

| | |
|---|-----------|
| Einleitung | 7 |
| 1. Vorläufer-T-Zell ALL – Biologie und Klinik..... | 7 |
| 1.1 Akute Leukämien – Definition und Entstehung | 7 |
| 1.2 Klassifikation akuter Leukämien – Der Subtyp der Vorläufer-T-Zell ALL..... | 9 |
| 1.3 Akute lymphoblastische Leukämie: Therapie und Prognose..... | 12 |
| 2. Apoptose und deren Regulationsmechanismen | 13 |
| 2.1 Apoptose — Definition und Prozeß | 13 |
| 2.2 Apoptose-regulierende Proteine: die Bcl-2-Protein-Familie..... | 16 |
| 2.3 Das CD95-Rezeptor/Ligand-System..... | 20 |
| 2.4 Molekulare Mechanismen der Chemotherapeutika Doxorubicin und Dexamethason | 21 |
| 2.5 Zytokine als Regulationsfaktoren in der Apoptose und Hämatopoese der T-Zell- Entwicklung: Zentrale Rolle von Interleukin-7 | 25 |
| 3. Fragestellung..... | 28 |
| Material und Methoden | 29 |
| 1. Patientenproben und klinische Daten..... | 29 |
| 2. Zelllinien | 30 |
| 3. Zellkultivierung | 30 |
| 4. Durchflußzytometrie: Das Prinzip und Anwendung | 30 |
| 5. Untersuchungen zur Apoptose | 31 |
| 5.1 Färbung und Messung apoptotischer Zellen..... | 32 |
| 5.2 Untersuchung der Zellzyklusverteilung | 34 |
| 6. Untersuchungen der Antigenexpression an der Zelloberfläche | 36 |
| 7. Nachweis der intrazytoplasmatischen Expression der Proteine Bcl-2 und Bax | 37 |
| 8. Intrazelluläre Lokalisierung von Proteinen mittels konfokaler Laserscan-Mikroskopie | 38 |
| 8.1 Färbung der Zellen..... | 38 |
| 8.2 Einbetten gefärbter Zellen zur Vorbereitung für die Mikroskopie | 39 |
| 8.3 Messung und Auswertung mit Hilfe konfokaler Laserscan-Mikroskopie..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 9. Statistische Analysen | 40 |
| Ergebnisse | 42 |
| 1. Sensitivität von primären Vorläufer-T-Zell ALL gegenüber Apoptose-Induktion <i>in vitro</i> | 42 |
| 2 Charakterisierung primärer Vorläufer-T-Zell ALL hinsichtlich der Sensitivität gegenüber Zytokinen <i>in vitro</i> | 46 |
| 2.1 <i>Expression der Zytokin-Rezeptoren IL-7-α, IL-4-α, IL-2-α und IL-2-γ in Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 49 |
| 2.2 <i>Wirkung der Zytokine IL-2, IL-4 und IL-7 auf die Zellzyklusverteilung in Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 50 |
| 2.3 <i>Bedeutung der Sensitivität zu IL-7 auf die <i>in vitro</i>-Chemosensitivität in Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 51 |
| 3. Rolle Apoptose-relevanter Proteinen für das <i>in vitro</i> Ansprechen in Vorläufer-T-Zell ALL | 55 |
| 3.1 <i>Beteiligung von Bcl-2, Bax und CD95 in der Regulation der spontanen Apoptose</i> | 56 |
| 3.2 <i>Beteiligung von Bcl-2, Bax und CD95 in der Regulation der Chemotherapeutika-induzierten Apoptose</i> | 58 |
| 3.3 <i>Beteiligung von Bcl-2 und Bax in der Regulation der Apoptoseinhibition durch IL-7 in primären Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 59 |
| 3.4 <i>Intrazelluläre Lokalisation von Bcl-2 und Bax in Vorläufer-T-Zell ALL und deren Bedeutung für die Induzierbarkeit von Apoptose</i> | 61 |
| 4. Korrelation des <i>in vitro</i> Ansprechens auf Apoptoseinduktion und Zytokine mit dem Immunphänotyp der Vorläufer-T-Zell ALL | 65 |
| 5. Korrelation des <i>in vitro</i> Ansprechens auf Apoptoseinduktion und Zytokine mit dem Therapieansprechen <i>in vivo</i> | 69 |
| Diskussion | 73 |
| 6. Sensitivität gegenüber Apoptose-Induktion in Vorläufer-T-Zell ALL: Kortikale Vorläufer-T-Zell ALL stellen den sensitivsten Subtyp gegenüber der Chemotherapeutika-induzierten Apoptose dar | 73 |
| 7. Expression und Funktionalität Apoptose-relevanter Regulationsfaktoren in Vorläufer-T-Zell ALL | 74 |
| 7.1 <i>Der CD95 Signalweg ist nicht bedeutsam für die spontane oder die Chemotherapeutika-induzierte Apoptose in Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 74 |
| 7.2 <i>Differenzielle Beteiligung von Bcl-2 und Bax in der spontanen und Chemotherapeutika-induzierten Apoptose in Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 75 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 7.3 | <i>Intrazelluläre Lokalisationsänderungen Apoptose-relevanter Regulationsfaktoren während der in vitro Induktion von Apoptose in Vorläufer-T-Zell ALL</i> | 76 |
| 8. | IL-7 als antiapoptotischer Überlebensfaktor in Vorläufer-T-Zell ALL | 77 |
| 8.1 | <i>Kortikale Vorläufer-T-Zell ALL stellen den sensitivsten Subtyp gegenüber der Apoptose-Inhibition durch IL-7 dar</i> | 79 |
| 8.2 | <i>Die durch IL-7 hervorgerufene Apoptose-Inhibition korreliert mit der IL-7-Rezeptor Expression und einer Expressionserhöhung von Bcl-2</i> | 80 |
| 9. | Prognostische Bedeutung der in vitro Sensitivität gegenüber Chemotherapeutika und IL-7 für das klinische Ansprechen in vivo | 83 |
| 9.1 | <i>Die in vitro Sensitivität gegenüber Dexamethason korreliert mit dem frühen in vivo Ansprechen auf die Chemotherapie</i> | 83 |
| 9.2 | <i>Die in vitro Sensitivität gegenüber IL-7 stellt einen unabhängigen Parameter zur Erkennung von Vorläufer-T-Zell ALL Subtypen mit unterschiedlicher Sensitivität gegenüber Apoptose-Induktion dar</i> | 84 |
| | Zusammenfassung | 86 |
| | Summary | 88 |
| | Literatur | 90 |