

Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
Aus der Klinik und Hochschulambulanz für Dermatologie
Geschäftsführender Direktor und Abteilungsleiter:
Prof. Dr. med. Prof. h. c. Constantin E. Orfanos

Einfluss von Tocopherol auf UV-induzierte NF- κ B-Regulation und
Lipidperoxidation in HaCaT-Keratinocyten

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

vorgelegt von
Tatjana Hertting
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. B. Tebbe

Korreferent: Prof. Dr. H. Meffert

Promotionsdatum: 17.12.2004

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin der
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin

*Was wir wissen, ist ein Tropfen,
was wir nicht wissen, ist ein
Ozean.*

- Sir Isaac Newton -

Im Gedenken an meinen Vater

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	7
1.1.	BILDUNG VON REAKTIVEN SAUERSTOFFVERBINDUNGEN (ROS) DURCH UV-LICHT	7
1.2.	DIE WIRKUNG DES UV-LICHTES AUF DIE HAUT – ROS ALS KOFAKTOREN BEI DER ENTSTEHUNG VON HAUTSCHÄDEN	10
1.3.	ANTIOXIDATIVE SCHUTZMECHANISMEN DER HAUT	12
1.3.1.	Enzymatische Antioxidantien	13
1.3.2.	Nicht-enzymatische Antioxidantien	16
1.3.3.	Tocopherol	17
1.3.3.1.	Chemische Struktur	17
1.3.3.2.	Physiologische Funktion und Wirkungsweise von Tocopherol	19
1.3.3.3.	In vitro Untersuchungen zur Funktion von Tocopherol in Hautzellen	21
1.3.3.4.	Effekt von lokaler Tocopherol-Supplementation im Tiermodell	22
1.3.3.5.	Effekt von lokaler bzw. oraler Tocopherol-Supplementation beim Menschen	23
1.3.4.	Kombination von α -Tocopherol und Ascorbinsäure	24
1.4.	NF-κB	27
1.4.1.	Funktion von NF- κ B in der Haut	30
1.4.2.	Zusammenhang von NF- κ B, ROS und Antioxidantien	31
1.5.	LIPIDPEROXIDATION	33
2.	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	34
3.	MATERIAL UND METHODEN	35
3.1.	MATERIALIEN UND GERÄTE	35
3.1.1.	Chemikalien und Lösungsmittel	35
3.1.2.	Geräte	35
3.1.3.	Zellen	36
3.2.	ZELLKULTURTECHNIK	36
3.3.	PASSAGIEREN DER ZELLEN	37
3.4.	VITAMINSUPPLEMENTATION	37
3.5.	UVA-BESTRAHLUNG	38
3.6.	PROLIFERATIONSASSAY	38

3.7.	ZYTOTOXIZITÄTSASSAY	40
3.7.1.	Chemisches Prinzip	40
3.7.2.	Kultivierung und Versuchsanordnung	41
3.7.3.	Messung und Kalkulation der Absorption	43
3.8.	NF-kB - ELECTROPHORETIC MOBILITY SHIFT ASSAY (EMSA)	43
3.8.1.	Kernproteinextraktion	44
3.8.2.	Proteinbestimmung	45
3.8.3.	Markierung der DNA	45
3.8.4.	Bindung der Kernproteine an die DNA	47
3.8.5.	Gelelektrophorese	47
3.8.6.	Auswertung im Phosphor Imaging System BAS 1500	49
3.9.	IKBa-WESTERN-BLOT	49
3.9.1.	Gesamtproteinextraktion	50
3.9.2.	Proteinbestimmung	50
3.9.3.	Elektrophorese	50
3.9.4.	Transfer	52
3.9.5.	Immunodetektion	52
3.10.	BESTIMMUNG VON THIOBARBITURSÄUREREAKTIVEN SUBSTANZEN (TBARS)	53
3.11.	STATISTISCHE METHODE	54
4.	ERGEBNISSE	55
4.1.	PROLIFERATIONSASSAY	55
4.2.	ZYTOTOXIZITÄTSASSAY	57
4.3.	NF-kB – EMSA	59
4.4.	IKBa-WESTERN-BLOT	64
4.5.	BESTIMMUNG VON TBARS	66
5.	DISKUSSION	68
5.1.	WIRKUNG VERSCHIEDENER TOCOPHEROL-DERIVATE AUF DIE NF-kB-/I-kB-AKTIVIERUNG IN KULTIVIERTEN HAcAT-KERATINOZYTEN NACH UVA-BESTRAHLUNG	68
5.2.	EINFLUSS VON TOCOPHEROL IN KOMBINATION MIT ASCORBINSÄURE AUF DIE NF-kB-BINDUNGSAKTIVITÄT IN KULTIVIERTEN HAcAT-KERATINOZYTEN	72
5.3.	EINFLUSS VERSCHIEDENER TOCOPHEROL-DERIVATE AUF DIE LIPIDPEROXIDATION IN HAcAT-KERATINOZYTEN NACH UVA-BESTRAHLUNG	75

6.	ZUSAMMENFASSUNG	77
7.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	79
8.	TABELLENVERZEICHNIS	80
9.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	81
10.	LITERATURVERZEICHNIS	83
11.	DANKSAGUNG	99
12.	LEBENS LAUF	100