

**Aus der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Unfallchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. H.-D. Röher**

**Analyse des C–509T- Polymorphismus im
TGF- β_1 -Genpromotor und des G–174C-
Polymorphismus im Interleukin-6-Genpromotor
bei Erkrankungen der
menschlichen Schilddrüse**

**Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf**

vorgelegt von

Jan Alexander Mewes

2001

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dieter Häussinger

Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. Röher

Korreferent: Prof. Dr. Bornstein

Meinen Eltern
In Dankbarkeit

Ich danke Herrn Universitätsprofessor Dr. med. H.-D. Röher für die freundliche Überlassung des Themas.

Herrn Dr. med. K.-M. Schulte danke ich für die Zeit, die er sich nahm, um mir die Prinzipien wissenschaftlichen Arbeitens näher zu bringen, und für seine wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

Frau Dr. med. C. Schulte danke ich für die Bereitstellung und Voruntersuchung der Kontrollkollektive.

Frau K. Alemazkour und Frau B. Bosilj danke ich für die immer freundliche und hilfsbereite Unterstützung im Labor.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	7
2.1 Blutproben	7
2.1.1 Herkunft der Blutproben	7
2.1.2 Vorbereitung der Blutproben zur DNA-Isolation	8
2.2 DNA-Isolation aus Blut	9
2.3 PCR	10
2.3.1 Oligonukleotidprimer	10
2.3.2 PCR-Ansätze	11
2.3.3 Amplifikationsbedingungen	12
2.4 Restriktionsverdau der PCR-Produkte	13
2.4.1 Restriktionsschritt: Verdau durch Bsu 36 I	13
2.4.2 Restriktionsschritt: Verdau durch Hsp 92 II	14
2.5 Gelelektrophoretische Auftrennung der Produkte des Restriktionsverdaus	14
2.5.1 Elektrophoresegerät	14
2.5.2 Herstellung der Agarosegele	15
2.5.3 Verdünnung des Laufpuffers	15
2.5.4 Vorbereitung der Restriktionsprodukte zu gelelektrophoretischen Auftrennung und Probenauftrag auf das Gel	16
2.5.5 Laufbedingungen	16
2.5.6 Standart	16
2.6 Fotodokumentation	16
2.7 Statistische Auswertung	17
3. Ergebnisse	18
3.1 Ergebnisse TGF-β1	18
3.1.1 Allelfrequenzen und Genotypenverteilungen des C-509T-TGF- β 1- Polymorphismus bei Erkrankungen der menschlichen Schilddrüse	18

3.1.2	Verteilung der TNM-Stadien in den Schilddrüsenkarzinomgruppen	32
3.1.3	Verteilung von Geschlecht und Alter in den Patientengruppen	32
3.1.4	Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht der Genotypenverteilung der TGF- β 1- Kontrollgruppe	33
3.2	Ergebnisse IL-6	34
3.2.1	Allelfrequenzen und Genotypenverteilungen des G-174C-IL-6-Polymorphismus bei Erkrankungen der menschlichen Schilddrüse	34
3.2.2	Verteilung der TNM-Stadien in den Schilddrüsenkarzinomgruppen	54
3.2.3	Verteilung von Geschlecht und Alter in den Patientengruppen	54
3.2.4	Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht der Genotypenverteilung der IL-6-Kontrollgruppe	55
4.	Diskussion	57
4.1	TGF- β 1	57
4.2	IL-6	60
5.	Zusammenfassung	65
6.	Glossar	66
7.	Literatur	69
8.	Lebenslauf	74

1. Einleitung

Proliferative Störungen der Schilddrüse sind sowohl in Regionen mit ausreichender Jodversorgung als auch in Gebieten mit Jodunterversorgung sehr häufig. Bis zum Alter von 65 Jahren hat etwa die Hälfte der Bevölkerung der USA einen durch Ultraschall diagnostizierbaren Knoten entwickelt (Mazzaferri 1993). Die Prävalenz von Strumen in jodunterversorgten Gebieten kann, je nach Beurteilungsmethode (Langer 1999), sogar 80% erreichen (Smyth, Darke et al. 1999). Die treibenden Kräfte der Strumaentwicklung sind noch nicht vollständig bekannt. Obwohl der Jodmangel ein Hauptfaktor für die Strumabildung ist, könnten genetische Faktoren ebenfalls wichtig sein. In diesem Zusammenhang werden zur Zeit die Rollen von Mutationen eines kürzlich klonierten Natrium-Jodid-Symporters sowie von Veränderungen auf den Chromosomen 2 und 14 diskutiert (Schulte and Röher 2000). Durch eine Kohortenstudie, die 5479 Zwillingspaare des gleichen Geschlechts umfaßte, konnte belegt werden, daß die Erblichkeit der Anfälligkeit für die Entwicklung einer einfachen Struma bei Frauen 82% beträgt, während Umweltfaktoren die verbleibenden 18% erklären (Brix, Kyvik et al. 1999).

In modernen Staaten sind Schilddrüsenkarzinome für weniger als 1% der auf Krebs zurückzuführenden Todesfälle verantwortlich. Dennoch sind sie sehr häufige Erkrankungen. Bei systematischen Autopsiestudien wurde das papilläre Mikrokarzinom der Schilddrüse mit einer Häufigkeit von 3% bis 36% gefunden (Nasir, Chaudhry et al. 2000). Obgleich Patienten mit papillärem Mikrokarzinom in der langfristigen Nachsorge eine exzellente Prognose haben, wenn sie direkt durch beidseitige Lappenresektion behandelt werden (Hay, Grant et al. 1992), gibt es bisher noch keine Möglichkeit zu erkennen, welcher Knoten sich zu einem manifesten Karzinom entwickeln wird. Bisher wurden verschiedene Genveränderungen in menschlichen Schilddrüsentumoren nachgewiesen. Bei der Entwicklung von papillären Schilddrüsenkarzinomen scheint die mutationelle Aktivierung von Tyrosin-Kinasen als Folge einer Verbindung des ret-Onkogens mit den Genen H4, R1 α oder ele-1 durch Inversion bzw. Translokation eine wichtige Rolle zu spielen, während sich bei follikulären Neoplasien ras-Mutationen finden (Schulte and Röher 2000) (Goretzki, Simon et al. 2000) (Goretzki and Schulte 1998).

Die hohe Frequenz von papillären Mikrokarzinomen bei niedriger Frequenz von manifesten PTC legt die Vermutung nahe, daß diese Tumoren einer Form der Tumorkontrolle unterliegen könnten. Es stellt sich die Frage, ob es sich hierbei eher um eine Form der Immunkontrolle, oder um die Steuerung durch einen parakrinen Wachstumsfaktor handelt.

Transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1) ist ein ubiquitär exprimierter parakriner Wachstumsfaktor, der Teil einer Familie von Polypeptiden ist, zu der auch BMP (bone

morphogenic protein) und Aktivin gehören (Massagué 1998). An der Signalübertragung sind Rezeptoren mit Serin/Threonin-Kinasen und ihre Substrate, die SMAD-Proteine beteiligt, die sich zum Zellkern bewegen, wo sie zusammen mit DNA-bindenden Partnern die Transkription der Zielgene aktivieren. TGF- β bindet an den membranständigen TGF- β -Rezeptor Typ II (RII), was wiederum zu dessen Bindung an Rezeptor Typ I (RI) und zu dessen Phosphorylierung führt. Die Phosphorylierung aktiviert die RI-Proteinkinasen, die dann ihrerseits die Transkriptionsfaktoren SMAD 2 oder SMAD 3 phosphorylieren, welche daraufhin an SMAD 4 binden. Der entstehende Komplex reguliert im Zellkern zusammen mit anderen Transkriptionsfaktoren die Genexpression (Massagué 1998) (Blobe, Schieman et al. 2000). Kürzlich wurde ein Regulationsmechanismus der TGF- β -Expression entdeckt, bei dem das SnoN-Onkoprotein im Rahmen einer negativen Rückkopplung beteiligt ist (Stroschein, Wang et al. 1999).

Von TGF- β 1 ist bekannt, daß er die Proliferation vieler verschiedener normaler und transformierter tierischer und menschlicher Zellen inhibiert (Sporn and Roberts 1992) (Arrick and Derynck 1992) (Derynck 1994) (Derynck and Feng 1997) (Miller, Pelton et al. 1990), seine Wirkung auf die Entwicklung verschiedener menschlicher Erkrankungen wurde nachgewiesen (Blobe, Schieman et al. 2000). In Schilddrüsenzellen menschlichen Ursprungs ist TGF- β 1 ein sehr starker Proliferationshemmer (Grubeck-Loebenstein, Buchan et al. 1989). Es inhibiert außerdem die Reaktion von Schilddrüsenzellen auf Thyreotropin und zyklisches AMP (Taton, Lamy et al. 1993). Deswegen wurde ein Fehler in einem TGF- β 1-abhängigen Signalweg angeschuldigt, zur Strumabildung beizutragen (Grubeck-Loebenstein, Buchan et al. 1989).

Außerdem gibt es Belege für eine Verwicklung von TGF- β 1 in die Pathogenese von Autoimmunerkrankungen (Letterio and Roberts 1998). TGF- β 1-null-Mäuse haben einen autoimmunähnlichen Phänotyp mit Bildung von SLE-ähnlichen Autoantikörpern und Sjögren-Syndrom-ähnlichen Lymphozyteninfiltrationen in einer Vielzahl von Organen entwickelt (Dang, Geiser et al. 1995). Dies wirft die Frage auf, ob ein systemischer Mangel an verfügbarem TGF- β 1 auch beim Menschen zu einer Autoimmunerkrankung führen könnte, wie etwa zur Thyreoiditis beim Morbus Basedow.

TGF- β 1 wurde auch mit der Entwicklung von malignen Tumoren in Zusammenhang gebracht. Es verhält sich als Tumorsuppressorgen mit echter haploider Insuffizienz (Tang, Bottinger et al. 1998). In einem Rattenmodell der Schilddrüsentumorprogression konnte belegt werden, daß ein Verlust der Ansprechbarkeit gegenüber TGF- β 1 eng mit der Tumoranfälligkeit verbunden ist (Blaydes and Wynford-Thomas 1996). Außerdem wurde der maligne Phänotyp k-ras-transformierter Rattenthreozyten durch Transfektion des funktionsfähigen TGF- β 1-Rezeptors Typ II teilweise reduziert (Coppa, Mincione et al. 1997).

Desweiteren wurde vor kurzer Zeit über eine verringerte Expression von mRNA und Protein des TGF- β 1-Rezeptors Typ II beim papillären Schilddrüsenkarzinom berichtet (Lazzereschi, Ranieri et al. 1997) (Matoba, Sugano et al. 1998).

Die mRNA- Expression des TGF- β 1- Gens unterliegt der Transkriptionskontrolle durch Regulationselemente in dessen Promotorregion (Kim, Jeang et al. 1989) (Kim, Denhez et al. 1989). Bei gesunden Individuen beeinflusst hauptsächlich die genetische Konstitution den TGF- β 1-Serumspiegel (heritability estimate = 0,54) (Grainger, Heathcote et al. 1999). Durch die molekulare Analyse des TGF- β 1-Genpromotors konnte die Existenz eines C \rightarrow T Polymorphismus auf Position -509 stromaufwärts des Startkodons belegt werden. Dieser Polymorphismus ist signifikant mit der Plasmakonzentration des aktiven sowie bioaktivierbaren latenten (a+I) TGF- β 1 assoziiert, was 8,2% der additiven genetischen Varianz der (a+I) TGF- β 1- Konzentration erklärt (Grainger, Heathcote et al. 1999). Wahrscheinlich ist der Polymorphismus auch an der unterschiedlichen Expression bei der parakrinen Regulation beteiligt, denn Transfektionsstudien haben eine verminderte Transkriptionsfähigkeit des C- Allels gegenüber dem T- Allel gezeigt (Luedeking, DeKosky et al. 2000).

TGF- β 1 ist also ein wichtiges Zytokin für die Wachstumssteuerung des Schilddrüsengewebes. Es bleibt jedoch noch unklar, ob der Verlust der TGF- β 1-Kontrolle in klinischen Zusammenhängen hauptsächlich auf eine Endorganresistenz, oder eine verminderte Verfügbarkeit des Liganden zurückzuführen ist. Bisher hat es noch keine Möglichkeit gegeben, die langfristigen Auswirkungen von Veränderungen der TGF- β 1-Expression beim Menschen zu beurteilen. Die Entdeckung transkriptionsrelevanter Variationen des oben genannten Promotors des TGF- β 1-Gens eröffnet die Möglichkeit, die Hypothese zu überprüfen, daß Unterschiede in der langfristigen Verfügbarkeit von TGF- β 1 einen Teil der genetisch bestimmten Veranlagung zur Strumaentwicklung erklären könnten. Wir haben daher versucht herauszufinden, ob genetische Variationen der TGF- β 1-Expression unter der Bedingung eines chronischen leichten Jodmangels (WHO Grad I) bei der Entwicklung von Strumen oder Schilddrüsenkarzinomen eine Rolle spielen.

Zu diesem Zweck haben wir die Genotypen des C-509T- Polymorphismus in einer Gruppe von 396 Patienten mit verschiedenen benignen und malignen Schilddrüsenerkrankungen sowie in einer Kontrollgruppe ohne Schilddrüsenerkrankungen (n=88) bestimmt. Die Gruppe der benignen Erkrankungen umfaßte multinoduläre Knotenstrumen (MNG, n=175), follikuläre Schilddrüsenadenome (n=32), Morbus Basedow (n=63), Struma diffusa (n=12) und Struma uninodosa (nicht näher bezeichnet, n=5), die malignen Erkrankungen waren Schilddrüsenkarzinome (n=109) verschiedener histopathologischer Typen.

Bei der endemischen Struma des Menschen wurde eine Anhäufung von Zellen monozytären Ursprungs wie Makrophagen und dendritische Zellen beschrieben (Wilders-Truschnig, Kabel et al. 1989). Ähnliche Befunde wurden in Wistar-Ratten einige Wochen nach der Induzierung eines Jodmangels nachgewiesen (Mooij, de Wit et al. 1993). Antigenpräsentierende dendritische Zellen sind negative Wachstumsregulatoren von Thyreozyten der Wistar-Ratten. Die Zytokine Interleukin-1 und Interleukin-6 sind zwei Hauptfaktoren in diesem Prozeß (Simons, Delemarre et al. 1998). Die Rolle von IL-6 bei der Wachstumsregulation der Follikelepithelzellen der menschlichen Schilddrüse kann noch nicht vollständig eingeschätzt werden. Erhebliche Wirkungen von IL-6 auf die Hormonsekretion und den Stoffwechsel der Schilddrüse wurden bereits belegt (Yamazaki, Yamada et al. 1996) (Torpy, Tsigos et al. 1998). Darüber hinaus ist IL-6 beim Menschen an einer Reihe von biologischen Vorgängen beteiligt, die Immunreaktionen, Entzündungsreaktionen, die Hämatopoese, die Onkogenese und den Intermediärstoffwechsel umfassen (Papanicolaou and Vgontzas 2000) (Hirano, Ishihara et al. 2000). Die intrazelluläre Signalübertragung wird vom gp130/JAK/STAT- System vermittelt. Die Bindung von Zytokinen der IL-6-Familie an ihre Rezeptoren führt zur Homodimerisierung der Rezeptoruntereinheiten gp130 oder zur Heterodimerisierung von gp130 mit anderen, verwandten Rezeptoren, was zur Aktivierung der gp130- assoziierten JAK (Janus-Kinasen)- Tyrosin-Kinasen führt. Das an verschiedenen Thyrosinstellen phosphorylierte gp130 aktiviert Signalübertragungsmoleküle wie SHP2 oder STAT 3 (signal transducer and activator of transcription 3), das Homodimere bildet, oder Heterodimere mit STAT 1 bildet, und im Zellkern die Expression einer Reihe von Genen reguliert (Hirano, Ishihara et al. 2000).

Beim Morbus Basedow, einer Autoimmunerkrankung mit Beziehungen sowohl zur humoralen als auch zur zellulären Immunantwort, konnte eine signifikant erhöhte Serumkonzentration von IL-6 festgestellt werden (Salvi, Girasole et al. 1996) (Siddiqi, Monson et al. 1999). Seit festgestellt wurde, daß die Konkordanzrate für Morbus Basedow bei monozygoten Zwillingen 22% und bei dizygoten Zwillingen 0% betrug (Brix, Christensen et al. 1998), kann ein genetischer Einfluß vermutet werden. Die Untersuchung eines transkriptionsrelevanten Polymorphismus des IL-6 Genpromotors eröffnet die Möglichkeit, eine eventuelle Assoziation des Morbus Basedow mit dem langfristigen Expressionsniveau von IL-6 zu überprüfen.

Wie oben beschrieben, treten papilläre Mikrokarzinome häufig und manifeste PTC selten auf. Es kann eine Form der Kontrolle durch das Immunsystem vermutet werden. Als wesentliches Anzeichen für eine solche Immunkontrolle könnte die histopathologische Beobachtung einer Gruppe von 631 Patienten gewertet werden, daß eine lymphozytische

Infiltration bei Patienten mit papillärem Schilddrüsenkarzinom ein wichtiger prognostischer Faktor ist (Loh, Greenspan et al. 1999). IL-6 ist nicht nur ein „endokrines Zytokin“ (Papanicolaou and Vgontzas 2000), sondern hat auch großen Einfluß auf die systemische und lokale Immunantwort auf Entzündungen und Krebs (Hirano, Ishihara et al. 2000). Deswegen kann die Hypothese abgeleitet werden, daß genetische Variationen, die das Expressionsniveau des IL-6-Gens beeinflussen, Einfluß auf die Progression oder Manifestation von unter Immunkontrolle stehenden Krebsarten nehmen könnten.

Vor kurzer Zeit wurde ein neuer Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (RFLP) in der Promotorregion des IL-6-Gens beschrieben. Es wurde belegt, daß er die Transkriptionsrate des Gens beeinflußt und mit den IL-6-Plasmaspiegeln bei normalen Individuen assoziiert ist (Fishman, Faulds et al. 1998). Dieser Polymorphismus ist mit dem klinischen Erscheinungsbild und dem Verlauf bei verschiedenen menschlichen Erkrankungen korreliert. Bei juveniler chronischer Polyarthrit mit systemischem Erkrankungsbeginn war der günstige CC-Genotyp, der mit verminderter IL-6-Freisetzung verbunden ist, in der Untergruppe mit kompliziertem und frühem Ausbruch der Krankheit unterrepräsentiert (Fishman, Faulds et al. 1998). Die Ergebnisse legen einen genetisch bestimmten Unterschied im Umfang der IL-6-Antwort auf Streßreize nahe. Die IL-6-Plasmaspiegel hängen stark vom Expressionsniveau ab, weil IL-6 nicht ständig gleichbleibend gebildet wird und schnell wieder aus dem Kreislauf verschwindet (Castell, Geiger et al. 1988). Die klinische Relevanz des -174 G/C - Polymorphismus ist mittlerweile in einer Reihe von klinischen Zusammenhängen wie Osteoporose bei entzündlichen Darmerkrankungen (Schulte, Goebell et al., submitted), Insulinempfindlichkeit (Fernandez-Real, Broch et al. 2000), und Fettstoffwechsel (Fernandez-Real, Broch et al. 2000) demonstriert worden.

Wir wollten die Rolle untersuchen, die IL-6 möglicherweise bei der Strumaentwicklung und der Anfälligkeit für differenzierte Schilddrüsenkarzinome spielt. In dieser Studie haben wir die Genotypen des transkriptionsrelevanten -174 G/C- Promotorpolymorphismus in einer Gruppe von 380 Patienten mit verschiedenen benignen und malignen Schilddrüsenerkrankungen sowie in einer Kontrollgruppe ohne Schilddrüsenerkrankungen (n=152) bestimmt. Die Gruppe der benignen Erkrankungen umfaßte multinoduläre Knotenstrumen (MNG, n=164), follikuläre Schilddrüsenadenome (n=28), Morbus Basedow (n=63), Struma diffusa (n=13) und Struma uninodosa (nicht näher bezeichnet, n=6), die malignen Erkrankungen waren Schilddrüsenkarzinome (n=106) verschiedener histopathologischer Typen.

2. Material und Methoden

2.1 Blutproben

2.1.1 Herkunft der Blutproben

Die Blutproben der Patienten mit Schilddrüsenerkrankungen stammten von 453 Personen, die im Zeitraum von 5/1986 bis 9/1999 in der Abteilung für Allgemeine Chirurgie und Unfallchirurgie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf operiert wurden. Die Blutproben der 152 Kontrollpatienten für die IL-6-Studie und der 88 Kontrollpatienten für die TGF- β 1-Studie wurden in der Klinik für Innere Medizin der Universität Essen gewonnen. Sie stammten von Patienten ohne Schilddrüsenerkrankungen, die vor kurzer Zeit eine Knochenmarktransplantation von gesunden Spendern zur Behandlung einer Leukämie erhalten hatten. Hier wurde das Vorliegen einer Schilddrüsenerkrankung durch Anamneseerhebung, klinische Untersuchung durch einen Endokrinologen, einen normalen Thyreotropinspiegel im Serum und Ultrasonographie der Schilddrüse ausgeschlossen. Die Diagnose der Patienten mit multinodulärer Knotenstruma, follikulärem Adenom, Morbus Basedow, Struma diffusa, sowie der verschiedenen Schilddrüsenkarzinome wurde durch histopathologische Untersuchung der resezierten Schilddrüsenproben durch das Institut für Pathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gewonnen. Die Abnahme von venösem Blut und die Operation der Patienten erfolgte nach deren Information und schriftlichem Einverständnis. Patienten mit erblichen Erkrankungen wie multipler endokriner Neoplasie Typ I oder II, oder familiärem medullärem Schilddrüsenkarzinom wurden von der Studie ausgeschlossen. Ebenso wurden Patienten mit unklarer Diagnose ausgeschlossen. Die Blutproben verteilten sich auf folgende Erkrankungsgruppen:

Morbus Basedow (n=66), Struma diffusa (n=16), Struma multinodosa (n=199), follikuläres Adenom (n=38), Struma uninodosa (nicht näher klassifiziert; n=6), FTC (follikuläres Schilddrüsenkarzinom; n=15), PTC (papilläres Schilddrüsenkarzinom; n=59), PFTC (papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom; n=5), FOTC (follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom; n=2), OTC (onkozytäres Schilddrüsenkarzinom; n=5), MTC (medulläres Schilddrüsenkarzinom; n=40), ATC (anaplastisches Schilddrüsenkarzinom; n=2)

2.1.2 Vorbereitung der Blutproben zur DNA – Isolation

2.1.2.1 Vorbereitung der in Serumprobenröhrchen gesammeltem Blutproben

Die Blutproben mit den Blutnummern 753 – 794 wurden in Serumprobenröhrchen gesammelt. Aus dem Serumprobenröhrchen (Vacutainer BD No. 367989 SST sterile 9M 305, Fa. Becton Dickinson Vacutainer Systems, Plymouth, UK) wurde das Blutkoagel entnommen und mit Hilfe von Pinzetten auf einer Petrischale möglichst fein zerkleinert. 600 mg davon wurden in ein 1,5 ml Eppendorfreaktionsgefäß überführt. Aus 2,6 mg (10000 Units) Streptokinase (Fa. Sigma, Steinheim), 150 µl FCS, sowie 10 ml PBS-Puffer, pH 7,4 (Fa. Gibco) wurde eine Streptokinaselösung hergestellt, die 1 unit/ µl enthielt. 30 µl dieser Lösung wurden in das 1,5 ml Eppendorfreaktionsgefäß gegeben und mit dem Blut mit Hilfe eines Vortexgerätes (VF 2, Fa. Janke & Kunkel) gründlich gemischt. Anschließend wurde das Gemisch in einem Thermomixer (Typ 5436, Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz, Hamburg) 24 h lang bei 37°C inkubiert. 200 µl des lysierten Blutes wurden für die DNA-Isolation verwendet.

2.1.2.2 Vorbereitung der EDTA-Blutproben zur DNA –Isolation

Die in EDTA-Probenröhrchen (Vacutainer plus K2 EDTA: 7,2 mg 4 ml, Fa. Becton Dickinson Vacutainer Systems, Plymouth, UK) gesammelten Blutproben wurden nicht besonders vorbereitet, sondern konnten direkt für die DNA-Isolation verwendet werden. Das betrifft alle Blutproben mit Ausnahme der Proben mit den Blutnummern 753 – 794.

2.2 DNA-Isolation aus Blut

Die DNA-Isolation erfolgte mit dem QIAmp DNA Blood Mini Kit (250)‘99 ,Cat.-Nr. 51106 (QIAGEN,Hilden) und erbrachte etwa 3-12 µg DNA aus 200 µl Blut. Die DNA-Qualität und Quantität wurde durch Agarosegelelektrophorese mit Ethidiumbromidfärbung (wie in 2.5.2.2 beschrieben) überprüft und ihre Eignung für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durch Benutzung in verschiedenen Amplifikationssystemen kontrolliert. Schematische Darstellung:

1. Pipettieren von je 200 µl Blutprobe in 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße.
2. Hinzufügen von 20 µl Protease (QIAGEN).
3. Hinzufügen von 200 µl Lyse-Puffer (Buffer AL, QIAGEN), sofortiges Mischen durch Vortexgerät (Typ VF 2, Jahnke & Kunkel GmbH & Co. KG) für 15 Sekunden.
4. Bei 56 °C für 10 Minuten im Thermomixer (Typ 5436, Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg) inkubieren.
5. Hinzufügen von 200 µl Ethanol 100% (Fa. Merck, Darmstadt), Mischen durch Vortexgerät für 15 Sekunden.
6. Überführen der Mischung in eine „QIAmp spin column“, die in eine „2-ml collection tube“ gesteckt wurde.
7. Zentrifugieren bei 6000 x g für 1 Minute (Eppendorf Centrifuge 5403).
8. „QIAmp spin column“ in eine saubere „2-ml collection tube“ stecken, anschließend Verwerfen der „collection tube“ mit dem Filtrat.
9. In die „ QIAmp spin collumn“ 500 µl Waschpuffer 1 (Buffer AW1, QIAGEN) pipettieren.
10. Zentrifugieren bei 6000 x g für 1Minute.
11. „QIAmp spin column“ in eine saubere „2-ml collection tube“ stecken, anschließend Verwerfen der „collection tube“ mit dem Filtrat.
12. Pipettieren von 500 µl Waschpuffer 2 (Buffer AW2, QIAGEN) in die „ QIAmp spin collumn“.
13. Zentrifugieren bei 20000 x g für 3 Minuten.
14. „QIAmp spin column“ in ein sauberes 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß stecken, Verwerfen der „collection tube“ mit dem Filtrat.
15. Pipettieren von 200µl Elutionspuffer (Buffer AE, QIAGEN) in die "QIAmp spin collumn", anschließend 5 Minuten inkubieren lassen.
16. Zentrifugieren bei 6000 x g für 1 Minute.

2.3 PCR

2.3.1 Oligonukleotidprimer

Tabelle 2.3-1

	SEQUENZ	AMPLIMER	GENBANK-NR.	BINDUNGSSTELLE
TGF M13 F	5'-TGT AAA ACG AGG GCC AGT CGG ACA CCC AGT GAT GGG	564 bp	J04431	582-599
TGF M13 R	5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACC CTC CTG GCG GCC AAG CGC			1110-1093
IL-6 F	5'-CTG CTT CTT AGC GCT AGC	151 bp	AF039228	313-330
IL-6 R	5'-CTT TGT TGG AGG GTG AGG			464-447

Legende zu Tabelle 2.3-1:

Angegeben sind die Oligonukleotidprimer mit der Sequenz des Vorwärts- und Rückwärtsstranges (5`-3`), die erwartete Amplimerlänge, Genbankidentifikationsnummer und Bindungsstelle. Die Oligonukleotidprimer wurden von der Firma Pharmacia Biotech synthetisiert und in der Konzentration 5 µmol/ l in die PCR eingesetzt.

2.3.1.1 Transforming Growth Factor beta M13 (TGF M13)

Der TGFβ-1 Promotor ist in der Sequenz mit der Genbankidentifikationsnummer J04431 enthalten. Der Transkriptionsstartsite ist Position 1363 in J04431. Der Vorwärtsprimer TGF M13 F bindet von Position 582 bis Position 599. Der Rückwärtsprimer TGF M13 R bindet von Position 1110 bis Position 1093. Die Länge des erwarteten Produktes beträgt 564 Basenpaare.

2.3.1.2 Interleukin 6 (IL-6)

Der IL-6 Promotor ist in der Sequenz mit der Genbankidentifikationsnummer AF039228 enthalten. Der Transkriptionsstartsite ist Position 551 in AF039228. Der Vorwärtsprimer IL-6 F bindet von Position 313 bis Position 330. Der Rückwärtsprimer IL-6 R bindet von Position 464 bis Position 447. Die Länge des erwarteten Produktes beträgt 151 Basenpaare.

2.3.2 PCR-Ansätze

2.3.2.1 Ansatz für TGF M13

Jeder 15 µl- Ansatz enthielt folgende Reagentien:

Taq-Master- Mix	(QIAGEN, Hilden)	7,5	µl
Vorwärtsprimer TGF M13 F	[10 pmol/ µl]	0,75	µl
Rückwärtsprimer TGF M13 R	[10 pmol/ µl]	0,75	µl
Wasser, PCR-grade	(QIAGEN, Hilden)	3,0	µl
DNA		3,0	µl
<hr/>			
		15,0	µl

2.3.2.2 Ansatz für IL-6

Jeder 8 µl- Ansatz enthielt folgende Reagentien:

Taq-Master- Mix	(QIAGEN, Hilden)	4,0	µl
Vorwärtsprimer IL-6 F	[10 pmol/ µl]	0,5	µl
Rückwärtsprimer IL-6 R	[10 pmol/ µl]	0,5	µl
Wasser, PCR-grade	(QIAGEN, Hilden)	1,5	µl
DNA		1,5	µl
<hr/>			
		8,0	µl

2.3.2.3 Ansatz für IL-6, Blut - Nr. 753 – 794

Jeder 8 µl- Ansatz enthielt folgende Reagentien:

Taq-Master- Mix	(QIAGEN, Hilden)	4,0	µl
Vorwärtsprimer IL-6 F	[10 pmol/ µl]	0,5	µl
Rückwärtsprimer IL-6 R	[10 pmol/ µl]	0,5	µl
DNA		3,0	µl
<hr/>			
		8,0	µl

2.3.3. Amplifikationsbedingungen

2.3.3.1 PCR-Bedingungen für TGF M13

Tabelle 2.3-2:

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklusanzahl
Denaturierung	94°C	5 min.	1
Denaturierung	94°C	30 sek.	36
Annealing	57°C	30 sek.	
Synthese	72°C	90 sek.	
Extension	72°C	10 min.	1

2.3.3.2 PCR-Bedingungen für TGF M13, Blut – Nr. 753 - 794

Tabelle 2.3-3:

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklusanzahl
Denaturierung	94°C	5 min.	1
Denaturierung	94°C	30 sek.	41
Annealing	57°C	30 sek.	
Synthese	72°C	90 sek.	
Extension	72°C	10 min.	1

2.3.3.3 PCR-Bedingungen für IL-6

Tabelle 2.3-4:

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklusanzahl
Denaturierung	94°C	5 min.	1
Denaturierung	94°C	30 sek.	36
Annealing	60°C	30 sek.	
Synthese	72°C	90 sek.	
Extension	72°C	10 min.	1

2.3.3.4 PCR-Bedingungen für IL-6, Blut – Nr. 753 - 794

Tabelle 2.3-5:

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklusanzahl
Denaturierung	94°C	5 min.	1
Denaturierung	94°C	30 sek.	38
Annealing	60°C	30 sek.	
Synthese	72°C	90 sek.	
Extension	72°C	10 min.	1

Legende zu Tabelle 2.3-2 bis 2.3-5

Für die Polymerasekettenreaktion wurde ein Gerät der Fa. Biometra, Göttingen, vom Typ Thermocycler Whatman Biometra T Gradient genutzt. Die Reaktionsmischungen wurden auf 96-well-Mikrotiterplatten (Whatman Biometra, Göttingen) aufgetragen und mit einer Silikonabdeckung (Nr. 050-237, Fa. Whatman Biometra, Göttingen) versiegelt. Die Amplifikationsbedingungen für die beiden Oligonukleotid-primere sind in den Tabellen angegeben.

2.4 Restriktionsverdau der PCR-Produkte

2.4.1 Restriktionsschritt: Verdau durch Bsu 36 I

Das Restriktionsenzym Bsu 36 I schneidet in der Sequenz CC^ATNAGG an Position 854 des Abschnittes mit der Genbankidentifikationsnummer J04431. Es schneidet das 564 bp lange TGF M13-Amplimer in zwei Teile der Längen 274 Basenpaare und 290 Basenpaare. Schematische Darstellung:

1. Zu jeder Amplimerprobe (je 15 µl) wird eine Mischung aus folgenden Bestandteilen gegeben:

NEBuffer 3, 10x,	(New England Biolabs, www.neb.com)	4,5	µl
Bsu 36 I, 10000 U/ml,	(New England Biolabs)	0,2	µl
BSA, 100 µg/ml,	(New England Biolabs)	0,45	µl
nukleasefreies Wasser	(Promega, Madison, WI, USA)	24,85	µl

30,00 µl

2. Auftragen der Reaktionsmischungen auf 96-well-Mikrotiterplatten (Whatman Biometra, Göttingen) und Versiegelung mit einer Silikonabdeckung (Nr. 050-237, Fa. Whatman Biometra, Göttingen)
3. Inkubation in einem Memmert-Brutschrank bei 37°C für 48 Stunden.

2.4.2 Restriktionsschritt: Verdau durch Hsp 92 II

Das Restriktionsenzym Hsp 92 II schneidet in der Sequenz GTAC an Position 377 des Abschnittes mit der Genbankidentifikationsnummer AF039228. Es schneidet das 151 bp lange IL-6-Amplimer in zwei Teile der Längen 87 bp und 65 bp.

Schematische Darstellung:

1. Zu jeder Amplimerprobe (je 8 µl) wird eine Mischung aus folgenden Bestandteilen gegeben:

Buffer K 10x	(Promega, Madison, WI, USA)	2,4	µl	
Hsp 92 II	(Promega, Madison, WI, USA)	0,1	µl	
nukleasefreies Wasser	(Promega, Madison, WI, USA)	13,5	µl	
			<hr/>	
			16,0	µl

2. Auftragen der Reaktionsmischungen auf 96-well-Mikrotiterplatten (Whatman Biometra, Göttingen) und Versiegelung mit einer Silikonabdeckung (Nr. 050-237, Fa. Whatman Biometra, Göttingen)
3. Inkubation in einem Memmert-Brutschrank bei 37°C für 48 Stunden.

2.5 Gelelektrophoretische Auftrennung der Produkte des Restriktionsverdaus

2.5.1 Elektrophoresegerät

Stromquelle:	Power Pack 300 (Fa. Bio-Rad, USA)
Pufferkammer:	Sub-Cell-GT Wide Mini (Fa. Bio-Rad, USA)
Gelwanne:	Sub-Cell-GT Wide Mini (Fa. Bio-Rad, USA)
Kamm :	Sub-Cell-GT Wide Mini, 20 Zähne, (Fa. Bio-Rad, USA)

2.5.2 Herstellung der Agarosegele

2.5.2.1 Herstellung der 2,5 % Agarosegele

Aus 250 ml Tris-Borate-EDTA-Buffer (TBE-Buffer) 5x concentrate (Fa. Sigma, Steinheim), und 250 ml Aqua dest. wurde eine 2,5 x konzentrierte TBE-Pufferlösung hergestellt. 100 ml dieser Lösung wurden in einem Erlenmeyerkolben mit 2,5 g GIBCO BRL ultra PURE Agarose Electrophoresis Grade, 15510-027 (Fa.Life Technologies, Paisley, Scotland) gemischt und in einem Microwellenherd 4 ½ min. bei 800 W erhitzt. Anschließend wurden 2,5 µl Ethidium Bromid (10 mg/ml, Fa. Sigma, Steinheim) hinzugefügt und gründlich untergemischt. Die Mischung wurde in die mit zwei Kämmen bestückte Gelwanne gegossen. Nach 20 Minuten wurde die Gelwanne in die mit Laufpuffer gefüllte Pufferkammer eingesetzt und die Kämmen konnten gezogen werden.

2.5.2.2 Herstellung der 0,8 % Agarosegele

Aus 250 ml Tris-Borate-EDTA-Buffer (TBE-Buffer) 5x concentrate (T-6400, Fa. Sigma, Steinheim), und 250 ml Aqua dest. wurde eine 2,5 x konzentrierte TBE-Pufferlösung hergestellt. 150 ml dieser Lösung wurden in einem Erlenmeyerkolben mit 1,2 g GIBCO BRL ultra PURE Agarose Electrophoresis Grade, 15510-027 (Fa.Life Technologies, Paisley, Scotland) gemischt und in einem Mikrowellenherd 3 min. bei 800 W erhitzt. Anschließend wurden 2,25 µl Ethidium Bromid (E-1510, Fa. Sigma, Steinheim) hinzugefügt und gründlich untergemischt. Die Mischung wurde in die mit zwei Kämmen bestückte Gelwanne gegossen. Nach 20 Minuten wurde die Gelwanne in die mit Laufpuffer gefüllte Pufferkammer eingesetzt und die Kämmen konnten gezogen werden.

2.5.3 Verdünnung des Laufpuffers

Aus 200 ml Tris-Borate-EDTA-Buffer (TBE-Buffer) 5x concentrate (Fa. Sigma, Steinheim), und 800 ml Aqua dest. wurde eine 1 x konzentrierte TBE-Pufferlösung hergestellt. Die Pufferkammer wurde bis 1 cm unter der „max.“-Markierung mit dieser Lösung gefüllt.

2.5.4 Vorbereitung der Restriktionsprodukte zu gelelektrophoretischen Auftrennung und Probenauftrag auf das Gel

2.5.4.1 Vorbereitung der mit Bsu 36 I verdauten TGF M13-PCR-Produkte

Mit 45 µl Probe wurden jeweils 10 µl Gel Loading Solution, G-2526 (Fa. Sigma, Steinheim) gemischt. Die Geltaschen wurden mit 35 µl beladen.

2.5.4.2 Vorbereitung der mit Hsp 92 II verdauten IL-6-PCR-Produkte

Mit 24 µl Probe wurden jeweils 5 µl Gel Loading Solution, G-2526 (Fa. Sigma, Steinheim) gemischt. Es wurden 20 µl aufgetragen.

2.5.5 Laufbedingungen

Die Laufzeit wurde für die mit Bsu 36 I verdauten TGF M13-PCR-Produkte auf 40 Minuten bei 110 V und 0,4 A festgelegt. Bei den mit Hsp 92 II verdauten IL-6-PCR-Produkten betrug sie 50 Minuten bei 110 V und 0,4 A.

2.5.6 Standard

Eine Geltasche jeder Agarosegelplatte wurde mit einem Molekulargewichtsstandart (1Kb-Plus, Fa. Gibco) beladen. 5 µl Standart wurden vor dem Auftragen mit 3 µl Gel Loading Solution, G-2526 (Fa. Sigma, Steinheim) gemischt.

2.6 Fotodokumentation

Die fotografische Darstellung der Banden auf dem Agarosegel erfolgte unter UV-Licht (Gerät: Crosslinker Typ CL 1, Fa. Biometra, Göttingen) mit einem MP4+ Instant Camera System (Fa. Bacher, Reutlingen) mit einer Blendeneinstellung von 4,5 und einer Belichtungszeit von 1 Sekunde. Als Film wurde ein Polaroid Instant Pack Film 8,5 x 10,8 cm T 667 (Fa. Polaroid U.K. Ltd., Wheathampstead, England) benutzt.

2.7 Statistische Auswertung

Die Analyse der Ergebnisse wurde mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS für Windows (SPSS, München) durchgeführt. Die Allelfrequenzen wurden durch Division der Anzahl des jeweiligen Allels durch die Anzahl aller Allele berechnet. Zur Untersuchung der Signifikanz von Unterschieden der Allelhäufigkeiten und Genotypenverteilungen zwischen verschiedenen Erkrankungsgruppen und der Kontrollgruppe wurde der Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Als Signifikanz P wurde die asymptotische Signifikanz des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson angegeben. Ein Zusammenhang zwischen den untersuchten Variablen wurde angenommen, wenn neben der asymptotischen Signifikanz P auch die Signifikanz des wegen geringer Stichprobenanzahlen durchgeführten Exakten Tests nach Fisher einen Wert von 0,05 oder weniger aufwies. Bei gegebenem Zusammenhang wurden die Zusammenhangsmaße Phi, Cramers V und Kontingenzkoeffizient C angegeben.

3. Ergebnisse

3.1 Ergebnisse TGF- β 1

3.1.1 Allelfrequenzen und Genotypenverteilungen des C-509T-TGF- β 1-Polymorphismus bei Erkrankungen der menschlichen Schilddrüse

Bei der Bestimmung des C-509T Polymorphismus der Promotorregion des TGF- β 1 – Gens wurden Blutproben von insgesamt 541 Patienten und Kontrollen verarbeitet. Nach Durchführung der Analyse lagen für 484 Proben Ergebnisse vor, während bei 57 Proben (11%) der Genotyp mit dem vorliegenden Material nicht bestimmt werden konnte. Die Genotypenverteilung der Kontrollgruppe war im Hardy-Weinberg-Equilibrium (Abschnitt 3.1.4). Das Durchschnittsalter in der Kontrollgruppe (n=88) betrug $36,6 \pm 11,0$ Jahre, in der Gruppe der multinodulären Knotenstrumen (n=174) lag es bei $54,4 \pm 14,1$ Jahren, beim Morbus Basedow (n=60) bei $37,9 \pm 11,5$ Jahren, bei der Struma diffusa (n=12) bei $45,5 \pm 11,2$ Jahren, beim follikulären Adenom (n=30) bei $45,6 \pm 11,8$ Jahren; $50,8 \pm 19,8$ Jahre waren es in der Gruppe aller Schilddrüsenkarzinome (TC, n=98), $48,4 \pm 20,6$ Jahre in der Gruppe der differenzierten Karzinome (DTC, n=65), $62,2 \pm 18,1$ Jahre in der FTC-Gruppe (n=11), $45,6 \pm 19,9$ Jahre in der PTC-Gruppe (n=50), und $54,1 \pm 17,5$ Jahre in der MTC-Gruppe (n=26).

Der Vergleich durch Chi-Quadrat-Test zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Genotypenverteilung in Bezug auf Geschlecht oder Alter (≤ 45 Jahre, > 45 Jahre), weder in der Kontrollgruppe (P=0,54 bzw. P=0,31) noch in der Gesamtgruppe der Schilddrüsenerkrankungen (P=0,75 bzw. P=0,65). Eine Schichtanalyse jeder einzelnen Patientensubgruppe, wobei sowohl die beiden Geschlechter (Tabellen 3.1-5 bis 3.1-8), als auch die beiden Altersgruppen (Tabellen 3.1-9 bis 3.1-12) als separate Schicht betrachtet wurden, erbrachte ähnliche Ergebnisse wie die Analyse der Gesamtgruppe (Tabellen 3.1-1 bis 3.1-4).

Keine der Patientengruppen mit multinodulären Knotenstrumen, diffusen Strumen, follikulären Adenomen, Morbus Basedow oder Schilddrüsenkarzinomen hatte am C-509T - TGF- β 1 – Polymorphismus im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikant unterschiedliche Allelfrequenz (Tabelle 3.1-1).

Weder in der Gesamtgruppe aller differenzierten Schilddrüsenkarzinome, noch in der Gruppe der PTC gab es eine signifikante Abhängigkeit zwischen Tumorgroße (T1/T2 gegenüber T3/T4) und Allelfrequenzen (Tabelle 3.1-3). Für die FTC und MTC war eine aussagekräftige statistische Analyse wegen zu kleiner Probenhäufigkeiten nicht möglich.

Die Anwesenheit von Lymphknotenmetastasen zur Zeit der Operation war ebensowenig mit Veränderung der Allelhäufigkeiten am C-509T-Polymorphismus assoziiert (Tabelle 3.1-3), wenn knotenpositive mit knotennegativen Patienten mit Schilddrüsenkarzinomen verglichen wurden. Auch der Vergleich von Patienten mit Lymphknotenmetastasen mit der Kontrollgruppe zeigte keine signifikant abweichenden Allelfrequenzen.

In Bezug auf die Fernmetastasierung konnte keine signifikante Assoziation zwischen dem Auftreten von Metastasen bei differenzierten Schilddrüsenkarzinomen und TGF- β 1-Allelfrequenz festgestellt werden (Tabelle 3.1-3). Eine Untersuchung der Tumoruntergruppen konnte hierbei wegen zu geringer Allelhäufigkeiten nicht durchgeführt werden.

Tabelle 3.1-1 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppe	n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle	
			Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>	176	0,261	-	-
Schilddrüsenerkrankung	792	0,309	1,58	0,21
Basedow	126	0,349	2,71	0,10
Struma diffusa	24	0,375	1,37	0,24
Struma multinodosa	350	0,311	1,41	0,24
Follikuläres Adenom	64	0,313	0,62	0,43
TC	218	0,275	0,10	0,76
FTC	22	0,182	0,66	0,42
PTC	104	0,298	0,44	0,51
MTC	70	0,243	0,09	0,76
DTC	134	0,276	0,08	0,77

Legende zu Tabelle 3.1-1:

Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen:

(Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-2 Verteilung von TGF- β 1 Genotypen bei Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppe	n Patienten	Genotyp			TT Frequenz	gegen Kontrolle	
		CC	CT	TT		Chi-Quadrat-Wert	<i>P</i>
Kontrollgruppe	88	50	30	8	0,091	-	-
Schilddrüsenerkrankung *	396	191	165	40	0,101	2,17	0,34
Basedow	63	29	24	10	0,159	2,40	0,30
Struma diffusa	12	4	7	1	0,083	x	x
Struma multinodosa	175	85	71	19	0,109	1,60	0,45
Follikuläres Adenom	32	14	16	2	0,063	x	x
TC	109	57	44	8	0,073	0,88	0,65
FTC	11	8	2	1	0,091	x	x
PTC	52	24	25	3	0,058	x	x
MTC	35	20	13	2	0,057	x	x
DTC	67	34	29	4	0,060	1,58	0,45

Legende zu Tabelle 3.1-2:

Die Genotypenverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe verglichen. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben. Bei Struma uninodosa, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Ein „x“ in der Spalte P hat die gleiche Bedeutung.

Abkürzungen:

(Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-3 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppe	n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		
			Chi-Quadrat-Wert	P	Chi-Quadrat-Wert	P	
Kontrollgruppe	176	0,261	-	-	-	-	
TC	pT1/pT2	76	0,224	0,40	0,53	-	-
	pT3/pT4	88	0,341	1,81	0,18	2,74	0,10
TC	pN0	26	0,385	1,72	0,19	-	-
	pN+	106	0,264	0,003	0,96	1,48	0,22
TC	M0	148	0,291	0,34	0,56	-	-
	M1	36	0,278	0,04	0,84	0,02	0,88
DTC	pT1/pT2	54	0,259	0,001	0,98	-	-
	pT3/pT4	66	0,303	0,42	0,52	0,280	0,60
DTC	pN0	22	0,409	2,13	0,15	-	-
	pN+	68	0,265	0,003	0,96	1,65	0,20
DTC	M0	104	0,288	0,24	0,62	-	-
	M1	22	0,227	0,12	0,73	0,34	0,56
PTC	pT1/pT2	44	0,273	0,02	0,88	-	-
	pT3/pT4	50	0,320	0,67	0,41	0,25	0,62
PTC	pN0	16	0,375	x	x	-	-
	pN+	54	0,296	0,26	0,61	0,36	0,55
PTC	M0	86	0,302	0,49	0,49	-	-
	M1	12	0,250	x	x	x	x
MTC	pT1/pT2	20	0,150	1,19	0,28	-	-
	pT3/pT4	14	0,357	x	x	x	x
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-
	pN+	34	0,235	0,10	0,75	x	x
MTC	M0	34	0,206	0,47	0,50	-	-
	M1	12	0,417	x	x	x	x

Legende zu Tabelle 3.1-3:

Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei OTC, ATC, FOTC, PFTC, FTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen:

(Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-4 Verteilung von TGF- β 1 Genotypen bei Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppe		n Patienten	Genotyp			TT Frequenz	gegen niedrigeres TNM	
			CC	CT	TT		Chi-Quadrat-Wert	P
TC	pT1/pT2	38	22	15	1	0,026	-	-
	pT3/pT4	44	21	16	7	0,159	x	x
TC	pN0	13	4	8	1	0,077	-	-
	pN+	53	31	16	6	0,113	x	x
TC	M0	74	37	31	6	0,081	-	-
	M1	18	10	6	2	0,111	x	x
DTC	pT1/pT2	27	14	12	1	0,037	-	-
	pT3/pT4	33	16	14	3	0,091	x	x
DTC	pN0	11	3	7	1	0,091	-	-
	pN+	34	19	12	3	0,088	x	x
DTC	M0	52	25	24	3	0,058	-	-
	M1	11	7	3	1	0,091	x	x
PTC	pT1/pT2	22	10	12	0	0,000	-	-
	pT3/pT4	25	12	10	3	0,120	x	x
PTC	pN0	8	2	6	0	0,000	-	-
	pN+	27	14	10	3	0,111	x	x
PTC	M0	43	19	22	2	0,047	-	-
	M1	6	4	1	1	0,167	x	x
FTC	pT1/pT2	4	3	0	1	0,250	-	-
	pT3/pT4	5	3	2	0	0,000	x	x
MTC	pT1/pT2	10	7	3	0	0,000	-	-
	pT3/pT4	7	4	1	2	0,286	x	x
MTC	pN0	0	0	0	0	0,000	-	-
	pN+	17	11	4	2	0,118	x	x
MTC	M0	17	11	5	1	0,059	-	-
	M1	6	2	3	1	0,167	x	x

Legende zu Tabelle 3.1-4:

Die Genotypenverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei OTC, ATC, FOTC, PFTC, FTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben. Ebenso zeigt ein „x“ zu geringe Häufigkeiten an.

Abkürzungen:

(Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-5 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei weiblichen Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen weiblich	n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
			Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>	64	0,234	-	-	0,38	0,54
Schilddrüsenerkrankung	546	0,306	1,40	0,24	0,10	0,75
Basedow	108	0,352	2,60	0,11	0,02	0,88
Struma multinodosa	240	0,308	1,34	0,25	0,03	0,85
Follikuläres Adenom	40	0,275	0,22	0,64	0,70	0,40
TC	134	0,276	0,39	0,53	0,001	0,97
PTC	72	0,306	0,87	0,35	0,06	0,80
MTC	38	0,211	0,08	0,78	0,47	0,49
DTC	86	0,291	0,60	0,44	0,26	0,61

Legende zu Tabelle 3.1-5: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts verglichen. Bei Struma uninodosa, Struma diffusa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Legende zu Tabelle 3.1-6: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, MTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-6 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei weiblichen Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen weiblich		n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
				Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>		64	0,234	-	-	-	-	0,38	0,54
TC	pT1/pT2	42	0,262	0,10	0,75	-	-	0,79	0,37
	pT3/pT4	58	0,328	1,32	0,25	0,50	0,48	0,13	0,71
TC	pN0	20	0,400	2,10	0,15	-	-	x	x
	pN+	56	0,250	0,04	0,84	1,61	0,20	0,12	0,73
TC	M0	90	0,278	0,37	0,55	-	-	0,18	0,67
	M1	22	0,364	1,40	0,24	0,63	0,43	x	x
PTC	pT1/pT2	30	0,300	0,46	0,50	-	-	x	x
	pT3/pT4	36	0,333	1,15	0,29	0,08	0,77	x	x
PTC	pN0	12	0,417	x	x	-	-	x	x
	pN+	34	0,294	0,42	0,52	x	x	0,002	0,96
PTC	M0	60	0,317	1,05	0,31	-	-	0,19	0,66
	M1	8	0,250	x	x	x	x	x	x
DTC	pT1/pT2	36	0,306	0,61	0,44	-	-	x	x
	pT3/pT4	42	0,310	0,74	0,39	0,001	0,97	0,02	0,88
DTC	pN0	16	0,438	x	x	-	-	x	x
	pN+	40	0,275	0,22	0,64	1,38	0,24	0,05	0,82
DTC	M0	68	0,309	0,92	0,34	-	-	0,40	0,53
	M1	12	0,250	x	x	x	x	x	x

Legende zu Tabelle 3.1-6: (siehe unter Legende zu Tabelle 3.1-5)

Tabelle 3.1-7

Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei männlichen Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen männlich	n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
			Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>	112	0,277	-	-	0,38	0,54
Schilddrüsenerkrankung	246	0,317	0,59	0,44	0,10	0,75
Basedow	18	0,333	0,24	0,62	0,02	0,88
Struma multinodosa	110	0,318	0,46	0,50	0,03	0,85
Follikuläres Adenom	24	0,375	0,92	0,34	0,70	0,40
TC	84	0,274	0,002	0,96	0,001	0,97
PTC	32	0,281	0,002	0,96	0,06	0,80
MTC	32	0,281	0,002	0,96	0,47	0,49
DTC	48	0,250	0,12	0,73	0,26	0,61

Legende zu Tabelle 3.1-7: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts verglichen. Bei Struma uninodosa, Struma diffusa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als *P* angegeben.

Legende zu Tabelle 3.1-8: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, MTC- und PTC-pT-Stadien, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als *P* angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. *P* = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-8 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei männlichen Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen männlich		n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
				Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>		112	0,277	-	-	-	-	0,38	0,54
TC	pT1/pT2	34	0,176	1,39	0,24	-	-	0,79	0,37
	pT3/pT4	30	0,367	0,92	0,34	2,96	0,09	0,13	0,71
TC	pN0	6	0,333	x	x	-	-	x	x
	pN+	50	0,280	0,002	0,97	x	x	0,12	0,73
TC	M0	58	0,310	0,21	0,65	-	-	0,18	0,67
	M1	14	0,143	x	x	x	x	x	x
DTC	pT1/pT2	18	0,167	x	x	-	-	x	x
	pT3/pT4	24	0,292	0,02	0,88			0,02	0,88
DTC	pN0	6	0,333	x	x	-	-	x	x
	pN+	28	0,250	0,08	0,78	x	x	0,05	0,82
DTC	M0	36	0,250	0,10	0,75	-	-	0,40	0,53
	M1	10	0,200	x	x	x	x	x	x
PTC	pN0	4	0,250	x	x	-	-	x	x
	pN+	20	0,300	0,05	0,83	x	x	0,002	0,96
PTC	M0	26	0,269	0,01	0,94	-	-	0,19	0,66
	M1	4	0,250	x	x	x	x	x	x
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-	x	x
	pN+	20	0,250	0,06	0,80	x	x	x	x
MTC	M0	20	0,350	0,44	0,51	-	-	x	x
	M1	4	0	x	x	x	x	x	x

Legende zu Tabelle 3.1-8: (siehe Tab. 3.1-7)

Tabelle 3.1-9 Verteilung von TGF-β1 Allelen bei Patientengruppen unter 45 Jahren mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen Altersgruppe ≤ 45 J	n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
			Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>	140	0,279	-	-	1,05	0,31
Schilddrüsenerkrankung	282	0,301	0,24	0,63	0,21	0,65
Basedow	88	0,318	0,41	0,52	1,47	0,23
Struma multinodosa	82	0,256	0,13	0,72	1,33	0,25
Follikuläres Adenom	26	0,269	0,01	0,92	0,48	0,49
TC	72	0,333	0,68	0,41	1,27	0,26
PTC	40	0,300	0,07	0,79	0,00	1,00
MTC	22	0,318	0,15	0,70	0,46	0,50
DTC	46	0,326	0,38	0,54	0,86	0,35

Legende zu Tabelle 3.1-9: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, Struma diffusa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Legende zu Tabelle 3.1-10: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, MTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-10 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei Patientengruppen unter 45 Jahren mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen Altersgruppe \leq 45 J		n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
				Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>		<i>140</i>	<i>0,279</i>	-	-	-	-	<i>1,05</i>	<i>0,31</i>
TC	pT1/pT2	36	0,278	0,00	0,99	-	-	1,46	0,23
	pT3/pT4	28	0,393	1,46	0,23	0,95	0,33	0,35	0,55
TC	pN0	12	0,417	x	x	-	-	x	x
	pN+	42	0,262	0,05	0,83	x	x	0,07	0,79
TC	M0	58	0,328	0,48	0,49	-	-	0,33	0,57
	M1	8	0,375	x	x	x	x	x	x
DTC	pT1/pT2	28	0,321	0,21	0,65	-	-	1,65	0,20
	pT3/pT4	18	0,333	0,24	0,63	0,01	0,93	0,05	0,82
DTC	pN0	10	0,500	x	x	-	-	x	x
	pN+	30	0,267	0,02	0,90	x	x	0,01	0,92
DTC	M0	40	0,325	0,33	0,57	-	-	0,40	0,53
	M1	6	0,333	x	x	x	x	x	x
PTC	pT1/pT2	24	0,292	0,02	0,90	-	-	x	x
	pT3/pT4	16	0,313	x	x	x	x	0,05	0,83
PTC	pN0	8	0,375	x	x	-	-	x	x
	pN+	26	0,269	0,01	0,92	x	x	0,36	0,55
PTC	M0	34	0,294	0,03	0,86	-	-	0,03	0,86
	M1	6	0,333	x	x	x	x	x	x

Legende zu Tabelle 3.1-10: (siehe unter Tab. 3.1-9)

Tabelle 3.1-11

**Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei Patientengruppen
über 45 Jahren mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen**

Gruppen Altersgruppe > 45 J	n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
			Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>	36	0,194	-	-	1,05	0,31
Schilddrüsenerkrankung	476	0,317	2,37	0,12	0,21	0,65
Basedow	32	0,438	4,69	0,03 a	1,47	0,23
Struma multinodosa	266	0,323	2,47	0,12	1,33	0,25
Follikuläres Adenom	34	0,353	2,22	0,14	0,48	0,49
TC	124	0,258	0,61	0,43	1,27	0,26
PTC	60	0,300	1,30	0,25	0,00	1,00
MTC	30	0,233	0,15	0,70	0,46	0,50
DTC	84	0,250	0,44	0,51	0,86	0,35

Legende zu Tabelle 3.1-11: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, Struma diffusa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Legende zu Tabelle 3.1-12: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, MTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 52 Patienten mit PTC, MTC (n=35), FTC (n=11), PFTC (n=4), OTC (n=4), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.1-12 Verteilung von TGF- β 1 Allelen bei Patientengruppen über 45 Jahren mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen Altersgruppe > 45 J		n (Allele)	T Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
				Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>		36	0,194	-	-	-	-	1,05	0,31
TC	pT1/pT2	32	0,156	0,17	0,68	-	-	1,46	0,23
	pT3/pT4	58	0,328	1,97	0,16	3,10	0,08	0,35	0,55
TC	pN0	14	0,357	x	x	-	-	x	x
	pN+	56	0,286	0,97	0,32	x	x	0,07	0,79
TC	M0	78	0,282	1,00	0,32	-	-	0,33	0,57
	M1	28	0,250	0,28	0,59	0,11	0,74	x	x
DTC	pT1/pT2	24	0,167	x	x	-	-	1,65	0,20
	pT3/pT4	46	0,304	1,28	0,26	1,57	0,21	0,05	0,82
DTC	pN0	12	0,333	x	x	-	-	x	x
	pN+	36	0,278	0,69	0,41	x	x	0,01	0,92
DTC	M0	60	0,267	0,64	0,42	-	-	0,40	0,53
	M1	16	0,188	x	x	x	x	x	x
PTC	pT1/pT2	18	0,222	x	x	-	-	x	x
	pT3/pT4	32	0,344	1,94	0,16	0,81	0,37	0,05	0,83
PTC	pN0	8	0,375	x	x	-	-	x	x
	pN+	26	0,346	1,82	0,18	x	x	0,36	0,55
PTC	M0	48	0,313	1,48	0,22	-	-	0,03	0,86
	M1	6	0,167	x	x	x	x	x	x

Legende zu Tabelle 3.1-12: (siehe unter Tab. 3.1-11)

3.1.2

Verteilung der TNM- Stadien in den Schilddrüsenkarzinomgruppen (TGFβ1- Studie)

Tabelle 3.1-13:

	n	pT1	pT2	pT3	pT4	pTx	pN0	pN+	pNx	M0	M1	Mx	I	II	III	IV
TC	109	7	31	8	36	27	13	53	43	74	18	17	26	5	15	24
FTC	11	0	4	2	3	2	3	4	4	6	4	1	2	0	1	5
PTC	52	6	16	3	22	5	8	27	17	43	6	3	18	4	5	10
MTC	35	1	9	1	6	18	0	17	18	17	6	12	2	0	9	5
DTC	67	6	21	5	28	7	11	34	22	52	11	4	22	4	6	16

Legende zu Tabelle 3.1-13: Verteilung von TNM- Stadien in den verschiedenen Schilddrüsenkarzinomgruppen. Die TGFβ1- Studie umfaßte insgesamt 109 Patienten mit Schilddrüsenkarzinom (TC). Dies beinhaltet neben den oben genannten Gruppen zusätzlich 4 Patienten mit einem intermediären Karzinomtyp, der papillären Variante des follikulären Schilddrüsenkarzinoms (PFTC), 4 mit onkozytären Schilddrüsenkarzinom (OTC), 1 mit follikulär-onkozytären Mischtyp (FOTC), und 2 mit anaplastischem Schilddrüsenkarzinom (ATC). Die Gruppe DTC (n=67) schließt alle Patienten mit PTC (n=52), FTC (n=11) und PFTC (n=4). I-IV bezeichnet die Erkrankungsstadien nach UICC- Klassifikation von 1995 (Wittekind, 1997).

3.1.3 Verteilung von Geschlecht und Alter (TGFβ1- Studie)

Tabelle 3.1-14:

	N (Patienten)	Geschlecht			Alter bei OP		
		weiblich	männlich	fehlende Werte	≤ 45 Jahre	> 45 Jahre	fehlende Werte
<i>Kontrollgruppe</i>	88	32	56	0	70	18	0
Schilddrüsen- erkrankung	396	273	123	0	141	238	17
Basedow	63	54	9	0	44	16	3
Struma diffusa	12	8	4	0	6	6	0
Struma multinodosa	175	120	55	0	41	133	1
Struma uninodosa	5	4	1	0	1	4	0
Follikuläres Adenom	32	20	12	0	13	17	2
Schilddrüsenkarzinom	109	67	42	0	36	62	11
FTC	11	6	5	0	1	10	0
PTC	52	36	16	0	20	30	2
MTC	35	19	16	0	11	15	9
OTC	4	4	0	0	2	2	0
ATC	2	0	2	0	0	2	0
FOTC	1	1	0	0	0	1	0
PFTC	4	1	3	0	2	2	0
DTC	67	43	24	0	23	42	2

Legende zu Tabelle 3.1-14: Dargestellt sind die Anzahlen der Ergebnisse in jeder Untergruppe (N), sowie deren Aufspaltung in die beiden Geschlechter und Altersgruppen. 17 Patienten mit fehlender Altersangabe wurden in die Allelfrequenzanalysen mit einbezogen, um eine ausreichende Probenhäufigkeit der Untergruppen zu gewährleisten. Dabei wird eine leichte Ungenauigkeit der Alterscharakterisierung der betroffenen Untergruppen in Kauf genommen.

3.1.4 Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht der Genotypenverteilung der TGF-β1-Kontrollgruppe

Die TGF-β1- Kontrollgruppe bestand aus 88 Personen, von denen 50 den CC-Genotyp, 30 den CT-Genotyp und 8 den TT-Genotyp besaßen. Die Allelfrequenzen werden wie folgt berechnet (Russel, 1996):

$$p = \frac{(2 \times \text{Anzahl der Homozygoten}) + (\text{Anzahl der Heterozygoten})}{(2 \times \text{Gesamtanzahl der Individuen } N)} \quad \text{deswegen gilt:}$$

$$p = f(C) = \frac{(2 \times 50) + (30)}{(2 \times 88)} = 130/176 \approx 0,738636$$

$$q = 1 - p = 1 - 130/176 = 46/176 \approx 0,261364$$

Daraus ergeben sich die erwarteten Hardy-Weinberg-Verhältnisse für die Genotypen:

$f(CC) = p^2 = (130/176)^2 \approx 0,545583$; $f(CT) = 2pq = 2 \times (130/176) \times (46/176) \approx 0,386105$; $f(TT) = q^2 = (46/176)^2 \approx 0,068311$; für den Chi-Quadrat-Test werden jedoch die erwarteten Genotypenzahlen benötigt:

	erwartet	beobachtet
$f(CC) = p^2 \times N$ $= (130/176)^2 \times 88 \approx$	48,01	50
$f(CT) = 2pq \times N$ $= 2 \times (130/176) \times (46/176) \times 88 \approx$	33,98	30
$f(TT) = q^2 \times N$ $= (46/176)^2 \times 88 \approx$	6,01	8

Der Chi-Quadrat-Wert ergibt sich als:

$$\chi^2 = \sum d^2/e = [(50 - 48,01)^2 / 48,01] + [(30 - 33,98)^2 / 33,98] + [(8 - 6,01)^2 / 6,01] \approx 1,21$$

Bei $df = 1$ Freiheitsgraden zeigt ein Chi-Quadrat-Wert von $\chi^2 = 1,21$ einen Wahrscheinlichkeitswert zwischen $P = 0,30$ und $P = 0,20$ an (Russel, 1996). Folglich ist die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, daß der Unterschied zwischen den beobachteten und den erwarteten Werten zufällig ist. Die beobachteten Genotypenzahlen entsprechen also den unter den Bedingungen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts erwarteten Anzahlen.

3.2 Ergebnisse IL-6

3.2.1 Allelfrequenzen und Genotypenverteilungen des G-174C-IL-6-Polymorphismus bei Erkrankungen der menschlichen Schilddrüse

Blutproben von insgesamt 605 Patienten und Kontrollen wurden bei der Bestimmung des Genotyps am -174 G→C Polymorphismus der Promotorregion des IL-6-Gens verarbeitet. Nach Durchführung der Analyse lagen für 532 Proben Ergebnisse vor, während bei 73 Proben (12%) der Genotyp nicht bestimmt werden konnte. Die Genotypenverteilung der Kontrollgruppe war im Hardy-Weinberg-Equilibrium (Abschnitt 3.2.4). Die in unserer Studie untersuchte Kontrollgruppe von 152 Patienten zeigte die gleiche Genotypenverteilung am IL-6 -174 G/C – Polymorphismus wie die kaukasische Kontrollgruppe von 383 gesunden Personen, über die von Fishman berichtet wurde (Fishman *et al.* 1998) (Tabelle 3.2-15).

Das Durchschnittsalter in der Kontrollgruppe (n=152) betrug $38,2 \pm 10,7$ Jahre, in der Gruppe der multinodulären Knotenstrumen (n=163) lag es bei $53,6 \pm 14,3$ Jahren, beim Morbus Basedow (n=60) bei $37,8 \pm 11,6$ Jahren, bei der Struma diffusa (n=13) bei $44,2 \pm 10,2$ Jahren, beim follikulären Adenom (n=26) bei $46,2 \pm 11,9$ Jahren; $51,1 \pm 19,3$ Jahre waren es in der Gruppe aller Schilddrüsenkarzinome (TC, n=96), $48,8 \pm 19,8$ Jahre in der Gruppe der differenzierten Karzinome (DTC, n=64), $62,0 \pm 19,1$ Jahre in der FTC-Gruppe (n=10), $47,0 \pm 18,6$ Jahre in der PTC-Gruppe (n=49), und $53,5 \pm 17,7$ Jahre in der MTC-Gruppe.

Der Vergleich durch Chi-Quadrat-Test zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Genotypenverteilung in Bezug auf Geschlecht oder Alter (≤ 45 Jahre, > 45 Jahre), weder in der Kontrollgruppe (P=0,58 bzw. P=0,79) noch in der Gesamtgruppe der Schilddrüsenerkrankungen (P=0,35 bzw. P=0,22). Eine Schichtanalyse jeder einzelnen Patientensubgruppe, wobei sowohl die beiden Geschlechter (Tabellen 3.2-5 bis 3.2-8), als auch die beiden Altersgruppen (Tabellen 3.2-9 bis 3.2-12) als separate Schicht betrachtet wurden, erbrachte ähnliche Ergebnisse wie die Analyse der Gesamtgruppe (Tabellen 3.2-1 bis 3.2-4). Wegen der geringeren Fallzahlen wurde hier jedoch nicht jeder in der Gesamtgruppe gefundene Unterschied signifikant.

Die Verteilung der Allelfrequenzen in der Gruppe der Patienten mit Schilddrüsenkarzinomen wies einen signifikanten Unterschied (P=0,04; Phi=0,09) zur Verteilung in der Kontrollgruppe auf (Tabelle 3.2-1; Abbildung 3.2-1). Dieser Unterschied war auch bei weiterer Unterteilung in differenzierte Schilddrüsenkarzinome (DTC) und in papilläre Schilddrüsenkarzinome (PTC) noch signifikant (P=0,04; Phi=0,098 bzw. P=0,03; Phi=0,11) (Tab. 3.2-1; Abb. 3.2-2). Die Gruppe der DTC umfaßt hierbei jede Art von papillärem oder follikulärem

Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. In der Gruppe der follikulären Schilddrüsenkarzinome (FTC) und medullären Schilddrüsenkarzinome konnte zwar eine im Vergleich zur Kontrolle erhöhte Frequenz des C-Allels festgestellt werden, die jedoch nicht signifikant war.

In der Gesamtgruppe der Schilddrüsenkarzinome gab es eine Assoziation zwischen Tumorgroße und –174 IL-6-Genotyp beziehungsweise –Allelfrequenz ($P=0,002$; $\Phi=0,389$ bzw. $P=0,002$; $\Phi=0,241$) (Tabellen 3.2-3 und 3.2-4; Abb. 3.2-3). Weiterhin wurde statistische Signifikanz erreicht, wenn die Allelfrequenzen größerer und kleinerer PTC verglichen wurden ($P=0,006$; $\Phi=0,291$) (Tabelle 3.2-3). In der MTC-Gruppe lag das entsprechende Ergebnis knapp unter der Signifikanzgrenze, während beim FTC wegen zu kleiner Fallzahlen keine sinnvolle statistische Analyse durchgeführt werden konnte (Tabelle 3.2-3). Bei Betrachtung aller differenzierten Schilddrüsenkarzinome (DTC) können wiederum signifikant erhöhte C-Allelfrequenzen bei größeren gegenüber kleineren Tumoren beobachtet werden ($P=0,008$; $\Phi=0,244$) (Tabelle 3.2-3). Ebenso ergab der Vergleich der pT3/T4 – Untergruppen mit der Kontrollgruppe hoch signifikant erhöhte C-Allelfrequenzen, passend zu den Ergebnissen, die durch Vergleich mit den kleineren Tumoren von Patienten derselben Untergruppe erhalten wurden (Tabelle 3.2-3). Ein Vergleich der verschiedenen Untergruppen der kleineren Tumoren (T1 + T2) mit der Kontrollgruppe ergab keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der IL-6-Allelfrequenzen.

Das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Operation war ebenfalls mit einer erhöhten C-Allelfrequenz assoziiert. Beim direkten Vergleich der lymphknotenpositiven mit den lymphknotennegativen Patienten mit Schilddrüsenkarzinomen lag die Assoziation zwar knapp unterhalb der Signifikanzgrenze, jedoch war sie bei Vergleich der lymphknotenpositiven Patienten (für TC, DTC und PTC) mit der Kontrollgruppe signifikant (für PTC: $P=0,01$; $\Phi=0,13$). Demgegenüber bestand zwischen den Allelfrequenzen der lymphknotennegativen Patienten derselben Karzinomgruppen und denen der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied (für PTC: $P=0,41$) (Tabelle 3.2-3).

Hinsichtlich der Fernmetastasierung konnte keine signifikante Assoziation zwischen dem Auftreten von Metastasen und IL-6-Allelfrequenz festgestellt werden (Tab. 3.2-3).

Tabelle 3.2-1 Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppe	n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle	
			Chi- Quadrat- Wert	P
Kontrollgruppe	304	0,395	-	-
Schilddrüsenerkrankung *	760	0,429	1,04	0,31
Basedow	126	0,381	0,07	0,79
Struma diffusa	26	0,385	0,01	0,92
Struma multinodosa	328	0,427	0,67	0,41
Follikuläres Adenom	56	0,357	0,28	0,60
TC	212	0,486	4,23	0,04 a
FTC	20	0,500	0,87	0,35
PTC	102	0,520	4,87	0,03 b
MTC	68	0,456	0,86	0,35
DTC	132	0,500	4,17	0,04 c

- a : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,05**; Phi / Cramer-V = 0,090;
Kontingenzkoeffizient = 0,090; Odds Ratio = 1,45
- b : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,03**; Phi / Cramer-V = 0,110;
Kontingenzkoeffizient = 0,109; Odds Ratio = 1,66
- c : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,05**; Phi / Cramer-V = 0,098;
Kontingenzkoeffizient = 0,097; Odds Ratio = 1,53

Legende zu Tabelle 3.2-1: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-2 Verteilung von IL- 6 Genotypen bei Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppe	n Patienten	Genotyp			CC Frequenz	gegen Kontrolle	
		GG	GC	CC		Chi-Quadrat-Wert	P
Kontrollgruppe	152	57	70	25	0,164	-	-
Schilddrüsenerkrankung *	380	116	202	62	0,163	2,70	0,26
Basedow	63	23	32	8	0,127	0,63	0,73
Struma diffusa	13	4	8	1	0,077	x	x
Struma multinodosa	164	51	86	27	0,164	1,60	0,45
Follikuläres Adenom	28	12	12	4	0,143	x	x
TC	106	25	59	22	0,208	5,59	0,06
FTC	10	2	6	2	0,200	x	x
PTC	51	10	29	12	0,235	5,67	0,06
MTC	34	10	17	7	0,206	0,87	0,65
DTC	66	14	38	14	0,212	5,57	0,06

Legende zu Tabelle 3.2-2: Die Genotypenverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Ebenso zeigt ein „x“ zu geringe Häufigkeiten an. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Legende zu Tabelle 3.2-3: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC-pN- und pM- Stadien, OTC, ATC, FOTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-3 Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppe		n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres	
				Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
Kontrollgruppe		304	0,395	-	-	-	-
TC	pT1/pT2	76	0,342	0,71	0,40	-	-
	pT3/pT4	84	0,583	9,52	0,002 g	9,32	0,002 a
TC	pN0	26	0,346	0,237	0,63	-	-
	pN+	104	0,519	4,91	0,03 h	2,50	0,11
TC	M0	150	0,487	3,47	0,06	-	-
	M1	32	0,500	1,33	0,25	0,02	0,89
DTC	pT1/pT2	54	0,333	0,730	0,39	-	-
	pT3/pT4	64	0,578	7,27	0,007 j	7,05	0,008 d
DTC	pN0	22	0,318	0,51	0,48	-	-
	pN+	66	0,545	5,05	0,03 m	3,41	0,07
DTC	M0	104	0,481	2,36	0,13	-	-
	M1	20	0,45	0,24	0,63	0,06	0,80
PTC	pT1/pT2	42	0,333	0,59	0,44	-	-
	pT3/pT4	48	0,625	8,99	0,003 i	7,63	0,006 b
PTC	pN0	14	0,286	0,67	0,41	-	-
	pN+	52	0,577	6,05	0,01 L	3,75	0,05 f
PTC	M0	86	0,488	2,42	0,12	-	-
	M1	10	0,600	x	x	0,45	0,50
FTC	pT1/pT2	10	0,400	0,00	0,97	-	-
	pT3/pT4	8	0,500	0,36	0,55	x	x
MTC	pT1/pT2	20	0,300	0,71	0,40	-	-
	pT3/pT4	14	0,643	3,42	0,07	3,93	0,05 c
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-
	pN+	34	0,441	0,28	0,60	x	x
MTC	M0	38	0,500	1,55	0,21	-	-
	M1	10	0,500	x	x	0,00	1,00

- a : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,003**; Phi / Cramer-V = 0,241; Kontingenzkoeffizient = 0,235; Odds Ratio = 2,69
- b : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,007**; Phi / Cramer-V = 0,291; Kontingenzkoeffizient = 0,279; Odds Ratio = 3,33
- c : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,08
- d : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,01**; Phi / Cramer-V = 0,244; Kontingenzkoeffizient = 0,237; Odds Ratio = 2,74
- f : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,07
- g : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,003**; Phi / Cramer-V = 0,157; Kontingenzkoeffizient = 0,155; Odds Ratio = 2,15
- h : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,03**; Phi / Cramer-V = 0,110; Kontingenzkoeffizient = 0,109; Odds Ratio = 1,66
- i : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,004**; Phi / Cramer-V = 0,160; Kontingenzkoeffizient = 0,158; Odds Ratio = 2,56
- j : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,008**; Phi / Cramer-V = 0,141; Kontingenzkoeffizient = 0,139; Odds Ratio = 2,10

- k : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,01**; Phi / Cramer-V = 0,140; Kontingenzkoeffizient = 0,138
L : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,02**; Phi / Cramer-V = 0,130;
Kontingenzkoeffizient = 0,129; Odds Ratio = 2,09
m : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,03**; Phi / Cramer-V = 0,117;
Kontingenzkoeffizient = 0,116; Odds Ratio = 1,84
n : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,02**; Phi / Cramer-V = 0,128; Kontingenzkoeffizient = 0,127

Legende zu Tabelle 3.2-3: (siehe unter Legende zu Tab. 3.2-2)

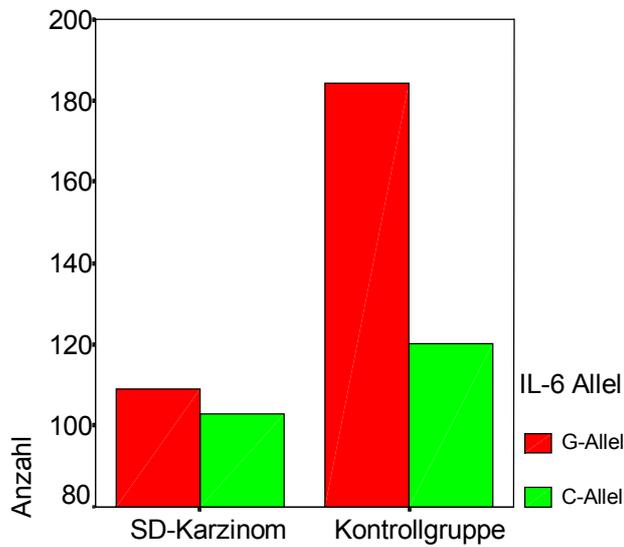
Tabelle 3.2-4 Verteilung von IL- 6 Genotypen bei Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppe		n Patienten	Genotyp			CC Frequenz	gegen niedrigeres TNM	
			GG	GC	CC		Chi-Quadrat-Wert	P
TC	pT1/pT2	38	16	18	4	0,105	-	-
	pT3/pT4	42	4	27	11	0,262	12,10	0,002 a
TC	pN0	13	5	7	1	0,077	-	-
	pN+	52	11	28	13	0,250	x	x
TC	M0	75	16	45	14	0,187	-	-
	M1	16	3	10	3	0,188	x	x
DTC	pT1/pT2	27	11	14	2	0,074	-	-
	pT3/pT4	32	3	21	8	0,250	x	x
DTC	pN0	11	5	5	1	0,091	-	-
	pN+	33	5	20	8	0,242	x	x
DTC	M0	52	12	30	10	0,192	-	-
	M1	10	2	7	1	0,100	x	x
PTC	pT1/pT2	21	8	12	1	0,048	-	-
	pT3/pT4	24	2	14	8	0,333	x	x
PTC	pN0	7	4	2	1	0,143	-	-
	pN+	26	3	16	7	0,269	x	x
PTC	M0	43	10	24	9	0,209	-	-
	M1	5	0	4	1	0,200	x	x
FTC	pT1/pT2	5	2	2	1	0,200	-	-
	pT3/pT4	4	0	4	0	0	x	x
MTC	pT1/pT2	10	5	4	1	0,100	-	-
	pT3/pT4	7	1	3	3	0,429	x	x
MTC	pN0	0	0	0	0	0	-	-
	pN+	17	6	7	4	0,2,5	x	x
MTC	M0	19	4	11	4	0,211	-	-
	M1	5	1	3	1	0,200	x	x

a : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,002**; Phi / Cramer-V = **0,389**;
Kontingenzkoeffizient = **0,362**;

Legende zu Tabelle 3.2-4: Die Genotypenverteilung wurde für jede Untergruppe mit der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. X = Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht möglich. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abb. 3.2-1 Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patienten mit Schilddrüsenkarzinom



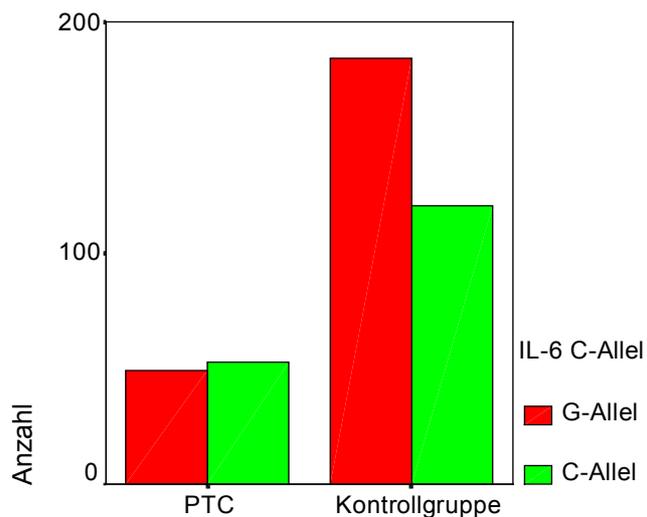
Legende zu Abb. 3.2-1

Die Gruppe „Schilddrüsenkarzinom“ beinhaltet 109 G-Allele und 103 C-Allele, während die Kontrollgruppe 184 G-Allele und 120 C-Allele umfaßt. Der Chi-Quadrat-Wert beträgt 4,23 und die asymptotische Signifikanz 0,04.

Zusammenhangsmaße:

Phi	=	0,09
Cramer-V	=	0,09
Kontingenzkoeffizient	=	0,09

Abb. 3.2-2 Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patienten mit PTC



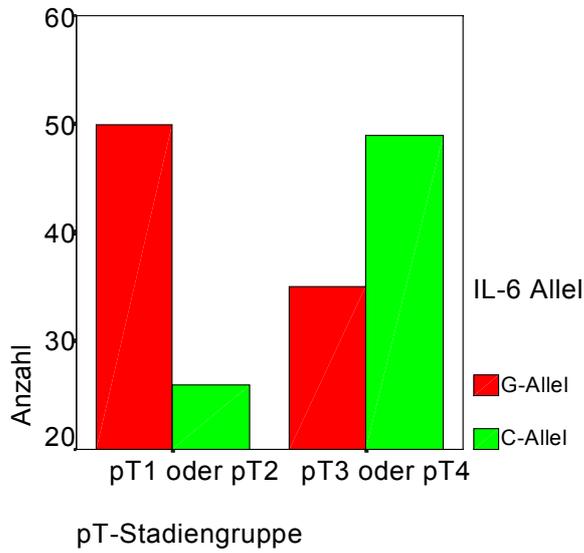
Legende zu Abb. 3.2-2:

Die Gruppe „PTC“ beinhaltet 49 G-Allele und 53 C-Allele, während die Kontrollgruppe 184 G-Allele und 120 C-Allele umfaßt. Der Chi-Quadrat-Wert beträgt 4,87 und die asymptotische Signifikanz 0,03.

Zusammenhangsmaße:

Phi	=	0,110
Cramer-V	=	0,110
Kontingenzkoeffizient	=	0,109

Abb. 3.2-3 Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patienten mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf die TumorgroÙe



Legende zu Abb. 3.2-3:

Die Gruppe „pT1 oder pT2“ beinhaltet 50 G-Allele und 26 C-Allele, während die Gruppe „pT3 oder pT4“ 35 G-Allele und 49 C-Allele umfasst. Der Chi-Quadrat-Wert beträgt 9,32 und die asymptotische Signifikanz 0,002.

ZusammenhangsmaÙe:

Phi	=	0,241
Cramer-V	=	0,241
Kontingenzkoeffizient	=	0,235

Tabelle 3.2-5 Verteilung von IL- 6 Allelen bei weiblichen Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen weiblich	n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
			Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>	112	0,429	-	-	0,85	0,36
Schilddrüsenerkrankung *	530	0,442	0,06	0,80	1,13	0,29
Basedow	106	0,377	0,59	0,44	0,04	0,85
Struma diffusa	20	0,400	0,06	0,81	x	x
Struma multinodosa	230	0,452	0,17	0,68	2,02	0,16
Follikuläres Adenom	34	0,324	1,20	0,27	0,43	0,51
TC	132	0,508	1,52	0,22	0,66	0,42
FTC	12	0,500	0,23	0,64	x	x
PTC	70	0,514	1,27	0,26	0,03	0,87
MTC	38	0,500	0,59	0,44	0,68	0,41
<i>DTC</i>	86	0,500	1,00	0,32	0,00	1,00

Legende zu Tabelle 3.2-5: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts verglichen. Bei Struma uninodosa, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-6 Verteilung von IL- 6 Allelen bei weiblichen Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen weiblich		n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
				Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>		112	0,429	-	-	-	-	-	-
TC	pT1/pT2	42	0,381	0,29	0,59	-	-	0,63	0,43
	pT3/pT4	54	0,611	4,86	0,03 e	5,01	0,03 a	0,48	0,49
TC	pN0	22	0,364	0,32	0,57	-	-	x	x
	pN+	52	0,596	4,00	0,05 f	3,35	0,07	2,47	0,12
TC	M0	92	0,511	1,38	0,24	-	-	0,56	0,46
	M1	18	0,556	1,01	0,31	0,12	0,73	0,51	0,48
DTC	pT1/pT2	36	0,306	1,72	0,19	-	-	0,38	0,54
	pT3/pT4	40	0,600	3,47	0,06	6,61	0,01 c	0,21	0,65
DTC	pN0	18	0,333	0,58	0,45	-	-	x	x
	pN+	36	0,528	1,08	0,30	1,83	0,18	0,10	0,75
DTC	M0	70	0,471	0,32	0,57	-	-	0,08	0,78
	M1	10	0,500	x	x	x	x	x	x
PTC	pT1/pT2	28	0,321	1,07	0,30	-	-	x	x
	pT3/pT4	34	0,618	3,74	0,05 g	5,40	0,02 b	0,03	0,87
PTC	pN0	12	0,333	0,40	0,53	-	-	x	x
	pN+	30	0,567	1,82	0,18	1,87	0,17	0,03	0,86
PTC	M0	60	0,483	0,47	0,49	-	-	0,02	0,89
	M1	6	0,667	x	x	x	x	x	x
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-	x	x
	pN+	14	0,714	4,09	0,04 h	x	x	7,20	0,007 j
MTC	M0	16	0,688	3,78	0,05 i	-	-	3,89	0,05 k
	M1	6	0,500	x	x	x	x	x	x

- a : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,04**; Phi / Cramer-V = 0,228; Kontingenzkoeffizient = 0,223; Odds Ratio = 2,55
- b : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,02**; Phi / Cramer-V = 0,295; Kontingenzkoeffizient = 0,283; Odds Ratio = 3,41
- c : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,01**; Phi / Cramer-V = 0,295; Kontingenzkoeffizient = 0,283; Odds Ratio = 3,41
- d : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,03; Phi / Cramer-V = 0,248; Kontingenzkoeffizient = 0,241
- e : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,03**; Phi / Cramer-V = 0,171; Kontingenzkoeffizient = 0,169; Odds Ratio = 2,10
- f : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,06
- g : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,08
- h : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,05**; Phi / Cramer-V = 0,180; Kontingenzkoeffizient = 0,177; Odds Ratio = 3,33
- i : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,06
- j : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,01**; Phi / Cramer-V = 0,460; Kontingenzkoeffizient = 0,418; Odds Ratio = 7,5
- k : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,10

Legende zu Tabelle 3.2-6: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, OTC, ATC, FOTC, PFTC und MTC-T-Stadien konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-7 Verteilung von IL- 6 Allelen bei männlichen Patientengruppen mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen männlich	n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
			Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>	192	0,375	-	-	0,85	0,36
Schilddrüsenerkrankung *	230	0,400	0,28	0,60	1,13	0,29
Basedow	20	0,400	0,05	0,83	0,04	0,85
Struma multinodosa	98	0,367	0,02	0,90	2,02	0,16
Follikuläres Adenom	22	0,409	0,10	0,76	0,43	0,51
TC	80	0,450	1,33	0,25	0,66	0,42
PTC	32	0,531	2,80	0,09	0,03	0,87
MTC	30	0,400	0,07	0,79	0,68	0,41
DTC	46	0,500	2,42	0,12	0,00	1,00

Legende zu Tabelle 3.2-7: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts verglichen. Bei Struma diffusa, Struma uninodosa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-8 Verteilung von IL- 6 Allelen bei männlichen Patientengruppen mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen männlich		n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
				Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>		192	0,375	-	-	-	-	-	-
TC	pT1/pT2	34	0,294	0,82	0,37	-	-	0,63	0,43
	pT3/pT4	30	0,533	2,72	0,10	3,78	0,05 a	0,48	0,49
TC	pN0	4	0,250	x	x	-	-	x	x
	pN+	52	0,442	0,78	0,38	x	x	2,47	0,12
TC	M0	58	0,448	1,00	0,32	-	-	0,56	0,46
	M1	14	0,429	0,16	0,69	0,02	0,89	0,51	0,48
DTC	pT1/pT2	18	0,389	0,014	0,91	-	-	0,38	0,54
	pT3/pT4	24	0,542	2,48	0,12	0,962	0,33	0,21	0,65
DTC	pN0	4	0,250	x	x	-	-	x	x
	pN+	30	0,567	3,97	0,05 d	x	x	0,10	0,75
DTC	M0	34	0,500	1,89	0,17	-	-	0,08	0,78
	M1	10	0,400	x	x	x	x	x	x
PTC	pT1/pT2	14	0,357	0,02	0,89	-	-	x	x
	pT3/pT4	14	0,643	3,92	0,05 b	2,29	0,13	0,03	0,87
PTC	pN0	2	0,000	x	x	-	-	x	x
	pN+	22	0,591	3,84	0,05 c	x	x	0,03	0,86
PTC	M0	26	0,500	1,50	0,22	-	-	0,02	0,89
	M1	4	0,500	x	x	x	x	x	x

Gruppen männlich		n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen TNM niedrigeres		gegen entsprechende Gruppe des anderen Geschlechts	
				Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
MTC	pT1/pT2	16	0,188	2,25	0,13	-	-	x	x
	pT3/pT4	4	0,500	x	x	x	x	x	x
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-	x	x
	pN+	20	0,250	1,22	0,27	x	x	7,20	0,007 f
MTC	M0	22	0,364	0,01	0,92	-	-	3,89	0,05 g
	M1	4	0,500	x	x	x	x	x	x

- a: Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,08
b: Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,09
c: Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,07
d: Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,07
e: Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,07
f: Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,01**; Phi / Cramer-V = 0,460; Kontingenzkoeffizient = 0,418;
Odds Ratio = 7,5
g: Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,10

Legende zu Tabelle 3.2-8: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe des anderen Geschlechts sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, OTC, ATC, FOTC, PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-9

Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patientengruppen unter 45 Jahren mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen Altersgruppe ≤ 45 J	n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
			Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>	220	0,386	-	-	0,23	0,63
Schilddrüsenerkrankung *	282	0,401	0,11	0,74	1,61	0,21
Basedow	88	0,364	0,14	0,71	0,01	0,91
Struma diffusa	14	0,357	0,05	0,83	x	x
Struma multinodosa	84	0,429	0,45	0,50	0,002	0,96
Follikuläres Adenom	20	0,250	1,46	0,23	1,33	0,25
TC	72	0,472	1,66	0,20	0,50	0,48
PTC	38	0,526	2,63	0,11	0,01	0,93
MTC	24	0,458	0,47	0,49	0,66	0,42
DTC	46	0,478	1,34	0,25	0,14	0,71

Legende zu Tabelle 3.2-9: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-10

Verteilung von IL-6 Allelen bei Patientengruppen unter 45 Jahren mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen Altersgruppe ≤ 45 J		n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen niedrigeres TNM		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
				Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
<i>Kontrollgruppe</i>		220	0,386	-	-	-	-	-	-
TC	pT1/pT2	32	0,281	1,32	0,25	-	-	1,26	0,24
	pT3/pT4	28	0,607	5,00	0,03 e	6,46	0,01 a	0,08	0,77
TC	pN0	10	0,500	x	x	-	-	x	x
	pN+	42	0,429	0,26	0,61	x	x	3,85	0,05 i
TC	M0	62	0,484	1,90	0,17	-	-	0,12	0,73
	M1	6	0,500	x	x	x	x	x	x
DTC	pT1/pT2	24	0,292	0,83	0,36	-	-	0,25	0,62
	pT3/pT4	20	0,650	5,27	0,02 g	5,65	0,02 c	0,58	0,45
DTC	pN0	8	0,500	x	x	-	-	x	x
	pN+	30	0,467	0,71	0,40	x	x	1,47	0,23
DTC	M0	42	0,452	0,64	0,42	-	-	0,22	0,64
	M1	4	0,750	x	x	x	x	x	x
PTC	pT1/pT2	20	0,300	0,58	0,45	-	-	0,11	0,74
	pT3/pT4	16	0,750	8,15	0,004 f	7,20	0,007 b	1,51	0,22
PTC	pN0	6	0,500	x	x	-	-	x	x
	pN+	24	0,542	2,17	0,14	x	x	0,28	0,60
PTC	M0	34	0,500	1,58	0,21	-	-	0,04	0,85
	M1	4	0,750	x	x	x	x	x	x
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-	x	x
	pN+	12	0,333	x	x	x	x	2,33	0,13
MTC	M0	18	0,556	1,99	0,16	-	-	0,02	0,88
	M1	2	0	x	x	x	x	x	x

a :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,02 ; Odds Ratio = 3,95	Phi / Cramer-V = 0,328; Kontingenzkoeffizient = 0,321;
b :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,02 ; Odds Ratio = 7,00	Phi / Cramer-V = 0,447; Kontingenzkoeffizient = 0,408;
c :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,03 ; Odds Ratio = 4,51	Phi / Cramer-V = 0,358; Kontingenzkoeffizient = 0,337;
e :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,04 ; Odds Ratio = 2,46	Phi / Cramer-V = 0,142; Kontingenzkoeffizient = 0,141;
f :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,007 ; Odds Ratio = 4,77	Phi / Cramer-V = 0,186; Kontingenzkoeffizient = 0,183;
g :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,03 ; Odds Ratio = 2,95	Phi / Cramer-V = 0,148; Kontingenzkoeffizient = 0,147;
i :	Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,06	

Legende zu Tabelle 3.2-10: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, OTC, ATC, FOTC, PFTC und MTC-T-Stadien konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-11

Verteilung von IL- 6 Allelen bei Patientengruppen über 45 Jahren mit verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen

Gruppen Altersgruppe > 45 J	n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
			Chi- Quadrat- Wert	P	Chi- Quadrat- Wert	P
<i>Kontrollgruppe</i>	84	0,417	-	-	0,23	0,63
Schilddrüsenerkrankung *	446	0,448	0,29	0,59	1,61	0,21
Basedow	32	0,375	0,17	0,68	0,01	0,91
Struma diffusa	12	0,417	0,00	1,00	x	x
Struma multinodosa	242	0,426	0,02	0,89	0,002	0,96
Follikuläres Adenom	32	0,406	0,01	0,92	1,33	0,25
TC	120	0,525	2,32	0,13	0,50	0,48
FTC	18	0,500	0,42	0,52	x	x
PTC	60	0,517	1,41	0,24	0,01	0,93
MTC	28	0,571	2,03	0,15	0,66	0,42
DTC	82	0,512	1,52	0,22	0,14	0,71

Legende zu Tabelle 3.2-11: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe und der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe verglichen. Bei Struma uninodosa, FTC, OTC, ATC, FOTC und PFTC konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

Tabelle 3.2-12

Verteilung von IL-6 Allelen bei Patientengruppen über 45 Jahren mit Schilddrüsenkarzinomen in Bezug auf das TNM- Stadium

Gruppen Altersgruppe > 45 J		n (Allele)	C Frequenz	gegen Kontrolle		gegen vorhergehende Gruppe		gegen entsprechende Gruppe der anderen Altersgruppe	
				Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>	Chi- Quadrat- Wert	<i>P</i>
Kontrollgruppe		84	0,417	-	-	-	-	-	-
TC	pT1/pT2	36	0,417	0,00	1,00	-	-	1,36	0,24
	pT3/pT4	54	0,574	3,26	0,07	2,14	0,14	0,08	0,77
TC	pN0	16	0,250	1,57	0,21	-	-	x	x
	pN+	54	0,630	5,96	0,02 e	7,17	0,007 a	3,85	0,05 d
TC	M0	76	0,513	1,49	0,22	-	-	0,12	0,73
	M1	26	0,500	0,56	0,45	0,01	0,91	x	x
DTC	pT1/pT2	28	0,357	0,31	0,58	-	-	0,25	0,62
	pT3/pT4	42	0,548	1,93	0,16	2,45	0,12	0,58	0,45
DTC	pN0	14	0,214	2,07	0,15	-	-	x	x
	pN+	34	0,618	3,92	0,05 c	6,45	0,01 b	1,47	0,23
DTC	M0	58	0,500	0,96	0,33	-	-	0,22	0,64
	M1	16	0,375	0,10	0,76	0,79	0,38	x	x
PTC	pT1/pT2	20	0,350	0,30	0,59	-	-	0,11	0,74
	pT3/pT4	30	0,567	2,01	0,16	2,26	0,13	1,51	0,22
PTC	pN0	8	0,125	x	x	-	-	x	x
	pN+	26	0,615	3,15	0,08	x	x	0,28	0,60
PTC	M0	48	0,479	0,48	0,49	-	-	0,04	0,85
	M1	6	0,500	x	x	x	x	x	x
MTC	pN0	0	0	x	x	-	-	x	x
	pN+	16	0,625	2,36	0,13	x	x	2,33	0,13
MTC	M0	12	0,583	1,19	0,28	-	-	0,02	0,88
	M1	8	0,625	x	x	x	x	x	x

- a : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,01**; Phi / Cramer-V = 0,320; Kontingenzkoeffizient = 0,305; Odds Ratio = 5,10
- b : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,02**; Phi / Cramer-V = 0,367; Kontingenzkoeffizient = 0,344; Odds Ratio = 5,92
- c : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,07
- d : Exakte Signifikanz nach Fisher = 0,06
- e : Exakte Signifikanz nach Fisher = **0,02**; Phi / Cramer-V = 0,208; Kontingenzkoeffizient = 0,204; Odds Ratio = 2,38

Legende zu Tabelle 3.2-12: Die Allelverteilung wurde für jede Untergruppe mit der Kontrollgruppe, der entsprechenden Untergruppe der anderen Altersgruppe sowie der entsprechenden Untergruppe mit niedrigerem T, N oder M- Stadium verglichen. Bei FTC, OTC, ATC, FOTC, PFTC und MTC-T-Stadien konnte der Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test wegen zu geringer Häufigkeiten nicht durchgeführt werden. Die asymptotische Signifikanz wird jeweils als P angegeben.

Abkürzungen: (Zahlen beziehen sich auf die Patientengesamtgruppe) :TC = Schilddrüsenkarzinom, beinhaltet 51 Patienten mit PTC, MTC (n=34), FTC (n=10), PFTC (n=5), OTC (n=3), FOTC (n=1). DTC beinhaltet jede Art von papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom einschließlich intermediärer Typen. (*) = Summe aller in der Liste aufgeführten Einzelerkrankungsallele. P = Asymptotische Signifikanz (2-seitig), FTC = follikuläres Schilddrüsenkarzinom, PTC = papilläres Schilddrüsenkarzinom, MTC = medulläres Schilddrüsenkarzinom, OTC = onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, ATC = anaplastisches Schilddrüsenkarzinom, FOTC = follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom, PFTC = papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom

3.2.2 Verteilung der TNM-Stadien in den Schilddrüsenkarzinomgruppen (IL-6-Studie)

Tabelle 3.2-13:

	n	pT1	pT2	pT3	pT4	pTx	pN0	pN+	pNx	M0	M1	Mx	I	II	III	IV
TC	106	7	31	6	36	26	13	52	41	75	16	15	26	4	16	23
FTC	10		5	1	3	1	4	3	3	5	4	1	2		1	5
PTC	51	6	15	3	21	6	7	26	18	43	5	3	18	3	6	9
MTC	34	1	9	1	6	17		17	17	19	5	10	2		9	5
DTC	66	6	21	4	28	7	11	33	22	52	10	4	23	3	7	15

Legende zu Tabelle 3.2-13: Verteilung von TNM-Stadien in den verschiedenen Schilddrüsenkarzinomgruppen. Die IL-6 Studie umfaßte insgesamt 106 Patienten mit Schilddrüsenkarzinom (TC). Diese beinhaltete neben den oben genannten Gruppen zusätzlich 5 Patienten mit einem intermediären Karzinomtyp, der papillären Variante des follikulären Schilddrüsenkarzinoms (PFTC), 3 mit onkozytarem Schilddrüsenkarzinom (OTC), 1 mit follikulär-onkozytarem Mischtyp (FOTC), und 2 mit anaplastischem Schilddrüsenkarzinom (ATC). Die Gruppe DTC (n=66) schließt alle Patienten mit PTC (n=51), FTC (n=10) und PFTC (n=5). I-IV bezeichnet die Erkrankungsstadien nach UICC-Klassifikation von 1995 (Wittekind, 1997).

3.2.3 Verteilung von Geschlecht und Alter in den Patientengruppen (IL-6-Studie)

Tabelle 3.2-14:

	N (Patienten)	Geschlecht			Alter bei OP		
		weiblich	männlich	fehlende Werte	≤ 45 Jahre	> 45 Jahre	fehlende Werte
<i>Kontrollgruppe</i>	152	56	96	0	110	42	0
Schilddrüsen- erkrankung	380	265	115	0	141	223	16
Basedow	63	53	10	0	44	16	3
Struma diffusa	13	10	3	0	7	6	0
Struma multinodosa	164	115	49	0	42	121	1
Struma uninodosa	6	4	2	0	2	4	0
Follikuläres Adenom	28	17	11	0	10	16	2
Schilddrüsenkarzinom	106	66	40	0	36	60	10
FTC	10	6	4	0	1	9	0
PTC	51	35	16	0	19	30	2
MTC	34	19	15	0	12	14	8
OTC	3	3	0	0	1	2	0
ATC	2	0	2	0	0	2	0
FOTC	1	1	0	0	0	1	0
PFTC	5	2	3	0	3	2	0
DTC	66	43	23	0	23	41	2

Legende zu Tabelle 3.2-14: Dargestellt sind die Anzahlen der Ergebnisse in jeder Untergruppe (N), sowie deren Aufspaltung in die beiden Geschlechter und Altersgruppen. 16 Patienten mit fehlender Altersangabe wurden in die Allelfrequenzanalysen mit einbezogen, um eine ausreichende Probenhäufigkeit der Untergruppen zu gewährleisten. Dabei wird eine leichte Ungenauigkeit der Alterscharakterisierung der betroffenen Untergruppen in Kauf genommen.

3.2.4 Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht der Genotypenverteilung der IL-6-Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 152 Personen, von denen 57 den GG-Genotyp, 70 den GC-Genotyp und 25 den CC-Genotyp besaßen. Die Allelfrequenzen werden wie folgt berechnet (Russel, 1996):

$$p = \frac{(2 \times \text{Anzahl der Homozygoten}) + (\text{Anzahl der Heterozygoten})}{(2 \times \text{Gesamtanzahl der Individuen } N)} \quad \text{deswegen gilt:}$$

$$p = f(G) = \frac{(2 \times 57) + (70)}{(2 \times 152)} = 184/304 \approx 0,605263$$

$$q = 1 - p = 1 - 184/304 = 120/304 \approx 0,394737$$

Daraus ergeben sich die erwarteten Hardy-Weinberg-Verhältnisse für die Genotypen:

$$f(GG) = p^2 = (184/304)^2 \approx 0,366343; \quad f(GC) = 2pq = 2 \times (184/304) \times (120/304) \approx 0,477839;$$

$$f(CC) = q^2 = (120/304)^2 \approx 0,155817; \quad \text{für den Chi-Quadrat-Test werden jedoch die erwarteten Genotypenzahlen benötigt:}$$

	erwartet	beobachtet
$f(GG) = p^2 \times N$ $= (184/304)^2 \times 152 \approx$	55,68	57
$f(GC) = 2pq \times N$ $= 2 \times (184/304) \times (120/304) \times 152 \approx$	72,63	70
$f(CC) = q^2 \times N$ $= (120/304)^2 \times 152 \approx$	23,68	25

Der Chi-Quadrat-Wert ergibt sich als:

$$\chi^2 = \sum d^2/e = [(57 - 55,68)^2 / 55,68] + [(70 - 72,63)^2 / 72,63] + [(25 - 23,68)^2 / 23,68] \approx 0,20$$

Bei $df = 1$ Freiheitsgraden zeigt ein Chi-Quadrat-Wert von $\chi^2 = 0,20$ einen Wahrscheinlichkeitswert zwischen $P = 0,70$ und $P = 0,50$ an (Russel, 1996). Folglich ist die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, daß der Unterschied zwischen den beobachteten und den erwarteten Werten zufällig ist. Die beobachteten Genotypenzahlen entsprechen also den unter den Bedingungen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts erwarteten Anzahlen.

Tabelle 3.2-15 Verteilung von IL-6-Genotypen in Kontrollgruppen

	n Pat.	Genotyp			C Frequenz
		GG	GC	CC	
Eigene Kontrollen	152	57 (38%)	70 (46%)	25 (16%)	0,395
(Fishman et al. 1998)	383	144 (38%)	169 (44%)	70 (18%)	0,403

Legende zu Tabelle 3.2-15: Die Bestimmung des -174 G/C IL-6-Polymorphismus wurde bei 152 Patienten ohne Schilddrüsenerkrankungen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden denen gegenübergestellt, die in einer Gruppe von 383 gesunden kaukasischen Kontrollpersonen mit unbekanntem Schilddrüsenstatus aus Großbritannien (Fishman et al. 1998) gewonnen wurden. Die Genotypenverteilung in beiden Gruppen befindet sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

4. Diskussion

4.1 TGF- β 1

Die Ergebnisse, die bei der Untersuchung der großen Gruppen von benignen und malignen Schilddrüsenerkrankungen erzielt wurden, erbringen keinen Beweis für einen Einfluß von genetischen Variationen der TGF- β 1-Expression auf die Entwicklung von Strumen oder differenzierten Schilddrüsenkarzinomen. Sie deuten ebensowenig an, daß die Progression von Schilddrüsenkrebs von einer systemischen Kontrolle durch TGF- β 1 beeinflusst würde.

Die Kontrollgruppe von 88 kaukasischen Patienten, die in unserer Studie analysiert wurde, zeigte mit 26% T-Allelfrequenz am C-509T - TGF- β 1-Polymorphismus eine ähnliche Allelverteilung wie die kaukasischen Normalkollektive anderer Autoren, deren T-Allelfrequenzen 24% (Awad, El-Gamel et al. 1998) oder 31% (Grainger, Heathcote et al. 1999) waren.

Wir haben den C \rightarrow T Polymorphismus in Position -509 stromaufwärts des Startcodon des TGF- β 1-Gens untersucht, weil er signifikant mit der Plasmakonzentration von aktivem und bioaktivierbarem latentem (a+l) TGF- β 1 assoziiert ist. Er erklärt 8,2% der additiven genetischen Varianz der (a+l) TGF- β 1-Konzentration (Grainger, Heathcote et al. 1999). Dieser Polymorphismus ist wahrscheinlich auch an parakrinen Kontrollmechanismen beteiligt, da die durch Transfektionsexperimente gemessene Transkriptionsfähigkeit beim T-Allel höher war als beim C-Allel (Luedeking, DeKosky et al. 2000).

Die Wachstumssteuerung der Schilddrüse ist ein sehr langfristiger Vorgang. Zur Strumabildung ist ein exzessives Wachstum über einen langen Zeitraum nötig, wobei unbehandelte Strumen über Jahrzehnte leicht 3-10 mal so schwer werden können wie normal große Schilddrüsen. Es könnte daher vermutet werden, daß wichtige pathogenetische Faktoren über lange Zeit hinweg anwesend sein müssen. Wir haben versucht, einen konstitutiven Faktor zu finden, der das Schilddrüsenwachstum lebenslang bestimmt. Die TGF- β 1-Genexpression haben wir als Ziel unserer Analyse gewählt, weil TGF- β 1 ein gut untersuchter inhibitorischer Wachstumsregulator der Schilddrüse ist. Als ein Hauptgrund der Strumaentstehung wird ein Ausfall der TGF- β 1-vermittelten Wachstumskontrolle angesehen. Belegt wird diese Aussage hauptsächlich durch Experimente mit TGF- β 1 auf Thyreozytenkulturen. Diese In-vitro-Modelle zeigen eine vielseitige Wirkung dieses Wachstumsfaktors auf die Kontrolle der Epithelproliferation in der Schilddrüse. In Schilddrüsenfollikelzellen menschlichen Ursprungs ist TGF- β 1 ein sehr starker Proliferationsinhibitor (Grubeck-Loebenstein, Buchan et al. 1989). Außerdem inhibiert es die Reaktion von Schilddrüsenzellen auf Thyreotropin und cAMP (Taton, Lamy et al. 1993). Eine Interaktion von p53 und TGF- β 1 ist für die Wachstumskontrolle der

Schilddrüsenepithelzellen wichtig (Wynford-Thomas 1993) (Wynford-Thomas 1993). Bei Strumen wurde eine Unempfindlichkeit gegen TGF- β 1 beschrieben (Grubeck-Loebenstein, Buchan et al. 1989) (Asmis, Kaempf et al. 1996) von der angenommen wird, daß sie zu der insuffizienten Wachstumskontrolle in diesem Zusammenhang führt. In-vitro-Modelle erlauben es jedoch nicht, die tatsächliche Wirkung von TGF- β 1 auf die Manifestation der Schilddrüsenenerkrankung zu beurteilen. Unsere Ergebnisse bestätigen die vermutete Rolle von TGF- β 1 als Hauptfaktor der Strumabildung nicht (Tabelle 3.1-1).

TGF- β 1 wird von allen Leukozytenlinien produziert, und dient sowohl in autokriner als auch in parakriner Weise der Kontrolle des Aktivierungszustandes dieser Immunzellen. Es ist in der Lage, Leukozyten und andere an der Entzündungsreaktion beteiligte Zellen zu inhibieren, wenn diese aktiviert wurden (Letterio and Roberts 1998). Viele Anzeichen belegen eine Verwicklung von TGF- β 1 in die Pathogenese von Autoimmunerkrankungen. Studien mit experimenteller allergischer Enzephalomyelitis (EAE) und kollageninduzierter Arthritis (CIA) bei Mäusen und Ratten haben gezeigt, daß systemische Verabreichung von TGF- β die Symptome der Erkrankung unterdrücken (Kuruvilla, Shah et al. 1991) (Thorbecke, Shah et al. 1992) (Letterio and Roberts 1998). TGF- β 1-null-Mäuse haben einen autoimmunähnlichen Phänotyp mit Bildung von SLE-ähnlichen Autoantikörpern und Sjögren-Syndrom-ähnlichen Lymphozyteninfiltrationen in einer Vielzahl von Organen entwickelt (Dang, Geiser et al. 1995). Dies hat die Frage aufgeworfen, ob ein systemischer Mangel an verfügbarem TGF- β 1 auch beim Menschen zu einer Autoimmunerkrankung führen könnte, wie etwa die Thyreoiditis beim Morbus Basedow.

Eine Assoziation von Morbus Basedow und Allelfrequenz am C-509T - TGF- β 1-Polymorphismus konnte in unserer Studie jedoch nicht festgestellt werden. Der Grund könnte in der Vielfältigkeit der Rollen dieses Zytokins bei der Regulation von Immunfunktionen liegen. So hat TGF- β 1 nicht nur inhibitorische Funktionen, sondern wurde auch als antiapoptotischer Überlebensfaktor für T-Lymphozyten erkannt (Cerwenka and Swain 1999) (Chen and Wahl 1999).

Schilddrüsenkarzinome sind für weniger als 1% der Krebstoten in modernen Ländern verantwortlich. Dennoch sind sie eine sehr häufige Erscheinung. In systematischen Autopsiestudien wurde das papilläre Mikrokarzinom mit einer Häufigkeit von 3% bis 36% gefunden (Nasir, Chaudhry et al. 2000). Obgleich Patienten mit papillärem Mikrokarzinom in der langfristigen Nachsorge eine exzellente Prognose haben, wenn sie direkt durch beidseitige Lappenresektion behandelt werden (Hay, Grant et al. 1992), gibt es bisher noch keine Möglichkeit zu erkennen, welcher Knoten sich zu einem manifesten Karzinom entwickeln wird. Die hohe Frequenz von papillären Mikrokarzinomen bei niedriger Frequenz von manifesten PTC zeigt, daß diese Tumoren Gegenstand einer Tumorkontrolle sein

könnten. TGF- β 1, der kürzlich als eine neue Form von Tumorsuppressor mit echter haploider Insuffizienz identifiziert wurde, könnte dabei eine wichtige Rolle spielen. In einem Knock-out-Modell betrug der exprimierte Proteinspiegel bei Mäusen, die für die Deletion des TGF- β 1- Gens heterozygot waren, nur 10-30% der Proteinspiegel der Mäuse mit Wildtyp-TGF- β 1-Gen. Zudem war der Zellumsatz erhöht und die Tumorbildung gesteigert (Tang, Bottinger et al. 1998). Während der Entwicklung von Schilddrüsenkarzinomen wird die TGF- β 1-Kontrolle zunehmend außer Kraft gesetzt. TGF- β 1 vermittelt seine Wirkung, indem es an Rezeptoren vom Typ II bindet, die mit Rezeptoren vom Typ I Heterodimere bilden, was zur Aktivierung von Serin / Threonin- Kinasen führt (Cheifetz, Hernandez et al. 1990) (Wrana, Attisano et al. 1992) (Yingling, Wang et al. 1995). In jüngster Zeit wurde über eine Reduktion der mRNA und Proteinexpression des TGF- β -Rezeptors Typ II beim menschlichen papillären Schilddrüsenkarzinom berichtet (Lazzereschi, Ranieri et al. 1997) (Matoba, Sugano et al. 1998). All das deutet in die Richtung der Wichtigkeit von TGF- β 1 bei der Progression des Schilddrüsenkrebses. Die Tatsache, daß keine Assoziation bezüglich Vorhandensein (Tabelle 3.1-1) oder Ausmaß der Krebserkrankung (Größe, Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen, (siehe Tabelle 3.1-3) und Anwesenheit von transkriptionsrelevanten Variationen des TGF- β 1-Promotors festgestellt werden kann, macht es unwahrscheinlich, daß TGF- β 1 in diesem Umfeld eine solche Tumorsuppressorrolle spielt.

Die in diesem Bericht gelieferten Resultate tragen dazu bei, die in vitro erhaltenen experimentellen Ergebnisse der Situation in vivo anzupassen. Die in dieser Studie erzielten Resultate argumentieren nicht zu Gunsten einer großen Wichtigkeit mäßiger Änderungen in der TGF- β 1-Verfügbarkeit für die Entwicklung von Strumen oder Schilddrüsenkarzinomen. Diese Aussage muß mit Vorsicht aufgenommen werden, weil verschiedene Aspekte bei der Interpretation der Ergebnisse stören. Es gibt eine Reihe anderer Polymorphismen, die für die unterschiedliche TGF- β 1-Genexpression wichtig sind (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim/dispim?190180>) (Grainger, Heathcote et al. 1999) (Awad, El-Gamel et al. 1998) (Suthanthiran, Li et al. 2000). Weil organspezifische Genexpressionskontrolle wahrscheinlich bei der parakrinen Wachstumsregulation eine Rolle spielt, ist nicht klar, in wie weit der Genotyp am C-509T Genort die lokale Verfügbarkeit von TGF- β 1 beeinflusst. Es fehlt an systematischen Studien über die Wichtigkeit von systemischen gegenüber lokalen TGF- β 1-Spiegeln bei der Wachstumskontrolle der Schilddrüse. Die Beobachtungen, die im Zusammenhang mit der Alzheimerschen Erkrankung gemacht wurden, zeigen, daß die Korrelation zwischen TGF- β 1-Genotyp am C-509T-Polymorphismus und der klinischen Manifestation bei manchen Krankheitsformen schwach sein kann. Deshalb müßten extrem große Patientengruppen untersucht werden, um eine derartige Korrelation festzustellen

(Luedecking, DeKosky et al. 2000). Die beeindruckende Reihe von Anzeichen für eine Wirkung von TGF- β 1 auf die Wachstumskontrolle der Schilddrüse kann durch die Ergebnisse dieser Studie in Frage gestellt werden. Die genetische Variabilität einer polymorphen Region, welche die TGF- β 1 Expression kontrolliert, ist in keiner Weise mit der Entwicklung oder Manifestation von Strumen oder Schilddrüsenkarzinomen korreliert. Wir können mit einiger Vorsicht vermuten, daß eher Endorganresistenz als verminderte Verfügbarkeit des Liganden das führende Ereignis beim exzessiven Schilddrüsenwachstum ist. Mechanismen zur Überwindung der Endorganresistenz sollten Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

4.2 IL-6

Die Ergebnisse weisen auf eine Assoziation zwischen der Manifestation oder Progression von Schilddrüsenkarzinomen und der Expression des IL-6- Gens hin. Diese Assoziation ist auf eine signifikant erhöhte Häufigkeit des C- Allels zurückzuführen. Bei Patienten mit papillärem Schilddrüsenkarzinom war die Tumorgroße signifikant mit den Genotypen und Allelfrequenzen an der Stelle des -174 Polymorphismus assoziiert. Ein ähnlicher Trend war bei den Patienten mit follikulärem oder medullärem Schilddrüsenkarzinom festzustellen, obwohl diese Resultate nicht signifikant waren. Das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen war nur schwach mit erhöhten C- Allelfrequenzen assoziiert. Die Anwesenheit von Fernmetastasen korrelierte nicht mit dem -174 Genotyp oder den Allelhäufigkeiten. Es gab keine Assoziation zwischen dem -174 Genotyp und einer der untersuchten benignen Schilddrüsenerkrankungen.

Die Analyse des Genotyps wurde durch Restriktionsenzymverdau des G→C Polymorphismus in Position -174 stromaufwärts des Startkodons des IL-6-Gens durchgeführt. Es wurde ausschließlich aus venösem Blut isolierte DNA benutzt, um einen Einfluß von genetischer Instabilität des Tumors auf die Ergebnisse auszuschließen. Das IL-6 Gen ist auf Chromosom 7p21 lokalisiert. Nach unserem Wissen wurde für Strumen und Schilddrüsenkarzinome die Häufigkeit des Verlustes der Heterozygotie in diesem Areal bisher nicht systematisch aufgeklärt. Die Verwendung von aus dem Tumor gewonnener DNA würde daher die Möglichkeit unerkannter hemizygoter Konstellationen beinhalten. Schilddrüsenerkrankungen in der Kontrollgruppe wurden durch klinische Untersuchung durch einen Endokrinologen, eine Sonographie sowie einen normalen TSH- Wert ausgeschlossen. Die Kontrollgruppe umfaßte 152 kaukasoide Patienten aus dem selben Gebiet, um eventuellen Inhomogenitäten des genetischen Hintergrundes vorzubeugen. Sie wies mit 0,395 C-Allelfrequenz am G-174C- Polymorphismus eine ähnliche Allelverteilung

auf wie das Normalkollektiv der Arbeitsgruppe von Fishman et al., deren C-Allelfrequenz 0,403 (95% CI: 0,37- 0,44) betrug (Fishman, Faulds et al. 1998).

Der Einfluß genetischer Faktoren auf die Strumabildung wurde vor kurzer Zeit durch die Beobachtungen in einer großen Zwillingsstudie belegt (Brix, Kyvik et al. 1999). Die in der vorliegenden Studie gezeigten Daten erweisen es jedoch als unwahrscheinlich, daß eine genetische Variation der IL-6- Expression eine Schlüsselrolle in der Strumaentwicklung spielt, zumindest unter der Bedingung eines mäßigen Jodmangels. Die Allelverteilungen in den Gruppen der Patienten mit Struma multinodosa, follikulärem Adenom oder Struma diffusa entsprechen beinahe denen in der Kontrollgruppe (Tabelle 3.2-1). Indirekt könnte daraus geschlossen werden, daß IL-6 bei der Entstehung von Strumen keine wichtige Rolle spielt. Diese Beobachtung paßt zu Resultaten aus verschiedenen In-vitro-Experimenten, die keinen direkten Wachstumsmodulationseffekt von IL-6 auf kultivierte humane Follikel-epithelzellen der Schilddrüse zeigten.

Der Morbus Basedow ist eine Autoimmunerkrankung, die sowohl Beziehungen zur humoralen als auch zur zellulären Immunreaktion hat. Diese richten sich gegen Schilddrüsenepithelzellen, ein eigentümliches Merkmal, das durch Lymphozyteninfiltration repräsentiert wird, die zur Autoantikörpersynthese und autoreaktiver T-Zell-Akkumulation führt (Bartalena, Brogioni et al. 1995). Es konnte bereits eine signifikant erhöhte Serumkonzentration von IL-6 bei Patienten mit Morbus Basedow festgestellt werden (Salvi, Girasole et al. 1996) (Siddiqi, Monson et al. 1999), wobei jedoch die Frage offen bleibt, ob es sich hierbei um eine Ursache der Erkrankung oder um eine Folge der Entzündungsreaktion handelt. Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen keine signifikante Assoziation des Morbus Basedow mit der Allelfrequenz am transkriptionsrelevanten G-174C- Polymorphismus, wodurch die Annahme einer wichtigen ätiologischen Wirkung einer langfristigen Erhöhung der systemischen IL-6-Expression nicht bestätigt werden kann.

Die mit differenzierten Schilddrüsenkarzinomen erzielten Resultate argumentieren zugunsten eines Einflusses genetischer Variationen der IL-6 Expression auf die Manifestation von Karzinomen, wobei die Zahlen für das PTC (Tabelle 3.2-1) am meisten überzeugen. Bei den FTC und MTC gibt es eine Tendenz zu höheren C- Allelfrequenzen verglichen mit den normalen Kontrollen (Tabelle 3.2-1) oder der Struma multinodosa, die aber keine Signifikanz erreichen. Tabelle 3.2-3 zeigt, daß das für die niedrige Expression von IL-6 verantwortliche C- Allel in größeren Tumoren (T3 oder T4) und solchen mit Lymphknotenmetastasen überrepräsentiert ist. Unsere Studie beantwortet keine Frage nach dem Mechanismus der Verbindung zwischen genetisch festgelegter Genexpression und der Manifestation von Krebs. Trotzdem scheint vor dem Hintergrund früherer Beobachtungen das folgende Konzept einige Plausibilität zu besitzen: Papilläre Mikrokarzinome der

Schilddrüsen sind sehr häufig. Sie können entweder unauffällig bleiben, oder sich zu manifesten papillären Karzinomen entwickeln. Genetische Faktoren, welche die Immunkontrolle von Malignomen bestimmen, könnten selektive Vorteile für die Tumorbildung bieten. Es ist bekannt, daß IL-6 die Expression von MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) und CSFs (colony-stimulating factors) in Follikelepithelzellen der menschlichen Schilddrüse reguliert (Matsumura, Banba et al. 1999). Diese Zytokine sind an der Erzeugung einer Lymphozyteninfiltration der Schilddrüse beteiligt. Die klinische Relevanz einer solchen Lymphozyteninfiltration wurde kürzlich anhand einer sehr großen Patientengruppe mit papillärem Schilddrüsenkarzinom bewiesen. Die Patienten mit lymphozytischer Thyreoiditis hatten eine geringere Häufigkeit von extrathyreoidaler Infiltration, Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen, Tumorgröße und Tumorrezidiven (Loh, Greenspan et al. 1999). Eine solche Lymphozyteninfiltration läßt eine Immunabwehr gegen den Tumor vermuten, die über verschiedene Mechanismen ablaufen kann. Einer von diesen ist wahrscheinlich die Apoptose, ein zunehmend verstandener Mechanismus der Kontrolle der Integrität von Schilddrüsengewebe (Bretz, Arscott et al. 1999) (Baker 1999). Die Wirkung eines solchen immunmodulierten Mechanismus der Kontrolle von Schilddrüsenkarzinomen wurde mittlerweile auf verschiedenen Ebenen untersucht. Der Fas-Ligand (FasL) induziert Apoptose, indem er an den Fas- Rezeptor bindet, und wird von Zellen des Immunsystems exprimiert. Interessanterweise wurde kürzlich die FasL-Expression in menschlichen Schilddrüsenkarzinomen demonstriert, wo sie mit aggressiver Histologie und ungünstigem klinischen Erscheinungsbild korreliert (Mitsiades, Poulaki et al. 1999). In Cokultivierungsexperimenten haben solche FasL- exprimierenden Schilddrüsenkarzinomzellen die Apoptoserate in Fas- exprimierenden Zielzellen erhöht (Mitsiades, Poulaki et al. 1999). Deswegen könnte die FasL-Expression als ein Weg zur Umgehung der Immunabwehr betrachtet werden, seit bekannt ist, daß sie besondere Stellen mit reduzierter Immunantwort („immune privileged sites“) vor Lymphozyten schützt (Baker 1999).

Weiterhin ist eine Wechselwirkung von IL-6 mit Apoptosewegen der Tumorkontrolle in der Schilddrüse wahrscheinlich. Eine Vorbehandlung mit anderen proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 und Tumornekrosefaktor α (TNF α) ist notwendig, um eine massive Fas-vermittelte Apoptose von Schilddrüsenzellen zu ermöglichen, weil der Fas- Signalweg normalerweise in der überwiegenden Zahl der Thyreozyten blockiert ist (Bretz, Arscott et al. 1999). Es wurde in vielen Artikeln gezeigt, welche direkte Rolle IL-6 bei der Regulation der Apoptose spielt. Wichtig ist hier das IL-6 / löslicher IL-6 Rezeptor- System („trans signaling“) der IL-6 Signalübertragung, das die Apoptoseresistenz von T- Zellen vermittelt (Atreya, Mudter et al. 2000). Folglich könnte die niedrige oder fehlende Expression von IL-6 in die

intratumorale T- Zell- Apoptose verwickelt sein, indem die Apoptoseresistenz herabgesetzt wird.

Ein anderer wichtiger Punkt ist die Rolle von IL- 6 beim Zusammenspiel der Zytokine. Der in der vorliegenden Studie untersuchte -174 G/C- Polymorphismus des IL-6 Promotors ist nicht nur für die basalen IL-6-Serumspiegel verantwortlich, sondern auch für die Induzierbarkeit der Transkription des IL-6- Gens durch Immunstimulatoren oder IL-1 (Fishman, Faulds et al. 1998). Deshalb könnte der CC- Genotyp verschiedene, für die lokale Immunkontrolle des Tumors wichtige, Signalkaskaden stören. Der direkte Nachweis für die Wichtigkeit von beiden, sowohl IL-1 als auch IL-6, auf das Wachstum von Schilddrüsenzellen stammt aus Experimenten mit Thyreozyten und antigenpräsentierenden Zellen von Wistar- Ratten. In diesem Modell verhindert das Zugeben von inaktivierenden IL-6-Antikörpern die durch kokultivierte dendritische Zellen bewirkte Wachstumsinhibition der Thyreozyten (Simons, Delemarre et al. 1998). In diesem Zusammenhang macht unser Befund einer Korrelation zwischen IL-6-Promotorgenotyp und der Manifestation und Größe von Schilddrüsenkarzinomen die Notwendigkeit von In-vitro-Experimenten deutlich, welche die Rolle von IL-6 bei der Kontrolle des Krebswachstums betrachten. Darin könnten Thyreoideakarzinome schließlich wegen ihrer wichtigen Immunkontrollmechanismen als ein Modellsystem dienen.

Wir möchten unterstreichen, daß die durch Untersuchung der IL-6- Promotorvarianten erhaltenen Resultate kaum mit solchen vergleichbar sind, die durch Messung zirkulierender IL-6- Serumspiegel gewonnen wurden, weil sie im Gegensatz zu den Serumspiegeln weniger anfällig sind, das Ausmaß der Erkrankung und der Gewebeerstörung im Tumor oder das Ausmaß des Entzündungsprozesses wiederzugeben. Eine solche Korrelation wurde schon früher bei Schilddrüsenerkrankungen erkannt. Der IL-6-Serumspiegel stieg signifikant an, wenn eine Feinnadelaspirationsbiopsie der Thyreoidea durchgeführt wurde. Noch deutlicher war der Effekt nach Gewebeerstörung durch perkutane, intranoduläre Ethanolinjektion. (Bartalena, Brogioni et al. 1994). Folglich geben IL-6-Serumspiegel wahrscheinlich nicht die Immunantwort gegen den Tumor, sondern eher den Umfang der mit der Tumorerkrankung verbundenen Gewebeerstörung wieder. Hinzu kommt, daß manche Tumoren selber IL-6 produzieren (Fiore, Pollina et al. 1997).

Die Beobachtung einer Assoziation von genexpressionsrelevanten IL-6-Promotorvarianten mit der Manifestation von Schilddrüsenkarzinomen beweist keine mechanistische Beziehung irgendeiner Art. Im Gegensatz zur Untersuchung von IL-6-Serumspiegeln, die das Ausmaß der Tumorerkrankung wiedergeben, erlaubt sie es, sich der Frage zu nähern, ob die IL-6-Expression in irgend einer Weise signifikant an der parakrinen Tumorkontrolle beteiligt ist. Die Resultate richten unsere Aufmerksamkeit auf die Notwendigkeit detaillierter in-vitro-

Experimente, um die Rolle von IL-6 bei der Immunkontrolle von Schilddrüsenkrebs und als Faktor der Tumoranfälligkeit aufzuklären.

5. Zusammenfassung

Zytokine und Wachstumsfaktoren spielen eine wichtige Rolle bei der Regelung des Wachstumsverhaltens, der Gewebeintegrität und der Immunreaktionen bei benignen und malignen Schilddrüsenerkrankungen. Eine Untersuchung genetischer Veränderungen, welche die Höhe der Serumspiegel dieser Stoffe lebenslang beeinflussen, ermöglicht sowohl eine Betrachtung der Botenstoffe als Ursache der Erkrankung, als auch eine Identifikation genetischer Risikofaktoren. In der vorliegenden Arbeit wird die Frage untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen der Ausprägung von transkriptionsrelevanten Polymorphismen in den Promotorregionen des Interleukin-6 (IL-6) - Gens und des Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) - Gens und dem Auftreten von Schilddrüsenerkrankungen gibt. Die Bestimmung der Genotypen an diesen Polymorphismen erfolgte durch DNA-Isolation aus venösem Blut, Polymerase-Kettenreaktion, sequenzspezifischen Restriktionsenzymverdau der Amplimere, und Agarosegelelektrophorese.

TGF- β 1 ist der stärkste Proliferationsinhibitor von normalen Follikel epithelzellen der Schilddrüse in vitro. Am C-509T- Polymorphismus ist das T-Allel mit einer signifikant höheren TGF- β 1-Expression verbunden als das C-Allel. Keine der Patientengruppen mit multinodulären Knotenstrumen, diffusen Strumen, follikulären Adenomen, Morbus Basedow oder Schilddrüsenkarzinomen hatte am C-509T-TGF- β 1 – Polymorphismus im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikant unterschiedliche Allelfrequenz. Die Ergebnisse erbringen keinen Beweis für einen Einfluß von genetischen Variationen der TGF- β 1-Expression auf die Entwicklung von Strumen oder differenzierten Schilddrüsenkarzinomen.

In der Promotorregion des IL-6-Gens liegt ein -174 G/C- Polymorphismus, wobei das C-Allel mit einer verminderten IL-6-Expression verbunden ist. In der Gruppe der differenzierten Schilddrüsenkarzinome und der papillären Schilddrüsenkarzinome (PTC) wurde eine gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöhte Häufigkeit des C-Allels beobachtet, ebenso bei größeren Karzinomen gegenüber kleineren Karzinomen. Auch in der Gruppe der Karzinompatienten mit Lymphknotenmetastasen war die C-Allel-Frequenz gegenüber der Kontrollgruppe erhöht, während beim Vergleich der lymphknotennegativen Patienten mit der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied festgestellt wurde. Die benignen Schilddrüsenerkrankungen zeigten keine signifikante Assoziation mit der G-174C-Allelfrequenz. Die Ergebnisse zeigen eine Assoziation zwischen der Manifestation oder Progression von Schilddrüsenkarzinomen und der Expression des IL-6- Gens. Dies weist auf die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen der Rolle von IL-6 bei der Immunkontrolle von Karzinomen der Schilddrüse hin.

6. Glossar

- Allel** Eine von zwei oder mehr alternativen Formen eines einzigen Genortes. Verschiedene Allele eines Gens haben jeweils eine eigene Nukleotidsequenz, und ihre Aktivität bezieht sich auf denselben biochemischen Prozeß, obwohl ihre individuellen Phänotypen sich unterscheiden können.
- Allelfrequenz** Die Häufigkeit eines Allels an einem bestimmten Genort, die bei den Individuen einer Population auftritt.
- AMP** Abk. f. Adenosinmonophosphat
- Amplifikation** Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes mit Hilfe der →PCR
- Amplimer** DNA-Abschnitt, der mit Hilfe der →PCR vervielfältigt wurde
- Annealing** (engl. f. kühlen, ausglühen) Vorgang des Bindens eines Oligonukleotidprimers an eine spezifische Sequenz eines DNA-Einzelstranges während des Abkühlungsschrittes der →PCR.
- ATC** Abk. f. *anaplastic thyroid carcinoma*, anaplastisches Schilddrüsenkarzinom
- C-509T-TGF-β1-Polymorphismus** Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus in Position -509, also 509 Basenpaare stromaufwärts des Transkriptionsstartsites des TGF-β1-Gens. Es liegt ein Basenaustausch von C zu T vor, wodurch eine Restriktionsschnittstelle zerstört wird.
- Chromosom** Das genetische Material der Zelle, in einem Komplex mit Proteinen, organisiert in einer Anzahl von linearen Strukturen. Wörtlich bedeutet es „farbiger Körper“, weil die fadenartigen Strukturen unter dem Mikroskop nur nach Anfärbung sichtbar sind.
- Codon** Eine Gruppe von drei benachbarten Nukleotiden in einem mRNA-Molekül, die entweder eine Aminosäure in einer Polypeptidkette, oder das Ende der Polypeptidsynthese festlegen.
- DNA** Abk. f. *deoxyribonucleic acid*, Desoxyribonukleinsäure, polymeres Molekül, das aus Desoxyribonukleotid-Bausteinen besteht, und in Form einer doppelsträngigen Doppelhelix das genetische Material der meisten Organismen bildet.
- DTC** Abk. f. *differentiated thyroid carcinoma*, differenziertes Schilddrüsenkarzinom
- EDTA** Abk. f. *ethylene diamine tetraacetic acid*, Ethylendiamintetraessigsäure
- Expression** →Genexpression
- FOTC** Abk. f. *follicular-oxiphilic thyroid carcinoma*, follikulär-onkozytäres Schilddrüsenkarzinom
- FTC** Abk. f. *follicular thyroid carcinoma*, follikuläres Schilddrüsenkarzinom
- G-174C-IL-6-Polymorphismus** Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus in Position -174, also 174 Basenpaare stromaufwärts des Transkriptionsstartsites des IL-6-Gens. Es liegt ein Basenaustausch von G zu C vor, wodurch eine Restriktionsschnittstelle entsteht.
- Gen** Der bestimmende Faktor eines Charakteristikums eines Organismus. Genetische Information wird in Form von DNA kodiert, die für die Unterschiedlichkeit der Arten und Individuen verantwortlich ist. Die Nukleotidsequenz eines Gens spezifiziert ein Polypeptid oder ein RNA-Molekül und unterliegt der Veränderung durch Mutation.
- Genetische Varianz** Genetische Quelle phänotypischer Variationen zwischen Individuen einer Population. Additive genetische Varianz: Genetische Varianz, die sich durch den additiven Effekt von verschiedenen Genen auf den Phänotyp ergibt.
- Genexpression** Der Grad, in welchem ein bestimmter Genotyp im Phänotyp ausgedrückt wird.
- Genotyp** Die vollständige genetische Zusammensetzung eines Organismus.

- Haploid** Die einfach vorhandene Erbanlage.
- Haploide Insuffizienz** Bei Deletion eines Allels wird nur ein Bruchteil der Proteinmenge exprimiert wie bei Vorhandensein beider Allele.
- Hardy-Weinberg-Equilibrium** (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, Hardy-Weinberg-Gesetz) Eine Weiterführung der Mendel'schen Gesetze der Vererbung, die das erwartete Verhältnis zwischen Genhäufigkeiten in natürlichen Populationen und den Häufigkeiten von Individuen verschiedener Genotypen in derselben Population beschreibt.
- Hemizygot** Zustand bei Individuen, die ein Chromosom mit einem Allel eines bestimmten Gens haben, aber kein weiteres Allel dieses Gens besitzen (z.B.: X-chromosomale Gene bei Männern)
- Heritability** (Erblichkeit) Der Anteil der phänotypischen Variationen in einer Population, der auf genetische Faktoren zurückzuführen ist.
- IL-6** Abk. f. Interleukin-6
- Inversion** Eine chromosomale Mutation, bei der ein Segment eines Chromosoms herausgeschnitten, und dann in einer Orientierung von 180° zur ursprünglichen Orientierung wieder eingesetzt wird.
- Knock-out-Modell** (Knockout-Maus) Tiermodell, bei dem ein bestimmtes Gen nur in einen funktionslosen Zustand vorhanden ist. Diese Tiere zeigen einen Null-Phänotyp für dieses Gen, d.h. einen Phänotyp, der aus der vollständigen Abwesenheit des Genproduktes resultiert.
- mRNA** (*messenger RNA*) Das RNA-Molekül, das die kodierte Information für die Aminosäuresequenz eines Proteins enthält.
- MTC** Abk. f. *medullary thyroid carcinoma*, medulläres Schilddrüsenkarzinom
- Mutation** Jede feststellbare und erbliche Veränderung des genetischen Materials, die nicht durch genetische Rekombination verursacht wurde.
- Oligonukleotidprimer** →Primer
- Onkogen** Ein Gen, dessen Aktivität die Zellproliferation fördert. Onkogene sind veränderte Formen von Proto-Onkogenen.
- OTC** Abk. f. *oxyphilic thyroid carcinoma*, onkozytäres Schilddrüsenkarzinom
- PCR** Abk. f. *polymerase chain reaction*, Polymerase-Kettenreaktion, Methode, die benutzt wird, um aus einer DNA-Mixtur definierte DNA-Sequenzen selektiv und wiederholt zu replizieren.
- PFTC** Abk. f. *papillary-follicular thyroid carcinoma*, papillär-follikuläres Schilddrüsenkarzinom
- Polymorphismus** → Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
- Primer** eine vorgeformte Polynukleotidkette, zu welcher bei der DNA-Replikation neue Nukleotide hinzugefügt werden können
- Promotor** Eine spezifische regulatorische Nukleotidsequenz in der DNA, an welche die RNA-Polymerase zur Initiation der Transkription bindet.
- PTC** Abk. f. *papillary thyroid carcinoma*, papilläres Schilddrüsenkarzinom
-
- Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus** Aus der unterschiedlichen Verteilung von Schnittstellen (z.B. durch Punktmutationen entstanden) für Restriktionsenzyme resultierende unterschiedliche Fragmentlängen der geschnittenen oder nicht geschnittenen DNA-Teilstücke. Restriktionsfragmente verschiedener Länge werden mit Hilfe von Elektrophoresegelel nachgewiesen.
- Restriktionsenzym** (Restriktionsendonuklease) Enzyme, die für die DNA-Analyse und die Konstruktion rekombinanter DNA-Moleküle wegen ihrer Fähigkeit, doppelsträngige DNA-Moleküle an spezifischen Nukleotidpaarsequenzen zu schneiden, wichtig sind.
- Restriktionsverdau** Vorgang des Schneidens doppelsträngiger DNA-Moleküle an spezifischen Nukleotidpaarsequenzen durch Restriktionsenzyme.

- RFLP** Abk. f. *restriction fragment length polymorphism*
→Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
- RNA** Abk. f. *ribonucleic acid*, Ribonukleinsäure
- Rückwärtsprimer** Bei der PCR verwendeter Primer für den Rückwärtsstrang, zu dem bei der Extension des komplementären Stranges neue Nukleotide entgegen der Leserichtung des Gens hinzugefügt werden. Wird zusammen mit einem Vorwärtsprimer verwendet.
- SLE** Abk. f. systemischer Lupus erythematoses
- SMAD** Abk. f. *SMA/MAD related* (MAD und SMA gehören zu den ersten, bei *Drosophila* bzw. *C. elegans* entdeckten Mitgliedern der SMAD-Familie) Gruppe von Proteinen, die der intrazellulären Signalübertragung der TGF- β -Familie dient.
- Startcodon** Gruppe von drei benachbarten Nukleotiden (AUG) in der mRNA, die das Startsignal für die Polypeptidsynthese bildet.
- STAT** Abk. f. *signal transducer and activator of transcription*, Proteingruppe, die der intrazellulären Signalübertragung und der Regulation der Genexpressivität der IL-6-Familie dient.
- TC** Abk. f. *thyroid carcinoma*, Schilddrüsenkarzinom
- TGF- β 1** Abk. f. *transforming growth factor- β 1*
- Transfektion** Künstliches Einbringen von DNA-Sequenzen in eine Zelle.
- Transformation** (a) Der Vorgang, bei dem genetische Information mit Hilfe extrazellulärer DNA-Teile bei Bakterien übertragen wird. (b) maligne Entartung von eukaryontischen Zellen durch chemische oder physikalische Noxen oder onkogene Viren.
- Transkription** Der Transfer von genetischer Information von einem doppelsträngigen DNA-Molekül auf ein einzelsträngiges RNA-Molekül. Sie wird auch RNA-Synthese genannt.
- Transkriptionsfaktoren** Spezifische Proteine, die von jeder der drei eukaryotischen RNA-Polymerasen für die Initiation der Transkription benötigt werden. Jede Polymerase benutzt ihren eigenen Satz Transkriptionsfaktoren.
- Transkriptionsstartsite** Auf den Promotor folgende DNA-Region, an der die RNA-Synthese beginnt.
- Translokation** (a) Eine chromosomale Mutation, die einen Wechsel in der Position eines Chromosomensegments (oder mehrerer Segmente) und der Gensequenz die es beinhaltet, umfaßt. (b) Bei der Polypeptidsynthese versteht man unter Translokation die Bewegung des Ribosoms, Codon für Codon, entlang der mRNA in Richtung des 3' Endes.
- Tumorsuppressorgene** Gene, deren Produkte die Fähigkeit haben, die charakteristische unkontrollierte Zellproliferation von Krebszellen zu unterdrücken.
- Vorwärtsprimer** Bei der PCR verwendeter Primer für den Vorwärtsstrang, zu dem bei der Extension des komplementären Stranges neue Nukleotide in Leserichtung des Gens hinzugefügt werden. Wird zusammen mit einem Rückwärtsprimer verwendet.
- Zytokine** Von einer Vielzahl von Zellarten gebildete und sezernierte Substanzen, die als interzelluläre Mediatoren den Aktivierungszustand von Zellen beeinflussen. Hierzu gehören z.B. Lymphokine, Interleukine, Monokine, Wachstumsfaktoren.

Literatur: (Russel, 1996), (Pschyrembel, 1994)

7. Literatur

1. Mazzaferri, E.L. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med* **328**, 553-9 (1993).
2. Langer, P. Minireview: discussion about the limit between normal thyroid goiter. *Endocr Regul* **33**, 39-45 (1999).
3. Smyth, P.P., Darke, C., Parkes, A.B., Smith, D.F., John, R., Hetherington, A.M., Lazarus, J.H.: Assessment of goiter in an area of endemic iodine deficiency. *Thyroid* **9**, 895-901 (1999).
4. Schulte, K. & Röher, H. Der Schilddrüsenknoten: molekulargenetische und zytogenetische Aspekte. in *Viszeralchirurgie* **02** 95-101 (2000).
5. Brix, T.H., Kyvik, K.O. & Hegedus, L. Major role of genes in the etiology of simple goiter in females: a population-based twin study. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 3071-5 (1999).
6. Nasir, A., Chaudhry, A.Z., Gillespie, J. & Kaiser, H.E. Papillary microcarcinoma of the thyroid: a clinico-pathologic and prognostic review. *In Vivo* **14**, 367-76 (2000).
7. Hay, I.D., Grant, C.S., van Heerden, J.A., Goellner, J.R., Bergstralh, E.J.: Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 535 cases observed in a 50-year period. *Surgery* **112**, 1139-46; discussion 1146-7 (1992).
8. Goretzki, P., Simon, D., Dotzenrath, C., Schulte, K. & Röher, H. Growth regulation of thyroid and thyroid tumors in humans. *World J Surg* **24**, 913-22 (2000).
9. Goretzki, P. & Schulte, K. Bedeutung von Onkogenen in Entstehung und Prognose von differenzierten Schilddrüsenkarzinomen. *Internist* **39**, 584-587 (1998).
10. Massagué, J. TGF- β Signal Transduction. *Annu Rev Biochem* **67**, 753-791 (1998).
11. Blobel, G.C., Schiemann, W.P. & Lodish, H.F. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* **342**, 1350-8 (2000).
12. Stroschein, S., Wang, W., Zhou, S., Zhou, Q. & Luo, K. Negative feedback regulation of TGF-beta signaling by the SnoN oncoprotein. *Science* **286**, 771-774 (1999).
13. Sporn, M. & Roberts, A. Transforming growth factor- β : recent progress and new challenges. *Journal of Cell Biology* **119**, 1017-1021 (1992).
14. Arrick, B.A. & Derynck, R. Growth regulation by transforming growth factor-beta. *Cancer Treat Res* **63**, 255-64 (1992).
15. Derynck, R. TGF-beta-receptor-mediated signaling. *Trends Biochem Sci* **19**, 548-53 (1994).
16. Derynck, R. & Feng, X.H. TGF-beta receptor signaling. *Biochim Biophys Acta* **1333**, F105-50 (1997).
17. Miller, D.A., Pelton, R.W., Derynck, R. & Moses, H.L. Transforming growth factor-beta. A family of growth regulatory peptides. *Ann N Y Acad Sci* **593**, 208-17 (1990).

18. Grubeck-Loebenstien, B., Buchan, G., Sadeghi, R., Kissonerghis, M., Londei, M., Turner, M., Pirich, K., Roka, R., Niederle, B., Kassal, H. Transforming growth factor beta regulates thyroid growth. Role in the pathogenesis of nontoxic goiter. *J Clin Invest* **83**, 764-70 (1989).
19. Taton, M., Lamy, F., Roger, P.P. & Dumont, J.E. General inhibition by transforming growth factor beta 1 of thyrotropin and cAMP responses in human thyroid cells in primary culture. *Mol Cell Endocrinol* **95**, 13-21 (1993).
20. Letterio, J.J. & Roberts, A.B. Regulation of immune responses by TGF- β . *Annu. Rev. Immunol.* **16**, 137-61 (1998).
21. Dang, H., Geiser, A.G., Letterio, J.J., Nakabayashi, T., Kong, L., Fernandes, G., Talal, N. SLE-like autoantibodies and Sjogren's syndrome-like lymphoproliferation in TGF- β knockout mice. *J Immunol* **155**, 3205-12 (1995).
22. Tang, B., Bottinger, E.P., Jakowlew, S.B., Bagnall, K.M., Mariano, J., Anver, M.R., Letterio, J.J., Wakefield, L.M. Transforming growth factor-beta1 is a new form of tumor suppressor with true haploid insufficiency. *Nat Med* **4**, 802-7 (1998).
23. Blaydes, J.P. & Wynford-Thomas, D. Loss of responsiveness to transforming growth factor β (TGF β) is tightly linked to tumorigenicity in a model of thyroid tumour progression. *Int J Cancer* **65**, 525-30 (1996).
24. Coppa, A., Mincione, G., Lazzereschi, D., Ranieri, A., Lucigniano, B., Scarpa, S., Ragano-Caracciolo, M., Colletta, G. Restored expression of transforming growth factor beta type II receptor in k-ras-transformed thyroid cells, TGF beta-resistant, reverts their malignant phenotype. *J Cell Physiol* **172**, 200-8 (1997).
25. Lazzereschi, D., Ranieri, A., Mincione, G., Taccogna, S., Nardi, F., Colletta, G. Human malignant thyroid tumors displayed reduced levels of transforming growth factor beta receptor type II messenger RNA and protein. *Cancer Res* **57**, 2071-6 (1997).
26. Matoba, H., Sugano, S., Yamaguchi, N. & Miyachi, Y. Expression of transforming growth factor-beta1 and transforming growth factor-beta Type-II receptor mRNA in papillary thyroid carcinoma. *Horm Metab Res* **30**, 624-8 (1998).
27. Kim, S.J., Jeang, K.T., Glick, A.B., Sporn, M.B. & Roberts, A.B. Promoter sequences of the human transforming growth factor-beta 1 gene responsive to transforming growth factor-beta 1 autoinduction. *J Biol Chem* **264**, 7041-5 (1989).
28. Kim, S.J., Denhez, F., Kim, K.Y., Holt, J.T., Sporn, M.B., Roberts, A.B. Activation of the second promoter of the transforming growth factor- beta 1 gene by transforming growth factor-beta 1 and phorbol ester occurs through the same target sequences. *J Biol Chem* **264**, 19373-8 (1989).
29. Grainger, D.J., Heathcote, K., Chiano, M., Snieder, H., Kemp, P.R., Metcalfe, J.C., Carter, N.D., Spector, T.D. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1. *Hum Mol Genet* **8**, 93-7 (1999).
30. Luedecking, E.K., DeKosky, S.T., Mehdi, H., Ganguli, M. & Kamboh, M.I. Analysis of genetic polymorphisms in the transforming growth factor-beta1 gene and the risk of Alzheimer's disease. *Hum Genet* **106**, 565-9 (2000).

31. Wilders-Truschnig, M.M., Kabel, P.J., Drexhage, H.A., Beham, A., Leb, G., Eber, O., Hebenstreit, J., Loidolt, D., Dohr, G., Lanzer, G. Intrathyroidal dendritic cells, epitheloid cells, and giant cells in iodine deficient goiter. *Am J Pathol* **135**, 219-25 (1989).
32. Mooij, P., de Wit, H.J., Bloot, A.M., Wilders-Truschnig, M.M. & Drexhage, H.A. Iodine deficiency induces thyroid autoimmune reactivity in Wistar rats. *Endocrinology* **133**, 1197-204 (1993).
33. Simons, P.J., Delemarre, F.G. & Drexhage, H.A. Antigen-presenting dendritic cells as regulators of the growth of thyrocytes: a role of interleukin-1beta and interleukin-6. *Endocrinology* **139**, 3148-56 (1998).
34. Yamazaki, K., Yamada, E., Kanaji, Y., Shizume, K., Wang, D.S., Maruo, N., Obara, T., Sato, K Interleukin-6 (IL-6) inhibits thyroid function in the presence of soluble IL-6 receptor in cultured human thyroid follicles. *Endocrinology* **137**, 4857-63 (1996).
35. Torpy, D.J., Tsigos, C., Lotsikas, A.J., Defensor, R., Chrousos, G.P., Papanicolaou, D.A. Acute and delayed effects of a single-dose injection of interleukin-6 on thyroid function in healthy humans. *Metabolism* **47**, 1289-93 (1998).
36. Papanicolaou, D.A. & Vgontzas, A.N. Interleukin-6: the endocrine cytokine [editorial; comment]. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 1331-3 (2000).
37. Hirano, T., Ishihara, K. & Hibi, M. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* **19**, 2548-56 (2000).
38. Salvi, M., Girasole, G., Pedrazzoni, M., Passeri, M., Giuliani, N., Minelli, R., Raverman, L.E., Roti, E. Increased serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor in patients with Graves` disease. *J Clin Endocrinol Metab* **81**, 2976-9 (1996).
39. Siddiqi, A., Monson, J., Wood, D., Besser, G. & Burrin, G. Serum cytokines in thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 435-439 (1999).
40. Brix, T., Christensen, K., Holm, N., Harvald, B. & Hegedus, L. A population based study of Graves` disease in Danish twins. *Clin Endocrinol (Oxf)* **48**, 397-400 (1998).
41. Loh, K.C., Greenspan, F.S., Dong, F., Miller, T.R. & Yeo, P.P. Influence of lymphocytic thyroiditis on the prognostic outcome of patients with papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 458-63 (1999).
42. Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J.S., Humphries, S., Woo, P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* **102**, 1369-76 (1998).
43. Castell, J.V., Geiger, T., Gross, V., Andus, T., Walter, E., Hirano, T., Kishimoto, T., Heinrich, P.C. Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *Eur J Biochem* **177**, 357-61 (1988).
44. Schulte, C., Goebell, H., Röher, H. & Schulte, K. IL-6 as the mediator of inflammation associated bone loss in IBD. *Inflamm Bowel Disease* (submitted).

45. Fernandez-Real, J.M., Broch, M., Vendrell, J., Gutierrez, C., Casamitjana, R., Pugeat, M., Richart, C., Ricart, W. Interleukin-6 gene polymorphism and insulin sensitivity. *Diabetes* **49**, 517-20 (2000).
46. Fernandez-Real, J.M., Broch, M., Vendrell, J., Richart, C. & Ricart, W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 1334-9 (2000).
47. Wittekind, C. & Wagner, G. *TNM-Klassifikation maligner Tumoren*, (Springer - Verlag, Berlin - Heidelberg, 1997).
48. Russel, P. *Genetics*, (Harper Collins College Publishers, New York, 1996).
49. Pschyrembel, W *Klinisches Wörterbuch*, (de Gruyter, Berlin, New York, 1994)
50. Awad, M.R., El-Gamel, A., Hasleton, P., Turner, D.M., Sinnott, P.J., Hutchinson, I.V. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta1 gene: association with transforming growth factor-beta1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation* **66**, 1014-20 (1998).
51. Wynford-Thomas, D. Molecular basis of epithelial tumorigenesis: the thyroid model. *Critical Reviews in Oncogenesis* **4**, 1-23 (1993).
52. Wynford-Thomas, D. In vitro models of thyroid cancer. *Cancer Surveys* **16**, 115-134 (1993).
53. Asmis, L.M., Kaempf, J., von Gruenigen, C., Kimura, E.T., Wagner, H.E., Studer, H. Acquired and naturally occurring resistance of thyroid follicular cells to the growth inhibitory action of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1). *J Endocrinol* **149**, 485-96 (1996).
54. Kuruvilla, A., Shah, R., Hochwald, G.M., Liggitt, H.D., Palladino, M.A., Thorbecke, G.J. Protective effect of transforming growth factor β 1 on experimental autoimmune diseases in mice. *Immunology* **88**, 2918-2921 (1991).
55. Thorbecke, G., Shah, R., Leu, C.H., Kuruvilla, A.P., Hardison, A.M., Palladino, M.A. Involvement of endogenous tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor β during induction of collagen type II arthritis in mice. *Immunology* **89**, 7375-7379 (1992).
56. Cerwenka, A. & Swain, S.L. TGF- β 1: immunosuppressant and viability factor for T lymphocytes. *Microbes and Infection* **1**, 1291-1296 (1999).
57. Chen, W. & Wahl, S.M. Manipulation of TGF- β to control autoimmune and chronic inflammatory diseases. *Microbes and Infection* **1**, 1367-1380 (1999).
58. Cheifetz, S., Hernandez, H., Laiho, M., ten Dijke, P., Iwata, KK, Massagué, J. Distinct transforming growth factor- β (TGF- β) receptor subsets as determinants of cellular responsiveness to three TGF- β isoforms. *J Biol Chem* **265**, 20533-20538 (1990).
59. Wrana, J.L., Attisano, L., Carcamo, J., Zentella, A., Doody, J., Laiho, M., Wang, X.F., Massague, J. TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. *Cell* **71**, 1003-14 (1992).
60. Yingling, J., Wang, X. & Bassing, C. Signaling by the transforming growth factor- β receptors. *Biochim Biophys Acta* **1242**, 115-136 (1995).

61. Suthanthiran, M., Li, B., Song, J.O., Ding, R., Sharma, V.K., Schwartz, J.E. Transforming growth factor-beta 1 hyperexpression in African-American hypertensives: A novel mediator of hypertension and/or target organ damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 3479-84 (2000).
62. Bartalena, L., Brogioni, S., Grasso, L. & Martino, E. Interleukin-6 and the thyroid. *Eur J Endocrinol* **132**, 386-93 (1995).
63. Matsumura, M., Banba, N., Motohashi, S. & Hattori, Y. Interleukin-6 and transforming growth factor-beta regulate the expression of monocyte chemoattractant protein-1 and colony-stimulating factors in human thyroid follicular cells. *Life Sci* **65**, L129-35 (1999).
64. Bretz, J.D., Arscott, P.L., Myc, A. & Baker, J.R., Jr. Inflammatory cytokine regulation of Fas-mediated apoptosis in thyroid follicular cells. *J Biol Chem* **274**, 25433-8 (1999).
65. Baker, J.R., Jr. Dying (apoptosing?) for a consensus on the Fas death pathway in the thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 2593-5 (1999).
66. Mitsiades, N., Poulaki, V., Mastorakos, G., Tseleni-Balafouta, S.T., Kotoula, V., Koutras, D.A., Tsokos, M. Fas ligand expression in thyroid carcinomas: a potential mechanism of immune evasion [see comments]. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 2924-32 (1999).
67. Atreya, R., Mudter, J., Finotto, S., Mullberg, J., Jostock, T., Wirtz, S., Schutz, M., Bartsch, B., Holtmann, M., Becker, C., Strand, D., Czaja, J., Schlaak, J.F., Lehr, H.A., Autschbach, F., Schurmann, G., Nishimoto, N., Yoshizaki, K., Ito, H., Kishimoto, T., Galle, P.R., Rose-John, S., Neurath, M.F. Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against apoptosis in chronic intestinal inflammation: evidence in crohn disease and experimental colitis in vivo. *Nat Med* **6**, 583-8 (2000).
68. Bartalena, L., Brogioni, S., Grasso, L., Rago, T., Vitti, P., Pinchera, A., Martino, E. Interleukin-6: a marker of thyroid-destructive processes? *J Clin Endocrinol Metab* **79**, 1424-7 (1994).
69. Fiore, L., Pollina, L.E., Fontanini, G., Casalone, R., Berlingieri, M.T., Giannini, R., Pacini, F., Miccoli, P., Toniolo, A., Fusco, A., Basolo, F. Cytokine production by a new undifferentiated human thyroid carcinoma cell line, FB-1. *J Clin Endocrinol Metab* **82**, 4094-100 (1997).

8. Lebenslauf

Name: Jan Alexander Mewes

Geburtsdatum: 11.12.1974

Geburtsort: Hilden

Schulbildung: 1981 – 1985: Städt. Gemeinschafts – Grundschule in Langenfeld

1985 – 1994: Konrad – Adenauer – Gymnasium in Langenfeld

Juni 1994: Abitur

Studium: Studium der Humanmedizin an der Heinrich – Heine – Universität
Düsseldorf seit Oktober 1994

Ärztliche Vorprüfung im August 1996

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im August 1997

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im September 1999

Tätigkeit im Forschungslabor der Klinik für Allgemein Chirurgie und
Unfallchirurgie der Universität Düsseldorf bis Oktober 2000

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im November 2001

Praktisches Jahr: Oktober 2000 – Februar 2001: Chirurgische Klinik,
Heinrich – Heine – Universität Düsseldorf

Februar 2001 – Mai 2001: Department of Internal Medicine, Tulane
University Medical School, New Orleans, Louisiana, USA

Juni 2001 – September 2001: Neurochirurgische Klinik,
Heinrich – Heine – Universität Düsseldorf

Düsseldorf, den 12.12.2001

Jan Alexander Mewes