

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, über welchen Mechanismus  $\alpha$ -Tocopherol seine Wirkung in Hautzellen entfaltet. Dazu wurde  $\alpha$ -Tocopherol allein und in Kombination mit Ascorbinsäure zu kultivierten HaCaT-Keratinocyten gegeben, bevor die Zellen UVA-Licht ausgesetzt wurden. In dieser Arbeit wurde einerseits die Wirkung dieser Antioxidantien auf NF- $\kappa$ B/I- $\kappa$ B und andererseits die Wirkung über die Stabilisierung der Lipidmembran der Keratinocyten durch das Abfangen von Peroxid-Radikalen untersucht. Des Weiteren erfolgte ein Vergleich der Wirkung von  $\alpha$ -Tocopherol mit verschiedenen Tocopherol-Derivaten (Trolox,  $\alpha$ -Tocopherol-Acetat und  $\alpha$ -Tocopherol-Succinat).

Folgende Methoden wurden verwendet: a) Evaluation der NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität mit dem electrophoretic mobility shift assay (EMSA), b) Analyse der I- $\kappa$ B-Aktivität mit dem Western Blot und c) Untersuchung der Lipidperoxidation durch die Evaluation der thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBARS).

Wesentliche Ergebnisse dieser Arbeit waren:

- 1) Nach einer Bestrahlung der HaCaT-Keratinocyten mit  $1 \text{ J/cm}^2$  UVA-Licht ergab sich eine signifikante Erhöhung der NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität im Vergleich zur unbestrahlten Kontrolle. Die Supplementation der HaCaT-Keratinocyten mit  $\alpha$ -Tocopherol, Trolox,  $\alpha$ -Tocopherol-Acetat bzw.  $\alpha$ -Tocopherol-Succinat 24 Stunden vor der Bestrahlung ergab keine signifikante Beeinflussung der NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität im Vergleich zur nicht-supplementierten Kontrolle.
- 2) Eine Supplementation der HaCaT-Keratinocyten mit Ascorbinsäure in Kombination mit Trolox,  $\alpha$ -Tocopherol-Acetat bzw.  $\alpha$ -Tocopherol-Succinat führte zu einer signifikanten Hemmung der NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität nach einer UVA-Bestrahlung mit  $1 \text{ J/cm}^2$  im Vergleich zur nicht-supplementierten Kontrolle. Dabei ergab sich eine stärkere Wirkung von Ascorbinsäure in Kombination mit  $\alpha$ -Tocopherol-Succinat als in Kombination mit Trolox bzw.  $\alpha$ -Tocopherol-Acetat. Die Kombination von Ascorbinsäure und  $\alpha$ -Tocopherol führte nicht zu einer signifikanten Hemmung der NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität.
- 3) Nach einer Bestrahlung der HaCaT-Keratinocyten mit  $10 \text{ J/cm}^2$  UVA-Licht war ein deutlicher Anstieg der TBARS nachzuweisen. Dieser Anstieg konnte durch eine Supplementation der Zellen mit  $\alpha$ -Tocopherol bzw. mit Trolox vor der Bestrahlung signifikant gehemmt werden, wobei Trolox eine etwas stärkere Hemmung bewirkte.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit kann man schlussfolgern, dass eine synergistische Wirkung von *Ascorbinsäure* und *Tocopherol-Derivaten* in HaCaT-Keratinocyten über die Hemmung der NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität existiert. Außerdem hat eine Kombination von *Ascorbinsäure* und  $\alpha$ -*Tocopherol-Succinat* eine ausgeprägtere hemmende Wirkungen auf die NF- $\kappa$ B-Bindungsaktivität in HaCaT-Keratinocyten als die Anwendung von *Ascorbinsäure* in Kombination mit *Trolox* oder  $\alpha$ -*Tocopherol-Acetat*.

*Tocopherol* wirkt auch über eine Hemmung der Lipidperoxidation in HaCaT-Keratinocyten, wobei die Lipidperoxidation in dieser Arbeit am wirksamsten durch *Trolox* und  $\alpha$ -*Tocopherol* verhindert werden konnte.