

Aus der Medizinischen Klinik IV – Bereich Endokrinologie
Campus Benjamin Franklin
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Metabolisierung synthetischer Glukokortikoide durch
11- β -Hydroxysteroiddehydrogenase 1 und 2
in humanen Leber- und Nierenmikrosomen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Patrick Georg Burkhardt

aus Konstanz

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. Sven Diederich
2. Prof.Dr.med. Chr. Schöfl
3. Prof.Dr. F. Scheuflein

Datum der Promotion: 23.03.2007

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
1. Einleitung	6
1.1. Glukokortikoide und Mineralokortikoide	6
1.1.1. Physiologie	6
1.1.2. Pathophysiologie	9
1.1.3. Pharmakologie.....	9
1.1.4. Synthetische Cortisolderivate.....	11
1.1.5. Bedeutung der 11- β -Hydroxylgruppe	12
1.2. Die 11- β -Hydroxysteroiddehydrogenasen (11- β -HSD).....	14
1.2.1. Die 11- β -HSD 1	14
1.2.2. Die 11- β -HSD 2	15
2. Ziel der Arbeit	17
2.1. Metabolismus synthetischer Steroide durch 11- β -HSD 1 und 2.....	17
3. Material	19
3.1. Material, Chemikalien und Geräte	19
3.1.1. Geräte und Reagenzien zur Mikrosomenherstellung	19
3.1.2. Geräte und Reagenzien zur Proteinbestimmung	19
3.1.3. Geräte und Reagenzien zur Synthese von 11-Dehydrosteroiden	19
3.1.4. Geräte und Reagenzien zur Inkubation und Probenaufreinigung	20
3.1.5. Geräte und Reagenzien zur HPLC-Analytik	20
3.1.6. Steroide.....	20
3.1.7. Humane Gewebe	21
4. Methoden.....	22
4.1. Mikrosomen	22
4.1.1. Mikrosomenpräparation	22
4.1.2. Proteinkonzentration im Mikrosomenpräparat.....	22
4.2. Synthese von 11-Dehydrosteroiden	24
4.2.1. Grundlagen	24
4.2.2. Oxidation mit Jones-Reagenz.....	24
4.2.3. Verseifung der 11-Dehydrosteroidacetate.....	25
4.2.4. Identitäts- und Reinheitskontrolle	25
4.2.5. Lagerung und Einwaage.....	25
4.3. Bestimmung der 11- β -HSD Aktivität	26

4.3.1.	Grundlagen	26
4.3.2.	Enzyminkubationen.....	26
4.3.3.	Extraktion der Steroide mit Ethylacetat	27
4.3.4.	HPLC-Analytik	28
4.3.5.	Berechnung der Initialgeschwindigkeit V_0	30
4.3.6.	Statistische Auswertung	31
5.	Ergebnisse	32
5.1.	Nierenmikrosomen: Oxidation der 11-Hydroxysteroiden.....	32
5.1.1.	Übersicht der Initialgeschwindigkeiten.....	32
5.1.2.	Einfluss von Ring(A)-Konfiguration und 9- α -Fluorierung.....	33
5.1.3.	Einfluss von 9- α -Fluorierung und 6- α -Methylierung.....	34
5.1.4.	Einfluss von 16 α/β -Methylierung und 9- α -Fluorierung.....	35
5.1.5.	Einfluss der Hydroxylgruppe an Position 17 und 21	36
5.1.6.	Oxidation in Nierenmikrosomen: Zusammenfassung.....	37
5.2.	Nierenmikrosomen: Reduktion der 11-Dehydrosteroiden	38
5.2.1.	Übersicht der Initialgeschwindigkeiten.....	38
5.2.2.	Einfluss der 9 α -Fluorierung	39
5.2.3.	Einfluss der Ring(A)-Konfiguration	39
5.2.4.	Einfluss der 6- α - und 16- α/β -Methylierung	40
5.2.5.	Einfluss der Hydroxylgruppe an Position 17 und 21	41
5.2.6.	Reduktion in Nierenmikrosomen: Zusammenfassung	41
5.3.	Lebermikrosomen: Oxidation der 11-Hydroxysteroiden	42
5.3.1.	Übersicht der Initialgeschwindigkeiten.....	42
5.3.2.	Einfluss der 9- α -Fluorierung	42
5.3.3.	Einfluss der Ring(A)-Konfiguration	43
5.3.4.	Einfluss der 6- α - und 16- α/β -Methylierung	43
5.3.5.	Oxidation in Lebermikrosomen: Zusammenfassung	44
5.4.	Lebermikrosomen: Reduktion der 11-Dehydrosteroiden.....	45
5.4.1.	Übersicht der Initialgeschwindigkeiten.....	45
5.4.2.	Einfluss der 9- α -Fluorierung	45
5.4.3.	Einfluss der Ring(A)-Konfiguration	46
5.4.4.	Einfluss der 16- α/β -Methylierung	46
5.4.5.	Einfluss der 17-Hydroxylgruppe.....	47
5.4.6.	Reduktion in Lebermikrosomen: Zusammenfassung.....	48

6.	Diskussion	49
6.1.	Kritik der Methodik.....	49
6.1.1.	Untersuchungssystem Mikrosomen	49
6.1.2.	Steroidsynthese und Analytik.....	50
6.1.3.	Datenerfassung und Auswertung	50
6.2.	Interpretation der Ergebnisse	51
6.2.1.	Metabolismus in Nieren- und Lebermikrosomen.....	51
6.2.2.	Halogenierte Steroide	53
6.2.3.	Methylierte Steroide	54
6.2.4.	17-dehydroxylierte Steroide	55
6.2.5.	Δ^1 -dehydrierte Steroide.....	56
7.	Stand der Forschung und Ausblick	58
8.	Zusammenfassung	61
9.	Literaturverzeichnis.....	63
10.	Lebenslauf	68