

## 5 Zusammenfassung

In der klinischen Medizin häufig verwendete Daten zu den gluko- und mineralokortikoiden Potenzen weit verbreiteter therapeutischer Glukokortikoide beruhen auf einer Vielzahl von Einzelarbeiten unter inhomogenen experimentellen Bedingungen. Ihre Vergleichbarkeit steht daher in Frage. Ziel der vorliegenden Arbeit war eine modellhafte Erfassung der relativen Wirksamkeit therapeutisch genutzter Glukokortikoide mittels eines einheitlichen Versuchssystems *in vitro*. Einige weitere, für das Verständnis der Transkriptionsregulation über die Kortikoidrezeptoren bedeutsame Steroide wurden in diese Untersuchung miteinbezogen.

Dazu wurde ein künstliches Plasmid verwendet, in dem die kodierende Sequenz für ein Enzym (Glühwürmchen-Luciferase) an die Promotorregion des MMT-Virus mit den darin enthaltenen *glucocorticoid response elements* (GREs) gekoppelt ist, welche dem Konstrukt die Induzierbarkeit des Enzyms durch bestimmte hormonaktivierte Steroidrezeptoren verleihen. Als Indikator der agonistischen Potenz eines Steroids diente seine konzentrationsabhängige, an der Menge der synthetisierten Luciferase gemessene Fähigkeit zur Transaktivierung über den humanen Gluko- oder Mineralokortikoidrezeptor in CV-1-Zellen, die mit der cDNA des Rezeptors und dem GRE-tragenden Plasmid transient transfiziert worden waren.

Auf eine aussagekräftige Analyse der gewonnenen Daten durch nichtlineare Regression wurde besonderer Wert gelegt. Es zeigte sich dabei eine unerwartet enge Übereinstimmung der gluko- und mineralokortikoiden Potenzen *in vivo* mit der weitgehend äquivalenten Größe *in vitro*, dem Kehrwert der Steroidkonzentration bei halbmaximaler Transaktivierung ( $1/EC_{50}$ ). Die meisten der gefundenen Abweichungen können durch die nachgewiesene Aktivität der  $11\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase 2 ( $11\beta$ -HSD2) in den CV-1-Zellen erklärt werden.

Die Auswirkungen bestimmter struktureller Modifikationen des Cortisolmoleküls auf die Transaktivierungsfähigkeit divergieren bei den beiden Rezeptoren zum Teil erheblich, wozu unterschiedliche Mechanismen auf den Ebenen des Prärezeptormetabolismus, der Ligand-Rezeptor-Interaktion und der eigentlichen Transkriptionskontrolle beitragen dürften. Je nach dem Ausmaß der rezeptorspezifischen Verstärkung oder Abschwächung weist das betrachtete Derivat eine höhere relative Selektivität für den Gluko- oder den Mineralokortikoidrezeptor

auf, wobei die Bedeutung einiger funktioneller Gruppen für diesen Aspekt hier erstmals quantitativ aufgezeigt werden konnte (Tab. 27). Für die hochdosierte Glukokortikoidtherapie sind im allgemeinen solche Substituenten günstig, die zu einer verminderten mineralokortikoiden Wirkung bei gesteigertem oder zumindest gleichbleibendem glukokortikoiden Effekt führen.

CHEMISCHE FUNKTION	AUSWIRKUNG AM GR	AUSWIRKUNG AM MR	ERHÖHTE SELEKTIVITÄT FÜR
6 $\alpha$ -Fluoro	↑	↑	MR
9 $\alpha$ -Fluoro	↑	↑	MR
11 $\beta$ -Hydroxy statt 11-Keto	↑	↑	
1-Dehydro	↑	↓	GR
6 $\alpha$ -Methyl	↑	→	GR
16 $\alpha$ -Methyl	→	↓	GR
16 $\beta$ -Methyl	→	↓	GR
16-Methylen	↑	↓	GR
2'-Methyl-16,17-oxazolin*	→	↓	GR
16 $\alpha$ ,17-Butylidendioxy*	↑	↓	GR

**Tab. 27:** Auswirkung einiger funktioneller Gruppen auf die Potenz im Transaktivierungsassay.  
 ↑ Steigerung, ↓ Minderung, → kein signifikanter Effekt. \* Anstelle einer 17 $\alpha$ -OH-Gruppe.  
 GR = humaner Glukokortikoidrezeptor, MR = humaner Mineralokortikoidrezeptor.

Der Quotient aus den an beiden Rezeptoren festgestellten EC<sub>50</sub> als Maß der Selektivität ist mit dem tradierten Verhältnis gluko- zu mineralokortikoider Potenz beim Menschen für bewährte therapeutische Kortikoide nahezu identisch, da der Einfluß der 11 $\beta$ -HSD2 auf diese Relation unter den hier definierten Randbedingungen ähnlich wie *in vivo* ausfällt. Somit erweist sich ein derart optimierter Transaktivierungsassay als wertvolles Instrument zur Evaluierung der struktur- und rezeptorabhängigen Wirkungen von Glukokortikoiden, auch wenn er klassische Methoden selbstverständlich nicht ersetzt.