

Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer and zellulärer Ebene

Prof. Dr. Dr. h.c. Reinhard H.H. Neubert
Institut für Pharmazie der
Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

Gliederung:

1. Einführung

2. UV-Strahlung und Haut

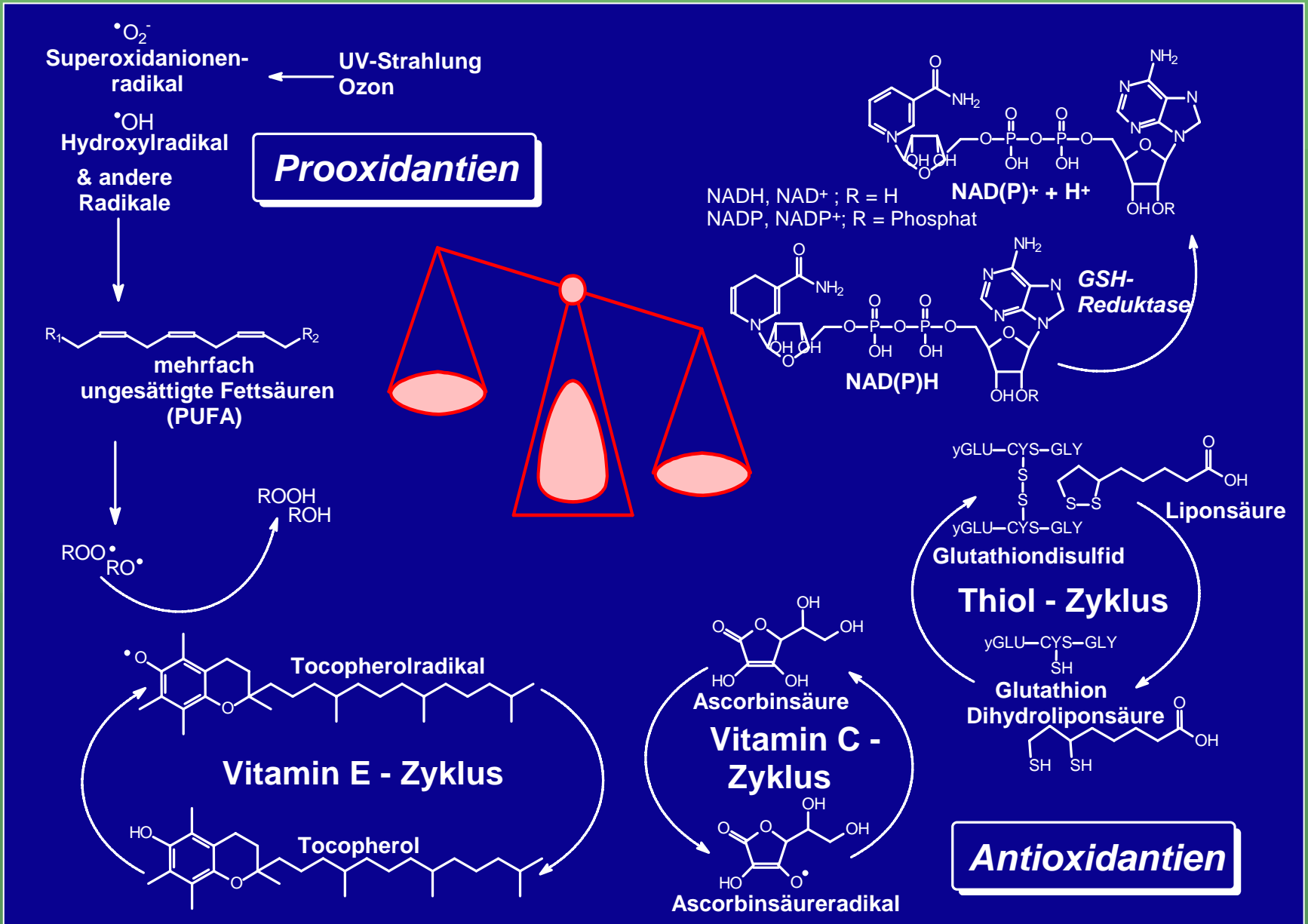
3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung

- auf molekularer Ebene

- auf zellulärer Ebene

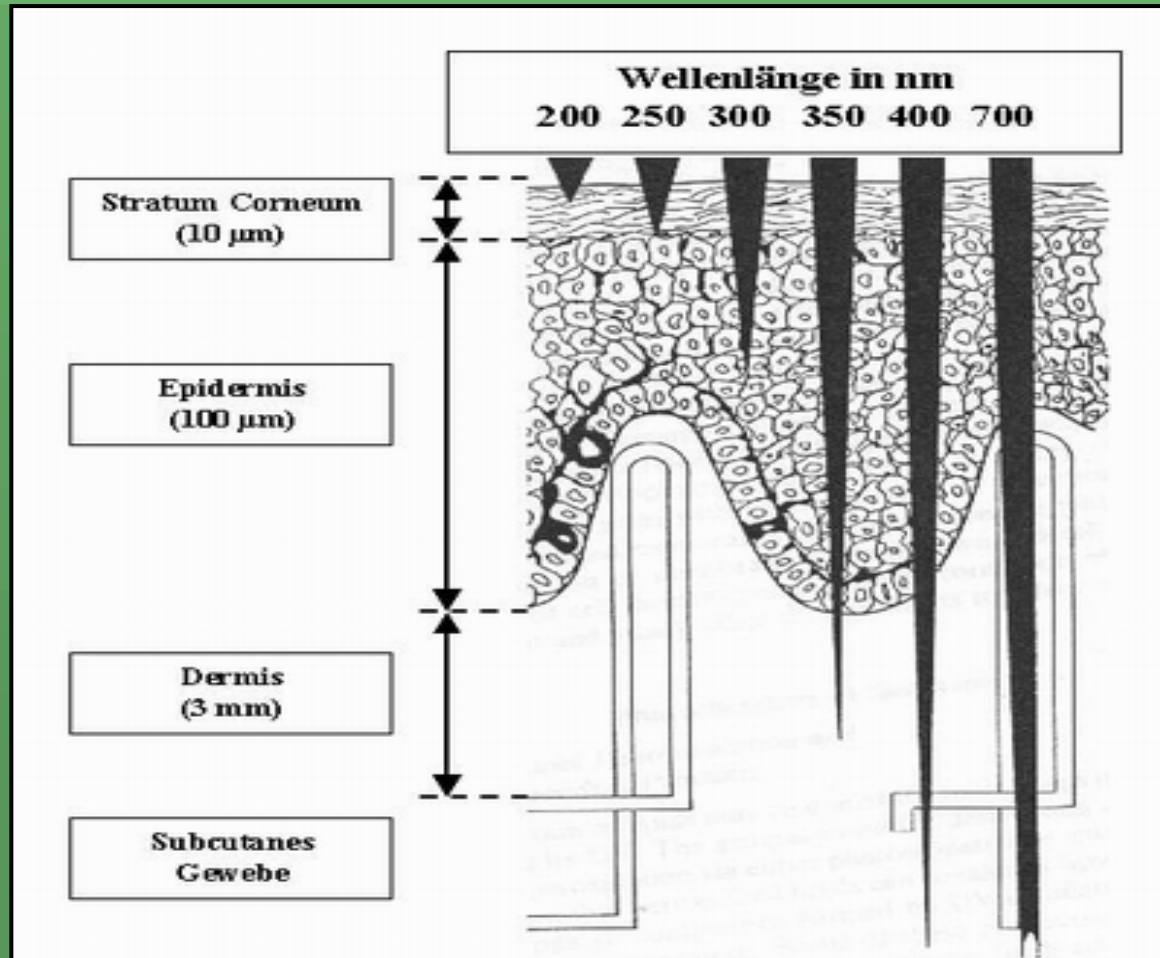
5. Zusammenfassung

Messung des Einflusses der UV-Strahlung



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

1. Einführung

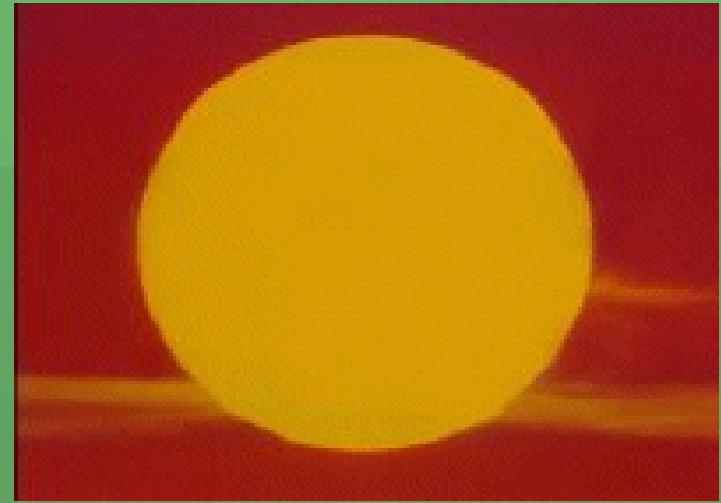


Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

UV-A

- langwellig (320-400 nm),
- größte Eindringtiefe
- Wirkung:
 - ⋅ Sofortpigmentierung der Haut durch Pigmentumverteilung
 - ⋅ Vermehrte Hautalterung aufgrund der Eindringtiefe
 - ⋅ Verantwortlich für erhöhte Photosensibilität
 - ⋅ Verstärkung der UVB-Effekte (Kanzerogenität)

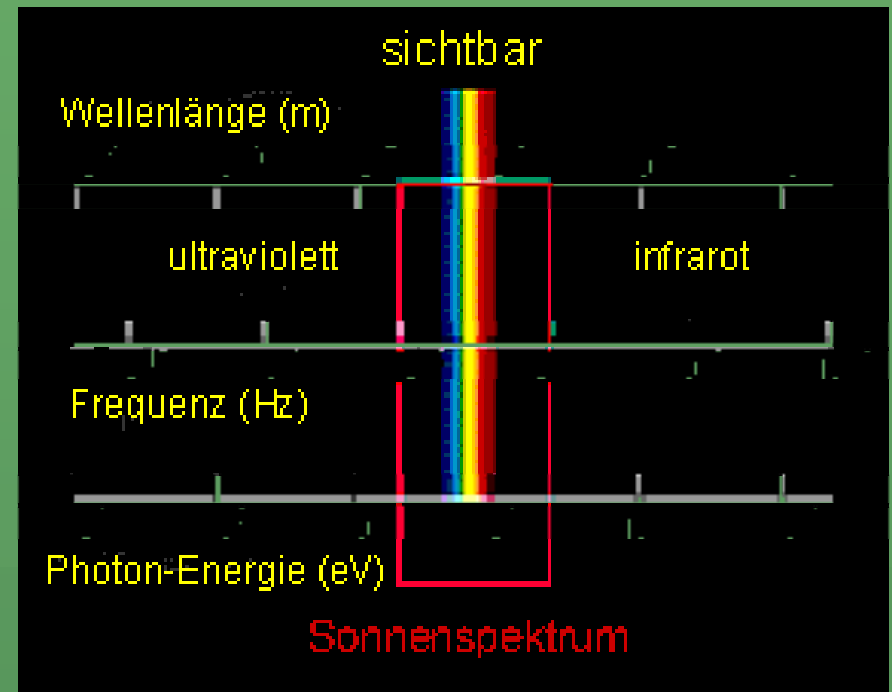


Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

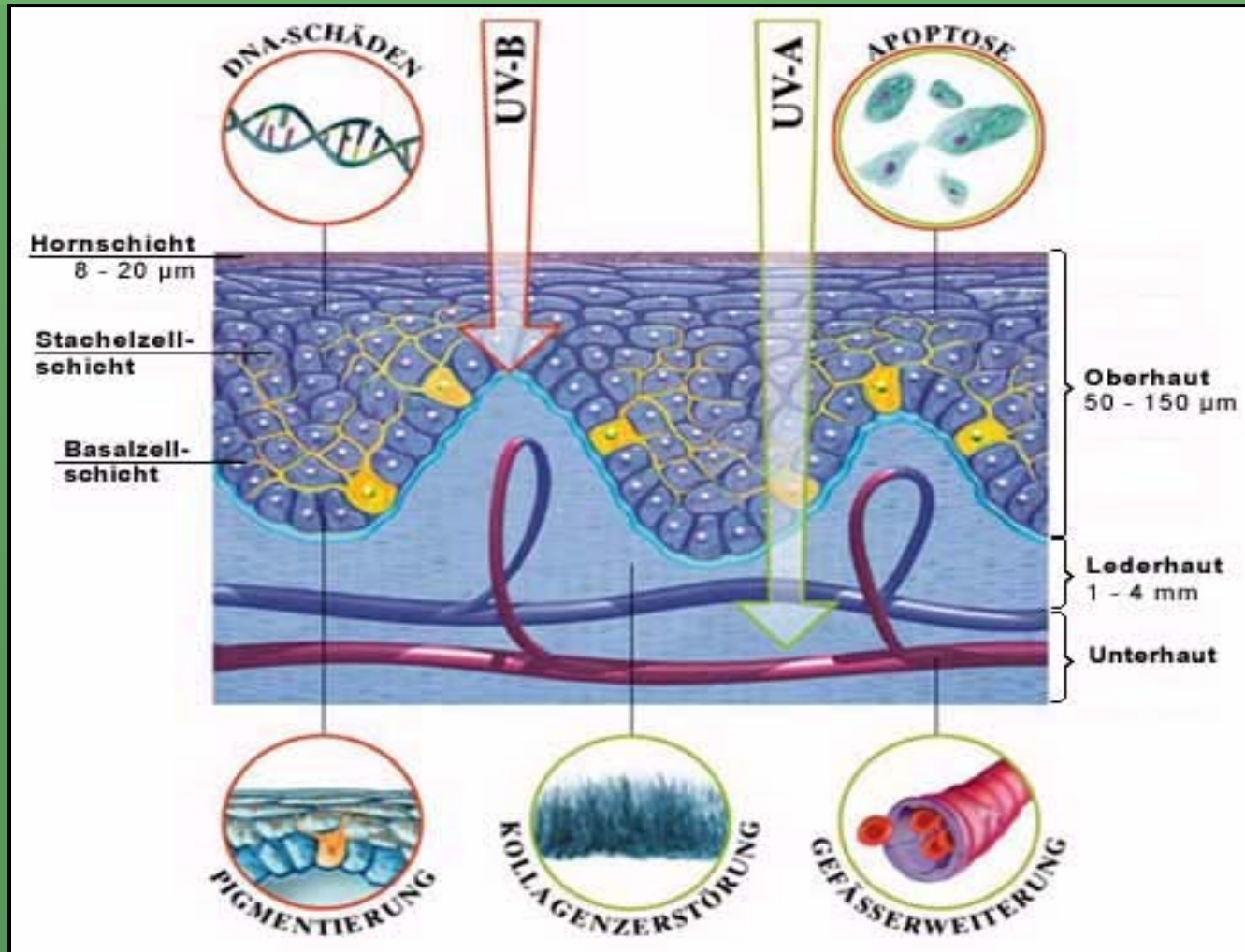
UV-B

- z.T. in der Ozonschicht absorbiert
- Kurzwellig (280- 300 nm)
- Wirkung:
 - Sonnenbrand
 - Integration von DNA-Strukturen in d. oberflächl. Hautzellschichten
 - Hautalterung und Kataraktbildung



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

Reaktive Sauerstoff Spezies:

$\text{O}_2^{\cdot -}$ Superoxide Radical

$\text{OH} \bullet$ Hydroxyl Radical

$\text{ROO} \bullet$ Peroxyl Radical

H_2O_2 Hydrogen peroxide

$^1\text{O}_2$ Singlet Oxygen

$\text{NO} \bullet$ Nitric Oxide

ONOO^- Peroxynitrite

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

Freie Radikale

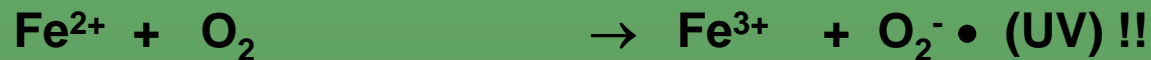
- 1. $\text{O}_2 + e^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HO}_2\bullet$
- 2. $\text{HO}_2\bullet + e^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$
- 3. $\text{H}_2\text{O}_2 + e^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{OH}\bullet$
- 4. $\text{OH}\bullet + e^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}$
- $\text{O}_2 + 4e^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$
- $\text{O}_2^-\bullet + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^- + \text{OH}\bullet$
(Haber-Weiss-Reaktion)
- $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}\bullet$
(Fenton-Reaktion)

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

Lipidperoxidation: Reaktionen

Bildung von Hydroxylradikalen aus Sauerstoff:



Radikalkettenmechanismus (Hydroxylradikal als Starter):

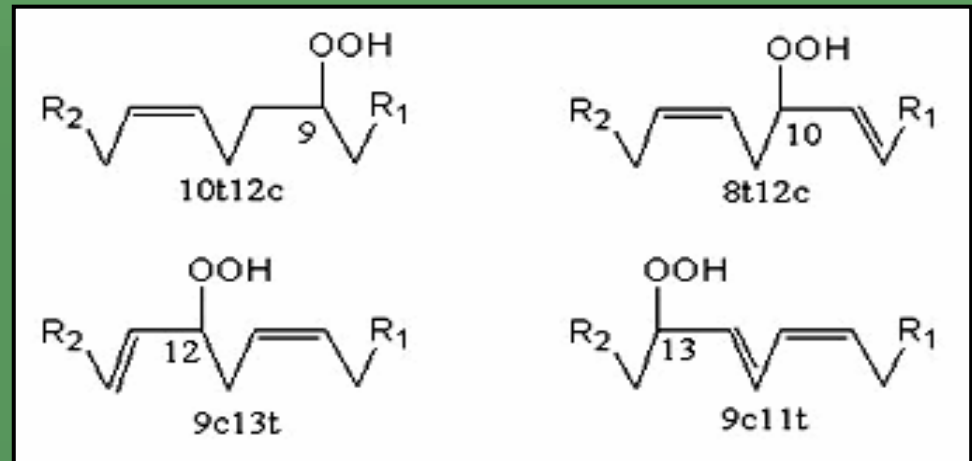
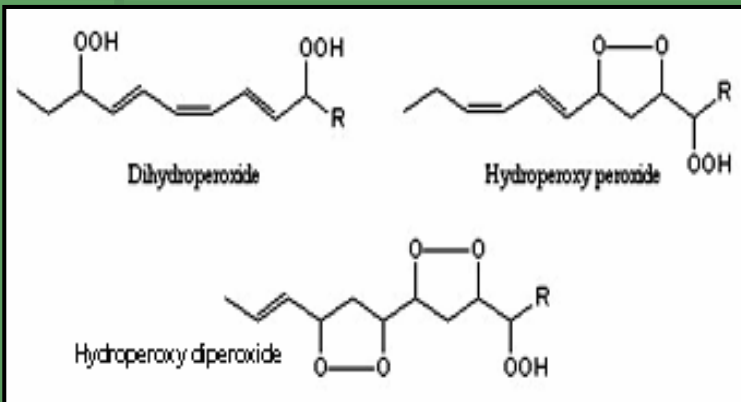
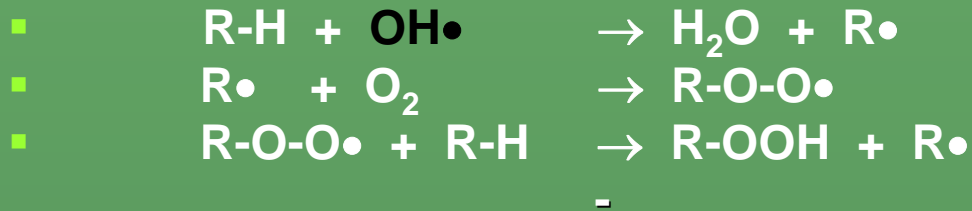


Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

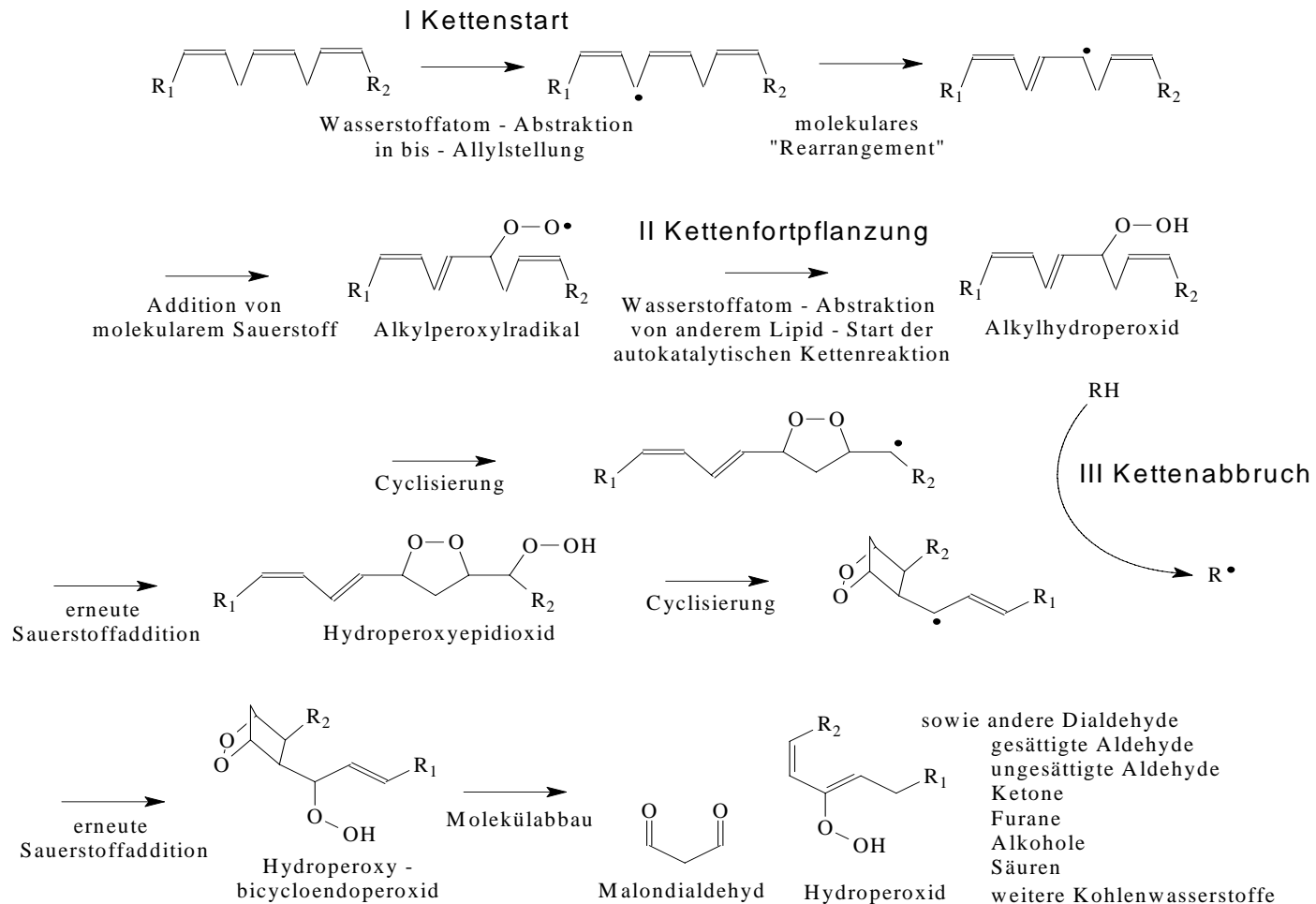
Lipidperoxidation

- Radikalkettenmechanismus
- (Hydroxylradikal als Starter)



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

Peroxidation im Stratum corneum/Haut

Voraussetzungen:

- UVA-Strahlung
- Lipide mit konjugierten Doppelbindungen (Linol- und Linolensäure)
- Anwesenheit von Übergangsmetallen (z.B. $\text{Fe}^{2+/3+}$)
- Saurer pH Wert

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

Schädigung durch UV-Strahlen (oxidativer Stress):

- Beruht auf Bildung freier Sauerstoffradikale (energiereich)
- **Bildung des Hydroxylradikals (OH•)**
- Bildung stabiler Lipidperoxide, die penetrieren können!
- Andere Reaktionspartner werden aggressiv angegriffen

Schädigung aller wichtigen Biomoleküle der Haut

- durch UV-Licht Gleichgewicht zwischen pro- und antioxidativen Faktoren gestört → oxidativer Stress

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

Hauteigene Photoprotektion

A) Melaninsynthese

- UVA-Strahlen induzierte Bildung von Melanin in Melanocyten → Sofortbräunung
- Aus Melanozyten wird Melanin freigesetzt, das sich zum Schutz der DNA um die Zellkerne legt
- Mit Epidermiszellen wandert Pigment (Melanin) zur Hautoberfläche

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

2. UV-Strahlung und Haut

B) DNA-Reparaturmechanismen

C) Radikalfänger (Antioxidantien)

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene



Standardisierte experimentelle Bedingungen

1. Simuliertes Sonnenspektrum mit
2. OSRAM Ultra-Vitalux-Strahler 300 W
3. Bestrahlungskammer
4. UV-A-Laser

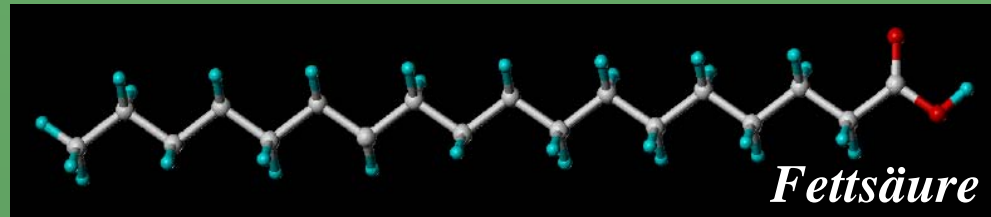
Thiobarbitursäure (TBA)-Reaktion
zur Detektion des Malondialdehyds

Massenspektrometrie
zur Detektion der Abbauprodukte

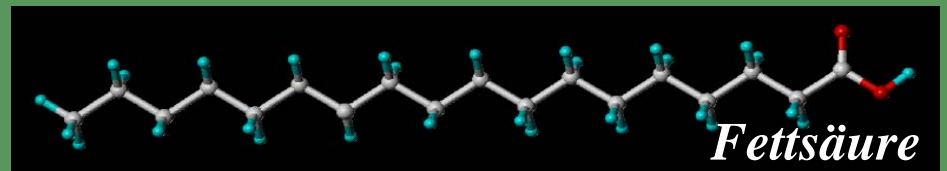
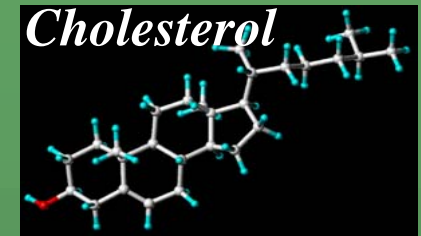
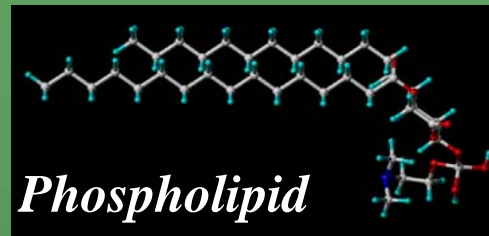
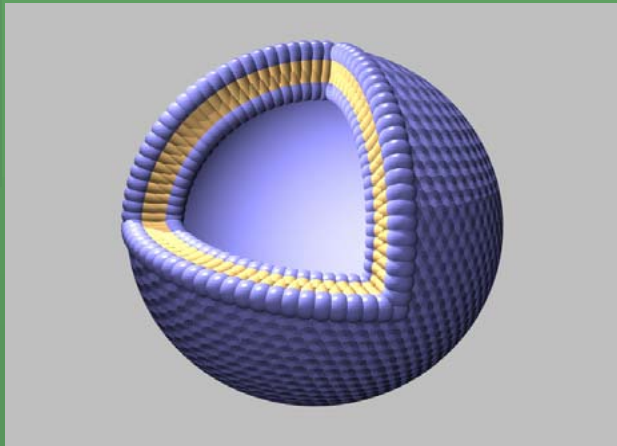
Messung des Einflusses der UV-Strahlung

Lipidmodellsysteme zur UV-induzierten Untersuchung der Lipidperoxidation

A) Einfach



B) Komplex



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene

1. Einfaches System

Linolensäure 100 μM

2. Komplexes System

Linolensäure 100 μM

DPPC 200 μM

Cholesterol 100 μM

3. Komplexes Systems mit Ceramiden

a) mit Ceramid III

Linolensäure 100 μM

DPPC 200 μM

Cholesterol 100 μM

Ceramid III 100 μM

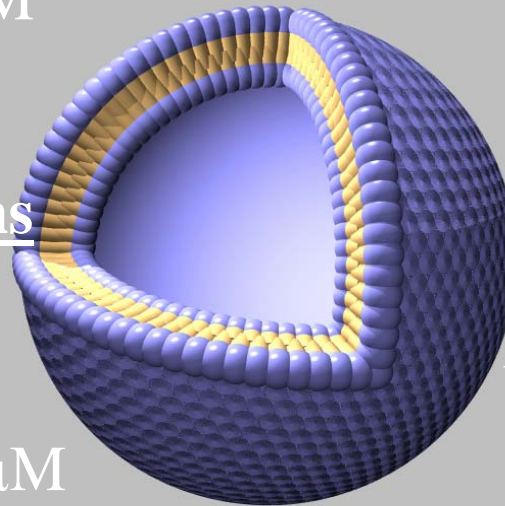
b) mit Ceramid IV

Linolensäure 100 μM

DPPC 200 μM

Cholesterol 100 μM

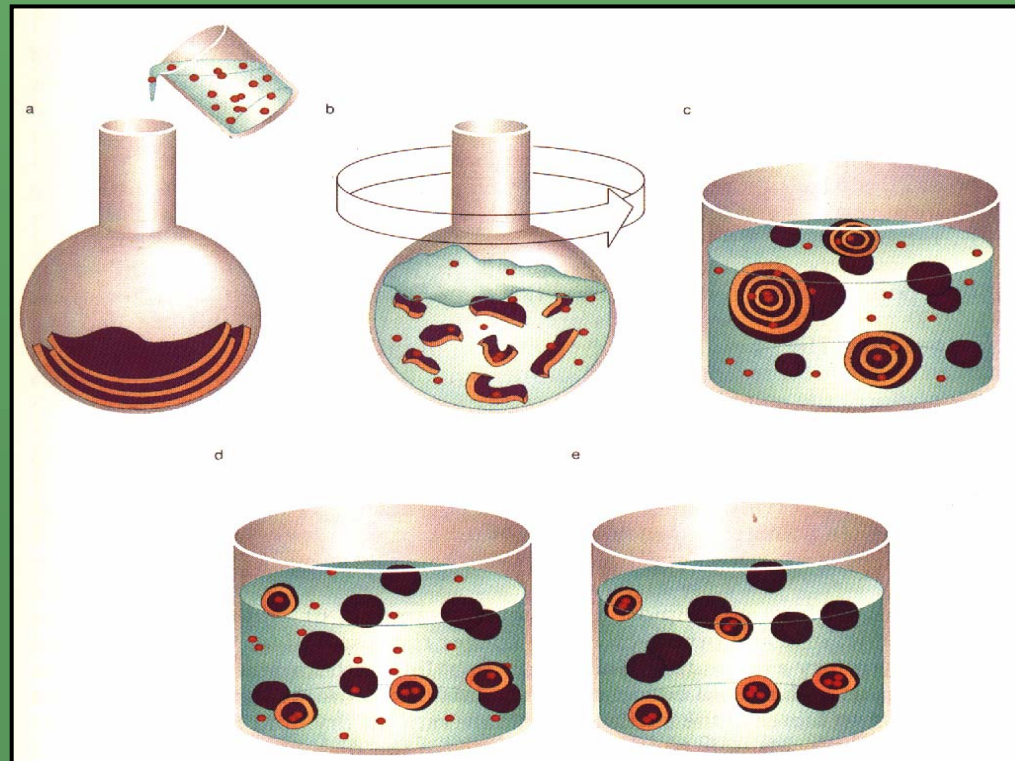
Ceramid IV 100 μM



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene

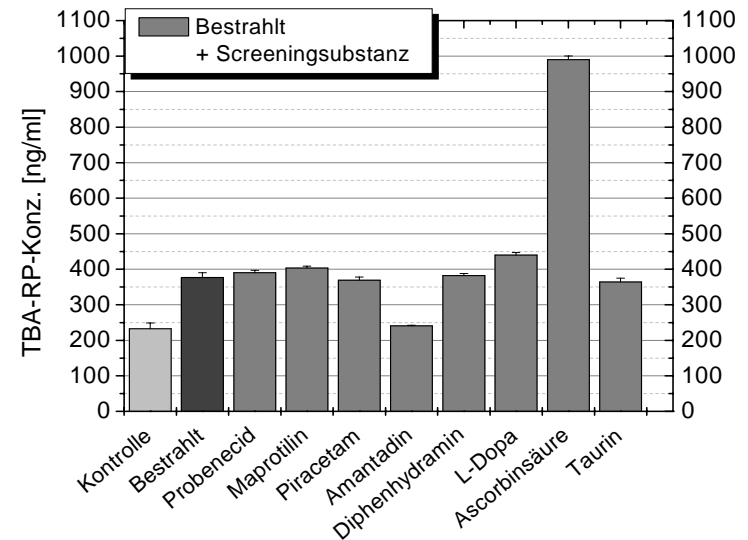
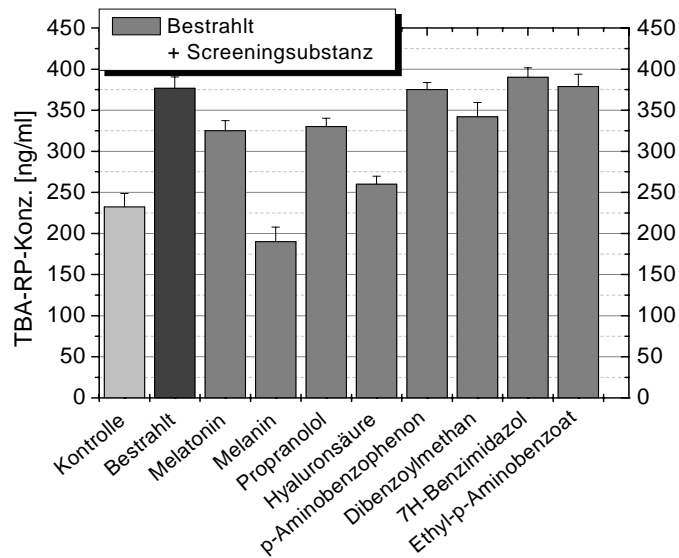
Liposomenherstellung



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene

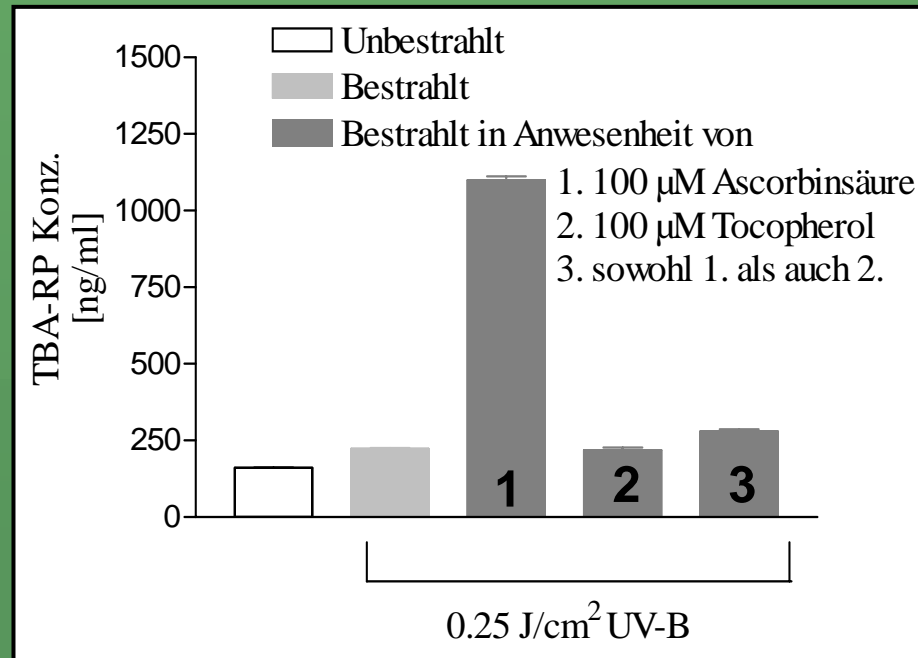
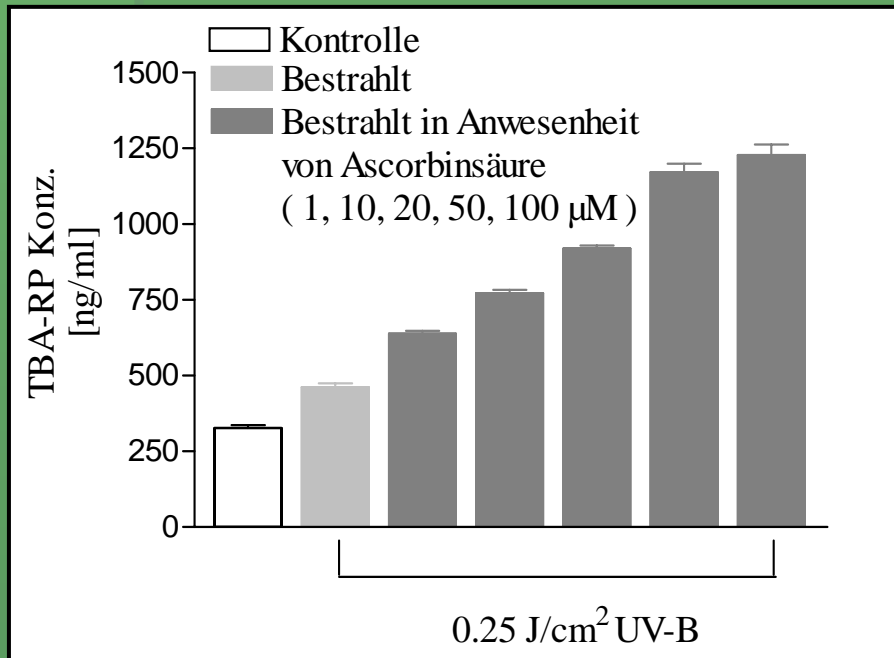
Antioxidatives Screening (TBA – Reaktion)



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene

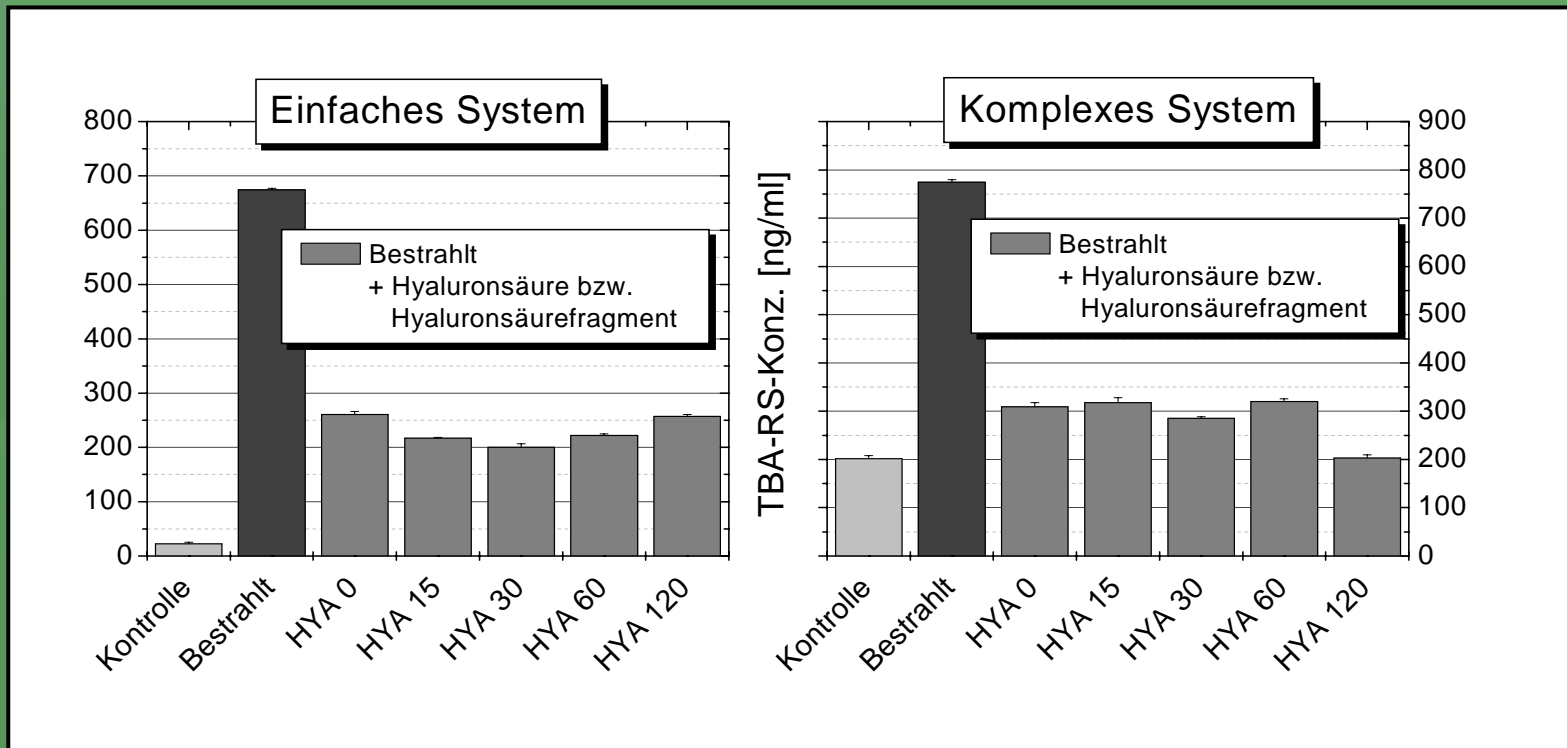
Einfluss der Ascorbinsäure (TBA – Reaktion)



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene

Einfluss von niedermolekularen Hyaluronsäurederivaten



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf molekularer Ebene

Massenspektrometrie und

ESR (Elektromagnetische Spin Resonanz):

Aufklärung der Oxidationsmechanismen

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf zellulärer Ebene

- *Zellkulturuntersuchungen an HaCaT-Keratinocyten*

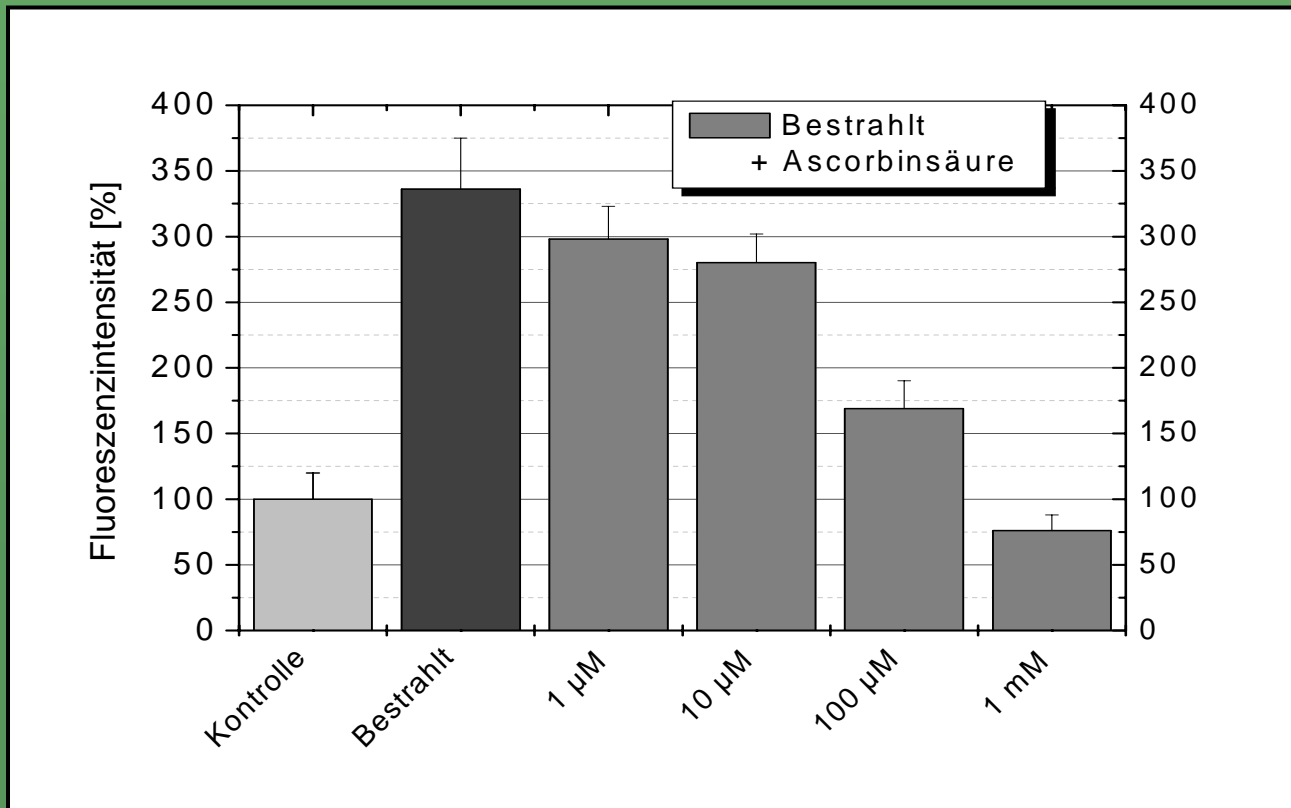


- **Dihydrorhodamin 123 – Assay nach Bestrahlung**
- mit 8 J/cm² UV-A

Messung des Einflusses der UV-Strahlung

3. Messung des Einflusses der UV-Strahlung auf zellulärer Ebene

■ Ascorbinsäure



Messung des Einflusses der UV-Strahlung

4. Zusammenfassung

1. Vorstellung der UV-Strahlung, der Radikale und der Peroxidation.
2. Vorstellung der Peroxidationsmechanismen hinsichtlich der Stratum corneum Lipide.
3. Präsentation von Lipidmodellen zur Charakterisierung der Wirkung von Antioxidantien auf molekularer Ebene.
4. Ergebnisse zur Ermittlung der Wirkung von Antioxidantien auf zellulärer Ebene.