

# Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	- iv -
TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	- vi -
<b>1 EINLEITUNG</b>	- 1 -
<b>2 LITERATURÜBERSICHT</b>	- 3 -
2.1 Geschichtlicher Überblick und Grundlagen der Photodynamischen Therapie	- 3 -
2.2 Anwendungsmöglichkeiten der Photodynamischen Therapie	- 8 -
2.3 Vorkommen, Pathogenese und Therapie der rheumatoiden Arthritis	- 11 -
2.3.1 Vorkommen, Pathogenese und Nachweis der rheumatoiden Arthritis	- 11 -
2.3.2 Aktuelle Therapiemöglichkeiten bei rheumatoider Arthritis	- 14 -
2.3.3 Zukünftige Therapiemöglichkeit - synoviale Ablation mit PDT	- 17 -
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b>	- 20 -
3.1 Verwendete Geräte	- 20 -
3.2 Verbrauchsmaterialien	- 21 -
3.3 Chemikalien	- 22 -
3.3.1 Die Photosensibilisatoren	- 22 -
3.3.2 Weitere Chemikalien	- 25 -
3.4 Medien, Puffer und Lösungen	- 26 -
3.4.1 Kommerziell erworbene Medien, Puffer und Lösungen	- 26 -
3.4.2 Angesetzte Nährlösungen	- 26 -
3.4.3 Selbst hergestellte Puffer und Lösungen	- 27 -
3.5 Kommerziell erworbene Testsysteme	- 27 -
3.6 Die Zellkultur	- 28 -
3.6.1 Die Zelllinie L929	- 28 -
3.6.2 Die Zelllinie HIG-82	- 28 -
3.6.3 Auftauen von Zellen	- 28 -
3.6.4 Kultivierung von Zellen	- 29 -

<b>3.6.5 Passagieren von Zellen</b>	<b>- 30 -</b>
<b>3.6.6 Zellzahlbestimmung</b>	<b>- 31 -</b>
<b>3.6.7 Kryokonservierung von Zellen</b>	<b>- 31 -</b>
<b>3.6.8 Fotografische Darstellung von Zellen</b>	<b>- 32 -</b>
<b>3.6.9 Erstellen einer Wachstumskurve</b>	<b>- 33 -</b>
<b>3.6.10 Etablierung verschiedener Testsysteme mit Hilfe der Zelllinie L929 und dem Apoptoseinduktor Etoposid</b>	<b>- 34 -</b>
<b>3.6.10.1 Ermittlung der Zellvitalität mit Hilfe eines enzymatischen Assays</b>	<b>- 35 -</b>
<b>3.6.10.2 Ermittlung der Zellmortalität mit Hilfe eines enzymatischen Assays</b>	<b>- 37 -</b>
<b>3.6.10.3 Enzymatische Bestimmung der Caspaseaktivität</b>	<b>- 38 -</b>
<b>3.6.10.4 Nachweis oligosomaler DNA-Fragmente („DNA-Laddering“)</b>	<b>- 39 -</b>
<b>3.6.11 Ermittlung der Wirkung von 9 Photosensibilisatoren auf L929 Zellen</b>	<b>- 41 -</b>
<b>3.6.11.1 Ermittlung der Phototoxizität</b>	<b>- 42 -</b>
<b>3.6.11.2 Ermittlung der Dunkeltoxizität</b>	<b>- 43 -</b>
<b>3.6.12 Ermittlung der photo- bzw. dunkeltoxischen Wirkung ausgewählter Photosensibilisatoren auf HIG-82</b>	<b>- 45 -</b>
<b>3.6.13 Nachweis der Apoptoseinduktion in L929 und HIG-82 Zellen durch ausgewählte Photosensibilisatoren</b>	<b>- 45 -</b>
<b>3.6.13.1 Nachweis der Caspase 3 und 7 Aktivität in L929 und HIG-82 Zellen</b>	<b>- 46 -</b>
<b>3.6.13.2 Nachweis oligosomaler DNA-Fragmente in L929 und HIG-82 Zellen („DNA-Laddering“)</b>	<b>- 48 -</b>
<b>4 ERGEBNISSE</b>	<b>- 49 -</b>
<b>4.1 Fotografische Darstellung der verwendeten Zelllinien</b>	<b>- 49 -</b>
<b>4.2 Wachstumskurven der Zelllinien L929 und HIG-82</b>	<b>- 50 -</b>
<b>4.3 Etablierung verschiedener Testsysteme zur Selektion apoptotischer Bedingungen</b>	<b>- 51 -</b>
<b>4.3.1 Ermittlung der Zellvitalität und - mortalität von L929 Zellen mit Hilfe enzymatischer Methoden nach Apoptoseinduktion mit Etoposid</b>	<b>- 51 -</b>
<b>4.3.2 Ermittlung der Caspaseaktivität in L929 Zellen nach Etoposidbehandlung</b>	<b>- 52 -</b>
<b>4.3.3 Nachweis oligonukleosomaler DNA - Fragmente aus L929 Zellen nach Apoptoseinduktion mit 15 µM Etoposid („DNA - Laddering“)</b>	<b>- 53 -</b>

<b>4.4 Wirkung von 9 Photosensibilisatoren auf L929 Zellen (enzymatische Vitalitäts- und Mortalitätsbestimmung)</b>	<b>- 55 -</b>
<b>4.5 Wirkung ausgewählter Photosensibilisatoren auf HIG-82 Zellen (enzymatische Vitalitäts- und Mortalitätsbestimmung)</b>	<b>- 64 -</b>
<b>4.6 Apoptosenachweise in L929 und HIG-82 Zellen</b>	<b>- 72 -</b>
<b>4.6.1 Ermittlung der Caspaseaktivität von BLC2077, BLC4054, BLC5060 und BLC6075 in L929 und HIG-82 Zellen</b>	<b>- 72 -</b>
<b>4.6.2 Nachweis oligosomaler DNA-Fragmente in L929 und HIG-82 Zellen nach Behandlung mit BLC2077 („DNA-Laddering“)</b>	<b>- 77 -</b>
<b>5 DISKUSSION</b>	<b>- 78 -</b>
<b>5.1 Etablierung der Testsysteme zur Vitalitäts- und Mortalitätsbestimmung sowie zum Apoptosenachweis mittels Caspase-Assay und „DNA-Laddering“</b>	<b>- 78 -</b>
<b>5.2 Screening von 9 Photosensibilisatoren hinsichtlich ihrer Wirkung auf Fibroblasten (L929 Zellen)</b>	<b>- 83 -</b>
<b>5.3 Vitalitäts- und Mortalitätsbestimmungen von Synoviozyten (HIG-82 Zellen) nach PDT mit BLC2077, BLC4054, BLC5060 und BLC6075</b>	<b>- 85 -</b>
<b>5.4 Apoptosenachweise in L929 und HIG-82 Zellen</b>	<b>- 87 -</b>
<b>5.4.1 Der Caspaseassay</b>	<b>- 87 -</b>
<b>5.4.2 Das „DNA-Laddering“</b>	<b>- 91 -</b>
<b>5.5 Potential für die klinische Anwendung</b>	<b>- 92 -</b>
<b>5.6 Ausblick</b>	<b>- 95 -</b>
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>- 98 -</b>
<b>7 SUMMARY</b>	<b>- 100 -</b>
<b>8 LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>- 102 -</b>