

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|---|----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Zielsetzung | 2 |
| 3 | Literaturübersicht | 3 |
| 3.1 | Multizelluläre Tumorsphäroide (MCTS)..... | 3 |
| 3.1.1 | Methoden zur Herstellung von MCTS..... | 4 |
| 3.1.1.1 | Liquid-Overlay Technik..... | 4 |
| 3.1.1.2 | Spinner-Flask Methode..... | 4 |
| 3.1.1.3 | Neue Möglichkeiten der Sphäroidkultur..... | 4 |
| 3.2 | Das Zytoskelett der Zelle..... | 5 |
| 3.3 | Die Extrazelluläre Matrix (EZM)..... | 7 |
| 3.3.1 | Kollagen Typ I und III..... | 7 |
| 3.3.2 | Fibronektin..... | 8 |
| 3.3.3 | Laminin..... | 8 |
| 3.3.4 | Osteopontin..... | 9 |
| 3.3.5 | Chondroitinsulfat..... | 9 |
| 3.3.6 | Integrine..... | 9 |
| 3.3.7 | Transforming Growth Factor- β | 10 |
| 3.3.8 | Einfluß der Extrazellulären Matrix auf die Zelle..... | 11 |
| 3.4 | Apoptose..... | 12 |
| 3.4.1 | Extrinsische Faktoren..... | 14 |
| 3.4.1.1 | Fas (CD95)/Tumor Nekrose Faktor Rezeptor 1..... | 14 |
| 3.4.1.2 | Die Bedeutung von Fas im Körper..... | 16 |
| 3.4.2 | Intrinsische Faktoren..... | 18 |
| 3.4.2.1 | Die Bcl-2 Familie..... | 18 |
| 3.4.2.2 | p53 und Apoptose..... | 20 |
| 3.4.3 | Apoptose als Angriffspunkt von Medikamenten..... | 21 |
| 3.5 | Schilddrüsenkarzinome..... | 22 |
| 3.5.1 | Papilläre Schilddrüsenkarzinome (PTC)..... | 23 |
| 3.5.2 | Follikuläre Schilddrüsenkarzinome (FTC)..... | 23 |
| 3.5.3 | Behandlung von Schilddrüsenkarzinomen..... | 23 |
| 3.5.4 | Onkogene und die Entstehung von Malignomen..... | 25 |
| 3.5.5 | Gentherapie von Schilddrüsenkarzinome..... | 26 |
| 3.5.5.1 | p53 als Angriffspunkt..... | 26 |
| 3.5.5.2 | Selbstmordgene..... | 26 |
| 3.5.5.3 | Immuntherapie..... | 27 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 3.5.5.4 | Jodtransporter | 27 |
| 3.5.5.5 | Antisense | 28 |
| 3.5.5.6 | Retinsäure..... | 28 |
| 3.6 | Der Klinostat | 28 |
| 4 | Material und Methoden..... | 31 |
| 4.1 | Material..... | 31 |
| 4.1.1 | Geräte | 31 |
| 4.1.1.1 | Klinostat | 32 |
| 4.1.1.2 | Das Durchflusszytometer | 33 |
| 4.1.1.2.1 | Das Flüssigkeitssystem..... | 34 |
| 4.1.1.2.2 | Das optische System..... | 34 |
| 4.1.1.2.3 | Das elektrische System..... | 35 |
| 4.1.2 | Gebrauchsfertige Kits..... | 35 |
| 4.1.3 | Verbrauchsmaterialien..... | 35 |
| 4.1.4 | Chemikalien | 36 |
| 4.1.5 | Antikörper..... | 37 |
| 4.1.6 | Elektronenmikroskopie | 38 |
| 4.1.7 | TUNEL-Färbung | 38 |
| 4.1.8 | Vitalfärbung | 39 |
| 4.1.9 | Westernblot-Analyse | 39 |
| 4.1.10 | Die Zelllinien..... | 41 |
| 4.1.10.1 | ML-1-Zelllinie..... | 41 |
| 4.1.10.2 | ONCO-DG1-Zelllinie..... | 41 |
| 4.1.10.3 | HTU-5-Zelllinie | 42 |
| 4.2 | Methoden | 42 |
| 4.2.1 | Zellkulturtechnik | 42 |
| 4.2.2 | Gewinnung von Zellmaterial nach Kultivierung auf dem Klinostaten..... | 44 |
| 4.2.3 | Transmissionselektronenmikroskopie..... | 44 |
| 4.2.4 | TUNEL-Färbung..... | 45 |
| 4.2.5 | DAPI-Färbung..... | 46 |
| 4.2.6 | Vitalitätstest mit Acridinorange-Ethidiumbromid-Färbung..... | 46 |
| 4.2.7 | Propidiumiodid | 46 |
| 4.2.8 | DNA-Leiter-Assay-elektrische Analyse von DNA-Fragmenten | 47 |
| 4.2.9 | Mikroskopie | 47 |
| 4.2.10 | Immunzytochemische Färbung | 48 |
| 4.2.11 | Durchflusszytometrie | 48 |
| 4.2.12 | Westernblotanalyse | 50 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 5 | Ergebnisse | 52 |
| 5,1 | Simulierte Schwerelosigkeit und Morphologie | 52 |
| 5.2 | Veränderungen des Zytoskeletts durch simulierte Schwerelosigkeit | 55 |
| 5.2.1 | ML-1 Zelllinie | 55 |
| 5.2.2 | ONCO-DG1 Zelllinie | 57 |
| 5.2.3 | HTU-5 Zelllinie | 59 |
| 5.3 | Extrazelluläre Matrix und Schwerelosigkeit | 61 |
| 5.3.1 | ML-1 Zelllinie | 61 |
| 5.3.2 | ONCO-DG1 Zelllinie | 64 |
| 5.3.3 | HTU-5 Zelllinie | 67 |
| 5.4 | Simulierte Schwerelosigkeit und Apoptose..... | 68 |
| 5.4.1 | ML-1 Zelllinie | 68 |
| 5.4.2 | ONCO-DG1 Zelllinie | 71 |
| 5.4.3 | HTU-5Zelllinie | 74 |
| 5.5 | Thyreoglobulin | 77 |
| 5.6 | Auswirkungen der simulierten Schwerelosigkeit..... | 78 |
| 6 | Diskussion | 79 |
| 6.1 | Tumorzellen und Schwerelosigkeit..... | 79 |
| 6.2 | Dreidimensionale multizelluläre Tumorsphäroide | 80 |
| 6.3 | Veränderungen des Zytoskeletts der Schilddrüsenzellen unter simulierter Schwerelosigkeit | 82 |
| 6.4 | Rolle der Extrazellulärmatrix bei Tumoren..... | 84 |
| 6.5 | Thyreoglobulin und Schwerelosigkeit | 85 |
| 6.6 | Apoptose und Malignität..... | 86 |
| 6.7 | Der Klinostat als Research-Tool..... | 90 |
| 7 | Zusammenfassung | 92 |
| 8 | Summary | 93 |
| 9 | Literaturverzeichnis | 94 |
| 10 | Wissenschaftliche Publikationen | 116 |
| 10 | Danksagung | 117 |
| 11 | Lebenslauf | 118 |
| 12 | Selbstständigkeitserklärung | 119 |