

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik  
(Department) Tübingen  
Abteilung IV  
(Schwerpunkte: Endokrinologie und Diabetologie, Angiologie,  
Nephrologie und Klinische Chemie)  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H.-U. Häring**

**Der Einfluss von all-trans-Retinsäure, TSH und Lycopin  
auf den <sup>125</sup>I-Iodid und <sup>3</sup>H-Thymidin-Stoffwechsel von  
kultivierten Schweinethyreozyten**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnheilkunde**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Ute Sabine Maier, geb. Heringer**

**aus**

**Geislingen/Steige**

**2008**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. R. Wahl

2. Berichterstatter: Frau Professor Dr. E. Fröhlich

Gewidmet meiner Familie

## Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.	- Abbildung
AK <sub>1</sub>	- Antikörper 1
AK <sub>2</sub>	- Antikörper 2
AP	- alkalische Phosphatase
APL	- akute Promyelozytenleukämie
ATRA	- All-trans-retinoic acid
Bq	- Becquerel, 1 Zerfall pro Sekunde
kBq	- Kilo-Bequerel
cpm	- counts per minute
dpm	- disintegrations per minute
EGF	- epidermal growth factor
Excel	- Statistikprogramm von Microsoft
IGF I	- insulin-like growth factor
g	- Gravitation, Erdbeschleunigung
g	- Gramm, 10 <sup>-3</sup> Kilogramm
mg	- Milligramm, 10 <sup>-6</sup> Kilogramm
µg	- Mikrogramm, 10 <sup>-9</sup> Kilogramm
h	- Stunde
JMP	- Statistikprogramm von SAS
M	- molar
mmol	- Milimol, 10 <sup>-3</sup> Mol
l	- Liter
ml	- Mililiter
µl	- Mikroliter
min	- Minute
n	- Anzahl der Proben
NBT	- p-Nitroblautetrazoliumchlorid
NGS	- Normal goat serum
NIS	- Natrium-Iodid-Symporter

P	- statistische Wahrscheinlichkeit
PBS	- phosphate buffered saline, phosphatgepufferte Salzlösung
RA	- Retinsäure
RAMBA	- Retinoic Acid Metabolism Blocking Agents
RAR $\alpha$	- Retinoic acid receptor $\alpha$
RXR $\alpha$	- Retinoid X receptor $\alpha$
S	- Sekunde
StabW	- Standardabweichung
SEM	- Standard Error of the Mean, mittlerer Fehler des Mittelwertes
Tab.	- Tabelle
TBS	- Tris buffer saline
TSH	- Thyreoidea stimulierendes Hormon, Thyreotropin
U	- Unit
MU	- Milliunit, 10 <sup>-3</sup> Unit
Vit. A	- Vitamin A
Vol %	- Volumenprozent

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>Seite</b>
<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
<b>1. Material</b>	<b>12</b>
1.1 Geräte für die Zellkultur	12
1.2 Einwegartikel, Kulturgefäße und Filter	12
1.3 Chemikalien und Reagenzien	13
1.4 Radioaktive Chemikalien	14
1.5 Medien und Lösungen	15
<b>2. Methoden</b>	<b>16</b>
2.1 Präparation/ Isolierung der Schilddrüsenzellen von Schweinen, Flussdiagramm	16 19
2.2 Zellzählung	20
2.3 Herstellung der Thyreozytenkulturen und deren Stimulation mit TSH, all-trans-Retinsäure und Lykopin	20 20
2.4 Strukturformeln der Stimulanzen	21
2.5 Kulturbedingungen	22
2.6 Zellernte und Messung der Iodid- und Thymidin- aufnahme in die Thyreozyten	22 22
2.7 Mycoplasmennachweis	23
2.8 Statistische Auswertung	24
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>25</b>
3.1 $^3\text{H}$ -Thymidin- und $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in kultivierte Schweine- thyreozyten in Abhängigkeit von unterschiedlichen Konzentrationen an all-trans-Retinsäure	25 25
3.2 $^3\text{H}$ -Thymidin- und $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in kultivierte Schweine- thyreozyten in Abhängigkeit von Lykopin, TSH und dem Vitamin A- Gehalt des Mediums	35 35
3.3 $^3\text{H}$ -Thymidin- und $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in kultivierte Schweine- thyreozyten in Abhängigkeit von TSH, dem Vitamin A-Gehalt des	57 57

## Mediums und des Ciprobay<sup>®</sup>-Zusatzes zum Kulturmedium

<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>78</b>
4.1	Methoden	78
4.2	<sup>125</sup> I-Radioiodid-Inkorporation in Thyreozyten unter dem Einfluss von all-trans-Retinsäure, Lykopin und TSH	79
4.3	<sup>3</sup> H-Thymidin-Inkorporation in Thyreozyten unter dem Einfluss von all-trans-Retinsäure, Lykopin und TSH	83
4.4	Ciprobay <sup>®</sup> -Zugabe zum Kulturmedium und seine Auswirkungen auf die Iodid- und Thymidinaufnahme in Thyreozyten	86
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>88</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturnachweis</b>	<b>89</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>99</b>
7.1	Zahlenwerte der Abbildungen im Ergebnis-Teil	99

## Einleitung

In der Bundesrepublik Deutschland erkranken jährlich ca. 1-4 pro 100 000 Personen an einem Schilddrüsenmalignom. Im Vergleich zu Malignomen anderer Organe, zählt das Auftreten der Schilddrüsenmalignome daher zu den selteneren Krebserkrankungen. Bezogen auf das endokrine System ist es das am häufigsten betroffene Organ (Lind, P. et al. 1998). Frauen sind ca. 2–3 mal häufiger betroffen als Männer.

Die differenzierten Karzinome stellen mit dem papillären und follikulären Typ die am häufigsten vorkommenden Malignome der Schilddrüse (Mann, K. 2002). Bei 70% der papillären Schilddrüsenkarzinome wurden genetische Veränderungen gefunden, die den Signalweg des MAPK (mitogen-activated protein kinase) beeinflussen (Nikiforov, YE, 2008). Die häufigsten Punktmutationen betreffen dabei die BRAF und RAS Gene. Beim follikulären Malignom konnte ebenfalls eine Mutation des RAS und eine Neuordnung des PAX8-PPARgamma Komplexes festgestellt werden (Nikiforov, YE, 2008). Aufgrund der Punktmutation des RAS kommt es zu einer Störung im Signalweg, d.h. der Wechsel von GTP zu GDP ist blockiert. Der daraus resultierende Verlust der GTPase-Aktivität bewirkt eine permanente Wachstumsstimulation der Zellen.

Die anaplastischen (undifferenzierten) Schilddrüsenkarzinome entwickeln sich aus entdifferenzierten Zellen der papillären bzw. follikulären Tumoren oder bilden sich neu. Sie sind die aggressivsten Tumore der Schilddrüse mit sehr ungünstiger Prognose (Becker, H et al. 2002; Reddi, HV et al. 2008).

Den meisten Schilddrüsenmalignomen fehlt die Fähigkeit der Radioiodspeicherung. Durch die Therapie mit Retinoiden können diese Malignomzellen einer Radioiodtherapie wieder zugänglich gemacht werden (Schreck et al. 1994; Simon et. al 1996).

Die Stoffgruppe der Retinoide umfasst eine Reihe natürlicher und synthetischer Verbindungen mit ähnlicher chemischer Struktur aber unterschiedlichem Wirkungsbereich. Im weitesten Sinne werden zu den Retinoiden auch die in Pflanzen enthaltenen Carotinoide gezählt. Diese werden im menschlichen Organismus zum Teil in Retinol und Retinsäure umgesetzt. Man unterscheidet



Carotinoide mit Vitamin A- Aktivität und ohne Vitamin A- Aktivität. Bisher bekannt sind ca. 400 Carotinoide wovon 50 eine Vitamin A- Aktivität aufweisen (Olson, 1994). Über RBP - Rezeptoren (Retinol Binding Protein - Receptors) die an den Oberflächen der Zielzellen sitzen, werden Retinoide in die Zellen aufgenommen. Die im Zytosol enthaltenen Bindungsproteine CRABP I+II für Retinsäure und CRBP I+II für Retinol vermitteln den Transfer der Retinoide zu den nukleären Rezeptoren RAR und RXR im Zellkern. Dabei handelt es sich um die Liganden- abhängigen Transkriptionsfaktoren Retinoid Acid Receptor und Retinoid X Receptor. Diese finden sich in normalen Schilddrüsengeweben und sind auch in verschiedenen Schilddrüsenkarzinomzellen nachweisbar (Schmutzler 1996).

Retinoide werden therapeutisch in der Krebstherapie angewandt. Ihre anti-proliferativen Eigenschaften werden vor allem bei der Promyelozytenleukämie, dem Gebärmutterhalskrebs und dem metastasierendem sowie dem squamösen Hautkrebs genutzt (Smith et. al. 1992, Weis et al. 1994, Camacho 2003). Für Psoriasis- und Aknepatienten ist die Behandlung mit Retinoiden inzwischen unerlässlich (Marghescu 1982, Stüttgen 1980). Für die Therapie der Malignome macht man sich die Wirkung der Retinoide, eine Apoptose zu induzieren, zu Nutze. Die Apoptose, der programmierte Zelltod, kann z.B. Zellen von differenzierten Schilddrüsenmalignomen gezielt absterben lassen (Iwata et al. 1992, Zhang et al 1995, Fröhlich und Wahl 1999). Das synthetische Retinoid Fenretinid besitzt ebenfalls antiproliferative Eigenschaften. Es senkt den Plasmaspiegel von IGF I (Torrise et al. 1993) und besitzt dabei weniger toxische Eigenschaften als all-trans-Retinsäure. Andererseits werden eine Reihe von Schilddrüsenmalignomzellen, welche kein Radioiod mehr speichern können durch eine Retinoidbehandlung wieder zur Aufnahme von Iod befähigt. (Schreck et al. 1994; Simon et. al 1996). Die Tumorzellen werden durch diese Redifferenzierungstherapie für eine Radioiodtherapie zugänglich (Simon et al. 1996). Zhang et al. (2007) verabreichten Patienten, die an einem follikulären oder papillären Schilddrüsenkarzinom erkrankt waren, über 30 bzw. 60 Tage, all-trans-Retinsäure ( $1.00 \pm 0.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). In der Folge konnte an 11 Patienten eine erhöhte Radioiodaufnahme beobachtet

werden. In Versuchen, die mit MCF-7 Zellen (humane Mamma-Karzinomzellen) durchgeführt wurden, konnte die Iodidaufnahme durch Retinsäure um das 9-fache gesteigert werden. Dies ist auf eine erhöhte NIS-mRNA Expression durch Retinsäure zurückzuführen (Koagi et al. 2000). Reddi et al. berichten über eine neue Therapiemöglichkeit. Sie verwendeten ein onkolytisches Adenovirus, das ONYX-411, welches *in vitro*, bei acht der humanen Zelllinien des anaplastischen Karzinoms den Zelltod einleitet.

Carotinoide bestehen wie die Retinoide im engeren Sinne aus Isopren-Einheiten. Sie gelten als starke Radikalfänger. In den letzten Jahren verstärkte sich das Interesse am Carotinoid Lykopen zunehmend. Ursächlich hierfür sind die Berichte über die Möglichkeiten der Prävention von Herz- und Gefäßerkrankungen, von Prostata- und Magen-Darm-Krebs durch Lykopen (Steven et al. 1998; Gerster 1997). Mc Devitt et al. (2005) beschäftigten sich mit der Vitamin A-abhängigen Wirkung von Lykopen. Die Untersuchungen wurden an Zelllinien humaner Monozyten und Makrophagen durchgeführt. Dabei wurden U-937 Zellen über ein Zeitfenster zwischen einem und sechs Tagen in einem Serum mit 2 – 8 mmol / l Lykopen inkubiert. Daraus ergab sich ein Lykopengehalt von 0,2 – 1,1 nmol / mg Zellprotein. Dies entspricht ungefähr der 10 – fachen Menge des *in-vivo* Gehaltes von Lykopen in Zellen. Dieser 10-fach höhere Lykopengehalt bewirkte eine Hemmung der Proliferation und regte als einziges Carotinoid (weitere Versuchssubstanzen: Lutein,  $\beta$ -Carotin) die Zelldifferenzierung an. Auf Mundkrebs-Zellkulturen wirkt sich Lykopen hemmend aus (Schwartz et al. 2000).

Lykopen gehört zu den nicht zyklischen Carotinoiden und besitzt die höchste Sättigungsrate für Singulett-Sauerstoff (Di Mascio, 1989). Da ihm der  $\beta$ -Iononring fehlt, ist Lykopen ohne Provitamin A- Aktivität. Die elf konjugierten Doppelbindungen können Mono- oder Poli-cis-Isomere bilden. Das Lykopen liegt in unveränderter Form im Plasma und Geweben vor. Bei Bedarf wird es in Retinol umgesetzt. Das in vielen Früchten vorkommende Lykopen ist äußerst licht-, säure- und hitzeempfindlich. Beim Kochen von Tomaten, welche sehr viel Lykopen enthalten, wird ein großer Teil des Lykopen zerstört. Auf seine

Wirksamkeit scheint dies keine Auswirkung zu haben. Es wird angenommen, dass es zu einer Umwandlung des Lycopin in einen aktiveren Metaboliten kommt (Gerster, H. 1997). So konnte bei gekochten Tomatenprodukten generell eine höhere Bioverfügbarkeit und bei Prostatakarzinomen eine erhöhte chemopräventive Aktivität nachgewiesen werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Einfluss von all-trans-Retinsäure, Lycopin und TSH auf den Thymidin- und Iodstoffwechsel normaler Schweinethyreozyten zu untersuchen. Neben der Wirkung auf transformierte Gewebe, ist es wichtig, die Wirkung dieser Substanzen an normalen, also nicht transformierten Thyreozyten zu kennen, denn bei der Behandlung von entartetem Gewebe werden sowohl gesunde als auch veränderte Zellen von den eingesetzten Substanzen erreicht.

Die verwendeten Schweinethyreozyten wurden entweder in primär retinoidfreiem NCTC-Medium oder in NCTC-Medium mit der handelsüblichen Retinol-Konzentration von 0,6 $\mu$ M kultiviert.

In einem weiteren Teil der Arbeit wurde dem Kulturmedium das Antibiotikum Ciprofloxacin zugefügt und dessen Einfluss auf den Thymidin- und Iodstoffwechsel untersucht, zumal es in den Schilddrüsenzellkulturen Verwendung findet.

## **1. Material**

### **Untersuchungsmaterial**

Zur Herstellung der Zellkulturen wurden pro Ansatz und in Abhängigkeit von der Anzahl der durchzuführenden Experimente zwischen 10 und 30 Schweineschilddrüsen benötigt.

Die Schilddrüsen wurden ca. neun Monate alten Schweinen entnommen, die aus Mastbetrieben der Umgebung des Schlachthofes Gärtringen / Baden-Württemberg stammten. Die genaue Herkunft der Tiere, sowie die Zusammensetzung der verabreichten Futtermittel lassen sich durch uns nicht zurückverfolgen.

### **1.1 Geräte für die Zellkulturen**

- Sterile Werkbank, Ceag Shirp, Typ C 636 H, (Selm, Borg)
- Zentrifuge Hettich Roto Silenta/K (Hettich, Tuttlingen)
- Zentrifuge Hettich Rotixa /RP (Hettich, Tuttlingen)
- Umkehrmikroskop Carl-Zeiss 5100671 (Zeiss, Oberkochen)
- Thermo Quest Inkubator (Modell 3111; Forum Scientific Inc. USA) mit 5%-iger CO<sub>2</sub>-Begasung bei 37,0° und Wasserdampfsättigung
- Inotech Cell-Harvester, ICH 280, Inotech AG, Schweiz
- Liquid Scintillation Counter, Pharmacia Wallac 14.10 (Perkin-Elmer-Wallac GmbH; Freiburg)
- Gamma Counter, Multi Crystal; LB 2130 und LB 2101 (Berthold; Wildbad)

### **1.2 Einwegartikel, Kulturgefäße und Filter**

- Zentrifugenröhrchen, 50ml, Falcon® 2070 Blue Max, (Falcon, Becton Dickinson, Heidelberg)
- Zentrifugenröhrchen, 5ml, 12,0 x 75mm, GLKL-Röhrchen 115 101 (Greiner Labortechnik, Nürtingen)

- Szintillationsröhrchen, 6ml, 12 x 75mm, Pico-Prias-Vial 6000102 (Packard BioScience B.V., Niederlande)
- Gewebekulturflaschen, 25cm<sup>2</sup> (70ml), Vented Blue Plug Seal Cap 3109, (Becton Dickinson, Heidelberg)
- Kulturgefäße, Tissue Culture Cluster Mark II, 6 wells, Costar 3506, (Corning Incorporated, USA)
- Kulturgefäße, Tissue Culture Cluster Mark II, 48 wells, Costar 3548, (Corning Incorporated, USA)
- Glasfaserfilter für Cell-Harvester, 11731, (Skatron Instruments, Hamburg-Norderstedt)
- Sterile Einwegfilter, Minisart, (0,22µm) 17597 und (0,45µm) 17998, (Sartorius AG, Göttingen)

### 1.3 Chemikalien und Reagenzien

- Ultrosor<sup>®</sup>G; insulinhaltiger Serumersatz, Lyophilisat ad 10ml, 67042, (IBF Biotechnics, Villeneuve-la-Garenne, Frankreich); 20 ml/Liter NCTC-Medium
- Hydrocortison<sup>®</sup>100; Mischampulle mit 133,67mg Hydrocortison 21-hydrogensuccinat, Na-Salz, (Pharmacia & Upjohn GmbH, Heppenheim;
- Ciprobay<sup>®</sup>200, Ciprofloxacin (Breitbandantibiotikum der Chinolon-Gruppe); (Bayer AG, Leverkusen); 30ml/ Liter NCTC-Medium;
- Penicillin-Streptomycin (500x), Penicillin 50 000 U/ ml, Streptomycin 50mg/ ml Lyophilisat, (Boehringer, Mannheim);  
50 000 U Penicillin, 0,05g Streptomycin, aufgelöst in 20ml Aqua dest. Konzentration pro Liter NCTC-Medium: 10 000 U Penicillin und 10mg Streptomycin;
- Amphotericin B, Squibb Pharma München (Durchstechflasche mit 50mg Amphotericin B + 41mg Natriumdesoxychloaat als Lösungsvermittler in 10ml aqua dest. gelöst);
- Natriumcarbonat, 7,5%, Lot 3011124, Gibco, Schottland;

- Retinoic-Acid (Vit.A Acid, Tretinoin), All-trans, R-2625 50mg, (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA);
- TSH (Thyroid Stimulating Hormone), 10 I.U. per vial, T – 8785 (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim);
- Lykopin-Liposomen-Stammlösung, 1mg Lykopin (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) und 10mg Vit.E werden mit 100mg Kryosome (Präliposome aus Eilecithin, Fa. Lipoid), 1g Mannit und 18g Aqua p.i. auf dem Magnetrührer intensiv gemischt. Anschließend mit Ultraschall (70W/10min) behandelt. Proportioniert zu je 1ml. Die Lösung wurde anschließend lyophilisiert und das Lyophilisat in braunen Falschen aufbewahrt. Das Lecithin wurde benötigt, damit daraus Liposomen entstehen konnten. Vit.E gehört zu den lipophilen Vitaminen und lagert sich zwischen den verbliebenen Fettsäureresten (den Liposomen) ein
- Leer-Liposomen 10mg Vitamin E, 100mg Kryosome, 1g Mannit und 18g Wasser werden auf einem Magnetrührer intensiv gemischt. Anschließend mit Ultraschall (70W/10min.) behandelt, portioniert zu je 1ml und lyophilisiert.

Für die Herstellung der Liposomenpräparation danke ich Herrn Dr. Heide, Universitätsapotheke Tübingen.

- Ultima Gold™, Szintillationscocktail, (Packard BioScience B.V., Niederlande)

#### 1.4 Radioaktive Chemikalien

- <sup>125</sup>I-Iodid (Sodium Iodide in NaOH solution), 3,9 GBq/ml, IMS 30, (Amersham Pharmacia Biotech UK Limited, England);
- Thymidin (6-<sup>3</sup>H-Thymidine), 37MBq/ ml, TRK 61, (Amersham Pharmacia Biotech UK Limited, England)

## 1.5 Medien und Lösungen

- Erythrosin B; Indikator für Mikroskopie, 10 µl in 145µl Spinnerlösung + 45µl Zellsuspension, (Merck, Darmstadt);
- Dispase II (neutral protease) from *Bacillus polymyxa*, grade II, 5g/ L (Roche, Mannheim);
- NCTC-135-Medium mit Vitamin A (0,6µM); (Gibco, Paisley, Schottland);
- NCTC-135-Medium ohne Vitamin A, Lot. No. 3012287 (Spezialanfertigung, Gibco, Paisley, Schottland);
- Earle´s B.S.S. (buffered salt solution), gepufferte Salzlösung nach Earle, ohne NaHCO<sub>3</sub> (Gibco, Paisley, Schottland);
- Ampuwa<sup>®</sup> steriles pyrogenfreies aqua ad injectabilia, 1000ml, (Boehringer, Ingelheim);
- Steriles pyrogenfreies aqua ad injectabilia, 10ml, (Braun);
- Lösung nach Spinner:  
100ml Earle´s B.S.S. + 900ml steriles H<sub>2</sub>O + ca. 6ml Natriumbicarbonat 7,5 % (pH ca. 7,2);
- Lösung für den Transport der Schilddrüsen vom Schlachthof zum Labor:  
Lösung nach Spinner mit Zusatz von Antibiotika und Antimykotica: pro Liter Medium 50 ml Ciprobay<sup>®</sup>200 + 10 ml Amphotericin B;
- Dispase Lösung: in 80 ml Lösung nach Spinner, 5g Dispase II (neutral protease) gelöst und durch 0,45 µm Sterilfilter gepresst

## **2. Methoden**

### **2.1 Präparation/ Isolierung der Schilddrüsenzellen von Schweinen**

Für die folgenden Versuche wurden jeweils 10–20 in toto entnommene Schilddrüsen von ca. 9 Monate alten, frisch geschlachteten Schweinen, weitgehend aseptisch, aus dem Halseingeweide heraus präpariert.

Die während des Schlachtvorgangs entnommenen Schilddrüsen wurden direkt nach der Entnahme in eisgekühlter, antimykotika- (Amphotericin) und antibiotikahaltiger (Penicillin-Streptomycin) Spinnerlösung ins Labor transportiert.

Die Weiterverarbeitung des Versuchsmaterials erfolgte unter sterilen Bedingungen im Labor. Unter einer sterilen Reinraumwerkbank mit horizontaler Luftströmung, erfolgte zunächst die Sichtung der Schilddrüsen. Angeschnittene wurden aussortiert und verworfen. Die verbliebenen Schilddrüsen wurden zunächst mehrmals in Spinnerlösung gespült und dann mittels Schere und Pinzette vom umgebenden Binde- und Fettgewebe befreit.

Um die bindegewebige Kapsel der Drüsen besser entfernen zu können, wurden sie für 3 Minuten in 80%-iges Ethanol eingelegt, danach mit Spinnerlösung zwei- bis dreimal gespült. Die durch das Ethanol anfixierte Kapsel sowie das septale Bindegewebe konnten nun unter zu Hilfenahme zweier Pinzetten leichter entfernt werden.

Das so freigelegte Schilddrüsenparenchym wurde manuell mit einem sterilen Skalpell in ca. 2-3 mm große Würfel geschnitten. Um das Austrocknen der Zellen zwischen den Arbeitsschritten zu vermeiden, wurde das schon vorbereitete Schilddrüsenparenchym in eisgekühlter Spinnerlösung aufbewahrt.

Das so verarbeitete Parenchym wurde dann in ein so genanntes Trypsiniergefäß (Volumen=1l) gegeben. Das Trypsiniergefäß enthielt außerdem die in 80ml warmer Spinnerlösung aufgelöste Dispase II, die über 0,45 µm Minisart Einwegfilter steril filtriert wurde. Anschließend wurde mit der Lösung



nach Spinner auf 1 Liter aufgefüllt. In 35°C warmer Dispaselösung erfolgte nun das Abdauen des Parenchyms vom interstitiellen Bindegewebe unter ständigem Rühren mittels eines heizbaren Magnetrührers. Der abgedeckte Glaskolben wird während des zweistündigen Abdauungsvorgangs unter der Reinraumwerkbank belassen.

Die in Suspension gegangenen Thyreozyten wurden nach der eingehaltenen Inkubationszeit in einem Abstand zwischen 7 – 10 min. durch zwei ineinander gestellte sterile Teesiebe in ein steriles Becherglas abgegossen. Durch Filterung wurden gröbere Zell- und Bindegewebsbestandteile zurückgehalten und konnten verworfen werden.

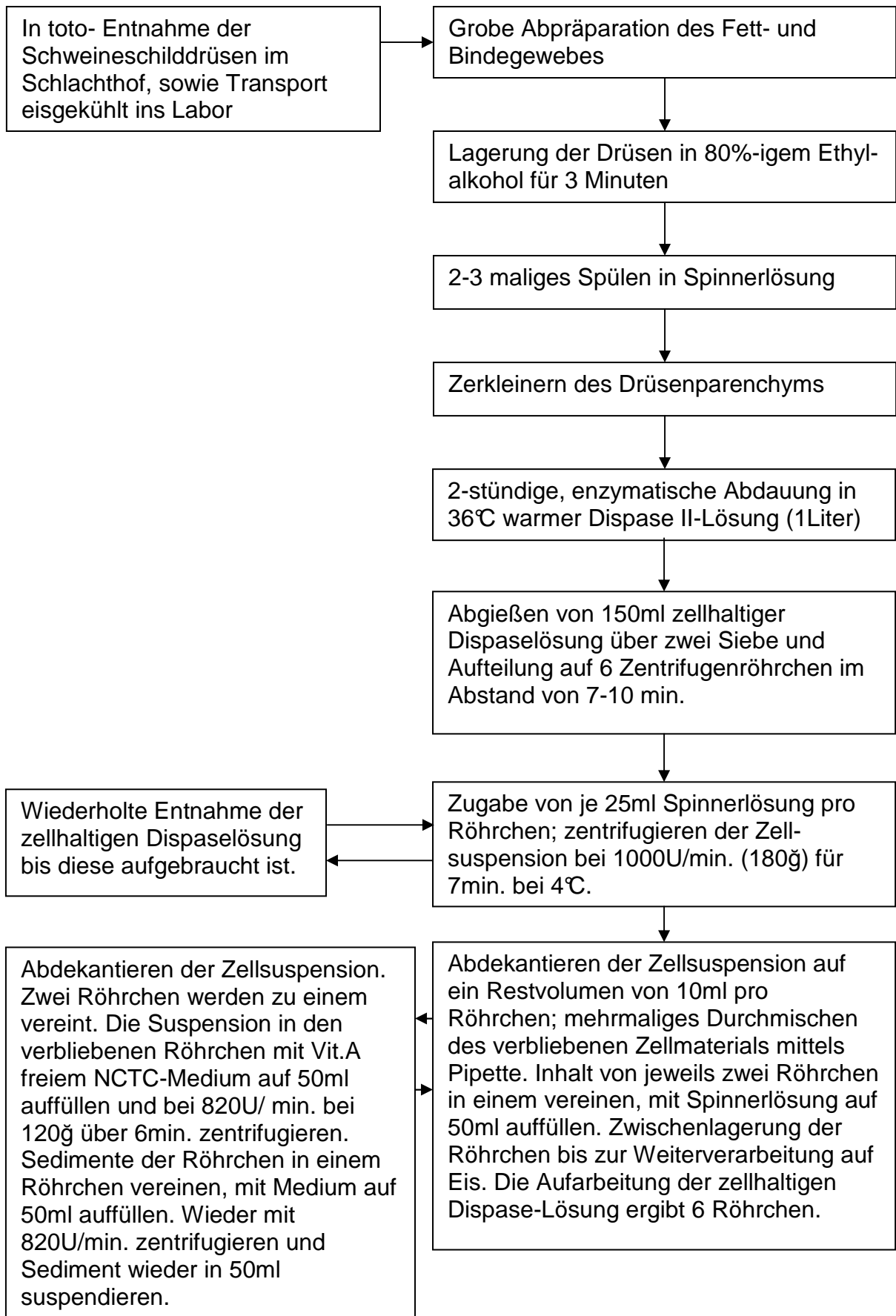
Die einzelnen Zellsuspensionen zu ca. 150ml wurden sogleich auf jeweils 6 Zentrifugenröhrchen (50ml, Falcon 2070) mit 25ml Suspension pro Röhrchen verteilt und mit Spinnerlösung auf 50ml aufgefüllt.

Mit jeweils 6 der so vorbereiteten Zentrifugenröhrchen wurde dann die Zentrifuge befüllt und bei 1000U/ min (180 g), 7 min bei 4°C zentrifugiert.

Nach dem Dekantieren der Überstände wurden die zurückbehaltenen Zellpellets in ihren Röhrchen mit einer Pipette mehrmals aufgezogen und wieder ausgeblasen. Das so durchmischte Zellmaterial wurde anschließend auf nunmehr drei Zentrifugenröhrchen verteilt und diese mit Spinnerlösung auf 50ml aufgefüllt und erneut bei 4°C, 1000U/ min (180 g), 7 Minuten zentrifugiert. Die drei Röhrchen wurden erneut dekantiert, die Zellpellets resuspendiert und ihr Inhalt auf ein Röhrchen vereint. Anschließend wurde mit Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium wieder auf 50ml Volumen aufgefüllt. Im folgenden Zentrifugationsschritt wurde die Drehzahl auf 820U/ min (120 g) bei 4°C auf 6 Minuten eingestellt. Der Zentrifugationsvorgang hatte die Zielsetzung, eine möglichst reine Thyreozyten-Suspension zu erhalten, welche keine Erythrozyten mehr enthalten sollte.

Der oben dargelegte Vorgang der Verarbeitung der Zellsuspension aus dem Trypsiniergefäß wurde so lange wiederholt, bis die gesamte Proteaselösung verarbeitet war. Meist waren 3 Durchgänge erforderlich. Die bereits aufbereiteten Thyreozyten wurden zur Zwischenlagerung auf Eis gelegt. Die zum Schluss verbliebenen Röhrchen (meist 3 Stück) wurden auf eines vereint,

wieder mit Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium auf 50ml aufgefüllt und bei 820U/ min (120 g), 4°C und 6 Minuten zentrifugiert. Danach wurden die Zellen mehrmals mit Spinnerlösung gewaschen und entsprechend abzentrifugiert, bis das Zellsediment makroskopisch keinen Erythrozytensaum mehr erkennen ließ. Abschließend wird das nun fertig hergestellte Thyreozytensediment in das endgültige Kulturmedium (NCTC-135-Medium ohne Vitamin A) überführt und die Zellen in 50ml Volumen suspendiert. Zur Vereinfachung des Sachverhalts ist der gesamte Präparationsvorgang auf der folgenden Seite in einem Flussdiagramm dargestellt.



## 2.2 Zellzählung

Die Zellzählung erfolgte in einer Neubauerzählkammer. Anhand einer Ausschlussfärbung mit 1%-igem Erythrosin B (10µl Erythrosin B + 145µl Spinnerlösung + 45µl Zellsuspension), konnten die toten von den vitalen Zellen ausgesondert werden, da nur die toten Zellen den roten Farbstoff aufnehmen. Es erfolgte eine rasche Zellzählung in jeweils vier Eckquadraten. Das Volumen eines Eckquadrates beträgt 0,1µl. Somit lässt sich eine Zellzahl (n) in 50ml Medium aus  $n \times 0,1\mu\text{l} \times 1000 \times 50 \times 4,4$  ermitteln.

Der Faktor 4,4 ergibt sich aus dem Verdünnungsfaktor der Vitalfärbung.

## 2.3 Herstellung der Thyreozytenkulturen und deren Stimulation mit TSH, all-trans-Retinsäure und Lykopin

Für die Versuche wurde als Nährmedium eine Sonderanfertigung von NCTC-135-Medium ohne Vit. A verwendet. Dadurch besteht die Möglichkeit die Vit. A-Konzentrationen über einen weiten Konzentrationsbereich variieren zu können. Sofern kommerzielles Vit. A-haltiges NCTC-135-Medium verwendet wurde, betrug die „physiologische“ Vitamin A-Konzentration 0,6µM.

Dem verwendeten Medium wurde außerdem Ultrosor<sup>®</sup> G (3%) als Serumersatz, sowie Hydrocortison<sup>®</sup> 100 (1µg/ml), Penicillin-Streptomycin (4%) und Ciprobay<sup>®</sup> (3%) zugegeben.

Um eine gleichmäßige Aussaat der Zellen gewährleisten zu können, wurden die Thyreozyten durch einen Magnetrührer in Suspension gehalten. Die so vorbereiteten Zellen wurden dann mit einer Multipipette (Eppendorf, Hamburg) auf die Kulturlöcher verteilt.

Aufgrund der Variationsbreite der in den Versuchen angewandten Stimulanzen wurden die übrigen hinzuzufügenden Substanzen direkt zu den einzelnen Kulturen pipettiert.

Die Zahl der vitalen Thyreozyten wurde am Ende der Zellpräparation im komplettierten Medium auf ca. 1 300 000 / ml eingestellt. Von dieser Zellsuspension wurden jeweils 200µl / Kulturloch (ca. 260000 Zellen / 200 µl) in Costar<sup>®</sup>-Platten mit 48 Kulturlöchern ausgesät.

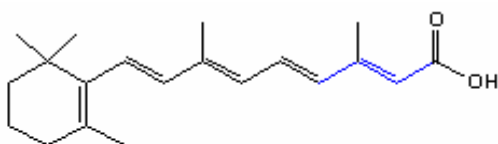
Diesen Kulturen wurde radioaktives Iodid oder radioaktives Thymidin plus die entsprechenden Testsubstanzen zugefügt. Die Platten mit 48 Kulturlöchern erhielten 4 kBq Na<sup>125</sup>Iodid oder 12 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin/Kulturloch.

In die Costar<sup>®</sup>-Platten mit 6 Kulturlöchern wurde pro Loch 4,5ml des zellhaltigen Mediums (ca. 5,85 Mio. Thyreozyten) einpipettiert (der Zellgehalt wurde in diesen Ansätzen auf 0,66 Mio. Zellen/ml Medium eingestellt) und mit den Testsubstanzen ergänzt.

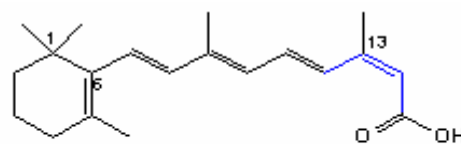
Die Kulturen enthielten wahlweise folgende Stimulanzen:

- All-trans-Retinsäure :  
2,6nmol / 200µl entsprechend einer 13µM Endkonzentration im Medium
- TSH:  
0,26mU / 200µl Endkonzentration im Medium
- Lykopin:  
2,6nmol / 200µl entsprechend einer 13µM Endkonzentration im Medium

#### 2.4 Strukturformeln der Stimulanzen:

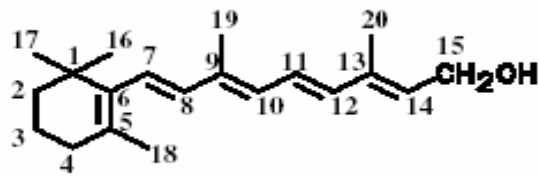


Retinsäure



Isotretinoin  
(13-cis-Retinsäure)

## All-trans-Retinol C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>OH



## Lykopin C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>



Die Retinolderivate wurden, damit sie in Lösung gehen konnten, in reinem Methanol gelöst. Da Retinol und seine Derivate in Verbindung mit Licht zerfallen wurden die Versuche im abgedunkelten Raum durchgeführt.

### **2.5 Kulturbedingungen**

Die angelegten Zellkulturen wurden unter Lichtausschluss in einem mit Wasserdampf gesättigtem Inkubator bei 37°C mit 95% Luft und 5%CO<sub>2</sub> begast. Die Inkubationszeiten variierten zwischen 18 und 72h. Dabei setzten sich die vitalen Zellen mit zunehmender Inkubationsdauer am Plattenboden ab.

### **2.6 Zellernte und Messung der Iodid- und Thymidinaufnahme in den Thyreozyten**

Um die Iodid- und Thymidinaufnahme in die Thyreozyten messen zu können, wurde dem Medium Na<sup>125</sup>I-Iodid und <sup>3</sup>H-Thymidin zu gefügt.

Nach der Inkubationszeit, abhängig vom durchgeführten Versuch, erfolgte die Zellernte aus den 48-well-Platten von Costar<sup>®</sup> mit Hilfe eines Zellharvesters (Inotech AG Typ CH 5605) auf Glasfasermatten. Die auf den Filtermatten geernteten Zellen wurden einem zweimaligem Spülvorgang mit Aqua demineralisata unterzogen und ausgestanzt.

Dann wurden die ausgestanzten Filterpapiere mit den darauf befindlichen Zellen in Szintillationsröhrchen eingebracht. In die Szintillationsgefäße (Volumen 6ml), wurde zusätzlich 5ml des handelsüblichen Szintillationscocktail Ultima Gold<sup>®</sup> eingefüllt. Die Messung von <sup>125</sup>I-Iodid und <sup>3</sup>H-Thymidin erfolgte in einem Flüssigkeits- Szintillationszähler (Pharmacia Wallac 1410, Perkin-Elmer-Wallac GmbH Freiburg) bei einer entsprechenden Spektromeinstellung für <sup>125</sup>I und <sup>3</sup>H.

Für einige Versuche wurde die Iodidaufnahme separat mit einem Gammacounter (Multi Crystal; LB2103 und LB2101, Berthold, Wildbad) gemessen.

Für die Messungen im Gammacounter wurden die ausgestanzten Filtermatten in Messröhrchen (PS-Röhrchen GLKL 5ml, Greiner Labortechnik Nürtingen) eingebracht. Die Messung der Radioaktivität erfolgte hier ohne Szintillationsflüssigkeit.

## **2.7 Mycoplasmennachweis**

Bei dem von uns verwendeten Versuchsmaterial handelt es sich um Zellkulturen, die aus Schweineschilddrüsen von frisch geschlachteten Schweinen hergestellt wurden. Eine Kontamination der Schilddrüsen mit Mycoplasmen auf dem Schlachthof lässt sich daher nicht ausschließen. Liegt eine Kontamination vor, so könnten die Messergebnisse der Thymidinaufnahme verfälscht werden, da Mycoplasmen ebenfalls Thymidin aufnehmen. Da die Mycoplasmen einen Durchmesser von ca. 0,8µm haben, kann davon ausgegangen werden, dass sie die Poren der Glasfasermatten (Porengröße

1,5µm im Durchmesser) jedoch ungehindert passieren können, und damit dem Messvorgang entzogen werden. Bei den Versuchen wurden nur mycoplasmenfreie Proben verwendet. Die Mycoplasmenfreiheit der verwendeten Proben wurde anhand des Mycoplasma Detection Kit (1296744, Encyme Immunoassay; Roche) überprüft.

## **2.8 Statistische Auswertung**

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte mit dem Dunnett`-Test. Mit diesem Test konnten innerhalb jedes Zeitpunktes alle Kombinationen aus Substanz und Konzentration mit dem jeweiligen Kontrollwert verglichen werden. Die Wahrscheinlichkeit einer fehlerhaften Interpretation liegt bei diesem Verfahren unter 5%. Signifikante Ergebnisse beziehen sich auf ein Gesamtsignifikanzniveau von  $\alpha = 5\%$ . Ergebnisse gelten im Dunnett`-Test als signifikant, wenn  $p < 5\%$  ist und die Werte positiv sind. Für die Durchführung wurde das Statistikprogramm JMP5 von SAS installiert. Für die statistische Beratung und Betreuung danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Eichner, Institut für medizinische Biometrie der Universität Tübingen.

Die Statistik ist im Anhang (Kap.7) aufgeführt. Es finden sich dort zusätzlich Abbildungen (Kap.7), in denen die über alle Inkubationszeiten gemessenen Aufnahmezeiten von  $^{125}\text{I}$ -Iodid und  $^3\text{H}$ -Thymidin gemittelt und auf die Kontrolle normiert wurden.

Diese Abbildungen wurden bei der Diskussion berücksichtigt. Dadurch ergibt sich zusätzlich zum augenblicklichen Effekt auch ein Gesamteindruck vom Wirkungsprofil der Substanzen.



### 3. Versuchsansätze und Ergebnisse

#### 3.1 $^3\text{H}$ -Thymidin- und $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in kultivierte Schweinethyreozyten in Abhängigkeit von unterschiedlichen Konzentrationen an all-trans-Retinsäure.

Die Schweinethyreozyten wurden zunächst in Vitamin A- freiem NCTC-Medium kultiviert. In den Versuchsreihen I - III wurde pro Kulturloch 200  $\mu\text{l}$  Medium mit 130 000 Zellen, sowie all-trans-Retinsäure in den Endkonzentrationen 0  $\mu\text{M}$ ; 0,49  $\mu\text{M}$  und 0,98  $\mu\text{M}$  eingesetzt. Die so vorbereiteten Kulturen wurden dann für 72 h vorinkubiert, dann erfolgte ein Mediumwechsel. Das Medium wurde durch handelsübliches NCTC-Medium mit 0,6  $\mu\text{M}$  Vitamin A ersetzt, zusätzlich wurde all-trans-Retinsäure in einer Endkonzentration von 13  $\mu\text{M}$  hinzugefügt. Mit dem Mediumwechsel erhielten dieselben Kulturen außerdem je 12 kBq  $^3\text{H}$ -Thymidin sowie 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid. Somit konnte die Thymidin- und Radioiodaufnahme als Parameter für die Stoffwechselfunktion der Thyreozyten in einem ausgewähltem Zeitintervall zwischen 2h und 65h verfolgt werden.

Die Ergebnisse der Radioiodid- und Thymidinaufnahme sind in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Vorinkubationsbedingungen in den Abbildungen 1 bis 8 dargestellt. Als Kontrollgruppe dienten Schilddrüsenzellen, welche nicht durch all-trans-Retinsäure stimuliert wurden. Als signifikant wurden die Ergebnisse der Versuche bewertet, bei deren statistischer Auswertung  $p < 0,05$  war. Um die Thymidin- und Iodidaufnahme in die Thyreozyten beurteilen zu können, muss der Zeitpunkt ermittelt werden, bei dem mit sicher messbaren Effekten gerechnet werden kann.

Die Versuchsreihen I - III wurden an unterschiedlichen Tagen durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu prüfen (Versuchsreihe I wurde zweimal wiederholt).

a) Ansätze I - III, Betrachtung der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme

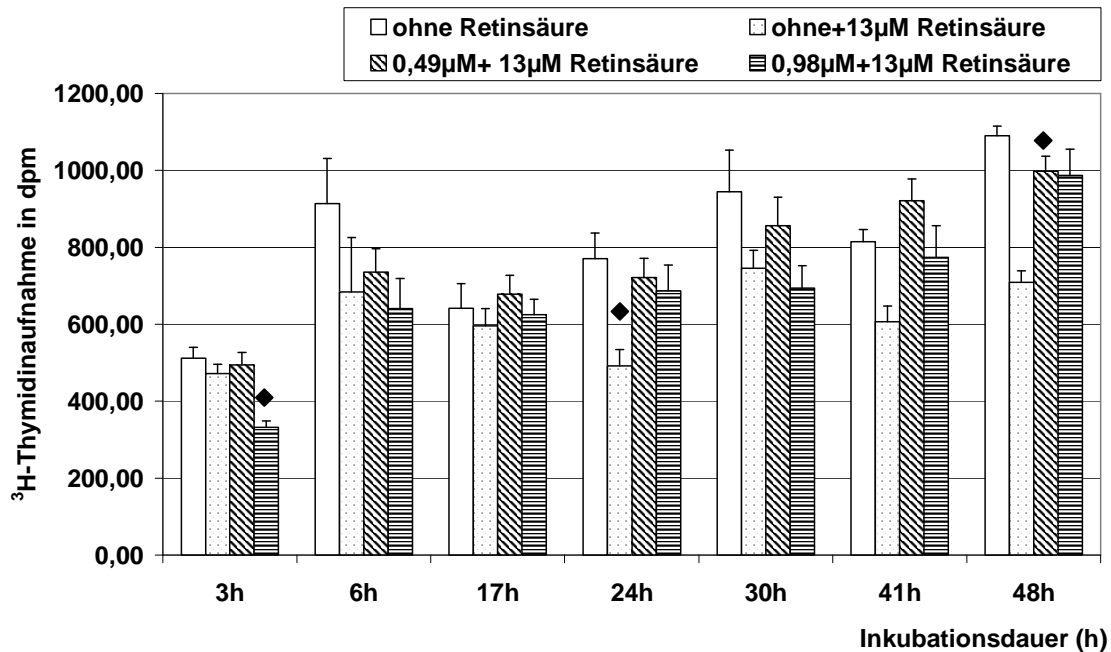


Abb.1 All-trans-Retinsäure (Ansatz I)

Einfluss von all-trans-Retinsäure auf die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in primär Vitamin A- freiem Medium. Die Kulturen wurden über drei Tage mit jeweils 0 µM, 0,49 µM oder 0,98 µM Retinsäure vorinkubiert. Danach erfolgte ein Mediumwechsel und Inkubation der Zellen mit jeweils 13 µM Retinsäure. Mit dem Mediumwechsel wurde den Kulturen  $^3\text{H}$ -Thymidin (12 kBq) zugefügt und die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten während der weiteren 3h bis 48h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten ab dem Mediumwechsel. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch mit 200 µl: 130 000. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 1-3 im Anhang aufgeführt.

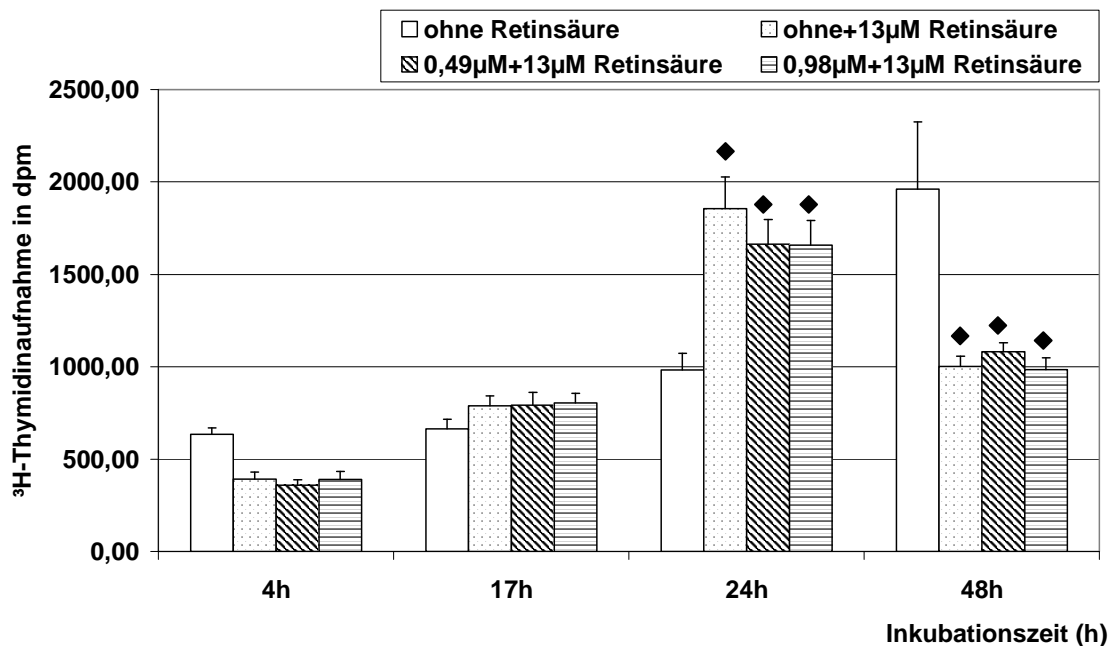


Abb.2 All-trans-Retinsäure (Ansatz II)

Einfluss von all-trans-Retinsäure auf die <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in primär Vitamin A- freiem Medium. Die Kulturen wurden über drei Tage mit jeweils 0 µM, 0,49 µM oder 0,98 µM Retinsäure vorinkubiert. Danach erfolgte ein Mediumwechsel und Inkubation der Zellen mit jeweils 13 µM Retinsäure. Mit dem Mediumwechsel wurde den Kulturen <sup>3</sup>H-Thymidin (12 kBq) zugefügt und die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten während der weiteren 4h bis 48h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten ab dem Mediumwechsel. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch mit 200 µl: 130 000. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 1-3 im Anhang aufgeführt.

Beim Vergleichen der Abbildungen 1 und 2 wird ersichtlich, dass sich die signifikant zur Kontrolle verschiedene Thymidineinbauraten für t = 3h in Ansatz I bei einer Zugabe von 0,98 µM Retinsäure in der Vorinkubation und 13 µM in der anschließenden Inkubation im zweiten Ansatz im Zeitfenster von t = 4h nicht bestätigen lässt. Anschließend kam es zu einem stetigen Anstieg der <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme. Im 2. Ansatz konnte zum Zeitpunkt t = 24h eine zur

Kontrolle signifikante Zunahme der Thymidin Aufnahme bei allen Kulturen mit all-trans-Retinsäure -Zusatz beobachtet werden. Das Maximum der Thymidinaufnahme im ersten Ansatz wurde nach 48h Inkubation erreicht. Das Maximum der Thymidinaufnahme im zweiten Ansatz wurde nach 24h erreicht. Vergleichend zu Ansatz I war in Ansatz II die Thymidinaufnahme bei den Kulturen, welche mit 0,49  $\mu\text{M}$  vorinkubiert wurden, signifikant.

Auffällig ist, dass sich nach einer Inkubationszeit von 48h ein signifikant erhöhter Einbau von  $^3\text{H}$ -Thymidin sowohl bei Ansatz I als auch bei Ansatz II in den Kulturen, die mit 0,49  $\mu\text{M}$  Retinsäure vorinkubiert wurden, zeigt. In Ansatz II (Abb. 2) fällt nach einem Maximum die Thymidinaufnahme unter allen Retinsäure Konzentrationen nach 24h rapide ab.

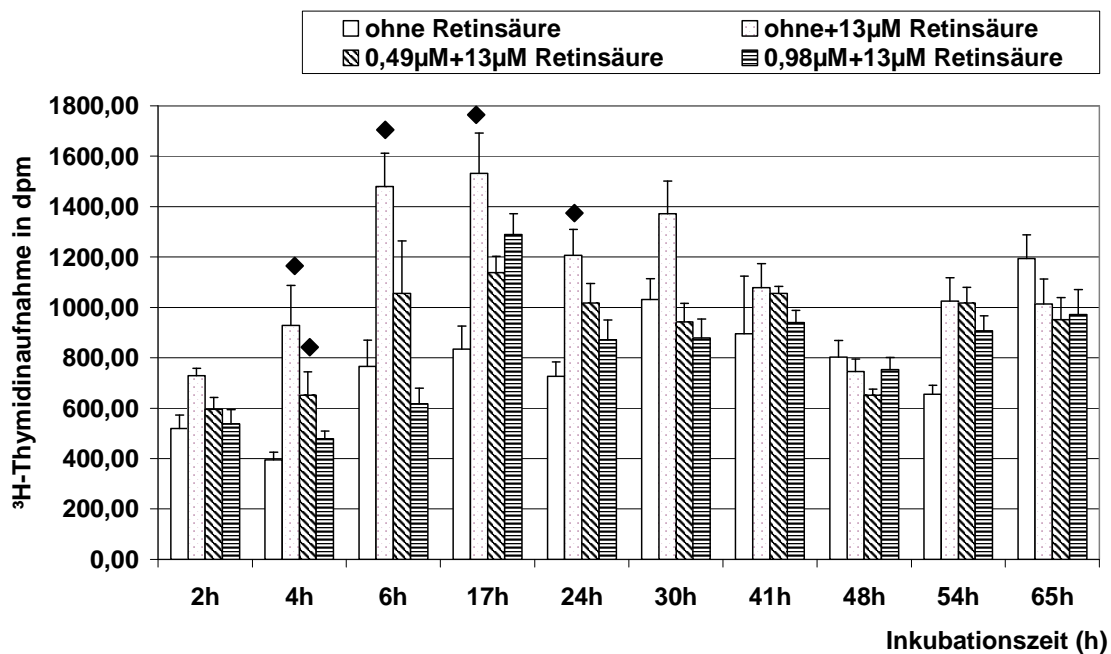


Abb.3 All-trans-Retinsäure (Ansatz III)

Einfluss von all-trans-Retinsäure auf die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in primär Vitamin A- freiem Medium. Die Kulturen wurden über drei Tage mit jeweils 0  $\mu\text{M}$ , 0,49  $\mu\text{M}$  oder 0,98  $\mu\text{M}$  Retinsäure vorinkubiert. Danach erfolgte ein Mediumwechsel und Inkubation der Zellen mit jeweils 13  $\mu\text{M}$  Retinsäure. Mit dem Mediumwechsel wurde den Kulturen  $^3\text{H}$ -Thymidin (12 kBq) zugefügt und die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten während der weiteren 4h bis 48h-stündigen Inkubation verfolgt.

Dargestellt sind Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten ab dem Mediumwechsel. Die eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch mit 200 µl: 130 000. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 1-3 im Anhang aufgeführt.

Auffallend ist in Abb. 3 die gegenüber der Kontrolle signifikant erhöhte Aufnahme von <sup>3</sup>H-Thymidin nach t = 4h, 6h, 17h und 24h wenn die Thyreozyten ohne Retinsäure vorinkubiert und dann mit 13 µM Retinsäure stimuliert wurden. In Abb. 3 erreicht die Thymidinaufnahme nach 48h gegenüber den Messpunkten mit kürzerer Inkubationsdauer ein Tief. Nach t = 54h kommt es allerdings wieder zu einem leichten Anstieg. Wie Abbildung 3 zeigt kommt es über den gesamten Inkubationszeitraum zu einer verstärkten Aufnahme von <sup>3</sup>H-Thymidin gegenüber der Kontrolle, die in Abhängigkeit von der Retinsäurekonzentration während der Vorinkubation variiert (Zahlenwerte in Tab. 3 im Anhang).

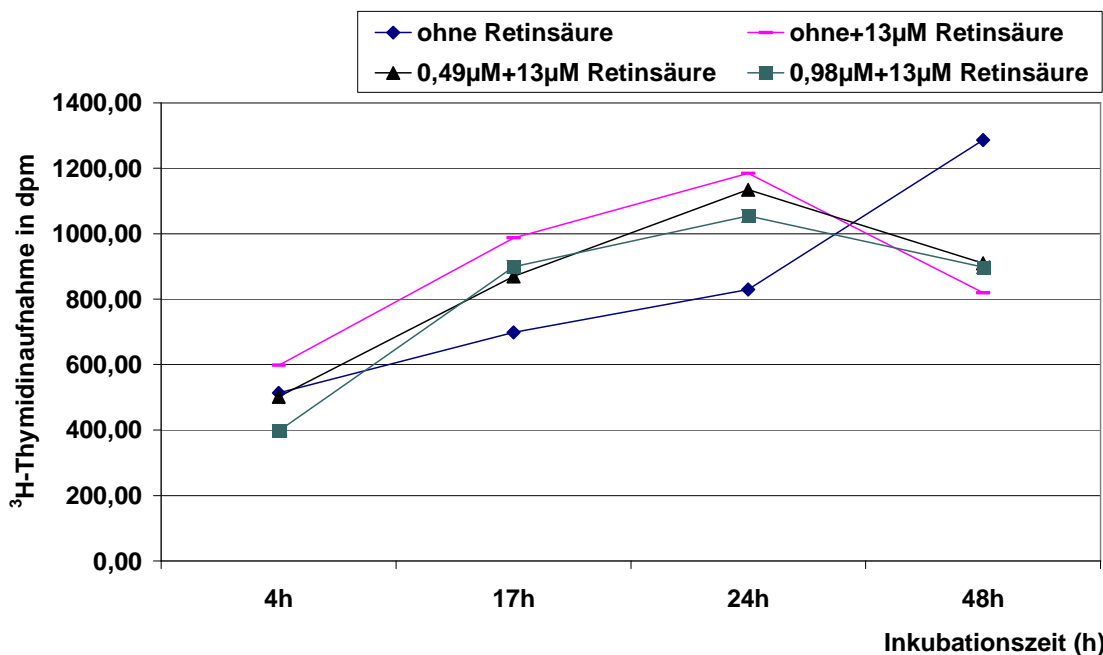


Abb.4 Zusammenfassung des Thymidineinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen I-III in Abhängigkeit der übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller drei Versuchsreihen in der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab.4 in Anhang aufgeführt.

Wie in Abb. 4 ersichtlich kam es in allen Versuchsabfolgen zu einer erhöhten  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$ . In der Versuchsreihe „keine Retinsäure während der Vorinkubation und dann Stimulation mit  $13\ \mu\text{M}$  Retinsäure“ finden sich bis zum Zeitpunkt  $24\text{h}$  die höchsten  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahmeraten.

b) Ansätze I - III, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme

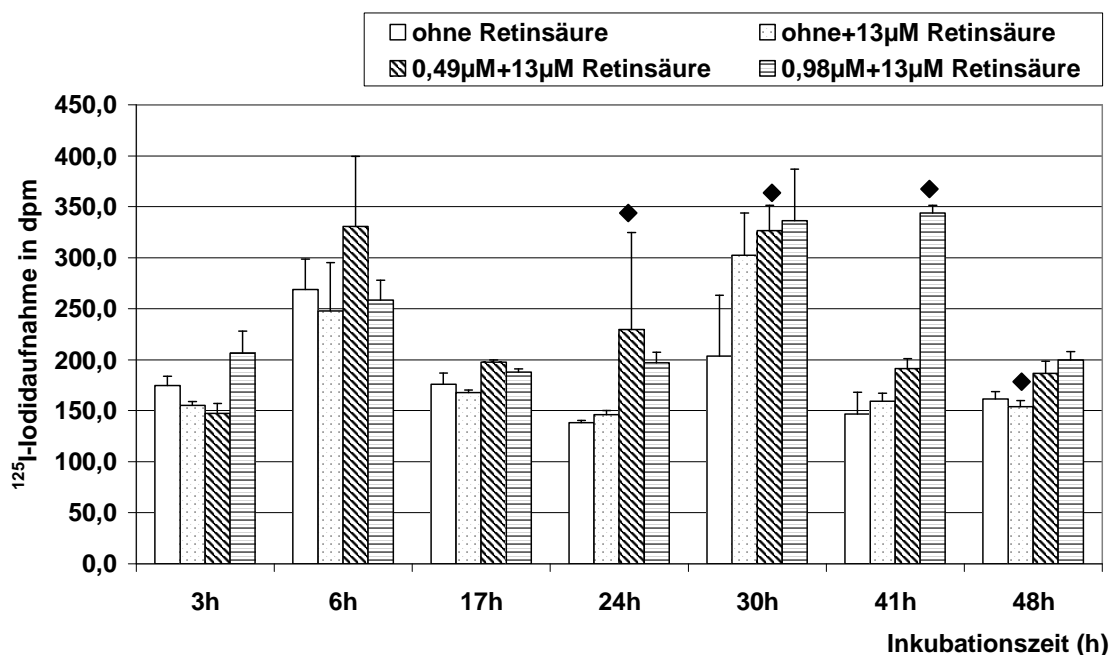


Abb.5 All-trans-Retinsäure (Ansatz I)

Einfluss von all-trans-Retinsäure auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in primär Vitamin A- freiem Medium. Die Kulturen wurden über drei Tage mit  $0\ \mu\text{M}$ ,  $0,49\ \mu\text{M}$  oder  $0,98\ \mu\text{M}$  all-trans-

Retinsäure vorinkubiert. Danach erfolgte ein Mediumwechsel und Inkubation der Zellen mit jeweils 13  $\mu\text{M}$  Retinsäure. Mit dem Mediumwechsel wurde den Kulturen  $^{125}\text{I}$ -Iodid (4 kBq) zugefügt und die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten während der weiteren 3h bis 48h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten ab dem Mediumwechsel. Die eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch mit 200  $\mu\text{l}$ : 130 000. Die mit  $\blacklozenge$  gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 5 im Anhang aufgeführt.

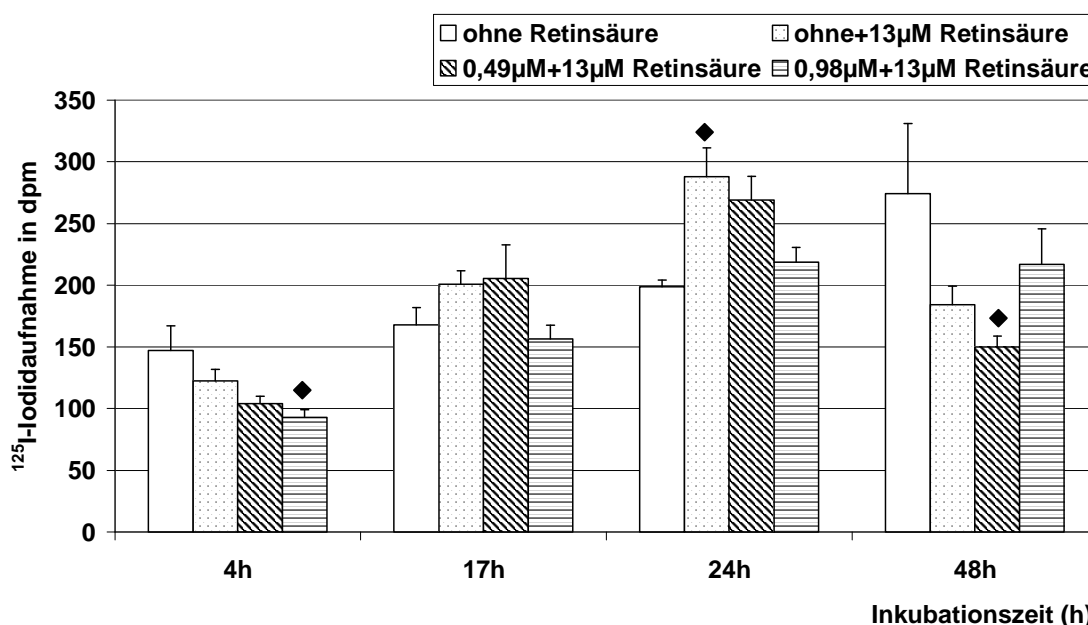


Abb.6 All-trans-Retinsäure (Ansatz II)

Einfluss von all-trans-Retinsäure auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in primär Vitamin A- freiem Medium. Die Kulturen wurden über drei Tage mit 0  $\mu\text{M}$ , 0,49  $\mu\text{M}$  und 0,98  $\mu\text{M}$  Retinsäure vorinkubiert. Danach erfolgte ein Mediumwechsel und Inkubation der Zellen mit 13  $\mu\text{M}$  Retinsäure. Mit dem Mediumwechsel wurde den Kulturen  $^{125}\text{I}$ -Iodid (4kBq) zugefügt und die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten während der 4h bis 48h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten ab dem Mediumwechsel. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch mit 200  $\mu\text{l}$ : 130 000. Die

mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 6 im Anhang aufgeführt.

In Ansatz II ist eine deutliche Steigerung der  $^{125}\text{I}$ -Iodid Aufnahme in die Thyreozyten bis zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$  erkennbar. Eine signifikante Zunahme gegenüber der Kontrolle erfolgte bei  $t = 24\text{h}$  bei der Kultur die ohne Retinsäure vorinkubiert und dann mit  $13\ \mu\text{M}$  Retinsäure stimuliert wurde. Zum Zeitpunkt  $t = 48\text{h}$  erfolgte ein Rückgang der Iodid Aufnahme. Eine Ausnahme bildet die Kultur, die mit  $0,98\ \mu\text{M}$  Retinsäure vorstimuliert wurde. Die Radioiodid Aufnahme rate ist hier ähnlich wie zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$ .

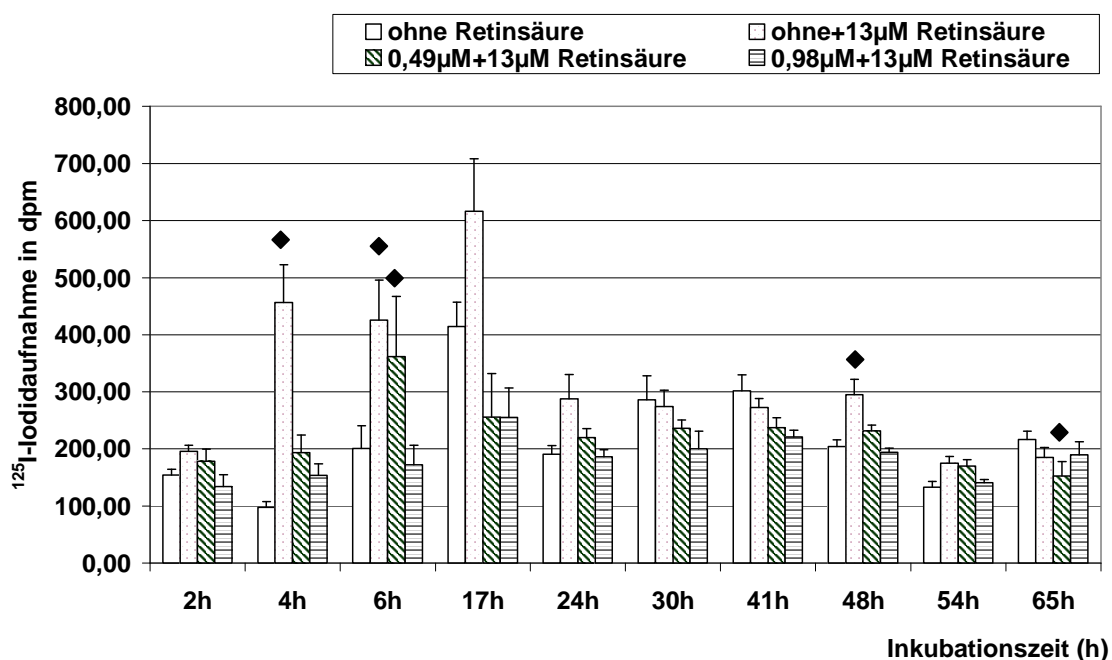


Abb.7 All-trans-Retinsäure (Ansatz III)

Einfluss von all-trans-Retinsäure auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodid Aufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in primär Vitamin A- freiem Medium. Die Kulturen wurden über drei Tage mit  $0\ \mu\text{M}$ ,  $0,49\ \mu\text{M}$  und  $0,98\ \mu\text{M}$  Retinsäure vorinkubiert. Danach erfolgte ein Mediumwechsel und Inkubation der Zellen mit  $13\ \mu\text{M}$  Retinsäure. Mit dem Mediumwechsel wurde den Kulturen  $^{125}\text{I}$ -Iodid ( $4\text{kBq}$ ) zugefügt und die  $^{125}\text{I}$ -Iodid Aufnahme in die Thyreozyten während der 2h



*bis 65h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten ab dem Mediumwechsel. Die eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch mit 200 µl: 130 000. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 7 im Anhang aufgeführt.*

Wie in Ansatz III (Abb. 7) ersichtlich erfolgte durch die Zugabe von 13 µM Retinsäure zu Kulturen ohne Vorstimulation mit Retinsäure nach t = 4h und 6h Inkubation eine signifikante Steigerung der <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in die Thyreozyten. Die maximale Steigerung der Iodidaufnahme gegenüber der Kontrolle fand sich bei den ohne Retinsäure vorinkubierten und nach Mediumwechsel mit 13 µM Retinsäure stimulierten Zellen nach 4h Inkubationszeit. Die Iodidaufnahme war hier um das 2,3-fache angestiegen. Unter Stimulation mit 0,49 µM Retinsäure während der Vorinkubation und 13 µM Retinsäure nach Mediumwechsel erfolgte eine gesteigerte Iodidaufnahme nach 6h. Nach 24h waren alle Aufnahmeraten für das Radioiod wieder rückläufig und bis 48h nahezu gleich bleibend. Nach 54h Inkubation wurde sie noch geringer.

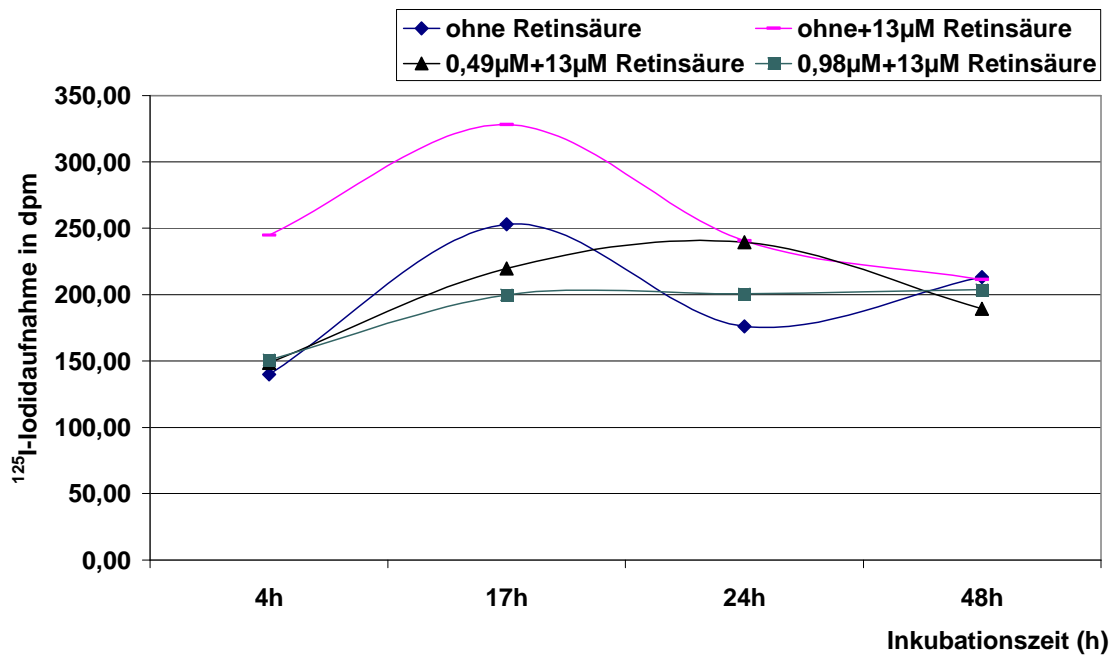


Abb.8 Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen I-III in Abhängig der übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller drei Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 8 im Anhang aufgeführt.

Wie in Abb. 8 ersichtlich kam es in allen Versuchsabfolgen zu einer erhöhten  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme zum Zeitpunkt  $t = 17\text{h}$ . Für die Versuchsreihe „keine Retinsäure während der Vorinkubation und dann Stimulation mit  $13\ \mu\text{M}$  Retinsäure“ ergeben sich die höchsten  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahmeraten

### **3.2 <sup>3</sup>H-Thymidin- und <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in kultivierte Schweinethyreozyten in Abhängigkeit von Lykopen, TSH und dem Vitamin A-Gehalt des Mediums**

Die Schweinethyreozyten wurden in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium kultiviert. Bei den Versuchsreihen IV-VII wurden die stimulierenden Agenzien direkt bei der Aussaat dem Medium zugefügt.

In den Versuchsreihen IV-V wurde pro Kulturloch 200 µl Medium mit 130 000 Zellen sowie Lykopen, in der Endkonzentration 13 µM eingelagert in Liposomen und dessen Placebo (Leerliposomen) eingesetzt. Die Stimulation der Kulturen mit TSH erfolgte mit einer Endkonzentration von 0,26 mU. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat jeweils 4 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin und 12 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zugefügt. Damit konnte die Radioiodaufnahme als Parameter für die Stoffwechselfunktion der Thyreozyten in einem Zeitintervall zwischen 2h (minimal) und 54h (maximal) verfolgt werden. Als Kontrollgruppe dienten Schilddrüsenzellen, welche nicht mit Lykopen oder TSH stimuliert wurden. Als signifikant wurden die Ergebnisse der Versuche bewertet, bei deren statistischer Auswertung  $p < 0,05$  war. Um die Thymidin- und Iodidaufnahme in die Thyreozyten ermitteln zu können, muss der Zeitpunkt ermittelt werden, in welchem mit sicher messbaren Effekten gerechnet werden kann.

Die Versuchsreihen IV-V wurden an unterschiedlichen Tagen durchgeführt um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu prüfen.

a) Ansätze IV - V, Betrachtung der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme

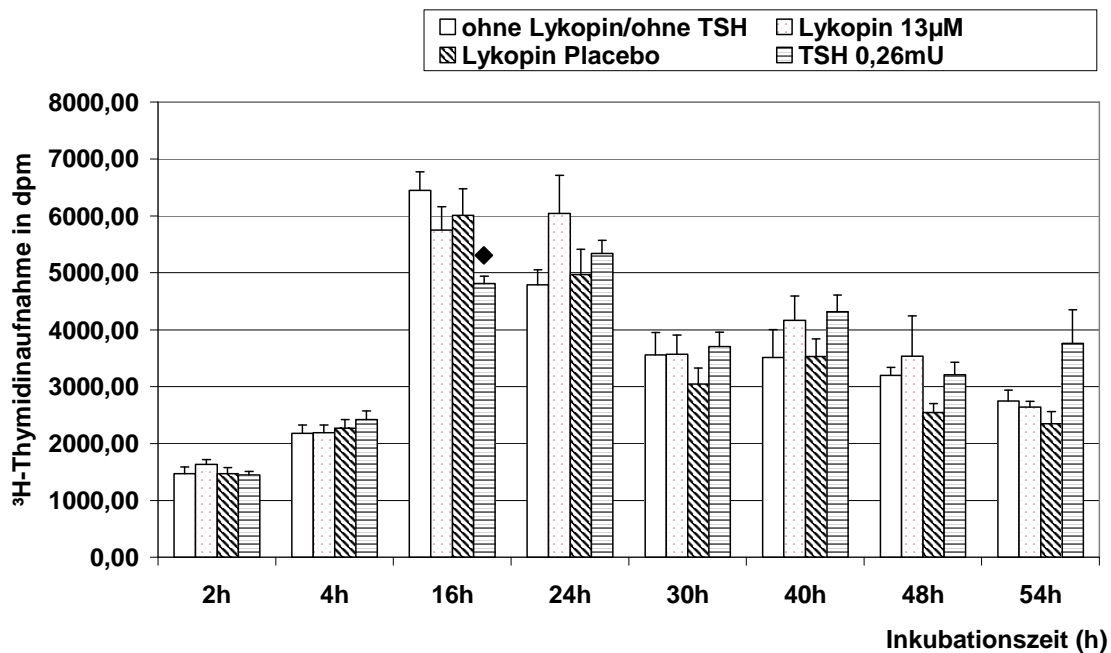


Abb.9 Lykopen (Ansatz IV)

Einfluss von Lykopen ( $13\ \mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) und TSH ( $0,26\text{mU/Kultur}$ ) auf die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A-haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo oder TSH sowie jeweils  $12\ \text{kBq } ^3\text{H}$ -Thymidin zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM ( $n=6$ ) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch  $130\ 000$ . Kommerzielles Vit. A- haltiges ( $0,6\ \mu\text{M}$ ) NCTC-Medium. Die mit  $\blacklozenge$  gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 9 und 10 im Anhang aufgeführt.

Wie Abb. 9 zeigt, konnte bis zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$  eine steigende  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in die Thyreozyten beobachtet werden. Als signifikant

unterschiedlich zur Kontrolle fiel die Thymidinaufnahme bei den mit 0,26 mU TSH stimulierten Thyreozyten nach 24h auf.

Mit zunehmender Inkubationsdauer (t = 30h) wurde die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in die Thyreozyten insgesamt rückläufig. Bei der letzten Zellernte nach t = 54h konnte nur unter TSH ein erneuter Anstieg beobachtet werden. Unter Lykopen und TSH kam es jeweils nach 24h zur maximalen Thymidinaufnahme, während unter Lykopen-Placebo die höchste Thymidinaufnahme bereits nach 16h erreicht wurde.

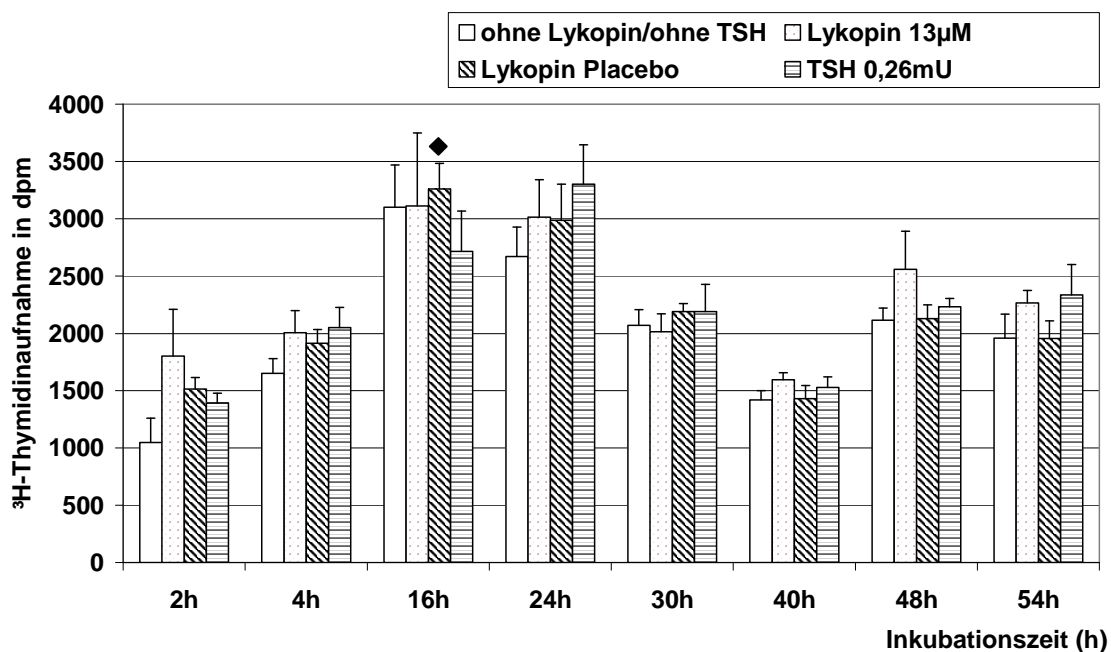


Abb. 10 Lykopen Ansatz (V)

Einfluss von Lykopen ( $13\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) und TSH ( $0,26\text{mU/Kultur}$ ) auf die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A-haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo oder TSH sowie jeweils  $12\text{ kBq } ^3\text{H}$ -Thymidin zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM ( $n=6$ ) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Kommerzielles Vit. A- haltiges ( $0,6\mu\text{M}$ ) NCTC-Medium. Die mit  $\blacklozenge$

gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 9 und 10 im Anhang aufgeführt.

Im Ansatz V konnte ebenfalls ein Anstieg der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme bis zum Zeitpunkt  $t = 24 \text{ h}$  beobachtet werden. Auch hier war die höchste Aufnahmerate für TSH nach 24 h erreicht. Unter Lycopin konnte das Maximum der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten nach 16h beobachtet werden. Wie in Ansatz IV war unter TSH die maximale Thymidinaufnahme in die Thyreozyten nach 24h Inkubationsdauer.

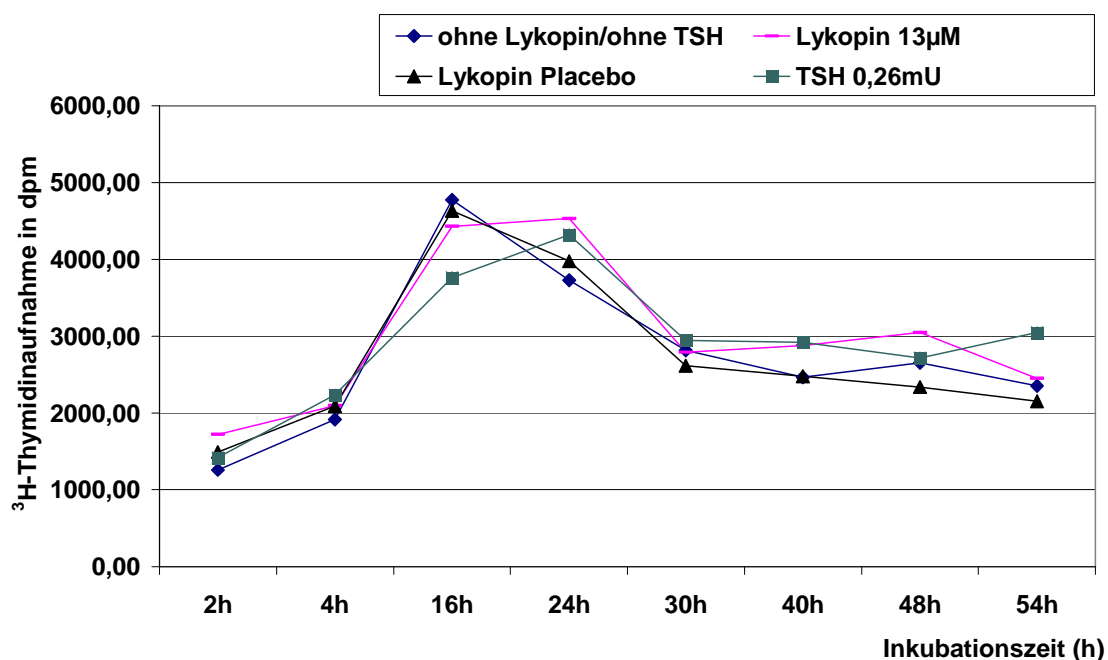


Abb.11 Zusammenfassung des  $^3\text{H}$ -Thymidineinbaus in die Thyreozyten aus den Versuchsreihen IV-V in Abhängigkeit der übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung beider Versuchsreihen in der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 11 im Anhang aufgeführt.

Wie aus Abb. 11 ersichtlich kam es in der Versuchsreihe mit Lykopen (13  $\mu\text{M}$ ) und TSH (0,26 mU/Kultur) zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$  zu einer etwas höheren  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in die Thyreozyten als bei den Kontrollen. Dies scheint für diese Ansätze der optimale Zeitpunkt für die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in die Thyreozyten zu sein.

b) Ansätze IV - V, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme

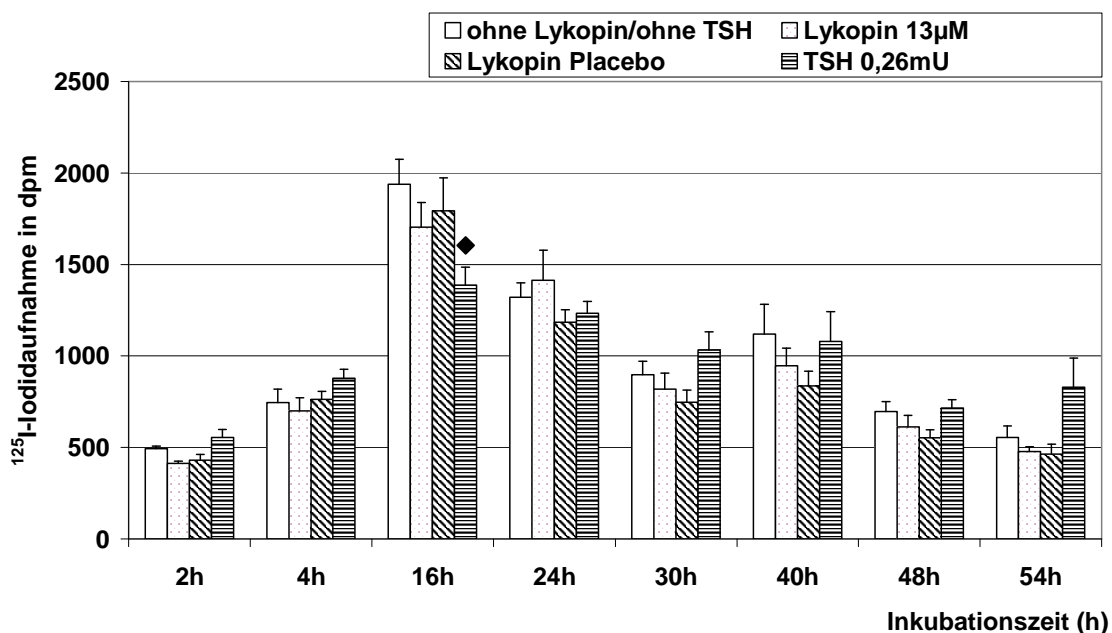


Abb.12 Lykopen (Ansatz IV)

Einfluss von Lykopen (13 $\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) und TSH (0,26mU/Kultur) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A-haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo oder TSH sowie jeweils 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM ( $n=6$ ) des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Die eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Kommerzielles Vit. A- haltiges NCTC-Medium (0,6  $\mu\text{M}$ ). Die mit  $\blacklozenge$

gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 12 und 13 im Anhang aufgeführt.

Wie Abb. 12 zeigt, konnte bis zum Zeitpunkt  $t = 16\text{h}$  eine vermehrte  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten verfolgt werden. Als signifikant unterschiedlich zur Kontrolle fiel dabei der Effekt von  $0,26\text{ mU}$  TSH auf. Die Iodidaufnahme lag unter der der Kontrolle. Nach  $16\text{h}$  Inkubationsdauer war insgesamt eine rückläufige Iodidaufnahme in die Thyreozyten zu beobachten. Nach  $54\text{h}$  war die Aufnahme von Iodid unter TSH wieder deutlich höher als bei der Kontrolle.

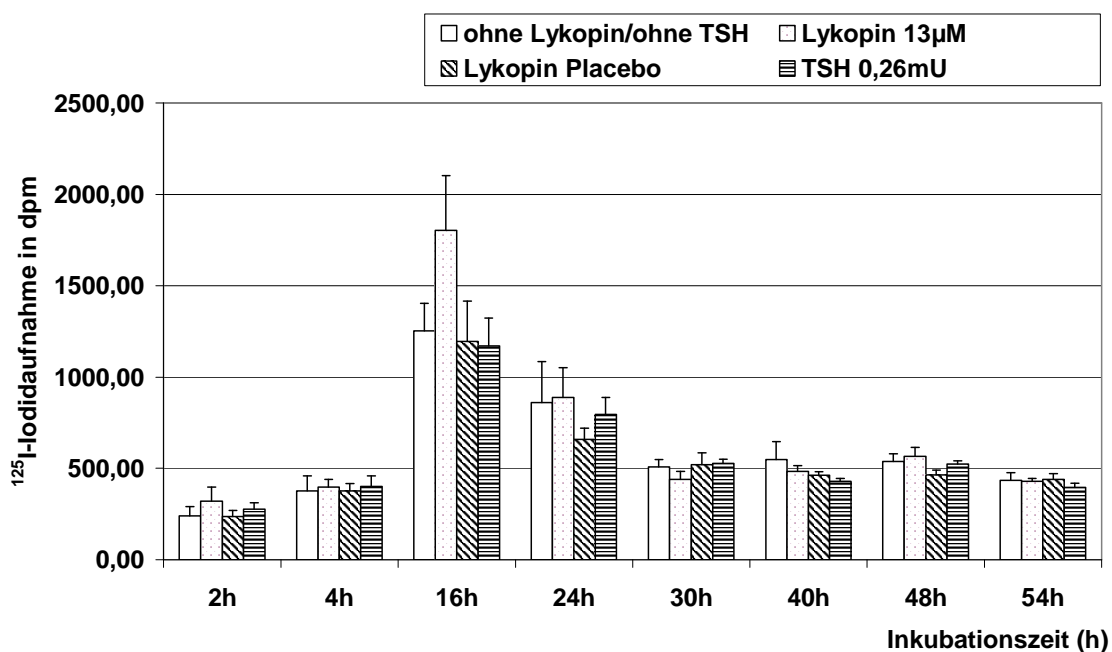


Abb.13 Lykopin (Ansatz V)

Einfluss von Lykopin ( $13\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) und TSH ( $0,26\text{mU/Kultur}$ ) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A-haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopin oder Lykopin-Placebo oder TSH sowie jeweils  $4\text{ kBq }^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der  $2\text{h}$  bis  $54\text{h}$ -ständigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die



Mittelwerte und SEM (n=6) des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Die Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Kommerzielles Vit. A- haltiges NCTC-Medium (0,6 µM). Keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 12 und 13 im Anhang aufgeführt

Die maximale Aufnahmerate für  $^{125}\text{I}$ -Iodid erfolgte nach 16h für Lykopin (13 µM), Lykopin-Placebo, TSH (0,26 mU) und die Leerprobe. Nachfolgend war die Iodidaufnahme in die Thyreozyten nur noch rückläufig. Zugehörige Zahlenwerte und Statistiken sind in Tab. 10 im Anhang aufgeführt.

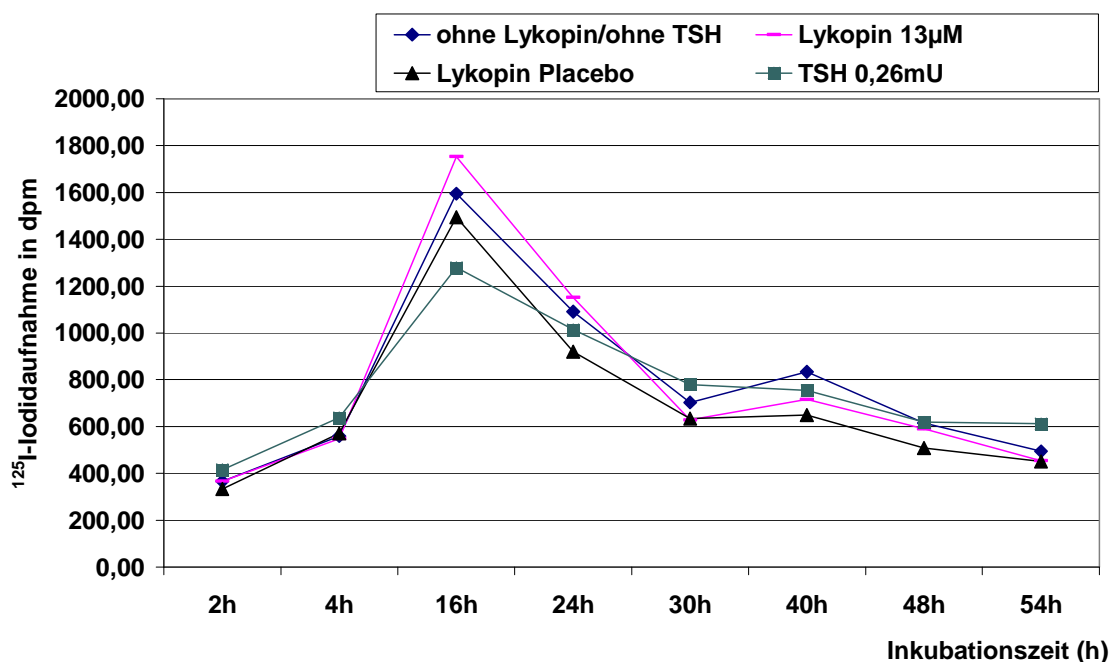


Abb.14 Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen IV-V in Abhängigkeit der übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung der zwei Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 14 im Anhang aufgeführt.

Wie aus der Abbildung ersichtlich wird, kam es in allen Versuchsabfolgen zu einer erhöhten  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme zum Zeitpunkt  $t = 16\text{h}$ . Für die Versuchsreihe mit Lykopen  $13\ \mu\text{M}$  scheint dies der optimale Zeitpunkt für die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme zu sein.

Für die Versuchsreihen VI und VII bzw. VI a und VII a wurden die Schweinethyreozyten in zwei Gruppen unterteilt. Bei der Versuchsabfolge VI + VII wurden die Thyreozyten in speziell angefertigtem Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium kultiviert. Bei den Versuchsreihen VI a + VII a wurden die Schweinethyreozyten in handelsüblichem Vitamin A- haltigem NCTC-Medium ( $0,6\ \mu\text{M}$ ) kultiviert. Die stimulierenden Agenzien wurden direkt bei der Aussaat dem Medium zugefügt. Die Versuchsreihen VI (VIa) und VII (VIIa) wurden an unterschiedlichen Tagen durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu prüfen. Es erfolgten zusätzliche Messungen der Radioiod- Einbaurate mit dem Gammacounter.

c) Ansatz VI und VII, Betrachtung der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-Medium

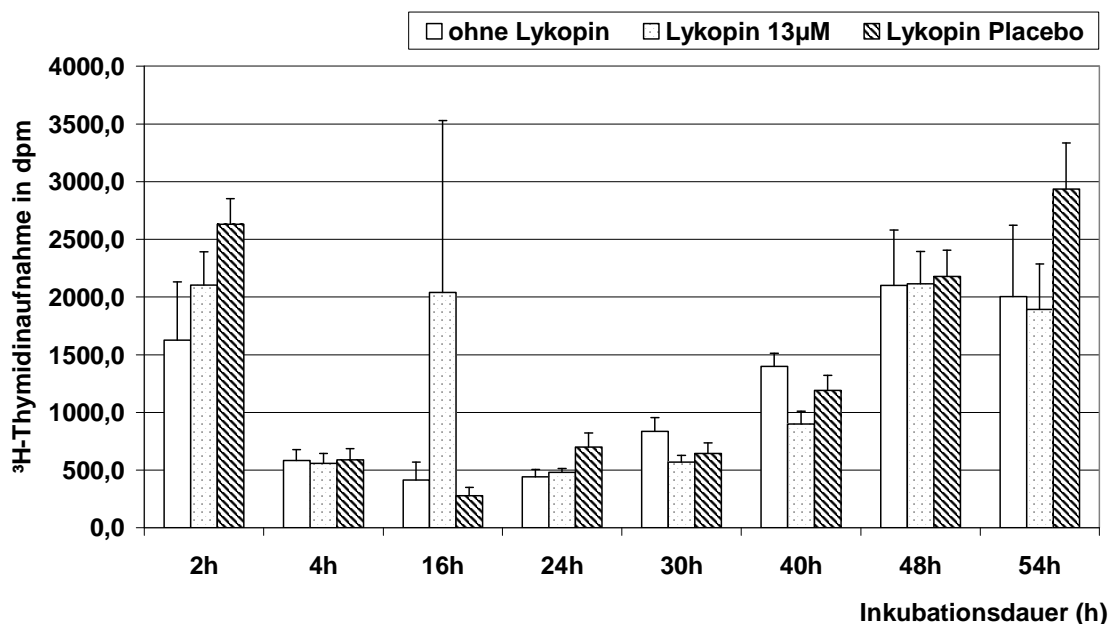


Abb. 15 Lykopen- Zusatz zu Vit.A- freiem Medium (Ansatz VI)

*Einfluss von Lykopen (13µM, eingebaut in Liposomen) auf die <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium (Sonderanfertigung der Fa. Gibco). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo sowie jeweils 12 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 für die Kontrollen, n=5 für die übrigen Ansätze. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit. A- freies NCTC-Medium. Keine signifikanten Unterschiede zur jeweiligen Kontrolle. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 15 im Anhang aufgeführt.*

Wie in Abb. 15 ersichtlich bewirkte die Zugabe von Lykopen (13µM) und Lykopen-Placebo (13µM) zum Zeitpunkt t = 2h gegenüber der nicht stimulierten Kontrolle eine erhöhte Aufnahme von Thymidin. Während der Inkubationsdauer zwischen 24h und 48h zeigt sich bei den mit Lykopen stimulierten Thyreozyten eine ähnliche Thymidinaufnahme wie bei der nicht stimulierten Kontrolle. Nach 54h Inkubation ist die Thymidin-Inkorporation bei den mit Lykopen-Placebo stimulierten Zellen, höher als bei der Kontrolle. Nach 16h findet sich unter Lykopen eine erhöhte Thymidinaufnahme, allerdings ist hier SEM auch sehr groß, so dass wahrscheinlich von einem Pipettierfehler auszugehen ist.

d) Ansatz VI und VII, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-Medium

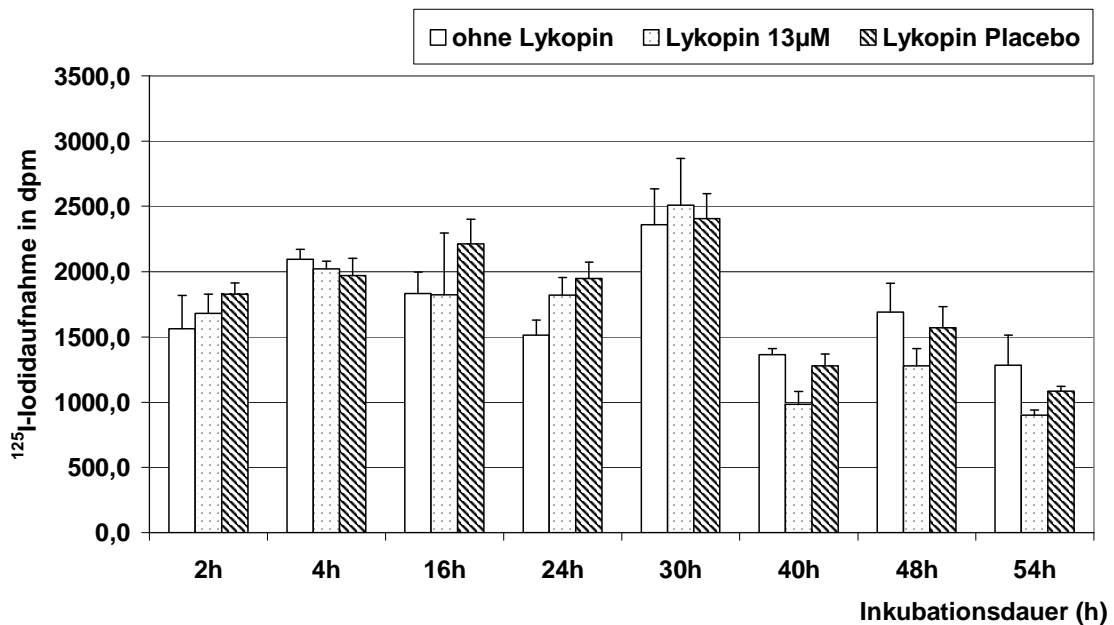


Abb.16 Lykopin- Zusatz zu Vit.A– freiem Medium (Ansatz VI)

Einfluss von Lykopin (13 $\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium (Sonderanfertigung der Fa. Gibco). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopin oder Lykopin Placebo sowie jeweils 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 bei den Kontrollen ohne Stimulation und n=5 für die übrigen Ansätze. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 16 im Anhang aufgeführt.

Bei diesem Ansatz zeigen alle Kulturen eine fast ähnliche Iodidaufnahme in die Thyreozyten. Die maximale Iodidaufnahme der mit Lykopin stimulierten Zellen konnte bei t = 30h beobachtet werden, sie unterscheidet sich nicht signifikant von den Kontrollen.

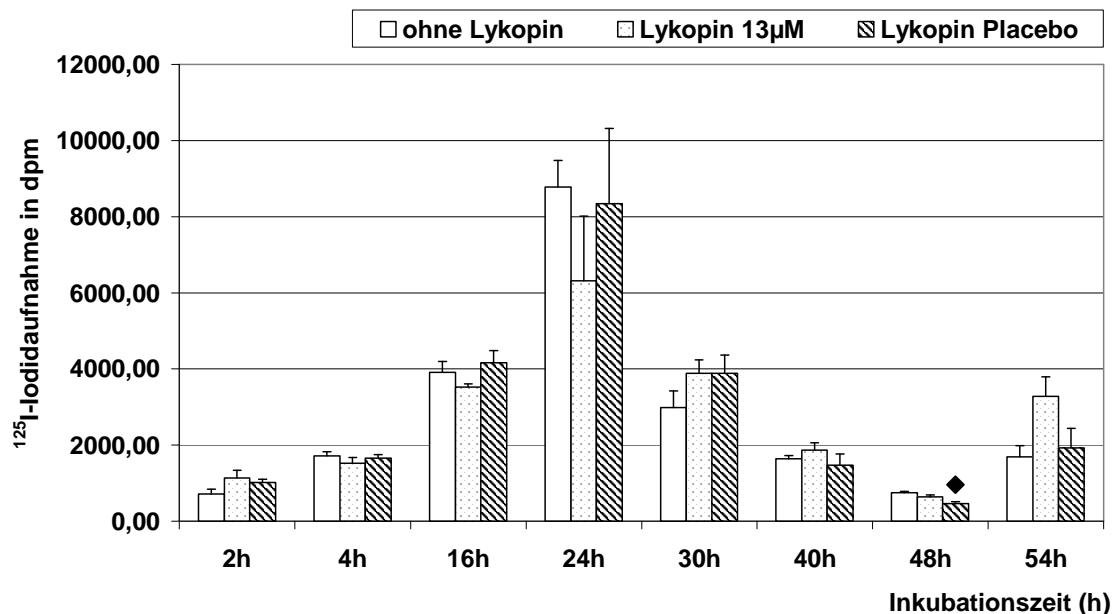


Abb.17 Lycopin- Zusatz zu Vit.A– freiem Medium (Ansatz VII)

Einfluss von Lycopin (13μM eingebaut in Liposomen) auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium (Sonderanfertigung der Fa. Gibco). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lycopin und Lycopin-Placebo sowie jeweils 4 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 bei den Kontrollen ohne Stimulation und n=5 bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 17 im Anhang aufgeführt.

Wie Abb. 17 zeigt, bewirkt die Zugabe von Lycopin in der <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in die Thyreozyten verglichen mit der nicht stimulierten Kontrolle keine Verstärkung. Alle Kulturen zeigten, verglichen zur Leerprobe, annähernd

ähnliche Aufnahmezeiten. In Abb. 17 zeigt sich im Zeitfenster von  $t = 24\text{h}$  für alle Agenzien die höchste Aufnahme von  $^{125}\text{I}$ -Iodid.

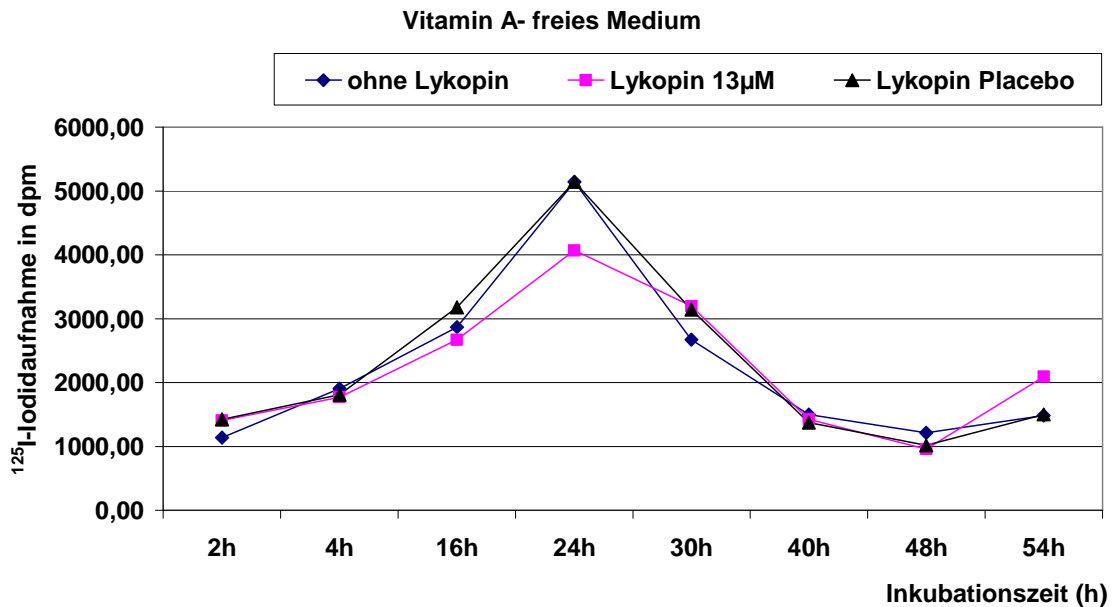


Abb.18 Zusammenfassung der Radioiodaufnahme in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VI - VII in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller drei Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 18 im Anhang aufgeführt.

Wie aus Abb. 18 deutlich wird, kam es in allen Versuchsreihen zu einer vermehrten Radioiodaufnahme zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$ . Für Lykopen ( $13\ \mu\text{M}$ ) liegt zu diesem Zeitpunkt die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten jedoch unter der durch das Placebo hervorgerufenen Iodidaufnahme.

e) Ansatz VI und VII, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in Vitamin A– freiem NCTC-Medium. Die Messung des  $^{125}\text{I}$ -Iodid erfolgte im Gammacounter

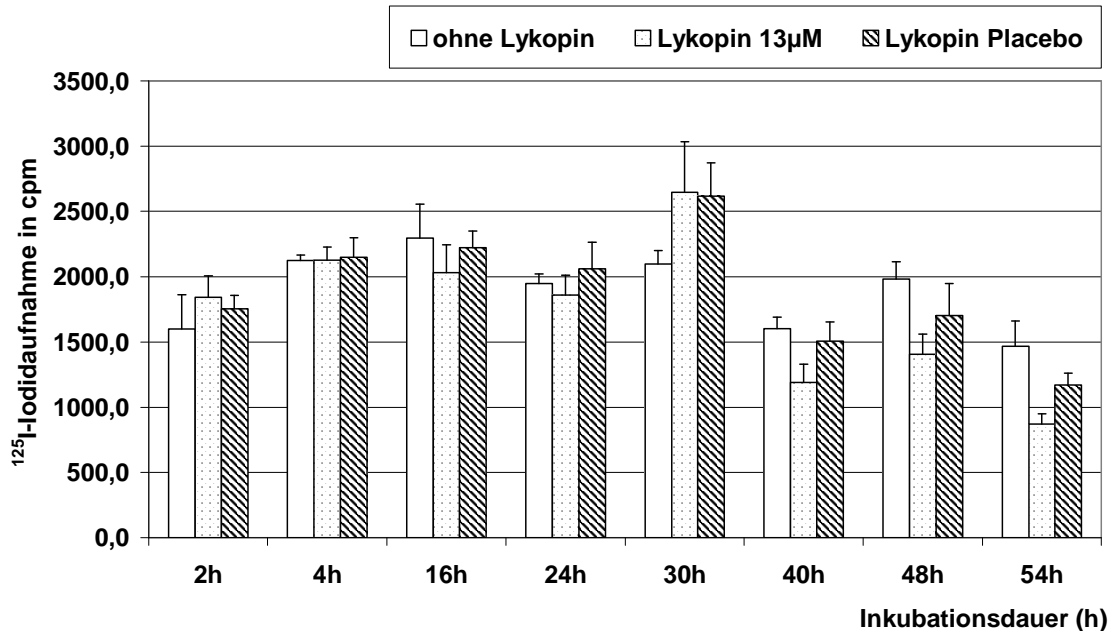


Abb.19 Lycopin in Vit.A– freiem Medium (Ansatz VI), Messung im Gammacounter

Einfluss von Lycopin (13μM eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium (Sonderanfertigung der Fa. Gibco). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lycopin und Lycopin Placebo sowie 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 bei der Kontrolle und n=5 bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die Messungen erfolgten im Gammacounter. Keine signifikanten Unterschiede zur jeweiligen Kontrolle. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 19 im Anhang aufgeführt.

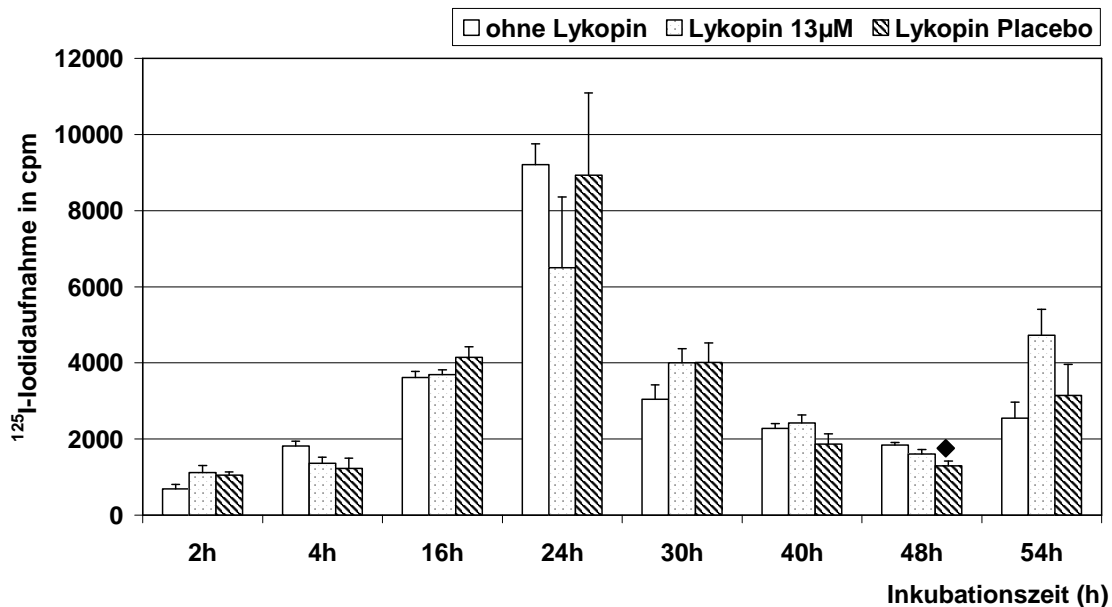


Abb.20 Lykopen in Vit.A– freiem Medium, Messung im Gammacounter (Ansatz VII)

Einfluss von Lykopen (13 µM eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium (Sonderanfertigung der Fa. Gibco). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen Placebo und 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 bei den Kontrollen und n=5 bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die Messungen erfolgten im Gammacounter. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 20 im Anhang aufgeführt.

Verglichen mit Ansatz VI (Abb. 19) zeigt sich schon nach 2h Inkubation unter Lykopen im Mittel eine 1,6-fache und unter Lykopen Placebo eine 1,8-fache erhöhte Radioiodaufnahme in die Thyreozyten bezogen auf die Leerprobe. Ein signifikanter Unterschied in der Radioiodaufnahme findet sich bis auf einen



Ansatz nach 48h Inkubation zwischen der Kontrolle, dem Lykopen und dem Lykopen-Placebo nicht.

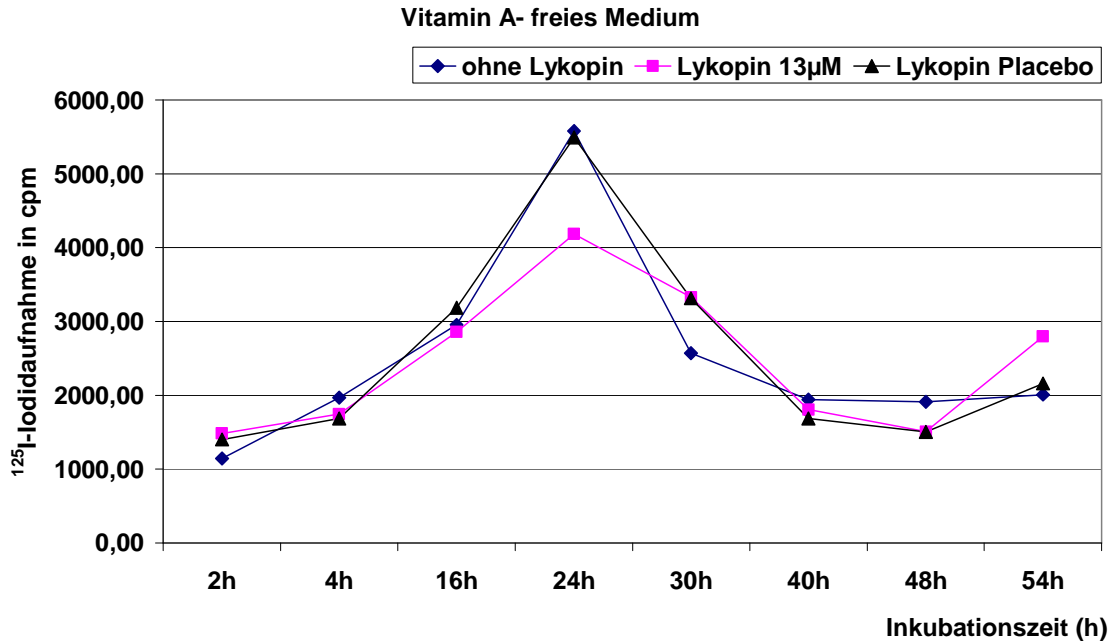


Abb.21 Zusammenfassung der Radioiodaufnahme in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VI-VII in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 21 im Anhang aufgeführt.

Aus Abb. 21 geht hervor, dass zum Zeitpunkt  $t = 24\text{h}$  für alle Agenzien ein vermehrter Radioiodeinbau in die Thyreozyten erfolgte. Unter Lykopen ( $13\ \mu\text{M}$ ) ist zu diesem Zeitpunkt die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme niedriger als unter seinem Placebo und der unstimulierten Kontrolle.

f) Ansatz VIa und VIIa, Betrachtung der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in Vitamin A–haltigem NCTC-Medium

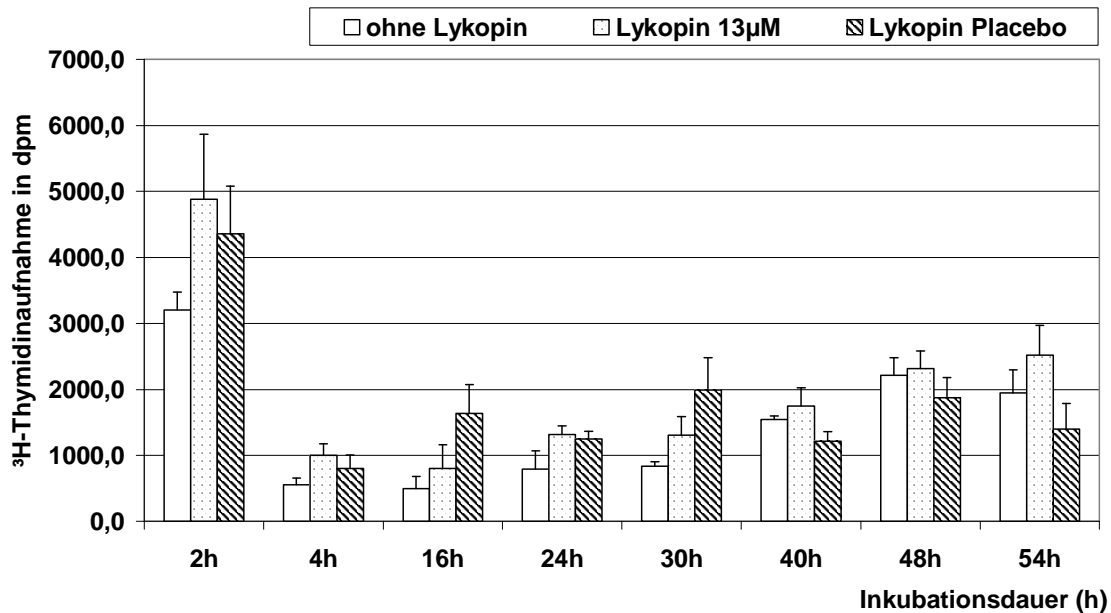


Abb.22 Lykopin in Vit.A–haltigem NCTC-Medium (Ansatz VI a)

Einfluss von Lykopin (13µM eingebaut in Liposomen) auf die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium (Vit.A 0,6 µM). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopin oder Lykopin-Placebo sowie 12 kBq  $^3\text{H}$ -Thymidin zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 bei den Kontrollen und n=5 bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 22 im Anhang aufgeführt.

Wie aus Abb. 22 ersichtlich, kommt es nach 2h Inkubation gegenüber der Kontrolle zu einer erhöhten Thymidin Inkorporation bei den mit Lykopin oder seinem Placebo stimulierten Thyreozyten. Nach 4h Inkubation konnte eine rückläufige Einbaurrate beobachtet werde. Nach 30h Inkubation erreichten die

mit dem Placebo stimulierten Zellen eine doppelt so hohe Aufnahme gegenüber der nicht stimulierten Leerprobe und unter Lykopin. Des Weiteren konnte nach 40h ein leicht erhöhter Thymidineinbau der mit Lykopin stimulierten Zellen beobachtet werden.

g) Ansatz VIa und VIIa, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in Vitamin .A- haltigem Medium

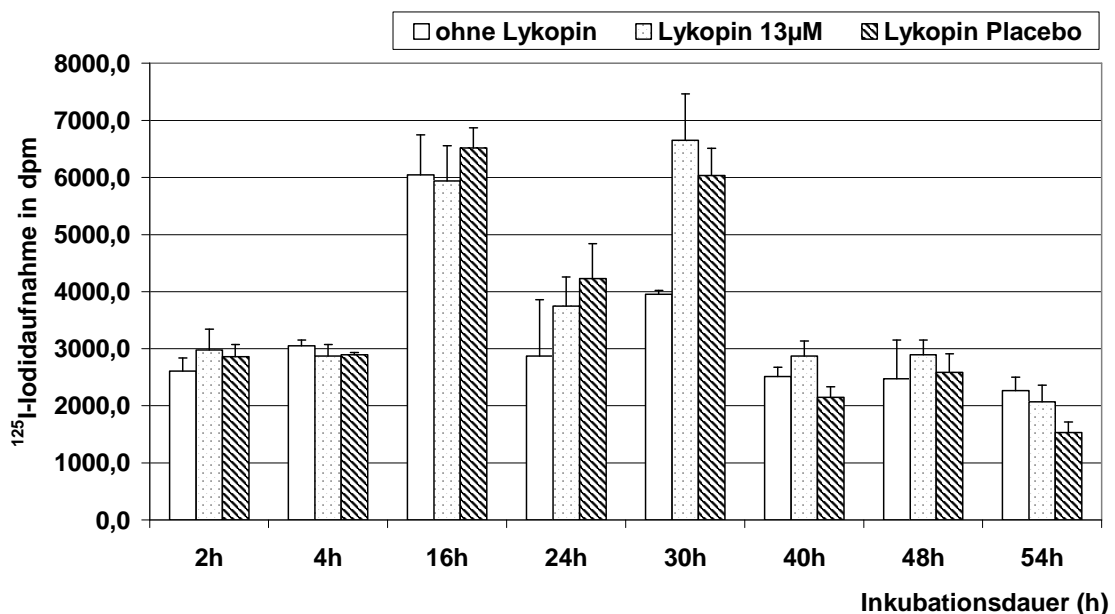


Abb.23 Lykopin in Vit.A- haltigem Medium (Ansatz VI a)

Einfluss von Lykopin ( $13\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium ( $0,6\mu\text{M}$  Vit.A). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopin und Lykopin-Placebo sowie  $4\text{ kBq }^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Radioiodaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat;  $n=4$  bei den Kontrollen und  $n=5$  bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl

pro Kulturloch 130 000. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 23 im Anhang aufgeführt.

Für die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten ist nach 2h Inkubation eine deutlich höhere Inkorporation von Iodid erkennbar als im entsprechenden Ansatz mit Vit.A– freiem Medium (Abb. 16, zeitgleiche Versuchsdurchführung) Die höchste Iodidaufnahme der mit Lykopen (13  $\mu\text{M}$ ) stimulierten Zellen wurde nach 30h erreicht, für das Placebo-Lykopen bereits nach 16h Inkubation. Ein vorübergehender leichter Rückgang der Iodidaufnahme konnte zum Zeitpunkt t = 24h beobachtet werden. Ab 40h war die Radioiodinkorporation dann deutlich niedriger.

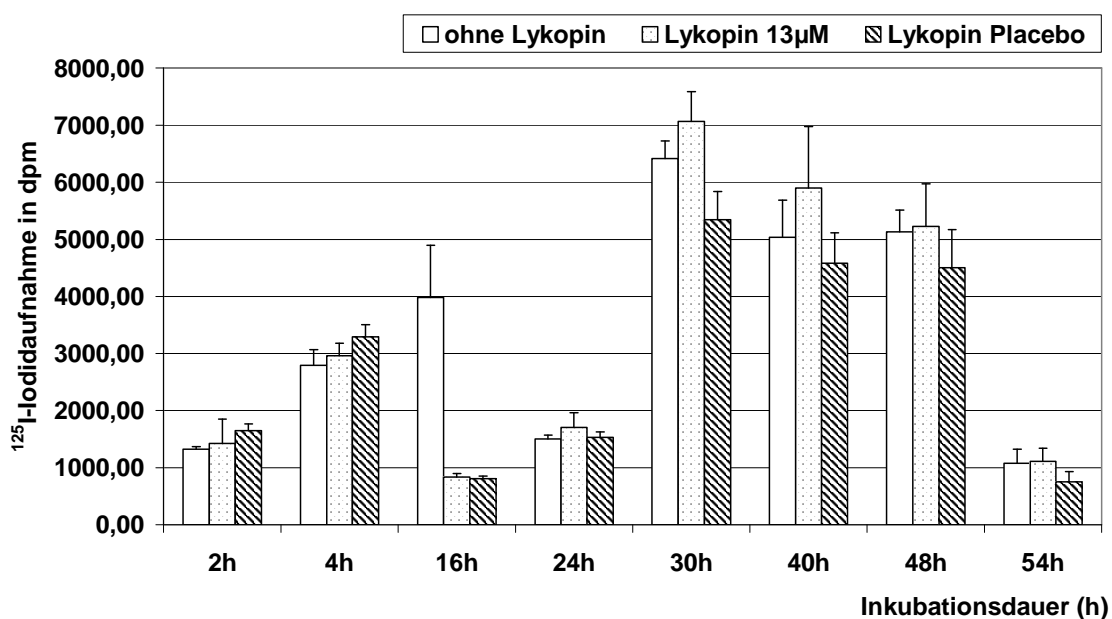


Abb.24 Lykopen in Vit.A– haltigem Medium (Ansatz VII a)

Einfluss von Lykopen (13 $\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium (0,6  $\mu\text{M}$  Vit.A). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo sowie 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des

zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat; n=4 bei den Kontrollen und n=5 bei den übrigen Ansätzen. Keine signifikanten Unterschiede zur jeweiligen Kontrolle. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 24 im Anhang aufgeführt.

Wie Abb. 24 zeigt, hatte die Zugabe von Lycopin für die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten verglichen mit der nicht stimulierten Kontrolle eine verstärkende Wirkung zu den Zeitpunkten t = 30h, 40h und 48h.

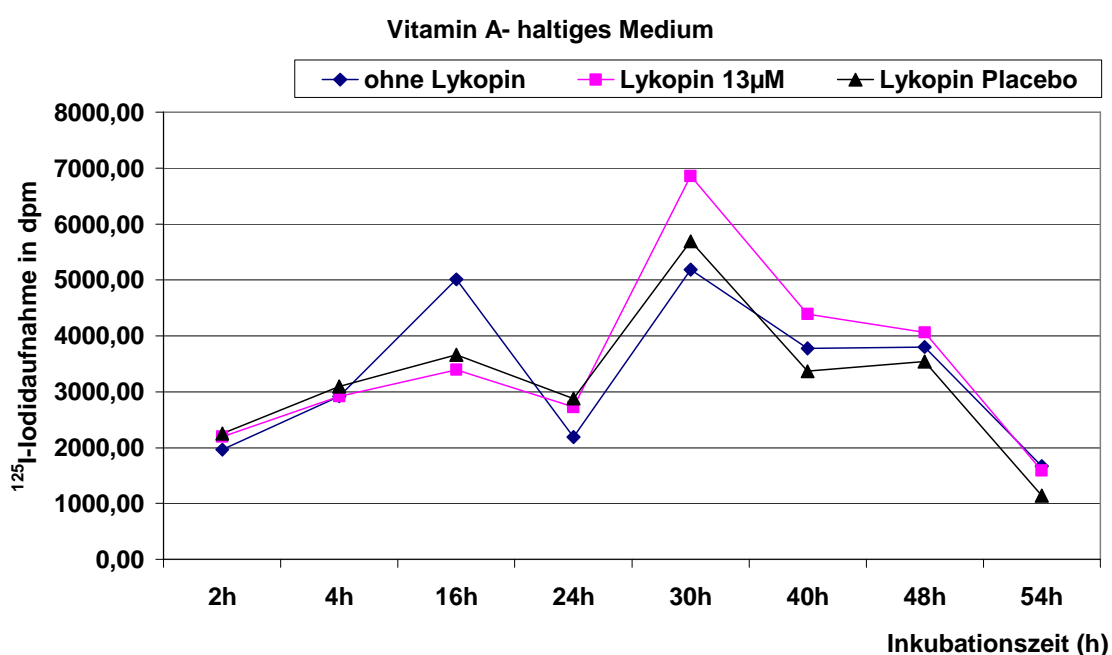


Abb.25 Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIa und VIIa in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 25 im Anhang aufgeführt.

Aus Abb. 25 wird deutlich, dass die optimale Einbaurrate für  $^{125}\text{I}$ -Iodid für alle Agenzien zum Zeitpunkt t = 30h vorliegt.

h) Ansatz VIa und VIIa, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in Vitamin A- haltigem NCTC-Medium, Messungen im Gammacounter

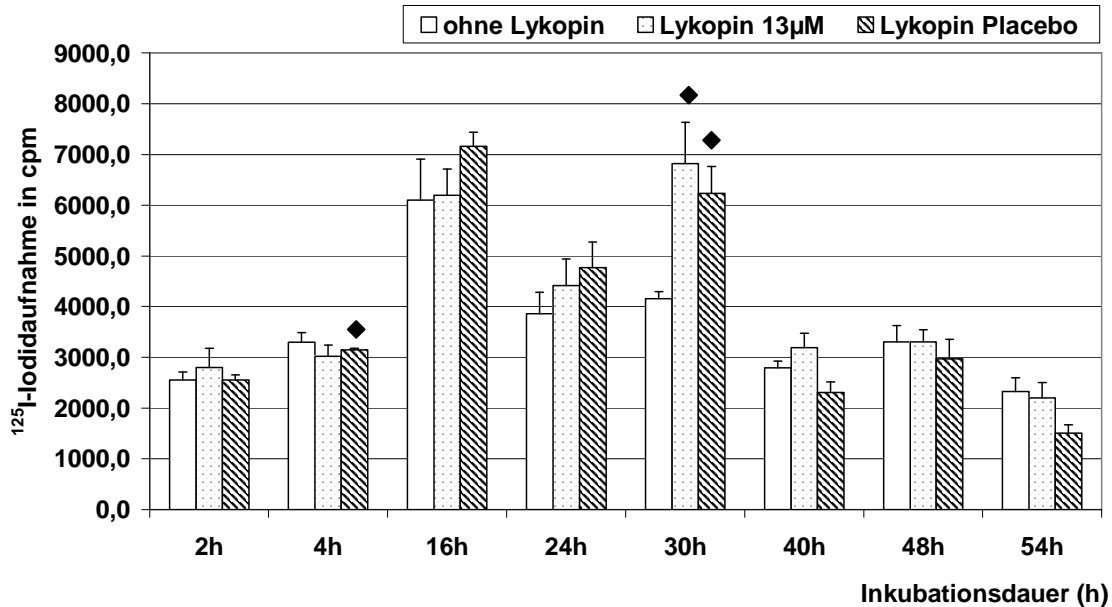


Abb.26 Lykopen in Vit.A- haltigem Medium, Messung im Gammacounter (Ansatz VI a)

Einfluss von Lykopen ( $13\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium ( $0,6\ \mu\text{M}$  Vit.A). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo sowie  $4\ \text{kBq}$   $^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat;  $n=4$  bei den Kontrollen und  $n=5$  bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Die Messungen erfolgten im Gammacounter. Die mit  $\blacklozenge$  gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 26 im Anhang aufgeführt.

Die maximale Iodid- Einbaurrate für die mit Lykopen Placebo stimulierten Zellen zeigt sich bei  $t = 16\text{h}$ . Für die mit Lykopen stimulierten Zellen erfolgt der maximale Iodideinbau nach 30h. Es zeigt sich, dass das Vit.A- haltige Medium bezogen auf die Leerprobe (Kontrolle), eine deutliche Steigerung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten induziert (siehe Abb. 19 und 20 Vit.A- freies Medium).

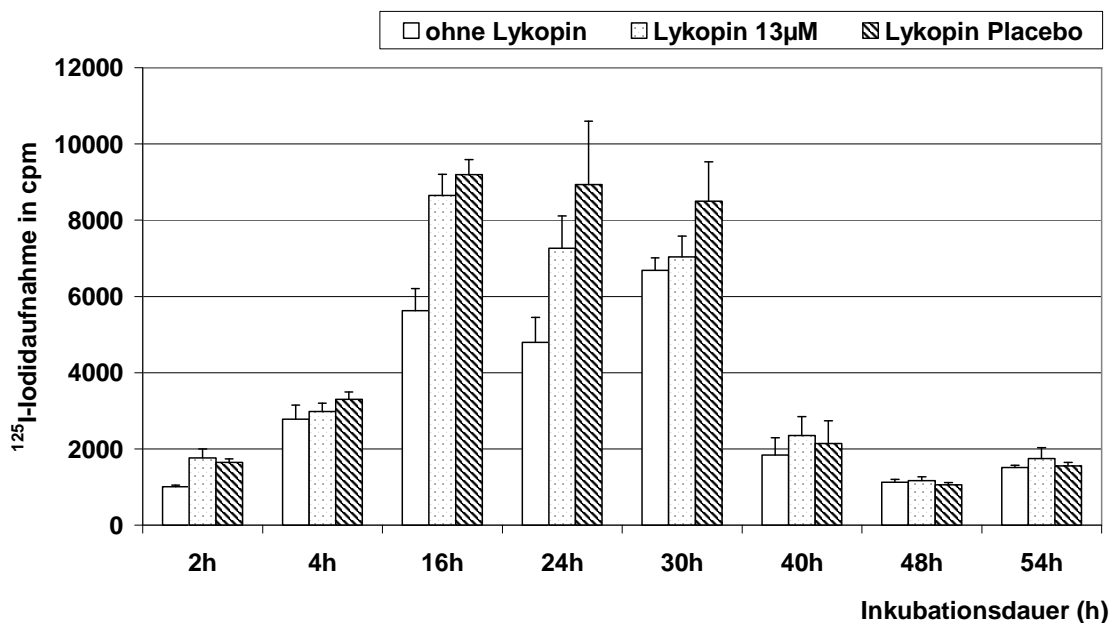


Abb.27 Lykopen in Vit.A- haltigem Medium, Messung im Gammacounter (Ansatz VII a)

Einfluss von Lykopen ( $13\mu\text{M}$  eingebaut in Liposomen) auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium ( $0,6\mu\text{M}$  Vit.A). Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat Lykopen oder Lykopen-Placebo sowie  $4\text{ kBq }^{125}\text{I}$ -Iodid zu gegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 54h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM des zeitlichen Verlaufs der Radioiodaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat;  $n=4$  bei den Kontrollen und  $n=5$  bei den übrigen Ansätzen. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch  $130\ 000$ . Die Messungen erfolgten im Gammacounter. Keine

signifikanten Unterschiede zur jeweiligen Kontrolle. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 27 im Anhang aufgeführt.

Wie in Abb. 27 deutlich erkennbar wird, bewirkt die Verwendung von Vit.A-haltigem NCTC-Medium, vergleichend zum Vit.A- freiem Medium (Abb. 19; 20), eine verstärkte  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten. Nach 16h Inkubationsdauer kam es zu einer erhöhten Aufnahme von Iodid in den mit Lykopin und Lykopin-Placebo stimulierten Kulturen, verglichen mit der Kontrolle.

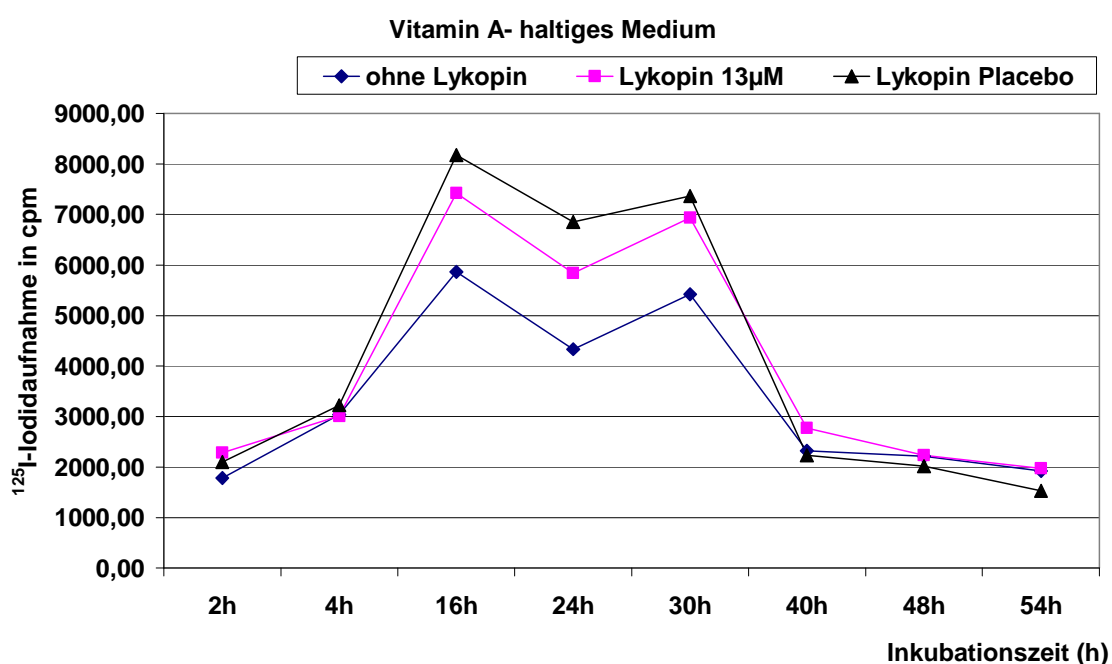


Abb.28 Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIa und VIIa in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 28 im Anhang aufgeführt.

In Abb. 28 erreichen Lykopin und das Placebo Lykopin nach 16h und 30h Inkubation jeweils ein Maximum der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme.



### **3.3 <sup>3</sup>H-Thymidin- und <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in kultivierte Schweine-thyreozyten in Abhängigkeit von TSH, dem Vit.A- Gehalt des Kulturmediums und des Ciprobay<sup>®</sup>-Zusatzes zum Kulturmedium**

In den nachfolgenden Versuchsreihen wurde pro Kulturloch 200 µl Medium wahlweise mit oder ohne Vit.A- Zusatz verwendet. Die eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch betrug 130 000. Die Stimulation der Kulturen erfolgte mit TSH in einer Endkonzentration von 0,26 mU. Ein Teil der Thyreozyten wurde mit dem Antibiotikum Ciprobay<sup>®</sup> 200 (3%-iger Zusatz zum Kulturmedium) behandelt, um die Auswirkung auf die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten erfassen zu können. Direkt bei der Aussaat wurden den Kulturen jeweils 12 kBq <sup>125</sup>I-Iodid und 4 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin zugesetzt. Damit konnte die Radio-Iodaufnahme als Parameter für die Stoffwechselfunktion der Thyreozyten in einem Zeitintervall von 2h (minimal) und 24h (maximal) verfolgt werden. Die Thymidinaufnahme diente als Parameter für die Proliferation. Als signifikant wurden die Ergebnisse der Versuche bewertet, bei deren statistischer Auswertung  $p < 0,05$  war. Um die Thymidin- und Iodidaufnahme in die Thyreozyten ermitteln zu können, muss der Zeitpunkt ermittelt werden, in welchem mit sicher messbaren Effekten gerechnet werden kann.

Der Ansatz VIII stammt aus einem anderen Zellpool als die Ansätze IX und X, letztere stammen aus demselben Zellpool. Die Versuchsreihe VIII wurde an einem anderen Tag durchgeführt als die Versuche IX und X. Versuche IX und X wurden an unterschiedlichen Tagen durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu prüfen.

a) Ansatz VIII, IX und X, Betrachtung der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in wahlweise Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem Medium, sowie mit und ohne Ciprobay<sup>®</sup>-Zusatz.

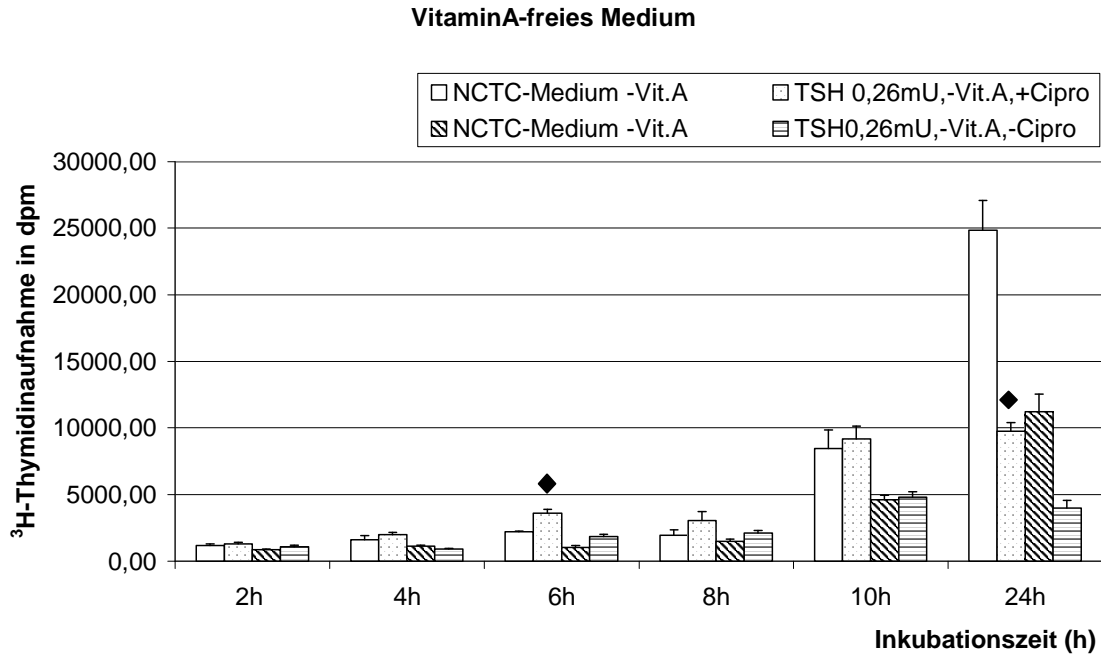


Abb.29 TSH in Vit.A- freiem Medium mit und ohne Zusatz von Ciprobay<sup>®</sup>200 (Ansatz VIII)

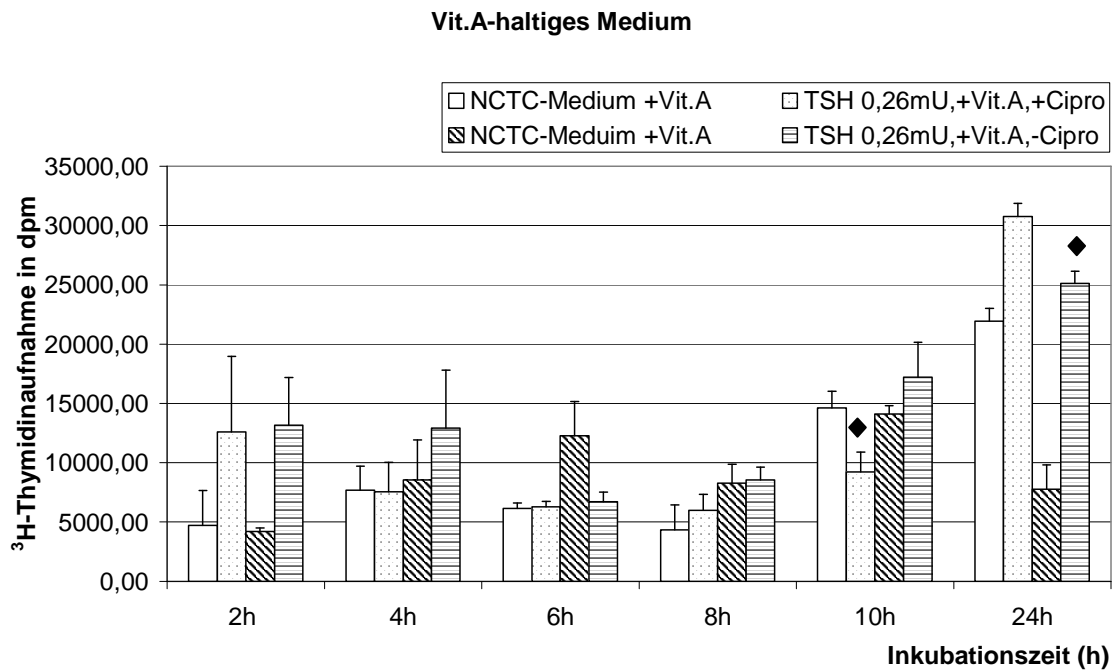


Abb 29a (Ansatz VIII)

*Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweine-thyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-135-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay<sup>®</sup>200 (3% (v/v)) sowie 12 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 24h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 29 im Anhang aufgeführt.*

Bereits nach 2h Inkubation zeigt sich für die Kulturen, die mit 0,26 mU TSH und mit Vitamin A stimuliert wurden (Abb. 29a) eine deutlich erhöhte Thymidinaufnahme in die Thyreozyten bezogen auf die Kontrolle. Die folgenden Stunden (4h–8h) zeigen, bezogen auf die Kontrolle, eine rückläufige Thymidinaufnahme in die Thyreozyten. Nach 24h Inkubation ist die <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme für die mit 0,26 mU TSH und mit Vitamin A stimulierten Thyreozyten höher im Vergleich zu den nicht mit Vitamin A stimulierten Kulturen. Die Thyreozyten, die in Vitamin A– freiem Medium inkubiert wurden, zeigen in jedem Fall eine deutlich geringere Thymidinaufnahme in die Thyreozyten. Die Anwesenheit von Ciprobay<sup>®</sup>200 kann die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten zu den Zeitpunkten t = 6h, 8h und 10h wahrscheinlich vorübergehend fördern.

### Vit.A-freies Medium

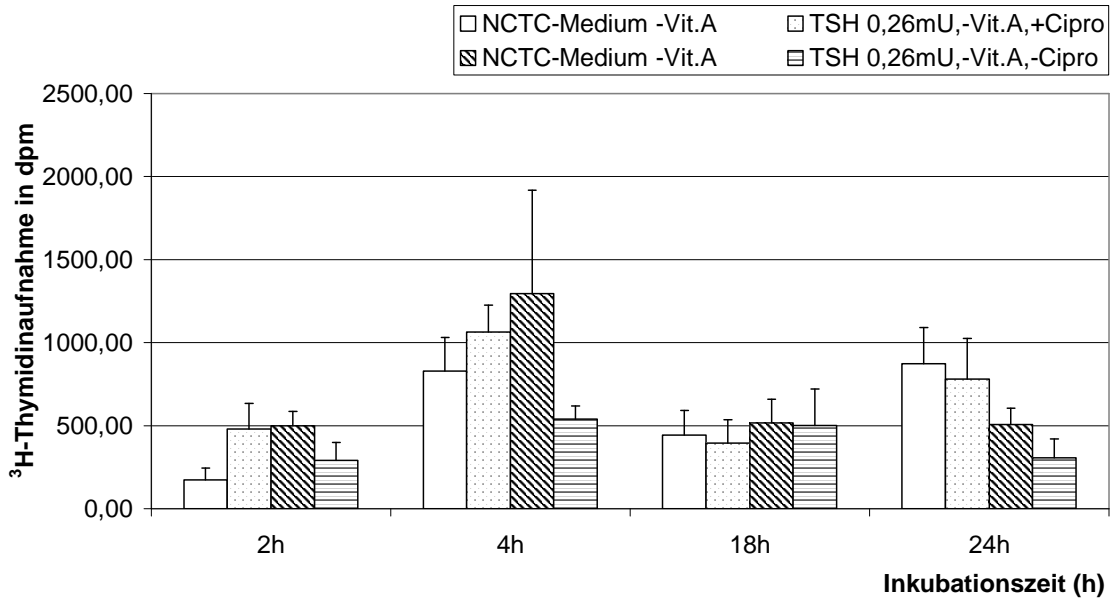


Abb.30 TSH in Vit.A- freiem Medium mit und ohne Zusatz von Ciprobay<sup>®</sup>200 (Ansatz IX)

### Vit.A-haltiges Medium

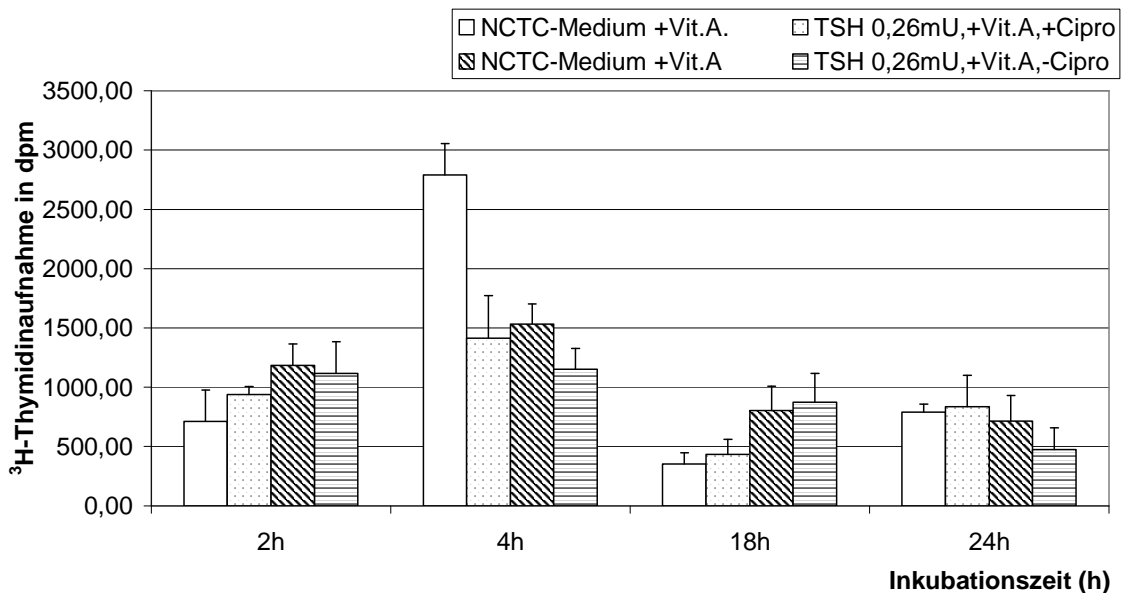


Abb.30a (Ansatz IX)

Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und

Ciprobay®200 (3% (v/v)) sowie 12 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde bis 24h verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Keine signifikanten Unterschiede zur jeweiligen Kontrolle. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 30 im Anhang aufgeführt.

In Abb. 30 zeigt sich, dass sich Ciprobay® auf die Thymidinaufnahme der Thyreozyten, die in Vitamin A- freiem Medium inkubiert wurden eher fördernd auswirken kann. Wird Vitamin A- haltiges Medium verwendet Abb. 30a, so fällt die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten generell höher aus als bei Verwendung von Vitamin A- freiem Medium. Die Zugabe von Ciprobay® in das Vitamin A- haltige Medium hatte zum Zeitpunkt t = 4h und 24h einen für die Thymidinaufnahme fördernden Effekt.

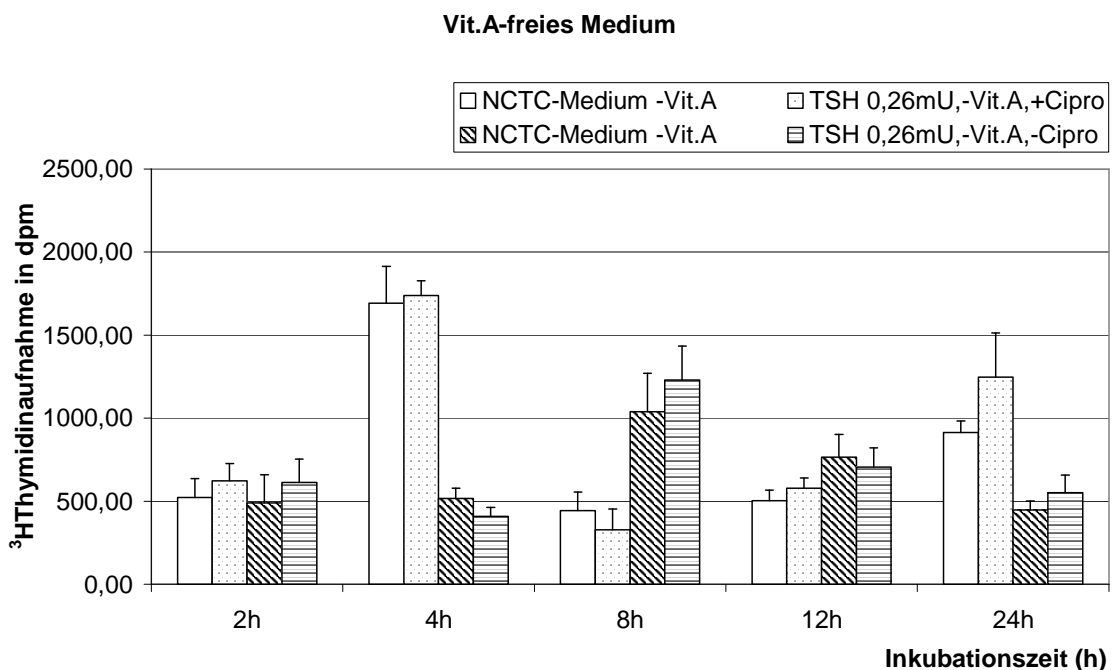


Abb.31 TSH in Vit.A- freiem Medium mit und ohne Zusatz von Ciprobay®200 (Ansatz X)

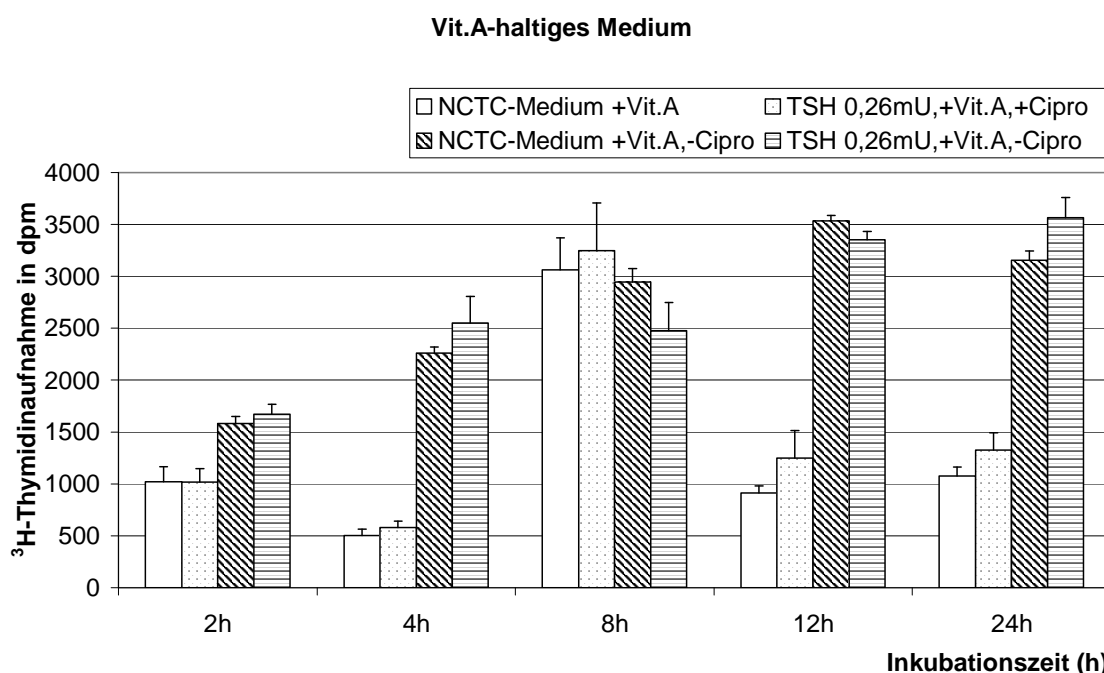


Abb.31a (Ansatz X)

*Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay<sup>®</sup>200 (3% (v/v)) sowie 12 kBq <sup>3</sup>H-Thymidin zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h- bis 24h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Keine signifikanten Unterschiede zur jeweiligen Kontrolle. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 31 im Anhang aufgeführt.*

Bei diesem Versuchsansatz zeigt sich, dass die Zugabe von Ciprobay<sup>®</sup>200 in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer einen fördernden und hemmenden Effekt auf die Thymidinaufnahmerate in die Thyreozyten hatte, wenn diese in Vitamin A- freiem Medium (Abb. 31) inkubiert wurden. Im Medium mit Vitamin A (Abb. 31a) war die Thymidinaufnahme in die Thyreozyten generell höher. Die

Zugabe von Ciprobay<sup>®</sup>200 wirkte sich ebenfalls hemmend (2h, 4h, 12h, 24h) und fördernd (8h) auf die Thymidinaufnahme aus.

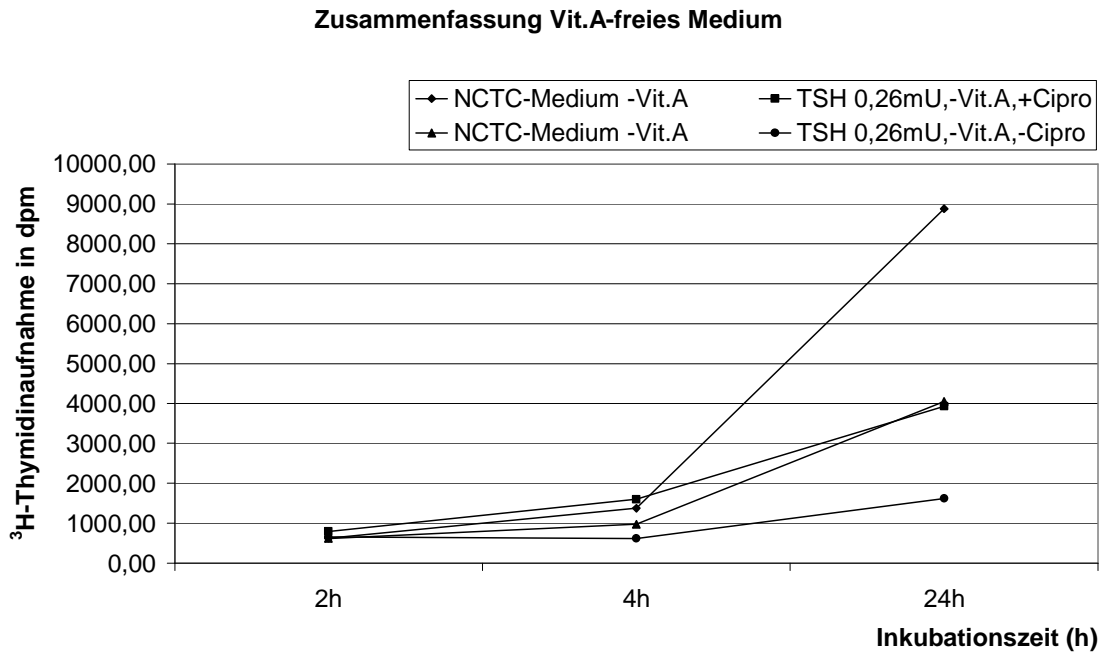
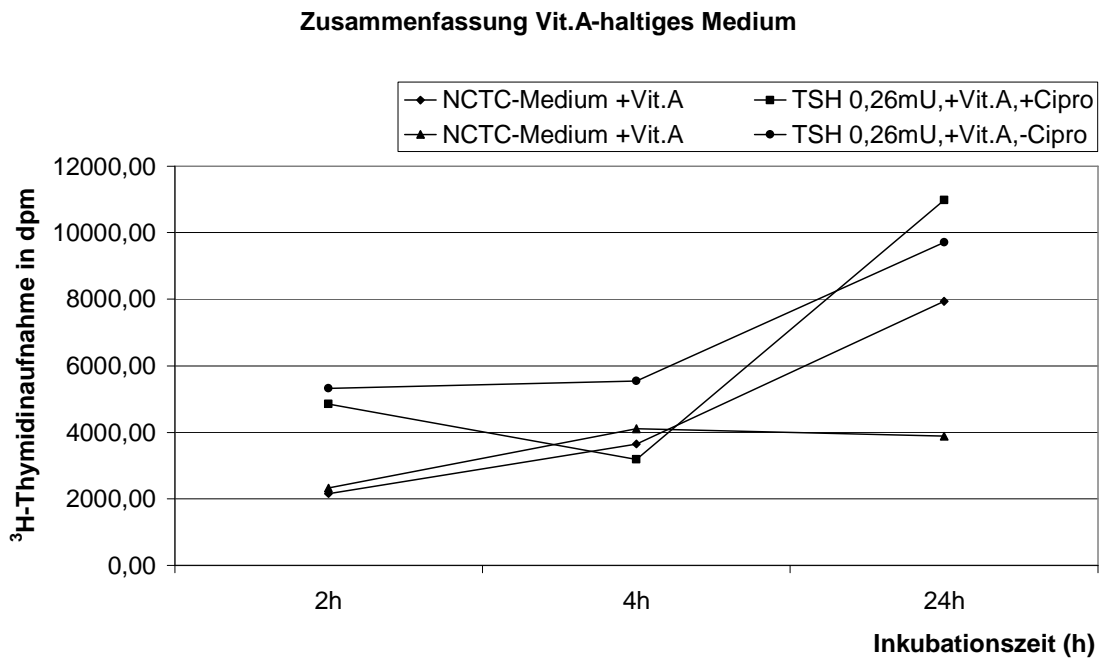


Abb.32 Zusammenfassung des Thymidineinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIII, IX und X.



*Abb.32a Zusammenfassung des Thymidineinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIII, IX und X in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller Versuchsreihen in der <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 32 und 32a im Anhang aufgeführt.*

Für alle Versuchsreihen und Kombinationen zeigt sich in Abb. 32 nach 24h Inkubationsdauer ein Maximum in der Thymidinaufnahme in die Thyreozyten. Für TSH 0,26 mU ohne Vit.A/ ohne Ciprobay<sup>®</sup>200 (Abb. 32) zeigt sich im Verlauf die geringste Änderung. Möglicherweise hat Ciprobay<sup>®</sup>200 in der Gesamtbetrachtung einen gering stimulierenden Effekt auf die Thymidinaufnahme in Thyreozyten.



c) Ansatz VIII, IX und X, Betrachtung der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in wahlweise Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem Medium sowie mit und ohne Ciprobay<sup>®</sup>200 -Zusatz.

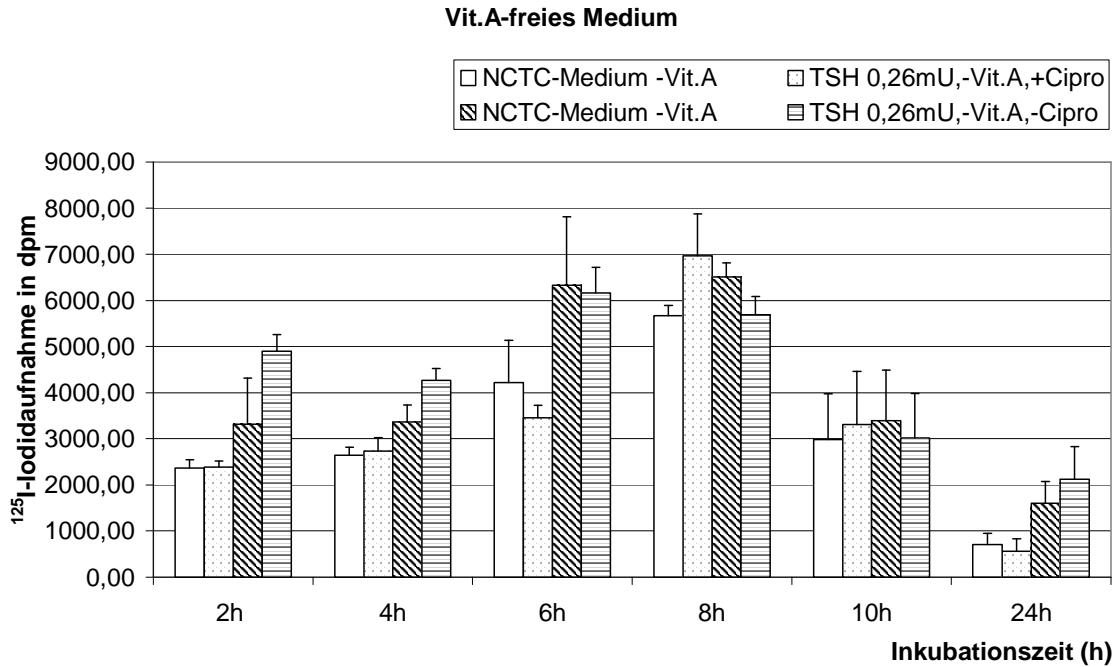


Abb.33 Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten kultiviert in Vit.A- freiem Medium (Ansatz VIII)

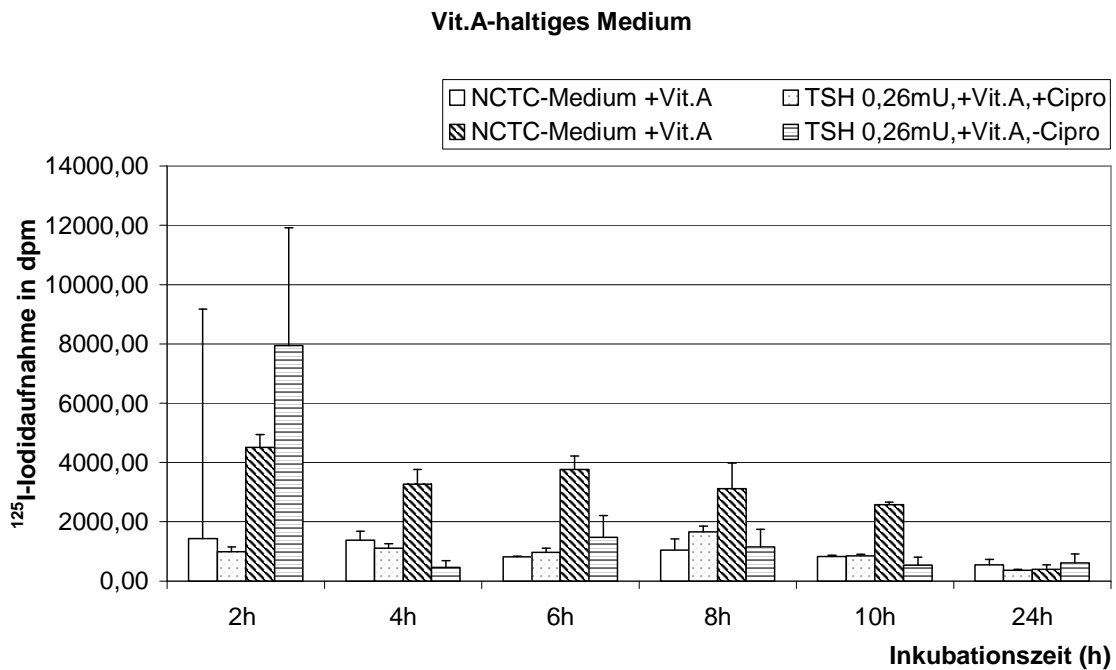


Abb.33a (Ansatz VIII)

Einfluss von Ciprobay®200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay®200 (3% (v/v)) sowie 4 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h- bis 24h stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Iodidaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 33 im Anhang aufgeführt.

Aus Abb. 33 geht hervor, dass die Iodidaufnahme der Thyreozyten, die in Vitamin A- freiem Medium inkubiert wurden und keinen Zusatz von Ciprobay® erhielten, über den gesamten Inkubationszeitraum eine höhere Aufnahme hatten als die Kulturen, welche in Vitamin A- haltigem Medium (Abb. 33a) inkubiert wurden.

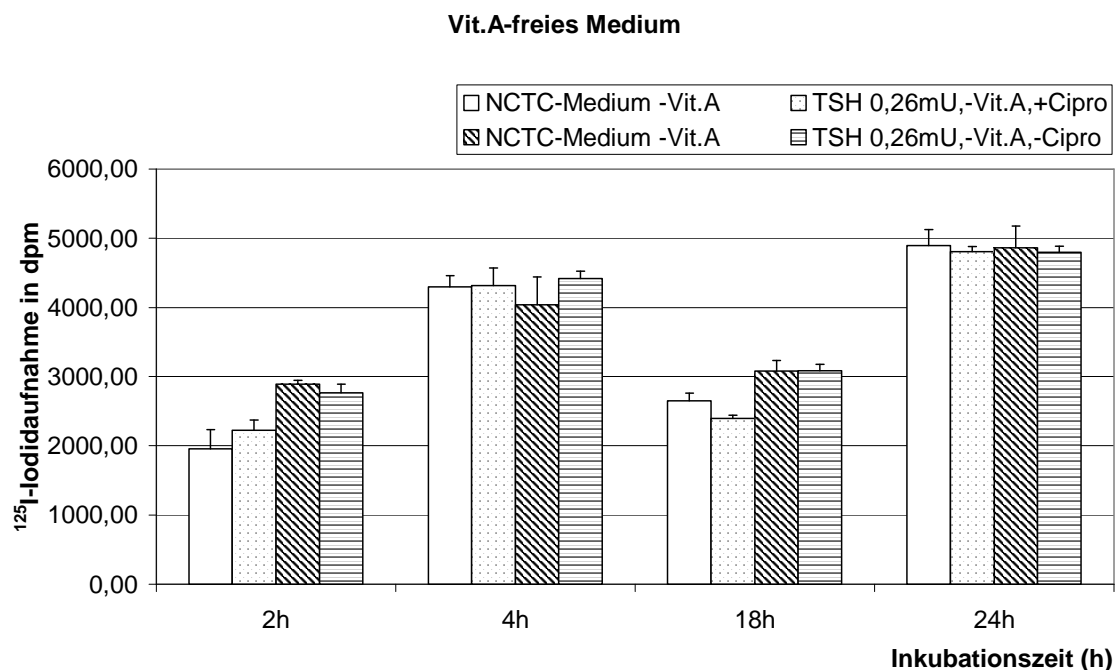


Abb.34 Einfluss von Ciprobay®200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten kultiviert in Vit.A- freiem Medium (Ansatz IX)

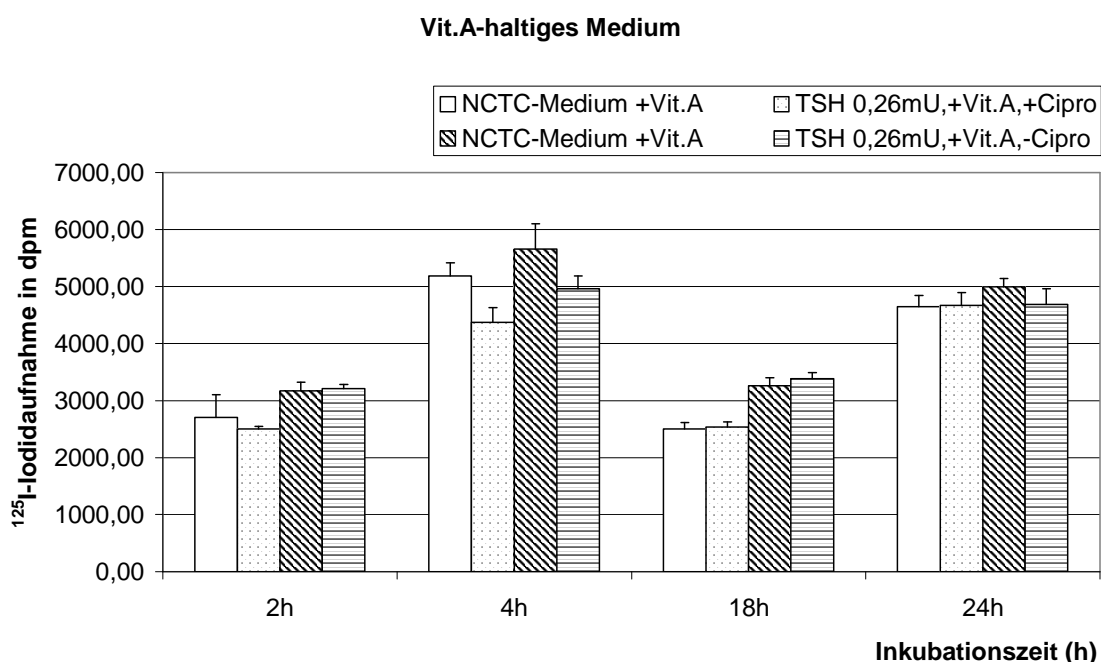


Abb.34a (Ansatz IX)

*Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay<sup>®</sup>200 (3% (v/v)) sowie 4 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h- bis 24h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Iodidaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 34 im Anhang aufgeführt.*

Wie Abb. 34 und 34a zeigen, wird die Iodidaufnahme der Thyreozyten durch Zugabe von Ciprobay<sup>®</sup>200 in Vitamin A- haltiges und Vitamin A- freies Medium eher gehemmt. Fehlt im Medium der Ciprobay<sup>®</sup>-Zusatz so kommt es zu einer höheren Iodidaufnahme in die Thyreozyten.

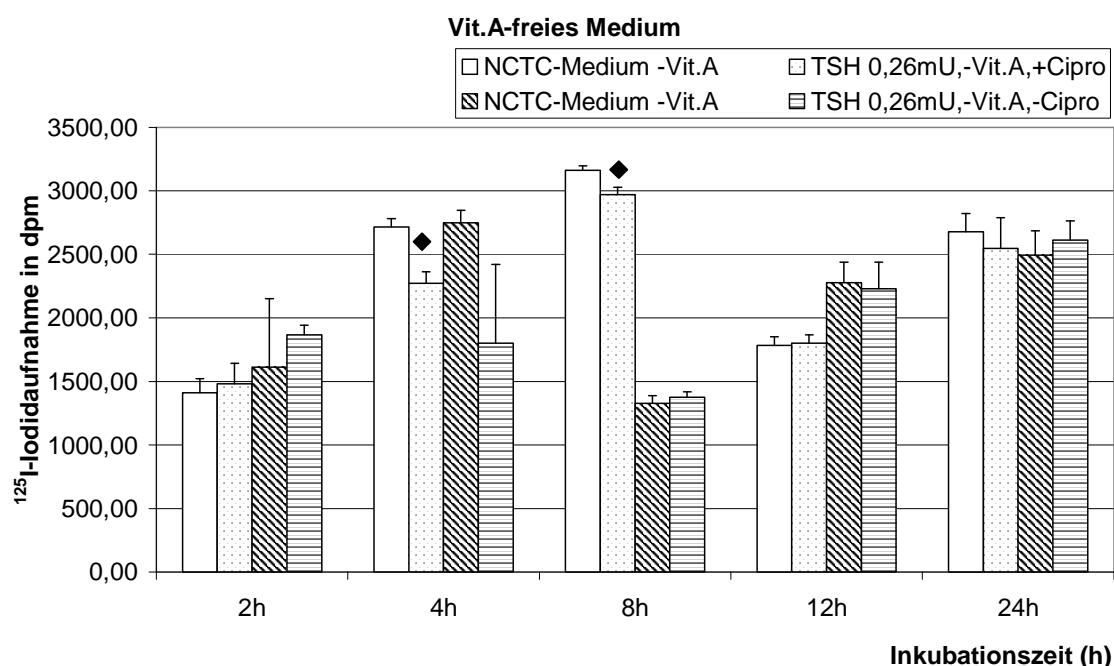


Abb.35 Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert in Vit.A- freiem Medium (Ansatz X)

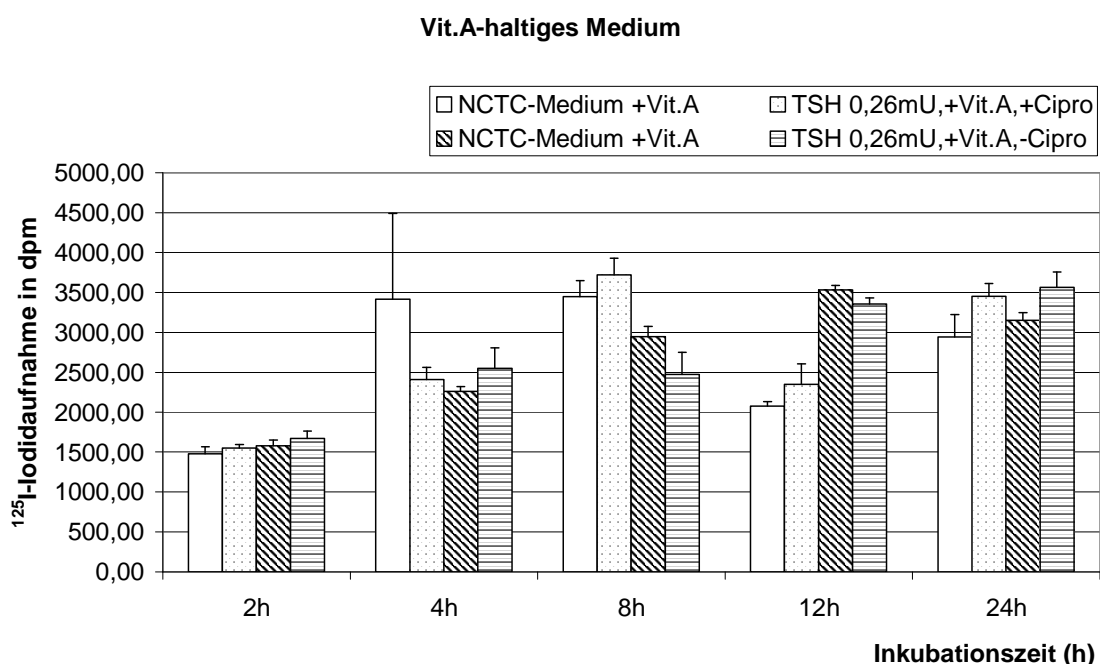


Abb. 35a Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay<sup>®</sup>200 (3%

(v/v)) sowie 4 kBq  $^{125}\text{I}$ -Iodid zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h- bis 24h Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Iodidaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6  $\mu\text{M}$ ) NCTC-Medium. Die mit  $\blacklozenge$  gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 35 im Anhang aufgeführt.

Abb. 35 zeigt, dass sich Ciprobay<sup>®</sup>200 zu Beginn der Inkubation (2h) eher hemmend auf die Iodidaufnahme der Thyreozyten auswirkt wenn diese in Vitamin A- freiem Medium inkubiert wurden. Im Verlauf der Inkubation ändert sich dieses Verhalten jedoch. Auch bei Thyreozyten die in Vitamin A- haltigem Medium (Abb. 35a) inkubiert wurden und Ciprobay<sup>®</sup>200 erhielten zeigte sich im Verlauf der Inkubation und wahrscheinlich in Abhängigkeit vom Zellzyklus, Phasen der Stimulation der Iodidaufnahme und solche die eher einer Hemmung entsprechen.

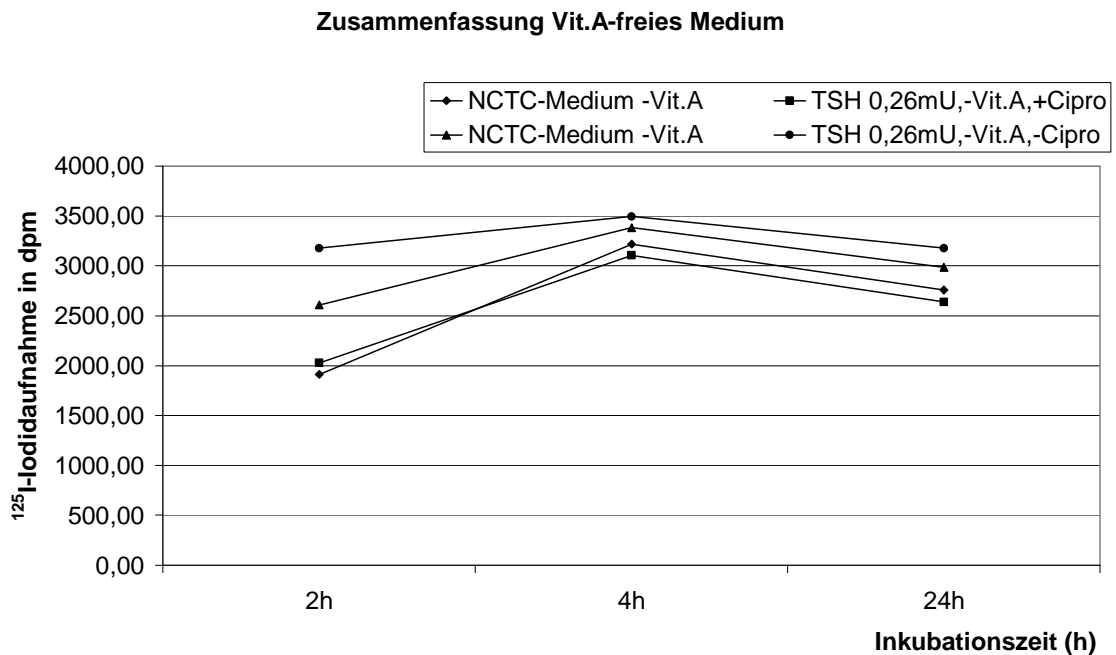


Abb.36 Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIII, IX und X.

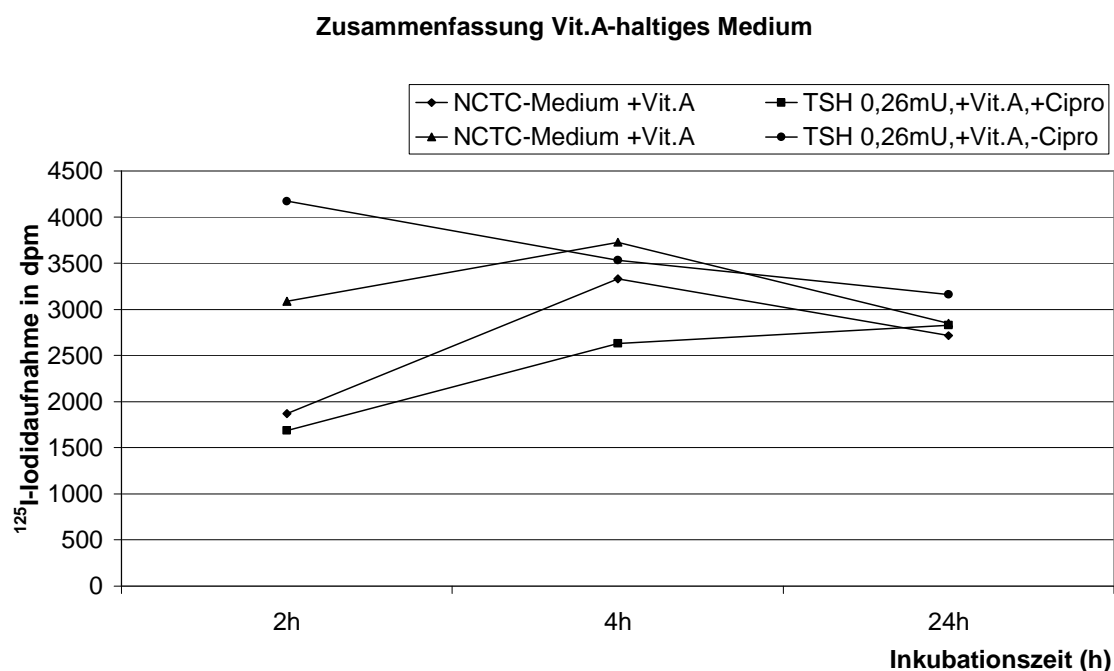


Abb. 36a

Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIII, IX und X in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller Versuchsreihen in der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 36 und 36a im Anhang aufgeführt.

Mit Ausnahme der mit 0,26 mU TSH und Vit.A/ ohne Cipro stimulierter Kulturen scheint bei 4h Inkubationsdauer der optimale Zeitpunkt für die  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in die Thyreozyten zu sein.

d) Ansatz VIII, IX und X, Betrachtung der  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Thyreozyten, kultiviert in wahlweise Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem Medium sowie mit und ohne Ciprobay<sup>®</sup>200- Zusatz.

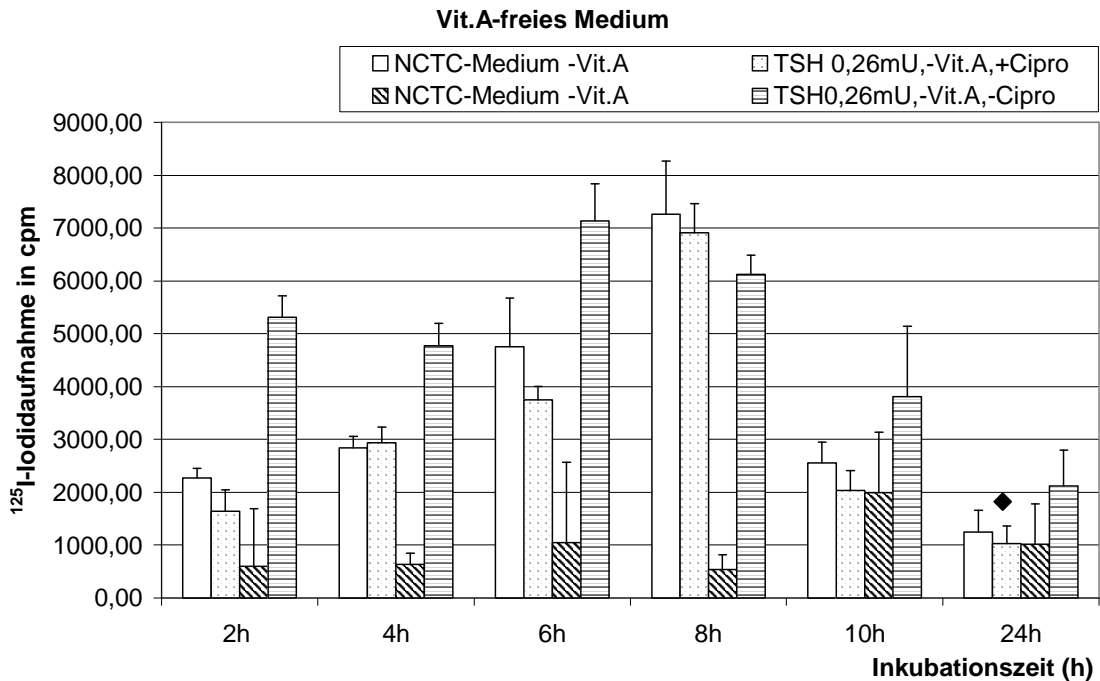


Abb.37 Ansatz VIII, Messung im Gammacounter

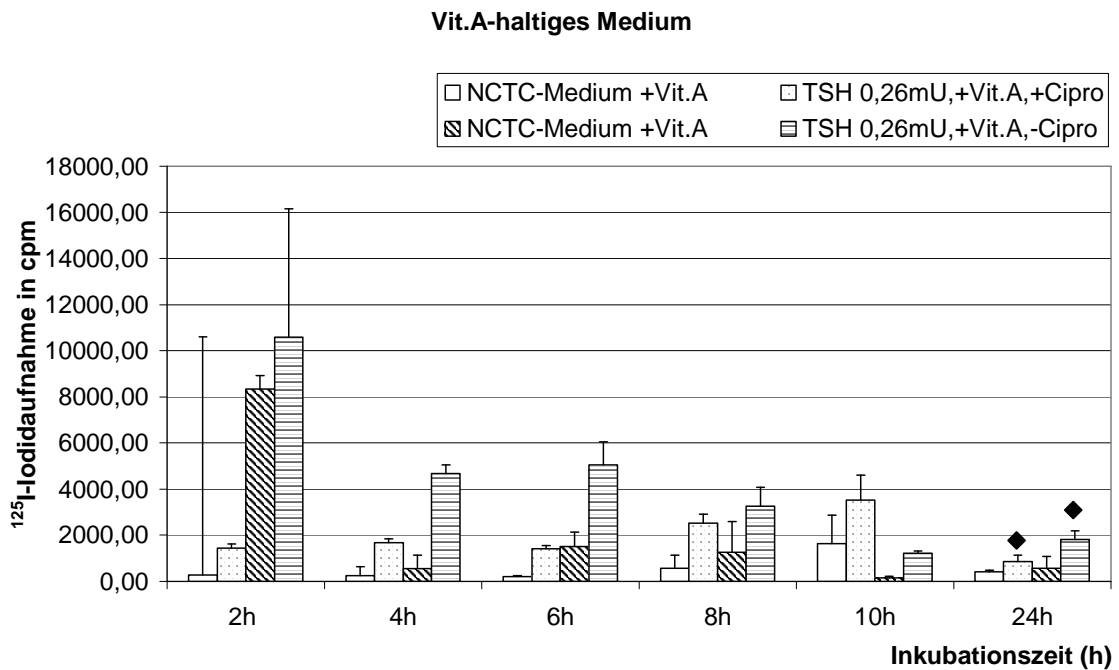


Abb. 37a Ansatz VIII, Messung im Gammacounter

*Einfluss von Ciprobay®200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay®200 (3% v/v) sowie 4 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h- bis 24h- stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Iodidaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 37 im Anhang aufgeführt.*

Abb. 37 zeigt, dass Ciprobay® in Vitamin A- freiem Medium im Vergleich zu Vitamin A- haltigem Medium (Abb. 37a) im Verlauf der Inkubation meist einen hemmenden Einfluss auf die Radioiodidaufnahme in die Thyreozyten ausüben kann. Nur nach 8h Inkubation kommt es im Vitamin A- freiem Medium zu einer offensichtlich vorübergehenden vermehrten Iodidaufnahme der Thyreozyten. Thyreozyten die in Vitamin A- haltigem Medium ohne Ciprobay® –Zusatz kultiviert wurden, haben ihr Maximum in der Iodidaufnahme direkt zu Beginn der Inkubationsdauer (2h).



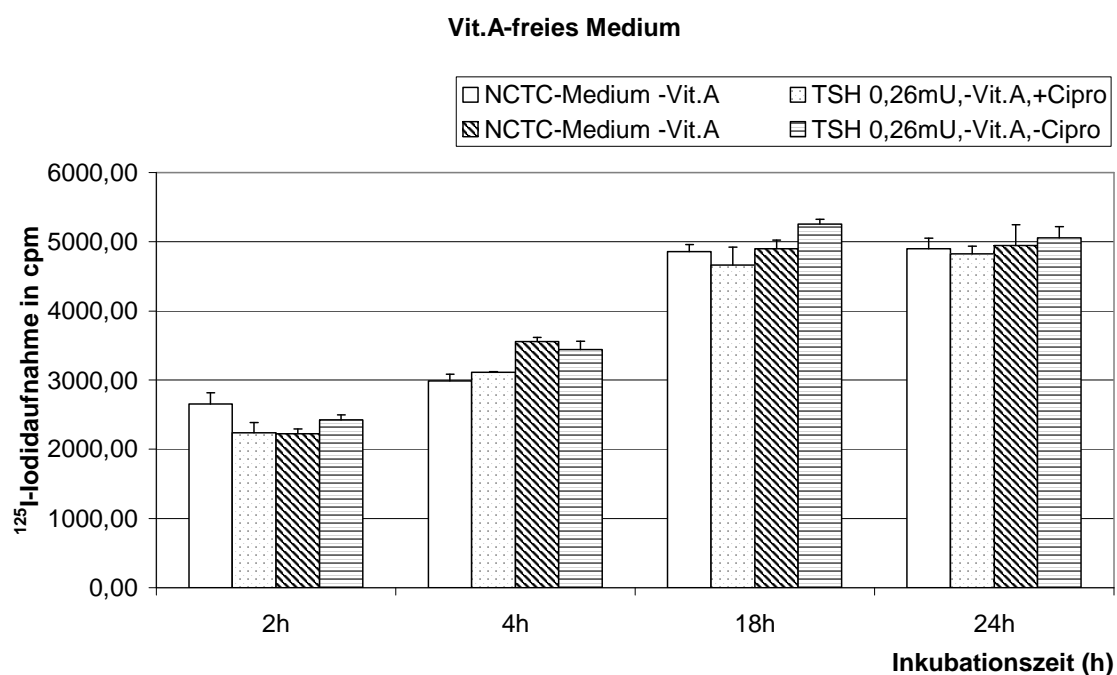


Abb.38 Ansatz IX, Messung im Gammacounter

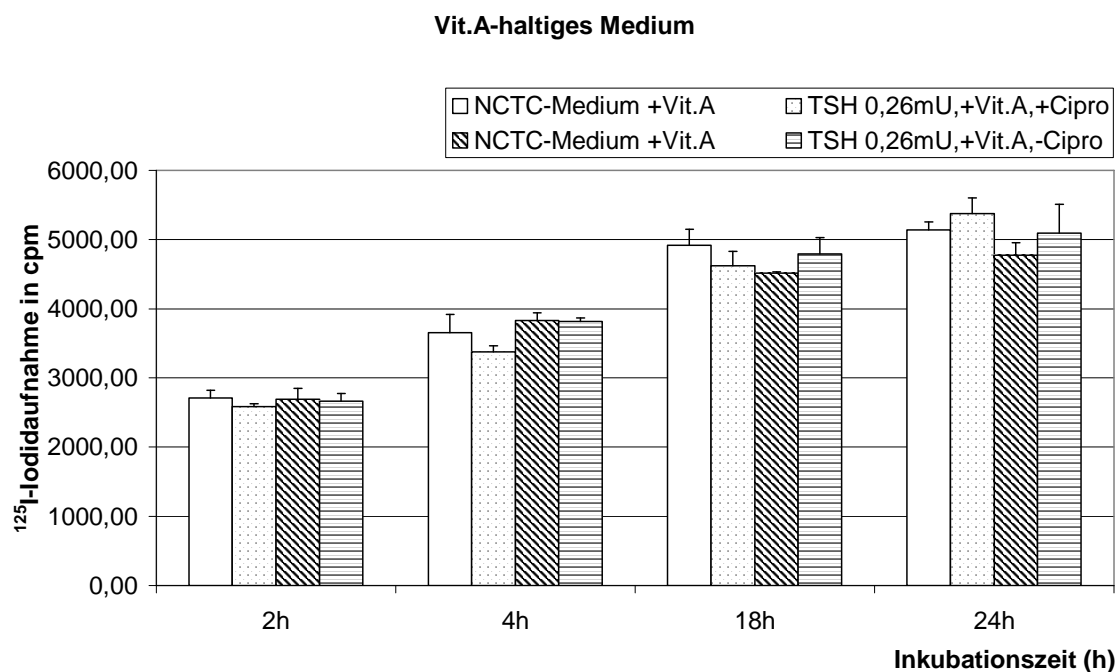


Abb.38a Ansatz IX, Messung im Gammacounter

*Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay<sup>®</sup>200 (3% (v/v)) sowie 4 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die*

Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h bis 24h-stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Iodidaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 38 im Anhang aufgeführt.

Alle Kombinationen zeigen eine stetig steigende <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in die Thyreozyten. Für die mit 0,26 mU TSH und ohne Vit.A/ mit Ciprobay<sup>®</sup>, mit Vit.A/ mit Ciprobay<sup>®</sup> und mit Vit.A/ ohne Ciprobay<sup>®</sup> stimulierten Thyreozyten zeigt sich das Maximum bei 24h Inkubation.

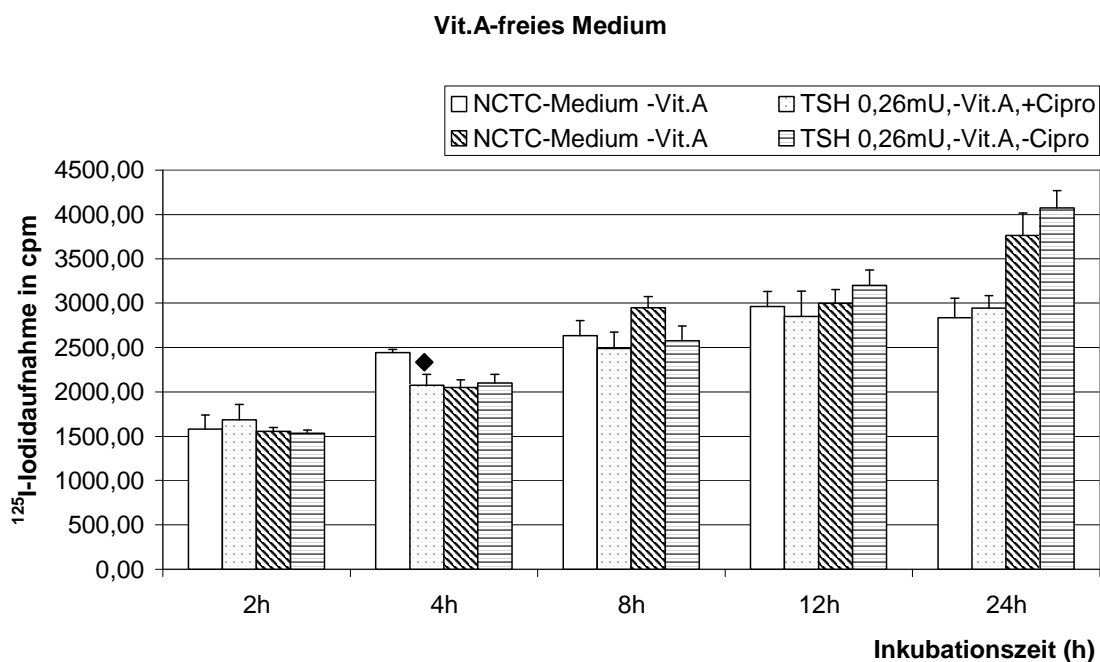


Abb.39 Ansatz X, Messung im Gammacounter

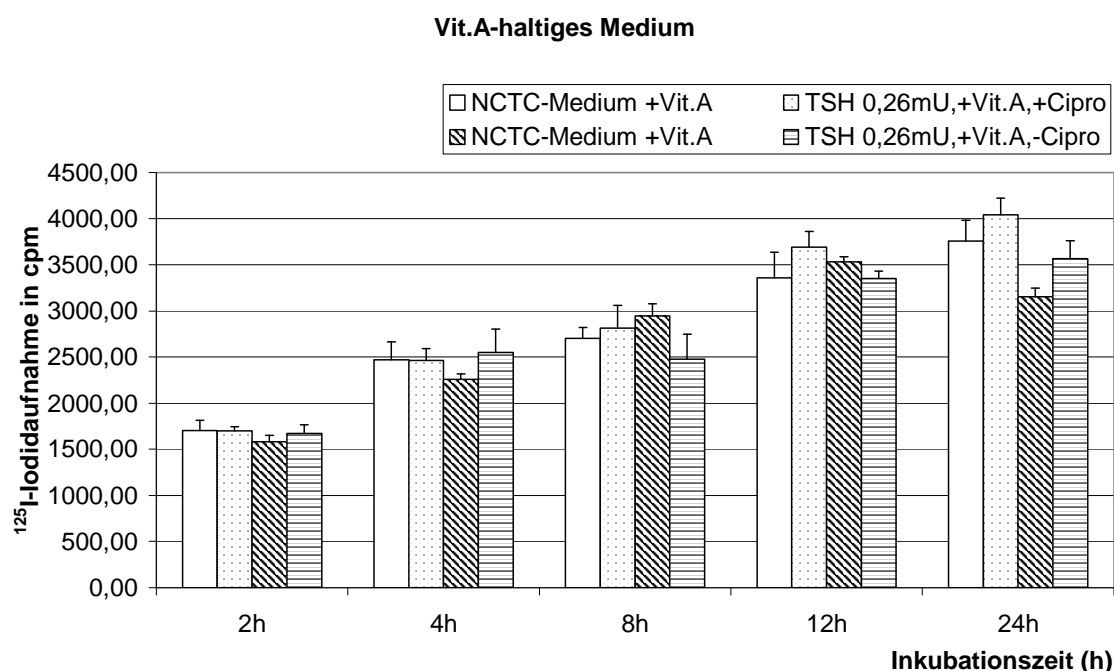


Abb. 39a Ansatz X, Messung im Gammacounter

*Einfluss von Ciprobay<sup>®</sup>200 auf die <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, kultiviert wahlweise in Vit.A- freiem oder Vit.A- haltigem NCTC-Medium. Den Kulturen wurde direkt bei der Aussaat 0,26 mU TSH und Ciprobay<sup>®</sup>200 (3% (v/v)) sowie 4 kBq <sup>125</sup>I-Iodid zugegeben. Es erfolgte keine Vorinkubation. Die Iodidaufnahme in die Thyreozyten wurde während der 2h- bis 24h- stündigen Inkubation verfolgt. Dargestellt sind die Mittelwerte und SEM (n=4) des zeitlichen Verlaufs der Iodidaufnahme in die Thyreozyten direkt nach der Aussaat. Eingesetzte Zellzahl pro Kulturloch 130 000. Speziell angefertigtes Vit.A- freies NCTC-Medium, sowie kommerzielles Vit.A- haltiges (0,6 µM) NCTC-Medium. Die mit ♦ gekennzeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (Kulturen ohne stimulierende Agenzien). Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 39 im Anhang aufgeführt.*

Die Abb. 39a zeigt, dass die Thyreozyten, die in Vitamin A- haltigem Medium mit Zusatz von Ciprobay<sup>®</sup> kultiviert wurden, eine höhere Iodidaufnahme aufweisen, als die in Vitamin A- freiem Medium mit Ciprobay<sup>®</sup>. So scheint Vitamin A haltiges Medium für die Iodidaufnahme der Thyreozyten förderlich zu sein.

### Zusammenfassung Vit.A-freies Medium

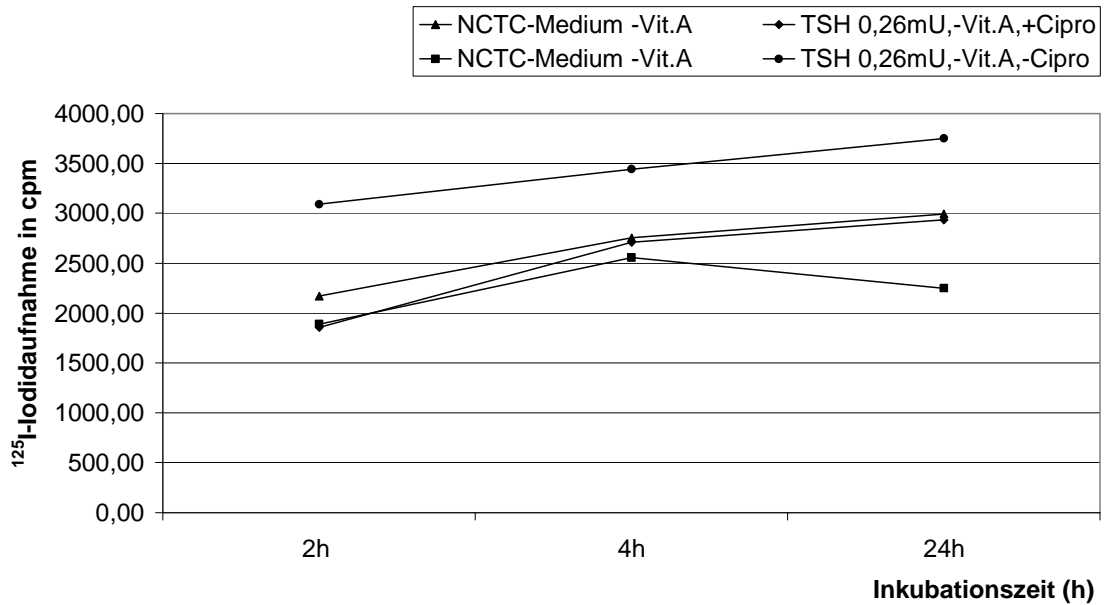


Abb.40 Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIII, IX und X.

### Zusammenfassung Vit.A-haltiges Medium

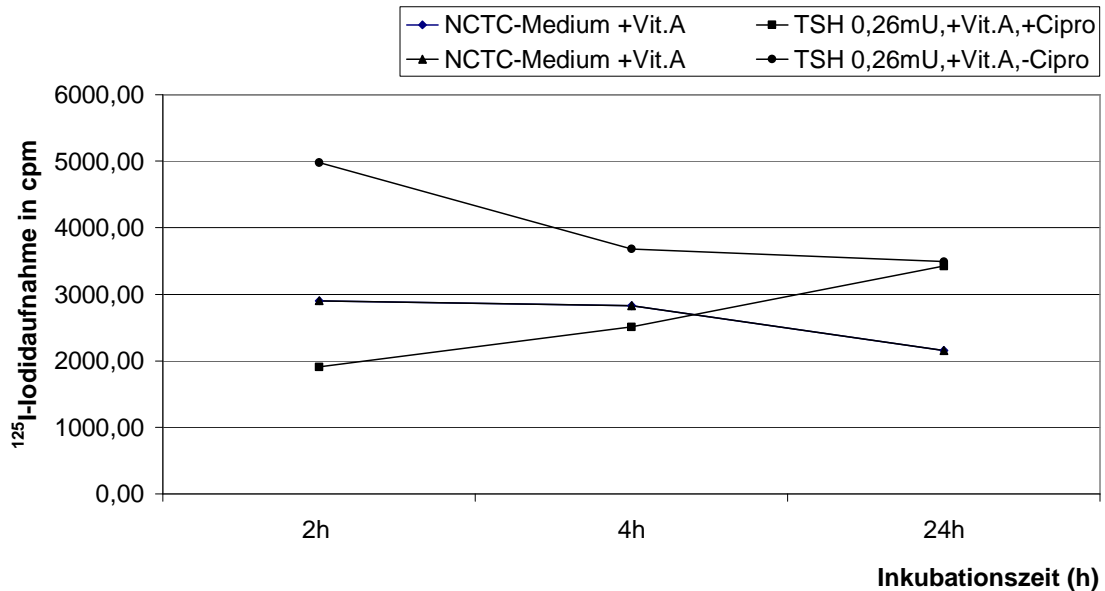


Abb.40a Zusammenfassung des Radioiodeinbaus in Thyreozyten aus den Versuchsreihen VIII, IX und X in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten. Aus jeder Versuchsreihe wurden die Mittelwerte der

*zeitgleichen Zellernten entnommen und daraus wiederum der Mittelwert berechnet, um eine Übereinstimmung aller Versuchsreihen in der <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit zu erhalten. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 40 und 41 im Anhang aufgeführt.*

Der optimale Zeitpunkt für Radioiodaufnahme in die Thyreozyten für die mit 0,26 mU TSH sowie ohne Vit.A/ mit Cipro, ohne Vit.A/ ohne Cipro oder ohne Stimulation stimulierten Thyreozyten scheint bei 24h Inkubation zu sein.

## 4. Diskussion

### 4.1 Methoden

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir Primärkulturen vom Schwein. Als Kulturmedium diente NCTC-135-Medium. Fayet et al. (1982) beschrieben Anfang der 80er Jahre die Vorteile des NCTC-135-Mediums. In diesem Medium aggregieren die isolierten Schweineschilddrüsenzellen unter TSH zu dreidimensionalen follikelartigen Strukturen mit richtiger Polarität (Wahl et al. 1995; Toda et al. 2001). Eine Basalmembran wird jedoch nicht ausgebildet. Ein Nachteil dieser Primärkulturen ist, dass für jede neue Untersuchungsreihe eine neue Zellkultur angelegt werden muss.

Da die isolierten Zellen von verschiedenen Schweinen stammen, sind die Kulturen nie völlig identisch. Ausschlaggebend hierfür sind unter anderem unterschiedliche Aufzuchtbedingungen sowie die Futtermittelgabe. Durch die Verwendung unterschiedlicher Futtermittel kann der Iodgehalt der Schweineschilddrüsen erheblich differieren. Zuchtschweine erhalten beispielsweise oft Raps oder auch Manjok. Beide Substanzen vermindern die Iodidaufnahme in die Schilddrüse durch kompetitive Hemmung des NIS und können so eine Strumaentstehung fördern. Für Medikamente, welche während der Aufzucht verabreicht werden, gilt dies ebenfalls. Da sich die Herkunft der Schweine und deren Aufzuchtbedingungen durch uns nicht zurückverfolgen lassen, können wir die oben aufgeführten Einflüsse auf unsere Untersuchungen nicht ausschließen.

Das für die Primärkulturen verwendete Schilddrüsengewebe wurde direkt aus dem Schlachthof bezogen. Dabei besteht das Risiko einer Kontamination mit Mikroorganismen. Durch Verwendung antimykotika- / antibiotikahaltiger Kulturmedien sowie steriler Arbeitsweise wurde unsererseits vorgebeugt. Die Problematik der Kontamination durch Mycoplasmen stellt sich vor allem bei der Messung der Thymidinaufnahmerate in die Thyreozyten. Da Mycoplasmen fähig sind Thymidin aufzunehmen, könnte das Messergebnis der

Thymidinaufnahme in die Thyreozyten verfälscht werden. Um dies ausschließen zu können wurde ein Mycoplasmennachweis durchgeführt. Da die Mycoplasmen einen Durchmesser von ca. 0,8 µm haben, kann davon ausgegangen werden, dass sie bei der Zellernte die Poren der Glasfasermatten (Porengröße 1,5 µm im Durchmesser) jedoch ungehindert passieren können und damit dem Messvorgang entzogen werden. Bei unseren Versuchen wurden nur Mycoplasmen freie Zellkulturen verwendet.

Für einen Teil unserer Kulturen verwendeten wir handelsübliches NCTC-135-Medium, welches 0,6 µM Vitamin A enthält. Für den anderen Teil wurde speziell angefertigtes NCTC-135-Medium ohne Vitamin A verwendet. Dies ermöglichte uns Stoffwechseleffekte in primär Retinoid freien Kulturen zu untersuchen.

Das für unsere Versuche verwendete Lykopin wurde aufgrund seiner Wasserunlöslichkeit in Liposomen eingebaut. Liposomen bestehen aus einer geschlossenen, vesikulären Doppelschichtstruktur. In den Doppelschichtstrukturen grenzen konzentrische Lipiddoppelschichten wässrige Kompartemente voneinander ab. Aufgrund ihrer Fähigkeit, Substanzen einzuschließen, werden sie als Drug-Carrier verwendet. So wurde das von uns verwendete Lykopin in unilamellare Liposomen (20-60 nm) eingebaut. Unsere Liposomenpräparation erfolgte durch die Universitätsapotheke Tübingen (Dr. Heide). Grundlage war Lipoid S 75 (Soja-Lecithin mit 68% Phosphatidylcholin in Glycerol, Lipoid GmbH, Ludwigshafen).

#### **4.2 <sup>125</sup>I-Radioiodinkorporation in Thyreozyten unter dem Einfluss von all-trans-Retinsäure, Lykopin und TSH**

Retinoide sind natürliche oder synthetisch hergestellte chemische Abkömmlinge des Vitamin A. Sie steuern Zellproliferation, Differenzierung sowie Morphogenese. Sie sind unerlässlich für die Aufrechterhaltung funktioneller differenzierter Gewebe (Wolf, G. 1996; Hinds, TS. 1997). Zur Unterstützung der postoperativen Radioiodtherapie follikulärer Schilddrüsenmalignome kann im Rahmen einer Redifferenzierungstherapie all-trans-Retinsäure eingesetzt

werden (Schmutzler et al. 2002), da diesen Malignomen die Fähigkeit zur Radioiodspeicherung fehlt oder diese erheblich vermindert ist. Durch die Retinoidbehandlung können die nicht operativ entfernten Gewebereste oder Metastasen für die Radioiodaufnahme wieder zugänglich gemacht werden. Die Ursache für den Verlust der Radioiodspeicherung ist ein Defekt des Iodidtransports (Gerard, AC. et al. 2003).

Aufgrund der toxischen Nebenwirkungen der Retinsäure in praxi liegt es nahe, Retinsäure durch das den Retinoiden verwandte und weniger toxische Lykopin, ein Nicht-Provitamin A- Carotinoid und Antioxidant, zu ersetzen. Verschiedene Studien zeigten, dass Lykopin das Risiko, an Krebs zu erkranken, deutlich vermindert. In einer Studie untersuchten Livny et al. (2002; 2003) die KB-1 Zelllinie von Mundhöhlentumoren. Sie inkubierten die Zellen mit unterschiedlichen Konzentrationen an Lykopin (3 und 7  $\mu\text{mol/l}$ ). Dabei stellte sich heraus, dass Lykopin hemmend auf die KB-1 Zellproliferation humaner Mundtumoren wirkt. Auf molekularer Ebene zeigt Lykopin in den Zellen der Mundtumoren eine signifikante Steigerung der Transkription und Expression von Connexin 43. Lykopin bewirkt damit eine Wiederherstellung der gestörten Zell-zu-Zell-Kommunikation. Connexin 43 gehört zu der Familie der gap-junction-Proteine. Kumar et al. (2007) verabreichten Patienten, die an einer submukösen Fibrose erkrankt waren, 16 mg Lykopin über einen Zeitraum von zwei Wochen. Die zuvor eingeschränkte Mundöffnung konnte durchschnittlich um 3,4 mm verbessert werden.

Für unsere Versuche wurden die isolierten Thyreozyten für 72 h mit 0  $\mu\text{M}$ ; 0,49  $\mu\text{M}$  und 0,98  $\mu\text{M}$  all-trans-Retinsäure vorinkubiert. Nach dem Mediumwechsel wurde allen Kulturen 13  $\mu\text{M}$  all-trans-Retinsäure zu gefügt und die Radioiodaufnahme in die Thyreozyten verfolgt. Es zeigten sich keine einheitlichen Ergebnisse für die Radioiodaufnahme (Abb. 5, 6 und 7). In Abb. 7 nehmen bis auf eine Ausnahme nur die Zellen – verglichen mit der Retinsäure freien Kontrollkultur - signifikant mehr Radioiod auf, die nicht mit Retinsäure vorinkubiert wurden. Dieser signifikante Unterschied zeigt sich nach 24 h auch in Abb. 6. Uneinheitliche Ergebnisse mit Anstiegen in der Radioiodaufnahme



über oder unter jener der entsprechenden Kontrollen zeigen sich insbesondere bei den Versuchen bei denen die Thyreozyten in Retinsäure vorinkubiert wurden. Auch die Maxima der Radioiodaufnahme waren bei den einzelnen Versuchen zeitlich gegeneinander versetzt. Es gilt festzuhalten, dass sich der signifikante Anstieg der Radioiodinkorporation meist auf die Thyreozyten beschränkt, welche ohne Retinsäure vorinkubiert wurden und dann nach dem Mediumwechsel mit 13  $\mu\text{M}$  Retinsäure stimuliert wurden (Abb. 5, 7). Bei diesen Zellen ist davon auszugehen, dass der positive Effekt daher kommt, dass der unphysiologische Retinolmangel ausgeglichen wurde. Dies ist in sofern interessant, da in der klinischen Anwendung 1  $\mu\text{M}$  Retinsäure verabreicht wird. Die von uns sehr hoch gewählte Retinsäurekonzentration könnte ein Hinweis darauf sein, dass im Rahmen der normalen Schilddrüsenfunktion höhere Dosen verabreicht werden könnten.

Die Ursache für die uneinheitlichen Versuchsergebnisse ist nicht ganz klar. Es könnten auch die unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen (Futtermittelgabe) der Schweine mit dazu beitragen, woraus sich Unterschiede im Iodidgehalt der Schilddrüse ergeben können, zumal die Iodidaufnahme in die Thyreozyten vom bereits vorhandenen intrathyreoidalen Iodidgehalt abhängt (Pfannenstiel, 1991). Hinzu kommt, dass Retinsäure in Abhängigkeit von seiner Konzentration im Medium und der Dauer der Inkubation der Thyreozyten auch eine Apoptose induzieren kann (Fröhlich et al. 2004). Dies kann sich auf die globale Radioiodanreicherung eines Kulturansatzes auswirken.

Auch für die Radioiodinkorporation in Thyreozyten, die mit Lycopin bestückten Liposomen oder mit dem entsprechenden Placebo-Präparat stimuliert wurden, zeigen sich die Versuchsabläufe recht unterschiedlich. Eine Gesamtbetrachtung der Versuche bei denen in Vitamin A- haltigem Medium inkubierte Thyreozyten verwendet wurden, zeigt zwei Maxima in der Radioiodaufnahme (Abb. 12, 13, 14, 23, 24, 25, 26, 27, 28). Ein Maximum liegt bei  $t = 16$  h, das andere bei  $t = 30$  h (Abb. 25, 28). Einen signifikanten Anstieg gegenüber der Kontrolle zeigen in Abb. 26 die mit Lycopin und dem Lycopin-Placebo stimulierten Thyreozytenkulturen. In Abb. 12 ist für Thyreozytenkulturen, die mit TSH (0,26

mU) stimuliert wurden, ein signifikanter Abfall gegenüber der Kontrolle zu beobachten.

Die Versuchsreihen, in denen Vitamin A- freies Medium verwendet wurde, zeigen eine maximale Radioiodaufnahme in die Thyreozyten zum Zeitpunkt  $t = 24$  h (Abb. 18, 21). Ein signifikanter Abfall der Radioiodaufnahme gegenüber der Kontrolle konnte bei  $t = 48$  h für das Lykopen-Placebo ermittelt werden (Abb. 17, 20). Obwohl Lykopen der Retinsäure chemisch ähnlich ist, ließ sich für Lykopen gegenüber der Kontrolle kein signifikanter Effekt auf die Radioiodaufnahme in Thyreozyten nachweisen. Überraschenderweise zeigten aber die Trägerliposomen (Placebo) positive Effekte auf die Radioiodaufnahme die, sobald die Liposomen mit Lykopen beladen wurden, verschwanden. Die Ursache hierfür ist unklar. Möglicherweise interagiert Lykopen mit dem Phosphatidylcholin der Liposomen. Die Radioiodaufnahme in die Thyreozyten war unter Verwendung von Vitamin A- freiem Medium um ca. 57 % höher als in Vitamin A- haltigem Medium.

Zur Untersuchung des Einflusses von TSH auf Thyreozyten in Abhängigkeit vom Vitamin A- Gehalt des Mediums wurden die Thyreozytenkulturen jeweils mit 0,26 mU TSH stimuliert und entweder in Vitamin A- freiem NCTC-135-Medium oder in Vitamin A- haltigem NCTC-135-Medium inkubiert. Die anschließend untersuchte Radioiodaufnahme verläuft in Abhängigkeit von der Kulturdauer und dem Zellzyklus wellenförmig. Wie die Abbildungen 35 und 39 zeigen, ist für die Kulturen, welche mit 0,26 mU TSH in Vitamin A- freiem Medium kultiviert wurden, nach 4h und 8h ein signifikanter Abfall der Radioiodaufnahme gegenüber der Kontrolle ersichtlich. Ein weiterer signifikanter Abfall der Radioiodaufnahme (Abb. 37) erfolgt nach 24 Stunden Inkubation. Die tendenziell späte und geringe  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme (Abb. 37) der mit 0,26 mU TSH stimulierten Thyreozyten, kultiviert in Medium ohne Vitamin A, deckt sich mit den Versuchsergebnissen von Meller, D. (2002). Der Autor stimulierte die Thyreozyten in Vitamin A- freiem Medium mit 1 mU TSH / 750  $\mu\text{l}$  Medium. Dabei kam es erst nach 40 bzw. 51 Stunden Inkubation zu einem signifikanten Anstieg der Radioiodinkorporation im Vergleich zur Kontrolle. Dies

könnte mit der für die Isolierung der Thyreozyten aus dem Gewebsverband verwendeten Dispase zusammenhängen. Durch die Dispase kommt es zu Irritationen an der Zellmembran, die den Verlust des extrazellulären TSH-Rezeptors zur Folge haben kann (Löffler, G.; Petrides, P.E. 1998). Die Regeneration des TSH-Rezeptors erfolgt ohne Vitamin A offensichtlich langsamer als mit Vitamin A. Das in den meisten Kulturmedien enthaltene Vitamin A in niedriger Dosierung fungiert als Differenzierungsfaktor des Zellstoffwechsels.

#### **4.3 <sup>3</sup>H-Thymidininkorporation in Thyreozyten unter dem Einfluss von all-trans-Retinsäure, Lykopen und TSH**

Die Thymidinaufnahme zeigt für die Versuchsreihe „ohne Retinsäure vorinkubiert und nachfolgend mit 13 µM Retinsäure stimuliert“ in Abb. 3 bereits nach 4 h einen gegenüber der Kontrolle signifikant erhöhten Anstieg, der auch nach t = 24 h noch besteht. Die Gesamtbetrachtung aller Ansätze zum Thymidineinbau (Abb. 4) zeigt nach t = 24 h dass es unter all-trans-Retinsäure zu einer erhöhten Thymidinaufnahme kommt. Auch für die Thyreozyten, welche mit 0,49 µM oder 0,98 µM Retinsäure vorinkubiert wurden, war nach 24 h Inkubation (Abb. 2) die Thymidinaufnahme gegenüber der Kontrolle erhöht. Die erhöhte Aufnahme von all-trans-Retinsäure in die Thyreozyten erklärt sich durch die zuvor bestehende Unterversorgung der Zellen durch all-trans-Retinsäure. Die Thyreozyten gleichen ihren Mangel aus. Vergleicht man dies mit der Versuchsreihe die nicht mit Retinsäure stimuliert wurde, wird deutlich, dass die Thyreozyten dann weniger Retinsäure sowie Thymidin einbauen.

In den Versuchsreihen, bei denen Vitamin A- freies Medium verwendet wurde, konnte eine deutlich geringere Thymidinaufnahme in die Thyreozyten beobachtet werden (Abb. 15) als unter Verwendung von Vitamin A- haltigem Medium. Dies deckt sich mit den Versuchsergebnissen von Amann (2002). Er stimulierte Thyreozyten-Kulturen direkt nach der Aussaat mit 10 µM all-trans-

Retinsäure. Nach 16 und 27 Stunden Inkubationsdauer konnte im Vergleich zur unstimulierten Kontrolle eine signifikant verstärkte Aufnahme von  $^3\text{H}$ -Thymidin in Thyreozyten gemessen werden. Van Herle et al. (1990) untersuchten den Effekt von 13-cis-Retinsäure an der UCLA R0 82W-1-Zelllinie. Eine Reduktion der Zellzahl sowie der  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme konnte bei Retinsäurekonzentrationen bis zu  $10\mu\text{M}$  verfolgt werden. Höhere Konzentrationen der Retinsäure führten zum wieder einsetzten der Zellproliferation. Folglich hat Vitamin A einen Einfluss auf die Thymidinaufnahme in Thyreozyten. Wie schon zuvor erwähnt, vermindert Vitamin A die Radioiodaufnahme in Thyreozyten, steigert aber andererseits die Thymidinaufnahme. Es hat also gegensätzliche Einflüsse auf die Parameter Stoffwechsel und Funktion. Fröhlich et al. (2005) weisen darauf hin, dass Retinol in transformierten Thyreozyten jedoch ein gegensätzliches Verhalten zu normalen, nicht transformierten Thyreozyten zeigt. In der Zelllinie FTC 238 (follikuläres Schilddrüsenmalignom) fällt unter Retinol die Thymidinaufnahme im Vergleich zur Kontrolle ab, während die Radioiodaufnahme im Vergleich zur Kontrolle ansteigt. Für eine Redifferenzierungstherapie bei Malignomen ist dies ein günstiges Verhalten. Durch ihr andersartiges Verhalten würden nicht transformierte Thyreozyten aber vor einer verstärkten Radioiodaufnahme verschont. Für eine postoperative Radioiodtherapie bei Schilddrüsenmalignomen wären somit günstige Voraussetzungen gegeben, weil sich malignes Gewebe verstärkt bestrahlen ließe, normales Gewebe dagegen verschont wird.

Lykopen zeigt bei unseren normalen Thyreozyten allenfalls nur einen geringen stimulierenden Effekt auf die Thymidininkorporation (Abb. 9, 10, 11, 15, 22). In Abb. 10 konnte in der Versuchsreihe mit dem Lykopen-Placebo nach 16h Inkubation dagegen ein signifikanter Anstieg, verglichen mit der Kontrolle, beobachtet werden. Offensichtlich hat somit das Placebo mit seinen Lipiden selbst eine Wirkung, während diese durch die Beladung der Liposomen mit Lykopen reduziert wird. Ein analoger Effekt hat sich auch bei der Radioiodaufnahme gezeigt.

Ben-Dor et al. (2001) beschreiben einen proliferationshemmenden Effekt des Lykopins. Sie fanden einen verlangsamt ablaufenden Zellzyklus in humanen Mammakarzinomzellen (MCF-7). Liu et al. (2006) konnten anhand ihrer Studie eine erhöhte Lykopinaufnahme durch die LNCaP- Prostatakrebszelllinie nachweisen. Dabei lagerte sich das Lykopin zu 55 % in der Membran des Zellkerns an. Das Prostata-spezifische Antigen, welches durch die LNCaP-Zellen ausgeschüttet wird, erfährt durch die Lykopin-Zugabe eine Reduktion um 55%. Lykopin erhöht in Prostatakarzinomzellen die Apoptoserate stärker als in gutartigem Gewebe von Prostatahyperplasien (Kim et al. 2003). Somit hat Lykopin in erkranktem Gewebe offensichtlich einen anderen Einfluss als in gesundem Gewebe. Da unsere Versuchsergebnisse aus Versuchen an normalen Thyreozyten resultieren, können diese nicht auf maligne verändertes Schilddrüsengewebe übertragen werden.

Die Untersuchung des Effekts von TSH auf die Thymidinaufnahme von Thyreozyten, wahlweise in Vitamin A- haltigem oder Vitamin A- freiem Medium kultiviert, zeigt sehr unterschiedliche Ergebnisse. Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten ist unklar. Ein Aspekt könnte die Zelldichte sein. Dahingehend untersuchten Milazzo et al. (1992) die Wirkung von TSH auf gesunde humane Schilddrüsenzellen. Sie verwendeten Monolayerkulturen mit hoher und niedriger Zelldichte. Es stellte sich heraus, dass TSH in Abhängigkeit u. a. von der Zelldichte eine Antimitogene bzw. Mitogene Wirkung auf die Thyreozyten hat.

Die Thymidinaufnahme steigt unter TSH nach 24 h an (Abb. 32). Einen signifikanten Unterschied in der Thymidinaufnahme, verglichen mit der Kontrolle, bewirkte die Kombination 0,26 mU TSH in Vitamin A- freiem Medium. Nach  $t = 6$  h konnte ein Anstieg, nach 24 h ein Abfall (Abb. 29) gegenüber der Kontrolle verzeichnet werden. Ebenfalls signifikant verschieden zur Kontrolle war die Thymidinaufnahme unter 0,26 mU TSH in Vitamin A- haltigem Medium bei  $t = 10$  Stunden (Abb. 29a). Hier ist die Thymidinaufnahme im Vergleich zur Kontrolle stark abfallend. Die höchste Thymidinaufnahme in Thyreozyten, die sich signifikant von der Kontrolle unterschied, fand sich unter 0,26 mU TSH in

Vitamin A- haltigem Medium (Abb. 29a). Tendenziell konnte bei den Versuchen, bei denen Vitamin A im Medium enthalten war, eine insgesamt höhere Thymidinaufnahme in die Thyreozyten erzielt werden.

Interessant ist dieses Ergebnis insofern, weil TSH den  $^3\text{H}$ -Thymidineinbau in die DNS von Schweinethyreozyten hemmt, wenn sie in konventionellem NCTC-135-Medium, das 0,6  $\mu\text{M}$  Retinol enthält, kultiviert werden. Ursache für den hemmenden Effekt ist die im Medium vorhandene „physiologische“ Retinol-Dosis (0,6  $\mu\text{M}$ ) (Wahl, R. 1991, Greil et al. 1985, Eggo et al. 1979). So auch in dem von uns verwendeten NCTC-135-Medium. Über den hemmenden Effekt von Retinol bzw. all-trans-Retinsäure auf die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Thyreozyten berichten auch del Senno et al. (1993). Sie inkubierten Thyreozyten für 48 Stunden mit bis zu 1  $\mu\text{M}$  all-trans-Retinsäure und konnten dabei eine Zeit- und Dosisabhängige verminderte  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme feststellen.

#### **4.4 Ciprobay<sup>®</sup>-Zugabe zum Kulturmedium und seine Auswirkungen auf die Iodid- und Thymidinaufnahme in Thyreozyten**

In diesem Versuchsansatz wurde dem Medium ein Ciprobay<sup>®</sup>200- Zusatz von 3% (v/v) zugefügt, um zu sehen ob dies Auswirkung auf die Radioiod- bzw. Thymidinaufnahme in die Thyreozyten hat. Ciprobay<sup>®</sup> ist chemisch Ciprofloxacin und ein weit verbreitetes Antibiotikum. Einen signifikanten Unterschied in der Thymidinaufnahme, verglichen mit der Kontrolle, bewirkte die Kombination 0,26 mU TSH in Vitamin A- freiem Medium mit einem Ciprobay<sup>®</sup>200- Zusatz von 3% (v/v). Nach t = 6 h konnte ein Anstieg, nach 24 h ein Abfall (Abb. 29) gegenüber der Kontrolle verzeichnet werden. Ebenfalls signifikant verschieden zur Kontrolle war die Thymidinaufnahme unter 0,26 mU TSH in Vitamin A- (plus Ciprobay<sup>®</sup>) haltigem Medium bei t = 10 Stunden und 24 h (Abb. 29a). Hier ist die Thymidinaufnahme im Vergleich zur Kontrolle stark abfallend. Die höchste Thymidinaufnahme in Thyreozyten, die sich signifikant von der Kontrolle unterschied, fand sich unter 0,26 mU TSH in Vitamin A-

haltigem Medium wenn Ciprobay<sup>®</sup> (Abb. 29a) fehlte. Tendenziell konnte bei den Versuchen, bei denen Vitamin A im Medium enthalten war, eine insgesamt höhere Thymidinaufnahme in die Thyreozyten erzielt werden.

Eine von der Konzentration abhängige zytotoxische Wirkung von Ciprobay<sup>®</sup> weisen Kamat et al. (2004) an der HTB-9-Zelllinie nach. Aranha et al. (2000) beschreiben einen wachstumshemmenden Effekt von Ciprobay<sup>®</sup> bei Harnröhrenkarzinomzellen (HTB-9-Zelllinie) mit zunehmender Inkubationsdauer. Die Autoren beschreiben als Ursache die Abnahme des Apoptose verringern Proteins p21WAF1. Die Konzentration dieses Proteins war nach 12 Stunden Inkubation deutlich verringert und nach 24 h auf Null abgesunken. In einer weiteren Untersuchung beschreibt Aranha (2003) eine gesteigerte Apoptose und die Hemmung des Zellwachstums um 70 – 100% durch Ciprobay<sup>®</sup> bei Prostatakarzinomzellen (PC3). Bei normalen Prostata-Epithelzellen (MLC8891) zeigte sich Ciprobay<sup>®</sup> allerdings wirkungslos.

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Wirksamkeit der all-trans-Retinsäure auf normale Thyreozyten nicht vom Vit. A Spiegel beeinflusst wird. Vorausgesetzt es besteht kein extremer Vit. A- Mangel. Des Weiteren scheint Ciprobay<sup>®</sup> in den von uns verwendeten Konzentrationen für die Schilddrüse unbedenklich zu sein.

## 5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Stoffwechsel und dem Wachstum von kultivierten Thyreozyten gesunder Schweine unter dem Einfluss von Retinoiden und Lykopen. Als Parameter für die Differenzierung wurde die  $^{125}\text{I}$ -Iodid-Speicherung und als Parameter für die Proliferation die  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in die Thyreozyten eingesetzt.

Für den ersten Teil der Arbeit wurden die Thyreozyten in speziell hergestelltem Vitamin-A-freiem NCTC-135-Medium kultiviert und mit unterschiedlichen Konzentrationen an all-trans-Retinsäure (0 $\mu\text{M}$ , 0,49 $\mu\text{M}$  oder 0,98 $\mu\text{M}$ ) stimuliert, danach zwischen 2h und 65h inkubiert. Nach dem Mediumwechsel, erhielt jede Zellkultur 13 $\mu\text{M}$  all-trans-Retinsäure.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der Einfluss von Lykopen-haltigen Liposomen und von TSH in Abhängigkeit vom Vitamin-A- Gehalt des Mediums untersucht. Verwendet wurde Vitamin-A-haltiges oder Vitamin-A-freies Medium. Den Kulturen wurden wahlweise jeweils 1,3mU/ml TSH, 13 $\mu\text{M}$  Lykopen in Liposomen oder Leerliposomen als Kontrolle zugefügt.

Im letzten Teil der Arbeit wurde untersucht, ob das dem Kulturmedium zugefügte Antibiotikum Ciprobay<sup>®</sup> (Ciprofloxacin) die Iodid- und Thymidinaufnahme in Thyreozyten nachhaltig beeinflussen kann.

Wurden die Schweinethyreozyten mit pharmakologischen Dosen an Retinsäure (13 $\mu\text{M}$ ) stimuliert, so kam es zu signifikanten Anstiegen der Iodid- und Thymidinaufnahme. Dies traf insbesondere dann zu, wenn die Thyreozyten in speziell hergestelltem Vitamin-A-freiem NCTC-135-Medium vorinkubiert wurden.

Unter TSH stieg die Radioiodaufnahme in die Thyreozyten erst nach 40 bzw. 51h Inkubation, Ursache für den verzögerten Anstieg kann die für die Isolierung der Thyreozyten verwendete Dispase sein. Dieses Enzym kann zum Verlust des extrazellulären Anteils des TSH-Rezeptors führen, der sich nur langsam regeneriert. Die Stimulation der Thyreozyten mit TSH scheint die Thymidinaufnahme eher zu hemmen. Erwartungsgemäß zeigten unsere Thyreozyten in Vitamin-A-freiem Medium und ohne zusätzliche Stimulation nur eine verringerte Iodid- und Thymidinaufnahme. Die höheren Iodid- und Thymidinaufnahmeraten in die Thyreozyten, welche mit Retinsäure (0,49 $\mu\text{M}$  0,98 $\mu\text{M}$ ) vorinkubiert wurden, lassen sich damit erklären, dass diese Thyreozyten ihren Mangel an Retinsäure bzw. Vitamin A ausgleichen. Ciprobay<sup>®</sup> scheint in den von uns verwendeten Konzentrationen für die Schilddrüse unbedenklich zu sein.



## Literaturnachweis

AGADIR, A.; CORNIC, M.; LEFEBVRE, P.; GOURMEL, B.; JEROME, M.; DEGOS, L.; FENAUX, P. (1995)

All-trans retinoic acid pharmacokinetics and bioavailability in acute promyelocytic leukaemia: intracellular concentrations and biologic response relationship

Journal of clinical oncology: Vol. 13(10); p. 2517-23

AMANN, J.N. (2002)

Der Einfluß von all-trans-Retinol, all-trans-Retinsäure, 13-cis-Retinsäure und Lykopen

a) auf den 3H-Thymidineinbau in kultivierte Thyreozyten

b) auf die Apoptoserate kultivierter Thyreozyten

Med. Dissertation Tübingen

ARANHA, O., WOOD, DP., SARKAR, FH. (2000)

Ciprofloxacin mediated cell growth inhibition, S/G2 cell cycle arrest, and apoptosis in human transitional cell carcinoma of the bladder cell line.

Clin Cancer Res ; 6: 891-900

ARANHA, O., ZHU, L., ALHANSAN, S., WOOD, DP., KUO, TH., SARKAR, FH. (2002)

Role of mitochondria in ciprofloxacin induced apoptosis in bladder cancer cells

J. Urol. Mar; 167:1288-94

ARANHA, O., WOOD, DP., SARKAR, FH., GRIGON, R., FERNANDES, N., MC DONELL, TJ. (2003)

Suppression of human prostate cancer cell growth by ciprofloxacin is associated with cell cycle arrest and apoptosis

Int. J. Oncol. 22:787-94

ARNDT, D., FICHTNER, I. (1986)

In: Liposomen, Darstellung-Eigenschaften-Anwendung

Akademie-Verlag, Berlin

BAUCH, K., ANKE, M., GURTLER, H., HESSE, V., KNAPPE, G., KORBER, R., VON KOZIEROWSKI, F., MENG, W., THOMAS, G., ULRICH, FE. (1989)

Interdisciplinary aspects of iodine prophylaxis in German Democratic Republic

Endocrinolo. Exp., 23(2): 77-84

BECKER, H et al. (2002)

Maligne Tumore der Schilddrüse

Chirurgische Onkologie, Thieme Verlag: Stuttgart. p. 570-596

- BEN-DOR, A., NAHUM, A., DANILENKO, M., GIAT, Y., STAHL, W., MARTIN, HD., EMMERICH, T., NOY, N., LEVY, J., SHARONI, Y. (2001)  
Effects of acyclo-retinoic acid and Lycopene on activation of retinoic acid receptor and proliferation of mammary cancer cells  
Arch Biochem Biophys. 2001 Jul. 15; 391: 295-302
- BRTKO, J., THALHAMER, J. (2003)  
Renaissance of the biologically active vitamin A derivatives: established and novel directed therapies for cancer and chemoprevention  
Curr. Pharm. Des., 9(25): 2067-77
- CAMACHO, LH. (2003)  
Retinoic acid inhibits in vivo thyroid-stimulating hormone secretion  
Life-Sci., 60(16): PL 247-50
- CASTRO, MR., BERGERT, ER., BEITO, TG., MC IVER, BD., GOELLNER, JR., MORRIS, JC (1999)  
Development of monoclonal antibodies against the human sodium iodide symporter: Immunohistochemical Characterization of this protein in thyroid cells  
J Clin Endocrinol. Metab 84:2957-2962
- CARRASCO, N. (1993)  
Iodide transport in thyroid gland  
Biochem. Biophys. Acta 1154:65-82
- CHAMBON, P. (1996)  
A decade of molecular biology of retinoic acid receptors.  
FASEB J. 10. 940-954
- DAI, G., LEVY, O., CARRASCO, N. (1996)  
Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter  
Nature, 379: 458-60
- Del SENNO, L., ROSSI, R., GANDINI, D., PIVA, R., FRANCESCHETTI, P., degli UBERTI, EC. (1993)  
Retinoic acid induced decrease of DNA synthesis and peroxidase mRNA levels in human thyroid cells expressing retinoic acid receptor alpha mRNA  
Life Sci. 1993;53(13):1039-48
- EGGO, M., BURROW, G. (1979)  
Synthesis, membrane insertion of thyroglobulin in a completely heterologous system  
Biochem. 86(4): 1069-76
- FAYET, G., HOVSEPIAN, S., DICKINSON, I., LISSITZKY, S. (1982)

Reorganisation of porcine thyroid cells into functional follicles in a chemically defined, serum- and thyrotrop in-free medium  
J. of Cell Biology, Vol.93, 479-488

FRÖHLICH, E.; WAHL, R. (1999)

Effects of retinol on follicular porcine thyrocytes in culture  
J. Mol. Med., 77(1): 189-92

FUJIWARA, H., et al. (1997)

Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> Symporter [letter]  
Nat. Genet. 16:p.124-5

GAERTNER, R. (1992)

Einteilung der Schilddrüsenerkrankungen  
Internist. Berl., 33(11):737-9

GAERTNER, R. (1993)

Thyroid growth in vitro  
Exp. Clin. Endocrinol., 100(1-2):32-5

GÄRTNER, R. (2007)

Das Ziel der WHO wurde verfehlt. Immer noch Iodmangel in Deutschland.  
MMW Fortschritte der Medizin; Vol. 149(8); p. 29-32

GERARD, AC. ET AL. (2003)

Correlation between the loss of thyroglobulin iodination and the expression of thyroid-specific proteins involved in iodine metabolism in thyroid carcinomas  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 88(10): 4977-83

GERSTER, H. (1997)

The potential role of Lycopene for human health  
J. of the American College of Nutrition, Vol. 16 (2), 109-26

GREIL, W., GÄRTNER, R., DEMHARTER, R., HORN, K. (1985)

Thyrotropin is not a growth factor for porcine thyroid cells in vitro  
Acta Endocrinol., Suppl. 267, Abstract 85

HAMPEL, R., RONSCH, K. (1993)

Trotz Verwendung von Jodsatz zur individuellen Speisenzubereitung bleibt ein Jodmangel I. Grades in Deutschland bestehen  
Z. Gesamte Inn. Med., 48(8):401-3

- HERZOG, A., SILER, U., SPITZER, V., SEIFERT, N., DENELAVAS, A., HUNZIKER, PB., HUNZIKER, W., GORALCZYK, R., WERTZ, K. 2005  
Lycopene reduced gene expression of steroid targets and inflammatory markers in normal rat prostate  
FASEB J. 2005 Feb.; 19(2):272-4
- HINDS, TS., WEST, WL., KNIGHT, EM. (1997)  
Carotinoids and Retinoids: A review of research, clinical and public health applications.  
J Clin Pharmacol 37:551-558
- HUYNH, CK.; BRODIE, AM.; NJAR, VC. (2006)  
Inhibitory effects of retinoic acid metabolism blocking agents (RAMBAs) on the growth of human prostate cancer cells and LNCaP prostate tumour xenografts in SCID mice.  
British journal of cancer; Vol.: 94(4); p. 513-23
- IVANOV, NI., COWELL, SP., BROWN, P., RENNIE, PS., GUNS, ES., COX, ME (2007)  
Lycopene differentially induces quiescence and apoptosis in androgen-responsive and –independent prostate cancer cell lines  
Clin. Nutrition Vol.: 26(2); p. 252-63
- IWATA, M., MUKAI, M., NAKAI, Y., ISEKI, S. (1992)  
Retinoic acids inhibit activation-induced apoptosis in T cell hybridomas and thymocytes  
Immunol. 149: 3302-8
- JOCKENHÖVEL, F., OLBRICHT, T. (1993)  
Fragen und Antworten zur Epidemiologie und Ätiologie der Struma  
Z. Gesamte Inn. Med., 48(12):565-74
- KAMAT, AM., LAMM, DL: (2004)  
Antitumor activity of common antibiotics against superficial bladder cancer.  
Urology Mar. 63: 457-60
- KIM, HS., BOWEN, P., CHEN, L., DUNCAN, C., GHOSH, L., SHARIFI, R., CHRISTOV, K.,  
Effects of tomato sauce consumption on apoptotic cell death in prostate benign hyperplasia and carcinoma  
Nutr. Cancer 2003; 47:40-7
- KOAGI, T. et al. (1997)  
Regulation by thyroid-stimulating hormone of sodium/iodide Symporter gene expression and protein levels in FRTL-5 cells  
Endocrinology, 138: p. 2227-32

- KUMAR, A., BAGEWADI, A., KELUSLAR, V., SINGH, M. (2007)  
Efficacy of lycopene in the management of oral submucous fibrosis  
Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and oral  
endodontics VOL: 103 (2); p.207-13
- LIND, P., LANGSTEGER, W., MOLNAR, M., GALLOWITSCH, HJ., MIKOSCH,  
P., GOMEZ, I. (1998)  
Epidemiology of thyroid diseases in iodine sufficiency.  
Thyroid 12: 1179-83
- LIU, A., PAJKOVIC, N., PANG, Y., ZHU, D., CALAMINI, B., MESECAR, AL.,  
van BREEMEN, RB., (2006)  
Absorption and subcellular localization of Lycopene in human prostate  
cancer cells  
Molecular cancer therapeutics; VOL.:5(11); p.2879-85
- LIVNY, O., KAPLAM, I., REIFEN, R., POLAK-CHARCON, S., MADAR, Z.,  
SCHWARTZ, B. (2002)  
Lycopene inhibits proliferation and enhances gap-junction  
communication of KB-1 human oral tumor cells.  
J. Nutr. 2002; 132(12):3754-9
- LIVNY, O., KAPLAM, I., REIFEN, R., POLAK-CHARCON, S., MADAR, Z.,  
SCHWARTZ, B. (2003)  
Oral cancer cells differ from normal oral epithelial cells in tissue like  
organization and in response to lycopene treatment: an organotypic cell  
culture study  
Nutr. Cancer 2003; 47(2):195-209
- LÖFFLER, G.; PETRIDES, P.E. (1998)  
Biochemie und Pathobiochemie  
Thieme, Stuttgart, New York, 224-225
- MANN, K. (2002)  
Diagnostik und Therapie differenzierter Schilddrüsenkarzinome  
Der Internist, Vol. 43, Nbr. 2 / February 2002
- MARTELLI, ML; IULIANO, R; LE PERA, I; SAMA, I; MONACO,C;  
CAMMAROTA, S; KROLL, T; CHIARIOTTI, L; SANTORO, M; FUSCO; A (2002)  
Inhibitory effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma on  
thyroid carcinoma cell growth  
J. Endocrinol. and metab.; Vol:87(10), p.4728-35
- MARGHESCU, S., LUBACH, D., RUDOLPH, PO. (1982)  
Die Therapie der Psoriasis mit Retinoid  
Z. Hautkr., 57(19): 1410-20

- MCCAFFERY, P., DRÄGER, U.C. (2000)  
 Regulation of retinoic acid in the embryonal nervous system: a master differentiation factor.  
 Cytokine and Growth Factor Reviews 11, 233-249
- MC DEVITT, TM., TCHAO, R., HARRISON, EH., MOREL, DW. (2005)  
 Carotenoids normally present in serum inhibit proliferation and induce differentiation of a human monocyte/ macrophage cell line (U 937)  
 J. Nutr., 135(2):160-4
- MC IVER, B; GREBE, SK; EBERHARDT, NL (2004)  
 The PAX8/PPAR gamma fusion oncogene as a potential therapeutic target in follicular carcinoma  
 Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol. Disord 2004 Sep.; 4:221-34
- MELLER, D. (2002)  
 Der Einfluß von all-trans-Retinol, all-trans-Retinsäure, 13-cis-Retinsäure und Lycopin; a) auf den 125I-Stoffwechsel von kultivierten Schweinethyreozyten b) auf die zytochemische Darstellung des Natrium-Iodid-Symporters kultivierter Thyreozyten.  
 Med. Dissertation Tübingen
- MENG, W. (1993)  
 Jodmangel existiert noch in Ostdeutschland  
 Z. Ärztl. Fortbild. Jena, 87(12): 969-74
- MILAZZO, G., LA ROSA, GL. , CATALFAMO, R. , VIGNERI, R: , BELFIORE, A. (1992)  
 Effect of TSH in human thyroid cells: evidence for both mitogenic and antimitogenic effects.  
 Journal for cellular biochemistry, Vol.: 49(3); p.231-8
- NIKIFOROV, YE. (2008)  
 Thyroid carcinoma: molecular pathways and therapeutic targets.  
 Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology,  
 Inc; Vol.: 21 Suppl 2; p. 37-43
- PANG, XP. , HERSHMAN, JM. (1990)  
 Differential effects of growth factors on [3H]thymidine incorporation and [125]iodine uptake in FRTL-5 rat thyroid cells.  
 Society f. Exp. Biology and Medicine (N.Y.); Vol.:194(3); p.240-4
- PARK, EY. , WILDER, ET. , LANE, MA. (2007)  
 Retinol inhibits the invasion of retinoic Acid-resistant colon cancer cells in vitro and decreases matrix metalloproteinase mRNA, protein and activity levels  
 Nutrition and cancer; Vol.: 57(1); p. 66-77

- PFANNENSTIEL, P., HOTZE, SALLER, B. (1997)  
Schilddrüsenerkrankungen: Diagnose und Therapie  
Berliner Medizinische Verlagsanstalt
- PFANNENSTIEL, P. (1991)  
Empfehlung zur Diagnose von Schilddrüsenfunktionsstörungen und von  
Schilddrüsenerkrankungen  
Röntgenpraxis, 44(8):231-8
- PFANNENSTIEL, P., SALLER, B. (1991)  
Schilddrüsenerkrankungen: Diagnose und Therapie, 2. Auflage  
Berliner Medizinische Verlagsanstalt
- REDDI, HV., MADDE, P., REICHERT-EBERHARDT, AJ., GALANIS, EC.,  
COPLAND, JA., MCIVER, B., GREBE, SK., EBERHARDT, NL. (2008)  
Onyx-411, a conditionally replicative oncolytic adenovirus, induces cell  
death in anaplastic thyroid carcinoma cell lines and suppresses the  
growth of xenograft tumors in nude mice.  
Cancer gene therapy / 20080627 / online published
- SAITO, T., ENDO, T., KAWAGUCHI, A., IKEDA, M. (1997)  
Increased expression of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>-Symporter in cultured human thyroid  
cells exposed to thyrotropin and in Graves' thyroid tissue  
J Clin Endocrinol. Metab 82:3331-3336
- SCHMUTZLER, C., BRTKO, J., BIENERT, K., KÖHRLE, J. (1996)  
Effects of retinoids and role of retinoic acid receptors in human thyroid  
carcinomas and cell lines derived therefrom  
Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, Vol. 104 Suppl 4; p. 16-9
- SCHMUTZLER, C.; KOEHRLE, J. (1998)  
Implications of the molecular characterization of the sodium-iodide  
symporter (NIS)  
Exp. Clin. Endocrinolog. Diabetes, 106 Suppl. 3: 1-10
- SCHMUTZLER ET AL. (2002)  
The promoter of the human sodium/iodide-symporter gene responds to  
retinoic acid  
Mol. Cell. Endocrinol., 189(1-2): 145-55
- SCHMUTZLER, C; HOANG-VU, C.; RÜGER, B.; KÖHRLE, J.(2004)  
Human thyroid carcinoma cell lines show different retinoic acid receptor  
repertoires and retinoid responses  
Europ. J. of Endocrinolog. Vol.: 150(4); p.547-56
- SCHRECK, R., SCHNIEDERS, F., SCHMUTZLER, C., KÖHRLE, J. (1994)  
Retinoids stimulate type I 5'-deiodase activity in human follicular thyroid  
carcinoma cell lines

- J. Endocrinol. Metab., 79, 791-798
- SCHWARTZ, J-L., GU, X., KITTLES, R-A., BAPTISTE, A., SHKLAR, G. (2000)  
Experimental oral carcinoma of the tongue and buccal mucosa: possible  
biologic markers linked to cancers at two anatomic sites  
J. Oral Oncology, 36 (2), 225-235
- SILBERNAGEL, S.; DESPOPOULOS, A.  
Taschenatlas der Physiologie  
Thieme, 4. Auflage S. 250-52
- SIMKINS, S. (1947)  
Use of massive dosis of vitamin A in the treatment of hyperthyroidism  
J. Clin. Endocrinolo. Metab., 7: 574.85
- SIMON, D., KÖHRLE, J., SCHMUTZLER, C., MAINZ, K., REINERS, C.,  
ROHRER, HD. (1996)  
Redifferentiation therapy of differentiated thyroid carcinoma with Retinoic  
acid: basics and first clinical results  
Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 104 Suppl. 4:13-5
- SMANIAK, PA., LIU, Q., FURMINGER, TL., RYU, K., XING, S., MAZZAFERRI,  
EL., JHIANG, SM. (1996)  
Cloning of the human sodium iodide Symporter  
Biochem. Biophys. Res. Commun., 226(2):339-45
- SMITH, MA., PARKINSON, DR., CHESON, BD., FRIEDMAN, MA. (1992)  
Retinoids in cancer therapy  
J. Clin. Oncol., 10(5),: 839-64
- SPITZWEG, C. et al. (1998)  
Analysis of human sodium iodide Symporter gene expression in  
extrathyroidal tissues and cloning of its complementary deoxyribonucleic  
acids from salivary gland, mammary gland and gastric mucosa  
J Clin Endocrinol. Metab, 83:p. 1746-51
- SPITZWEG, C. (2004)  
Natrium-Iodid-Symporter: Praktische Bedeutung. The practical relevance  
of the sodium iodide Symporter.  
Zeitschrift für ärztliche Fortbildung und Qualitätssicherung; Vol.:98  
Suppl.5, p. 25-32
- STEVEN, K., CLINTON, M.D. (1998)  
Lycopene: Chemistry, Biology and implications for Human Health and  
Disease  
Nutrition Reviews, 56, (I) 35-51



- STIENS, LR. (2001)  
Entwicklung eines Produktionsprozesses für den rekombinanten humanen TSH –Rezeptor  
Naturwissenschaftl. Dissertation, Bielfeld
- STÜTTGEN, G. (1980)  
Retinoide, Vitamin A Säure und ihre Derivate in der Dermatologie  
MMW. Munch. Med. Wochenschr., 122(38): 1285-6
- SZONDY, Z.; REICHERT, U.; BERNARDON, J-M.; MICHEL, S.; TOTH, R.; KARASZI, E.; FESUES, L. (1998)  
Inhibition of activation-induced apoptosis of thymocytes by all-trans and 9-cis-retinoic acid is mediated via retinoic acid receptor  $\alpha$ .  
Biochem. J.: 331 (767-774)
- TAKIYAMA, Y.; MIYOKAWA, N.; SUGAWARA, A.; KATO, S.; ITO, K.; OIKAWA, K.; KOBAYASHI, H.; KUMURA, S.; TATENO, M.  
Decreased expression of retinoid x receptor isoforms in human thyroid carcinomas  
J Clin Endocrinol Metab 2004 Nov;89: 5851-61
- TODA, S.; KOIKE, N., SUGIHARA, H. (2001)  
Thyocyte integration, and thyroid folliculogenesis and tissue regeneration: Perspective for thyroid tissue engineering  
Pathology International 51(6), 403-417
- TORRISI, R., PENSA, F., ORENKO, M-A., CATSAFADOS, E., PONZANI, P., BOCCARDO, F., COSTA; A., DECENSI, A.(1993)  
The synthetic retinoid fenretinide lowers plasma insulin-like growth factor I levels in breast cancer patients.  
Cancer Res. 53, 4769-4771
- TRAPASSO, F., IULIANO, R., CHIEFARI, E., ARTURI, F., STELLA, A., FILETTI, S., FUSCO, A., RUSSO, D. (1999)  
Iodide symporter gene expression in normal and transformed rat thyroid cells.  
Eur. J. Endocrinol. 140(5): 447-51
- VAN HERLE, AJ., AGATEP, ML., PADUA, DN., TOTANES, TL., CANLAPAN, DV., VAN HERLE, HM., JUILLARD, GJ. (1990)  
Effects of 13-cis-retinoic acid on growth and differentiation of human follicular carcinoma cells (UCLA R0 82 W-1) in vitro  
Journal Endocrinol. Metab. 1990 Sep;71(3):755-63
- VOIGT, R. (1995)  
In: Pharmazeutische Technologie  
8. Auflage, Ullstein Mosby, S. 565ff

- WAHL, R. (1991)  
Morphologische und biochemische Untersuchungen an der  
Schilddrüsenzellkultur.  
Theorie und Forschung, Bd. 161; Roderer Regensburg
- WAHL, RICHARD, FRÖHLICH, ELEONORE, REUTTER, KLAUS (1995)  
Basal lamina formation by porcine thyroid cells grown in collagen- and  
laminin-deficient medium  
The Histochemical Journal, Vol.27, No.8, 602-608
- WEIS, K., RAMBAUD, S., LAVAU, C., JANSEN, J., CARVALHO, T., CARMO-  
FONSECA, M., LAMOND, A., DEJEAN, A. (1994)  
Retinoic acid regulates aberrant nuclear localization of PML-RAR alpha  
in acute promyelocytic leukemia cells  
Cell., 76(2):345-56
- WOLF, G. (1996)  
A history of vitamin A and retinoids  
FASEB J 10: 1102-1107
- ZHANG, O., MILLS, KJ., DAWSON, MI., COLLINS, SJ., JETTEN, AM. (1995)  
Evidence of the involvement of retinoic acid receptor RAR alpha-  
dependent signalling pathway in the induction of tissue transglutaminase  
and apoptosis by retinoids  
J. Biol. Chem., 270: 6022-9
- ZHANG, YIFAN A., JIA, SHIQUAN B., LIU, YONG C., LI, BIAO A., WANG,  
ZHAOHUI D., LU, HUI E., ZHU, CHENGMO A. (2007)  
A clinical study of all-trans-retinoid-induced differentiation therapy of  
advanced thyroid cancer.  
Nuclear Medicine Communications 28(4): 251-255

## 7. Anhang

### 7.1 Zahlenwerte der Abbildungen im Ergebnis-Teil

**Tabelle1**  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit  $\blacklozenge$  gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant ( $p < 0,05$ ) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulation	3h	6h	17h	24h	30h	41h	48h
ohne Stimulation							
Mittelwert	511,32	913,20	641,90	771,20	944,67	814,52	1090,22
Stabw	69,87	288,91	155,94	161,24	264,13	77,76	62,62
SEM	28,52	117,95	63,66	65,83	107,83	31,75	25,56
frei+2,6mol Retinsäure							
Mittelwert	471,77	684,43	595,72	492,63	745,22	606,42	709,17
Stabw	60,58	345,21	110,53	100,12	114,96	101,17	72,70
SEM	24,73	140,93	45,12	40,88	46,93	41,30	29,68
0,098+2,6nmol Retinsäure							
Mittelwert	493,93	735,65	678,47	721,13	856,33	921,22	998,12
Stabw	80,75	147,95	118,73	125,05	181,38	137,24	94,05
SEM	32,97	60,40	48,47	51,05	74,05	56,03	38,40
0,196+2,6nmol Retinsäure							
Mittelwert	331,98	641,22	625,65	686,18	694,48	773,43	987,08
Stabw	41,40	190,36	95,53	167,25	141,94	203,96	168,25
SEM	16,90	77,72	39,00	68,28	57,95	83,27	68,69

**Tabelle 2** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulation	4h	17h	24h	48h
ohne Stimulation				
Mittelwert	634,38	664,75	982,30	1962,78
StabW	84,32	124,15	220,79	890,02
SEM	34,43	50,68	90,14	363,35
frei+2,6nmol Retinsäure				
Mittelwert	391,20	789,10	1854,72	1003,35
Stabw	95,66	130,10	422,81	131,82
SEM	39,06	53,11	172,61	53,82
0,098+2,6nmol Retinsre			♦	♦
Mittelwert	360,52	792,17	1663,10	1080,40
Stabw	65,51	167,83	327,42	120,7
SEM	26,75	68,52	133,67	49,28
0,196+2,6nmol Retinsre			♦	♦
Mittelwert	389,48	804,56	1659,4	984,1
Stabw	109,63	128,61	327,00	156,86
SEM	44,76	52,51	133,50	64,04

**Tabelle 3** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	6h	17h	24h	30h	41h	48h	54h	65h
ohne Stimulation										
Mittelwert	520,67	396,22	766,62	834,28	834,28	1031,83	895,25	803,17	654,08	1194,40
Stabw	130,33	69,16	253,0	222,79	141,06	202,33	560,32	158,27	90,41	228,08
SEM	53,21	28,24	103,29	90,96	57,59	82,60	228,75	64,61	36,91	93,11
frei+2,6nmol Retinsäure										
Mittelwert	728,64	929,16	1480,06	1531,94	1206,5	1372,45	1078,52	745,58	1024,52	1012,88
Stabw	72,75	386,69	321,27	392,36	252,56	314,68	234,06	121,23	227,30	242,80
SEM	29,70	157,87	131,16	160,18	103,11	128,47	95,56	49,49	92,79	99,12
		♦	♦	♦	♦					
0,098+2,6nmol Retinsäure										
Mittelwert	595,82	651,98	1055,45	1137,23	1018,38	941,68	1054,68	651,27	1018,47	950,78
Stabw	114,80	224,20	510,45	162,32	185,70	183,24	67,76	58,61	151,62	215,18
SEM	46,87	91,53	208,39	66,27	75,81	74,81	27,66	23,93	61,90	87,85
		♦								
0,196+2,6nmol Retinsäure										
Mittelwert	538,1	478,4	617,4	1289,43	870,44	879,08	939,78	752,57	905,97	972,08
Stabw	136,76	76,05	153,86	203,39	195,52	184,10	118,08	119,07	146,53	243,30
SEM	55,83	31,05	62,81	83,03	79,82	75,16	48,21	48,61	59,82	99,33

**Tabelle 4**  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen I, II und III. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulation	4h	17h	24h	48h
ohne Stimulation				
Mittelwert der Versuchsreihe I	511,32	641,90	771,20	1090,22
Mittelwert der Versuchsreihe II	634,40	664,80	982,30	1962,80
Mittelwert der Versuchsreihe III	396,22	788,88	735,12	803,17
Mittelwert aus I, II und III	513,98	698,53	829,54	1285,40
frei+2,6nmol Retinsäure				
Mittelwert der Versuchsreihe I	471,77	595,72	492,63	709,17
Mittelwert der Versuchsreihe II	391,20	833,50	1854,70	1003,40
Mittelwert der Versuchsreihe III	929,16	1531,94	1206,50	745,58
Mittelwert aus I, II und III	597,38	987,05	1184,61	819,38
0,098+2,6nmol Retinsre				
Mittelwert der Versuchsreihe I	493,93	678,47	721,13	998,12
Mittelwert der Versuchsreihe II	360,50	792,20	1663,10	1080,40
Mittelwert der Versuchsreihe III	651,98	1137,23	1018,38	651,27
Mittelwert aus I, II und III	502,14	869,30	1134,20	909,93
0,196+2,6nmol Retinsre				

Mittelwert der Versuchsreihe I	331,98	625,65	686,18	987,08
Mittelwert der Versuchsreihe II	382,00	780,70	1605,60	954,00
Mittelwert der Versuchsreihe III	478,40	1289,43	870,44	752,57
Mittelwert aus I, II und III	397,46	898,59	1054,07	897,88

**Tabelle 5** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/Stimulanzen	3h	6h	17h	24h	30h	41h	48h
ohne Stimulation							
Mittelwert	174,70	268,9	176,3	138,3	203,7	147,0	161,6
Stabw	22,27	73,68	26,38	5,37	145,88	51,48	17,47
SEM	9,09	30,08	10,77	2,19	59,55	21,02	7,13
frei+2,6nmol Retinsäure							
Mittelwert	155,07	247,73	167,70	145,92	302,37	159,25	154,32
Stabw	9,69	115,68	5,94	10,68	101,12	19,52	13,79
SEM	3,95	47,23	2,42	4,36	41,28	7,97	5,63
0,098+2,6nmol Retinsäure							♦
Mittelwert	147,57	330,65	197,88	229,60	326,48	191,35	186,73
Stabw	23,19	168,86	4,67	233,49	60,88	23,62	28,99
SEM	9,47	68,94	1,91	95,32	24,85	9,64	11,84
0,196+2,6nmol Retinsäure				♦	♦		
Mittelwert	206,48	258,33	187,88	197,07	336,57	343,88	200,07
Stabw	52,89	47,52	8,34	24,68	123,81	18,88	19,73
SEM	21,59	19,40	3,41	10,07	50,55	7,71	8,05
						♦	



**Tabelle 6** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	4h	17h	24h	48h
ohne Stimulation				
Mittelwert	147,10	167,82	198,67	274,02
StabW	48,37	34,04	13,37	139,1
SEM	19,75	13,9	5,46	56,79
frei+2,6nmol Retinsäure				
Mittelwert	122,42	200,87	288,03	184,08
Stabw	23,35	26,57	56,96	37,71
SEM	9,53	10,85	23,25	15,39
0,098+2,6nmol Retinsäure			♦	
Mittelwert	104,02	205,52	269,05	150,07
Stabw	15,14	66,76	47,18	21,54
SEM	6,18	27,25	19,26	8,79
0,196+2,6nmol Retinsäure				♦
Mittelwert	92,83	156,37	218,82	216,95
Stabw	15,68	27,48	28,30	70,46
SEM	6,40	11,22	11,55	28,76
	♦			

**Tabelle 7** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	6h	17h	24h	30h	41h	48h	54h	65h
ohne Stimulation										
Mittelwert	154,07	97,68	200,78	414,95	191,27	285,60	301,23	204,05	132,57	216,83
Stabw	24,75	24,53	98,11	103,69	36,33	104,28	69,62	29,52	26,94	33,81
SEM	10,10	10,01	40,05	42,33	14,83	42,57	28,42	12,05	11,00	13,80
frei+2,6nmol Retinsäure										
Mittelwert	195,4	456,58	425,98	615,88	288,0	274,4	272,6	295,2	175,3	184,8
Stabw	27,67	161,65	171,58	227,35	103,34	69,94	39,47	65,59	28,53	44,13
SEM	11,30	65,99	70,05	92,82	42,19	28,55	16,12	26,78	11,65	18,01
0,098+2,6nmol Retinsäure		♦	♦					♦		
Mittelwert	178,73	193,88	361,55	255,7	219,57	235,97	237,42	231,3	169,75	152,45
Stabw	50,61	74,32	258,54	187,36	39,56	35,27	41,42	25,73	28,51	61,77
0,196+2,6nmol Retinsäure			♦							♦
Mittelwert	134,18	153,54	171,98	255,36	186,22	200,48	221,38	194,18	140,43	189,78
Stabw	50,66	49,39	84,55	125,25	30,84	74,59	28,13	17,23	14,12	55,67
SEM	20,68	20,16	34,52	51,13	12,59	30,45	11,48	7,04	5,76	22,73

**Tabelle 8**  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen I, II und III. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulation	4h	17h	24h	48h
ohne Stimulation				
Mittelwert der Versuchsreihe I	174,70	176,30	138,30	161,60
Mittelwert der Versuchsreihe II	147,10	167,80	198,70	274,00
Mittelwert der Versuchsreihe III	97,68	414,95	191,24	204,05
Mittelwert aus I, II und III	139,83	253,02	176,08	213,22
frei+2,6nmol Retinsäure				
Mittelwert der Versuchsreihe I	155,07	167,70	145,92	154,32
Mittelwert der Versuchsreihe II	122,40	200,90	288,00	184,10
Mittelwert der Versuchsreihe III	456,58	615,88	288,00	295,20
Mittelwert aus I, II und III	244,68	328,16	240,64	211,21
0,098+2,6nmol Retinsre				
Mittelwert der Versuchsreihe I	147,57	197,88	229,60	186,73
Mittelwert der Versuchsreihe II	104,00	205,50	269,10	150,10
Mittelwert der Versuchsreihe III	193,88	255,70	219,57	231,30
Mittelwert aus I, II und III	148,48	219,69	239,42	189,38
0,196+2,6nmol Retinsäure				

Mittelwert der Versuchsreihe I	206,48	187,88	197,07	200,07
Mittelwert der Versuchsreihe II	92,80	156,40	218,80	217,00
Mittelwert der Versuchsreihe III	153,54	255,36	186,22	194,18
Mittelwert aus I, II und III	150,94	199,88	200,70	203,75

**Tabelle 9** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1472,87	1472,87	6449,12	4792,62	3559,25	3510,53	3198,97	2748,45
Stabw	289,57	344,59	788,10	631,62	953,72	1212,43	349,56	468,86
SEM	118,22	140,68	321,74	257,86	389,35	494,97	142,71	191,41
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1637,2	2192,0	5746,9	6045,5	3569,2	4165,6	3537,5	2635,4
Stabw	202,72	313,70	1018,64	1629,48	829,20	1045,18	1728,11	260,29
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1470,5	2270,2	6012,18	4967,82	3045,27	3528,33	2544,57	2349,68
Stabw	257,02	364,70	1136,39	1086,63	687,88	766,02	385,53	514,78
SEM	104,93	148,89	463,93	443,62	280,83	312,73	157,39	210,16
TSH 2,6mU								
Mittelwert	1450,45	2421,88	4812,83	5341,7	3699,82	4317,77	3208,33	3759,48
Stabw	140,70	363,94	316,03	566,69	629,50	712,05	526,36	1456,66
SEM	57,44	148,58	129,02	231,35	256,99	290,69	214,88	594,68
			♦					

**Tabelle 10**  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant ( $p < 0,05$ ) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1045,28	1650,13	3099,85	2668,78	2071,17	1418,65	2114,73	1959,17
Stabw	520,90	320,91	901,16	635,99	333,11	194,80	254,72	511,62
SEM	212,66	131,01	367,90	259,64	135,99	79,53	103,99	208,87
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1803,18	2004,00	3112,87	3016,87	2015,80	1595,03	2559,32	2267,00
Stabw	996,31	475,55	1555,66	791,41	379,77	145,69	815,39	257,17
SEM	406,74	194,14	635,10	323,09	155,04	59,48	332,88	104,99
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1513,55	1914,63	3258,52	2984,92	2190,03	1432,37	2130,25	1954,53
Stabw	247,24	290,71	554,53	778,10	169,38	280,19	290,20	380,30
SEM	100,94	118,68	226,39	317,66	69,15	114,39	118,47	155,26
TSH 2,6mU			♦					
Mittelwert	1392,78	2051,77	2715,60	3302,95	2192,12	1529,40	2232,37	2334,50
Stabw	206,20	429,40	866,25	836,45	577,19	225,48	178,68	653,32
SEM	84,18	175,30	353,64	341,48	235,64	92,05	72,95	266,72

**Tabelle 11** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen IV und V. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	1472,87	2182,08	6449,12	4792,62	3559,25	3510,53	3198,97	2748,45
Mittelwert der Versuchsreihe V	1045,28	1650,13	3099,85	2668,78	2071,17	1418,65	2114,73	1959,17
Mittelwert aus IV und V	1259,07	1916,11	4774,48	3730,70	2815,21	2464,59	2656,85	2353,81
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	1637,15	2192,00	5746,90	6045,48	3569,20	4165,62	3537,45	2635,42
Mittelwert der Versuchsreihe V	1803,18	2004,00	3112,87	3016,87	2015,80	1595,03	2559,32	2267,00
Mittelwert aus IV und V	1720,17	2098,00	4429,89	4531,18	2792,50	2880,32	3048,39	2451,21
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	1470,50	2270,20	6012,18	4967,82	3045,27	3528,33	2544,57	2349,68
Mittelwert der Versuchsreihe V	1513,55	1914,63	3258,52	2984,92	2190,03	1432,37	2130,25	1954,53
Mittelwert aus IV und V	1492,03	2092,42	4635,35	3976,37	2617,65	2480,35	2337,41	2152,11
TSH 2,6mU								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	1450,45	2421,88	4812,83	5341,70	3699,82	4317,77	3208,33	3759,48
Mittelwert der Versuchsreihe V	1392,78	2051,77	2715,60	3302,95	2192,12	1529,40	2232,37	2334,50
Mittelwert aus IV und V	1421,62	2236,83	3764,22	4322,33	2945,97	2923,58	2720,35	3046,99

**Tabelle 12** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	494,55	744,93	1938,13	1321,05	897,45	1120,87	695,97	555,43
Stabw	31,54	178,31	337,03	195,02	181,97	393,28	134,67	152,61
SEM	12,88	72,80	137,59	79,61	74,29	160,56	54,98	62,30
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	412,52	699,25	1703,70	1413,98	818,37	946,60	611,85	478,23
Stabw	30,15	176,93	329,48	400,26	216,44	238,13	154,49	63,10
SEM	12,31	72,23	134,51	163,41	88,36	97,21	63,07	25,76
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	431,1	764,02	1793,32	1182,78	746,6	836,75	552,53	464,23
Stabw	71,48	101,20	440,40	174,51	163,83	197,01	107,96	130,20
SEM	29,18	41,31	179,79	71,24	66,88	80,43	44,08	53,15
TSH 2,6mU								
Mittelwert	554,62	877,15	1387,47	1232,60	1032,37	1079,72	715,80	828,72
Stabw	106,41	122,81	243,07	158,17	244,26	400,31	113,10	390,32
SEM	43,44	50,14	99,23	64,57	99,72	163,43	46,17	159,35
			♦					



**Tabelle 13** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=6. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	238,42	376,20	1252,25	861,25	509,08	547,27	536,63	434,40
Stabw	124,71	203,69	373,41	548,70	94,54	239,98	108,26	104,14
SEM	50,91	83,16	152,44	224,01	38,60	97,97	44,20	42,52
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	321,40	398,17	1801,97	889,07	439,88	484,25	567,22	430,20
Stabw	190,90	101,87	736,65	398,09	111,47	73,89	115,95	36,38
SEM	77,93	41,59	300,74	162,52	45,51	30,16	47,34	14,85
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	237,02	377,12	1195,40	659,20	521,35	461,67	464,00	439,83
Stabw	78,89	98,00	542,07	146,83	153,81	52,35	64,06	81,01
SEM	32,21	40,01	221,30	59,94	62,79	21,37	26,15	33,07
TSH 2,6mU								
Mittelwert	276,55	399,97	1171,05	794,55	527,20	429,53	522,43	396,35
Stabw	89,84	145,06	371,97	232,36	53,93	38,43	46,06	53,53
SEM	36,68	59,22	151,86	94,86	22,02	15,69	18,80	21,85

**Tabelle 14** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen IV und V. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	494,55	744,93	1938,13	1321,05	897,45	1120,87	695,97	555,43
Mittelwert der Versuchsreihe V	238,42	376,20	1252,25	861,25	509,08	547,27	536,63	434,40
Mittelwert aus IV und V	366,49	560,57	1595,19	1091,15	703,27	834,07	616,30	494,92
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	412,52	699,25	1703,70	1413,98	818,37	946,60	611,85	478,23
Mittelwert der Versuchsreihe V	321,40	398,17	1801,97	889,07	439,88	484,25	567,22	430,20
Mittelwert aus IV und V	366,96	548,71	1752,84	1151,53	629,13	715,43	589,54	454,22
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	431,10	764,02	1793,32	1182,78	746,60	836,75	552,53	464,23
Mittelwert der Versuchsreihe V	237,02	377,12	1195,40	659,20	521,35	461,67	464,00	439,83
Mittelwert aus IV und V	334,06	570,57	1494,36	920,99	633,98	649,21	508,27	452,03
TSH 2,6mU								
Mittelwert der Versuchsreihe IV	554,62	877,15	1387,47	1232,60	1032,37	1079,72	715,80	828,72
Mittelwert der Versuchsreihe V	276,55	399,97	1171,05	794,55	527,20	429,53	522,43	396,35
Mittelwert aus IV und V	415,59	638,56	1279,26	1013,58	779,79	754,63	619,12	612,54

**Tabelle 15** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1625,2	584,0	413,9	440,8	834,8	1398,4	2099,9	2003,2
Stabw	1008,9	185,9	313,6	125,8	237,2	227,9	960,1	1234,4
SEM	504,5	93,0	156,8	62,9	118,6	114,0	480,1	617,2
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	2104,2	557,5	2039,3	478,9	569,8	901,3	2114,8	1894,6
Stabw	644,4	195,1	3325,7	76,6	130,6	245,6	629,0	874,2
SEM	288,2	87,2	1487,3	34,2	58,4	109,8	281,3	391,0
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	2629,7	589,8	278,6	698,3	642,7	1191,6	2176,9	2935,5
Stabw	492,3	217,6	159,7	278,9	204,2	290,3	505,5	888,9
SEM	220,2	97,3	71,4	124,7	91,3	129,8	226,1	397,5

**Tabelle 16** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1561,5	2095,5	1832,5	1512,7	2362,4	1365,2	1691,3	1281,4
Stabw	509,0	153,4	328,6	231,2	544,5	91,8	441,9	463,1
SEM	254,5	76,7	164,3	115,6	272,3	45,9	221,0	231,5
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1680,1	2019,8	1821,9	1818,8	2510,9	985,3	1279,9	900,5
Stabw	335,1	135,7	1057,5	306,2	799,5	218,6	290,0	86,4
SEM	149,9	60,7	472,9	137,0	357,6	97,8	129,7	38,7
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1828,4	1968,8	2211,8	1947,8	2406,3	1278,3	1571,2	1084,0
Stabw	190,0	301,8	425,0	276,4	426,7	197,3	356,3	82,4
SEM	85,0	135,0	190,1	123,6	190,8	88,3	159,3	36,8

**Tabelle 17** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	719,05	1719,48	3913,70	8785,40	2984,18	1635,95	746,25	1685,18
Stabw	246,17	212,84	568,56	1382,59	876,43	182,37	85,49	600,08
SEM	123,09	106,42	284,28	691,29	438,21	91,18	42,75	300,04
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1134,78	1521,38	3523,58	6318,78	3888,24	1867,66	642,16	3281,58
Stabw	451,87	344,90	204,40	3805,76	789,54	429,19	105,29	1149,11
SEM	202,08	154,24	91,41	1701,99	353,09	191,94	47,09	513,90
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1022,96	1659,98	4155,38	8344,00	3887,88	1472,98	459,84	1924,90
Stabw	162,16	196,59	742,95	4432,21	1066,68	659,61	110,55	1157,50
SEM	72,52	87,92	332,26	1982,14	477,04	294,99	49,44	517,65

**Tabelle 18** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VI und VII. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert der Versuchsreihe VI	1561,5	2095,5	1832,5	1512,7	2362,4	1365,2	1691,3	1281,4
Mittelwert der Versuchsreihe VII	719,05	1719,48	3913,70	8785,40	2984,18	1635,95	746,25	1685,18
Mittelwert aus VI und VII	1140,28	1907,50	2873,11	5149,03	2673,26	1500,55	1218,75	1483,29
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI	1680,1	2019,8	1821,9	1818,8	2510,9	985,3	1279,9	900,5
Mittelwert der Versuchsreihe VII	1134,78	1521,38	3523,58	6318,78	3888,24	1867,66	642,16	3281,58
Mittelwert aus VI und VII	1407,44	1770,57	2672,73	4068,79	3199,59	1426,49	961,02	2091,02
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI	1828,4	1968,8	2211,8	1947,8	2406,3	1278,3	1571,2	1084,0
Mittelwert der Versuchsreihe VII	1022,96	1659,98	4155,38	8344,00	3887,88	1472,98	459,84	1924,90
Mittelwert aus VI und VII	1425,68	1814,40	3183,58	5145,89	3147,11	1375,66	1015,51	1504,46

**Tabelle 19** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1599,98	2124,7	2293,8	1948,1	2099,1	1602,3	1982,4	1467,2
Stabw	523,6	85,0	525,3	143,9	205,2	177,0	264,5	382,8
SEM	261,8	42,5	262,6	72,0	102,6	88,5	132,2	191,4
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1843,2	2127,3	2031,9	1860,1	2647,8	1190,2	1404,7	869,6
Stabw	361,1	219,1	472,8	337,9	861,4	315,8	348,5	178,2
SEM	161,5	98,0	211,4	151,1	385,2	141,2	155,9	79,7
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1753,9	2149,4	2222,6	2061,5	2619,8	1504,7	1703,1	1171,0
Stabw	228,7	330,2	284,2	450,4	564,9	333,9	549,0	202,1
SEM	102,3	147,7	127,1	201,4	252,6	149,3	245,5	90,4

**Tabelle 20** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	686,97	1812,8	3616,25	9209,07	3042,15	2280,9	1846,73	2549,95
Stabw	239,62	265,49	331,15	1093,62	768,76	239,90	142,60	852,02
SEM	119,81	132,75	165,57	546,81	384,38	119,95	71,30	426,01
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1118,4	1362,3	3689,24	6508,74	4005,9	2420,08	1605,98	4730,53
Stabw	421,49	347,95	293,95	4140,95	824,38	479,09	265,08	1515,57
SEM	188,50	155,61	131,46	1851,89	368,67	214,26	118,55	677,78
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1049,3	1222,46	4147,06	8931,42	4012,54	1866,4	1299,42	3151,5
Stabw	189,22	618,25	629,30	4842,43	1151,05	619,75	282,56	1819,75
SEM	84,62	276,49	281,43	2165,60	514,77	277,16	126,37	813,82



**Tabelle 21** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VI und VII. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert der Versuchsreihe VI	1599,98	2124,65	2293,83	1948,08	2099,05	1602,30	1982,35	1467,15
Mittelwert der Versuchsreihe VII	686,97	1812,80	3616,25	9209,07	3042,15	2280,90	1846,73	2549,95
Mittelwert aus VI und VII	1143,48	1968,73	2955,04	5578,58	2570,60	1941,60	1914,54	2008,55
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI	1843,24	2127,28	2031,86	1860,10	2647,80	1190,18	1404,74	869,58
Mittelwert der Versuchsreihe VII	1118,40	1362,34	3689,24	6508,74	4005,90	2420,08	1605,98	4730,53
Mittelwert aus VI und VII	1480,82	1744,81	2860,55	4184,42	3326,85	1805,13	1505,36	2800,05
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI	1753,94	2149,40	2222,62	2061,50	2619,82	1504,66	1703,08	1171,00
Mittelwert der Versuchsreihe VII	1049,30	1222,46	4147,06	8931,42	4012,54	1866,40	1299,42	3151,50
Mittelwert aus VI und VII	1401,62	1685,93	3184,84	5496,46	3316,18	1685,53	1501,25	2161,25

**Tabelle 22**  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant ( $p < 0,05$ ) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	3205,03	556,65	495,23	793,38	837,28	1543,60	2213,03	1945,68
Stabw	533,8	196,4	362,0	546,7	135,1	109,6	527,7	700,5
SEM	266,9	98,2	181,0	273,4	67,6	54,8	263,9	350,2
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	4886,08	999,84	805,18	1316,16	1309,60	1751,18	2311,86	2519,00
Stabw	2193,7	393,4	787,4	292,4	621,7	614,2	597,5	1013,0
SEM	981,1	175,9	352,1	130,7	278,0	274,7	267,2	453,0
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	4359,74	801,04	1633,50	1249,02	1991,08	1219,04	1875,28	1398,12
Stabw	1617,8	457,8	979,3	262,0	1093,9	307,7	672,6	874,4
SEM	723,5	204,7	437,9	117,2	489,2	137,6	300,8	391,0

**Tabelle 23** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	2607,38	3047,00	6040,93	2871,95	3949,95	2513,45	2470,50	2263,58
Stabw	468,9	212,4	1400,9	1982,9	144,4	322,5	1365,6	475,9
SEM	234,5	106,2	700,5	991,4	72,2	161,2	682,8	238,0
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	2973,68	2870,48	5941,60	3745,36	6654,40	2873,96	2889,38	2067,42
Stabw	825,4	457,8	1365,4	1149,9	1813,6	578,3	582,7	659,2
SEM	369,1	204,7	610,6	514,2	811,1	258,6	260,6	294,8
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	2858,42	2888,26	6515,74	4223,34	6032,00	2145,78	2584,22	1528,68
Stabw	485,3	94,3	785,8	1383,7	1063,1	423,7	734,1	417,0
SEM	217,1	42,2	351,4	618,8	475,5	189,5	328,3	186,5

**Tabelle 24** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1319,23	2792,78	3982,03	1503,70	6417,83	5035,95	5131,00	1079,03
Stabw	98,62	545,59	1824,93	138,51	614,17	1294,86	768,00	482,09
SEM	49,31	272,80	912,47	69,25	307,08	647,43	384,00	241,05
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1423,38	2964,98	838,62	1708,64	7063,76	5903,12	5227,48	1112,32
Stabw	953,11	480,06	126,22	566,86	1170,23	2398,08	1669,48	509,31
SEM	426,24	214,69	56,45	253,51	523,34	1072,46	746,61	227,77
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1648,02	3290,4	801,88	1532,5	5346,52	4581,08	4498,78	750,56
Stabw	257,38	476,51	106,55	216,15	1093,66	1197,02	1500,15	397,21
SEM	115,10	213,10	47,65	96,66	489,10	535,32	670,89	177,64

**Tabelle 25** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VI a und VII a. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert der Versuchsreihe VI a	2607,38	3047,00	6040,93	2871,95	3949,95	2513,45	2470,50	2263,58
Mittelwert der Versuchsreihe VII a	1319,23	2792,78	3982,03	1503,70	6417,83	5035,95	5131,00	1079,03
Mittelwert aus VI a und VII a	1963,30	2919,89	5011,48	2187,33	5183,39	3774,70	3800,75	1671,30
Lykopen 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI a	2973,68	2870,48	5941,60	3745,36	6654,40	2873,96	2889,38	2067,42
Mittelwert der Versuchsreihe VII a	1423,38	2964,98	838,62	1708,64	7063,76	5903,12	5227,48	1112,32
Mittelwert aus VI a und VII a	2198,53	2917,73	3390,11	2727,00	6859,08	4388,54	4058,43	1589,87
Lykopen Placebo 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI a	2858,42	2888,26	6515,74	4223,34	6032,00	2145,78	2584,22	1528,68
Mittelwert der Versuchsreihe VII a	1648,02	3290,4	801,88	1532,5	5346,52	4581,08	4498,78	750,56
Mittelwert aus VI a und VII a	2253,22	3089,33	3658,81	2877,92	5689,26	3363,43	3541,50	1139,62

**Tabelle 26** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	2552,78	3298,53	6100,00	3862,50	4157,88	2796,08	3302,05	2323,25
Stabw	326,0	383,9	1622,2	838,7	283,3	260,9	657,9	542,8
SEM	163,0	192,0	811,1	419,4	141,7	130,5	329,0	271,4
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	2802,54	3026,28	6198,58	4411,78	6823,48	3197,40	3302,62	2196,90
Stabw	838,1	490,1	1140,0	1168,6	1810,2	614,1	546,9	678,9
SEM	374,8	219,2	509,8	522,6	809,6	274,6	244,6	303,6
Lykopin Placebo 2,6nmol					♦			
Mittelwert	2555,84	3147,46	7162,44	4771,18	6231,46	2311,42	2973,96	1507,10
Stabw	233,1	72,4	619,4	1133,4	1187,8	462,9	861,6	360,8
SEM	104,3	♦ 32,4	277,0	506,9	♦ 531,2	207,0	385,3	161,4

**Tabelle 27** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4 (ohne weitere Stimulation) und n=5 (mit weiterer Stimulation). Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert	1012,68	2781,53	5630,08	4801,8	6686,78	1842,83	1126,83	1522,93
Stabw	70,58	752,11	1161,89	1309,27	646,37	904,67	150,26	113,77
SEM	35,29	376,06	580,95	654,63	323,19	452,34	75,13	56,89
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert	1767,24	2989,28	8653,34	7269,18	7044,66	2352,02	1163,50	1753,14
Stabw	519,18	487,05	1243,63	1873,51	1207,88	1104,33	250,25	632,35
SEM	232,18	217,81	556,17	837,86	540,18	493,87	111,91	282,80
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert	1646,80	3298,62	9195,20	8933,54	8504,68	2148,24	1062,10	1561,30
Stabw	207,21	443,51	875,74	3726,21	2285,27	1325,94	114,76	197,64
SEM	92,67	198,35	391,64	1666,41	1022,01	592,98	51,32	88,39

**Tabelle 28** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VI a und VII a. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	16h	24h	30h	40h	48h	54h
ohne Stimulation								
Mittelwert der Versuchsreihe VI a	2552,78	3298,53	6100,00	3862,50	4157,88	2796,08	3302,05	2323,25
Mittelwert der Versuchsreihe VII a	1012,68	2781,53	5630,08	4801,8	6686,78	1842,83	1126,83	1522,93
Mittelwert aus VI a und VII a	1782,73	3040,03	5865,04	4332,15	5422,33	2319,45	2214,44	1923,09
Lykopin 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI a	2802,54	3026,28	6198,58	4411,78	6823,48	3197,40	3302,62	2196,90
Mittelwert der Versuchsreihe VII a	1767,24	2989,28	8653,34	7269,18	7044,66	2352,02	1163,50	1753,14
Mittelwert aus VI a und VII a	2284,89	3007,78	7425,96	5840,48	6934,07	2774,71	2233,06	1975,02
Lykopin Placebo 2,6nmol								
Mittelwert der Versuchsreihe VI a	2555,84	3147,46	7162,44	4771,18	6231,46	2311,42	2973,96	1507,10
Mittelwert der Versuchsreihe VII a	1646,80	3298,62	9195,20	8933,54	8504,68	2148,24	1062,10	1561,30
Mittelwert aus VI a und VII a	2101,32	3223,04	8178,82	6852,36	7368,07	2229,83	2018,03	1534,20



**Tabelle 29**  $^3\text{H}$ -Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant ( $p < 0,05$ ) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	6h	8h	10h	24h
Vit.A-frei ohne Stimulation						
Mittelwert	1176,85	1608,58	2213,33	1941,00	8478,75	24847,73
Stabw	221,28	622,18	47,21	844,29	2714,19	4499,63
SEM	110,64	311,09	23,60	422,14	1357,09	2249,82
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	1287,45	1998,75	3594,85	3043,90	9177,15	9767,10
Stabw	233,64	320,15	581,56	1395,99	1958,58	1252,26
SEM	116,82	160,08	290,78	697,99	979,29	626,13
			♦			♦
Vit.A-frei ohne Stimulation						
Mittelwert	857,28	1119,30	1024,28	1484,98	4593,20	11201,98
Stabw	74,02	183,09	301,03	337,43	686,38	2643,65
SEM	37,01	91,55	150,51	168,72	343,19	1321,83
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	1073,00	898,33	1855,13	2089,28	4793,88	3991,48
Stabw	261,27	129,26	322,70	419,81	853,20	1159,40
SEM	130,64	64,63	161,35	209,91	426,60	579,70

Vit.A-haltig ohne Stimulation						
Mittelwert	4731,50	7664,90	6122,25	4347,63	14651,25	21940,45
Stabw	5835,71	4090,47	983,83	4208,78	2715,82	2135,65
SEM	2917,86	2045,24	491,91	2104,39	1357,91	1067,83
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	999,78	1104,58	969,15	1666,23	850,85	363,10
Stabw	305,82	309,42	266,81	366,76	120,31	80,83
SEM	152,91	154,62	133,40	183,39	60,16	40,41
					◆	
Vit.A-haltig ohne Stimulation						
Mittelwert	4214,68	8547,50	12283,78	8276,60	14102,93	7775,65
Stabw	1151,08	1171,34	1241,74	2683,51	172,95	1030,25
SEM	275,43	3384,84	2900,22	1602,18	725,68	2052,13
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	13164,85	12941,38	6708,63	8569,85	17204,45	25106,30
Stabw	8024,58	9731,57	1643,73	2115,55	5868,54	2089,07
SEM	4012,29	4865,79	821,86	1057,77	2934,27	1044,53
					◆	

**Tabelle 30** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	18h	24h
Vit.A-frei mit Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	173,48	830,35	442,85	872,75
Stabw	145,09	401,61	298,30	433,72
SEM	72,54	200,81	149,15	216,86
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	479,65	1062,65	396,48	780,98
Stabw	307,33	323,09	278,32	490,51
SEM	153,67	161,55	139,16	245,26
Vit.A-frei ohne Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	499,03	1295,20	516,03	505,35
Stabw	173,43	1246,23	284,85	199,29
SEM	86,72	623,12	142,43	99,65
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	290,30	539,00	501,20	305,43
Stabw	217,15	156,32	441,34	229,24
SEM	108,58	78,16	220,67	114,62

Vit.A-haltig mit Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	712,60	2787,20	353,68	790,70
Stabw	525,51	532,41	184,78	139,59
SEM	262,75	266,21	92,39	69,79
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	937,45	1412,80	435,15	836,83
Stabw	140,20	720,73	249,14	532,41
SEM	70,10	360,36	124,57	266,21
Vit.A-haltig ohne Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	1182,88	1532,58	802,60	715,08
Stabw	363,83	338,07	412,35	432,98
SEM	181,92	169,03	206,17	216,49
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	1115,85	1150,58	874,63	474,98
Stabw	538,56	353,54	485,88	364,06
SEM	269,28	176,77	242,94	182,03

**Tabelle 31** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	8h	12h	24h
Vit.A-frei mit Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	522,40	1692,23	444,00	503,38	911,93
Stabw	227,56	444,00	222,71	125,46	142,24
SEM	113,78	222,00	111,36	62,73	71,12
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	623,70	1738,08	327,23	577,60	1246,93
Stabw	203,65	180,37	249,52	127,13	532,61
SEM	101,82	90,19	124,76	63,57	266,30
Vit.A-frei ohne Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	489,28	558,23	516,23	432,48	1037,93
Stabw	340,60	227,85	123,70	198,69	466,42
SEM	170,30	113,93	61,85	99,34	233,21
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	613,43	428,43	408,08	318,73	1229,28
Stabw	278,91	414,90	109,07	142,80	412,32
SEM	139,46	207,45	54,54	71,40	206,16

Vit.A-haltig mit Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	1019,80	50,88	3061,53	911,93	1077,18
Stabw	293,36	125,46	618,82	142,24	166,15
SEM	146,68	62,73	309,41	71,12	83,05
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1018,98	577,60	3246,50	1246,93	1327,65
Stabw	257,43	127,13	918,57	532,61	331,68
SEM	128,71	63,57	459,28	266,30	165,84
Vit.A-haltig ohne Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	1390,23	765,10	636,23	446,35	1677,30
Stabw	329,36	274,79	112,47	109,48	87,77
SEM	164,68	137,39	56,23	54,74	43,69
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1644,68	705,43	662,80	549,88	2035,88
Stabw	504,13	230,41	145,97	212,04	420,10
SEM	252,06	115,20	72,98	106,02	210,05

**Tabelle 32** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VIII, IX und X. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	24h
NCTC-Medium –Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	1176,85	1608,58	24847,73
Mittelwert der Versuchsreihe IX	173,48	830,35	872,75
Mittelwert der Versuchsreihe X	522,40	1692,23	911,93
Mittelwert aus VIII, IX und X	624,24	1377,05	8877,47
TSH 0,26mU,-Vit.A,+Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	1287,45	1998,75	9767,10
Mittelwert der Versuchsreihe IX	479,65	1062,70	780,98
Mittelwert der Versuchsreihe X	623,70	1738,08	1246,93
Mittelwert aus VIII, IX und X	796,93	1599,84	3931,67
NCTC-Medium -Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	857,28	1119,30	11201,98
Mittelwert der Versuchsreihe IX	499,03	1295,20	505,35
Mittelwert der Versuchsreihe X	489,28	516,23	446,35
Mittelwert aus VIII, IX und X	621,20	976,91	4051,23
TSH 0,26mU,-Vit.A,-Cipro			

Mittelwert der Versuchsreihe VIII	1073,00	898,33	3991,48
Mittelwert der Versuchsreihe IX	290,30	539,00	305,43
Mittelwert der Versuchsreihe X	613,43	408,08	549,88
Mittelwert aus VIII, IX und X	658,91	615,14	1615,60



**Tabelle 32a** <sup>3</sup>H-Thymidinaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VIII, IX und X. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	24h
NCTC-Medium +Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	4731,50	7664,90	21940,45
Mittelwert der Versuchsreihe IX	712,58	2787,20	790,70
Mittelwert der Versuchsreihe X	1019,80	503,38	1077,18
Mittelwert aus VIII, IX und X	2154,63	3651,83	7936,11
TSH 0,26mU,+Vit.A,+Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	12587,98	7558,23	30765,58
Mittelwert der Versuchsreihe IX	937,45	1412,80	836,83
Mittelwert der Versuchsreihe X	1018,98	577,60	1327,65
Mittelwert aus VIII, IX und X	4848,14	3182,88	10976,69
NCTC-Medium +Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	4214,68	8547,50	7775,65
Mittelwert der Versuchsreihe IX	1182,88	1532,58	715,08
Mittelwert der Versuchsreihe X	1581,75	2257,85	3152,95
Mittelwert aus VIII, IX und X	2326,44	4112,64	3881,23
TSH 0,26mU,+Vit.A,-Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	13164,85	12941,38	25106,30

Mittelwert der Versuchsreihe IX	1115,85	1150,58	474,98
Mittelwert der Versuchsreihe X	1670,90	2550,93	3563,90
Mittelwert aus VIII, IX und X	5317,20	5547,63	9715,06

**Tabelle 33** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	6h	8h	10h	24h
Vit.A-frei ohne Stimulation						
Mittelwert	2364,08	2642,90	4212,78	5662,98	2988,08	703,40
Stabw	368,12	339,76	1839,15	464,33	1972,57	485,28
SEM	184,06	169,88	919,57	232,16	986,29	242,64
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	2387,08	2731,80	3459,15	6965,68	3308,15	555,20
Stabw	260,37	584,23	535,76	1824,92	2309,57	557,82
SEM	130,18	292,11	267,88	912,46	1154,79	278,91
Vit.A-frei ohne Stimulation						
Mittelwert	3318,75	3368,43	6331,38	6510,50	3391,285	1601,23
Stabw	1998,14	727,54	2963,94	602,68	2193,43	939,78
SEM	999,07	363,77	1481,97	301,34	1096,72	469,89
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	4899,53	4262,58	6156,48	5690,65	3022,03	2116,55
Stabw	728,03	518,36	1125,98	786,38	1921,68	1429,48
SEM	364,02	259,18	562,99	393,19	960,84	714,74

Vit.A-haltig ohne Stimulation						
Mittelwert	1432,98	1384,10	812,88	1046,15	837,15	550,15
Stabw	1178,09	616,34	58,29	742,73	64,08	353,16
SEM	589,05	308,17	29,15	371,37	32,04	176,58
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	999,78	1104,58	969,15	1666,23	850,85	363,10
Stabw	305,82	309,24	266,81	366,78	120,31	80,83
SEM	152,91	154,62	133,40	183,39	60,16	40,41
Vit.A-haltig ohne Stimulation						
Mittelwert	4507,78	3274,08	3766,35	3116,90	2582,08	402,63
Stabw	887,21	977,15	902,31	1719,96	182,31	290,42
SEM	443,61	488,57	451,16	859,98	91,15	145,21
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	7638,58	3085,90	3550,78	2225,00	2910,08	1228,88
Stabw	7940,89	460,13	1475,13	1164,42	536,03	613,12
SEM	3970,45	230,07	737,56	582,21	268,01	306,56

**Tabelle 34** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	18h	24h
Vit.A-frei ohne Stimulation				
Mittelwert	1958,68	4297,40	2647,93	4892,48
Stabw	549,92	317,46	225,70	463,44
SEM	274,96	158,73	112,85	231,72
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2221,53	4314,90	2397,63	4809,93
Stabw	299,86	505,64	93,02	134,49
SEM	124,77	103,00	90,29	83,90
Vit.A-frei ohne Stimulation				
Mittelwert	2891,48	4035,40	3079,68	4860,58
Stabw	110,73	813,65	303,03	632,72
SEM	55,37	406,82	151,51	316,36
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2768,18	4417,50	3088,55	4798,70
Stabw	249,55	206,00	180,58	167,81
SEM	124,77	103,00	90,29	83,90

Vit.A-haltig ohne Stimulation				
Mittelwert	2704,13	5188,48	2498,35	4652,05
Stabw	801,31	459,48	223,09	385,62
SEM	400,65	229,74	111,54	192,81
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2504,2	4377,4	2536,2	4671,4
Stabw	85,21	498,79	178,99	434,64
SEM	42,61	249,39	89,49	217,32
Vit.A-haltig ohne Stimulation				
Mittelwert	3171,93	5655,18	3259,28	4994,78
Stabw	297,17	895,32	272,55	294,72
SEM	148,58	447,66	136,27	147,36
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	3205,7	4960,7	3385,5	4688,9
Stabw	148,64	453,05	210,39	553,71
SEM	74,32	226,53	105,20	276,85

**Tabelle 35** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	8h	12h	24h
Vit.A-frei ohne Stimulation					
Mittelwert	1410,53	2716,58	3161,53	1782,35	2676,45
Stabw	296,21	165,41	98,01	185,76	381,28
SEM	111,96	62,52	37,04	70,21	144,11
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1480,70	2271,85	2969,90	1800,08	2549,25
Stabw	326,21	183,83	112,51	130,80	481,96
SEM	163,11	91,91	56,26	65,40	240,98
Vit.A-frei ohne Stimulation					
Mittelwert	1612,73	2747,95	1329,10	2278,88	2495,55
Stabw	1075,43	201,47	115,36	319,48	381,37
SEM	537,72	100,73	57,68	159,74	190,68
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1865,60	1801,83	1376,08	2229,50	2611,90
Stabw	151,40	1239,62	88,50	420,16	302,09
SEM	75,70	619,81	44,25	210,08	151,05

Vit.A-haltig ohne Stimulation					
Mittelwert	1476,10	3415,85	3447,60	2074,45	2943,03
Stabw	185,70	2149,81	402,00	119,42	563,53
SEM	92,85	1074,90	201,00	59,71	281,77
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1553,53	2410,73	3717,95	2346,70	3450,10
Stabw	80,01	308,70	422,99	515,56	325,15
SEM	40,00	154,35	211,50	257,78	162,57
Vit.A-haltig ohne Stimulation					
Mittelwert	2312,98	2745,80	1482,93	2479,90	2849,75
Stabw	404,74	366,77	165,68	238,14	238,42
SEM	202,37	183,38	82,84	119,07	119,21
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	2190,58	2923,68	1512,73	2615,93	3291,50
Stabw	271,52	364,97	115,96	419,22	520,73
SEM	135,76	182,48	57,98	209,61	260,36



**Tabelle 36** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, der Versuchsreihen VIII, IX und X. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	24h
NCTC-Medium –Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	2364,08	2642,90	703,40
Mittelwert der Versuchsreihe IX	1958,68	4297,40	4892,48
Mittelwert der Versuchsreihe X	1410,53	2716,58	2676,45
Mittelwert aus VIII, IX und X	1911,10	3218,96	2757,44
TSH 0,26mU,-Vit.A,+Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	2387,08	2731,80	555,20
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2221,53	4314,90	4809,93
Mittelwert der Versuchsreihe X	1480,70	2271,85	2549,25
Mittelwert aus VIII, IX und X	2029,77	3106,18	2638,13
NCTC-Medium -Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	3318,75	3368,43	1601,23
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2891,48	4035,40	4860,58
Mittelwert der Versuchsreihe X	1612,73	2747,95	2495,55
Mittelwert aus VIII, IX und X	2607,65	3383,93	2985,79
TSH 0,26mU,-Vit.A,-Cipro			

Mittelwert der Versuchsreihe VIII	4899,53	4262,58	2116,55
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2768,18	4417,50	4798,70
Mittelwert der Versuchsreihe X	1865,60	1801,83	2611,90
Mittelwert aus VIII, IX und X	3177,77	3493,97	3175,72

**Tabelle 36a**  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in dpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, der Versuchsreihen VIII, IX und X. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	24h
NCTC-Medium +Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	1432,98	1384,10	550,15
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2704,13	5188,48	4652,05
Mittelwert der Versuchsreihe X	1476,10	3415,85	2943,03
Mittelwert aus VIII, IX und X	1871,07	3329,48	2715,08
TSH 0,26mU,+Vit.A,+Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	999,78	1104,58	363,10
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2504,23	4377,38	4671,38
Mittelwert der Versuchsreihe X	1553,53	2410,73	3450,15
Mittelwert aus VIII, IX und X	1685,85	2630,90	2828,21

NCTC-Medium +Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	4507,78	3274,08	402,63
Mittelwert der Versuchsreihe IX	3171,93	5655,18	4994,78
Mittelwert der Versuchsreihe X	1581,75	2257,85	3152,95
Mittelwert aus VIII, IX und X	3087,15	3729,04	2850,12
TSH 0,26mU, -+Vit.A, -Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	7638,58	3085,90	1228,88
Mittelwert der Versuchsreihe IX	3205,73	4960,73	4688,90
Mittelwert der Versuchsreihe X	1670,90	2550,93	3563,90
Mittelwert aus VIII, IX und X	4171,74	3532,52	3160,56

**Tabelle 37** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	6h	8h	10h	24h
Vit.A-frei mit Ciprobay ohne Stimulation						
Mittelwert	2273,55	2837,95	4752,28	7262,20	2558,50	1247,95
Stabw	360,73	448,33	1842,32	2004,68	792,74	822,76
SEM	180,36	224,17	921,16	1002,34	396,37	411,38
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	1639,50	2935,30	3748,88	6905,90	2036,18	1030,45
Stabw	820,60	596,41	516,63	1106,80	744,80	665,52
SEM	410,30	298,20	258,32	553,40	372,40	332,76
Vit.A-frei ohne Ciprobay ohne Stimulation						
Mittelwert	3616,98	4326,28	7374,28	7509,00	3447,58	2483,73
Stabw	2181,38	425,08	3052,55	556,06	2280,42	1524,50
SEM	1090,69	212,54	1526,28	278,03	1140,21	762,25
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	5312,85	4778,03	7135,98	6124,60	3809,88	2117,13
Stabw	797,89	848,68	1390,86	719,20	2660,49	1360,97
SEM	398,95	424,34	695,43	359,60	1330,25	680,48

Vit.A-haltig mit Ciprobay ohne Stimulation						◆
Mittelwert	11494,60	1904,05	1206,20	1641,48	3801,83	872,00
Stabw	20676,44	773,22	83,82	1138,54	2466,46	115,66
SEM	10338,22	386,61	41,91	569,27	1233,23	57,83
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	1437,95	1681,85	1411,40	2532,88	3531,48	850,15
Stabw	360,24	320,05	269,86	759,39	2170,10	568,46
SEM	180,12	160,03	134,93	379,70	1085,05	284,23
Vit.A-haltig ohne Ciprobay ohne Stimulation						◆
Mittelwert	5936,85	4693,675	5901,85	5402,15	1290,00	2590,85
Stabw	1151,08	1171,34	1241,74	2683,51	172,95	1030,25
SEM	575,54	585,67	620,87	1341,75	86,47	515,13
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU						
Mittelwert	10593,58	4682,98	5052,95	3245,60	1218,98	1811,68
Stabw	11123,09	728,04	2013,47	1674,82	192,71	751,68
SEM	5561,54	364,02	1006,74	837,41	96,35	375,84

**Tabelle 38**  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant ( $p < 0,05$ ) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	18h	24h
Vit.A-frei mit Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	2656,08	2987,85	4855,48	4899,98
Stabw	318,13	192,18	210,74	298,51
SEM	159,06	96,09	105,37	149,26
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2240,48	3114,30	4659,78	4825,50
Stabw	288,27	24,09	527,33	218,56
SEM	144,14	12,05	263,66	109,28
Vit.A-frei ohne Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	2220,53	3554,88	4900,03	4941,80
Stabw	146,81	122,78	242,48	604,68
SEM	73,41	61,39	121,24	302,34
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2422,08	3444,95	5256,53	5057,85
Stabw	151,06	232,20	136,68	323,05
SEM	75,53	116,10	68,34	161,53

Vit.A-haltig mit Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	2709,28	3650,85	4917,73	5136,60
Stabw	226,55	533,38	458,06	242,55
SEM	113,27	266,69	229,03	121,27
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2587,13	3379,70	4616,88	5375,13
Stabw	85,57	170,16	424,32	448,46
SEM	42,79	85,08	212,16	224,23
Vit.A-haltig ohne Ciprobay ohne Stimulation				
Mittelwert	2694,63	3830,95	4515,93	4774,95
Stabw	303,73	211,83	35,03	354,01
SEM	151,87	105,91	17,52	177,01
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU				
Mittelwert	2667,55	3812,58	4792,80	5092,90
Stabw	211,84	114,88	466,97	832,80
SEM	105,92	57,44	233,49	416,40

**Tabelle 39** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, Standardabweichung und SEM bei n=4. Die mit ♦ gekennzeichneten Ergebnisse sind signifikant (p < 0,05) verschieden zur Kontrolle (Thyreozyten ohne Stimulation).

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	8h	12h	24h
Vit.A-frei mit Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	1579,10	2441,35	2637,05	2961,98	2835,75
Stabw	319,13	78,16	337,12	337,37	436,75
SEM	159,57	39,08	168,56	168,68	218,38
Vit.A-frei mit Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1685,63	2077,25	2486,15	2848,53	2942,93
Stabw	341,63	239,53	373,80	571,01	289,04
SEM	170,81	119,76	186,90	285,51	144,52
		♦			
Vit.A-frei ohne Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	1554,38	2049,28	4042,45	2997,13	3762,55
Stabw	89,77	168,17	2916,59	313,51	506,49
SEM	44,88	84,08	1458,30	156,75	253,25
Vit.A-frei ohne Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1533,98	2101,30	2577,98	3198,85	4076,35
Stabw	76,43	188,57	325,49	347,96	385,27
SEM	38,22	94,29	162,75	173,98	192,63



Vit.A-haltig mit Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	1705,30	2468,43	2704,78	3357,13	3757,03
Stabw	215,39	392,49	230,50	554,18	451,35
SEM	107,69	196,25	115,25	277,09	225,67
Vit.A-haltig mit Ciprobay TSH 0,26mU	1700,08	2465,03	2814,20	3690,60	4043,75
Mittelwert	84,46	247,44	488,52	343,71	358,08
Stabw	42,23	123,72	244,26	171,86	179,04
SEM					
Vit.A-haltig ohne Ciprobay ohne Stimulation					
Mittelwert	1581,75	2257,85	2945,90	3531,73	3152,95
Stabw	139,42	123,83	257,76	108,56	182,66
SEM	69,71	61,92	128,88	54,28	91,33
Vit.A-haltig ohne Ciprobay TSH 0,26mU					
Mittelwert	1670,90	2550,93	2475,55	3351,78	3563,90
Stabw	189,15	508,65	544,72	162,44	387,14
SEM	94,57	254,32	272,36	81,22	193,57

**Tabelle 40** <sup>125</sup>I-Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte, der Versuchsreihen VIII, IX und X. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	24h
NCTC-Medium -Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	2273,55	2837,95	1247,95
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2656,08	2987,85	4899,98
Mittelwert der Versuchsreihe X	1579,10	2441,35	2835,75
Mittelwert aus VIII, IX und X	2169,58	2755,72	2994,56
TSH 0,26mU,-Vit.A,+Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	1639,50	2935,30	1030,45
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2240,48	3114,30	4825,50
Mittelwert der Versuchsreihe X	1685,63	2077,25	2942,925
Mittelwert aus VIII, IX und X	1855,20	2708,95	2932,96
NCTC-Medium -Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	3616,98	4326,28	2483,73
Mittelwert der Versuchsreihe IX	499,03	1295,20	505,35
Mittelwert der Versuchsreihe X	1554,38	2049,28	3762,55
Mittelwert aus VIII, IX und X	1890,13	2556,92	2250,54
TSH 0,26mU,-Vit.A,-Cipro			

Mittelwert der Versuchsreihe VIII	5312,85	4778,03	2117,13
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2422,08	3443,95	5057,85
Mittelwert der Versuchsreihe X	1533,98	2101,30	4076,60
Mittelwert aus VIII, IX und X	3089,63	3441,09	3750,53

**Tabelle 40a**  $^{125}\text{I}$ -Iodidaufnahme in Schweinethyreozyten, gemessen in cpm. Aufgeführt werden die Mittelwerte der Versuchsreihen VIII, IX und X. Aus den Mittelwerten errechnet sich wiederum der Mittelwert in Abhängigkeit von den übereinstimmenden Inkubationszeiten.

Zeit/ Stimulanzen	2h	4h	24h
NCTC-Medium +Vit.A			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	11494,60	1904,05	872,00
Mittelwert der Versuchsreihe IX	712,58	2787,20	790,70
Mittelwert der Versuchsreihe X	1705,3	2468,42	3757,02
Mittelwert aus VIII, IX und X	4637,49	2386,56	1806,57
TSH 0,26mU,+Vit.A,+Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	1437,95	1681,85	850,15
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2587,13	3379,70	5375,12
Mittelwert der Versuchsreihe X	1700,07	2465,02	4043,75
Mittelwert aus VIII, IX und X	1908,38	2508,86	3423,01
NCTC-Medium +Vit.A			

Mittelwert der Versuchsreihe VIII	5936,85	4693,68	2590,85
Mittelwert der Versuchsreihe IX	1182,88	1532,58	715,08
Mittelwert der Versuchsreihe X	1581,75	2257,85	3152,95
Mittelwert aus VIII, IX und X	2900,49	2828,03	2152,96
TSH 0,26mU,-+Vit.A,-Cipro			
Mittelwert der Versuchsreihe VIII	10593,58	4682,98	1811,68
Mittelwert der Versuchsreihe IX	2667,55	3812,58	5092,90
Mittelwert der Versuchsreihe X	1670,90	2550,93	3563,90
Mittelwert aus VIII, IX und X	4977,34	3682,16	3489,49

## **Danksagung**

Ich möchte mich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. R. Wahl, für die Überlassung des Themas, die Einführung in sein Forschungsprojekt sowie der Vermittlung seiner wissenschaftlichen Denkweise.

Herr Professor Wahl stand mir stets mit gutem Rat, kritischer Anregung und reger Diskussion zur Seite.

Mein besonderer Dank gilt Frau Inge Fink, die mir im Isotopenlabor eine unschätzbare Hilfe war.

Für die statistische Beratung möchte ich mich bei Herrn Dr. Eichner vom biometrischen Institut bedanken.

## **Lebenslauf**

Name: Ute Sabine Maier, geb. Heringer  
Geb. am: 14. Februar 1968  
Geburtsort: Geislingen / Steige  
Ehemann: Jörg Maier  
Kinder: Tim Luca Maier

Eltern: Ingrid Heringer  
Willi Heringer  
Geschwister: Silke Plaßmann, geb. Heringer

## **Schulbildung:**

1974 – 1978 Grundschule in Remseck / Neckar  
1978 – 1979 Hauptschule in Remseck / Neckar  
1979 – 1985 Realschule in Remseck / Neckar  
Abschluss: Mittlere Reife  
1992 – 1995 Abitur am Kolping Kolleg in Stuttgart,  
Abschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife

## **Berufsausbildung**

1985 – 1986 Ausbildung zur Verwaltungsangestellten  
1987 – 1990 Ausbildung zur Zahnärzthelferin bei  
Dr. Spangenberg / Kornwestheim  
27.06.1990 Erhalt des Helferinnenbriefes

## **Berufstätigkeit**

1990 – 1991 Fachangestellte für ärztliche und zahnärztliche  
Abrechnung beim Landesamt für Besoldung  
und Versorgung in Stuttgart  
1991 Zahnärzthelferin bei ZA Marholt in  
Ludwigsburg

1992	Krankenhausaufenthalt und Rehabilitation
1995 – 1996	Zeitarbeit bei Dr. Stern in Ludwigsburg als Fachangestellte für zahnärztliche Abrechnung
2003 – 2004	Dr. Holzapfl, Poing, als Zahnärztin tätig
2004	Dr. Lange, München, als Zahnärztin tätig,
2004 – 2007	Elternzeit
2007	Zahnarztpraxis Bach, Baldham, tätig als Zahnärztin

### **Studium**

1996 – 2003	Studium der Zahnmedizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen.
21.03.1997	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
13.10.1999	Zahnärztliche Vorprüfung
24.06.2003	Zahnärztliche Prüfung
30.06.2003	Approbation als Zahnärztin