

## Derzeitige Forschungsgebiete

### 1. Molekulare Mechanismen und klinische Anwendbarkeit von kaltem atmosphärischem Plasma

Dr. Stephanie Arndt, Petra Unger, Gabriele Bollwein, Prof. Dr. Sigrid Karrer

Die Plasmamedizin hat sich in den letzten Jahren zu einem innovativen Forschungsgebiet mit großem Potenzial entwickelt. Seit der Entwicklung von Niedertemperaturplasmen stehen neue, fassettenreiche Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin zur Verfügung. Für die Dermatologie werden neue Horizonte in der Wundheilung, Geweberegeneration, Behandlung von Hautinfektionen und Bekämpfung von Tumorerkrankungen eröffnet. Die größte Herausforderung bei der Einführung der Plasmamedizin in den klinischen Alltag ist die Kenntnis über die genauen Wirkmechanismen von Plasma auf Zellebene und im komplexen Organismus. Nur so kann eine sichere Anwendung von Plasma am Patienten gewährleistet werden.

Für klinische Studien und zu Forschungszwecken steht uns am UKR in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie der MicroPlaSter beta (Handelsname „Adtec SteriPlas“) als Plasmagerät zur Verfügung. Diese Plasmaquelle wurde am Zentrum für Extraterrestrische Physik am MPE (Garching) in Kooperation mit Adtec Plasma Technology Co. Ltd (Hiroshima, Japan) entwickelt. Weitere zertifizierte Plasmageräte werden derzeit klinisch eingesetzt bzw. in klinischen Studien erprobt.



MicroPlaSter Alpha  
Das erste klinische  
System



MicroPlaSter beta  
Verbessert für klinische  
Studien



Adtec SteriPlas  
Gerät der dritten  
Generation für die  
allgemeine klinische  
Verwendung

In unseren Arbeiten untersuchen wir primär die Effekte von Plasma auf verschiedene Zelltypen der Haut und dessen Einfluss auf die Wundheilung *in vitro* und *in vivo*.

Unsere bisherigen Ergebnisse zeigten, dass Niedertemperaturplasma bereits sehr früh in den Prozess der Wundheilung eingreift und die Immunzellaktivierung fördert. Des Weiteren reduziert Plasma die bakterielle Entzündung durch die Aktivierung von antimikrobiellen Peptiden, den  $\beta$ -Defensinen, in Keratinozyten. Zudem fördert Plasma die Expression von wundheilungsrelevanten Zytokinen (z. B. IL-6, IL-8) und Wachstumsfaktoren (z. B. TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2) in Keratinozyten und Fibroblasten und induziert die Produktion von Kollagenen bedingt durch die Aktivierung von Fibroblasten. Somit fördert Plasma die Matrixsynthese der wiederherzustellenden Bindegewebsstruktur. Überdies konnten positive Effekte von Plasma auf die Neusynthese von Blutgefäßen (Angiogenese) beobachten werden, was speziell für die Wundheilung von großer Bedeutung ist. Ergänzend konnten wir in *In-vivo*-Studien an Mauswundheilungsmodellen zeigen, dass durch Plasma (10 Plasma Anwendungen zu je 2 min, MicroPlaSter beta) die Proliferation der Keratinozyten induziert wird.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch Plasma verschiedene zelluläre Mechanismen in unterschiedlichsten Zelltypen in allen drei Phasen der Wundheilung (Entzündungsphase, Granulationsphase, Reepithelisierungsphase) aktiviert werden, die sich allesamt positiv auf die Wundheilung auswirken [1, 2].

In zukünftigen Untersuchungen wollen wir die zellulären und molekularen Mechanismen, die durch die Plasmakomponenten (reaktive Spezies, UV-Strahlung, Ionen/Elektronen, elektrische Felder, Wärmestrahlung) im Rahmen der Wundheilung beeinflusst werden genauer analysieren.

In einem weiteren Projekt untersuchen wir die Wirkung von Plasma auf Tumorzellen (Melanom, kolorektales Karzinom) im Vergleich zu normalen, nicht entarteten Zellen. Hierbei konnten wir beobachten, dass Tumorzellen sehr viel sensitiver auf Plasma Behandlungen reagieren [3]. Diese Selektivität zwischen Tumor- und Normalzellen ist in der Tumorthherapie ein wichtiges Ziel. Bisher lässt sich allerdings noch nicht wirklich erklären, warum unter bestimmten Plasmabedingungen Tumorzellen selektiv in Apoptose, Nekrose, Zellzyklusarrest oder Seneszenz getrieben werden können, Normalzellen hingegen unversehrt bleiben. Dies soll in weiterführenden Studien untersucht werden.

## **2. Bone morphogenetic protein 6 (BMP6) als potentielles Target zur Therapie der Sklerodermie**

*Dr. Stephanie Arndt, Petra Unger, Prof. Dr. Claus Hellerbrand, Prof. Dr. Anja Bosserhoff, Prof. Dr. Sigrid Karrer*

In früheren Studien konnten wir einen neuen Co-Repressor des Bone Morphogenetic Protein (BMP) Signalwegs identifizieren [4]. In weiterführenden Arbeiten zeigte sich, dass dieser Co-Repressor, Fussel-15 (Functional smad suppressing element on chromosome 15), ein wichtiger Modulator der Wundheilung ist und in zwei bisher sehr therapieresistenten dermalen Erkrankungen, dem Keloid und der Sklerodermie, konstitutiv aktiv ist [5]. Im Rahmen aktueller Analysen stellten wir fest, dass BMP6 in Fibroblasten isoliert von Sklerodermie Patienten, im Vergleich zu Fibroblasten isoliert aus normaler Haut, fehlreguliert ist. Des Weiteren stellten wir fest, dass ein kompletter Verlust dieses Wachstumsfaktors im Sklerodermie Mausmodell zu einer verstärkten dermalen Fibrosierung führt. Erste *in vitro* Analysen mit Fibroblasten von BMP Wildtyp (wt) und BMP6 knockout (BMP6<sup>-/-</sup>) Mäusen zeigten zell- und molekularbiologische Unterschiede beider Zelltypen auf. Ziel ist es, die Ursache für die Fehlregulation von BMP6 bei Sklerodermie aufzuklären.

## **3. Entwicklung eines *ex vivo* Vollhaut-Sklerodermie Modells als Ersatz/Ergänzung zum Bleomycin-induzierten *in vivo* Maus Modell**

*Dr. Stephanie Arndt, Petra Unger, Prof. Dr. Sigrid Karrer*

Tierversuche sind ein wichtiges und nach wie vor unverzichtbares Erkenntnismittel in der biologischen und medizinischen Forschung. Die Minimierung von Belastungen der Tiere durch Vermeidung, Verminderung und Verbesserung (das sogenannte 3-R-Prinzip: „replacement, reduction, refinement“) ist ein seit langem anerkanntes Grundprinzip der Forschung und der Gesetzgebung. Aus diesem Grund versuchen wir ein *ex vivo* Haut Sklerodermie Modell zu etablieren. Durch gezielte Aktivierung der Fibroblasten versuchen wir eine überschießende Matrixproduktion und somit eine Sklerodermie-ähnliche Hautstruktur zu erreichen. Dieses *ex vivo* Modell soll zukünftig die Untersuchungen und den Einsatz von potentiellen Therapeutika zur Behandlung von Sklerodermie vereinfachen.

## **4. Studie zur Wirkung von UVA1 (schmales Spektrum; 360-400nm) versus UVA1 (breites Spektrum; 340-400nm) auf die dermale Fibrose (Sklerodermie)**

*Dr. Stephanie Arndt, Petra Unger, Gabriele Bollwein, Clara Lissner, Prof. Dr. Sigrid Karrer, Prof. Dr. Wolfgang Bäuml*

Die Therapie mit ultravioletten (UV-) Strahlen gehört zu den effektivsten Behandlungsmodalitäten sklerotischer Hauterkrankungen [6-9]. Bewährt hat sich die ärztlich kontrollierte Lichttherapie (Phototherapie) der Sklerodermie mit UVA-Licht: Dieser langwellige Typ der UV-Strahlung wirkt gegen Entzündungen und fibrotische Erscheinungen. Die anti-fibrotische Wirkung ergibt sich durch die Induktion verschiedener Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und einer daraus resultierenden Inhibition der Kollagenproduktion [10-12]. Zudem kommt es zur Abnahme der bei der Sklerodermie vermehrt vorkommenden Kollagen-Quervernetzungen, was ebenfalls mit einer Reduktion der Hautsklerose einhergeht [13]. Die Entwicklung einer Bestrahlungslampe mit einer Emission von 340 – 400 nm war 1981 der Grundstein für die heutige UVA1 Phototherapie [14].

In unseren Untersuchungen soll die Eignung einer neuen LED UVA1 Bestrahlungslampe mit schmalen UVA1 Spektrum (360 - 400 nm) zur Behandlung von Sklerodermie untersucht und die Wirkung mit bisher benutzten Lampen mit breiterem und potenziell schädlicherem (kanzerogenem) Spektrum (340 - 400 nm) verglichen werden. Die Verwendung von LED Lampen reduziert die Hitzeentwicklung, die bisher bei der herkömmlichen Lichttherapie für den Patienten sehr unangenehm war. Zudem ist die Leistung von LED Lampen deutlich stärker, so dass sich bei gleicher UV-Dosis, die Anwendungszeit deutlich reduzieren lässt.

Um die Wirkung dieser Lampen auf molekularer Ebene zu überprüfen, sollen Zellkulturexperimente mit verschiedenen Zelltypen (Fibroblasten, Keratinozyten) durchgeführt werden.

Zudem soll das Modell der Bleomycin-induzierten Fibrose am 129/SvEv Mausstamm verwendet werden. Mittels Histologie (H&E, Ki67, alpha-SMA, Sirius Red/Fast Green, Hydroxyprolin etc.), Vermessung des Dermis Durchmessers, Bestimmung des Hydroxyprolin- und Kollagengehalt und molekularbiologischen Methoden (RT-PCR/ELISA: TGF- $\beta$ 1-3, IFN-gamma, MMP1-3, IL-6, IL-8, Kollagen Typ I, Kollagen Typ III etc.) soll die Wirkung beider Spektren (UVA1 breit und schmal) auf die Sklerodermie im Tiermodell untersucht und verglichen werden. Diese Untersuchungen sind die Voraussetzung für den Einsatz dieser neuen Lampe in der Klinik zur Behandlung von Sklerodermie Patienten.

## Referenzen

1. Arndt, S., et al., *Effects of cold atmospheric plasma (CAP) on ss-defensins, inflammatory cytokines, and apoptosis-related molecules in keratinocytes in vitro and in vivo*. PLoS One, 2015. **10**(3): p. e0120041.
2. Arndt, S., et al., *Cold atmospheric plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo*. PLoS One, 2013. **8**(11): p. e79325.
3. Arndt, S., et al., *Cold atmospheric plasma, a new strategy to induce senescence in melanoma cells*. Exp Dermatol, 2013. **22**(4): p. 284-9.
4. Arndt, S., et al., *Fussel-15, a novel Ski/Sno homolog protein, antagonizes BMP signaling*. Mol Cell Neurosci, 2007. **34**(4): p. 603-11.
5. Arndt, S., et al., *Fussel-15, a new player in wound healing, is deregulated in keloid and localized scleroderma*. Am J Pathol, 2011. **178**(6): p. 2622-31.
6. Breuckmann, F., et al., *UVA/UVA1 phototherapy and PUVA photochemotherapy in connective tissue diseases and related disorders: a research based review*. BMC Dermatol, 2004. **4**(1): p. 11.
7. Gambichler, T., S. Terras, and A. Kreuter, *Treatment regimens, protocols, dosage, and indications for UVA1 phototherapy: facts and controversies*. Clin Dermatol, 2013. **31**(4): p. 438-454.
8. Kroft, E.B., et al., *Ultraviolet A phototherapy for sclerotic skin diseases: a systematic review*. J Am Acad Dermatol, 2008. **59**(6): p. 1017-30.
9. Sunderkotter, C., et al., *Phototherapy: a promising treatment option for skin sclerosis in scleroderma?* Rheumatology (Oxford), 2006. **45 Suppl 3**: p. iii52-iii54.
10. Scharffetter, K., et al., *UVA irradiation induces collagenase in human dermal fibroblasts in vitro and in vivo*. Arch Dermatol Res, 1991. **283**(8): p. 506-11.
11. Wlaschek, M., et al., *Singlet oxygen is an early intermediate in cytokine-dependent ultraviolet-A induction of interstitial collagenase in human dermal fibroblasts in vitro*. FEBS Lett, 1997. **413**(2): p. 239-42.
12. Yin, L., et al., *The expression of matrix metalloproteinase-1 mRNA induced by ultraviolet A1 (340-400 nm) is phototherapy relevant to the glutathione (GSH) content in skin fibroblasts of systemic sclerosis*. J Dermatol, 2003. **30**(3): p. 173-80.
13. Brinckmann, J., et al., *Different pattern of collagen cross-links in two sclerotic skin diseases: lipodermatosclerosis and circumscribed scleroderma*. J Invest Dermatol, 2001. **117**(2): p. 269-73.
14. Mutzhas, M.F., et al., *A new apparatus with high radiation energy between 320-460 nm: physical description and dermatological applications*. J Invest Dermatol, 1981. **76**(1): p. 42-7.

## Publikationsverzeichnis Dr. Stephanie Arndt

Karrer S, **Arndt S**. Plasma medicine in dermatology: Mechanisms of action and clinical applications. *Hautarzt*. 2015 Nov;66(11):819-28

**Arndt S**, Landthaler M, Zimmermann JL, Unger P, Wacker E, Shimizu T, Li YF, Morfill GE, Bosserhoff AK, Karrer S. Effects of cold atmospheric plasma (CAP) on  $\beta$ -defensins, inflammatory cytokines, and apoptosis-related molecules in keratinocytes in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2015 Mar 13;10(3)

**Arndt S**, Wacker E, Dorn C, Koch A, Saugspier M, Thasler WE, Hartmann A, Bosserhoff AK, Hellerbrand C. Enhanced expression of BMP6 inhibits hepatic fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2015 Jun;64(6):973-81

**Arndt S**, Unger P, Wacker E, Shimizu T, Heinlin J, Li YF, Thomas HM, Morfill GE, Zimmermann JL, Bosserhoff AK, Karrer S. Cold atmospheric plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2013 Nov 12;8(11)

**Arndt S**, Wacker E, Li YF, Shimizu T, Thomas HM, Morfill GE, Karrer S, Zimmermann JL, Bosserhoff AK. Cold atmospheric plasma, a new strategy to induce senescence in melanoma cells. *Exp Dermatol*. 2013 Apr;22(4)

Canady J, **Arndt S**, Karrer S, Bosserhoff AK. Increased KGF expression promotes fibroblast activation in a double paracrine manner resulting in cutaneous fibrosis. *J Invest Dermatol*. 2013 Mar;133(3):647-57

Fischer S, Bayersdorfer F, Harant E, Reng R, **Arndt S**, Bosserhoff AK, Schneuwly S. fussel (fuss)--A negative regulator of BMP signaling in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*. 2012;7(8):e42349

Maegdefrau U, **Arndt S**, Kivorski G, Hellerbrand C, Bosserhoff AK. Downregulation of hemojuvelin prevents inhibitory effects of bone morphogenetic proteins on iron metabolism in hepatocellular carcinoma. *Lab Invest*. 2011 Nov;91(11):1615-23

**Arndt S**, Schmidt J, Wacker E, Karrer S, Bosserhoff AK. Fussel-15, a new player in wound healing, is deregulated in keloid and localized scleroderma. *Am J Pathol*. 2011 Jun;178(6):2622-31

**Arndt S**, Maegdefrau U, Dorn C, Schardt K, Hellerbrand C, Bosserhoff AK. Iron-induced expression of bone morphogenic protein 6 in intestinal cells is the main regulator of hepatic hepcidin expression in vivo. *Gastroenterology*. 2010 Jan;138(1):372-82

Wehder L, **Arndt S**, Murzik U, Bosserhoff AK, Kob R, von Eggeling F, Melle C. Annexin A5 is involved in migration and invasion of oral carcinoma. *Cell Cycle*. 2009 May 15;8(10):1552-8

Winklmeier A, Contreras-Shannon V, **Arndt S**, Melle C, Bosserhoff AK. Cadherin-7 interacts with melanoma inhibitory activity protein and negatively modulates melanoma cell migration. *Cancer Sci*. 2009 Feb;100(2):261-8

**Arndt S**, Bosserhoff AK. Reduced expression of TANGO in colon and hepatocellular carcinomas. *Oncol Rep*. 2007 Oct;18(4):885-91

**Arndt S**, Melle C, Mondal K, Klein G, von Eggeling F, Bosserhoff AK. Interactions of TANGO and leukocyte integrin CD11c/CD18 regulate the migration of human monocytes. *J Leukoc Biol*. 2007 Dec;82(6):1466-72

**Arndt S**, Poser I, Moser M, Bosserhoff AK. Fussel-15, a novel Ski/Sno homolog protein, antagonizes BMP signaling. *Mol Cell Neurosci*. 2007 Apr;34(4):603-11

**Arndt S**, Bosserhoff AK. TANGO is a tumor suppressor of malignant melanoma. *Int J Cancer*. 2006 Dec 15;119(12):2812-20

**Arndt S**, Poser I, Schubert T, Moser M, Bosserhoff AK. Cloning and functional characterization of a new Ski homolog, Fussel-18, specifically expressed in neuronal tissues. *Lab Invest*. 2005 Nov;85(11):1330-41