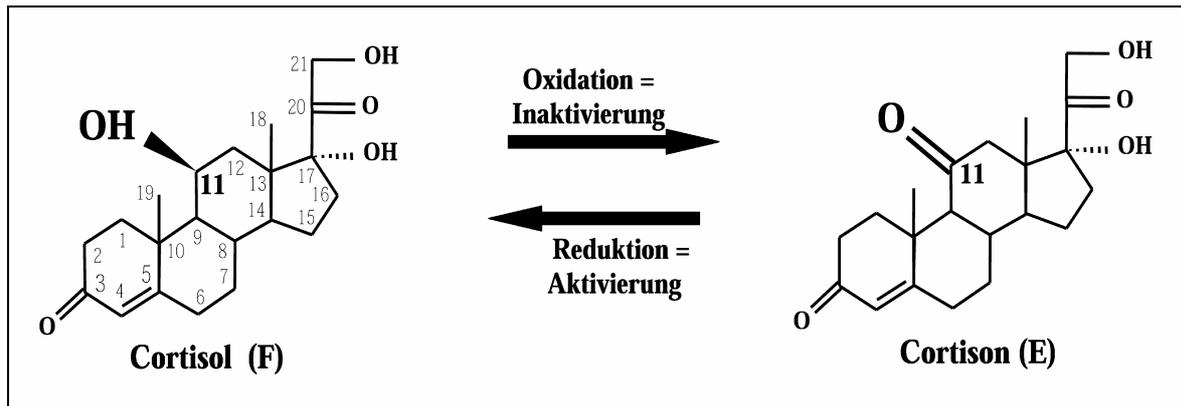


Abbildung 5: Die Hydroxylgruppe an C 11 vermittelt die Rezeptorbindung und damit die physiologische und pharmakologische Wirkung von Kortikoiden. Die 11- β -Hydroxysteroiddehydrogenasen bestimmen das Gleichgewicht zwischen aktiver und inaktiver Substanz.

1.2. Die 11- β -Hydroxysteroiddehydrogenasen (11- β -HSD)

1.2.1. Die 11- β -HSD 1

Die offensichtliche *first-pass* Aktivierung der bei lokaler Anwendung nur schwach wirksamen 11-Dehydrokortikoide führte bereits 1959 zur Entdeckung der 11- β -HSD 1 in humanem Lebergewebe [30-33]. Obwohl sie *in vitro* bidirektional arbeitet, hat sie nicht nur pharmakokinetisch, sondern auch physiologisch vor allem die Funktion einer 11- β -Reduktase [34]. Sie wurde in humanen Lebermikrosomen isoliert, kloniert und sequenziert und wird in nahezu allen Zellen mit dem GR koexprimiert [34, 35]. Sie bevorzugt als Kosubstrat NADPH und ihr Km-Wert liegt im mikromolaren Bereich [36]. Sie ist wahrscheinlich für die Feinregulation der Cortisolexposition des GR auf zellulärer Ebene zuständig und wird mit klinischen Krankheitsbildern in Zusammenhang gebracht, die pathophysiologisch durch eine regionale Cortisolüberexposition erklärbar sind, wie die omentale Fetтанreicherung und Insulinresistenz beim metabolischen Syndrom [37, 38]. Darüber hinaus stellt zirkulierendes Cortison möglicherweise einen Reservepool dar, der bei erhöhtem Cortisolbedarf durch Überexpression von 11- β -HSD 1 aktivierbar ist [39, 40].

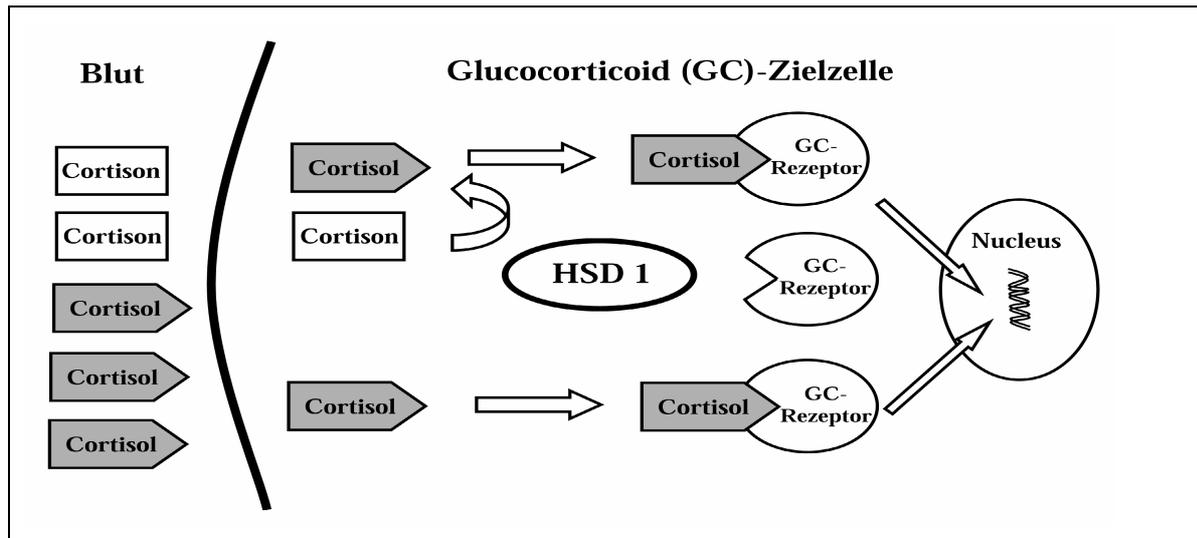


Abbildung 6: Nur Cortisol kann den Glukokortikoidrezeptor (GC-Rezeptor) transaktivieren, Cortisol kann dies nicht. Die 11- β -Hydroxysteroiddehydrogenase 1 (HSD 1) wandelt inaktives Cortisol in aktives Cortisol um.

Bereits 1967 untersuchten *Bush et al.* die Oxidation und Reduktion verschiedener synthetischer 11-Dehydro- und 11-Hydroxysteroiden durch die 11- β -HSD 1 in Rattenlebermikrosomen. Es zeigte sich, dass unter Bereitstellung geeigneter Kosubstrate Cortisol und Prednisolon durchaus zu ihren jeweiligen 11-Dehydroderivaten oxidiert wurden, dass aber 9- α -halogenierte 11-Hydroxysteroiden nicht oxidiert, dafür aber ihre 11-Dehydroderivate etwa 5-10 mal stärker reduziert wurden. Methylierung an C 6 oder C 16 führte zu deutlicher Abschwächung der Oxidation an C 11 und zwar ausgeprägter bei 16- α - als bei 16- β -methyl-Konformation [30].

1.2.2. Die 11- β -HSD 2

In den 80er Jahren wurde erstmals das Krankheitsbild des *apparent mineralocorticoid excess* (AME) beschrieben. Die Patienten zeigen das klinische Bild eines Hyperaldosteronismus bei erniedrigten Aldosteronwerten und einem erhöhten Verhältnis von Cortisol zu Cortison und ihren jeweiligen Abbauprodukten im Urin [41, 42]. Ein ähnliches Syndrom entsteht bei übermäßigem Lakritzgenuss [42, 43].

Die Untersuchung dieser Phänomene führte zur Entdeckung der 11- β -HSD 2. Dieses Enzym arbeitet unter physiologischen Bedingungen unidirektional als Dehydrogenase, inaktiviert also Cortisol durch Oxidation der 11-Hydroxylgruppe, bevorzugt NAD(H) als Kosubstrat und hat einen K_m -Wert im nanomolaren Bereich. Es wird fast ausschließlich mit dem MR koexprimiert [44].

Die 11- β -HSD 2 wurde entsprechend in Zellen von Nierenrinde, Kolonepithel, Myokard, Endothel und glatten Muskelzellen der GefäÙe, aber auch in der Plazenta nachgewiesen, die keine MR exprimiert [45].

Die 11- β -HSD 2 trägt in diesen Zellen in erheblichem Maße zur Spezifität des MR für Aldosteron bei, in dem sie das in 100fach höherer Konzentration vorliegende Cortisol zu inaktivem Cortison dehydrogeniert [42]. In der Plazenta reguliert sie den fetalen Plasmacortisolspiegel [46].

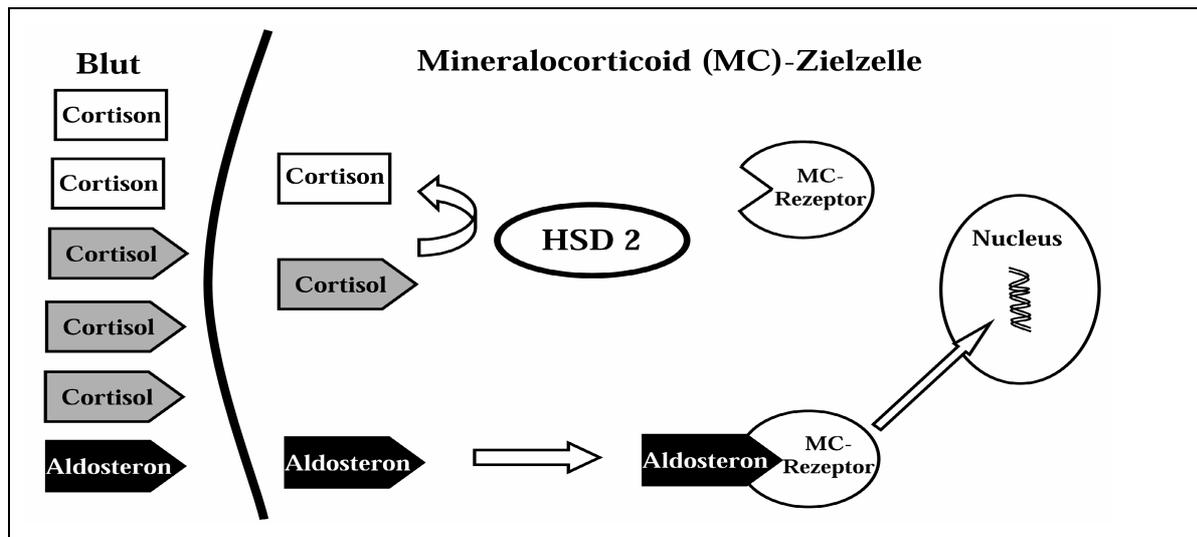


Abbildung 7: Cortisol und Aldosteron transaktivieren beide den Mineralokortikoidrezeptor (MC-Rezeptor). Die 11- β -Hydroxysteroiddehydrogenase 2 (HSD 2) oxidiert Cortisol zu Cortison, das nicht an den MR bindet. Aldosteron wird nicht durch die 11-HSD 2 oxidiert.

Die Affinität von Aldosteron und Cortisol zum MR ist durchaus vergleichbar, allerdings wird der Rezeptor durch Aldosteron stärker transaktiviert [47].

Die intrinsische Spezifität des Rezeptors reicht aber offenbar nicht aus, um bei genetischem Ausfall (beim AME) oder pharmakologischer Hemmung (durch die in Lakritz enthaltene Glycerrhitinsäure) der 11- β -HSD 2 die Entwicklung eines Pseudohyperaldosteronismus durch intrazellulären Cortisolexzess zu verhindern.

Der Beitrag der 11- β -HSD 2 als „Torwächter“ des MR ist also unter physiologischen Bedingungen essentiell [42].