

Zusammenfassung

In dieser Arbeit zur Expression humaner Hautalterungsmarker wurde erstmals der solare UV-Einfluss auf die individuelle MMP-1, TIMP-1, Elastin und Elastase Genexpression *in vivo* mit Hilfe einer quantitativen Methode, der sensitiven TaqMan[®] RT-PCR, untersucht.

Nach der UV-Bestrahlung konnten große Donorvariabilitäten für die MMP-1 Induktion beobachtet werden, die hauptsächlich durch die deutlichen Unterschiede in den unbestrahlten Kontrollbiopsien bedingt waren. Dadurch wird deutlich wie wichtig es ist, Genexpressionsuntersuchungen für individuelle Probanden durchzuführen. Für die Unterschiede in der basalen MMP-1 mRNA Expression ergab sich eine signifikante Assoziation mit dem Rauchen. Damit konnte zum ersten Mal ein Effekt des Rauchens auf die MMP-1 mRNA Induktion in menschlicher Haut *in vivo* als mögliche molekulare Grundlage für die frühzeitige Hautalterung aufgezeigt werden.

Eine Bestrahlung mit 2 MED SSR *in vivo* resultierte bei allen Probanden in einer maximalen MMP-1 und TIMP-1 mRNA Induktion nach 24 h. Durch die hier durchgeführten Untersuchungen konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass für eine Erhöhung der MMP-1 und TIMP-1 Genexpression (24 h) in humaner Haut *in vivo* erythemale SSR-Dosen (≥ 1 MED) notwendig sind. Ab UV-Dosen von ≥ 2 MED wurde eine Sättigung, also keine weitere Erhöhung der Genexpression beobachtet. Erstmals nachgewiesen sind in dieser Arbeit auch die hohen mRNA Induktionen von bis zu mehreren tausendfach für MMP-1 bzw. von bis zu 16-fach für TIMP-1 nach SSR-Bestrahlung. Der Vergleich der MMP-1 und TIMP-1 mRNA Expression nach UV-Exposition weist auf eine fehlende Korrelation hin. Diese gestörte Balance zwischen UV-induziertem MMP-1 und TIMP-1 könnte wie beim Rauchen an dem zunehmenden Abbau des dermalen Kollagens und damit am Photoaging beteiligt sein.

Die MMP-1 mRNA Expression wurde sowohl in der Dermis als auch in der Epidermis durch SSR-Bestrahlung *in vivo* erhöht. Im Gegensatz dazu wurde eine Induktion der TIMP-1 mRNA durch UV-Exposition ausschließlich in der Dermis, aber nicht in der Epidermis verzeichnet.

Im Allgemeinen zeigten vergleichbare erythemale Dosen von UVA, UVB und SSR einen vergleichbaren Effekt auf die MMP-1 und TIMP-1 mRNA Expression *in vivo*. Damit scheint das UVB und nicht das UVA die Hauptursache für den Photoaging-Prozess darzustellen.

In einer repetitiven *in vivo* SSR-Bestrahlungsstudie konnte nach einer zweiwöchigen Bestrahlung mit einer suberythemalen SSR-Dosis ein deutlicher Hinweis auf einen „Hardening“-Effekt für die MMP-1 Genexpression beobachtet werden. Für die TIMP-1 mRNA galt dies nur eingeschränkt.

Bei einer parallel durchgeführten *in vitro* Studie zeigte sich nach der UVA-Bestrahlung von Fibroblasten der 24 h Zeitpunkt als das MMP-1 mRNA Expressionsmaximum, entsprechend der *in vivo* Situation. Ebenso konnte eine UVA-dosisabhängige MMP-1 mRNA Expression (24 h) *in vitro* gemessen werden. Dagegen konnten generell die hohen Induktionen der *in vivo* MMP-1 Genexpression von mehreren tausendfach sowie die großen Donorvariabilitäten aufgrund der hohen MMP-1 Ausgangslevel der unbestrahlten HDF-Proben nicht ermittelt werden. Eine maximale MMP-1 Proteinexpression *in vitro* in der Höhe der maximalem mRNA Induktion wurde erst 96 h nach der UVA-Bestrahlung von Fibroblasten ermittelt, wobei 1 % des MMP-1 Proteins durch TIMP-1 komplexiert, also inaktiviert, war. Die TIMP-1 Gen- und Proteinexpression blieb von der UV-Exposition *in vitro* relativ unbeeinflusst.

Eine Vorinkubation von Fibroblasten mit dem Antioxidans α -Tocopherol senkte die MMP-1 Induktion nach UVA-Bestrahlung um über 60 % *in vitro*. Ebenso verhinderte das α -Tocopherol eine UV bedingte Zytotoxizität. Eine Inkubation von HDF-Zellen mit 1 mM H₂O₂ führte zu einer Induktion der MMP-1 Genexpression (24 h) und zu einer Reprimierung des TIMP-1 mRNA Levels.

Sowohl für das Elastin als auch für die Elastase ergab sich mit zunehmender Zeit der Biopsieentnahme und mit zunehmender Bestrahlungsdosis nach 24 h eine verstärkt reprimierte Genexpression.

Durch die in dieser Arbeit etablierten TaqMan[®] RT-PCR Systeme stehen nun quantitative Methoden für die *in vivo* Testung von Lichtschutzprodukten und Wirkstoffen gegen Hautalterung zur Verfügung. Dabei sollten die erzielten Ergebnisse als Grundlage für die Entwicklung neuer Lichtschutzkonzepte dienen.