

1. Einleitung

1.1 Intrakrinologie

Innerhalb der Endokrinologie gewannen in den letzten Jahren die Gebiete der intrakrinen, autokrinen und parakrinen Hormonregulation zunehmend an Bedeutung. Während z.B. die Nebenniere Steroidhormone synthetisiert und mit zirkadianer Rhythmik in die Zirkulation sezerniert, besitzt jedes Organ eine spezifische Ausstattung an Enzymen, die eine individuelle Regulation aktiver Steroidhormonkonzentrationen zulässt. So können viele Zellen durch diese Enzyme eine bedarfsgerechte Feinabstimmung vornehmen, z.B. Steroidhormone neu synthetisieren, inaktive Vorstufen zu aktiven Hormon umwandeln oder aktives Hormon zu inaktiven Abbauprodukten metabolisieren. Durch Sezernierung von gebildeten Hormonen kann die Zelle auch benachbarte Zellen, bzw. sich selbst beeinflussen (parakrine, bzw. autokrine Wirkung). Diese Metabolisierung „vor Ort“ durch die Zielzelle ist die Grundlage der Intrakrinologie (1;2).

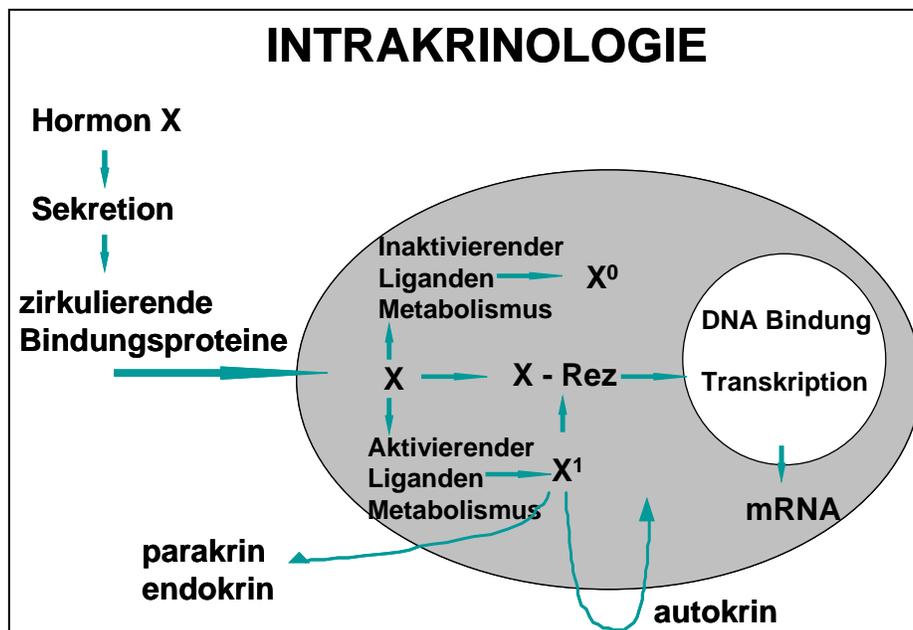


Abb. 1: Prinzip der Intrakrinologie. Aktivierung oder Inaktivierung eines Hormons „vor Ort“ durch die Zielzelle

Mittlerweile gibt es zahlreiche Beispiele für die Relevanz der Intrakrinologie im Bereich der Gluko- und Mineralokortikoide und der Sexualsteroiden (3).

Als exemplarische Beispiele sind die 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenasen und die 5 α -Reduktasen zu erwähnen. Die 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenasen sind Enzyme, die eine wichtige Rolle in der Modifikation der Glukokortikoidwirkung in Zielgeweben spielen. So sind die 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenasen in der Lage, das aktive Glukokortikoid Kortisol in den inaktiven Metaboliten Kortison umzuwandeln. Damit können Gewebe und Zellen die intrazelluläre Kortisolkonzentration kontrollieren und so die Besetzung des Glukokortikoidrezeptors regulieren. Dies ist von entscheidender Bedeutung, da Glukokortikoide über den Glukokortikoidrezeptor in eine Vielzahl von Zellregulationen, wie z.B. Differenzierung und Proliferation, eingreifen (4;5). Eine Steigerung der intrazellulären Kortisolinaktivierung wurde bei einigen Tumorzellen beobachtet, die dadurch die antiproliferativen Wirkung von Glukokortikoiden aufheben (6-8). Die 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 ist auch in der Lage, als Reduktase zu arbeiten und inaktives Kortison in aktives Kortisol umzuwandeln.

5 α -Reduktasen verändern Steroidhormone an Position 5 des A Steroidrings. Durch die Umwandlung von z.B. Testosteron zu 5 α -Dihydro-Testosteron entsteht ein aktiver Metabolit, der eine deutlich höhere Bindung an den Androgenrezeptor besitzt als Testosteron selber. Damit haben die 5 α -Reduktasen, vor allem in den Gonaden, eine wichtige Funktion in der Regulation der Besetzung des Androgenrezeptors und Expression von Androgen-abhängigen Zielgenen.

Veranschaulicht wird das Prinzip der hormonellen Feinregulation durch die Abbildung 2. Während die Nebenniere eine Tageszeit-abhängige Sekretion besitzt, ist jedes Organ individuell in der Lage, den benötigten Spiegel an wirksamen Glukokortikoid Kortisol zu regulieren.

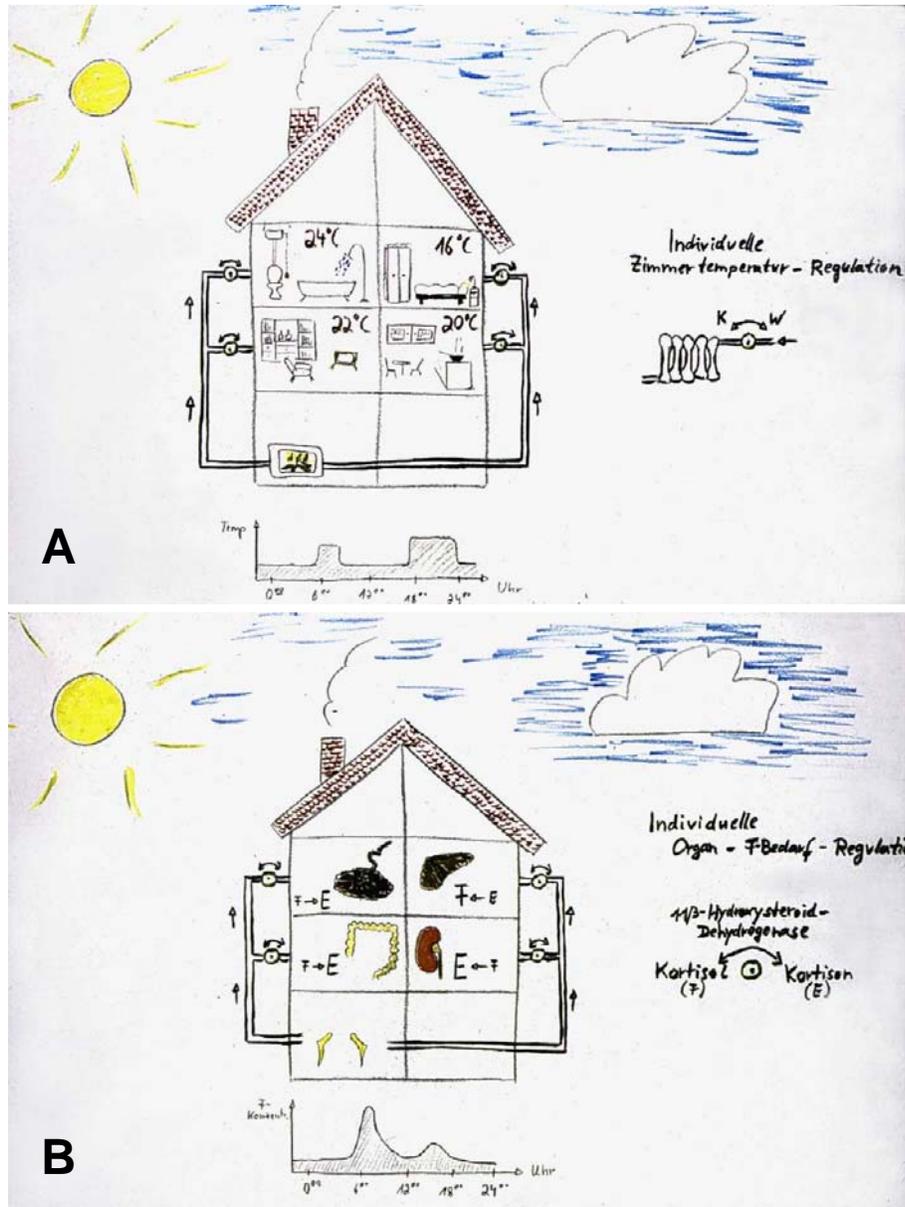


Abb. 2: Prinzip der hormonellen Feinregulation durch einzelne Körperorgane. **A)** Tageszeit-abhängige Temperaturregulation des Heizwassers im Haus mit Feinregulation durch Zimmerthermostate. **B)** Die Nebenniere sezerniert abhängig von der Tageszeit Kortisol (F). Jedes Organ kann durch die 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenasen (= Zimmerthermostat) individuell den benötigten Kortisolspiegel regulieren.

1.2 Aldosteron und der Mineralokortikoidrezeptor

Aldosteron ist das wichtigste Mineralokortikoid bei Säugetieren. Es wird in den Zellen der Zona glomerulosa der Nebenniere gebildet und unterliegt hauptsächlich der Kontrolle durch Angiotensin II, Kalium und ACTH. Die tägliche Produktionsrate liegt bei ca. 100-150 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ und beträgt damit ungefähr ein Hundertstel der Produktionsrate von Kortisol. Aldosteron ist im Blut nur gering an Proteine gebunden, 37% liegen frei vor und können in den Intrazellularraum übertreten (9). Aldosteron wird hauptsächlich in der Leber und Niere durch Reduktion am Steroidring A inaktiviert, dann glukuronidiert und im Urin als Tetrahydro-Aldosteron-3-Glukuronid (30-40%) und Aldosteron-18-Glukuronid (5-15%) ausgeschieden (10). Nur 0,5% werden als freies Aldosteron ausgeschieden. In den Mineralokortikoid-Zielzellen bindet Aldosteron an den Mineralokortikoidrezeptor (MR).

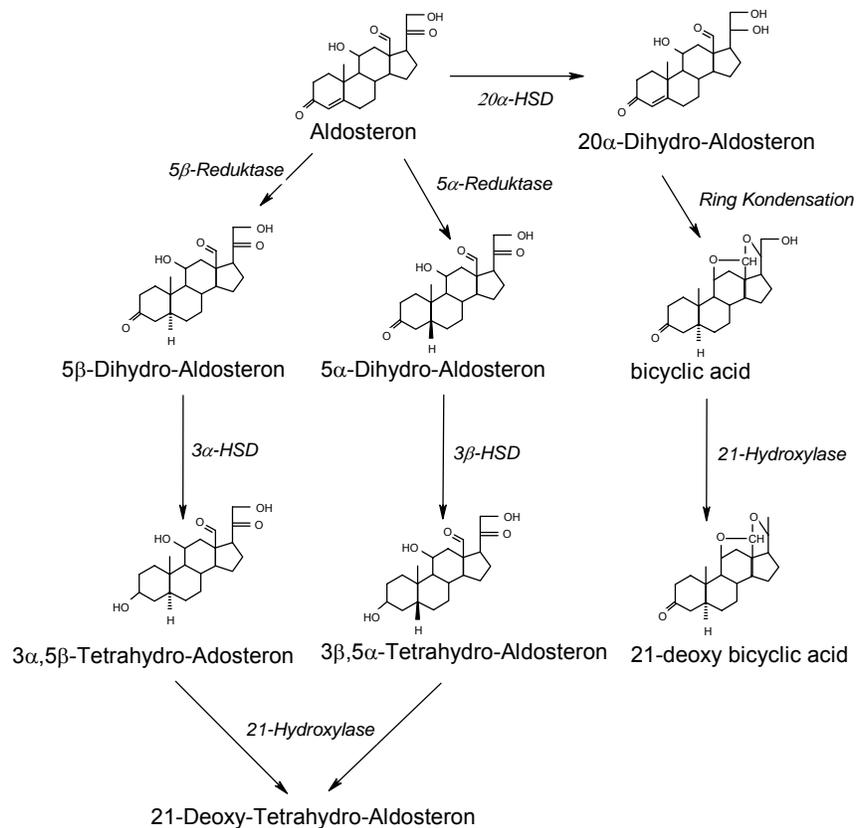


Abb. 3: Aldosteron Metabolismus beim Menschen

Der MR gehört zur Familie der intrazellulär bindenden Hormonrezeptoren (11). Rezeptoren dieser Familie, zu der neben den Rezeptoren für Steroidhormone auch die für Schilddrüsenhormone gehören, stellen aktivierbare Transkriptionsfaktoren dar, die ihre Hormonwirkung durch die Steuerung der Expression von Genen entfalten. Das für den MR kodierende Gen liegt auf Chromosom 4q31.1 – 4q31.2, umfasst 10 Exons über gesamt 400 kb und kodiert für 984 Aminosäuren (12). Exon 2 enthält den Translationsstart. Unterschiedliche Transkriptionen des 5'-ungelesenen Exons bewirken zwei MR mRNA Isoformen, MR α und MR β . Beide Formen werden in den klassischen Zielgeweben exprimiert. Der MR besteht aus vier Domänen, denen spezifische Funktionen und Eigenschaften zugeordnet werden können (11;13). Die N-terminale Domäne stellt eine konstitutiv aktive Transaktivierungsdomäne dar, gefolgt von der DNA-Bindungsdomäne, die über zwei Zink-Finger die DNA-Bindung und die Dimerisierung des Rezeptors vermittelt. Die C-terminal-ständige Ligandenbindungsdomäne (LBD) ist über die Hinge-Region mit der DNA-Bindungsdomäne verbunden. Die LBD besitzt eine komplexe Tertiärstruktur, die sich aus α -Helices und β -Fallblatt-Strukturen zusammensetzt und Funktionen wie die Liganden-Bindung, die Bindung an die Hitzeschockproteine (HSP), die Dimerisierung des Rezeptors, die Wanderung in den Zellkern, sowie die hormonabhängige Transaktivierung vermittelt (14).

Mutationen im MR kodierenden Gen führen entweder zu einem Verlust der Funktion oder zu einer Aktivierung des Rezeptors. So wird die autosomal dominante Form des Pseudohypoaldosteronismus Typ 1 durch heterozygote, inaktivierende Mutationen im MR Gen verursacht und resultiert in Dehydratation, Hyponatriämie, Hypokaliämie, metabolische Azidose und Wachstumsstörung im Neugeborenenalter (15;16). Mutationen in der LBD können zur Konformationsänderung des Rezeptors führen und dadurch eine konstitutionelle Aktivierung des MR und ein verändertes Agonisten/Antagonisten Spektrum verursachen (17). Durch diese Mutation können klassische Antagonisten wie Spironolacton und Progesteron zu reinen Agonisten am MR werden.

Der MR ist im Zytosol im inaktiven Zustand an HSP gebunden (18-20). Nach Aktivierung des MR durch die Bindung des Mineralokortikoids Aldosteron in der LBD, kommt es zu einer Änderung der Konformation, die vermutlich das Abspalten der HSP bewirkt (21). Nach Dimerisierung und Verlagerung des Aldosteron-MR-Komplexes in

den Zellkern bindet der Rezeptorkomplex an cis-ständige DNA-Elemente in der Regulatorregion bestimmter Gene, den sogenannten Hormon-responsiblen Elementen (HRE).

Der MR wird überwiegend in Epithelzellen von Niere, distalem Kolon und Speicheldrüsen exprimiert (20;22-25). Die wesentliche Funktion des Aldosterons und MR in der Niere ist die Regulation des Gleichgewichts im Wasser- und Elektrolythaushalt und die damit verbundene Regulation des Blutdrucks. Die Wirkung von Aldosteron in der klassischen epithelialen Zielzelle (Epithelzellen der Sammelrohre im Mark- und Rindenbereich, im dicken aufsteigenden Teil der Henle'schen Schleife in der Niere und Epithelzellen im Kolon) besteht in einer Steigerung der apikalen Permeabilität für Na⁺-Ionen, wodurch ein Na⁺-Einstrom hervorgerufen wird (26;27). Diese Permeabilitätssteigerung wird durch eine vermehrte Expression, eine gesteigerte Aktivität und einen verminderten Abbau des Amilorid-sensitiven epithelialen Natrium-Kanals (ENaC) erreicht. Auch die für den Natriumgradienten notwendige basolaterale Natrium-Kalium-ATPase und der sogenannte channel-inducing factor (CHIF) sind Zielgene des MR (28-31). Daneben ist auch die Serum- und Glukokortikoid-regulierte Kinase-1 (sgk1), die den Abbau des ENaC über die Phosphorylierung von Nedd4-2 (Ubiquitin-protein ligase neural precursor cell-expressed, developmentally downregulated gene 4 isoform) reguliert, ebenfalls ein Ziel der Aldosteronwirkung (32). Eine verstärkte MR Aktivierung, wie sie beim Hyperaldosteronismus gesehen wird, führt über eine Aktivierung der erwähnten Zielgene zu einer verstärkten Natrium- und Wasserresorption und damit zur Entwicklung eines Bluthochdrucks (25;33-36).

Jedoch wird der MR in zahlreichen, teils auch nicht-epithelialen Geweben gefunden, wie z.B. im Gehirn und in Myozyten des Herzens (37;38). Die Funktion des MR in diesen Geweben ist jedoch zum Großteil noch unklar. Es gibt jedoch Hinweise, dass Aldosteron in diesen Geweben andere Gene reguliert als in klassischen epithelialen Geweben. So modifiziert Aldosteron in nicht-epithelialen Zellen die Expression von mehreren an der Kollagensynthese beteiligten Genen und von Genen, die Gewebewachstumsfaktoren regulieren, z.B. den transformierenden Wachstumsfaktor β (TGF- β) oder den Plasminogen aktivierenden Inhibitor (PAI-I) (39;40). Beim Menschen konnte kürzlich in zwei großen Studien ein protektiver Effekt durch die Gabe von MR-Antagonisten bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz oder

linksventrikulärer Dysfunktion nach Herzinfarkt gezeigt werden (41-43). Dies unterstützt die Hypothese, dass der MR in nicht-epithelialen Geweben, wie dem Herz, eine andere Wirkung hat als die Wasser- und Elektrolytregulation in epithelialen Zellen.

1.2.1 Mechanismen der Natriumresorption in der Niere

Die Nieren spielen eine bedeutende Rolle in der Regulation des Blutdruckes (44). Das kortikale distale Nephron ist der Ort der Feinregulation der Wasser- und Salzausscheidung, die durch Peptide und Mineralokortikoide gesteuert wird. Hier setzen auch die Wirkungen von mehreren Diuretika an (45-48). Beim Menschen sind einige Veränderungen im Blutdruck mit Mutationen von Genen assoziiert, die für Salz- und Wassertransport regulierende Proteine im distalen Nephron kodieren (49). Diese Beobachtungen belegen die wichtige physiologische Aufgabe dieses Nephronabschnittes und ihre Rolle bei der Entstehung von Krankheiten, vor allem des Bluthochdruckes (50). Die apikale Salzaufnahme im distalen Nephron wird durch vier Mechanismen vermittelt (44;51): im dicken aufsteigenden Teil der Henle'schen Schleife durch den Furosemid-sensitiven Na-K-Cl Kotransporter (NKCC2), im distalen konvoluten Tubulus durch den Thiazid-sensitiven Na-Cl Kotransporter (NCC) und durch den Amilorid-sensitiven epithelialen Natriumkanal (ENaC), und der epitheliale Na-Ca-Austauscher (ECaC1) (52). In den Sammelrohren erfolgt eine Vasopressin-regulierte Wasserresorption über die Aquaporin 2 Kanäle (AQP2) (53;54).

1.2.2 Epithelialer Natriumkanal

Ein wichtiger Faktor in der Kontrolle der Natrium- und Wasserresorption und damit des Blutdrucks ist die Expression und Aktivität des Amilorid-sensitiven epithelialen Natriumkanal (ENaC). Es wird vermutet, dass dieser Kanal aus drei Untereinheiten zusammengesetzt ist: zwei α -Untereinheiten, und jeweils eine β - und γ -Untereinheit. Die Untereinheiten haben eine ähnliche Struktur, werden aber auf unterschiedlichen Genorten kodiert (55). Die α -Untereinheit bewirkt schon wenn sie alleine exprimiert wird einen Natriumtransport über das Epithel. Diese Eigenschaft haben die β - und γ -Untereinheiten nicht. Werden jedoch in einer Epithelzelle alle drei Untereinheiten exprimiert, so wird der Natriumtransport des Kanals deutlich gesteigert (56).

Die Schlüsselrolle des ENaC in der Blutdruckregulation wird deutlich an den bekannten seltenen genetischen Erkrankungen, die diesen Kanal betreffen: Patienten mit Liddle Syndrom haben Mutationen in der kodierenden Region für das sogenannte PY-Motiv der β - und γ -Untereinheit. Diese Region ist notwendig für die Bindung des Nedd4-2 Proteins, das den ENaC internalisiert und der Degradation zuführt (Abbildung 4). Durch die Mutation ist der Abbau nicht mehr möglich und eine vermehrte Anzahl von ENaC verbleiben in der apikalen Membran und führen zu einer unkontrollierten Natriumresorption mit nachfolgendem Bluthochdruck (57). Patienten mit der autosomal rezessiven Form des Pseudohypoaldosteronismus Typ 1 zeigen hingegen einen erniedrigten Blutdruck und Elektrolytstörungen im Rahmen eines Salzverlust-Syndroms. Dieses wird durch inaktivierende Mutationen in den Genen, die für die α -, β -, oder γ -Untereinheit kodieren, verursacht (58). Vermutlich führen genetische Variationen (A(2139)G Polymorphismus) im SCNN1A Gen, das für die α -Untereinheit des ENaC kodiert, zu einem erhöhten Risiko eine Hypertonie zu entwickeln (59-63).

Die drei Untereinheiten des ENaC werden unterschiedlich in verschiedenen Geweben reguliert. In der Niere und in Zelllinien renalen Ursprungs bewirkt das Mineralokortikoid Aldosteron einen Anstieg der mRNA der α -Untereinheit des ENaC, nicht jedoch der β - und γ -Untereinheit. Dagegen induziert Aldosteron im Kolon die β - und γ -Untereinheiten (63-65). Glukokortikoide erhöhen die α ENaC mRNA Expression in Lunge, Niere und Kolon, aber die β - und γ -Untereinheiten mRNA Expression nur in der Lunge und im Kolon, nicht jedoch in der Niere (66).

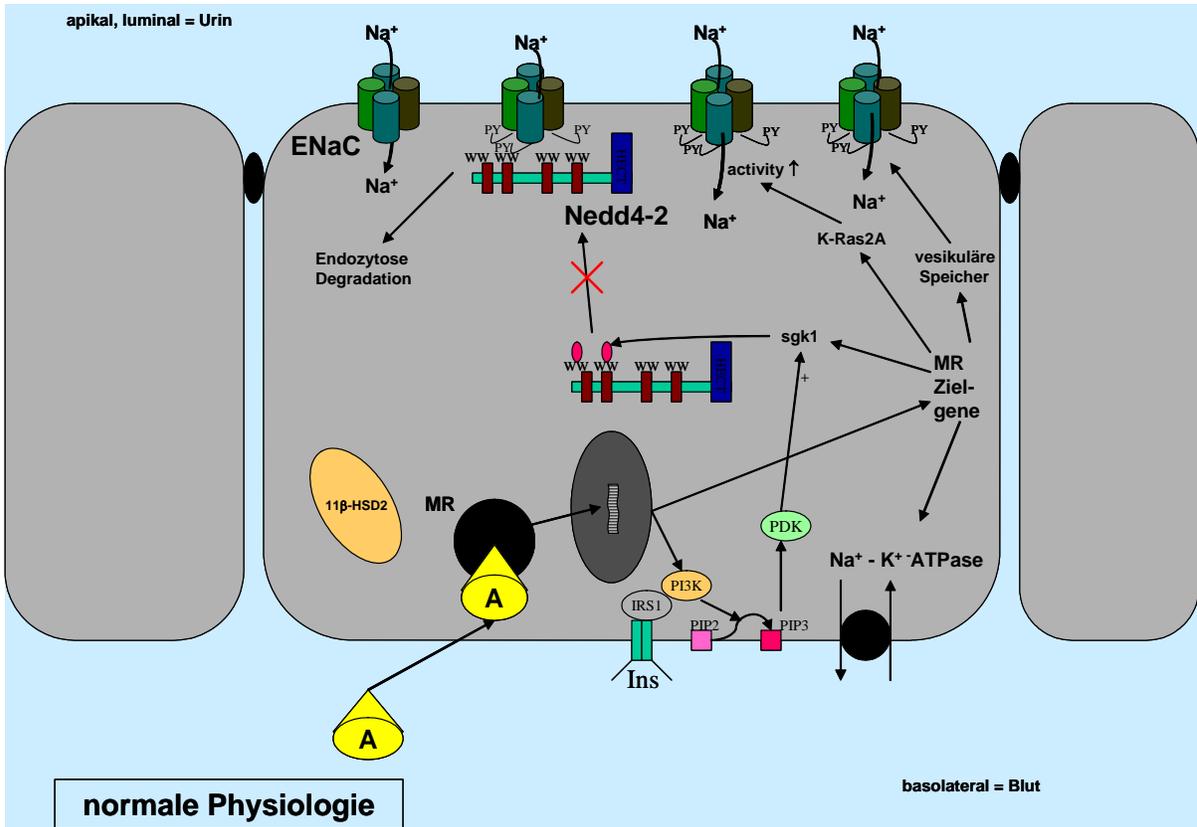


Abb. 4: Schematische Darstellung der Regulation des epithelialen Natriumkanals (ENaC). An den durch die 11 β -HSD2 geschützten Mineralokortikoidrezeptor (MR) bindet das Mineralokortikoid Aldosteron (A). Der A-MR Komplex bindet an Hormon responsive Elemente der DNA und erhöht die Transkription von Zielgenen, z.B. des ENaC, der basolateralen Natrium-Kalium (Na^+/K^+) ATPase und der sgk1. Sgk1 kann Nedd4-2 phosphorylieren und dadurch inaktivieren. Nedd4-2 ist notwendig für die Endozytose und Degradation von ENaC. Sgk1 wird auch über den IRS1 und via PI 3-Kinase und PDK reguliert.

1.3 Kortisol und der Mineralokortikoidrezeptor

Wenn der MR in einem *in vitro* System exprimiert wird, zeigt der MR keine spezifische Affinität und Bindung nur für das Mineralokortikoid Aldosteron allein. Auch das Glukokortikoid Kortisol bindet mit ähnlicher Affinität wie Aldosteron an den MR (10). Dabei zeigt Kortisol eine sogar 10-fach höhere Affinität zum MR als zum Glukokortikoidrezeptor (GR) (12). Weiterhin zeigt Kortisol in mit MR transfizierten Affennierenzellen eine deutliche agonistische Aktivität am MR (67;68). Damit ist Kortisol ein MR-Agonist.

Diese Beobachtung ist sehr überraschend, da Kortisol im Plasma in ca. 100-fach höherer Konzentration vorkommt als Aldosteron: die gesamte Kortisolkonzentration beträgt 80-600 nmol/l, davon sind ca. 10-50 nmol/l ungebunden; die gesamte Aldosteronkonzentration beträgt 0,1-0,6 nmol/l, davon sind ca. 0,06 – 0,3 pmol/l ungebunden. Bei diesen Konzentrationsunterschieden würde man *in vivo* eine fast vollständige Besetzung des MR mit dem Glukokortikoid Kortisol erwarten – dies ist aber nicht der Fall.

Dieser scheinbare Widerspruch konnte durch die Entdeckung des Enzyms 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 2 (11 β -HSD2) gelöst werden (69-71). Dieses Enzym wird in den Zielzellen des MR, z.B. den Epithelzellen der Sammelrohre und des dicken aufsteigenden Teil der Henle'schen Schleife der Niere, mit dem MR koexprimiert (72;73). Das Enzym liegt wie eine Barriere vor dem MR und inaktiviert Kortisol in das nicht an den MR bindende Kortison (74;75). Damit ist die Selektivität des MR nicht Rezeptor- sondern überwiegend Enzym-vermittelt. Das Enzym hat einen K_m -Wert im nanomolaren Bereich für Glukokortikoide, benutzt bevorzugt NAD⁺ als Kosubstrat und ist in der Membran des endoplasmatischen Retikulums lokalisiert, wobei die katalytische Domäne im Zytoplasma liegt (76). Wird die 11 β -HSD2 gehemmt oder nicht exprimiert, entfällt die Inaktivierung von Kortisol, und das Glukokortikoid kann ungehindert an den MR binden und eine Transaktivierung bewirken (77).

Aldosteron wird nicht durch dieses Enzym metabolisiert, da Aldosteron eine Aldehydgruppe an Position 18 des Steroidgerüsts aufweist, die einen 11,18 oder 11,18,20-Hemiacetal Ring bilden kann.

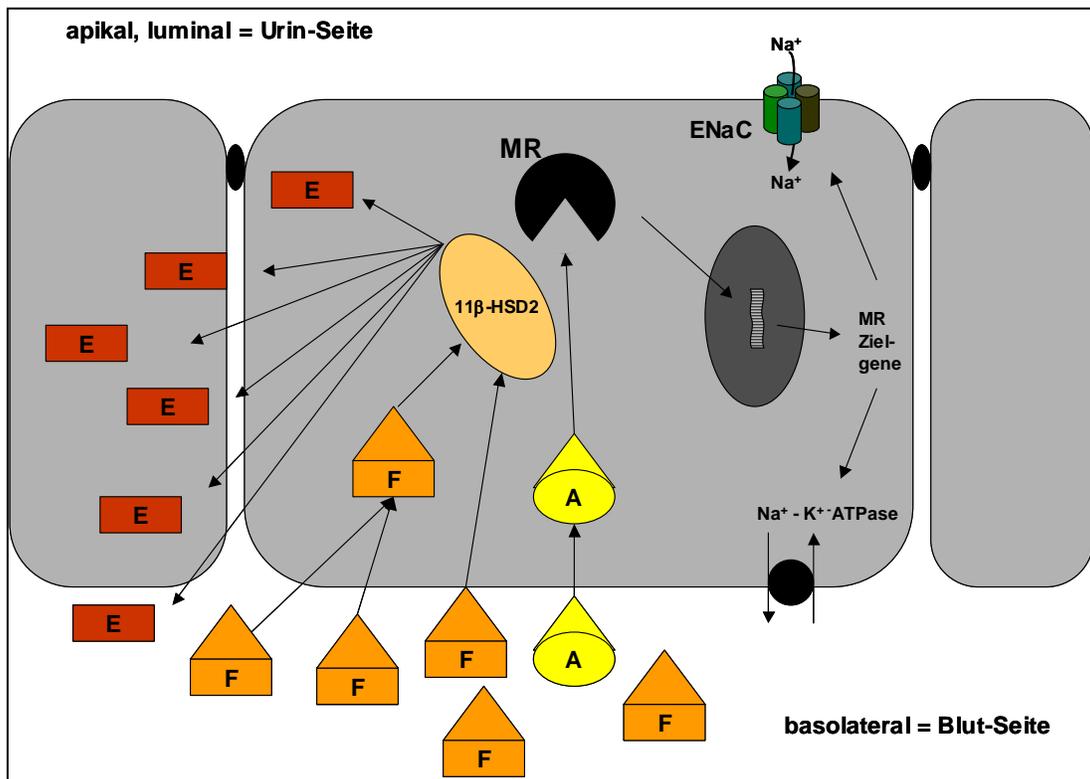


Abb. 5: Prinzip der Schutzfunktion der 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 2 (11 β -HSD2). Kortisol (F) wird durch die 11 β -HSD2 in Kortison (E) umgewandelt, das nicht an den Mineralokortikoidrezeptor (MR) binden kann. Damit kann Aldosteron (A) ungehindert an den MR binden und Zielgene, wie den epithelialen Natriumkanal (ENaC) und die Natrium-Kalium-ATPase, regulieren.

Das andere 11 β -HSD Isoenzym, die 11 β -HSD1, wird in vielen Geweben, aber vor allem in der Leber, im Fettgewebe, Knochen und Auge exprimiert, und funktioniert *in vivo* überwiegend als Reduktase, d.h. es aktiviert Kortisol aus dem inaktiven Kortison. Dabei hat es einen K_m -Wert im μ molaren Bereich für Glukokortikoide, benutzt $NADP^+/NADPH$ als Kosubstrat und sitzt ebenfalls in der Membran des endoplasmatischen Retikulums, aber mit Ausrichtung der katalytischen Domäne in das Lumen des endoplasmatischen Retikulums (78). In enger räumlicher Nähe im Lumen

des endoplasmatischen Retikulums befindet sich die Hexose-6-Phosphat-Dehydrogenase, die das Kosubstrat NADPH für die 11 β -HSD1 bereitstellt (78).

Ein geringer Teil der zirkulierenden Kortisonkonzentrationen wird durch die Nebennieren produziert (79), der größte Teil entsteht jedoch durch die Oxidation aus Kortisol durch die 11 β -HSD2. Dabei ist die Niere der größte Produzent von Kortison. Plasma Kortisonkonzentrationen betragen nur ca. 1/5 der von Kortisol, da aber Kortison eine deutlich niedrigere Plasmaproteinbindung hat, entsprechen die freien Kortisonkonzentrationen denen des freien Kortisols (80).

Damit übernimmt die 11 β -HSD1 die Feinregulation der Okkupanz des Glukokortikoid-Rezeptors durch Steuerung der intrazellulären Kortisolkonzentrationen. Es hat damit einen direkten Einfluß auf die Regulation der Genexpression verschiedener Enzyme in der Leber, z.B. der Glukoneogenese (Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, Glukose-6-Phosphat Dehydrogenase) (76;81;82), und in Fettzellen, z.B. des Fettsäure-Stoffwechsels (Lipoprotein-Lipase, Glycerol-3-Phosphat-Dehydrogenase). Eine veränderte 11 β -HSD1 Aktivität oder ein verändertes Gleichgewicht zwischen Reduktion und Oxidation wird bei zahlreichen Erkrankungen, wie z.B. Glaukom, Fettleibigkeit und polyzystischen Ovar-Syndrom vermutet (78;83-85); und ist in die Regulation der hepatischen Glukoseproduktion und der stammbetonten Adipositas involviert (82).

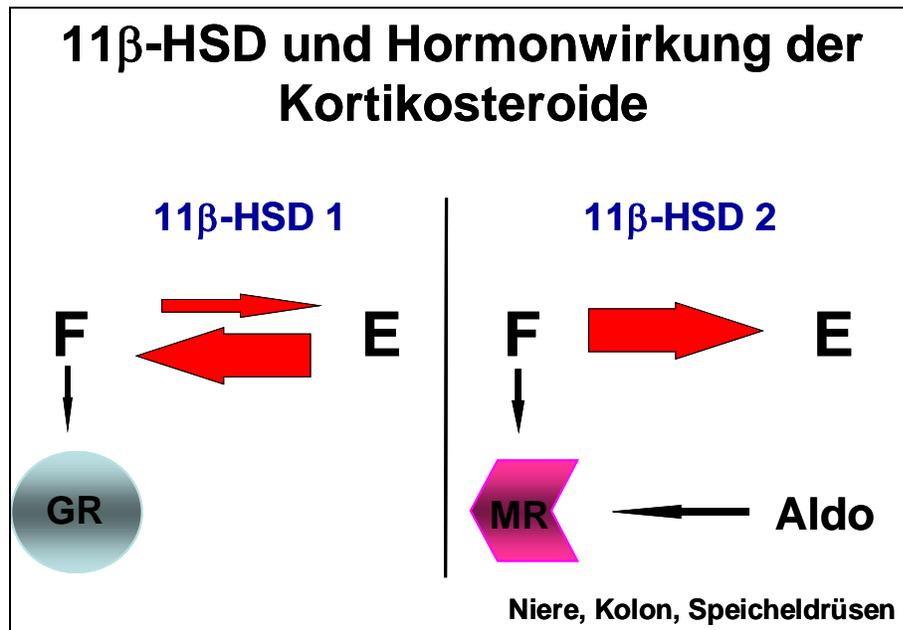


Abb. 6: Funktion der 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenasen (11 β -HSD). F = Kortisol, E = Kortison, Aldo = Aldosteron, GR = Glukokortikoidrezeptor, MR = Mineralokortikoidrezeptor

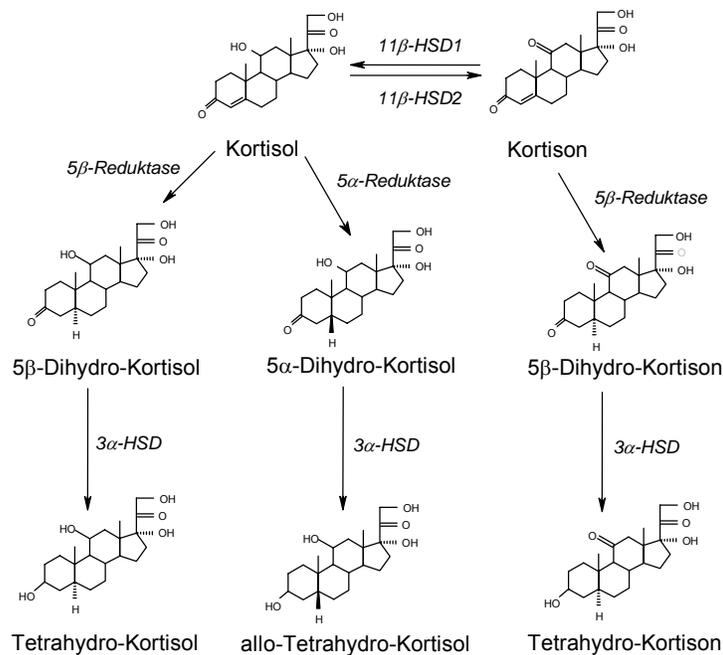


Abb. 7: Hauptwege des Kortisolabbaus beim Menschen. HSD = Hydroxysteroid Dehydrogenase.

1.3.1 Apparentes Mineralokortikoid Exzess (AME) Syndrom

In den frühen 70er Jahren wurden mehrere Kinder beschrieben, die klinische Zeichen eines Hypermineralokortisolismus zeigten, wie Hypokaliämie, niedriges Plasma-Renin, Bluthochdruck und Schwäche. Dabei fanden sich keine erhöhten Plasmakonzentrationen von Aldosteron oder Deoxykortikosteron (86). Daher wurde dieses Syndrom Apparentes Mineralokortikoid Exzess (AME) Syndrom genannt. Es zeigte sich eine verlängerte Halbwertszeit von Kortisol (120-190 min im Vergleich zu 70-90 min bei Gesunden) und ein erhöhter Urinquotient von Kortisol-Metaboliten über Kortison-Metaboliten (87-90). Schließlich konnte gezeigt werden, dass das AME Syndrom rezessiv vererbt wird und durch Mutationen im HSD11B2 Gen, das für die 11 β -HSD2 kodiert, verursacht wird (91). Bei diesen Patienten kann durch eine defekte 11 β -HSD2 Kortisol nicht in Kortison inaktiviert werden, und Kortisol kann somit an den MR binden und ihn aktivieren. Die Konversion von Kortison zu Kortisol durch die 11 β -HSD1 ist beim AME Syndrom nicht eingeschränkt. Die Patienten haben keine klinischen Zeichen eines Cushing-Syndroms, da reaktiv die Kortisolproduktion in der Nebenniere über ein intaktes Rückkopplungssystem der Hypophysen-Nebennieren-Achse gedrosselt wird. Die betroffenen Patienten fallen meist in der Kindheit oder Neugeborenenalter durch niedriges Geburtsgewicht, Antriebsschwäche, Minderwuchs, schweren und oft fatalen Bluthochdruck mit hypokaliämischer Alkalose auf (92). Die schwerwiegende Hypertonie ist mit Endorganschäden der Retina, Niere, des zentralen Nervensystems und des kardiovaskulären System, einschließlich einer linksventrikulären Hypertrophie verbunden. Biochemische Besonderheiten umfassen eine supprimierte Plasma-Reninaktivität, nicht nachweisbare Aldosteronkonzentrationen und eine Hypokaliämie. Der Urinquotient (Tetrahydro-Kortisol + allo-Tetrahydro-Kortisol)/Tetrahydro-Kortison wurde aus historischen Gründen bis heute von vielen Arbeitsgruppen als Indikator der 11 β -HSD2 der Niere verwendet. Er reflektiert jedoch eher die gesamte 11 β -HSD Aktivität des Organismus, von dem die 11 β -HSD1 in der Leber einen großen Teil ausmacht. Heute empfiehlt sich zur Evaluierung der 11 β -HSD2 der Niere den Quotienten von freiem Kortisol zu freiem Kortison im Urin zu bestimmen (93). Beim AME Syndrom findet sich im Urin fast kein freies Kortisol (94) und daraus resultiert ein hoher Urinquotient freies Kortisol/freies Kortison.

Das wichtigste Therapieziel bei Patienten mit AME Syndrom ist die Blutdrucksenkung und Verhinderung der Hypokaliämie. In vielen Fällen wurde Dexamethason erfolgreich angewendet. Gelegentlich sind zusätzliche antihypertensive Medikamente indiziert. Weitere erfolgreiche Behandlungskonzepte beinhalten die Gabe von Triamteren und/oder Amilorid. Thiazid-Diuretika sollten bei Hyperkalziurie und/oder Nephrokalzinose verwendet werden. Der Erfolg des MR Antagonisten Spironolacton war bisher nicht überzeugend, da sehr hohe Dosen notwendig sind, um die Wirkung von Kortisol am MR zu blocken. Ein Patient wurde durch eine Nierentransplantation geheilt (95).

Durch die Identifizierung und Sequenzierung des HSD11B2 Gens konnten die Mutationen bei Patienten mit AME Syndrom gefunden werden. Die HSD11B2 liegt auf Chromosom 16q22, besteht aus fünf Exons und reicht über 6,2 kb. Bisher wurden fast 40 verschiedene Mutationen in über 60 Familien identifiziert (96-99). Das AME Syndrom findet sich gehäuft in Familien und Gesellschaften, in denen Heiraten zwischen Verwandten vorkommen, oder die nicht ausserhalb ihrer engen Gesellschaft oder Sippe heiraten (Endogamie) (90;97;100;101). Die meisten Patienten sind homozygot für Mutationen, die entweder einen teilweisen oder vollständigen Verlust der 11 β -HSD2 Aktivität verursachen. Der Phänotyp einer Mutation, gemessen am Urinquotienten, dem Serumkalium und Blutdruck, korreliert gut mit dem Genotyp (102). Eine Mutation der HSD11B2, die zu einem vollständigen Aktivitätsverlust der 11 β -HSD2 führt, geht mit schweren, lebensbedrohlichen Symptomen schon im frühesten Kindesalter einher. Dagegen führen Mutationen, die nur einen teilweisen Aktivitätsverlust der 11 β -HSD2 verursachen, mit abgeschwächten Symptomen im Erwachsenenalter einher (90). Abbildung 8 gibt einen Überblick über die bisher bekannten Mutationen.

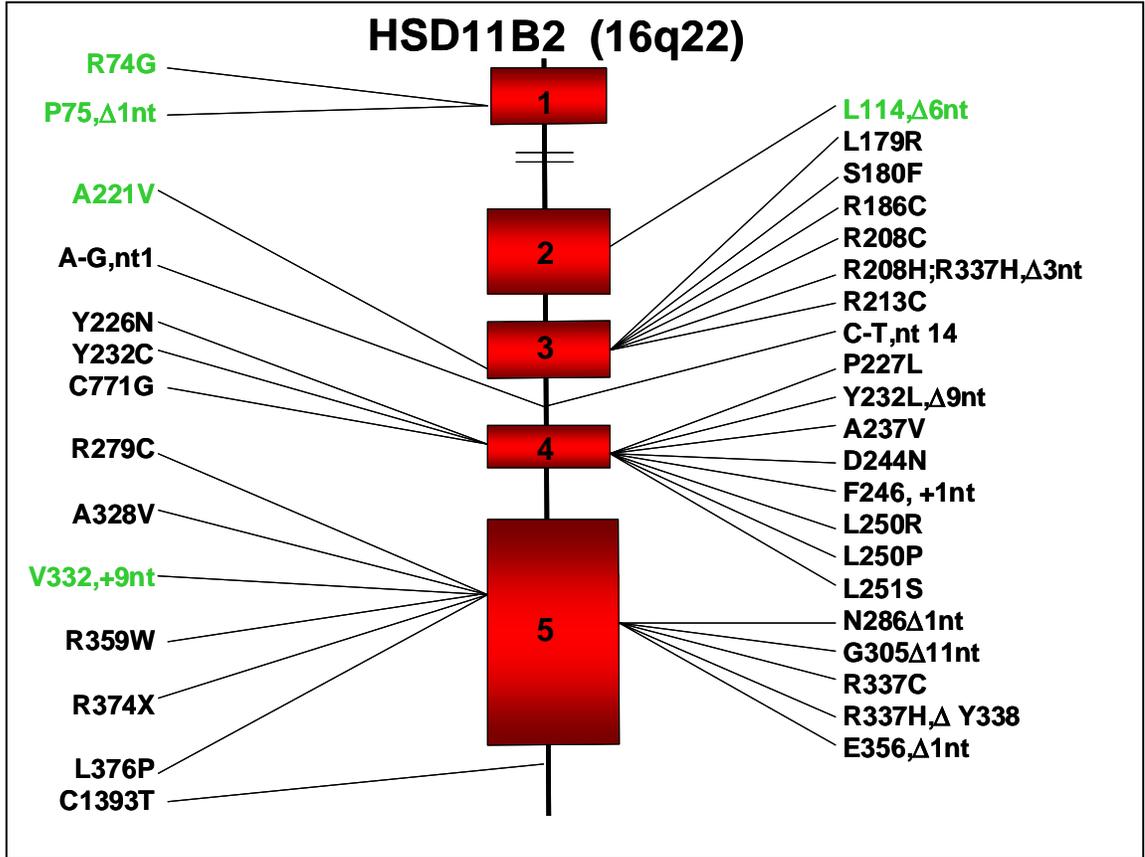


Abb. 8: Bisher bekannte Mutationen des HSD11B2 Gens, die für das AME Syndrom verantwortlich sind. Rote Balken repräsentieren die Exons. Grün hinterlegte Mutationen kennzeichnen die von uns identifizierten Mutationen bei Patienten aus dem Oman (103), die in dieser Habilitationsschrift erläutert werden.

1.3.2 Lakritzkonsum

Lakritze wird in der Medizin schon seit mehreren tausend Jahren verwendet, aber ihre mineralokortikoiden Effekte wurden erst um 1950 beschrieben (104). Die wirksamen Inhaltsstoffe sind Glycyrrhetinsäure und das Glukuronid Glycyrrhizin. Sie haben eine geringe Affinität zum MR (70;105), sind aber sehr potente kompetitive Inhibitoren der 11β-HSD Isoenzyme (106;107). Bei einem täglichen Konsum von 200 bis 400mg Glycyrrhetinsäure (108), entsprechend ca. 50-200g normalem Lakritz-Konfekt (70;108-

110), kommt es zum Blutdruckanstieg, zur Suppression von Plasma-Reninaktivität und Plasma-Aldosteron, zur Hypokaliämie und zum Anstieg des Urinquotienten freies Kortisol/freies Kortison als Ausdruck einer gehemmten 11β -HSD2 (111). In Europa wird Lakritze überwiegend in Form von Süßigkeiten konsumiert; in Amerika findet es sich als Zusatz auch in Kaugummis und Kautabak. Carbenoxolon, das Hemisuccinat der Glycyrrhetinsäure, wurde früher als Therapeutikum für Magengeschwüre eingesetzt und führte zu den gleichen Nebenwirkungen (Hypertonie, Hypokaliämie, Ödeme und Kurzatmigkeit). Die durch Lakritz verursachte erworbene, leichtere Form des AME Syndrom ist durch Befragung in der Anamnese herauszufinden, und meist nach Beendigung des Lakritzkonsums reversibel.

1.3.3 Ektopes ACTH Syndrom

Ein charakteristisches Kennzeichen des ektopen Cushing-Syndroms (= ektopes ACTH-Syndrom) ist eine hypokaliämische Hypertonie im Sinne eines Mineralokortikoid-Hochdrucks (112). Bei der hypophysären und adrenalen Form des Cushing-Syndroms tritt eine Hypokaliämie deutlich seltener auf und der Hypertonus ist häufig weniger schwer ausgeprägt. In der endokrinologischen Diagnostik findet man beim ektopen ACTH-Syndrom im Vergleich zum hypophysären Cushing-Syndrom meist höhere ACTH-Konzentrationen und eine Erhöhung des Kortisol/Kortison-Quotienten im Serum (113) und im Urin (112). Studien an gesunden Probanden zeigten, dass nur durch ACTH-Infusionen, aber nicht durch Hydrokortison (=Kortisol) -Infusionen, es zum Anstieg des Kortisol/Kortison-Quotienten im Serum (114) und Urin (115) kommt. Durch diese Versuche wurde vermutet, dass eine Hemmung der 11β -HSD2 durch ACTH selbst oder durch ein ACTH-abhängiges Steroid dieser Beobachtung zugrunde liegt.

1.3.4 Essentielle Hypertonie

Eine verminderte 11β -HSD2 Aktivität ist für eine vermehrte Natriumresorption bei manchen Krankheitsbildern verantwortlich, so z.B. bei Präeklampsie, Nierenerkrankungen und Leberzirrhose. Die 11β -HSD2 spielt als Prä-Rezeptor-

Regulator eine Schlüsselfunktion in der Regulation der Natriumhomeostase und in der Pathophysiologie der Hypertonie. Polymorphismen im HSD11B2 Gen können teilweise die Salzempfindlichkeit, ein Vorläufer der Hypertonie bei Erwachsenen, erklären (116;117). Kurze Mikrosatelliten Allele sind bei Patienten mit Salzempfindlichkeit häufiger als bei Patienten, die unempfindlich gegenüber Salzeinnahme sind. Klinische Studien konnten zeigen, dass einige hypertensive Patienten eine verlängerte Kortisol-Halbwertszeit oder ein verändertes Kortisolmetabolismus-Muster im Urin haben (118). Linkage-Studien versuchen eine Verbindung zwischen verminderter 11 β -HSD2 und Bluthochdruck zu finden. Eine polymorphe Restriktionsstelle im Exon 3 der HSD11B2 zeigte eine Assoziation mit hypertensiver terminaler Niereninsuffizienz (119;120), jedoch fanden andere Studien keine direkte Assoziation mit Hypertonie (121).

Neben der 11 β -HSD2 Aktivität in der Niere könnte auch eine veränderte 11 β -HSD2 Aktivität in den glatten Muskelzellen einen Einfluss auf die Bluthochdruck-Entstehung haben (122). Topische Gabe von Glukokortikoiden auf die Haut führt zu einer Vasokonstriktion der Arteriolen (123;124). Dieser Effekt wird durch die zusätzliche Gabe von 11 β -HSD2 Inhibitoren noch verstärkt, und steigert die Empfindlichkeit für Angiotensin II und Phenylephrin (121;125-127). Dies belegt eine wichtige Funktion der 11 β -HSD2 in der Regulation des Gefäßtonus (128).

1.3.5 Niereninsuffizienz

Die menschliche Niere ist das Hauptorgan der Konversion von Kortisol in Kortison (129). Patienten mit chronischem Nierenversagen haben eine verlängerte Plasmakortisol Halbwertszeit (128;130), und die Plasmakortison Konzentration ist bei Patienten mit Nierenerkrankungen vermindert (131). Plasmakortisol bleibt jedoch durch den negativen Rückkopplungsmechanismus mit verminderter Sekretion unverändert. Eine verminderte 11 β -HSD2 Aktivität, mit vermehrter Bindung von Kortisol an den MR, bei Patienten mit Nierenerkrankung könnte eine Erklärung für die vermehrte Natrium- und Wasserresorption sein (132).

1.4 Antimineralokortikoide Wirkung von Progesteron

Progesteron bindet im *in vitro* System mit höherer Affinität an den MR als das Mineralokortikoid Aldosteron (9;10;12). Progesteron besitzt aber eine geringe Fähigkeit den MR zu aktivieren und ist daher ein MR-Antagonist (133). In der Lutealphase des Menstrualzyklus und in der Schwangerschaft steigt die Progesteronkonzentration deutlich an, und erreicht 30-110 nmol/l in der Lutealphase und bis zu 700 nmol/l im dritten Trimenon. Im Gegensatz dazu steigt Aldosteron nur verhältnismässig geringfügig an. In der Lutealphase werden Aldosteronkonzentrationen von 0,6 bis 0,9 nmol/l, in der Schwangerschaft Konzentrationen bis 5,8 nmol/l erreicht. Progesteron übersteigt somit die Aldosteronkonzentration um das 50- bis 100-fache. Theoretisch würde Progesteron in Situationen mit hohen Progesteron-Konzentrationen Aldosteron leicht vom MR verdrängen (134). Ob dies wirklich der Fall ist, oder wie Aldosteron in diesen Situationen weiterhin an den MR binden kann, bzw. wie Progesteron vom Rezeptor ferngehalten werden kann, war bisher nicht bekannt.

1.4.1 Klinische Studien

Der antimineralokortikoide Effekt von Progesteron *in vivo* zeigt sich anhand der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems während der normalen Schwangerschaft mit einem Anstieg der Aldosteronkonzentration. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron System wird durch weitere Faktoren beeinflusst um den Körper an die neuen Umstände in der Schwangerschaft zu adaptieren: So steigt die Plasma-Reninaktivität (PRA) an und Angiotensinogen (Plasma-Reninsubstrat) wird direkt in der Leber durch die steigenden Östrogen-Konzentrationen vermehrt produziert (135;136).

Zwei weitere Beobachtungen weisen auf die antimineralokortikoide Wirkung von Progesteron hin:

1) Schwangere Frauen mit einer Nebennierenrinden-Insuffizienz benötigen während der Schwangerschaft höhere Dosierungen an 9α -Fluorokortisol, dem synthetischen Mineralokortikoid. Dies ist notwendig, um den Blutdruck und das Serumkalium im Normbereich zu halten (135;137).

2) Bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus normalisiert sich während einer Schwangerschaft der Blutdruck und das Serumkalium. Nach Geburt des Kindes,

und mit Absinken der hohen Progesteronkonzentrationen, steigt der Blutdruck wieder an und das Serumkalium fällt ab (134), als Ausdruck der Überproduktion von Aldosteron.

Bei den ersten klinischen Studien mit Progesteron wurden sehr hohe Dosen Progesteron verabreicht, meist intramuskulär, und häufig nur die Elektrolytausscheidung im Urin gemessen. So konnte gezeigt werden, dass unter einer Progesterongabe die Natriumausscheidung im Urin deutlich anstieg (138;139). In einer frühen Studie zeigte Laidlaw et al. ebenfalls den anti-mineralokortikoiden Effekt von Progesteron. Ein junger Patient mit einem Aldosteron-produzierenden Adenom der Nebenniere erhielt vor der Operation hohe Dosen (200mg) Progesteron intramuskulär (140). Darunter kam es zu einem Absinken des systolischen und diastolischen Blutdrucks, einem Anstieg des Serumkaliums und zu einem Anstieg der Natriumausscheidung im Urin. Nach Beendigung der Progesteron-Behandlung traten die Symptome des Hyperaldosteronismus wieder auf. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass eine Progesteron-Behandlung zu einem Anstieg der Plasma-Reninaktivität und einer vermehrten Aldosteron-Ausscheidung führte (141;142). Da in diesen Studien häufig sehr hohe Dosen Progesteron verabreicht wurden und keine Plasmakonzentrationen von Progesteron gemessen wurden, ist die exakte anti-mineralokortikoide Wirkung von Progesteron *in vivo* nicht bekannt.