

## 5. Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methode

#### 5.1.1 pH-Wert des Enzym-Assays

Die Standardbedingungen für die Ermittlung von Oxidase- bzw. Reduktase-Aktivität der 11 $\beta$ -HSD in den verschiedenen Geweben wurde unter Konditionen ermittelt, die von unserer Arbeitsgruppe optimiert wurden und seit längerer Zeit etabliert sind (74). Wir verzichteten allerdings auf das pH-Optimum in den Assaybedingungen, das für die oxidative Aktivität im schwach basischen Bereich (4, 28, 72, 91) und für die reduktive Aktivität im schwach sauren Milieu (33, 74, 182) liegt, um das Dissoziationsverhältnis zwischen den Fettsäuren und ihren Salzen möglichst den physiologischen Bedingungen anzugleichen. Über den pH-Wert in zellulären Subkompartimenten, wie dem endoplasmatischen Retikulum oder verschiedener Zellorganellen, liegen keine Erkenntnisse vor. Theoretisch vermögen die umgebenden Biomembranen von Subkompartimenten der Zelle eine relative Abgeschlossenheit zu garantieren, die lokale Mikroklimata, die von den Verhältnissen der übrigen Zelle deutlich abweichen könnten, denkbar erscheinen lässt (77). Da diese Überlegungen zum gegenwärtigen Zeitpunkt aber nur spekulativ sein können, jedoch der Dissoziationsgrad von Fettsäure-Salzen bekanntermaßen direkt vom pH-Wert abhängig ist, entschieden wir uns für den physiologische Neutralpunkt eines pHs von 7,4.

#### 5.1.2 Stabilität der 11 $\beta$ -HSD

Der oben erwähnte optimierte Standard-Assay beinhaltet ursprünglich auch EDTA und Mercaptoethanol in einer Konzentration von je  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l.

EDTA (EthylenDiaminTetraAcetat) ist ein Chelatbildner, der hohe Affinität zu  $Ca^{2+}$ -Ionen besitzt und diese reversibel bindet. Durch die Anwesenheit von EDTA werden die intrazellulär vorkommenden Peptidasen gehemmt, die  $Ca^{2+}$ -Ionen als Co-Substrat benötigen (31, 162). In vergleichenden Untersuchungen konnte eine erhöhte 11 $\beta$ -HSD-Aktivität bei Zugabe von EDTA in den Assays festgestellt werden (50).

Mercaptoethanol schützt die empfindlichen Disulfidbrücken von Enzymen gegen Oxidation und erhält somit die Integrität und damit die Aktivität von Enzymen. Dieser Effekt macht sich vor allem bei längeren Inkubationszeiten durch eine konstante Umsatzgeschwindigkeit der Enzyme bemerkbar (11).

Im Rahmen routinemäßig vorgenommener Evaluierungen unserer Standardmethode wurde bei den untersuchten Gewebshomogenaten und Mikrosomen keine relevanten Unterschiede bei Zugabe von EDTA, Mercaptoethanol bzw. beiden Substanzen festgestellt (siehe Kapitel 4.1.4).

Es stellte sich jedoch eine erhebliche Differenz der Konversionsraten ein, wenn dem Assay neben EDTA auch Phospholipide zugefügt waren.

Aus diesem Grund und da unsere Inkubationszeiten nie mehr als 60 Minuten betragen, verzichteten wir in der Folge auf den Zusatz von EDTA und Mer-

captoethanol in unserem Assay. Den Gründen für die erwähnten Abweichungen wurde in weitergehenden Untersuchungen nachgegangen. Die Ergebnisse werden weiter unten dargestellt und diskutiert.

### 5.1.3 Aufarbeitung der Gewebe, Homogenisierung und Mikrosomenpräparation

Die Integrität der menschlichen Gewebe wurde nach ihrer Entnahme durch eine lückenlose Kühlkette so gut wie nur möglich erhalten. Die weitere Aufarbeitung zu Homogenaten und Mikrosomen wurde auf Eis bzw. in temperierten Geräten bei 4°C vorgenommen. Alle Schritte wurden so rasch wie möglich durchgeführt, wobei die Anforderungen der diagnostischen Aufbereitung durch den Pathologen stets Vorrang hatten. Homogenate und Mikrosomen wurden bis zu ihrer Verwendung bei -80°C gelagert. In Voruntersuchungen wurde von unserer Arbeitsgruppe der volle Erhalt der Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD selbst nach der Lagerung über mehrere Monate festgestellt. Mikrosomen und Homogenate wurden verworfen, wenn diese nach dem Auftauen nicht sofort verwendet werden konnten, da es bei erneutem Einfrieren und Auftauen zu einem merkbaren Aktivitätsverlust kommt (91).

### 5.1.4 Verwendung von freien Fettsäuren und deren Na<sup>+</sup>-Salzen

Über die intrazelluläre Konzentration freier Fettsäuren gibt es keine sicheren Angaben. Zu einem großen Teil liegen die intrazellulären Fettsäuren mit Phospholipiden verestert, als Bestandteil der Zellmembran, vor. Dort werden sie von Phospholipasen abgetrennt und stehen so als freie Fettsäuren dem intrazellulären Metabolismus zur Verfügung. Die Komposition der Zellmembranen, d.h. der Besatz der Phospholipide mit gesättigten und ungesättigten Fettsäuren ist zum Teil von der Plasmakonzentration der Fettsäuren abhängig, die ihrerseits von der alimentären Aufnahme bestimmt wird.

Intrazellulär stehen freie Fettsäuren und deren Na<sup>+</sup>-Salze bzw. Fettsäure-Salze anderer Ionen in einem dynamische Gleichgewicht, wobei der Dissoziationsgrad, d.h. das Verhältnis von freier Fettsäure und dem Na<sup>+</sup>-Salz der Fettsäure unter anderem vom pH-Wert bestimmt wird.

Wie bereits erwähnt ist in den Subkompartimenten der Zelle ein lokales, vom Gesamt-pH deutlich abweichendes pH-Milieu vorstellbar (77). Aus diesem Grund setzten wir bei unseren Untersuchungen sowohl freie Fettsäuren als auch deren jeweilige Na<sup>+</sup>-Salze ein.

Die Lipidkonzentrationen, die in unseren Experimenten gewählt wurden liegen innerhalb der physiologischen Plasmakonzentrationen, die für langkettige Fettsäuren (10-500  $\mu$ mol/l) und Phospholipide (100-300  $\mu$ mol/l) bei Mensch bzw. Ratte in der frühen Postnatalperiode gemessen wurden (29, 63).

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Einführung

Mit der Untersuchung über den Einfluss von freien Fettsäuren und Phospholipiden auf die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD steht ein gänzlich unbearbeitetes Feld der 11 $\beta$ -HSD-Forschung offen.

Die Verhältnisse in der fetalen Lunge wurden als Ausgangspunkt unserer Untersuchungen gewählt, da es in der perinatalen Phase zu drastischen Veränderungen im intrazellulären Lipidmetabolismus der Pneumozyten kommt, an denen nach heutigem Kenntnisstand die 11 $\beta$ -HSD maßgeblich beteiligt ist.

Am Modell der fetalen Lungenreifung ist der Einfluss des Lipidmetabolismus auf die Aktivierung bzw. auf die nachgeburtliche Down-Regulation der 11 $\beta$ -HSD-Aktivität plastisch darstellbar.

Es soll der Versuch unternommen werden, die Steuerung der fetalen Lungenreifung in einen multifaktoriellen Bezug zu stellen, der hormonelle, metabolische und rheologische Aspekte berücksichtigt. Dabei stützen wir uns auch auf Ergebnisse, die vorausgegangene Forschungen zum tieferen Verständnis der komplexen Prozesse bei der fetalen Lungenreifung beigetragen haben.

Unsere Arbeit stellt einen Versuch dar, den vermuteten Regulationsmechanismen, die der fetalen Lungenreifung zugrunde liegen, einen weiteren, möglicherweise nicht unerheblichen, Aspekt hinzuzufügen.

Parallel dazu werden die Ergebnisse mit Nieren- und Plazenta-Gewebe denen der Versuche mit Lungengewebe zur Seite gestellt. Die dort ermittelten Resultate könnten auf einen allgemeingültigen Mechanismus hinweisen, der bei der Steuerung der 11 $\beta$ -HSD-Aktivität wirksam ist.

### 5.2.2 Hemmwirkung von Phosphatidylglycerol und deren Reversibilität durch EDTA (Plazenta / Niere)

In Versuchen mit Plazenta-Homogenat konnten wir bei Zugabe von PG eine ausgeprägte Hemmwirkung beobachten, die in den Assays, denen zusätzlich EDTA beigefügt war, deutlich geringer ausfiel. Mercaptoethanol hatte keine vergleichbare Wirkung auf die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD.

EDTA und Mercaptoethanol zusammen führten zu einer zusätzlichen Erholung der Konversionsrate im Vergleich zu den Proben, denen nur EDTA zugegeben worden war. Die Hemmwirkung von Linolsäure-Na<sup>+</sup> wird hingegen von EDTA bzw. Mercaptoethanol nicht signifikant beeinflusst (siehe Kapitel 4.1.4).

Diese Phänomene könnten auf die Einwirkung der ubiquitär vorkommenden Phospholipase A<sub>2</sub> (19), zurückzuführen sein, die zur Gruppe der sogenannten zytosolischen Phospholipasen gehört und Fettsäuren von PG in Position 2 abspaltet. In immunhistologischen Untersuchungen wurde die zytosolische Phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) sowohl im Zytoplasma, als auch im endoplasmatischen Retikulum und der Kernmembran vorgefunden (64, 147), sodass diese auch in Homogenaten und in Mikrosomen enthalten sein sollte.

Diese Phospholipasen werden unter anderem durch die intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Konzentration aktiviert (19).

Das Glycerin-Molekül des PGs ist in Position 1 und 2 mit einer Mischung von Fettsäuren beladen. Dabei kann der Hersteller keine Angaben über den Anteil an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren bzw. über die Kettenlänge der Fettsäuren machen. Physiologischerweise ist bei PG in biologischen Membranen die Position 2 vor allem mit ungesättigten Fettsäuren verestert. Bei Nachversuchen mit PG, das in Position 1 und 2 mit Ölsäure substituiert ist (Dioleoyl-Phosphatidylglycerol) zeigte sich ein potenziertes Hemmeffekt im Vergleich zu PG (Ergebnisse nicht dargestellt).

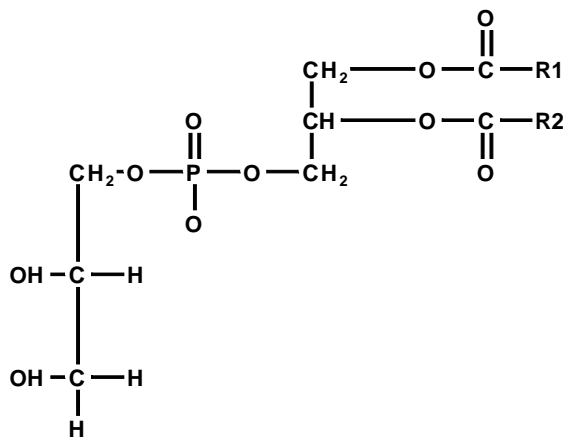


Abb. 5.1: Phosphatidylglycerol

Bei Zugabe von PG, das mit zwei Stearinsäure-Molekülen verestert ist, stellte sich, entsprechend unseren Untersuchungen mit freier Stearinsäure bzw. deren  $\text{Na}^+$ -Salz in Versuchen mit Nieren-Homogenat, eine Erhöhung des Umsatzes ein (siehe Kapitel 4.2.6).

Dies könnte ein weiteres Indiz dafür sein, dass die Hemmwirkung von PG auf das Einwirken der  $\text{cPLA}_2$  zurückzuführen ist und die abgespaltenen Fettsäuren im Wesentlichen für die Aktivitätsveränderungen der  $11\beta$ -HSD verantwortlich sind.

### 5.3. Diskussion der physiologischen Bedeutung

Wie bereits dargestellt wurde, ist die *de novo*-Synthese von Fettsäuren zytosolisch lokalisiert. Bei der fetalen Lungenreifung ist die Fettsäure-Synthese der initiale Syntheseschritt für die Surfactant-Produktion, der durch die intrazelluläre Konzentration aktiver GCS induziert wird (140). Aktive GCS sind nicht nur für die Induktion der Fettsäure-Synthese (177), dem Schlüsselenzym der *de novo*-Fettsäure-Synthese, verantwortlich, sondern scheinen außerdem einen stabilisierenden Effekt auf die kodierende mRNA zu besitzen (178).

Dabei werden langkettige, gesättigte Fettsäuren synthetisiert, vor allem Stearinsäure und Palmitinsäure, die Substrat für die Phospholipid-Synthese sind (106, 125), darüberhinaus aber auch die Aktivität der Cholinphosphat-Cytidyltransferase (CPCT) positiv beeinflussen (37, 43, 140, 141, 171, 176).

Die CPCT ist das geschwindigkeitsbestimmende Enzym bei der Synthese von Phosphatidylcholin (PC), welches Hauptbestandteil der Lipidfraktion des Surfactant ist (44). PC liegt als Surfactantlipid überwiegend mit zwei Molekülen Palmitinsäure verestert als Dipalmitoyl-PC vor (142).

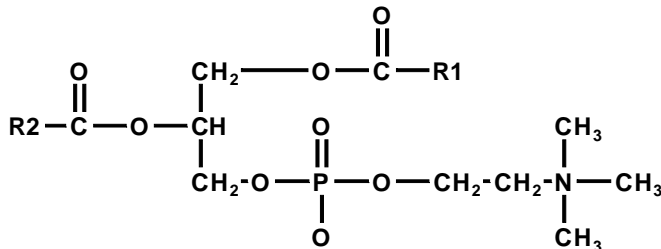


Abb. 5.2: Phosphatidylcholin

In der fetalen Lunge ist die Verfügbarkeit von freien Fettsäuren über das Blut, aufgrund von niedrigen fetalen Plasmakonzentrationen freier Fettsäuren (63) und eines niedrigen pulmonalen Blutflusses, gering (143).

Der Bedarf an Fettsäuren für die Produktion von Surfactant wird überwiegend durch die intrazelluläre Synthese gedeckt (107). Entsprechend ist die *de novo*-Fettsäure-Syntheserate in der fetalen Lunge (125) im Vergleich zur adulten Lunge, welche vornehmlich exogene Fettsäuren zur Surfactant-Synthese verwendet, deutlich erhöht (61).

Ein erhöhtes extrazelluläres Angebot von Fettsäuren, insbesondere von gesättigten, langkettigen Fettsäuren, hemmt sogar die *de novo*-Synthese in Pneumozyten-Kulturen der adulten Ratte (61).

Bei Untersuchungen an Rattenfeten wurde festgestellt, dass der Serumspiegel aktiver GCS in der späten Gestationsphase stark ansteigt und zum Zeitpunkt der Geburt ihren Höhepunkt erreicht (62, 160). Parallel dazu vermindert sich die Bindungskapazität des CBG in der späten Gestationsphase erheblich, sodass es zu einem Anstieg freier GCS im fetalen Plasma kommt. Übereinstimmende Ergebnisse liegen bei der Ratte (62), beim Schaf (42) und beim Menschen (100, 116) vor.

Zudem besteht ein positiver Feedback-Mechanismus in der fetalen Lunge, der durch aktive GCS ausgelöst wird. Dabei kommt es zu einer Steroid-induzierten, erhöhten Expression der 11 $\beta$ -HSD Typ I in fetalen Pneumozyten und dadurch zur vermehrten Konversion von biologisch inaktivem Cortison zu Cortisol (72).

Am Tiermodell konnte außerdem gezeigt werden, dass es in der Spätschwangerschaft zu einer zunehmenden physiologischen Reifung und Expression der 11 $\beta$ -HSD Typ I in den fetalen Pneumozyten kommt, die bei *in vivo*-Versuchen eine überwiegend reduktive Aktivität zeigte (73).

Nach heutigem Kenntnisstand werden in den fetalen Pneumozyten inaktive Oxo-Metabolite durch die Einwirkung der 11 $\beta$ -HSD Typ I zu den entsprechenden aktiven GCS konvertiert. Daraufhin kommt es zur Bindung an den GC-R, der die Induktion der Fettsäure-Synthese-Expression vermittelt.

Der GC-R wurde in fetalem, kindlichem und adultem Lungengewebe, sowie in kultivierten Zell-Linien (17, 18, 88) nachgewiesen. Interessanterweise ist die Expression von GC-R im fetalen Lungengewebe extrem hoch. Vergleichende Untersuchungen ergaben eine über 10-fach höhere Konzentration des GC-R in fetalem Lungengewebe als im Lungengewebe des Kindes (88).

Fettsäuren üben auch auf der Ebene der Steroid-Rezeptoren durch die Veränderung der Bindungskapazität einen modulierenden Einfluss aus. Entsprechende Ergebnisse wurden an Östrogen- (23, 121) bzw. Progesteron- und GC-R der Ratte ermittelt (79, 109).

Die Bindungskapazität des GC-R für Cortisol steigt in der späten Gestationsphase parallel zur Erhöhung der Syntheserate von PC deutlich an (17, 32). Untersuchungen mit ungesättigten Fettsäuren (Ölsäure, Linolsäure, Arachidonsäure) wiesen eine dosisabhängige Verminderung der Bindungskapazität des GC-R mit einem  $IC_{50}$  von  $2,2 \cdot 10^{-4}$  mol/l für Ölsäure nach. Der Hemmtyp zeigte die Charakteristika einer nicht-kompetitiven Hemmung. Vergleichbare Ergebnisse wurden erzielt, wenn die  $Na^+$ -Salze der jeweiligen Fettsäuren verwendet wurden.

Langkettige, gesättigte Fettsäuren und Phospholipide hingegen hatten keinen Einfluss auf die Bindungskapazität des GC-R (167).

Diese Ergebnisse unterstreichen die mögliche Bedeutung von Fettsäuren bei der Regulation der fetalen Lungenreifung auf Rezeptorebene.

Zusätzlichen Einfluss auf die  $11\beta$ -HSD-Aktivität könnten die hohen Östrogenkonzentrationen in der Schwangerschaft nehmen. In frühen Untersuchungen von Rooney et al. (83) wurde nach der Behandlung mit Östrogenen neben einer beschleunigten morphologischen Reifung der Lunge auch eine vermehrte PC-Synthese in fetalen Kaninchen-Lungen *in vivo* festgestellt.

Diese Wirkung könnte zum Teil durch eine Aktivitätszunahme der  $11\beta$ -HSD unter Einwirkung von Östrogenen erklärt werden, wobei die Datenlage diesbezüglich äußerst widersprüchlich ist (siehe Kapitel 1.6.5.2).

Ein möglicherweise limitierender Mechanismus der Surfactant-Synthese besteht im Deacylierungs-/Reacylierungs-Pathway.

Im Tierversuch mit Kaninchenfetten wurde unter dem Einfluss von Dexamethason eine gesteigerte Expression der Palmitoyl-CoA-Synthetase, Lyso-Palmitoyl-Cholin-Acyltransferase und der PLA<sub>2</sub> in der späten Gestationsphase festgestellt (49).

Die Induktion der genannten Enzyme führt am Lecithin-Molekül zu einem Austausch von ungesättigten Fettsäuren gegen gesättigte Fettsäuren und damit zu einer gesteigerten Syntheserate von Dipalmitoyl-PC. Als Folge könnte es zu einem intrazellulären Abfall von gesättigten Fettsäuren, respektive einem Anstieg von ungesättigten Fettsäuren kommen.

Das Überwiegen der ungesättigten Fettsäuren würde, entsprechend unseren Versuchsergebnissen, eine Inhibition der reduktiven Aktivität der  $11\beta$ -HSD Typ I bewirken, was zu einem Abfall der Konversionsrate von inaktiven zu aktiven GCS, schließlich zu einer Verminderung der *de novo*-Synthese von Fettsäuren

und damit zu einer Limitierung der Surfactant-Produktion führen würde. Weiterhin führt das Überwiegen der ungesättigten Fettsäuren, wie oben beschrieben, zu einer verminderten Bindungskapazität des GC-R und somit zu einer eingeschränkten Wirkung der GCS.

In unseren Versuchen mit Lungengewebe zeigte die Palmitinsäure eine deutlich hemmende Wirkung auf die reduktive Aktivität der  $11\beta$ -HSD Typ I in Versuchen mit Mikrosomen (siehe Kapitel 3.4.3). Wie erwähnt ist das mit Palmitinsäure doppelveresterte PC das maßgebliche Surfactant-Lipid, wobei die Fettsäurereste überwiegend *de novo*-synthetisiert sind (179). Die gesteigerte Surfactant-Produktion könnte demzufolge die hemmende Wirkung der Palmitinsäure dadurch verhindern, dass diese unmittelbar in den Surfactant-Syntheseweg aufgenommen wird.

Der Einfluss von Lipiden auf Steroid-metabolisierende Enzyme wurde bereits in früheren Untersuchungen festgestellt. Fettsäuren hemmen die Aktivität der  $17\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase in Uterusmikrosomen der Ratte (169) und in Lebermikrosomen von Meerschweinchen. Eine Hemmung wurde dabei sowohl bei Zugabe von Fettsäuren bzw. Lyssolezithin, als auch bei Einwirkung der  $PLA_2$  festgestellt (30). Eine Hemmung der  $5\alpha$ -Reduktase-Aktivität in Hamstergewebe wurde *in vitro* durch die ungesättigte Fettsäure gamma-Linolsäure beobachtet (99).

Die von uns ermittelten Ergebnisse fügen sich in die Reihe der oben genannten Mechanismen, die bei der fetalen Lungenreifung wirksam sind, ein: Die festgestellte Erhöhung der reduktiven  $11\beta$ -HSD-Aktivität *in vitro* bei Einwirken von gesättigten Fettsäuren (freie Stearinsäure und freie Palmitinsäure in Homogenaten bzw. freie Starinsäure und Stearinsäure- $Na^+$  in Mikrosomen der Lunge (siehe Kapitel 4.3.2 und 4.3.4)), könnte ein weiterer positiver Verstärkungsmechanismus bei der Surfactant-Synthese sein.

Die intrazelluläre Synthese von gesättigten, langkettigen Fettsäuren wird dabei durch die folgenden, bereits oben besprochenen Mechanismen positiv beeinflusst:

- Erhöhte Serumspiegel aktiver GCS bei gleichzeitig erniedrigter Bindungskapazität des CBG.
- Induktion der  $11\beta$ -HSD Typ I in den fetalen Pneumozyten durch aktive GCS und konsekutiv vermehrte Konversion von Cortison zu Cortisol.
- Erhöhung der  $11\beta$ -HSD-Aktivität durch hohe Östrogen-Konzentrationen in der späten Gestationsphase.
- Zunehmende Erhöhung der Bindungskapazität des GC-R zum Geburtstermin hin.
- Vermehrte Expression des GC-R in der fetalen Lunge im Verlauf der Gestation.

Postpartal stellt sich in der Lunge des Neugeborenen ein neues Gleichgewicht ein.

Nach der Geburt wurde ein rapides Ansteigen der Plasmakonzentration von freien Fettsäuren bei Ratte (29, 63) und Mensch (29) nachgewiesen. Für die Pneumozyten der kindlichen Lunge erhöht sich die Verfügbarkeit von Plasmalipiden entsprechend dem stark erhöhten pulmonalen Blutfluss (143).

Eine vermehrte Aufnahme von ungesättigten Fettsäuren könnte eine Down-Regulation der 11 $\beta$ -HSD bewirken. Parallel dazu fällt bei sinkenden Plasma-Cortisol-Spiegeln die intrazelluläre Synthese vor allem langkettiger, gesättigter Fettsäuren ab, was zu einem relativen Überwiegen des intrazellulären Anteils an ungesättigten Fettsäuren führen könnte. Unsere *in vitro*-Ergebnisse würden eine konsekutive Hemmung der 11 $\beta$ -HSD *in vivo* erklären.

Zudem kommt es, wie oben erwähnt, zu einer verminderten Aktivität der *de novo*-Fettsäure-Synthese bei erhöhtem Angebot exogener Fettsäuren.

Im Tierversuch wurde *in vitro* ein hemmender Einfluss exogener, gesättigter Fettsäuren (Stearate und Palmitate) auf die *de novo*-Synthese von Fettsäuren in Pneumozyten bei adulten Ratten festgestellt (61), Linolate hatten keine Wirkung.

Entsprechende Versuche mit fetalen Pneumozyten-Kulturen der Ratte zeigten, dass exogene Oleate, nicht aber Palmitate, die Synthese von di-saturiertem PC in der fetalen Lunge hemmen (107).

Dagegen wird in der adulten Lunge durch exogene Palmitate die Synthese von di-saturiertem PC stark erhöht, Oleate zeigten hingegen keinen Effekt (107). Diese Ergebnisse könnten unter Berücksichtigung unserer Daten dahingehend interpretiert werden, dass exogene Fettsäuren bei der fetalen Lunge zu einer intrazellulären Modulation des GC-R bzw. der 11 $\beta$ -HSD-Aktivität führen:

Ein Überwiegen der intrazellulären Konzentration an ungesättigten Fettsäuren durch eine vermehrte Aufnahme bzw. eine verminderte Synthese von langkettigen gesättigten Fettsäuren bei der *de novo*-Synthese, hemmt die 11 $\beta$ -HSD-Aktivität und vermindert die Bindungskapazität des GC-R. Dadurch kommt es zu einer geringeren Konversionsrate von Cortison zu Cortisol und zu einer verminderten GC-R-vermittelten Fettsäure-Synthese, die wiederum eine Verringerung der Phospholipid-Synthese zur Folge hat.

Postpartal abfallende Östrogen-Serumspiegel bewirken eine Erniedrigung der 11 $\beta$ -HSD-Aktivität und verminderte Cortisol-Serumspiegel eine geringere Induktion der 11 $\beta$ -HSD Typ I in der Lunge des Säuglings.

Ob die nachgeburtlichen Veränderungen auch zu einer vermehrten intrazellulären Synthese ungesättigter Fettsäuren führen ist nicht bekannt. Dieser Aspekt sollte aber bei der Betrachtung postpartaler Regulationsmechanismen berücksichtigt werden.

Die hier am Beispiel der fetalen Lungenreifung dargestellten Zusammenhänge, können insofern als exemplarisch für andere Organsysteme angesehen werden, als dass über eine Aktivierung der intrazellulären cPLA<sub>2</sub>, eine lokale Steuerung der 11 $\beta$ -HSD-Aktivität durch die Abspaltung von Fettsäuren



vorstellbar ist. Unsere Ergebnisse mit Lungen-, Nieren- und Plazenta-Gewebe stützen diese Theorie.

Für beide Isoenzyme der 11 $\beta$ -HSD wurden die mikrosomale Lokalisation und die Existenz transmembranärer Anteile nachgewiesen, die für die Aktivität wesentlich sind (124).

Im Kontext der vorliegenden Ergebnisse ist es daher vorstellbar, dass Veränderungen der Lipidkomposition in den benachbarten Membranen modulierend auf die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD wirken können.

Die Arbeitsgruppe von Monder (89) hat bei Untersuchungen mit Detergentien und Phospholipiden deutliche Aktivitätsveränderungen der 11 $\beta$ -HSD festgestellt. Diese Phänomene wurden im Zusammenhang mit einer Veränderung der Membranfluidität interpretiert.

Bei Versuchen mit Homogenat der Plazenta setzte die Hemmwirkung des zugesetzten Phosphatidylglycerols erst nach Ablauf von 30 Minuten ein, wohingegen bei entsprechenden Versuchen mit Plazenta-Mikrosomen eine deutliche Hemmwirkung bereits nach 15 Minuten feststellbar war (siehe Kapitel 4.1.3 bzw. 4.1.7). Es ist nicht klar, worauf dieses Phänomen zurückzuführen ist. Möglicherweise wird bei den Versuchen mit Mikrosomen, durch das Fehlen der übrigen Zellbestandteile und des Zytosols, das rasche Einsetzen der Hemmwirkung durch zugesetzte Phospholipide begünstigt.

Unter der Prämisse, dass sowohl die 11 $\beta$ -HSD als auch die cPLA<sub>2</sub> in den mikro-somalen Zellkompartimenten lokalisiert sind, könnten diese Effekte auch einen lokal begrenzten Charakter besitzen und die Regulation der 11 $\beta$ -HSD stärker von der Konzentration der Co-Substrate, dem Einwirken benachbarter Enzyme oder lokalen pH-Veränderungen beeinflusst sein, als dies bisher angenommen wurde.

Zur Stützung dieser theoretischen Überlegungen bedarf es aber weiterer Untersuchungen unter Berücksichtigung der physiologischen Verhältnisse in der Zelle.