

Thomas Schell
Dr. med.

Charakterisierung und Regulation der 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase der Nebennierenrinde des Rindes

Geboren am 05.04.1970 in Heilbronn
Reifeprüfung am 26.04.1989
Prüfung zum Bankkaufmann am 28.06.1991
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991/92 bis WS 1997/98
Physikum am 24.08.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 15.05.1998 an der Universität Heidelberg
Tätigkeit als Associate bei McKinsey&Company, Inc., Düsseldorf 01.08.98-30.06.99
Tätigkeit als Arzt im Praktikum (AiP) am Bethanien-Krankenhaus, Heidelberg, seit 01.07.99

Promotionsfach: Frauenheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Th. Rabe

Ziel dieser Doktorarbeit war die Charakterisierung und Regulation der 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase der Nebenniere des Rindes hinsichtlich der Entstehung von Androgenisierungserscheinungen bei der Frau.

Die Nebennierenrinde spielt bei der Produktion von Steroidhormonen eine herausragende Rolle; neben Mineralo- und Glukokortikoiden produziert sie auch in großen Mengen Androgene, beispielsweise das DHEA-Sulfat. Bei einem Defekt der 3 β -HSDH stauen sich im Serum Androgenpraekursoren an, die in extraadrenalen Geweben zu Androstendion, Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron metabolisiert werden können. Durch diesen Androgenüberschuß kann je nach genetischer Disposition eine Androgenisierung entstehen.

Untersucht wurde die mitochondriale 3 β -HSDH, welche ebenso wie das Cytochrom P₄₅₀ v.a. im Bereich der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist. Durch das StAR-Protein (steroidogenic acute regulatory protein) wird Cholesterin zur inneren Mitochondrienmembran transportiert, dort mittels Cytochrom P₄₅₀ zu Pregnenolon umgesetzt und schließlich durch die 3 β -HSDH zu Progesteron konvertiert. Als weitere Substrate setzt die 3 β -HSDH DHEA bzw. 17 α -Hydroxypregnenolon zu Androstendion bzw. 17 α -Hydroxyprogesteron um. Die Bestimmung der Enzymaktivität erfolgte durch dünnschichtchromatographische Trennung des Substrats [7-³H(N)]-Pregnenolon von seinem Produkt Progesteron bzw. des Substrats [1,2,6,7-³H(N)]-DHEA von seinem Produkt Androstendion und anschließende Konzentrationsbestimmung mittels eines Szintillationszählers. Zur Gewinnung der 3 β -HSDH wurde ein Gewebehomogenat aus Rindernebnieren hergestellt (Proteinkonzentration 7,6 mg/ml).

Der K_m-Wert der beiden Substrate beträgt 0,13 μ M für Pregnenolon und 0,11 μ M für DHEA. Die K_m-Werte liegen damit, verglichen mit den Werten anderer Autoren (bei unterschiedlicher Herkunft (Spezies) und Lokalisation (Organ) der 3 β -HSDH), im unteren Bereich.

Die Aktivität der 3 β -HSDH ist temperaturabhängig: von 25°C bis 35°C steigt sie leicht an und fällt dann linear ab (bei 50°C unter 20% des Maximalwertes). Ein pH-Optimum liegt bei pH > 9 vor; von pH 6 bis 8,5 steigt die Aktivität der 3 β -HSDH linear an (Aktivität bei pH 6: ca. 20%, bei pH 7,4 ca. 60% des Maximalwertes) und fällt bei höheren pH-Werten wieder ab, wobei auch von einem hemmenden Einfluß des in diesem pH-Bereich verwendeten Phosphatpuffers ausgegangen werden muß.

Die Endprodukte der 3 β -HSDH zeigen folgende Hemmwirkung in abnehmender Reihenfolge: Progesteron (I_{50} =2,11 μ M), Androstendion (I_{50} =3,99 μ M), 17 α -Hydroxyprogesteron (I_{50} =14,0 μ M).

Die halbmaximalen Hemmkonzentrationen I_{50} für Östron und Östradiol sind entsprechend den Konzentrationen dieser Hormone in der Nebenniere sehr gering (Östron I_{50} =0,03 μ M, Östradiol I_{50} =0,03 μ M). Der I_{50} -Wert für Testosteron liegt - entsprechend der Konzentration in der Nebenniere - etwas höher, ebenso auch der Wert für Östriol (Testosteron I_{50} =1,97 μ M, Östriol I_{50} =1,26 μ M).

Von den Schwermetallen hemmen ein- und zweiwertiges Quecksilber (I_{50} =11,1 μ g/ml) sowie Cadmium (I_{50} =3,12 μ g/ml) und Blei (I_{50} =12,0 μ g/ml) das Enzym auch schon in den als grenzwertig gesundheitsgefährdend geltenden BAT-Konzentrationen zum Teil deutlich. Arsen übt in den von uns eingesetzten Konzentrationen (100 ng/ml bis 100 μ g/ml) keinen Einfluß auf die 3 β -HSDH aus.

Die 3 β -HSDH der Rindernebnieren ist damit ein Enzym, welches bezüglich der K_m -Werte der Substrate und der I_{50} -Werte verschiedener Steroidhormone optimal an seine Umgebung angepaßt scheint und sich durch geringe Änderungen in seiner Umgebung leicht beeinflussen läßt. Bei der Entstehung von Androgenisierungserscheinungen bei Patientinnen könnte damit eine Dysregulation der 3 β -HSDH durch den Einfluß von extraadrenalen produzierten Steroiden oder Umweltgiften eine Rolle spielen.