

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Glucocorticoide und Mineralocorticoide des Menschen.....	1
1.1.1.	Metabolisierungswege von Steroidhormonen	2
1.2.	11β-Hydroxysteroid-Dehydrogenasen (11β-HSD).....	2
1.2.1.	Charakterisierung der Isoenzyme der 11β-HSD.....	5
1.2.1.1.	Die 11 β -HSD 1.....	5
1.2.1.2.	Die 11 β -HSD 2.....	6
1.2.1.3.	Hinweise für die Existenz weiterer Isoenzyme der 11 β -HSD.....	7
1.2.2.	Expression und Funktion der 11β-HSD Enzyme in einzelnen Organen.....	9
1.2.2.1.	Expression der 11 β -HSD2.....	9
1.2.2.2.	Expression der 11 β -HSD1.....	9
1.3.	Klinische Bedeutung der 11β-HSD-Enzyme.....	11
1.3.1.	Apparenter Mineralocorticoid Excess (AME).....	11
1.3.2.	Cortison-Reduktase-Mangel.....	12
1.3.3.	Lakritzabusus.....	13
1.3.4.	Essentielle Hypertonie.....	14
1.3.5.	Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2 und Insulinresistenz	15
1.4.	Beeinflussung der 11β-HSD–Aktivität durch Hormone, Zytokine und andere Mediatoren.....	16
1.5.	11β-HSD und Pharmakotherapie.....	17
1.5.1.	Die Aktivierung von 9α-Fluorosteroiden durch die 11β-HSD2.....	17
1.5.2.	Selektive Inhibitoren der 11β-HSD1.....	18
2.	Problemstellung und Zielsetzung.....	19
2.1.	Metabolisierung synthetischer Steroide durch die Isoenzyme der 11β-HSD <i>in vitro</i>.....	19
2.2.	<i>In vivo</i> Versuche zum Glucocorticoidmetabolismus durch 11β-HSD1 und –2.....	20

3.	Material und Methoden.....	21
3.1.	Materialien, Chemikalien und Geräte.....	21
3.1.1.	Steroide.....	21
3.1.2.	Materialien für die Zellkultur.....	21
3.1.3.	Materialien für die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).....	22
3.1.4.	Materialien für die Probandenversuche.....	22
3.2.	Aufreinigung steroidhaltiger Proben und Analytik.....	23
3.2.1.	Die Probenaufreinigung auf Sep-Pak®- C ₁₈ – Kartuschen.....	23
3.2.2.	Hochdruck–Flüssigkeits–Chromatographie (HPLC) und Analytik.....	23
3.2.3.	Detektion von Fluocortolon.....	25
3.3.	Synthese von 11-Oxo-Prednyliden.....	26
3.3.1.	Die 11 β -Oxidation von Prednyliden durch Chrom-VI-oxyd.....	26
3.4.	Verseifung von Steroidestern.....	28
3.5.	<i>In vitro</i> Versuche an transfizierten CHO-Zellen.....	29
3.5.1.	Inkubationsbedingungen und Passage der CHO-Zellen.....	29
3.5.2.	Transfektionsvektor pcDNA 3.1.....	30
3.5.3.	Stabile Transfektion von CHO–Zellen.....	31
3.5.4.	Selektion transfizierter Zellklone durch Geneticin® (G418).....	31
3.5.5.	Bestimmung des Umsatzes von Steroiden in transfizierten Zellen.....	32
3.5.5.1.	Herstellen des substrathaltigen Inkubationsmediums.....	32
3.5.6.	Vorversuche zur Inkubationskinetik.....	33
3.5.6.1.	Vorversuche zur 11-Oxidation durch die 11 β -HSD2.....	33
3.5.6.2.	Vorversuche zur 11-Reduktion durch die 11 β -HSD1.....	34
3.6.	Probandenversuche.....	36
3.6.1.	<i>In vivo</i> Versuche zur Induktion der 11 β -HSD1 durch Glucocorticoide.....	36
3.6.2.	Pharmakokinetik von Cortisol und Dexamethason <i>in vivo</i>	37
3.6.3.	Selektive Hemmung der 11 β -HSD1 durch Chenodesoxycholsäure.....	38
3.7.	Statistik.....	38

4.	Ergebnisse.....	39
4.1.	Umsatz von Steroiden in transfizierten CHO-Zellen.....	39
4.1.1.	11-Reduktion durch die 11β-HSD1.....	39
4.1.1.1.	Reduktion verschiedener nicht halogener Steroide durch die 11 β -HSD1.....	39
4.1.1.2.	Effekt einer 2 α Methylgruppe auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD1.....	40
4.1.1.3.	Effekt einer 2-Chlorgruppe auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD1.....	41
4.1.1.4.	Effekte verschiedener 9 α -Halogensubstituenten auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD1.....	42
4.1.2.	11-Oxidation durch die 11β-HSD2.....	45
4.1.2.1.	Oxidation nicht halogener Steroide durch die 11 β HSD2.....	45
4.1.2.2.	Effekt der 21-Desoxy-Konfiguration auf die 11-Oxidation durch die 11 β -HSD2...46	46
4.1.2.3.	Effekte von 9 α -Halogen- sowie 2-Chlorsubstituenten auf die 11-Oxidation durch die 11 β -HSD2.....	47
4.1.2.4.	Oxidation verschiedener topisch angewandter Steroide durch die 11 β -HSD2.....	48
4.1.3.	11-Reduktion durch die 11β-HSD2.....	50
4.1.3.1.	Effekt einer 2 α -Methylgruppe auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD2.....	50
4.1.3.2.	Effekte verschiedener 9 α -Halogensubstituenten auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD2.....	51
4.2.	Ergebnisse der <i>in vivo</i> Versuche an gesunden Probanden.....	53
4.2.1.	Induktion der 11β-HSD1 durch Glucocorticoide.....	53
4.2.2.	Metabolisierung von Cortisol und Dexamethason <i>in vivo</i>.....	57
4.2.3.	Selektive Hemmung der 11β-HSD1 durch Chenodesoxycholsäure.....	59
5.	Diskussion.....	61
5.1.	Diskussion der Methodik.....	61
5.1.1.	Versuche an stabil transfizierten CHO-Zellen.....	61
5.1.1.1.	Zellmaterial und Transfektionsbedingungen.....	61
5.1.1.2.	Inkubationsbedingungen.....	62
5.1.1.3.	Analytik.....	62
5.1.1.4.	Steroidsynthese.....	63
5.1.2.	Methodik der <i>in vivo</i> Versuche bei gesunden Probanden.....	63

5.1.2.1.	Versuchsbedingungen und Suppression endogener Steroide.....	63
5.1.2.2.	Messung der 11 β -HSD-Aktivität und Analytik.....	64
5.2.	Untersuchungen an transfizierten CHO-Zellen.....	66
5.2.1.	HSD1 und 11β-Oxidation.....	66
5.2.2.	Die 11-Reduktion durch die 11β-HSD1.....	66
5.2.2.1.	Reduktion nicht halogener Steroide durch die 11 β -HSD1.....	66
5.2.2.2.	Effekt einer 2 α -Methylgruppe auf die 11-Reduktion von 9 α -Fluorocortison durch die 11 β -HSD1.....	68
5.2.2.3.	Effekt einer 2-Chlorgruppe auf die 11 β -Reduktion durch die 11 β -HSD1.....	69
5.2.2.4.	Effekte verschiedener 9 α -Halogensubstituenten auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD1.....	69
5.2.3.	Die 11-Oxidation durch die 11β-HSD2.....	71
5.2.3.1.	Oxidation nicht halogener Steroide durch die 11 β -HSD2.....	71
5.2.3.2..	Effekt der 21-Desoxy-Konfiguration auf die 11-Oxidation durch die 11 β -HSD2 ..	72
5.2.3.3.	Effekte von 6 α - und 9 α -Halogen- sowie 2-Chlorsubstituenten auf die 11-Oxidation durch die 11 β -HSD2.....	73
5.2.3.4.	Oxidation verschiedener topisch angewandter Steroide durch die 11 β -HSD2.....	74
5.2.4.	Die 11-Reduktion durch die 11β-HSD2.....	76
5.2.4.1.	Effekt einer 2 α -Methylgruppe auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD2.....	78
5.2.4.2.	Effekte von 9 α -Halogensubstituenten auf die 11-Reduktion durch die 11 β -HSD2.....	79
5.2.5.	Zusammenfassung der Effekte verschiedener Substituenten auf die 11-Oxidation und die 11-Reduktion von 11β-HSD1 und 11β-HSD2....	80
5.3.	Bedeutung der Ergebnisse für die Auswahl von Gluco- und Mineralocorticoiden in der humanen Pharmakologie.....	81
5.4.	<i>In vivo</i> Versuche bei gesunden Probanden.....	84
5.4.1.	Induktion der 11 β -HSD1 durch Glucocorticoide.....	84
5.4.2.	Metabolismus von Cortisol und Dexamethason <i>in vivo</i>	86
5.4.3.	Einfluß von Chenodesoxycholsäure auf die Aktivität der 11 β -HSD1 <i>in vivo</i> ...	88
6.	Zusammenfassung.....	91
7.	Abkürzungsverzeichnis.....	94

- 8. Literaturverzeichnis.....96**
- 9. Strukturformeln und chemische Bezeichnung der verwendeten Steroide**
- 10. Lebenslauf**
- 11. Danksagungen**