

Charité – Universitätsmedizin Berlin

Campus Benjamin Franklin

Aus der Medizinischen Klinik IV

Abteilung Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin

Leiter: Prof. Dr. med. A. F. H. Pfeiffer

(vormals: Prof. Dr. med. W. Oelkers)

Agonismus synthetischer Glukokortikoide
am Gluko- und am Mineralokortikoidrezeptor des Menschen
in einem CV-1-Zellsystem

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Tim Scholz

aus Berlin

Referent: Prof. Dr. med. W. Oelkers
Korreferenten: Priv.-Doz. Dr. med. C. Harteneck
Prof. Dr. med. E. Oberdisse

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin

Promoviert am 17. Dezember 2004

Inhalt

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Einleitung | 5 |
| 1.1 | Eigenschaften der Glukokortikoide | 5 |
| 1.1.1 | Biologische Basis | 5 |
| 1.1.2 | Synthetische Modifikationen | 7 |
| 1.1.3 | Pharmakokinetische Aspekte | 9 |
| 1.2 | Wirkungsmechanismen | 11 |
| 1.2.1 | Gluko- und Mineralokortikoidrezeptor | 11 |
| 1.2.2 | Transaktivierung und Transrepression | 13 |
| 1.2.3 | Nichtgenomische Effekte | 15 |
| 1.3 | Bindung und Agonismus | 16 |
| 1.3.1 | Konventionelle Kenngrößen | 16 |
| 1.3.2 | Operationales Modell | 19 |
| 1.3.3 | Datenquellen | 23 |
| 1.4 | Fragestellung | 24 |
| 2 | Material und Methoden | 25 |
| 2.1 | Ausstattung | 25 |
| 2.1.1 | Geräte | 25 |
| 2.1.2 | Zubehör | 26 |
| 2.1.3 | Chemikalien und biologische Komponenten | 26 |
| 2.2 | Aufarbeitung von DNA | 30 |
| 2.2.1 | Plasmide | 30 |
| 2.2.2 | Transformation kompetenter Zellen | 31 |
| 2.2.3 | Plasmidisolierung für analytische Zwecke (Minilysat) | 31 |
| 2.2.4 | Plasmidisolierung für Transfektionszwecke | 32 |
| 2.2.5 | Restriktionsanalyse | 32 |
| 2.3 | Zellkultur und Meßverfahren | 33 |
| 2.3.1 | Kultivierung von CV-1-Zellen | 33 |
| 2.3.2 | Bestimmung enzymatischer Umsätze | 33 |
| 2.3.3 | Prinzip des Transaktivierungsassays | 34 |
| 2.3.4 | Transfektion und Transaktivierung | 36 |
| 2.3.5 | Messung der Luciferaseaktivitäten | 37 |
| 2.4 | Berechnungen | 38 |
| 2.4.1 | Definitionen und Normierung | 38 |
| 2.4.2 | Regression | 39 |
| 2.4.3 | Statistische Tests | 40 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3 | Ergebnisse | 41 |
| 3.1 | Identifikation der Plasmide..... | 41 |
| 3.2 | 11 β -Konversion unter Assaybedingungen | 42 |
| 3.3 | Transaktivierung in CV-1-Zellen | 43 |
| 3.3.1 | Allgemeine Resultate | 43 |
| 3.3.2 | Agonismus via Glukokortikoidrezeptor..... | 45 |
| 3.3.3 | Agonismus via Mineralokortikoidrezeptor | 52 |
| 3.3.4 | Vergleichende Betrachtung..... | 57 |
| 4 | Diskussion | 61 |
| 4.1 | Methodik..... | 61 |
| 4.1.1 | Modellsystem..... | 61 |
| 4.1.2 | Prärezeptormetabolismus..... | 63 |
| 4.1.3 | Reliabilität..... | 65 |
| 4.2 | Transaktivierung | 66 |
| 4.2.1 | Glukokortikoide Potenz | 66 |
| 4.2.2 | Mineralokortikoide Potenz..... | 72 |
| 4.2.3 | Ebenen der Selektivität | 76 |
| 4.3 | Schlußfolgerungen..... | 80 |
| 5 | Zusammenfassung | 81 |
| 6 | Literaturverzeichnis | 83 |
| 7 | Lebenslauf | 95 |
| 8 | Danksagung | 96 |