

Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
Aus der Frauenklinik
Kommissarischer Direktor Prof. Dr. W. Kühn

**Fettsäuren und Phospholipide
- physiologische Modulatoren der
11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase-Aktivität
bei der fetalen Lungenreifung**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
der medizinischen Doktorwürde
der Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von: Tobias Halder
aus: Tübingen

Referent: PD Dr. S. Hundertmark

Korreferent: Prof. Dr. V. Krenn

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

Promoviert am: 27.05.2005

Meinem Bruder Georg gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Prolog	1
1.2	Glucocorticosteroide und Mineralocorticosteroide	1
1.3	Rezeptortheorie	2
1.4	Allgemeine Charakterisierung der 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (11 β -HSD)	2
1.4.1	- 11 β -HSD Typ I	3
1.4.2	- 11 β -HSD Typ II	5
1.5	Funktion der 11 β -HSD in Niere, Plazenta und Lunge	5
1.5.1	- Niere	5
1.5.2	- Plazenta	7
1.5.3	- Lunge	8
1.6	Modulatoren der Aktivität / Expression der 11 β -HSD	10
1.6.1	- Glycyrrhetinsäure, Glycyrrhezin, Carbenoxolon	10
1.6.2	- Gallensäuren	10
1.6.3	- Steroidhormone und deren Metabolite	11
1.6.4	- Synthetische Glucocorticosteroide	13
1.6.5	- Weitere Hormone	13
1.6.5.1	-- Wachstumshormon (GH)	14
1.6.5.2	-- Östrogene	14
1.6.5.3	-- Schilddrüsenhormone	15
1.6.5.4	-- Insulin	15
1.6.6	- Angiotensin II	16
1.6.7	- Retinolsäuren	16
1.6.8	- Eicosanoide	16
1.6.9	- NO-System	16
1.6.10	- Zyklische Nukleotide	16
1.6.11	- Medikamente	17
1.6.12	- Ethanol	17
1.6.13	- Pflanzenextrakte	17
1.6.14	- Glycyrrhetic acid-like factors (GALFs)	18
1.7	Darstellung von Reaktionshemmungstypen in der Auftragung nach Lineweaver-Burk	18

2. Fragestellung	24
3. Material und Methoden	25
3.1 Materialien	25
3.1.1 - Substanzen	25
3.1.2 - Geräte	25
3.2 Methoden	27
3.2.1 - Präparation Nieren-, Lungen-, Plazenta-Gewebe	27
3.2.2 - Mikrosomenpräparation	27
3.2.3 - Proteinbestimmung	28
3.2.4 - Radioenzym-Assay	30
3.2.4.1 -- Radioenzym-Assay der Oxidase-Aktivität	30
3.2.4.2 -- Radioenzym-Assay der Reduktase-Aktivität	31
3.2.5 - Umsatzbestimmung mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie	31
3.2.6 - Enzym-Assay	32
3.2.7 - Statistische Verfahren	33
4. Ergebnisse	34
4.1 Plazenta	34
4.1.1 - Umsatzversuch Plazenta-Homogenat mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	34
4.1.2 - Hemmversuch Plazenta-Homogenat mit Zusatz von Phosphatidylglycerol	35
4.1.3 - Hemmversuch Plazenta-Homogenat mit Zusatz von Phosphatidylglycerol in Abhängigkeit der Zeit	36
4.1.4 - Hemmversuch Plazenta-Homogenat mit Zusatz von Phosphatidylglycerol, Linolsäure-Na ⁺ , Stearinsäure-Na ⁺ und EDTA bzw. Mercaptoethanol	37
4.1.5 - Hemmversuch Plazenta-Mikrosomen mit Zusatz von Phosphatidylglycerol in verschiedenen Konzentrationen	40
4.1.6 - Hemmversuch Plazenta-Mikrosomen mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	41
4.1.7 - Hemmversuch Plazenta-Mikrosomen mit Zusatz von Phosphatidylglycerol in Abhängigkeit der Zeit	42
4.1.8 - Umsatzversuch Plazenta-Mikrosomen mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	43
4.1.9 - Protein- und Substratabhängigkeit Plazenta-Mikrosomen	44
4.1.10 - Umsatzversuch Plazenta-Mikrosomen mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	45

III

4.1.11	- Hemmkinetik Plazenta-Mikrosomen mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	46
4.2	Niere	47
4.2.1	- Umsatzversuch Nieren-Homogenat mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	47
4.2.2	- Umsatzversuch Nieren-Mikrosomen mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	48
4.2.3	- Protein- und Substratabhängigkeit Nieren-Mikrosomen	48
4.2.4	- Hemmversuch Nieren-Mikrosomen mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	50
4.2.5	- Hemmversuch Nieren-Homogenat mit Zusatz von Phosphatidylglycerol bzw. Distearyl-Phosphatidylglycerol und EDTA bzw. Mercaptoethanol	51
4.2.6	- Hemmkinetik Nieren-Mikrosomen mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	52
4.3	Lunge	53
4.3.1	- Umsatzversuch Lungen-Homogenat (Oxidase) mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	53
4.3.2	- Umsatzversuch Lungen-Homogenat (Reduktase) mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	54
4.3.3	- Umsatzversuch Lungen-Mikrosomen (Oxidase) mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	55
4.3.4	- Umsatzversuch Lungen-Mikrosomen (Reduktase) mit Zusatz von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren	56
4.3.5	- Umsatzversuch Lungen-Mikrosomen (Oxidase) mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	57
4.3.6	- Umsatzversuch Lungen-Mikrosomen (Reduktase) mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	58
4.3.7	- Hemmkinetik Lungen-Mikrosomen (Oxidase) mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	59
4.3.8	- Hemmkinetik Lungen-Mikrosomen (Reduktase) mit Zusatz von Linolsäure-Na ⁺ in verschiedenen Konzentrationen	60
4.4	- Zusammenfassung der Ergebnisse	61
4.4.1	- Die Wirkung von Fettsäuren und Phosphatidylglycerol auf die Aktivität 11 β -HSD Typ II in Homogenaten von Plazenta und Niere	61
4.4.2	- Die Wirkung von Fettsäuren und Phosphatidylglycerol auf die Aktivität 11 β -HSD Typ II in Mikrosomen von Plazenta und Niere	62
4.4.3	- Zusammenhang Proteinkonzentration und Hemmkonzentration	62
4.4.4	- Die Wirkung von Fettsäuren auf die oxidative Aktivität der 11 β -HSD Typ I der Lunge in Homogenaten / Mikrosomen	62
4.4.5	- Die Wirkung von Fettsäuren auf die reduktive Aktivität der 11 β -HSD Typ I der Lunge in Homogenaten / Mikrosomen	62

4.4.6	- Hemmtyp in den Hemmkinetiken nach Lineweaver-Burk in Mikrosomenversuchen von Niere, Plazenta und Lunge bei Zusatz von Linolsäure-Na ⁺	63
5. Diskussion		64
5.1	Diskussion der Methode	64
5.1.1	- pH-Wert des Enzym-Assays	64
5.1.2	- Stabilität der 11 β -HSD	64
5.1.3	- Aufarbeitung der Gewebe, Homogenisierung und Mikrosomenpräparation	65
5.1.4	- Verwendung von freien Fettsäuren und deren Na ⁺ -Salze	65
5.2	Diskussion der Ergebnisse	66
5.2.1	- Einleitung	66
5.2.2	- Hemmwirkung von Phosphatidyl-Glycerol und deren Reversibilität durch EDTA (Plazenta / Niere)	66
5.3	Diskussion der physiologischen Bedeutung	67
6. Zusammenfassung		73
7. Literatur		75
8. Abkürzungen		92
9. Abbildungen / Tabellen		94
10. Danksagung		96
11. Lebenslauf		97