

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Etablierung eines Modellsystems für die Untersuchung selektinvermittelter Adhäsionsereignisse und deren molekulare Bindungseigenschaften vorgestellt. Darauf aufbauend wird die pharmazeutische Relevanz der Selektine untersucht und die Modellanordnung für die Suche nach neuartigen potentiell antiinflammatorischen Substanzen genutzt.

Aufgrund ihrer initialen Stellung in der Leukozyten-Adhäsionskaskade nehmen die Selektine eine Schlüsselrolle im Entzündungsgeschehen ein. Gemeinsam mit ihren Liganden sind nur die Selektine in der Lage, Leukozyten aus dem Blutstrom heraus über eine rollende Bewegung der Zellen abzubremsen. Dieses Zellrollen stellt eine Sonderform der Zelladhäsion dar und wurde in einer Durchflußapparatur modellhaft simuliert.

Adhäsionsuntersuchungen mit verschiedenen Zellmodellen bestätigten, daß eine Scherkraft-induzierte Zellrollbewegung an die Bindungseigenschaften und die Bindungskinetik der Selektine gebunden ist und nicht durch andere Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen simuliert werden kann. Zur Aufklärung der molekularen Bindungseigenschaften der Selektine im Zellrollprozeß wurden unterschiedliche Glykolipidliganden in Modellmembranen inkorporiert und deren Bindungseigenschaften untersucht.

Im Gegensatz zu den natürlichen Selektinliganden, die komplexe Glykoproteinstrukturen darstellen, kamen in der Arbeit definierte Glykolipide zum Einsatz, mit denen die Zusammenhänge von Selektinbindung und Zellrollen deutlich hervorgehoben werden konnten.

Die Konstruktion und Weiterentwicklung der Durchflußapparatur in Kombination mit der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie resultierte in einem geeigneten System, um ein Zellrollen in Glykolipid-dotierten Modellmembranen unter Flußbedingungen zu simulieren und auszuwerten. Mit den Ergebnissen konnten grundlegende Voraussetzungen für ein Zellrollen aufgezeigt werden.

- Neben den natürlichen Glykoproteinen sind auch Glykolipide mit den entsprechenden saccharidischen Bindungsepitopen in der Lage, Zellen in einem Scherstrom in eine Rollbewegung übergehen zu lassen.
- Die Abhängigkeit von lateraler Strukturierung der Glykolipide beweist, daß eine Beteiligung vieler schwach affiner Einzelbindungen zu den Selektinen im Rollprozeß notwendig ist. Unter Verwendung entsprechender Matrixlipide der Modellmembran wurde eine Clusterung der Selektinliganden erreicht. Eine räumliche

Konzentrierung der Bindungsepitope ist daher offensichtlich das gesuchte Prinzip der natürlichen Liganden.

- Daß sich die hohe Flexibilität der natürlichen Liganden ebenfalls positiv auf den Rollprozeß auswirkt, konnte mit dem Einsatz unterschiedlich langer Glykolipide nachgewiesen werden.
- Die Beobachtung des Zellrollprozesses unter unterschiedlichen Scherbedingungen zeigt, daß eine gewisse reversible Verformbarkeit der Zellen für das Rollen und dessen Regulation eine Grundvoraussetzung ist.

Die Modellanordnung wurde ebenfalls für die Suche nach Inhibitoren genutzt, die unter dynamischen Bedingungen das Rollverhalten der Zellen modulieren. Daraus läßt sich exakt auf die inhibitorische Effizienz verschiedener Substanzen als potentielle antiinflammatorische Substanzen schließen. Dabei läßt sich die inhibitorische Wirksamkeit der Verbindungen empfindlicher und realistischer differenzieren als in einem statischen Zellbindungsassay.

Auf der Suche nach potentiellen Selektinmimetika bleibt die Frage offen, ob das Clusterprinzip für eine enorme Affinitätserhöhung bei gleichbleibender schneller Bindungskinetik mittels löslicher Strukturen verwirklicht werden kann. Die Clusterung von Selektinliganden an den Oberflächen arzneitragender Vehikel und deren gezielter Transport zum Entzündungsherd scheint dagegen sehr aussichtsreich.