

Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin

Direktor: Prof. Dr. Werner Reutter

Institut für Biochemie und Molekularbiologie

Leiter der Arbeitsgruppe: PD Dr. Kerstin Danker

Aufklärung der Wirkung eines neuartigen, modifizierten Phospholipidanalogs: Inositol-C2-PAF

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht am Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Annette Fischer

aus Dresden

Berlin, März 2006

Gutachter: PD Dr. K. Danker
Gutachter: Prof. Dr. M. Schäfer-Korting

Disputation am 15.05.2006

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung und Zielsetzung	1
1	Antitumorlipide	2
1.1	Modifikationen der Antitumorlipide auf der Basis von ET-18-OCH3	3
2	Die Mechanismen der Wirkung von Antitumorlipiden	8
2.1	Membranlyse	8
2.2	Aufnahme der Antitumorlipide in Zellen	9
2.3	Einfluss der Antitumorlipide auf die Zell-Proliferation, den Zellzyklus und die Apoptose	10
2.4	Mitogene Effekte und der Einfluss auf die Differenzierung von Zellen	12
2.5	Modulation des Immunsystems	12
2.6	Beeinflussung der Signaltransduktion und der Einfluss auf spezifische, membranständige Rezeptoren	13
2.7	Veränderungen der Zellmorphologie und des Zytoskeletts	16
2.8	Synergismus mit anderen Zytostatika	16
2.9	Präklinische Prüfungen und klinische Studien	17
3	Der plättchenaktivierende Faktor und sein Rezeptor	18
4	Die menschliche Haut	23
4.1	Aufbau	23
4.2	Erkrankungen der Haut und PAF-Rezeptor-vermittelte Wirkungen auf die Haut	25
5	Zielsetzung	28

II	Ergebnisse	29
6	Einfluss der Phospholipidanaloga auf Hautzellen	30
6.1	Keratinocyten	30
6.1.1	Substanzinduzierte Zytotoxizität	30
6.1.2	Einfluss von Inositol-C2-PAF oder HePC auf die Zell-Proliferation	32
6.1.3	Einfluss von Inositol-C2-PAF oder HePC auf den Zellzyklus und die Apoptose	35
6.1.4	Einfluss auf die integrinabhängige Zell-Matrix-Adhäsion	39
6.1.5	Einfluss auf die Zell-Migration	44
6.1.6	Einfluss auf die Verteilung der Integrinuntereinheiten auf der Zelloberfläche	49
6.1.7	Einfluss von Inositol-C2-PAF oder HePC auf die kleinen GTPasen Rac1 und RhoA und auf die Migration von HaCaT-Zellen	59
6.1.8	Beeinflussung der Differenzierung	71
6.2	Fibroblasten	77
6.2.1	Substanzinduzierte Zytotoxizität	77
6.2.2	Einfluss auf die Zellproliferation	78
6.3	Zellen des Blutes	79
6.3.1	Einfluss auf die Zellproliferation	79
6.3.2	Einfluss der Phospholipidanaloga auf die Apoptose	82
6.3.3	Beeinflussung von Zellen des Immunsystems	86
7	Penetrationsstudien	94
7.1	Herstellung von Nanoemulsionen	94
7.2	Charakterisierung der Nanoemulsionen	95
7.3	Anreicherung der Phospholipide in HaCaT-Zellen	96
7.4	Penetrationsstudien an humaner Vollhaut	97
III	Diskussion	100
8	Diskussion	101
8.1	Einfluss auf die Proliferation	101
8.2	Substanzinduzierte Zytotoxizität	105
8.3	Apoptoseinduktion	106

8.4	Einfluss auf die Differenzierung	108
8.5	Integrinabhängige Matrixadhäsion und Integrinexpression	111
8.6	Einfluss auf die Zell-Migration und die Wundheilung	114
8.7	Untersuchungen an humanen Blutzellen	118
8.8	Aufnahme der Phospholipidanaloga und Penetrationsstudien phospholipid- haltiger Nanoemulsionen	121
8.9	Einsatz der Nanoemulsionen	123
IV Zusammenfassung / Summary		127
9	Zusammenfassung	128
10	Summary	130
V Materialien und Methoden		132
11	Material	133
11.1	Chemikalien	133
11.1.1	Phospholipide	133
11.1.2	Geräte	135
11.1.3	Antikörper	136
11.1.4	Zelllinien und Zellkulturmaterialien	139
11.1.5	Enzyme/Proteine, Marker und Kits	140
12	Methoden	142
12.0.6	Zellbiologische Methoden	142
12.0.7	Proteinbiochemische Methoden	152
12.0.8	Pharmakologische Methoden	157
12.0.9	Pharmazeutisch-technologische Methoden	159
13	Statistische Auswertung	160
VI Anhang		162

14	Abkürzungsverzeichnis	163
15	Literaturverzeichnis	167
16	Veröffentlichungen	188
17	Lebenslauf	190
18	Danksagung	191