

# Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	- iv -
TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	- vi -
1 EINLEITUNG	- 1 -
2 LITERATURÜBERSICHT	- 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 -
3 MATERIAL UND METHODEN	- 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 -

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

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