

Universität zu Lübeck

Klinik für Allgemeine Chirurgie

(Prof. Dr. med. Tobias Keck)

In Zusammenarbeit mit der Klinik für Allgemein- Viszeral- und minimalinvasive

Chirurgie Klinikum Gütersloh

(Chefarzt PD Dr. med. Matthias Kapischke)

# Wertigkeit der Galektin-3-Expression in der Differenzialdiagnostik von Schilddrüsentumoren

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

Sektion Medizin

der Universität zu Lübeck

Vorgelegt von

Edelgard Berger

aus Arad / Rumänien

Lübeck 2018

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Kapischke
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Sebastian Schmid

Tag der mündlichen Prüfung: 30.4.2019

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 30.4.2019

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie der Schilddrüsenerkrankungen	1
1.2	Benigne Schilddrüsenveränderungen	4
1.2.1	Noduläre Hyperplasien	4
1.2.2	Follikuläre Adenome	4
1.2.3	(Autoimmunologisch bedingte) Entzündungen der Schilddrüse	5
1.3	Maligne Schilddrüsentumoren	5
1.3.1	Papilläres Schilddrüsenkarzinom (PTC)	6
1.3.2	Follikuläres Schilddrüsenkarzinom (FTC)	7
1.3.3	Gering differenziertes Schilddrüsenkarzinom (PDTC)	8
1.3.4	Anaplastisches (undifferenziertes) Schilddrüsenkarzinom (ATC)	8
1.3.5	Medulläres Schilddrüsenkarzinom (MTC)	9
1.4	Proteine als Immunhistochemische Marker	10
1.4.1	Lektine	10
1.4.2	Galektin-3	13
1.5	Zielstellung der Arbeit	16
2	Patienten, Materialien und Methoden	17
2.1	Patienten	17

2.2	Materialien	18
2.2.1	Lösungen	18
2.2.2	Antikörper	18
2.2.3	Nachweissystem	19
2.3	Methoden	20
2.3.1	Herstellung der Schnittpräparate	20
2.3.2	Entparaffinierung und Bewässerung	20
2.3.3	Vorbehandlung (Hydrierung)	20
2.3.4	Inkubation mit Primärantikörper/enzymatische Reaktion	20
2.3.5	Prinzip der Immunhistochemie	21
2.3.6	Auswertung der Schnittpräparate	23
2.4	Statistische Auswertung	24
2.5	Ethikvotum	25
3	Ergebnisse	26
3.1	Galektin-3 Expression im Gesamtkollektiv	26
3.2	Galektin-3 Expression in Adenomen	27
3.3	Expressionsscore von Galektin-3 im Vergleich von differenzierten und sonstigen Karzinomen	29
3.4	Vergleich der Expression Galektin-3 in PTC im Vergleich zu anderen Schilddrüsenkarzinomen	31

3.5	Vergleich der Expression Galektin-3 in PTC im Vergleich zu anderen Schilddrüsenkarzinomen	32
3.6	Galektin-3 Expression in den verschiedenen Varianten des PTC	33
3.7	Expression von Galektin-3 in den unterschiedlichen Tumorstadien des PTC	34
3.8	Expression von Galektin-3 im FTC	36
3.9	Expression von Galektin-3 in Abhängigkeit vom Tumorstadium des FTC	37
3.10	Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen Adenomen und differenzierten Karzinomen der Schilddrüse	38
3.11	Vergleich der Galektin-3 Expression zur Unterscheidung der follikulären Variante des PTC zum follikulären Adenom	39
3.12	Vergleich der Galektin-3 Expression von klassischem PTC versus papillärer Hyperplasie	40
3.13	Galektin-3 Expression in FTCs im Vergleich zu Adenomen	41
3.14	Galektin-3 Expression in follikulären Schilddrüsentumoren mit zunehmender Entdifferenzierung	42
4	Diskussion	44
5	Zusammenfassung	52
6	Tabellenanhang	53
7	Literaturverzeichnis	59
8	Danksagung	68
9	Lebenslauf	69

## Abkürzungsverzeichnis

AP	alkalische Phosphatase
AS-Bi-Phosphat	6-Brom-3-(o-hydroxyphenylaminocarbonyl)-2-naphthylphosphat
ATC	anaplastisches (undifferenziertes) Schilddrüsenkarzinom
Bcl 2	B-Cell CLL/Lymphoma 2
BRAF	B-Typ RAF Kinase
CBP 70	C(REB)-Binding-Protein 70
C-Ende	Carboxy-Ende
c-Zellen	Calcitonin produzierende Zellen in den Parafollikel der Schilddrüse
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
DMF	Dimethylformamid
FTC	follikuläres Schilddrüsenkarzinom
Gal-3	Galektin-3
HCl	Chlorwasserstoffsäure (Salzsäure)
MEN -2A/2B	multiples endokrines Neoplasiesyndrom -2A/2B
miRNA	micro RNA (kurze nicht kodierende RNAs)
MTC	medulläres Schilddrüsenkarzinom
µm	Mikrometer
N-Ende	Aminogruppe Ende
NaOH	Natriumhydroxid
PAP/APAAP	Peroxidase-Anti-Peroxidase/Alkalische-Phosphatase-anti-Alkalische-Phosphatase
PDTC	gering differenziertes (insuläres) Karzinom der Schilddrüse )
PTC	papilläres Schilddrüsenkarzinom

RNA	Ribonukleinsäure
siRNA	small interference Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Kettenreaktion
SD	Standardabweichung
Th 1	T-Helferzelle 1
Th 2	T-Helferzelle 2
Th 17	T-Helferzelle 17
TNM	Tumor-Nodes-Metastasen (Stadieneinteilung maligner Tumoren)
TSH-R-AK	Thyroidea stimulierendes Hormon - Rezeptor-Antikörper
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
TTF-1	Transcription Termination Factor-1
V600	Valin Position 600
WHO	Weltgesundheitsorganisation

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie der Schilddrüsenerkrankungen

Die Gesamtprävalenz von Schilddrüsenvergrößerung mit oder ohne Knoten liegt in Deutschland zwischen 18% - 50% [1, 2]. In der 2010 durchgeführten Papillonstudie wurden eine Struma oder Knoten bei jedem Dritten zwischen 18 und 65 Jahren in Deutschland festgestellt. Männer und Frauen sind etwa gleichhäufig betroffen.

Die Schilddrüsentumoren stellen sich klinisch und morphologisch als „Knoten“ dar. Knoten können solitär oder multipel, mit oder ohne Struma auftreten [3].

Der überwiegende Anteil der Knoten ist auf einen Jodmangel zurückzuführen und erweist sich als benigne. Autonomien sind meist auf follikuläre Adenome zurückzuführen, wohingegen Schilddrüsenkarzinome selten sind. Sie haben insgesamt einen Anteil von ca. 1% an allen bösartigen Geschwülsten [1, 4].

Die Schilddrüsenmalignome weisen eine jährliche Neuerkrankungsrate von 4,1/100.000 Einwohner bei Frauen und von 1,5/100.000 Einwohner bei Männern auf [2, 5]. Insgesamt betragen die Schilddrüsenkarzinome bei Männern 0,5% und bei Frauen 1,5 % aller malignen Tumoren [2]. Das mittlere Erkrankungsalter ist mit 55 Jahren bei Männern und Frauen identisch. Die höchste Inzidenz wird zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr beobachtet. Unterhalb des 35. Lebensjahres ist das Schilddrüsenkarzinom relativ selten [1]. Insgesamt sind 90% der Schilddrüsenkarzinome differenzierte Schilddrüsenkarzinome. Dazu gehören in erster Linie das papilläre Schilddrüsenkarzinom (PTC) mit einer Häufigkeit von 75% - 80% gefolgt vom follikulären Schilddrüsenkarzinom (FTC), das etwa in 10% - 15% der Fälle vorkommt [2, 6].

Es gilt als gesichert, dass eine Strahlenexposition in geringer Dosis, sei es eine Radiotherapie des Halses oder Strahlen, die aufgrund von Reaktorunfällen entstehen, die Entwicklung von Schilddrüsenkarzinomen begünstigen. Ein dramatischer Anstieg der PTCs wird bei Kindern im Zusammenhang mit dem Reaktorunfall in Tschernobyl beobachtet [7]. Die Latenzzeit beträgt hierbei zwischen 10 und 20

Jahren. Studien weisen in Regionen mit ausreichender Jodversorgung ein Überwiegen des PTCs, in Jodmangelgebieten eine Häufung von FTCs und ATCs nach [2, 8, 9].

Histologisch, werden nach der WHO Klassifikation von 2004, die Schilddrüsentumoren entsprechend der Abbildung 1 eingeteilt [10].

1. Schilddrüsenadenome und ähnliche Tumoren
  - 1.1. follikuläres Adenom
  - 1.2. hyalinisierter trabekulärer Tumor
  
2. Schilddrüsenkarzinome
  - 2.1. follikuläres Karzinom
  - 2.2. papilläres Karzinom
  - 2.3. medulläres Karzinom
  - 2.4. undifferenziertes (anaplastisches) Karzinom
  - 2.5. gering differenziertes Karzinom
  - 2.6. Mucoepidermoidkarzinom
  - 2.7. sklerosierendes Mucoepidermoidkarzinom mit Eosinophilie
  - 2.8. muzinöses Karzinom
  - 2.9. gemischt medulläres und follikuläres Karzinom
  - 2.10. Spindelzelltumor mit thymusähnlicher Differenzierung
  - 2.11. Karzinom mit thymusähnlicher Differenzierung
  
3. Andere Schilddrüsentumoren
  - 3.1. Teratom
  - 3.2. primäres Lymphom und Plasmozytom
  - 3.3. ektopes Thymom
  - 3.4. Angiosarkom
  - 3.5. glattmuskuläre Tumoren
  - 3.6. peripherer Nervenscheidentumor
  - 3.7. Paragangliom
  - 3.8. solitärer fibröser Tumor
  - 3.9. follikulär-dendritischer Tumor
  - 3.10. Langerhanszell Histiozytose
  - 3.11. Sekundäre Tumoren

Abbildung 1: WHO-Klassifikation der Schilddrüsentumoren (nach [10])

Nach der UICC von 2017 werden für die papillären, follikulären (differenzierten), medullären und anaplastischen (undifferenzierten) Karzinome unter Berücksichtigung der TNM unterschiedliche Stadien definiert (Tabelle 1) [11].

Tabelle 1: Stadieneinteilung der Schilddrüsenkarzinome nach UICC 2017 <sup>[11]</sup>

<b><u>Papillär oder follikulär – unter 55 Jahre</u></b>			
Stadium I	Jedes T	Jedes N	M0
Stadium II	Jedes T	Jedes N	M1
<b><u>Papillär und follikulär – 55 Jahre und mehr</u></b>			
Stadium I	T1a, T1 b, T2	N0	M0
Stadium II	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Stadium III	T4a	Jedes N	M0
Stadium IVA	T4b	Jedes N	M0
Stadium IVB	Jedes T	Jedes N	M1
<b><u>Medullär</u></b>			
Stadium I	T1a, T1b	N0	M0
Stadium II	T2, T3	N0	M0
Stadium III	T1, T2, T3	N1a	M0
Stadium IVA	T1, T2, T3,	N1b	M0
	T4a	Jedes N	
Stadium IVB	T4b	Jedes N	M0
Stadium IVC	Jedes T	Jedes N	M1
<b><u>Anaplastische (undifferenzierte) Karzinome</u></b>			
Stadium IVA	T1, T2, T3a	N0	M0
Stadium IVB	T1, T2, T3a	N1	M0
Stadium IVB	T3b, T4a, T4b	N0, N1	M0
Stadium IVC	Jedes T	Jedes N	M1

## **1.2 Benigne Schilddrüsenveränderungen**

### **1.2.1 Noduläre Hyperplasien**

Unter Jodmangel kommt es kompensatorisch zu einer teils diffusen, manchmal knötigen Proliferation der Follikelepithelzellen, wobei letztere durch ein unterschiedliches Zellwachstum der Follikelzellen bedingt ist. In den ebenfalls in der Größe variierenden Follikeln können sich innerhalb der Makrofollikel papilläre Strukturen entwickeln, die einem papillären Schilddrüsenkarzinom ähneln und somit eine wichtige Differenzialdiagnose darstellen. Durch die Ähnlichkeit der Papillen kann die histologische Unterscheidung zwischen einer papillären Hyperplasie und PTC schwierig sein <sup>[12, 13]</sup> (für weitere diagnostische Kriterien des PTC siehe unten Punkt 1.3.1). Gelegentlich entwickeln noduläre Hyperplasien eine Kapsel, so dass histologisch auch die Unterscheidung von einem Adenom erschwert sein kann <sup>[14]</sup>.

### **1.2.2 Follikuläre Adenome**

Der am häufigsten vorkommende benigne Tumor der Schilddrüse ist das follikuläre Adenom, das sich in Sektionsstudien in 3% - 20% aller untersuchten Schilddrüsen <sup>[15]</sup> und im Operationsgut in 15% - 40% der hypofunktionellen Knoten nachweisen lässt. Am häufigsten sind hier Frauen im höheren Lebensalter betroffen <sup>[2]</sup>.

Das Adenom ist ein gekapselter vom Follikelepithel ausgehender Tumor, der solitär oder seltener multipel vorkommt. Makroskopisch handelt es sich um Epithelproliferationen, die von einer bindegewebigen Kapsel umgeben sind. Sie sind in der Regel 1-3 cm, können im Einzelfall jedoch auch über 10 cm groß werden. Mikroskopisch ist die Mindestgröße von 5 mm notwendig, damit sie eine vollständige Bindegewebskapsel aufweisen und somit differenzialdiagnostisch vom hyperplastischen Knoten zu unterscheiden sind <sup>[14]</sup>. Histologisch kann zwischen onkozytären und nicht-onkozytären Adenomen unterschieden werden, die im Mitochondriengehalt variieren.

### **1.2.3 (Autoimmunologisch bedingte) Entzündungen der Schilddrüse**

Zu den (autoimmunologisch bedingten) Entzündungen gehören der Morbus Basedow und die Autoimmunthyreoiditis Hashimoto. In der deutschen Bevölkerung sind ca. 1% der Menschen von einer Hashimoto Thyreoiditis oder Morbus Basedow betroffen. Bei der granulomatösen Thyreoiditis de Quervain wird eine postvirale zyto-kinvermittelte Entzündungsreaktion postuliert <sup>[16]</sup>.

Die meisten Formen der chronischen Thyreoiditis stellen eine Autoimmunerkrankung mit Entwicklung autoreaktiver B- und T-Lymphozyten sowie Antikörpern gegen verschiedene Bestandteile des Schilddrüsengewebes dar.

Bei dem Morbus Basedow handelt es sich um eine Autoimmunerkrankung mit Autoantikörpern gegen den TSH-Rezeptor, Thyreoglobulin und Schilddrüsenperoxidase. Klinisch kann es zu einer Hyperthyreose, einer diffusen Vergrößerung der Schilddrüse und einer infiltrativen Ophthalmopathie kommen.

Bei der Autoimmunthyreoiditis vom Typ Hashimoto handelt es sich um eine chronisch lymphozytäre Thyreoiditis bei der Antikörper gegen Thyreoglobulin und Schilddrüsenperoxidase gebildet werden. Dieser Autoimmunprozess geht mit Zerstörung des Schilddrüsengewebes einher. Klinisch fallen Symptome einer Hypothyreose auf. Sie hat eine Prävalenz von ca. 3% und ist die häufigste Ursache für eine Hypothyreose <sup>[16]</sup>. Frauen sind häufiger von der Erkrankung betroffen <sup>[17]</sup>. Die granulomatöse Thyreoiditis de Quervain macht ca. 0,5% - 3% aller Schilddrüsenerkrankungen aus. Das häufigste Manifestationsalter ist die 2.- 5. Lebensdekade, wobei Frauen ebenfalls häufiger betroffen sind <sup>[3, 16]</sup>.

### **1.3 Maligne Schilddrüsentumoren**

In der neuen TNM Klassifikation von 2017 werden die vier wichtigsten histopathologischen Typen berücksichtigt: papilläre, follikuläre (incl. Hürthelzellkarzinom), anaplastische und medulläre Karzinome <sup>[11]</sup>.

### 1.3.1 Papilläres Schilddrüsenkarzinom (PTC)

Das papilläre Schilddrüsenkarzinom ist ein von den Follikelzellen ausgehender maligner Tumor mit papillären und /oder follikulären Strukturen sowie charakteristischen zytologischen Kernveränderungen wie Milchglaskernen, dachziegelartiges Überlappen der Kerne und Kerneinkerbungen. Häufig zeichnen sich PTCs durch die Anwesenheit charakteristischer Psammomkörper, die Verkalkungsherden entsprechen, aus <sup>[18]</sup>.

Makroskopisch findet man in der Mehrzahl der Fälle einen solitären, nicht umkapselten Tumor mit grau-weißer Schnittfläche. Mehr als 80% der PTCs liegen intrathyreoidal und ca. 10% - 20% überschreiten die Schilddrüsenkapsel <sup>[2]</sup>.

Der Metastasierungsweg ist in der Regel lymphogen <sup>[19]</sup>. Selten kann jedoch auch eine hämatogene Metastasierung vorliegen. Dies wurde in Lunge, Knochen und Gehirn von an papillären Schilddrüsenkarzinomen verstorbenen Patienten festgestellt.

Neben den „konventionellen, klassischen“ PTCs werden nach WHO insgesamt 16 Varianten unterschieden, wobei die drei häufigsten („konventionelle“, „großzellige“ und „follikuläre“) Varianten zusammen mehr als 90% ausmachen <sup>[10]</sup>. Eine Übersicht hierzu gibt Abbildung 2. Der Einteilung in die verschiedenen Varianten liegen unterschiedliche Kriterien wie Größe oder morphologische Besonderheiten zugrunde.

Die klinische Manifestation und Prognose der verschiedenen Varianten sind unterschiedlich. Deshalb ist die Identifizierung der verschiedenen Varianten wichtig <sup>[12]</sup>.

- I. Papilläres Mikrokarzinom
- II. Onkozytäre Variante
- III. Follikuläre Variante (Lindsay-Tumor)
- IV. Diffus sklerosierendes (multizentrisches) Karzinom
- V. „Tall-cell- (großzellige) Variante“
- VI. „Columnar-cell- (kolumnäre) Variante“
- VII. Klarzellige Variante
- VIII. Mikrofollikuläre Variante
- IX. Solide Variante
- X. Kribiforme Variante
- XI. PTC mit fasziitis-ähnlichem Stoma
- XII. PTC mit insulärer Komponente
- XIII. PTC mit squamöser Komponente/mukoepidermoiden Anteilen
- XIV. PTC mit Spindelzellen
- XV. PTC mit Riesenzellen
- XVI. Kombiniertes PTC und MTC

Abbildung 2: Varianten des papillären Schilddrüsenkarzinoms (nach <sup>[10]</sup>)

### **1.3.2 Follikuläres Schilddrüsenkarzinom (FTC)**

Das follikuläre Schilddrüsenkarzinom zeigt eine Follikelzelldifferenzierung ohne histologische (Papillen) und ohne zytologische Merkmale (Milchglaskerne) des papillären Karzinoms <sup>[2]</sup>. Das FTC kommt vor allem in Kropfendemiegebieten vor <sup>[20, 21]</sup>.

Charakteristisch ist, dass es hämatogen in Lunge, Skelettsystem und Gehirn metastasiert, während eine lymphogene Ausbreitung viel seltener ist <sup>[19]</sup>.

Die WHO-Einteilung unterscheidet nach Morphologie und biologischem Verhalten zwei Formen des follikulären Karzinoms: das minimal-invasive Karzinom, das differenzialdiagnostisch von einem follikulären Adenom abgegrenzt werden muss, und das grob-invasive Karzinom.

- a) Minimal-invasives follikuläres Karzinom: Es ist ein seltenes follikuläres Schilddrüsenkarzinom (37% - 50% aller follikulären Karzinome) [2, 19, 22]. Makroskopisch ist dieser Tumor, im Gegensatz zum Adenom, von einer verbreiterten bindegewebigen Kapsel umgeben. Mikroskopisch lässt sich das minimal-invasive Karzinom vom Adenom anhand einzelner Einbrüche in die Gefäße und/oder den Kapseldurchbruch unterscheiden.
- b) Grob-invasives follikuläres Karzinom: Durch die multiplen Gefäßein- oder Kapseldurchbrüche ist das Karzinom nicht mehr als minimal-invasiv anzusehen sondern als grob-invasiv zu klassifizieren [18]. Makroskopisch imponiert ein grau-weißer Tumor. Mikroskopisch erstreckt sich das Spektrum vom hochdifferenzierten, follikelbildenden mit multiplen Gefäßeinbrüchen und /oder Kapseldurchbrüchen bis zum solid-trabekulären Strukturmuster mit relativ wenigen Mitosen [2].

### **1.3.3 Gering differenziertes Schilddrüsenkarzinom (PDTC)**

Es handelt sich um einen epithelialen Tumor der Schilddrüse, der makroskopisch als grau-weißer, unscharf begrenzter Tumor mit angedeutet lobulärer Schnittfläche imponiert.

Mikroskopisch besteht der Tumor aus Follikelepithelzellen in solider, trabekulärer oder insulärer Anordnung mit erhöhter Mitosefrequenz und /oder Nekrosearealen [23].

Dieser aggressive und häufig letale Tumortyp steht morphologisch und biologisch zwischen den differenzierten und undifferenzierten (anaplastischen) Karzinomen [24].

### **1.3.4 Anaplastisches (undifferenziertes) Schilddrüsenkarzinom (ATC)**

Das ATC ist ein hochmalignes Schilddrüsenkarzinom mit infauster Prognose. Es entwickelt sich meist aus einem lange bestehenden Knotenkropf. Es kommt in ca. 2% - 15% aller Schilddrüsenmalignome vor [2].

Makroskopisch ist meist ein großer Teil der Schilddrüse weiß-grau tumorös durchsetzt.

Mikroskopisch handelt es sich überwiegend um Tumoren mit polymorphen Zellen, massenhaft Mitosen sowie ausgedehnten Nekrosen und Einblutungen. In kompakteren Tumorabschnitten überwiegen spindelige Zellen. Ein Teil dieser Tumoren ist durch den Reichtum an osteoklastenartigen Riesenzellen charakterisiert. Immunhistochemisch exprimieren anaplastische Tumore kein Thyreoglobulin.

### **1.3.5 Medulläres Schilddrüsenkarzinom (MTC)**

Das medulläre Schilddrüsenkarzinom ist ein maligner Tumor mit Zeichen der C-Zelldifferenzierung, das heißt, er leitet sich von den parafollikulären Calcitonin-produzierenden C-Zellen ab.

Der Anteil der MTC an allen Schilddrüsenkarzinomen beträgt ca. 1% - 12% [2]. Ein Teil der MTC sind genetisch bedingt (ca. 20% - 50%) [2, 25] und entstehen in Zusammenhang mit einem familiären MTC oder mit einem MEN-2A oder MEN-2B-Syndrom. Man unterscheidet zwischen sporadischem MTC (50% - 80%) und familiärem MTC mit autosomal-dominantem Erbgang.

## 1.4 Proteine als immunhistochemische Marker

### 1.4.1 Lektine

Lektine sind zelluläre Proteine, die spezifische Kohlenhydratstrukturen erkennen und binden können, sogenannte  $\beta$ -Galaktosid-bindende Proteine [26-28]. Lektine kommen in verschiedenen Zellen vor. Sie sind sowohl intrazellulär (im Zellkern als auch im Zytoplasma) als auch extrazellulär detektiert worden [29, 30]. Verschiedene Lektine zeigen immunmodulierende Effekte wie z. B. die Aktivierung von T-Helferzellen. Somit haben sie eine besondere Bedeutung für die immunologische Abwehr [31].

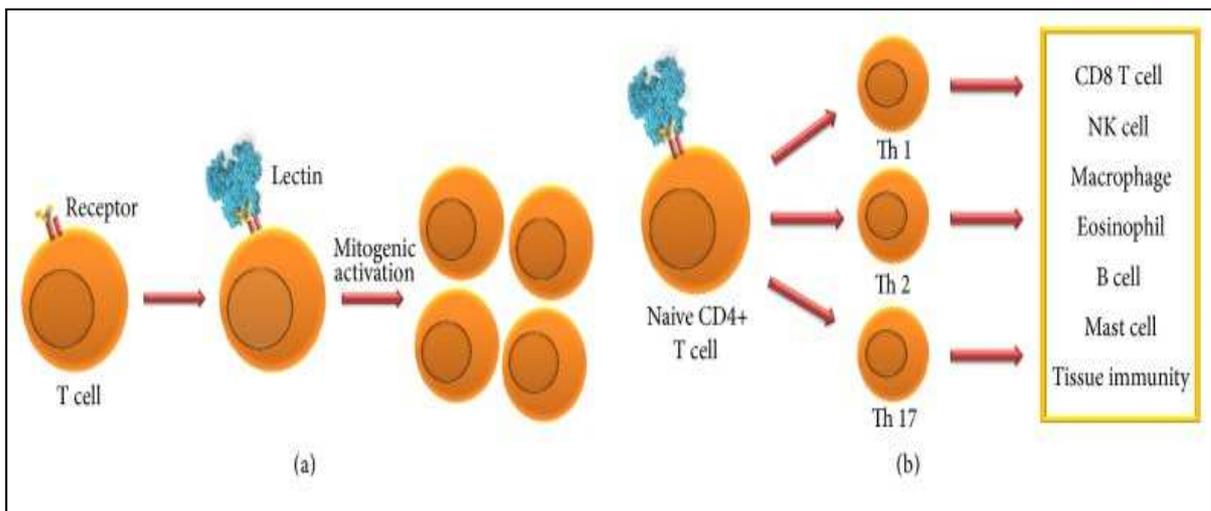


Abbildung 3: (a) Lektine aktivieren in vitro die T-Helferzellen und  
(b) stimulieren in vivo Th1, Th2, und Th17. (nach [31])

In den Untersuchungen von Savin wurde Galektin-3 extrazellulär im lediglich fetalen Schilddrüsengewebe nachgewiesen [32]. Die entsprechenden Kohlenhydrate befinden sich an Zelloberflächen sowie in der extrazellulären Matrix. In den letzten zwei Jahrzehnten sind mehr als 100 Lektine in ihren Strukturen beschrieben worden [33].

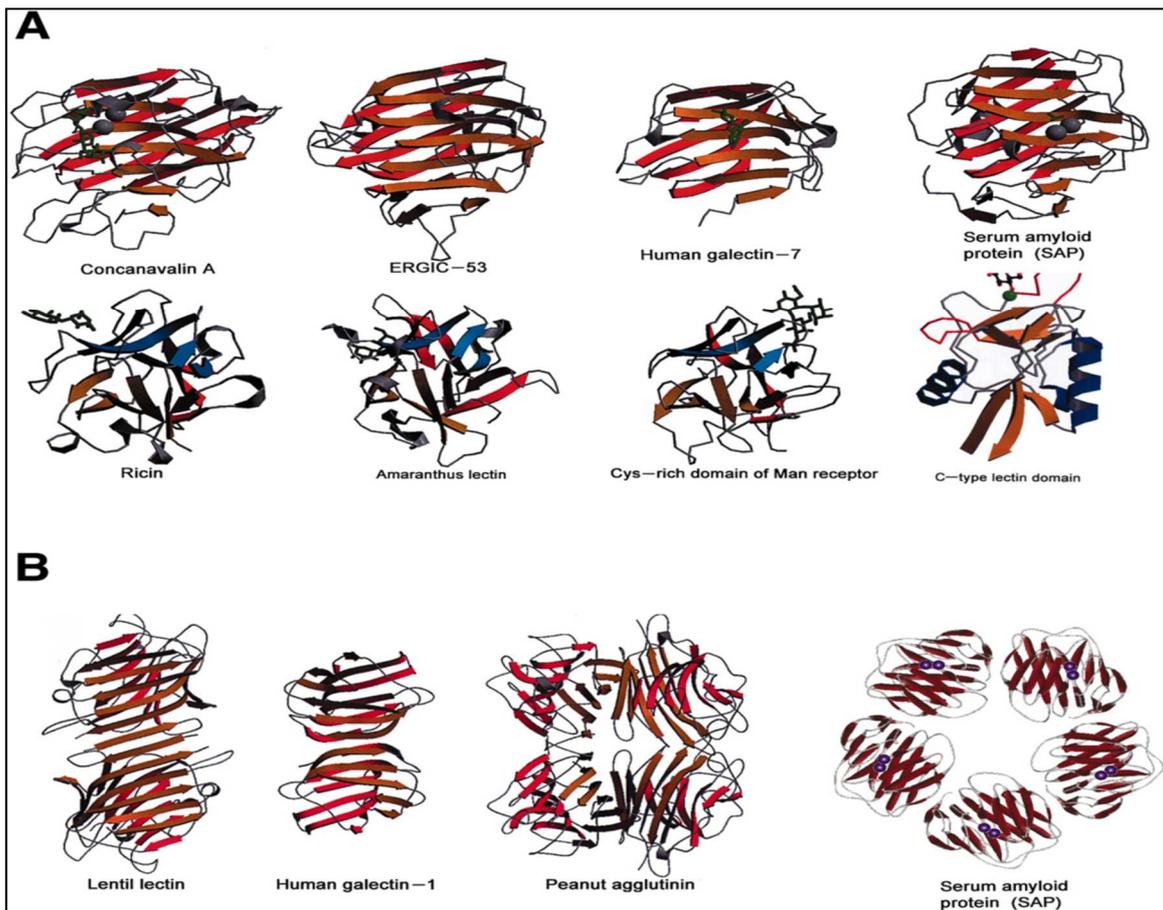


Abbildung 4: Struktur verschiedener Lektine

A) als Band-Diagramme. Die obere Reihe zeigt Monomere von Lektinen aus verschiedenen Quellen, die die Lektin-Faltung teilen. Die ersten drei Lektine von links in der mittleren Reihe weisen alle die beta-förmige Faltung auf (aus <sup>[34]</sup>).

B) als SAP Diagramme. Variation in quartären Lektinstrukturen; die grauen Kugeln stellen metallionengebundene Kohlenhydrate dar (aus <sup>[33]</sup>).

Zu den Lektinen gehören die Galektine. Derzeit sind etwa 14 Galektinformen in Säugtieren identifiziert worden <sup>[26, 35, 36]</sup>. Davon befindet sich ein großer Teil intrazellulär. Die Subtypisierung erfolgt anhand der Aminosäuresequenz der Polypeptide und der Kohlenhydrat-Erkennungs-Domäne „Carbohydrate Recognition Domain“ (CRD) <sup>[37]</sup>. Die Kohlenhydrat-Erkennungs-Domäne beinhaltet ca. 130 Aminosäuren, die durch die unterschiedliche Anordnung der Sequenzen die Galektine unterscheiden.

Dabei werden die Galektine in drei Gruppen eingeteilt <sup>[35]</sup>:

- a) Galektin-Prototypen mit einer CRD, die auch als Homodimer existieren können. Dazu gehören die Galektine-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 und -15;
- b) Galektine mit zwei CRDs (tandem-repeat type): Dazu gehören die Galektine-4, -6, -8, -9 und -12
- c) Galektin, das nur eine an eine prolin-, glyzin-, und tyrosinreiche Polypeptidkette (~130 Aminosäuren) gebundene CRD enthält. Dazu gehört das Galektin-3, aus der Gruppe der chimären Galektine.

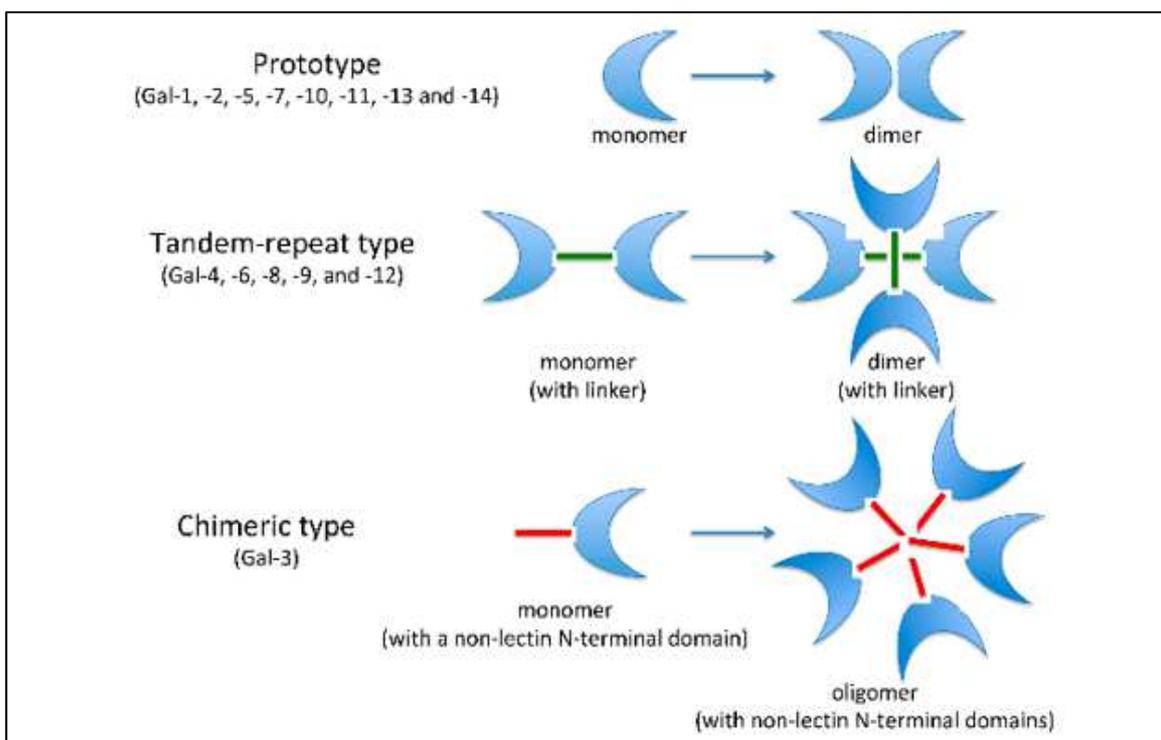


Abbildung 5: Struktur der Galektine unterteilt in drei Typen (nach <sup>[38]</sup>)

Viele Regulatoren des Zellwachstums und der Apoptose wirken auch bei der Kontrolle des Zellzyklus. So wurde die Bedeutung der Galektine unter anderem im Zusammenhang mit der Regulation und dem Wachstum der Zellen (Galektin-3, Galektin-7 und Galektin-12) sowie im Zusammenhang mit dem Zellzyklus beobachtet (Galektin-3 und Galektin-12) <sup>[35]</sup>. Frühere Studien haben den Einfluss der Galektin-3 Expression auf den Zellzyklus gezeigt. Galektin-3 besitzt die Fähigkeit sowohl die späte G1 als auch die G2/M Phase des Zellzyklus zu blockieren <sup>[39, 40]</sup>.

Als intrazelluläre Proteine können diese mit zytosolischen und nukleären Proteinen interagieren und somit verschiedene Signaltransduktionswege und Genexpressionsvorgänge beeinflussen. Die am intensivsten untersuchten Galektine sind das Galektin-1 und Galektin-3 <sup>[30]</sup>.

#### **1.4.2 Galektin-3**

Das Galektin-3 gehört zur Gruppe der endogenen Lektine. Es wird physiologisch von Makrophagen, Endothelzellen und verschiedenen epithelialen Zellen (in Darm, Niere, Mamma) gebildet <sup>[30]</sup>. Es ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 30 kDa <sup>[41-43]</sup> und ein chimäres Protein mit drei Domänen. Das Galektin definierende C-Ende ist die Kohlenhydrat-Bindende-Domäne bestehend aus 135 Aminosäuren. Das kurze N-Ende beinhaltet 20 Aminosäurereste und eine zusätzliche verbindende Domäne aus neun Aminosäuren. Die Verbindungsdomäne weist wiederkehrende Prolin-, Glycin- und Tyrosin-Sequenzen auf und ist für die RNA-Bindung zuständig (die eigene Assoziation)<sup>[36, 39, 44]</sup>. Außerdem dient diese spezifische Domäne als Substrat für die in der extrazellulären Matrix vorkommenden und den Stromaabbau verantwortlichen Metalloproteinasen 2 und 9. Aus Tumorzellen werden diese Enzyme vermehrt freigesetzt. Somit kann diese Verbindung eine mögliche Ursache für eine herabgesetzte Regulation der Zelladhäsion und damit einen Einfluss auf die Tumorinvasion und Tumorzellmigration sein <sup>[30]</sup>.

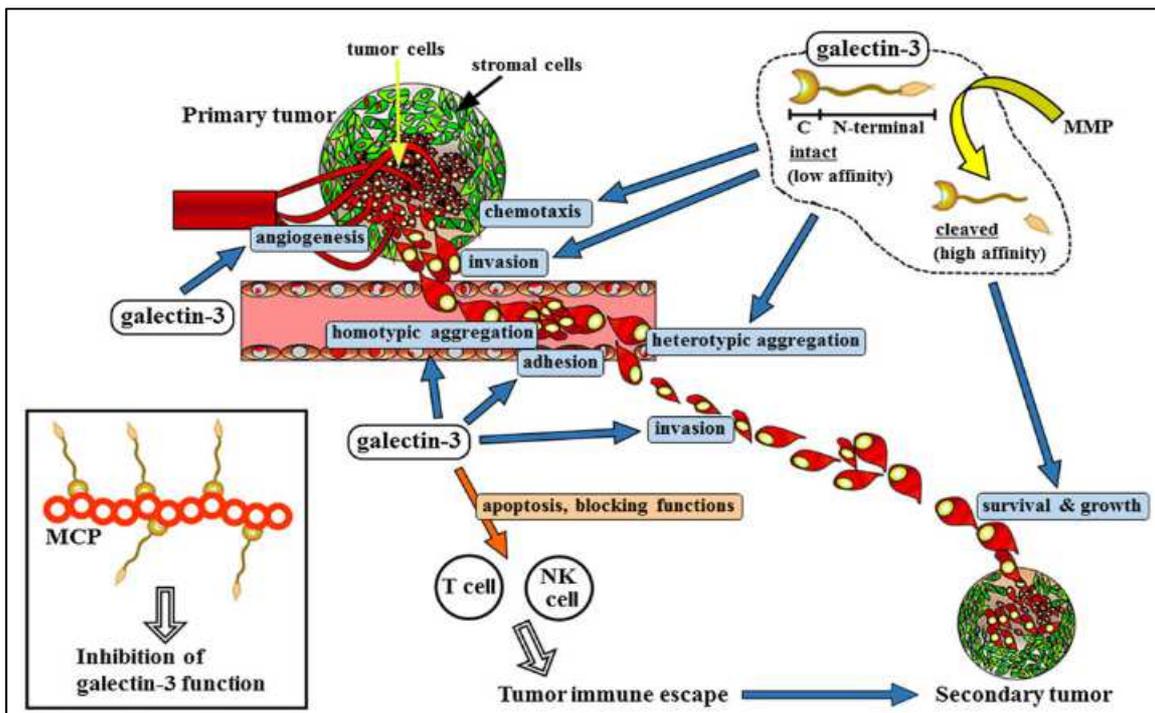


Abbildung 6: Galektin-3 in der Angiogenese und Metastase (nach [45])

In Studien wird das Vorkommen von Galektin-3 sowohl im Zellkern, als auch im Zytoplasma und /oder an der Zelloberfläche verschiedener Zellen beobachtet [27, 46]. Abhängig von der Lokalisation werden verschiedene physiologische oder pathologische Funktionen des Galektin-3 beschrieben [47].

Die intrazelluläre Lokalisation des Galektin-3 ist vereinbar mit verschiedenen Liganden des Proteins, die intrazellulär identifiziert worden sind. Zu diesen Liganden gehört das Bcl-2 (antiapoptotisches Protein) [48], Gemin 4 [49], CBP 70 [50] und das Zytokeratin [51]. Die ersten drei genannten Liganden sind wesentliche Faktoren bei der Apoptose der Zellen.

Biochemische Untersuchungen haben gezeigt, dass Galektin-3 in zwei isoelektrischen Varianten vorkommt [52]:

- Im Zellkern lokalisiert als nichtphosphoryliertes Polypeptid.
- Als phosphoryliertes Polypeptid (welches im Bereich des N-Endes, an der Aminosäure Serin bindet). Dieses erscheint dann sowohl im Kern als auch im Zytoplasma [53].

Die Phosphorylierung scheint eine wichtige Voraussetzung für den Transport des Proteins vom Kern in Richtung Zytoplasma zu sein. Für die Phosphorylierung ist das Enzym Casein Kinase I zuständig [35]. Eine weitere wichtige Funktion der Phosphorylierung ist die Blockierung der G1 Phase des Zellzyklus [54].

In mehreren Studien wurde gezeigt, dass Galektin-3 eine wichtige Rolle in verschiedenen biologischen Vorgängen spielt, wie beispielsweise bei der Zelladhäsion, der Zellproliferation und der Apoptose [55]. Es hat sowohl eine hemmende als auch eine fördernde Wirkung auf die Zelladhäsion. Der genaue Mechanismus ist allerdings nicht bekannt.

Besondere Bedeutung haben diese Lektine im Zusammenhang mit malignen Tumoren gewonnen. Eine pathologische Galektin-3 Expression wird im Zusammenhang mit verschiedenen Tumorarten beschrieben. Dazu zählen Melanome, Kolonkarzinome, Mammakarzinome sowie Schilddrüsenkarzinome [39, 56, 57]. Liu et al. fanden heraus, dass Galektin-3 die T-Zell Apoptose verhindern kann [35]. Nach biochemischen Studien ist die Phosphorylierung des Galektin-3 für die antiapoptotische Wirkung von Bedeutung. Der genaue Mechanismus ist auch hier unbekannt.

Sicher ist, dass das Bcl-2 Protein, welches in den Aminosäuresequenzen Ähnlichkeit mit denen des Galektin-3 aufweist, an der Antiapoptose mitwirkt [58]. Beide Proteine weisen eine hohe Sequenz der Aminosäuren Prolin, Glycin und Alanin am N-Terminus, sowie ein NWGR Quartett am C-Terminus [58]. Durch Änderung dieser Aminosäuresequenz am C-Terminus ist die antiapoptotische Wirkung aufgehoben [39].

Zur Diagnostik der Schilddrüsentumoren werden immunhistochemischen Untersuchungen zur Dignitätsbeurteilung herangezogen. Eines dieser Verfahren ist die Galektin-3 Immunhistochemie. Allerdings gibt es in den bisherigen Studien, die kleinere Stichproben der unterschiedlichen Schilddrüsenläsionen untersucht haben, widersprüchliche Ergebnisse. In unseren Untersuchungen wurde die Wertigkeit der Galektin-3 Expression an einem großen Kollektiv aus 283 Läsionen der Schilddrüse untersucht.

## 1.5 Zielstellung der Arbeit

In dieser Arbeit soll an einer insgesamt sehr großen Stichprobe von 283 Patienten Galektin-3 als geeigneter immunhistochemischer Marker für die Differenzierung von malignen und benignen Schilddrüsentumoren identifiziert werden. Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

- a) Besitzt die Galektin-3 Expression eine ausreichende Spezifität zur Unterscheidung zwischen malignen und benignen Schilddrüsenläsionen?
- b) Liefert die Galektin-3 Immunhistochemie zusätzliche Informationen zur Unterscheidung differenzierter und entdifferenzierter Schilddrüsenkarzinome?
- c) Kann die Galektin-3 Expressionsverteilung geeignet sein, um zwischen in der Befundung schwierigen grenzwertig benignen und potentiell malignen Veränderungen zu unterscheiden?
- d) Liefert ein Intensitätsscore der Galektin-3 Immunhistochemie zusätzliche Informationen und ist er zur Auswertung geeignet?

## 2 Patienten, Materialien und Methoden

### 2.1 Patienten

Die vorliegende Studie umfasste 283 Patienten, die zwischen 1999 und 2002 operiert wurden und dem Institut für Pathologie und Neuropathologie des Universitätsklinikums Essen zur konsiliarischen Begutachtung vorlagen. Im Kollektiv eingeschlossen waren 216 Frauen und 67 Männer zwischen 9 und 89 Jahren (Mittelwert 48,7 Jahre). Diese umfassten 101 (35,7%) benigne Läsionen/Tumoren und 182 (64,3%) maligne Schilddrüsentumoren. Für die immunhistochemische Untersuchung lagen von allen Patienten Paraffinblöcke vor. Eine Übersicht über Diagnosen mit epidemiologischen Daten gibt Tabelle 2.

Tabelle 2: Epidemiologische Daten des Studienkollektives

Studienkollektiv [n]	283
m:w (m:f Ratio)	67:216 (1:3,2)
Lebensalter (MW± SD)	48,7± 15,4 Jahre
Benigne Schilddrüsenläsionen/Tumoren [n] (%)	101 (35,7)
Maligne Schilddrüsentumoren [n] (%)	182 (64,3)
TNM-Klassifikation	
	[n] (%)
pT1	43 (23,6)
pT2	95 (52,2)
pT3	14 (7,7)
pT4	24 (13,2)
pTx	6 (3,3)

## 2.2 Materialien

### 2.2.1 Lösungen

Folgende Lösungen wurden zum immunhistochemischen Nachweis verwendet:

Tabelle 3: Verwendete Lösungen

<b>Lösung</b>	<b>Hersteller</b>
DAKO Target Retrieval Solution pH 6,1	Fa. DAKO (Deutschland), Nr. S1700/S1699
Protein Block	Fa. Biogenex (Deutschland), Nr. HK 112-9K
Monoclonal PowerVision/AP	Fa. ImmunoVision Techn. Co/ (Niederlande)  NL Nr.DPVM-110 AP
DAKO-Waschpuffer	Fa. DAKO (Deutschland)
Mayer`s Hämalun	Fa. Merck (Deutschland), Nr. 1.09249.2500
Immu-Mount	Fa. Shandon (Deutschland) Cat.Nr. 9990402
Xylol	
Alkoholarten: <ul style="list-style-type: none"><li>• 100% Ethanol</li><li>• 90% Ethylalkohol</li><li>• 70% Ethylalkohol</li></ul>	

### 2.2.2 Antikörper

Für die immunhistochemische Untersuchung wurde der monoklonale Maus Antikörper Galektin-3 (Klon 9C4; Fa. Novocastra, Nr. NCL-Gal-3 (Großbritannien), Verdünnung 1:200; Verdünnungsmedium 0,5M NaCl) verwendet.

### 2.2.3 Nachweissystem

Das Nachweissystem bestand aus

- a) Monoclonaler PowerVision: Fa. ImmunoVision Techn. Co/NL, Nr. DPVM-10 AP
- b) AP (manueller Ansatz):

Lösung 1:

18ml Aminomethylpropandiol-Puffer, 0,2mol	Fa. Merck Nr. 8.01464.0250
50ml Tris-Puffer pH 9,7 0,05 mol	Fa. Merck Nr. 1.08382.1000
0,6g NaCl (0,15 mol)	Fa. Merck Nr. 1.06404.1000
28mg Levamisole	Fa. Sigma Nr. L-9756

Lösung 2:

35mg Naphthol AS-Bi-Phosphat (Substrat)	Fa. Sigma Nr. N-2250
0,5ml DMF (Dimethylformamid)	Fa. Merck Nr. 8.22275.1000

Lösung 3:

8 Tr. Neufuchsinlösung, 5%	Fa. Chroma Nr. 1B467
20 Tr. Natriumnitritlösung 4%	Fa. Sigma Nr. S-2252

Jede einzelne Lösung wurde manuell hergestellt. Dabei wurde Lösung 1 mit Lösung 3 gemischt und die Mischung mit Lösung 2 versetzt. Der pH-Wert des Lösungsgemisches wurde auf pH=9,6 (Toleranzgrenze 0,01) eingestellt. Zur Einhaltung des pH-Wertes erfolgte gegebenenfalls eine Titration mit HCl bzw. NaOH.

## **2.3 Methoden**

### **2.3.1 Herstellung der Schnittpräparate**

Zunächst wurden von den Paraffinblöcken 6 µm dicke Leerschnitte mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms hergestellt und auf beschichtete Objektträger aufgezogen. Die Schnitte wurden anschließend im Wärmeschrank für eine halbe Stunde getrocknet. Die Herstellung der Leerschnitte aus dem Paraffinblöcken erfolgte von Mitarbeitern der Pathologie des Universitätsklinikums Essen. Die Nachfolgenden Schritte zur Immunhistochemischen Aufarbeitung der Proben und die weiteren Analysen wurden von mir durchgeführt.

### **2.3.2 Entparaffinierung und Bewässerung**

Zur Vorbereitung auf die Inkubation mit dem Primärantikörper erfolgte nach Entparaffinierung (Inkubation der Schnitte für mindestens 30 Minuten in Xylol) eine Bewässerung in einer absteigenden Alkoholreihe (100%, 90%, 70%) für jeweils eine Minute. Die Schnitte wurden anschließend mit DAKO- Waschpuffer gespült.

### **2.3.3 Vorbehandlung (Hydrierung)**

Eine hitzeinduzierte Vorbehandlung im Wasserbad erfolgte bei 97,5°C für 40 Minuten mit DAKO Target Retrieval Solution (pH=6,1). Bei Raumtemperatur kühlten die Schnitte 20 Minuten ab.

### **2.3.4 Inkubation mit Primärantikörper/enzymatische Reaktion**

Im folgenden Schritt erfolgte die Antigendemaskierung und, um Störfaktoren zu vermeiden, die Blockierung der endogenen Peroxidase mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sowie die Inkubation mit dem Primärantikörper.

Die Schnitte wurden nach einem intensiven Waschschrift (in frischem Puffer ca. 7 Minuten) in feuchte Kammern (Petrischalen mit *Aqua dest.* getränktem Filterpapier) gelegt und 24 Stunden bei 4°C mit dem Galektin-3 Antikörper (Verdünnung 1:200) inkubiert. Wichtig dabei war, dass die Schnitte nicht austrocknen, weder bei der Vorbereitung noch während der Inkubation.

Bei Raumtemperatur für 60 Minuten erfolgte dann die Inkubation mit dem Nachweissystem, zunächst mit dem PowerVision, dann für weitere 20 Minuten im AP-Ansatz. Nach entsprechenden Spülschritten erfolgte eine Kernfärbung mit Mayer`s Hämalaun einschließlich Bläuung mit warmen Leitungswasser. Die Abstopfung der Reaktion erfolgte durch erneutes Spülen mit kaltem Leitungswasser, worin die Schnitte bis zur Eindeckung verblieben. Die Schnitte wurden abschließend mit ImmuMount luftblasenfrei eingedeckt.

### **2.3.5 Prinzip der Immunhistochemie**

Die Grundlage der Immunhistochemie ist die Antigen-Antikörperreaktion. Es wird die Spezifität von Antikörpern genutzt, um die Verteilung der Antigene z. B. am histologischen Schnitt sichtbar zu machen. Dazu werden spezielle, an den Antikörper gekoppelte Farbstoffe verwendet. Die Antikörper sind Eiweißkörper, die zur Immunglobulinfraktion gehören und mit den Antigenen Immunkomplexe bilden. Zu unterscheiden ist zwischen monoklonalen (eine bestimmte Plasmazell-Linie produziert Antikörper, die nur mit einem bestimmten Epitop des Antigens reagieren) und polyklonale Antikörper (Antikörper verschiedener Plasmazellen binden an verschiedene Epitope eines Antigens).

Die immunhistochemischen Untersuchungen der Paraffinschnitte umfassen a) die Entparaffinierung (mindestens 20 Minuten in Xylol), b) die Rehydrierung in der absteigenden Alkoholreihe und c) die enzymatische Vorbehandlung (hitzeinduziert, durch Enzyme sowie die kombinierte Methode). Die Vorbehandlung dient der Identifizierung des Antigens durch den Antikörper. Während der Fixierung der Präparate, die meistens mit Formalin durchgeführt wird, entstehen Aldehydvernetzungen, die die Bindung des Antikörpers verhindern. Durch die Fixierung kann die Struktur des

Antikörpers verändert werden. Die endogene Enzymaktivität, die trotz Fixierung und Einbettung nicht völlig zerstört ist, muss ebenfalls ausgeschaltet werden. Als Beispiel sind die Peroxidase und die alkalische Phosphatase zu nennen. Diese können durch Hitzedemaskierung (alkalische Phosphatase) und Inkubation des Präparates mit Wasserstoffperoxid (Peroxidase) eliminiert werden. Im nächsten Schritt wird der Primärantikörper aufgetragen, gegebenenfalls erfolgt anschließend das Auftragen des Sekundärantikörpers.

Die Antigen-Antikörper-Reaktion wird durch spezielle, an den Antikörper gekoppelte Farbstoffe sichtbar gemacht. Dabei unterscheidet man drei verschiedene Methoden:

- a) Direkte Methode: der spezifische Antikörper ist chemisch direkt mit einem Fluorochrom oder Markerenzym verbunden.
- b) Indirekte Methode: ein spezifischer jedoch unkonjugierter Primärantikörper bindet an das Antigen der Probe. Im nächsten Schritt gibt man einen an ein Enzym gekoppelten, so genannten Sekundärantikörper zum bereits gebundenen Primärantikörper hinzu. Dieser richtet sich gegen den Primärantikörper und nach Zugabe eines Substrates wird die Reaktion sichtbar gemacht.
- c) Doppelt indirekte Methode: ein zusätzlicher konjugierter Antikörper (Tertiär), der gegen den Sekundärantikörper gerichtet ist, wird eingesetzt. Diese Methode wird zur Signalverstärkung genutzt (PAP/APAAP Methode). Diese Methode hat ihren Namen vom Peroxidase-Anti-Peroxidase bzw. Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase-Komplex, der hier nach dem Sekundärantikörper aufgetragen wird. Hier bindet der Primärantikörper an das Antigen, gefolgt von einem Brückenantikörper und PAP-Komplex. Diese Methode zeigt eine erhöhte Sensitivität und geringere Hintergrundfärbung. Es muss jedoch bei dieser Methode sichergestellt sein, dass die endogene Peroxidase der Probe vollständig unterdrückt wird.

Das Antigen wurde in dieser Arbeit mittels der indirekten Methode nachgewiesen.

### 2.3.6 Auswertung der Schnittpräparate

Bezüglich der Auswertung von IHC - Studien existieren so gut wie keine Scoring-systeme. Bartolazzi et al. beschrieben einen Score, der sich jedoch in der wissenschaftlichen Literatur nicht durchgesetzt hat <sup>[59]</sup>. Dieser ist insgesamt sehr Komplex und in der Praxis zu aufwändig einsetzbar. Wir modifizierten einen von Weber und Herrmann beschriebenen Score, der wesentlich gröber in seiner Detektion aber in der Praxis leichter anwendbar ist <sup>[60, 61]</sup>.

Bei der Auswertung der immunhistochemischen Präparate wurde ein Score von 0 bis 3 verwendet.

Tabelle 4 Immunhistochemischer Auswertungsscore

<b>Score</b>	<b>Galektin-3 Expression in drei mikroskopischen Blickfeldern [Prozentualer Anteil positiver Zellen]</b>
0	Keine
1	5% - 30%
2	31% - 80%
3	> 80%

Zur Bestimmung der Scores wurden jeweils drei mikroskopische Blickfelder ausgewertet. Beurteilt wurde die Anfärbung des Cytoplasmas der Zelle. Die Auswertung erfolgte am Lichtmikroskop (Olympus BX50) bei 400-facher Vergrößerung.

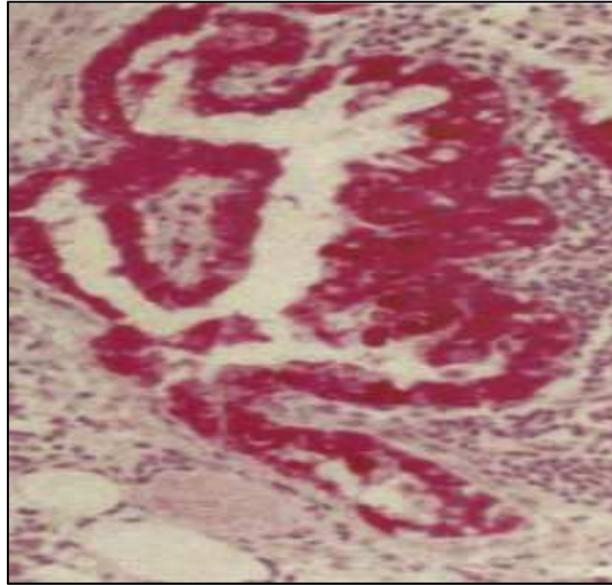


Abbildung 7: Galektin-3-Expression im Zytoplasma der Tumorzelle eines papillären Schilddrüsenkarzinom (Beispielabbildung)

## 2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms SPSS Statistics for Windows, Version 19 (IBM Corp, Armonk NY, USA) und des freien Programms R (R Core Team, A language and environment for statistical computing (2018); R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria, URL <https://www.R-projekt.org/>).

Bei der Arbeit handelt es sich um eine explorative diagnostische Beobachtungsstudie. Das Testergebnis der Galektin-3 Expression wurde dichotom in negativ (Score 0) und in positiv (Score 1-3) unterteilt. Im Fokus steht eine Unterscheidung von benignen und malignen Schilddrüsenknoten anhand der Galektin-3 Expression.

Die Ergebnisse werden deskriptiv in Tabellen (Häufigkeiten/Anteile) und graphisch in Mosaikplots wiedergegeben. Die Darstellung in Mosaikplots wurde genutzt, da sie die Zusammenhänge von Kontingenztafeln besser unterstützten und wissenschaftlich mittlerweile anerkannt sind<sup>[62, 63]</sup>.

Eine entsprechende Assoziation wird mit der Chi-Quadrat-Statistik (bei geringen Fallzahlen auch mit einem exakten Test) bewertet. Ein p-Wert  $<0,05$  wird als statistisch signifikanter Hinweis auf einen Zusammenhang gewertet.

Die Güte einer diagnostischen Differenzierung verschiedener Faktoren mit Hilfe der Galektin-3 Expression wird durch die Schätzung von Sensitivität und Spezifität (inklusive des 95%-Konfidenzintervalls) untersucht, das heißt den Anteil richtig positiver oder richtig negativer Zuordnungen. Zusammenfassend wird auch der positive/negative Likelihood Quotient ( $LR^+ / LR^-$ ) bestimmt, der einen jeweiligen Informationsgewinn durch die Galektin-3 Expression/Nichtexpression erfasst. Ein signifikantes Ergebnis liegt vor, wenn das 95%-Konfidenzintervall den Wert 1 nicht enthält.

## **2.5 Ethikvotum**

Die Ethikkommission der Universität zu Lübeck hat für die Arbeit ein nachträgliches Unbedenklichkeitsvotum ausgestellt. Angesichts der Entstehungsgeschichte dieser Dissertation war dies nicht anders möglich. Die Dissertation wurde bereits am Universitätsklinikum Essen angefertigt und beendet. Der damalige Doktorvater hat jedoch kein weiteres Interesse an der Arbeit und am Abschluss des Promotionsverfahrens gezeigt. Sodass nach Einholung der Freigabe die Suche nach einem anderen Doktorvater erfolgen konnte. Da die Dissertation jedoch schon fertiggestellt war und ein Ethikvotum nicht möglich ist, wurde ein Unbedenklichkeitsvotum ausgestellt.

## **3 Ergebnisse**

In einer Vielzahl der ausgewerteten Untergruppen findet sich nur eine sehr kleine Stichprobengröße. Deren statistische Auswertung ist nur begrenzt sinnvoll, da selbst aus signifikanten Unterschieden nur mit größter Zurückhaltung klinische Rückschlüsse gezogen werden sollten. Diese kleinen Gruppen werden somit nur deskriptiv ausgewertet. Zur Reduzierung der Redundanzen zwischen Mosaikgraphiken und Tabellen aber auch, um die Lesbarkeit der Auswertung zu erleichtern, wird ein Tabellenanhang eingeführt. Hier werden tabellarisch sowohl die ausgewerteten Kleingruppen als auch die zu den jeweiligen Mosaikgraphiken gehörenden zahlenmäßigen Ergebnisse detailliert aufgeführt.

### **3.1 Galektin-3 Expression im Gesamtkollektiv**

Das ausgewertete Studienkollektiv umfasst 283 Schilddrüsentumoren, von denen 101/283 (35,7%) benigne Läsionen/Schilddrüsentumoren und 182/283 (64,3%) den malignen Tumoren zuzuordnen sind. Eine Übersicht der Entitäten mit Ergebnissen der Galektin-3 Expression gibt Tabelle 5.

Tabelle 5: Galektin-3 Expression der Schilddrüsentumore (n=283)

Dignität	Entität	Galektin-3 positiv <sup>1</sup>	Galektin-3 negativ <sup>2</sup>
benigne Tumoren [n=101]	Adenom	29	55
	Hyperplast. Knoten	3	11
	M. Basedow	0	1
	Hashimoto-Thyreoiditis	0	1
	Thyreoiditis de Quervain	0	1
[n]		32	69
maligne Tumoren [n=182]	PTC	76	26
	FTC	26	28
	MTC	3	3
	PDTC	8	3
	ATC	4	2
	Angiosarkom	1	0
	Mukoepidermoidkarzinom	2	0
[n]		120	62
Gesamt [n] (%)	n=283 (100)	152 (53.7)	131 (46.3)

<sup>1</sup> alle positive Galektin-3 Expressionen unabhängig vom Score 1-3 ; <sup>2</sup> alle Tumore ohne Galektin-3 Expression (Score 0)

### 3.2 Galektin-3 Expression in Adenomen

Die Adenome bilden mit 84/101 Tumoren (83,2%) den größten Anteil der benignen Läsionen der Schilddrüse. Es folgen hyperplastische Knoten (14/101; 13,9%) und Entzündungen (M. Basedow, Autoimmunthyreoiditis vom Typ Hashimoto und Thyreoiditis de Quervain) mit lediglich 3/101 (3%).

Zunächst erfolgt die Beurteilung der Adenome ohne Berücksichtigung der verschiedenen Wachstumsformen. In den 84 untersuchten Adenomen sind 55 (65,5%) Galektin-3 negativ. Weitere 16 (19,0%) zeigen eine leichte Anfärbung (Score von 1),

10 Adenome (11,9%) lassen sich mit einem Score von 2 beurteilen. Lediglich drei Adenome (3,6%) reagieren deutlich auf Galektin-3 mit einem Score von 3.

Anschließend wird das Färbeverhalten der Adenome auf Galektin-3 unter Berücksichtigung der histologischen Wachstumsformen bewertet. Hier können 56/84 (66,7%) nicht-oxyphile (nicht onkozytäre) bzw. 28/84 (33,3%) oxyphile (onkozytäre) Tumoren unterschieden werden (Abbildung 8).

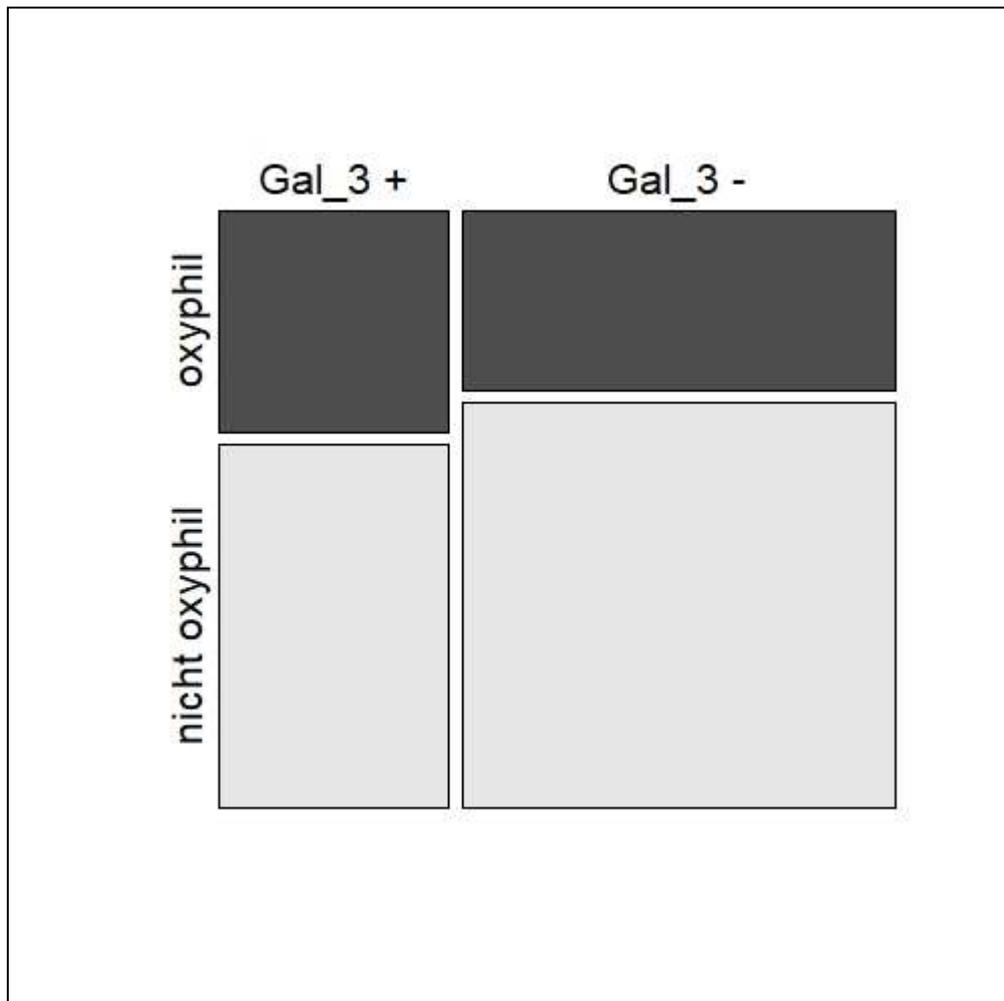


Abbildung 8: Galektin-3 Expression in den oxyphilen (n=28) und nicht oxyphilen (n=56) Adenomen

Von den 28 oxyphilen (onkozytären) Adenomen zeigen 17 Fälle (60,7%) kein Anfärbung auf Galektin-3. Weitere 6 Fälle (21,4%) weisen einen Score von 1 und 5 Fälle (17,9%) haben eine Positivität mit einem Score von 2.

Von den 56 nicht-oxyphilen (nicht onkozytären) Adenomen sind 38 (67,9%) negativ auf Galektin-3. Weitere Sieben (12,5%) zeigen einen Score von 1. Ein Score von 2 wird bei acht Adenomen bestimmt (14,2%) und ein Score von 3 lediglich bei drei Adenomen (5,4%).

Stellt man die oxyphilen den nicht-oxyphilen Adenomen gegenüber, dann findet sich kein signifikanter Unterschied der Galektin-3 Expression ( $p=0,685$ ). Die Sensitivität beträgt 0,39 (95% Konfidenzintervall: 0,22-0,39). Dies bedeutet, dass nur 39% der oxyphilen (onkozytären) Adenome über die Galektin-3 Immunhistochemie richtig erkannt werden. Die Spezifität beträgt 0,68 (95%-Konfidenzintervall: 0,54-0,80). Das bedeutet, dass nur 68% der nicht-oxyphilen Adenome richtig erkannt werden. Damit ist kein diagnostischer Gewinn durch die Galektin-3 Immunhistochemie gegeben ( $LR^+ = 1,22$ ; 95%-Konfidenzintervall 0,67-2,22) (Tabelle 1 im Tabellenanhang).

### **3.3 Expressionsscore von Galektin-3 im Vergleich von differenzierten und sonstigen Karzinomen**

Das PTC stellt die Gruppe mit den am häufigsten Galektin-3 positiven Tumoren (76/102; 74,5%) gefolgt von PDTC (72,7%) und ATC (66,7%) dar. In MTC wird Galektin-3 zu 50% exprimiert. Bei den FTC wird Galektin-3 in 26/54 (48,1%) exprimiert.

Die seltenen Tumoren zeigen eine 100%ige Positivität für Galektin-3. Aufgrund der geringen Anzahl ist keine valide Aussage möglich. Sie werden hier nur zur Vollständigkeit erwähnt.

#### **PTC**

Bei den papillären Schilddrüsenkarzinomen zeigen 47/102 (46,1%) eine ausgeprägte Reaktion auf Galektin-3 mit einem Score von 3. In 25/102 (24,5%) werden die Expression mit dem Score 2 bewertet. Weitere 4/102 (3,9%) zeigen nur noch eine leichte Expression (Score=1).

## **FTC**

Insgesamt sind 26/54 FTC als Galektin-3 positiv beurteilt. Die Galektin-3 positiven Reaktionen der follikulären Schilddrüsenkarzinome teilt sich wie folgt auf: 16/26 (61,5%) Score von 1, 8/26 (30,8%) Score von 2 und nur 2/26 (7,7%) mit einem Score von 3.

## **Gering differenzierte/undifferenzierte Karzinome**

Insgesamt 17 Karzinome fallen in diese Gruppe. Zu dieser Gruppe der Karzinome gehören die insulären und anaplastischen Schilddrüsenkarzinome. In der Auswertung zeigt sich in einem Großteil der Tumorzellen in PDTC (8/11; 72,7%) und ATC (4/6; 66,7%) eine nicht signifikante positive Galektin-3 Expression.

Von den 11 untersuchten insulären Karzinome reagieren 8/11 (72,7%) positiv auf Galektin-3. Darunter 1/8 (12,5%) mit leichter Reaktion und somit einem Score von 1 und 7/8 (87,5%) mit einem Score von 2.

In der geringen Zahl anaplastischer Karzinome zeigt 1/4 (25%) eine Reaktion mit einem Score von 1. Ein weiteres (25%) einen Score von 2 und 2/4 (50%) einen Score von 3.

## **MTC**

Die Studie umfasst sechs sporadische MTC. Hier zeigen 50% der Zellen eine Galektin-3 Positivität mit einem Score von 2.

### 3.4 Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen differenzierten und sonstigen Karzinomen

Aus den 156 differenzierten Schilddrüsenkarzinomen (PTC und FTC) sind 54 Fälle Galektin-3 negativ (34,6%) und 102 Fälle Galektin-3 positiv (65,4%). Von den 26 übrigen/sonstigen untersuchten Karzinomen, sind acht (30,8%) Galektin-3 negativ und 18 (69,2%) mit leichter Reaktion auf Galektin-3. Somit besteht keine Signifikanz ( $p=0.873$ ) bezüglich Galektin-3 Expression in differenzierte vs. sonstige Karzinome (Abbildung 9; Tabelle 3 im Tabellenanhang).

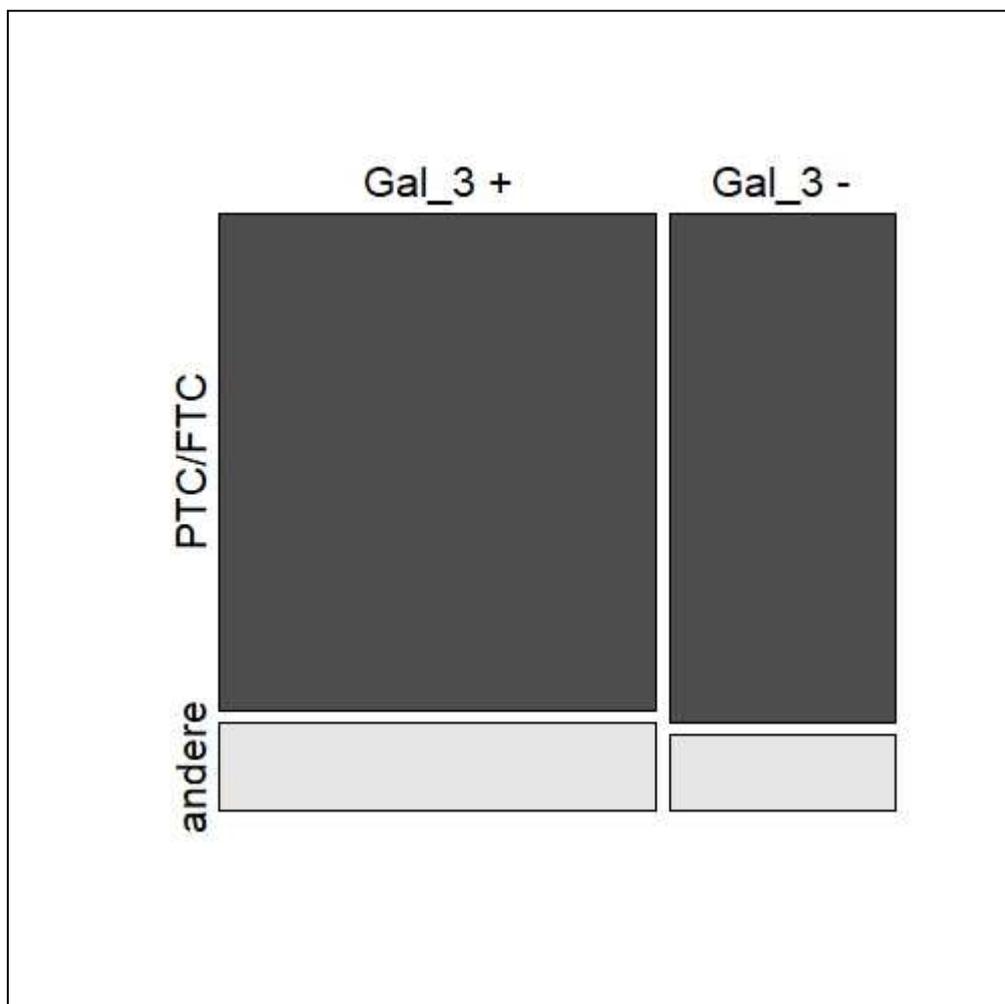


Abbildung 9: Vergleich der Galektin-3 Expression in differenzierten (n=156) und sonstigen Karzinomen (n=26)

### 3.5 Vergleich der Expression Gelektin-3 in PTC im Vergleich zu anderen Schilddrüsenkarzinomen

Die papillären Karzinome stellen mit 102/182 in der Untergruppe der malignen Tumoren die größte Entität dar. Von den 102 papillären Schilddrüsenkarzinomen aus dem Untersuchungsgut, sind 76/102 (74,5%) positiv auf Galektin-3, während bei den sonstigen malignen Karzinomen 44/80 (55%) Galektin-3 positiv sind. Dieser Unterschied ist mit  $p=0,009$  signifikant. Daraus ergibt sich für eine Galektin-3 positive Probe ein positiver prädiktiver Wert von 0.63 (95% Konfidenzintervall 0,54-0,72) für ein PTC (Abbildung 10).

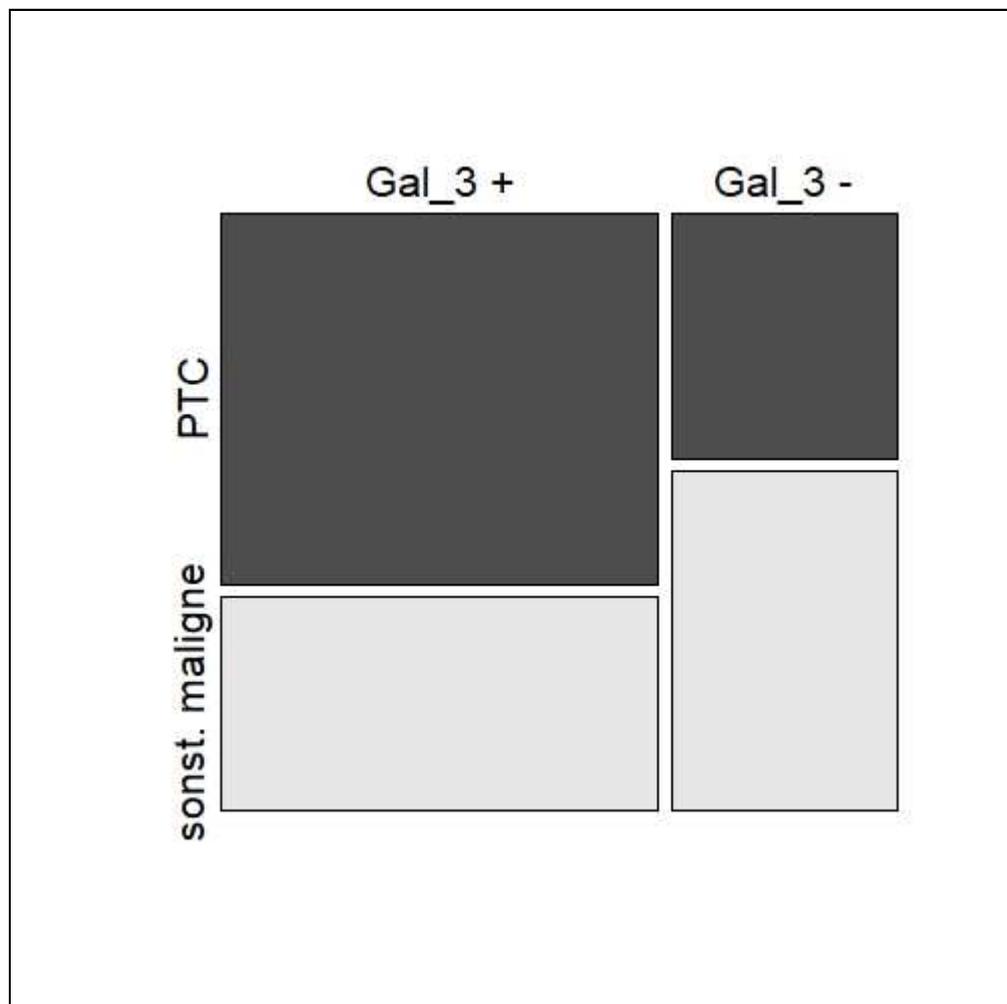


Abbildung 10: Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen PTC (n=102) und den anderen malignen Schilddrüsentumoren (n=80)

### 3.6 Galektin-3 Expression in den verschiedenen Varianten des PTC

Die drei häufigsten histomorphologischen Varianten (klassische bzw. konventionelle, follikuläre und großzellige Variante) entfallen auf 97/102 PTCs. Dabei zeigt die großzellige gefolgt von klassischer und dann follikulärer Variante den größten Anteil Galektin-3 positiver Zellen (88,0%, 75,0%, 65,9%). Von der diffus sklerosierenden Variante und columnären Variante werden lediglich fünf Proben untersucht. Hier exprimieren beide diffus sklerosierende Varianten Galektin-3. Während in der columnären Variante zwei Galektin-3 positiv sind (Tabelle 6). Aufgrund der geringen Fallzahlen ist eine statistische Auswertung wenig aussagekräftig.

Tabelle 6: Galektin-3 Expression in den unterschiedlichen Varianten des PTC

		Variante					
		klassisch	follikulär	großzellig	diffus sklerosierend	columnär	Gesamt
negativ	Anzahl [n]	7	15	3		1	26
	% innerhalb der Variante	25,0	34,1	12,0		33,4	25,5
positiv	Anzahl [n]	21	29	22	2	2	76
	% innerhalb der Variante	75,0	65,9	88,0	100,0	66,6	74,5
Gesamt	Anzahl [n]	28	44	25	2	3	102
	% innerhalb der Variante	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

### 3.7 Expression von Galektin-3 in den unterschiedlichen Tumorstadien des PTC

Im Hinblick auf die Expression in Zusammenhang zum Tumorstadium des PTC zeigt sich eine Positivität zwischen 67,4% für pT2- und 100% für pT4-Tumoren ohne Signifikanz für fortgeschrittene Tumorstadien (Tabelle 5 im Tabellenanhang). Die überwiegende Anzahl (7/12; 58,3%) der organüberschreitenden Tumoren (nach der TNM-Klassifikation von 1997) entspricht der großzelligen Variante in pT4-Tumoren (Abbildung 11 und Tabelle 5 im Tabellenanhang).

Auch hier muss auf der Basis der geringen Fallzahlen je Tumorstadium darauf hingewiesen werden, dass eine weitere statistische Auswertung mit der notwendigen Kritik bewertet werden.

Tabelle 7: Paarweiser Vergleich der einzelnen Tumorstadien (p-Werte)

	<b>pT1</b>	<b>pT2</b>	<b>pT3</b>	<b>pT4</b>
<b>pT2</b>	0,605	-	-	-
<b>pT3</b>	1,000	1,000	-	-
<b>pT4</b>	0,131	0,056	0,551	-
<b>pTx</b>	1,000	1,000	1,000	0,438

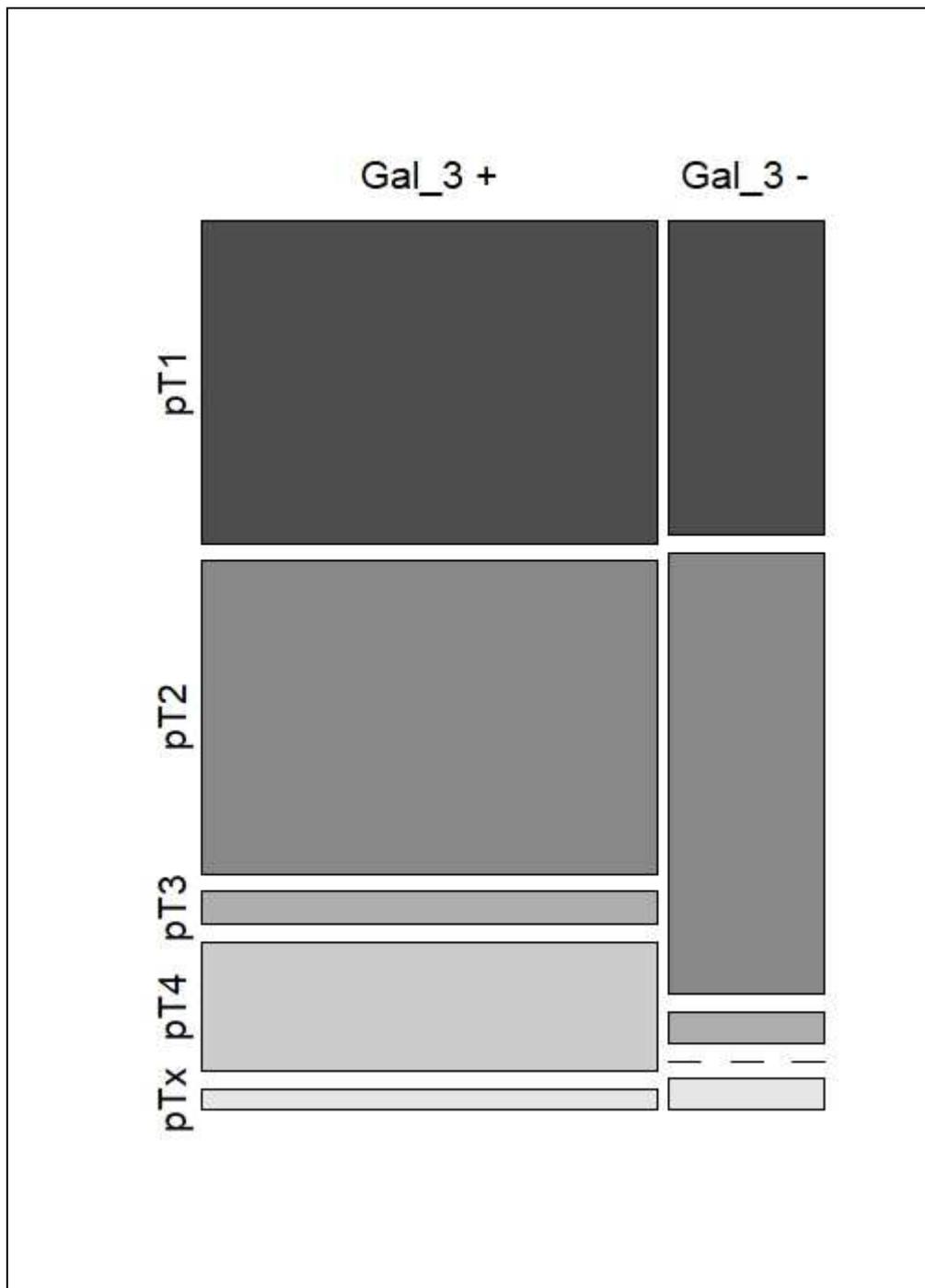


Abbildung 11: Expression von Galektin-3 in den unterschiedlichen Tumorstadien des PTC (n=102)

### 3.8 Expression von Galektin-3 im FTC

Die zweitgrößte Gruppe (n=54) der untersuchten Malignome sind follikuläre Schilddrüsenkarzinome. Unter den insgesamt 54 FTCs erfüllen 43 (79,6%) die Kriterien eines minimal- und 11 (20,4%) die eines breit-invasiven FTC. Die Galektin-3 Expression zeigt in beiden Gruppen jedoch keinen signifikanten Unterschied (Abbildung 12). Auch hinsichtlich der histomorphologischen Einteilung in onkozytäre bzw. nicht-onkozytäre Tumoren ist kein signifikanter Unterschied in der Proteinexpression zu erkennen, allerdings sind die onkozytären Tumoren zu einem größeren Anteil Galektin-3 positiv als die nicht-onkozytären Tumoren (66,7% gegenüber 38,9%). Von den 54 FTCs sind 18 oxyphil und 36 nicht-oxyphil. Von den 18 oxyphilen sind 12 (66,7%) Galektin-3 positiv und von den 36 nicht oxyphilen sind 14 (38,9%) Galektin-3 positiv (siehe Tabelle 7 im Tabellenanhang).

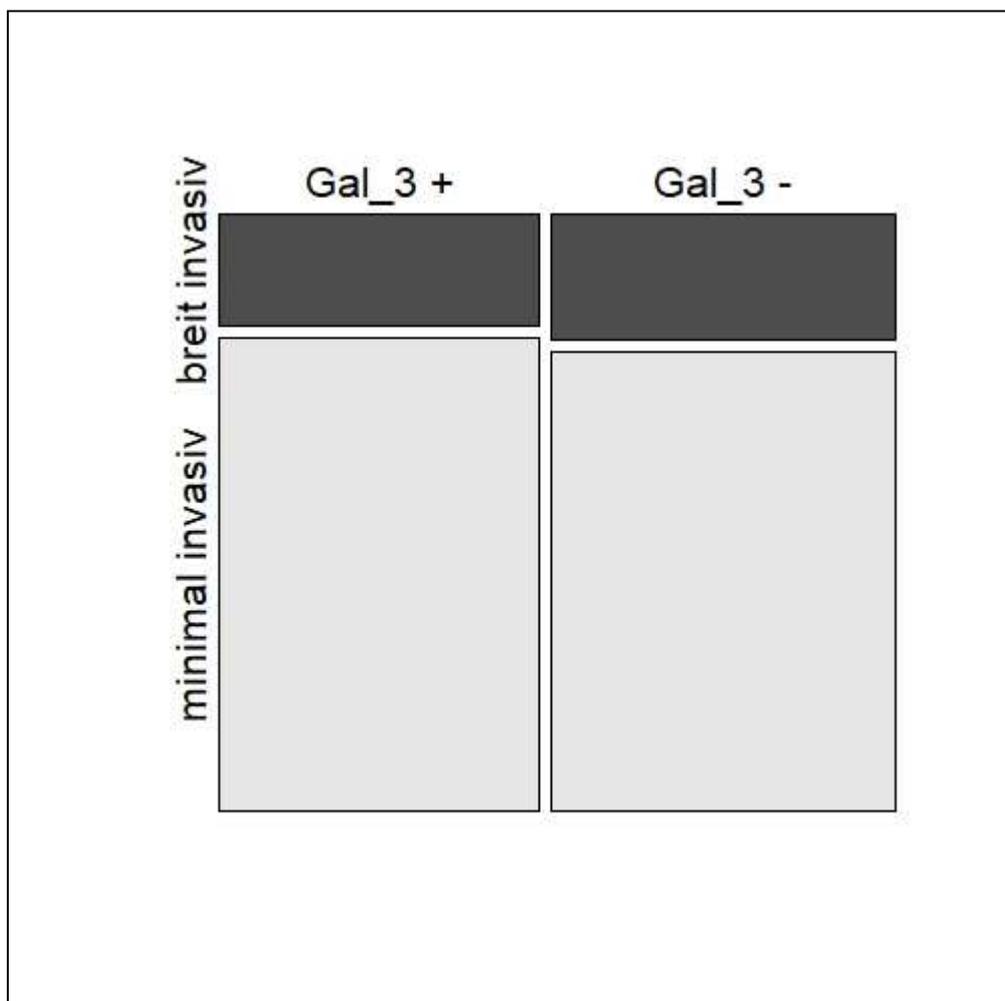


Abbildung 12: Expression von Galektin-3 im minimal-invasiven und breit-invasiven FTC

### 3.9 Expression von Galektin-3 in Abhängigkeit vom Tumorstadium des FTC

Die Expression von Galektin-3 ist in den Tumorstadien sehr uniform. Durchschnittlich 50% der FTC exprimieren in den einzelnen TNM-Stadien Galektin-3 (Tabelle 8). Somit lässt sich keine Abhängigkeit der Expression vom Tumorstadium nachweisen. Einschränkend muss auch hier erwähnt werden, dass eine weitere statistische Auswertung aufgrund der kleinen Stichprobengröße vor allem in den höheren Tumorstadien keinen Zugewinn bringt.

Tabelle 8: Expression von Galektin-3 in Abhängigkeit vom Tumorstadium des FTC

			Tumorstadium				
			pT1	pT2	pT3	pT4	Ge- samt
Score	negativ	Anzahl [n]	1	22	3	2	28
		% innerhalb des Stadiums	50,0	52,4	50,0	50,0	
	positiv	Anzahl [n]	1	20	3	2	26
		% innerhalb des Stadiums	50,0	47,6	50,0	50,0	
Gesamt		Anzahl [n]	2	42	6	4	54
		% innerhalb des Stadiums	100,0	100,0	100,0	100,0	

Eine wesentliche Bedeutung käme der Galektin-3 Expression in der Unterscheidung zwischen benignen und grenzwertig malignen Läsionen der Schilddrüse zu. Hier bestehen bei der Beurteilung von Biopsien der Schilddrüse die größten Unsicherheiten.

### 3.10 Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen Adenomen und differenzierten Karzinomen der Schilddrüse

Von den 156 differenzierten Schilddrüsenkarzinomen sind 102 positiv auf Galektin-3 (65,4%) wohingegen von den 84 Adenomen lediglich 29 (34,5%) eine Galektin-3 Positivität aufweisen. Eine Signifikanz, mit  $p < 0,001$ , ist bei dem Vergleich der 156 differenzierten Schilddrüsenkarzinomen (PTC und FTC) und 84 Adenome, zu erkennen (Abbildung 13). Die Sensitivität beträgt 0,65 (95% Konfidenzintervall 0,57-0,73). Die Spezifität beträgt ebenfalls 0,65 (95% Konfidenzintervall 0,54-0,76). Der positive prädiktive Wert, dass ein Galektin-3 positiver Befund ein differenziertes Karzinom ist, beträgt 0,78 (95% Konfidenzintervall 0,70-0,85).

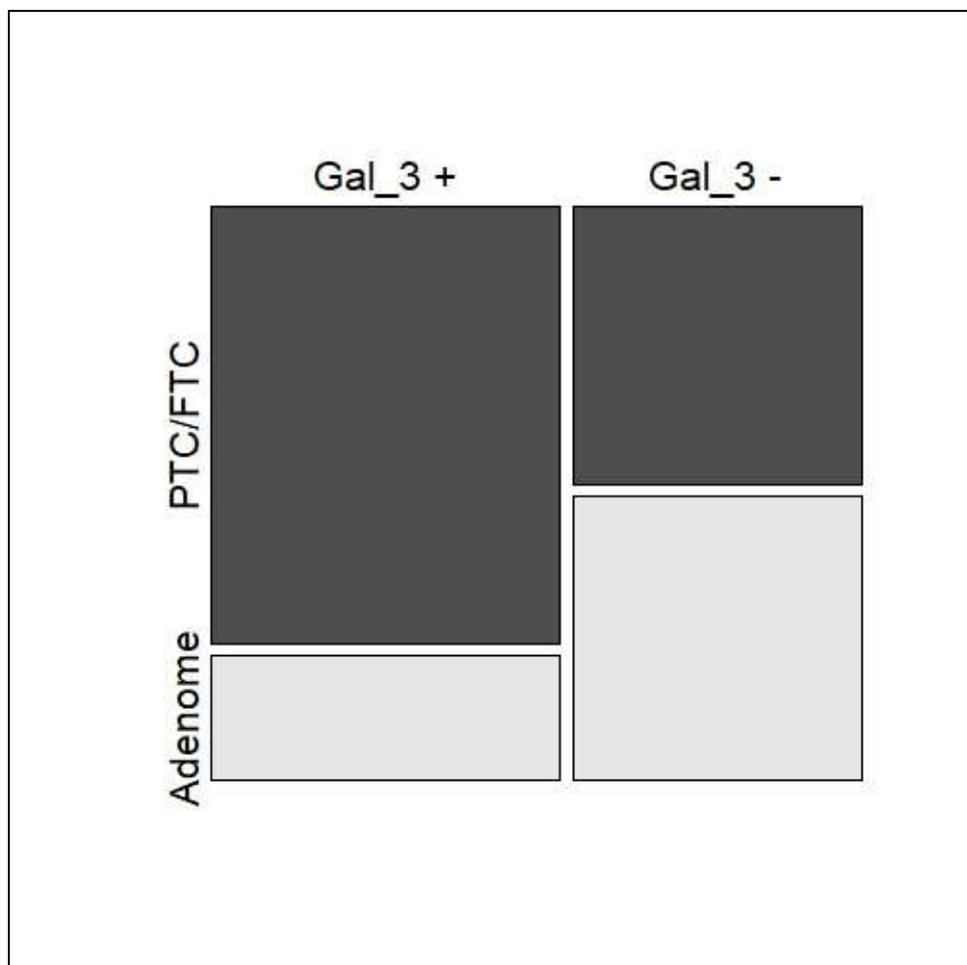


Abbildung 13: Vergleich der Expression von Galektin-3 in Adenomen und differenzierten Schilddrüsenkarzinomen

### 3.11 Vergleich der Galektin-3 Expression zur Unterscheidung der folliculären Variante des PTC zum folliculären Adenom

Ausgesprochen schwierig kann die histologische Unterscheidung zwischen der folliculären Variante eines PTC und einem folliculären Adenom sein [64]. Von den 44 folliculären PTCs sind 29 (65,9%) Galektin-3 positiv. Im Vergleich dazu zeigen jedoch nur 29/84 folliculären Adenomen eine Galektin-3 Positivität (43,5%) (Abbildung 14). Hier findet sich somit ein signifikanter Unterschied in der Expression von Galektin-3 ( $p=0,0014$ ). Die Sensitivität wäre 0,35 (95% Konfidenzintervall 0,24-0,46). Die Spezifität läge bei 0,34 (95% Konfidenzintervall 0,20-0,50). Somit besteht bei einer Galektin-3 positiven Probe eine klinische Wahrscheinlichkeit (positiver prädiktiver Wert), dass es sich um ein folliculäres PTC handelt von 0,5 (95% Konfidenzintervall 0,37-0,63) (Tabelle 11 im Tabellenanhang).

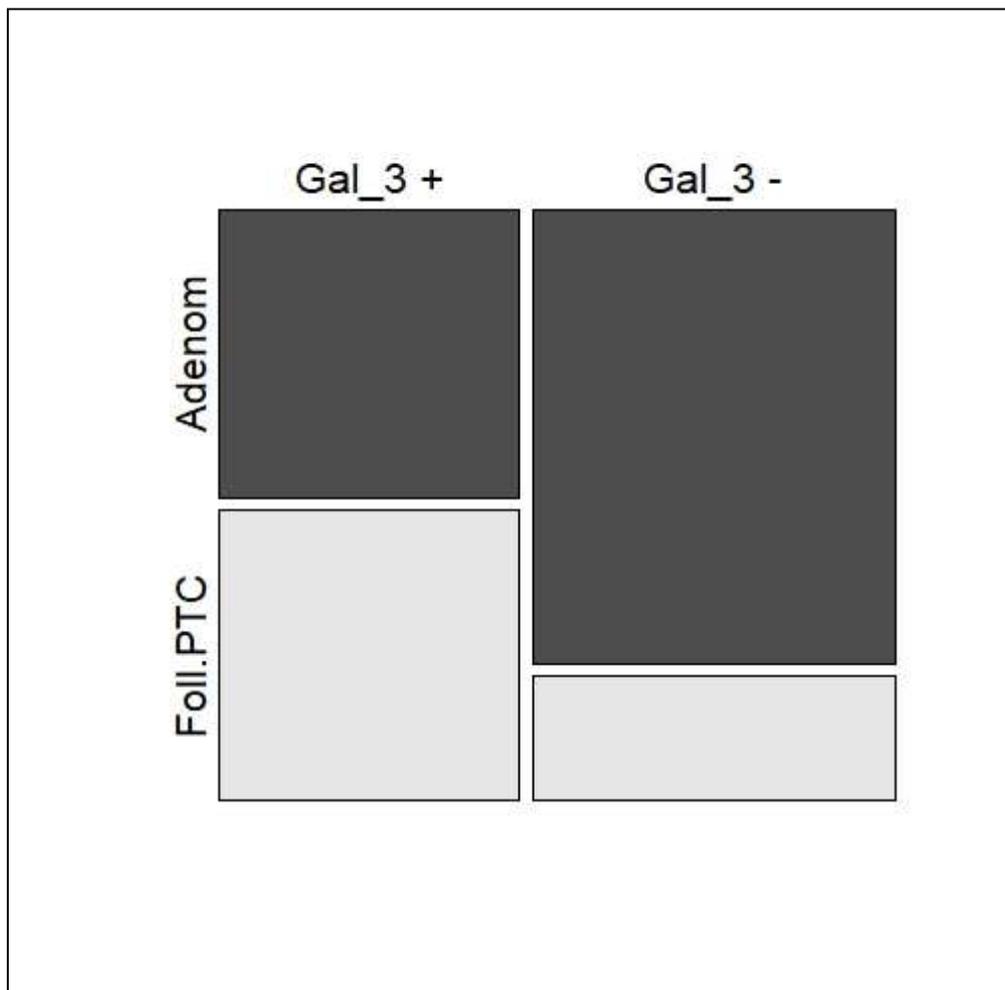


Abbildung 14: Vergleich der Expression von Galektin-3 in der folliculären Variante des PTC zum folliculären Adenom

### 3.12 Vergleich der Galektin-3 Expression von klassischem PTC versus papillärer Hyperplasie

Die differenzialdiagnostische Abgrenzung von PTC und Knoten mit prominenter papillärer Hyperplasie oder komplett hyperplastischen Knoten kann in der konventionellen Histologie insbesondere für die klassische Variante eines PTC schwierig sein [12]. Von den 28 untersuchten klassischen Varianten des PTC zeigen 21 (87,5%) eine Galektin-3 Expression. Im Vergleich dazu sind von 14 papillären Hyperplasien nur drei Galektin-3 positiv (21,4%,  $p=0,0022$ ) (Abbildung 15). Hieraus ergibt sich eine Sensitivität von 0,75 (95% Konfidenzintervall 0,55-0,89) und eine Spezifität von 0,79 (95% Konfidenzintervall 0,49-0,95). Das bedeutet, dass nur 75% der Galektin-3 positiven Proben als papilläres PTC erkannt werden. Ein Galektin-3 positiver Befund ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 88% ein klassisches PTC. Ein Galektin-3 negativer Befund ist mit 61% Wahrscheinlichkeit eine papilläre Hyperplasie. Der positive prädiktive Wert beträgt somit 0,88 (95% Konfidenzintervall 0,68-0,97) (Tabelle 12 im Tabellenanhang).

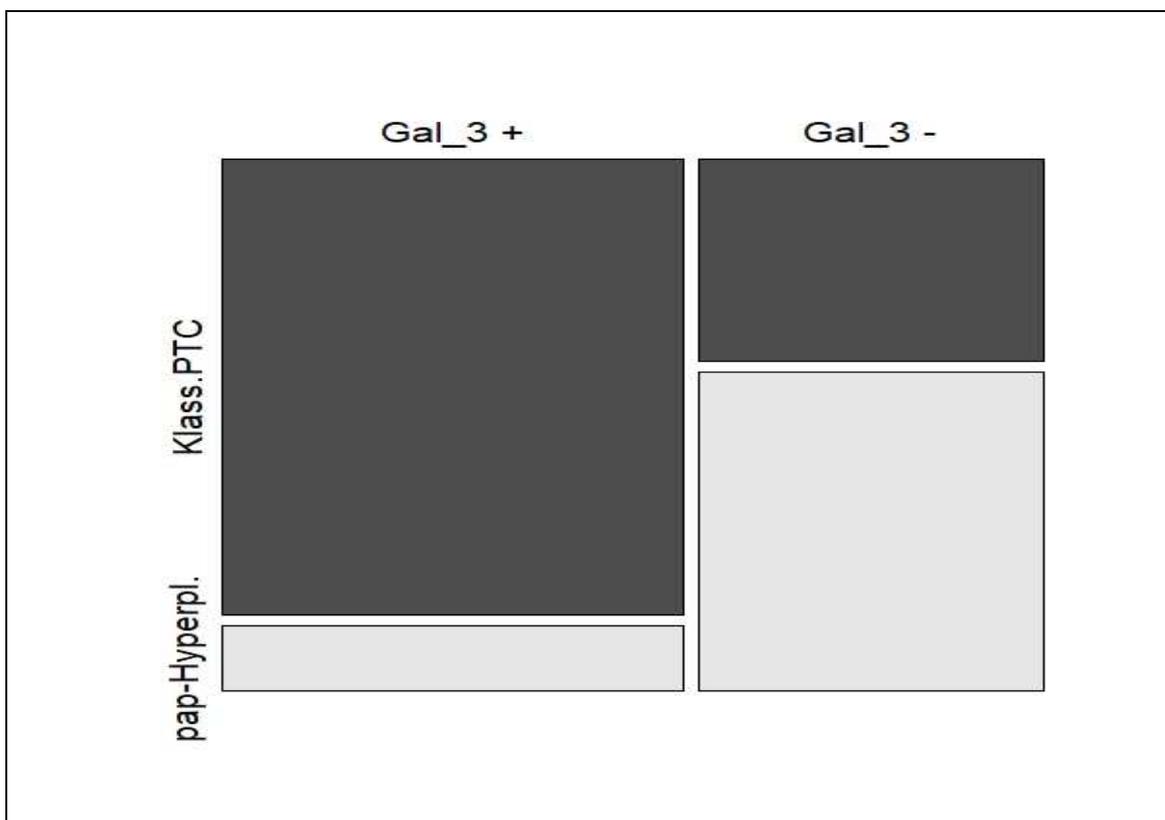


Abbildung 15: Vergleich der Expression von Galektin-3 im klassischen PTC versus papillärer Hyperplasie

### 3.13 Galektin-3 Expression in FTCs im Vergleich zu Adenomen

Von insgesamt 84 Adenomen zeigen 29 (34,5%) eine Galektin-3 Expression, während in der Gruppe der FTC 26/54 (48,1%) positiv sind (Abbildung 16). Hier lässt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen ( $p=0,1534$ ). Auch in der Unterteilung onkozytäre – nicht onkozytäre Tumoren zeigt die Galektin-3 Proteinexpression im Vergleich zwischen Adenomen und FTC kein signifikantes Ergebnis. Der positiv prädiktive Wert beträgt 0,47 (95% Konfidenzintervall 0,34-0,61). Somit bringt die Immunhistochemie mit Galektin-3 für die Unterscheidung dieser Entitäten keine zusätzliche Sicherheit (Tabelle 13 im Tabellenanhang).

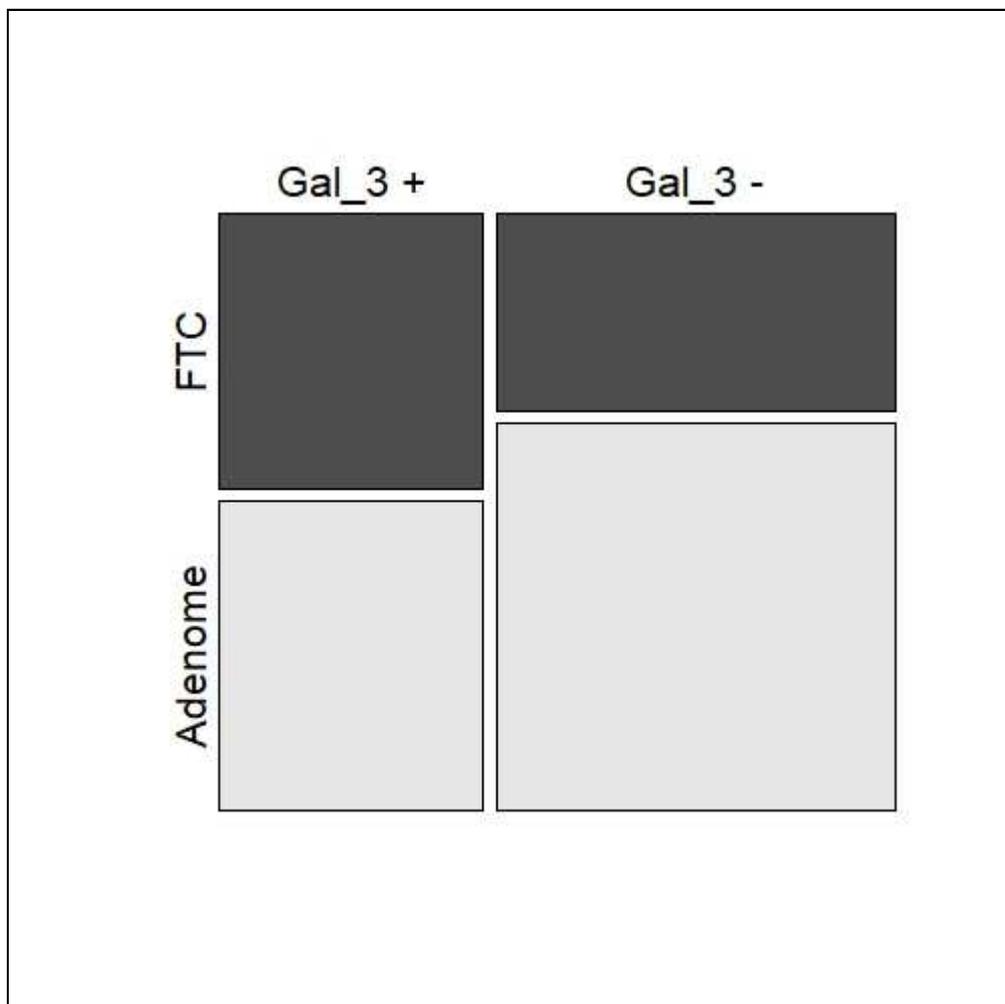


Abbildung 16: Vergleich der Expression von Galektin-3 im FTC *versus* Adenom

### **3.14 Galektin-3 Expression in follikulären Schilddrüesentumoren mit zunehmender Entdifferenzierung**

Bei von den Follikelepithelzellen ausgehenden Tumoren (n=277) nimmt der Anteil Galektin-3 positiver Zellen mit zunehmender Dedifferenzierung zu. In den benignen Läsionen beträgt der Anteil 32/101 (31,7%), in den differenzierten Schilddrüsenkarzinomen (PTC und FTC) 102/156 (65,4%) und in gering differenzierten bzw. anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen bereits 12/17 (70,6%) (Abbildung 17). Es bestehen signifikante Unterschiede in der Expression zwischen benignen und differenzierten Läsionen ( $p < 0,001$ ) und zwischen benignen und undifferenzierten differenzierten Läsionen ( $p = 0,0051$ ). Ein signifikanter Unterschied in der Galektin-3 Expression zwischen differenzierten und undifferenzierten Karzinomen lässt sich nicht nachweisen ( $p = 0,8726$ ) (Tabelle 15 im Tabellenanhang).

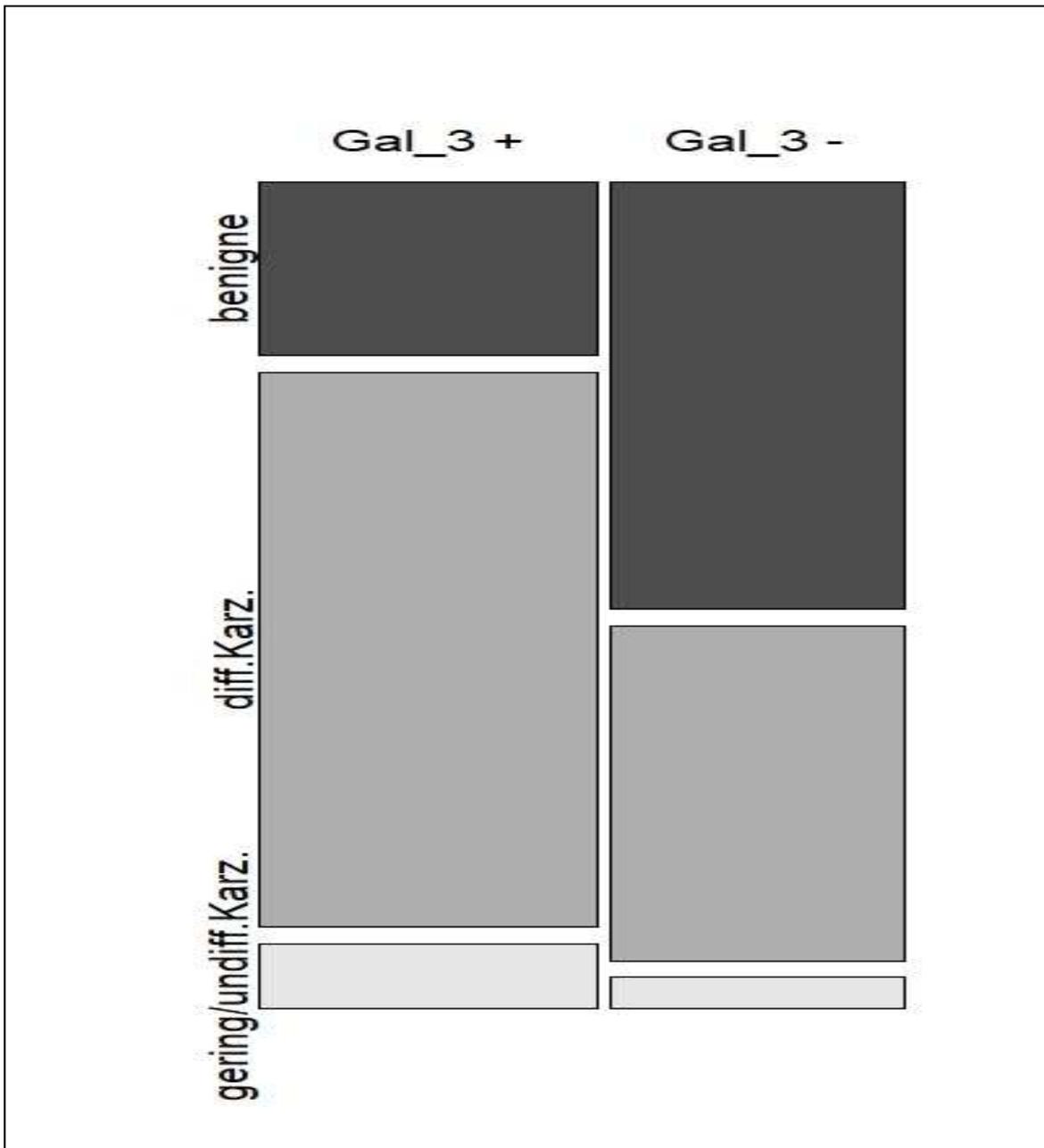


Abbildung 17: Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen benignen, differenzierten und undifferenzierten Karzinomen

## 4 Diskussion

Die hohe Inzidenz von Schilddrüsenknoten in der adulten Bevölkerung (19% - 65%) und die relative geringe Prävalenz von Schilddrüsenmalignomen (10% - 15%) erschweren die präoperative Diagnostik von Schilddrüsenkarzinomen sehr [65]. Eine sichere präoperative Diagnostik ist wichtig, um unnötige operative Eingriffe zu vermeiden, aber auch maligne Tumoren frühzeitig zu detektieren [66, 67].

Die präoperative Charakterisierung von Schilddrüsenknoten umfasst: klinische Parameter, den Schilddrüsenultraschall, die Szintigraphie und - letztlich am wichtigsten - die Feinnadelbiopsie (FNA) [68]. Letztere hat jedoch zwei wesentliche Limitierungen:

- a) Die Gewinnung repräsentativen Materials. Dies kann durch einen versierten Zytologen, der die FNA sonographiegestützt durchführt, optimiert werden.
- b) Die Unterscheidung zwischen benignen follikulären Schilddrüsenknoten (Hyperplasie und Adenom) und einem Malignom mit einer follikulären Architektur (follikuläres Karzinom, onkozytisches follikuläres Karzinom oder die follikuläre Variante eines papillären Karzinoms (relevant in 15% - 30% der Fälle) [69, 70].

Bedingt durch die überlappende Morphologie der follikulären Schilddrüsenknoten ist diese Aufgabe zytologisch in der Praxis faktisch nicht lösbar [71].

Als ein Ergebnis dieser Situation wird Patienten mit einem zytologisch unsicheren Befund die Operation der Schilddrüse empfohlen. Dies geschieht mehr für die Sicherung der Diagnose denn aus wirklich therapeutischer Notwendigkeit. In der endgültigen Histologie werden zwischen 85% und 90% dieser Läsionen als benigne Tumoren klassifiziert, so dass eine große Anzahl an Patienten übertherapiert wird [72-74]. Dies ist auch in Deutschland ein nicht zu unterschätzendes Problem [75].

Immunhistochemische Untersuchungen oder molekulare Marker *in vitro* sind ein mögliches diagnostisches Instrument. Unter den immunhistochemischen Markern ist Galektin-3 gegenwärtig am meisten untersucht und hat möglicherweise mit das größte diagnostische Potential [76, 77].

Die biologische Relevanz der Galektin-3 Expression in maligne transformierten Schilddrüsenzellen wurde bereits bewiesen [71]. Der präoperative Einsatz in der Diagnostik von Schilddrüsenknoten folgt der biologischen Rationale:

- a) Galektin-3 wird physiologischerweise nicht im Zytoplasma von Follikelzellen der Schilddrüse exprimiert [77, 78]. Galektin-3 ist vorwiegend im Zellkern nachweisbar. Der gesteigerte Nachweis von Galektin-3 im Zytoplasma ist vergesellschaftet mit einem gesteigerten Zellwachstum und einer erhöhten Invasivität der Zellen. Der zytosolische Nachweis der Galektin-3 Expression hat eine kritische Bedeutung für die gesamte Galektin-3 Testmethode [36, 71].
- b) Die gesteigerte Expression von Galektin-3 z.B. über Galektin-3 cDNA Transfektion hat einen transformierten Phänotyp zur Folge. Umgekehrt führt die Inhibierung der Galektin-3 zu einer Umkehrung dieses Phänotyps in verschiedenen Tumormodellen *in vitro* [54, 79].
- c) Aberante Expression von Galektin-3 in thyreoidalen Zellen blockiert das Apoptoseprogramm. Die blockierte Apoptose ist ein Mechanismus, der die Entstehung von Malignomen fördert [48, 77].
- d) Galektin-3 ist ein physiologisches Ziel der p53-Transkriptionsaktivität. Die p53 getriggerte Herunterregulierung von Galektin-3 ist für die p53-induzierte Apoptose notwendig [80].
- e) Die wissenschaftliche Literatur hat gezeigt, dass gut differenzierte Schilddrüsenkarzinome unterschiedlich Galektin-3 exprimieren; gesundes Schilddrüsengewebe bzw. gutartige proliferative Veränderungen der Schilddrüse eher selten [81].

In den existierenden Studien zeigt die Galektin-3 Expression einen weiten Schwankungsbereich bei der Expression. Bartolazzi et al. hatten in einer großen Multizenterstudie eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 98% für die Galektin-3 Expression über alle Schilddrüsenkarzinome berechnet [59]. Diese hohen Werte wurden bisher in keiner weiteren Studie bestätigt.

In der hier vorliegenden Untersuchung werden 283 Gewebeproben von der gleichen Anzahl von Patienten von Schilddrüsengewebe histologisch untersucht. Dabei

handelt es sich um 101 benigne und 182 maligne Gewebsveränderungen. Das ist nach dem gegenwärtigen Stand der Literatur die größte im deutschsprachigen Raum untersuchte Stichprobe.

Eine sichere Unterscheidung zwischen benigne und maligne transformierten thyreoidalen Zellen würde voraussetzen, dass im Zytoplasma der Ersteren kein Nachweis von Galektin-3 möglich ist. In unserer Studie zeigen von den reinen Adenomen jedoch 29 von 84 untersuchten Adenomen eine zytoplasmatische Positivität auf Galektin-3. Diese Rate von 34,5% ist für eine Unterscheidung zwischen benigner und maligner Läsion recht hoch. Sie korreliert jedoch mit anderen Studien, in der Adenome in histologischen Schnitten eine Galektin-3 Positivität von 25% - 30% nachweisen [57, 82, 83]. Die Positivität des Zytoplasmas in unseren Färbungen wurde sicher überprüft, so dass eine falsch-positive Beurteilung über zellkernnahe Expression des Galektin-3 ausgeschlossen werden kann. Auch falsch-positive Reaktionen über Fehler im Detektionssystem scheiden mit hoher Wahrscheinlichkeit aus.

Zytologische Präparate des oxyphilen (onkozytären) Adenoms sind oft zellreich und enthalten mehr als 90% Onkozyten. Oxyphile Adenome besitzen große Zellen mit voluminösem Zytoplasma. Man findet häufig eine Mehrkernigkeit und große prominente Nucleolen. Die Beurteilung der Malignität ist sowohl histologisch als auch zytologisch schwierig. Einerseits können die Tumoren mit und ohne Zellatypien einen malignen Verlauf zeigen. Auf der anderen Seite sind starke Zellatypien nicht beweisend für einen malignen Tumor. In der Unterscheidung von oxyphilen und nicht oxyphilen Adenomen liefert die Galektin-3 Immunhistochemie keinen Zugewinn an Informationen. Nur 68% der oxyphilen Adenome werden richtig erkannt. Der Unterschied im Anteil der Galektin-3 positiven Zellen ist nicht signifikant unterschiedlich. Da es im Untersuchungsgut keine oxyphilen Karzinome gibt, können keine Aussagen zur Unterscheidung oxyphiles Karzinom *versus* oxyphiles Adenom getroffen werden.

Für das PTC existieren wenige Ergebnisse bezüglich der Galektin-3 Expression. Es scheint so zu sein, dass in Asien mit 0,9% - 2,0% die Rate an Galektin negativen PTCs deutlich niedriger ist als in der europäischen Population. Hier liegt die Rate negativer PTCs zwischen 10% und 50%. Für Deutschland kann hier mit 102 untersuchten PTCs die erste größere Auswertung vorgelegt werden. Der Anteil von

Galektin-3 negativen PTCs (über alle Subentitäten) liegt hier bei 25,5% und damit im Mittelfeld aller bisher publizierten Studien<sup>[71]</sup>.

Untergliedert man die PTC in klassische (n=28), follikuläre (n=44) und großzellige (n=25) Varianten, dann findet sich die höchste Expression von Galektin-3 in der großzelligen Variante (88% positiv), gefolgt von der klassischen Variante (75% positiv). Bei der follikulären Variante fällt der Anteil der positiven Proben schon auf 66% ab. Die wissenschaftliche Literatur ist für diese ausführliche Untergruppenbildung sehr rar. In den wenigen Studien, die einzelne Untergruppen untersucht haben, liegt die Galektin-3 Positivität für die klassische Variante des PTC zwischen 82% und 100%. Für die follikuläre Variante des PTC liegt der Schwankungsbereich noch weiter zwischen 33% und 100%. Somit stimmen die hier gemessenen Häufigkeiten für das PTC mit denen der wissenschaftlichen Literatur überein <sup>[84]</sup>.

Bezüglich der Galektin-3 Expression und Tumorstadium beim PTC lässt sich in der hier vorgelegten Untersuchung nur ein Trend ablesen: so sind 75% (30/40) der Mikrokarzinome (pT1- Stadium), 67,4% (29/43) im pT2-Stadium, 75% (3/4) im pT3-Stadium und 100% (12/12) im pT4-Stadium Galektin-3 positiv. Diese Ergebnisse sind etwa übereinstimmend mit den Untersuchungen von Cvejic et al., wobei auch hier eine geringe Expressionsvariabilität zwischen den einzelnen Tumorstadien feststellbar war: 78,3% (47/60) im Tumorstadium pT1 und nur 71,4% (10/14) im Tumorstadium pT3. Weiterhin reagierten 36 PTCs mit positivem Lymphknotenbefall positiv auf Galektin-3 und somit mit einer Sensitivität von 100%. Auch in den PTCs ohne Lymphknotenbefall, waren 133 (78,7%) von 169 positiv auf Galektin-3 <sup>[84]</sup>. Dieser Trend würde mit der Zunahme von Invasivität und Metastasierung der differenzierten Tumoren bei erhöhter Expression von Galektin-3 übereinstimmen, der bereits gezeigt wurde <sup>[85]</sup>. Für eine statistische Auswertung ist die Probenzahl in den einzelnen Tumorstadien (insbesondere im pT3-Stadium) sicher zu gering. Dieser Tumorstadienzusammenhang ist noch nicht als gesichert anzusehen, da es ebenfalls Studien gibt, die eine abnehmende Galektin-3 Expression in höheren Tumorstadien des PTC beschreiben. Weiterhin wird über eine ausgeprägte Expression von Galektin-3 in den frühen Stadien des PTC (ohne Lymphknotenmetastasierung) sowie eine abnehmende Expression in höheren Stadien (bei Lymphknotenmetastasierung) berichtet <sup>[55]</sup>.

Die FTCs sind mit 54 die zweitgrößte Stichprobe der untersuchten Schilddrüsenkarzinome. Hier sind schon 52% der untersuchten Proben negativ für die Galektin-3 Expression [43, 61, 82]. Diese Werte entsprechen der internationalen Literatur, wobei die publizierten Fallzahlen eher klein sind und somit die Vergleichbarkeit eingeschränkt bleibt. Unabhängig davon unterteilen viele Studien nur in PTC und non-PTC [86]. Für die klinische Beurteilung wäre die Erkennung zwischen einem minimal-invasiven und einem breit invasiven FTC sinnvoll. Auch hier lassen sich über die Galektin-3 Expression keine signifikanten Unterschiede in den beiden Entitäten nachweisen. Ein Vergleich zu bisherigen Untersuchungen ist nicht möglich.

Eine Abhängigkeit der Galektin-3 Expression der FTCs vom Tumorstadium lässt sich ebenfalls nicht nachweisen. Über alle Stadien sind ca. 50% der FTCs Galektin-3 negativ.

Von großem Interesse wäre in unsicheren Fällen sicher die Unterscheidung zwischen benigner Veränderung und Schilddrüsenkarzinom. Das kann vor allem für die verschiedenen Entitäten der differenzierten Schilddrüsenkarzinome schwierig sein. Von den 156 untersuchten differenzierten Karzinomen waren 65,4% Galektin-3 positiv. Das stellt einen signifikanten Unterschied zu den 84 untersuchten Adenomen, von denen nur 34% positiv waren, dar.

Die besondere Problematik liegt in der histologischen Unterscheidung der follikulären Variante des PTC zu einem follikulären Adenom [12]. Von unseren untersuchten 44 follikulären PTCs waren 69,5% Galektin-3 positiv, während die follikulären Adenomen mit 43,5% signifikant seltener eine positive Reaktion zeigten. Somit besteht bei einer Galektin-3 positiven follikulären Veränderung die klinische Wahrscheinlichkeit von 66%, dass es sich um ein Karzinom handelt.

Einen ähnlichen signifikanten Unterschied können wir in der Unterscheidung zwischen der klassischen Variante des PTC im Vergleich zur papillären Hyperplasie nachweisen. In den 28 untersuchten klassischen Varianten des PTC sind 87,5% Galektin-3 positiv. Dem stehen nur 21,5% Galektin-3 positive Proben papillärer Hyperplasie gegenüber. Daraus ergibt sich, dass eine Galektin-3 positive Veränderung mit einer klinischen Wahrscheinlichkeit von 88% ein Karzinom ist. Mit diesen Werten

stellt die Galektin-3 Immunhistochemie eine gute Ergänzungsuntersuchung zur Unterscheidung maligner oder benigner Prozesse dar.

Schwieriger ist die Unterscheidung zwischen FTCs und Adenomen. Hier gibt die Galektin-3 Immunhistochemie keine zusätzliche Sicherheit bei der Unterscheidung in einen benignen oder malignen Prozess. Es findet sich allenfalls eine Untersuchung von Saggiorato et al. [87]. Dort zeigt er eine starke Korrelation zwischen Galektin-3 Expression und der malignen Entartung bei follikulären Adenomen und minimalinvasiven follikulären Karzinomen. Diese strenge Korrelation zwischen Adenom und FTC lässt sich in unserer Untersuchung nicht einmal ansatzweise nachvollziehen. Letztlich kann man weder innerhalb der FTC (47,3% positive Proben) noch im Vergleich mit den Adenomen (34,5% Positivität für Galektin-3) einen Zugewinn für die Differenzialdiagnostik postulieren.

Die entdifferenzierten Karzinome der Schilddrüse zeigten in unseren Untersuchungen durchgängig eine höhere Positivität für Galektin-3. Diese Ergebnisse muss man jedoch grundsätzlich im Kontext der geringen Fallzahlen kritisch sehen. Aus anderen Untersuchungen ist dieses Verhalten der entdifferenzierten Tumoren bekannt. Die publizierten Fallzahlen gerade für das anaplastische Karzinom sind insgesamt gering. Auch der Anteil Galektin-3 positiver ATCs schwankt zwischen 75% und 100% [88, 89]. Es entspricht auch der Beobachtung, dass das Invasions- und Metastasierungspotential dieser Karzinome höher ist und mit der zytoplasmatischen Expression des Galektin-3 korreliert.

Eine ähnliche Aussage muss man sicher auch zu den untersuchten entzündlichen Veränderungen der Schilddrüse tätigen. Die geringe Fallzahl würde hier jede statistische Aussage konterkarieren. Aus diesem Grund wurden diese seltenen Entitäten nur histologisch ausgewertet ohne eine klinische Empfehlung abzuleiten.

Der ursprüngliche Ansatz dieser Arbeit, über einen Score der Färbeintensität zusätzliche auswertbare Informationen zu generieren, musste aufgegeben werden. Es wurde zwar mit 283 Proben eine erhebliche Zahl an Proben ausgewertet; unter Berücksichtigung der vielen Subgruppen/Entitäten werden die Fallzahlen der jeweiligen Gruppe doch sehr klein. Eine weitere Unterteilung in den generierten Score 1-3 würde zu so kleinen Stichproben führen, deren statistische Auswertung wenig

sinnvoll wäre. Auch in der wissenschaftlichen Literatur zum Thema ist die Anwendung eines Intensitätsscores nur sehr sporadisch zu finden<sup>[60, 61]</sup>.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stehen hinsichtlich Sensitivität und Spezifität der Galektin-3 Expression in teilweise deutlichem Widerspruch zu den euphorischen Ergebnissen der bisher publizierten Literatur. Zu den Gründen hat sich bereits Bartolazzi mehrfach zuletzt 2018 geäußert <sup>[77]</sup>.

Vier prinzipielle Probleme führen zu einer fehlerhaften Interpretation der Ergebnisse in den Publikationen und treiben die Diskussion zu Sensitivität und Spezifität der Galektin-3 Expression:

- a) Das eine Problem ist die Verwendung von Biotin-basierten Detektionssystemen in der Immunhistochemie. Eine erhebliche Anzahl der Schilddrüsenveränderungen zeigte eine endogene biotinähnliche Aktivität. Diese kann zu Interpretationsfehlern bei der Verwendung von Biotin-basierten Detektionssystemen führen <sup>[71, 90]</sup>.
- b) Es existieren verschiedene Antikörper zur Detektion des Galektin-3. Diese erkennen verschiedene Isotypen oder Komponenten des Galektin-3. Es existieren keine Untersuchungen über eine Superiorität eines Antikörpers über einem anderen<sup>[71]</sup>.
- c) Galektin-3 wird physiologischerweise im Zellkern exprimiert. Der für das maligne Geschehen relevante Anteil liegt im Zytoplasma. Somit wäre hier schon ein Interpretationsspielraum für die Bewertung einer immunhistochemischen Färbung gegeben. Damit scheidet auch zusätzliche Untersuchungen, wie die PCR aus (siehe d).
- d) Galektin-3 wird wesentlich im Zytoplasma von Makrophagen, in einigen endothelialen Zellen und gelegentlich in den Zellkernen von Follikelzellen exprimiert. Aus diesen Gründen ist die RT-PCR zur Unterscheidung zwischen malignen und benignen Schilddrüsenknoten nicht geeignet <sup>[91]</sup>.

In dieser Untersuchung haben wir aus diesem Grunde ein Biotin-freies Detektionssystem in der Immunhistochemie verwendet. Die Proben wurden allein nach der

Positivität des Zytoplasmas nach dem Vier-Augen-Prinzip beurteilt. Somit würden die Gründe a) und c) für die Abweichung ausscheiden. Auch der verwendete Antikörper wurde breit eingesetzt und hat seine hohe Spezifität unter Beweis gestellt. Möglicherweise bleibt doch die Beobachtung entscheidend, dass die Positivität auf Galektin-3 in den einzelnen Regionen der Welt schwankt [86].

In der aktuelleren wissenschaftlichen Literatur führt die limitierte Sensitivität und Spezifität der Galektin-3 Expression dazu, dass über die Kombination mit anderen Markern versucht wird, eine höhere Sicherheit zu erreichen. Hier seien vor allem HBM-1 und Zytokeratin-19 genannt [12, 92, 93]. Bei der Verwendung mehrerer Markern scheint es eine höhere Sicherheit für die Unterscheidung von benignen und malignen Veränderungen in der Schilddrüse zu geben.

Unsere Ergebnisse stellen die bislang umfangreichste Auswertung zur Expression des Galektin-3 in gutartigen und bösartigen Schilddrüsentumoren im deutschsprachigen Raum dar. Der Anteil Galektin-3 positiven Proben ist bei malignen Tumoren deutlich höher als bei benignen Veränderungen. Sensitivität und Spezifität der Galektin-3 Expression reichen jedoch nicht aus, um in unklaren Fällen eine höhere Sicherheit bei der Unterscheidung benigne *versus* maligne Veränderung zu erreichen. Einzig für die Unterscheidung zwischen differenzierten Schilddrüsenkarzinomen und Adenomen, zwischen der follikulären Variante des PTC und dem follikulären Adenom sowie der Unterscheidung zwischen klassischem PTC und der papillären Hyperplasie bringt die singuläre Immunhistochemie mit Galektin-3 einen Zugewinn.

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Galektin-3 Proteinexpression mittels Immunhistochemie in 283 malignen und benignen Schilddrüsentumoren untersucht.

Dabei zeigten insbesondere papilläre, gering differenzierte und anaplastische Schilddrüsenkarzinome gegenüber benignen Läsionen eine signifikante Expression, während in follikulären Schilddrüsenkarzinomen keine Signifikanz zu verzeichnen war.

Gerade in der nicht seltenen schwierigen histomorphologischen Abgrenzung zwischen papillären Schilddrüsenkarzinomen (PTC) und einer benignen papillären Hyperplasie bzw. follikulären Adenomen und der follikulären Variante eines PTC scheint die Galektin-3 Proteinexpression ein zusätzlich einsetzbarer und nützlicher Marker zu sein.

Auch nahm der Anteil der positiven Expression mit zunehmender Dedifferenzierung der o. g. Tumoren zu, was Galektin-3 als möglichen „Differenzierungsmarker“ insbesondere in der erst kürzlich definierten Entität der gering differenzierten Schilddrüsenkarzinome (PDTC) auszeichnen könnte. Deren Wertigkeit sollte jedoch in einem größeren Kollektiv untersucht werden.

Als sicheres Unterscheidungsmerkmal zwischen einzelnen (benignen und malignen) Tumorentitäten eignet sich die Galektin-3 Untersuchung definitiv nicht.

Für die Beurteilung der Galektin-3 Expression über einen Expressionsscore sind die Stichprobengrößen wesentlich zu klein.

## 6 Tabellenanhang

Tabelle 1: Galektin-3 Expression in oxyphilen versus nicht oxyphilen Adenomen

			Entität		
			oxyphil	nicht oxyphil	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	17	38	55
		% innerhalb von oxyphil/nicht oxyphil	60,7	67,9	65,5
	positiv	Anzahl [n]	11	18	29
		% innerhalb von oxyphil/nicht oxyphil	39,3	32,1	34,5
Gesamt		Anzahl [n]	28	56	84
		% innerhalb von oxyphil/nicht oxyphil	100,0	100,0	100,0

Tabelle 2: Expression von Galektin-3 in malignen Schilddrüsentumoren

			FTC	PTC	PDTC	ATC	MTC	Sonstige (Angiosarkome, Mukoepidermoidkarzinom)
Score	negativ	Anzahl [n]	28	26	3	2	3	
		(%)	51,9	25,5	27,3	33,3	50,0	
	positiv	Anzahl [n]	26	76	8	4	3	3
		(%)	48,1	74,5	72,7	66,7	50,0	100,0
Gesamt		Anzahl [n]	54	102	11	6	6	3
		(%)	29,7	56,0	6,0	3,3	3,3	100,0

Tabelle 3: Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen differenzierten und sonstigen Karzinomen

			Entität		
			PTC und FTC	Sonstige Karzino- nome	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	54	8	62
		%	34,6	30,8	
	positiv	Anzahl [n]	102	18	120
		%	65,4	69,2	
Gesamt		Anzahl [n]	156	26	182
		%	100,0	100,0	

Tabelle 4: Vergleich der Galektin-3 Expression in PTC gegen alle anderen malignen Schilddrüsentumoren

			Entität		
			PTC	Sonstige ma- lign Tumore	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	26	36	62
		%	25,5	45,0	
	positiv	Anzahl [n]	76	44	120
		%	74,5	55,0	
Gesamt		Anzahl [n]	102	80	182
		%	100,0	100,0	

Tabelle 5: Galektin-3 Expression in den unterschiedlichen Tumorstadien des PTC

		Tumorstadium					
		pT1	pT2	pT3	pT4	pTx	Gesamt
Score negativ	Anzahl [n]	10	14	1		1	26
	% innerhalb des Stadiums	25,0	32,6	25,0		33,3	
positiv	Anzahl [n]	30	29	3	12	2	76
	% innerhalb des Stadiums	75,0	67,4	75,0	100,0	66,7	
Gesamt	Anzahl [n]	40	43	4	2	3	102
	% innerhalb des Stadiums	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 6: Galektin-3 Expression im FTC

			Entität		
			minimal invasiv	breit invasiv	Gesamt
Score negativ	Anzahl [n]		22	6	28
	%		51,2	54,5	
positiv	Anzahl [n]		21	5	26
	%		48,8	45,5	
Gesamt	Anzahl [n]		43	11	54
	%		100,0	100,0	

Tabelle 7: Galektin-3 Expression in oxyphilen versus nicht-oxyphilen FTC

			Entität		
			oxyphil	nicht-oxyphil	Gesamt
Score negativ	Anzahl [n]		6	22	28
	%		33,3	61,1	
positiv	Anzahl [n]		12	14	26
	%		66,7	38,9	
Gesamt	Anzahl [n]		18	36	54
	%		100,0	100,0	

Tabelle 8: Galektin-3 Expression in FTCs versus sonstige maligne Karzinome

			Entität		
			FTC	sonstige maligne	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	28	34	62
		%	51,9	26,6	
	positiv	Anzahl [n]	26	94	120
		%	48,1	73,4	
Gesamt		Anzahl [n]	54	128	182
		%	100,0	100,0	

Tabelle 9: Galektin-3 Expression in gering-/undifferenzierten Schilddrüsenkarzinomen

			Entität		
			PDTC	ATC	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	3	2	5
		% innerhalb der Entität	27,3	33,3	29,4
	positiv	Anzahl [n]	8	4	12
		% innerhalb der Entität	72,7	66,6	70,6
Gesamt		Anzahl [n]	11	6	17
		% innerhalb der Entität	100,0	100,0	100,0

Tabelle 10: Galektin-3 Expression zwischen differenzierten Karzinomen und Adenomen der Schilddrüse

			Entität		
			FTC und PTC	Adenome	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	54	55	109
		%	34,6	65,5	
	positiv	Anzahl [n]	102	29	131
		%	65,4	34,5	
Gesamt		Anzahl [n]	156	84	240
		%	100,0	100,0	

Tabelle 11: Vergleich der Galektin-3 Expression zwischen follikulärem PTC und Adenom

			Entität		
			Adenom	Foll. PTC	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	55	15	70
		% innerhalb der Entität	65,5	34,1	
	positiv	Anzahl [n]	29	29	58
		% innerhalb der Entität	34,5	65,9	
Gesamt	Anzahl [n]		84	44	128
	% innerhalb der Entität		100,0	100,0	

Tabelle 12: Vergleich der Galektin-3 Expression in der klassischen Variante des PTC zur papillären Hyperplasie

			Entität		
			Klass. PTC	Pap. Hyperplasie	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	7	11	18
		% der Entität	25,0	78,6	
	positiv	Anzahl [n]	21	3	24
		% der Entität	75,0	21,4	
Gesamt	Anzahl [n]		28	14	42
	% der Entität		100,0	100,0	

Tabelle 13: Unterschiede in der Galektin-3 Expression von FTC und Adenomen

			Entität		
			FTC	Adenome	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	28	55	83
		% innerhalb der Entität	51,9	65,5	
	positiv	Anzahl [n]	26	29	55
		% innerhalb der Entität	48,1	34,5	
Gesamt	Anzahl [n]		54	84	138
	% innerhalb der Entität		100,0	100,0	

Tabelle 14: Vergleich der Galketin-3 Expression zwischen Adenomen und sonstigen Malignomen (außer differenzierte Karzinome)

			Entität		
			Adenome	Sonstige	Gesamt
Score	negativ	Anzahl [n]	55	8	63
		%	65,5	30,8	
	positiv	Anzahl [n]	29	18	47
		%	34,5	69,2	
Gesamt		Anzahl [n]	84	26	110
		%	100,0	100,0	

Tabelle 15: Unterschiede in der Galektin-3 Expression in Abhängigkeit von der Entdifferenzierung der Tumoren

			Entität		
			Benigne	Differenzierte	Entdifferenzierte
Score	negativ	Anzahl [n]	69	54	5
		%	68,3	34,6	29,4
	positiv	Anzahl [n]	32	102	12
		%	31,7	65,4	70,6
Gesamt		Anzahl [n]	101	156	17
		%	100,0	100,0	100,0

## 7 Literaturverzeichnis

- 1 Reiners C, Geling M, Luster M, Farahati J, Mäder U. Epidemiologie des Schilddrüsenkarzinoms. *Der Onkologe* 2005; **11**(1): 11-19 [DOI: 10.1007/s00761-004-0813-1]
- 2 Schmid KW, Sheu SY, Gorges R, Ensinger C, Totsch M. [Thyroid tumors]. *Der Pathologe* 2003; **24**(5): 357-372 [PMID: 12961024 DOI: 10.1007/s00292-003-0630-0]
- 3 Schmid KW. [Thyroid nodule. Differential diagnostic guidelines]. *Der Pathologe* 1997; **18**(4): 301-312 [PMID: 9380605]
- 4 Mataraci EA, Ozguven BY, Kabukcuoglu F. Expression of cytokeratin 19, HBME-1 and galectin-3 in neoplastic and nonneoplastic thyroid lesions. *Polish journal of pathology : official journal of the Polish Society of Pathologists* 2012; **63**(1): 58-64 [PMID: 22535608]
- 5 Reiners C. Thyroid cancer in 2013: Advances in our understanding of differentiated thyroid cancer. *Nature reviews Endocrinology* 2014; **10**(2): 69-70 [PMID: 24296516 DOI: 10.1038/nrendo.2013.247]
- 6 Romei C, Elisei R. RET/PTC Translocations and Clinico-Pathological Features in Human Papillary Thyroid Carcinoma. *Frontiers in endocrinology* 2012; **3**: 54 [PMID: 22654872 PMCID: PMC3356050 DOI: 10.3389/fendo.2012.00054]
- 7 Dom G, Tarabichi M, Unger K, Thomas G, Oczko-Wojciechowska M, Bogdanova T, Jarzab B, Dumont JE, Detours V, Maenhaut C. A gene expression signature distinguishes normal tissues of sporadic and radiation-induced papillary thyroid carcinomas. *British journal of cancer* 2012; **107**(6): 994-1000 [PMID: 22828612 PMCID: PMC3464765 DOI: 10.1038/bjc.2012.302]
- 8 Herrmann MA, Hay ID, Bartelt DH, Jr., Ritland SR, Dahl RJ, Grant CS, Jenkins RB. Cytogenetic and molecular genetic studies of follicular and papillary thyroid cancers. *The Journal of clinical investigation* 1991; **88**(5): 1596-1604 [PMID: 1939648 PMCID: PMC295680 DOI: 10.1172/jci115472]
- 9 Ladurner D, Hofstadter F. [Prognosis of follicular thyroid cancer in the Tyrolean endemic goiter area]. *Langenbecks Archiv fur Chirurgie* 1983; **360**(4): 267-277 [PMID: 6664184]
- 10 DeLellis RA. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs: IARC Publications, 2017
- 11 Wittekind C. TNM: Klassifikation maligner Tumoren. 8. Auflage ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2017

- 12 Zhu X, Sun T, Lu H, Zhou X, Lu Y, Cai X, Zhu X. Diagnostic significance of CK19, RET, galectin-3 and HBME-1 expression for papillary thyroid carcinoma. *Journal of clinical pathology* 2010; **63**(9): 786-789 [PMID: 20644217 DOI: 10.1136/jcp.2010.076901]
- 13 Casey MB, Lohse CM, Lloyd RV. Distinction between papillary thyroid hyperplasia and papillary thyroid carcinoma by immunohistochemical staining for cytokeratin 19, galectin-3, and HBME-1. *Endocrine pathology* 2003; **14**(1): 55-60 [PMID: 12746563]
- 14 Sheu SY, Gorges R, Schmid KW. [Hyperplasia of the thyroid gland]. *Der Pathologe* 2003; **24**(5): 348-356 [PMID: 12961023 DOI: 10.1007/s00292-003-0627-8]
- 15 Rosai J, Bonfiglio TA, Corson JM, Fechner RE, Harris NL, LiVolsi VA, Silverberg SG. Standardization of the surgical pathology report. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 1992; **5**(2): 197-199 [PMID: 1574498]
- 16 Sheu SY, Schmid KW. [Inflammatory diseases of the thyroid gland. Epidemiology, symptoms and morphology]. *Der Pathologe* 2003; **24**(5): 339-347 [PMID: 12961022 DOI: 10.1007/s00292-003-0628-7]
- 17 Fink H, Hintze G. [Autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis): current diagnostics and therapy]. *Medizinische Klinik (Munich, Germany : 1983)* 2010; **105**(7): 485-493 [PMID: 20676951 DOI: 10.1007/s00063-010-1082-y]
- 18 Hedinger C. Histological Typing of Thyroid Tumours. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1988
- 19 Schmid KW, Totsch M, Ofner D, Bocker W, Ladurner D. Minimally invasive follicular thyroid carcinoma: a clinico-pathological study. *Current topics in pathology Ergebnisse der Pathologie* 1997; **91**: 37-43 [PMID: 9018914]
- 20 Schmid KW, Totsch M, Hittmair A, Feichtinger H, Ladurner D, Hofstadter F. Frequency of medullary thyroid carcinoma in an endemic goiter area. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 1989; **2**(2): 90-93 [PMID: 2542931]
- 21 Hofstadter F. Frequency and morphology of malignant tumours of the thyroid before and after the introduction of iodine-prophylaxis. *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histology* 1980; **385**(3): 263-270 [PMID: 7414939]
- 22 Georgii A. [Epithelial tumours of the thyroid gland (author's transl)]. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft fur Pathologie* 1977; **61**: 191-208 [PMID: 23621]
- 23 Papp S, Asa SL. When thyroid carcinoma goes bad: a morphological and molecular analysis. *Head and neck pathology* 2015; **9**(1): 16-23 [PMID: 25804379 PMCID: PMC4382495 DOI: 10.1007/s12105-015-0619-z]

- 24 Sakamoto A, Kasai N, Sugano H. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid. A clinicopathologic entity for a high-risk group of papillary and follicular carcinomas. *Cancer* 1983; **52**(10): 1849-1855 [PMID: 6313176]
- 25 Schroder S, Holl K, Padberg BC. Pathology of sporadic and hereditary medullary thyroid carcinoma. *Recent results in cancer research Fortschritte der Krebsforschung Progres dans les recherches sur le cancer* 1992; **125**: 19-45 [PMID: 1448597]
- 26 Yang RY, Liu FT. Galectins in cell growth and apoptosis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 2003; **60**(2): 267-276 [PMID: 12678492]
- 27 Volante M, Bozzalla-Cassione F, Orlandi F, Papotti M. Diagnostic role of galectin-3 in follicular thyroid tumors. *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 2004; **444**(4): 309-312 [PMID: 14999471 DOI: 10.1007/s00428-004-0993-5]
- 28 Cvejic D, Savin S, Petrovic I, Selemetjev S, Paunovic I, Tatic S, Havelka M. Galectin-3 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in papillary thyroid carcinoma. *Experimental oncology* 2005; **27**(3): 210-214 [PMID: 16244583]
- 29 Cvejic D, Savin S, Golubovic S, Paunovic I, Tatic S, Havelka M. Galectin-3 and carcinoembryonic antigen expression in medullary thyroid carcinoma: possible relation to tumour progression. *Histopathology* 2000; **37**(6): 530-535 [PMID: 11122435]
- 30 Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 1998; **76**(6): 402-412 [PMID: 9625297]
- 31 Coelho LC, Silva PM, Lima VL, Pontual EV, Paiva PM, Napoleao TH, Correia MT. Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/Pharmacological and Therapeutic Applications. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2017; **2017**: 1594074 [PMID: 28367220 PMCID: PMC5359455 DOI: 10.1155/2017/1594074]
- 32 Savin SB, Cvejic DS, Jankovic MM. Expression of galectin-1 and galectin-3 in human fetal thyroid gland. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society* 2003; **51**(4): 479-483 [PMID: 12642626 DOI: 10.1177/002215540305100409]
- 33 Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology* 2004; **14**(11): 53r-62r [PMID: 15229195 DOI: 10.1093/glycob/cwh122]
- 34 Loris R. Principles of structures of animal and plant lectins. *Biochimica et biophysica acta* 2002; **1572**(2-3): 198-208 [PMID: 12223270]
- 35 Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochimica et biophysica acta* 2002; **1572**(2-3): 263-273 [PMID: 12223274]

- 36 Califice S, Castronovo V, Van Den Brule F. Galectin-3 and cancer (Review). *International journal of oncology* 2004; **25**(4): 983-992 [PMID: 15375548]
- 37 Gabius HJ, Andre S, Kaltner H, Siebert HC. The sugar code: functional lectinomics. *Biochimica et biophysica acta* 2002; **1572**(2-3): 165-177 [PMID: 12223267]
- 38 Sciacchitano S, Lavra L, Morgante A, Ulivieri A, Magi F, De Francesco GP, Bellotti C, Salehi LB, Ricci A. Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z. *International journal of molecular sciences* 2018; **19**(2) [PMID: 29373564 PMCID: PMC5855601 DOI: 10.3390/ijms19020379]
- 39 Kim HR, Lin HM, Biliran H, Raz A. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. *Cancer research* 1999; **59**(16): 4148-4154 [PMID: 10463621]
- 40 Lin HM, Moon BK, Yu F, Kim HR. Galectin-3 mediates genistein-induced G(2)/M arrest and inhibits apoptosis. *Carcinogenesis* 2000; **21**(11): 1941-1945 [PMID: 11062152]
- 41 Liu FT, Hsu DK, Zuberi RI, Kuwabara I, Chi EY, Henderson WR, Jr. Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages. *The American journal of pathology* 1995; **147**(4): 1016-1028 [PMID: 7573347 PMCID: PMC1871012]
- 42 Fernandez PL, Merino MJ, Gomez M, Campo E, Medina T, Castronovo V, Sanjuan X, Cardesa A, Liu FT, Sobel ME. Galectin-3 and laminin expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissue. *The Journal of pathology* 1997; **181**(1): 80-86 [PMID: 9072007 DOI: 10.1002/(sici)1096-9896(199701)181:1<80::Aid-path699>3.0.Co;2-e]
- 43 Htwe TT, Karim N, Wong J, Jahanfar S, Mansur MA. Differential expression of galectin-3 in advancing thyroid cancer cells: a clue toward understanding tumour progression and metastasis. *Singapore medical journal* 2010; **51**(11): 856-859 [PMID: 21140111]
- 44 Hsu DK, Zuberi RI, Liu FT. Biochemical and biophysical characterization of human recombinant IgE-binding protein, an S-type animal lectin. *The Journal of biological chemistry* 1992; **267**(20): 14167-14174 [PMID: 1629216]
- 45 Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Galectin-3 in angiogenesis and metastasis. *Glycobiology* 2014; **24**(10): 886-891 [PMID: 25138305 PMCID: PMC4153760 DOI: 10.1093/glycob/cwu086]
- 46 Wang L, Inohara H, Pienta KJ, Raz A. Galectin-3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. *Biochemical and biophysical research communications* 1995; **217**(1): 292-303 [PMID: 8526926 DOI: 10.1006/bbrc.1995.2777]
- 47 van den Brule FA, Waltregny D, Liu FT, Castronovo V. Alteration of the cytoplasmic/nuclear expression pattern of galectin-3 correlates with prostate

carcinoma progression. *International journal of cancer* 2000; **89**(4): 361-367 [PMID: 10956411]

48 Haudek KC, Spronk KJ, Voss PG, Patterson RJ, Wang JL, Arnoys EJ. Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochimica et biophysica acta* 2010; **1800**(2): 181-189 [PMID: 19616076 PMCID: PMC2815258 DOI: 10.1016/j.bbagen.2009.07.005]

49 Park JW, Voss PG, Grabski S, Wang JL, Patterson RJ. Association of galectin-1 and galectin-3 with Gemin4 in complexes containing the SMN protein. *Nucleic acids research* 2001; **29**(17): 3595-3602 [PMID: 11522829 PMCID: PMC55878]

50 Seve AP, Felin M, Doyennette-Moyne MA, Sahraoui T, Aubery M, Hubert J. Evidence for a lactose-mediated association between two nuclear carbohydrate-binding proteins. *Glycobiology* 1993; **3**(1): 23-30 [PMID: 8448382]

51 Goletz S, Hanisch FG, Karsten U. Novel alphaGalNAc containing glycans on cytokeratins are recognized invitro by galectins with type II carbohydrate recognition domains. *Journal of cell science* 1997; **110 ( Pt 14)**: 1585-1596 [PMID: 9247192]

52 Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1987; **84**(18): 6452-6456 [PMID: 3306680 PMCID: PMC299095]

53 Cowles EA, Agrwal N, Anderson RL, Wang JL. Carbohydrate-binding protein 35. Isoelectric points of the polypeptide and a phosphorylated derivative. *The Journal of biological chemistry* 1990; **265**(29): 17706-17712 [PMID: 2170392]

54 Yoshii T, Inohara H, Takenaka Y, Honjo Y, Akahani S, Nomura T, Raz A, Kubo T. Galectin-3 maintains the transformed phenotype of thyroid papillary carcinoma cells. *International journal of oncology* 2001; **18**(4): 787-792 [PMID: 11251175]

55 Turkoz HK, Oksuz H, Yurdakul Z, Ozcan D. Galectin-3 expression in tumor progression and metastasis of papillary thyroid carcinoma. *Endocrine pathology* 2008; **19**(2): 92-96 [PMID: 18581271 DOI: 10.1007/s12022-008-9033-3]

56 Rydlova M, Ludvikova M, Stankova I. Potential diagnostic markers in nodular lesions of the thyroid gland: an immunohistochemical study. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia* 2008; **152**(1): 53-59 [PMID: 18795075]

57 Mehrotra P, Okpokam A, Bouhaidar R, Johnson SJ, Wilson JA, Davies BR, Lennard TW. Galectin-3 does not reliably distinguish benign from malignant thyroid neoplasms. *Histopathology* 2004; **45**(5): 493-500 [PMID: 15500653 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2004.01978.x]

- 58 Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; **93**(13): 6737-6742 [PMID: 8692888 PMCID: PMC39096]
- 59 Bartolazzi A, Orlandi F, Saggiorato E, Volante M, Arecco F, Rossetto R, Palestini N, Ghigo E, Papotti M, Bussolati G, Martegani MP, Pantellini F, Carpi A, Giovagnoli MR, Monti S, Toscano V, Sciacchitano S, Pennelli GM, Mian C, Pelizzo MR, Rugge M, Troncone G, Palombini L, Chiappetta G, Botti G, Vecchione A, Bellocco R. Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. *The Lancet Oncology* 2008; **9**(6): 543-549 [PMID: 18495537 DOI: 10.1016/s1470-2045(08)70132-3]
- 60 Weber KB, Shroyer KR, Heinz DE, Nawaz S, Said MS, Haugen BR. The use of a combination of galectin-3 and thyroid peroxidase for the diagnosis and prognosis of thyroid cancer. *American journal of clinical pathology* 2004; **122**(4): 524-531 [PMID: 15487449 DOI: 10.1309/uuqt-e505-ptn5-qj7m]
- 61 Herrmann ME, LiVolsi VA, Pasha TL, Roberts SA, Wojcik EM, Baloch ZW. Immunohistochemical expression of galectin-3 in benign and malignant thyroid lesions. *Archives of pathology & laboratory medicine* 2002; **126**(6): 710-713 [PMID: 12033961 DOI: 10.1043/0003-9985(2002)126<0710:leogib>2.0.Co;2]
- 62 Friendly M. A Brief History of the Mosaic Display AU - Friendly, Michael. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 2002; **11**(1): 89-107 [DOI: 10.1198/106186002317375631]
- 63 Theus M. Mosaic plots. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics* 2012; **4**(2): 191-198 [DOI: doi:10.1002/wics.1192]
- 64 Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, Baloch ZW, Basolo F, Thompson LD, Barletta JA, Wenig BM, Al Ghuzlan A, Kakudo K, Giordano TJ, Alves VA, Khanafshar E, Asa SL, El-Naggar AK, Gooding WE, Hodak SP, Lloyd RV, Maytal G, Mete O, Nikiforova MN, Nose V, Papotti M, Poller DN, Sadow PM, Tischler AS, Tuttle RM, Wall KB, LiVolsi VA, Randolph GW, Ghossein RA. Nomenclature Revision for Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: A Paradigm Shift to Reduce Overtreatment of Indolent Tumors. *JAMA oncology* 2016; **2**(8): 1023-1029 [PMID: 27078145 PMCID: PMC5539411 DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.0386]
- 65 Rago T, Scutari M, Latrofa F, Loiacono V, Piaggi P, Marchetti I, Romani R, Basolo F, Miccoli P, Tonacchera M, Vitti P. The large majority of 1520 patients with indeterminate thyroid nodule at cytology have a favorable outcome, and a clinical risk score has a high negative predictive value for a more cumbersome cancer disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2014; **99**(10): 3700-3707 [PMID: 24708101 DOI: 10.1210/jc.2013-4401]
- 66 Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, Inohara H, Marandino F, Orlandi F, Nardi F, Vecchione A, Tecce R, Larsson O. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular

thyroid lesions. *Lancet (London, England)* 2001; **357**(9269): 1644-1650 [PMID: 11425367]

67 Bartsch DK, Luster M, Buhr HJ, Lorenz D, Germer CT, Goretzki PE. Indications for the Surgical Management of Benign Goiter in Adults. *Deutsches Arzteblatt international* 2018; **115**(1-02): 1-7 [PMID: 29345225 PMCID: PMC5778395 DOI: 10.3238/arztebl.2018.0001]

68 Soderstrom N. Puncture of goiters for aspiration biopsy. *Acta medica Scandinavica* 1952; **144**(3): 237-244 [PMID: 13007429]

69 Melck A, Bugis S, Baliski C, Irvine R, Anderson DW, Wilkins G, Zhang H, Wiseman SM. Hemithyroidectomy: the preferred initial surgical approach for management of Hurthle cell neoplasm. *American journal of surgery* 2006; **191**(5): 593-597 [PMID: 16647343 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2006.02.007]

70 Wiseman SM, Baliski C, Irvine R, Anderson D, Wilkins G, Filipenko D, Zhang H, Bugis S. Hemithyroidectomy: the optimal initial surgical approach for individuals undergoing surgery for a cytological diagnosis of follicular neoplasm. *Annals of surgical oncology* 2006; **13**(3): 425-432 [PMID: 16485160 DOI: 10.1245/aso.2006.03.089]

71 Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, Jones SJ, Gown AM, Walker B, Nabi IR, Wiseman SM. Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *The American journal of pathology* 2010; **176**(5): 2067-2081 [PMID: 20363921 PMCID: PMC2861072 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090353]

72 Bartolazzi A. Improving accuracy of cytology for nodular thyroid lesions. *Lancet (London, England)* 2000; **355**(9216): 1661-1662 [PMID: 10905237 DOI: 10.1016/s0140-6736(00)02233-9]

73 Kim ES, Nam-Goong IS, Gong G, Hong SJ, Kim WB, Shong YK. Postoperative findings and risk for malignancy in thyroid nodules with cytological diagnosis of the so-called "follicular neoplasm". *The Korean journal of internal medicine* 2003; **18**(2): 94-97 [PMID: 12872446 PMCID: PMC4531614]

74 Sorrenti S, Trimboli P, Catania A, Ulisse S, De Antoni E, D'Armiento M. Comparison of malignancy rate in thyroid nodules with cytology of indeterminate follicular or indeterminate Hurthle cell neoplasm. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* 2009; **19**(4): 355-360 [PMID: 19355826 DOI: 10.1089/thy.2008.0338]

75 Musholt TJ, Clerici T, Dralle H, Frilling A, Goretzki PE, Hermann MM, Kussmann J, Lorenz K, Nies C, Schabram J, Schabram P, Scheuba C, Simon D, Steinmuller T, Trupka AW, Wahl RA, Zielke A, Bockisch A, Karges W, Luster M, Schmid KW. German Association of Endocrine Surgeons practice guidelines for the surgical treatment of benign thyroid disease. *Langenbeck's archives of surgery* 2011; **396**(5): 639-649 [PMID: 21424798 DOI: 10.1007/s00423-011-0774-y]

- 76 Wiseman SM, Melck A, Masoudi H, Ghaidi F, Goldstein L, Gown A, Jones SJ, Griffith OL. Molecular phenotyping of thyroid tumors identifies a marker panel for differentiated thyroid cancer diagnosis. *Annals of surgical oncology* 2008; **15**(10): 2811-2826 [PMID: 18612701 DOI: 10.1245/s10434-008-0034-8]
- 77 Bartolazzi A, Sciacchitano S, D'Alessandria C. Galectin-3: The Impact on the Clinical Management of Patients with Thyroid Nodules and Future Perspectives. *International journal of molecular sciences* 2018; **19**(2) [PMID: 29393868 PMCID: PMC5855667 DOI: 10.3390/ijms19020445]
- 78 de Matos LL, Del Giglio AB, Matsubayashi CO, de Lima Farah M, Del Giglio A, da Silva Pinhal MA. Expression of CK-19, galectin-3 and HBME-1 in the differentiation of thyroid lesions: systematic review and diagnostic meta-analysis. *Diagnostic pathology* 2012; **7**: 97 [PMID: 22888980 PMCID: PMC3523001 DOI: 10.1186/1746-1596-7-97]
- 79 Takenaka Y, Inohara H, Yoshii T, Oshima K, Nakahara S, Akahani S, Honjo Y, Yamamoto Y, Raz A, Kubo T. Malignant transformation of thyroid follicular cells by galectin-3. *Cancer letters* 2003; **195**(1): 111-119 [PMID: 12767519]
- 80 Cecchinelli B, Lavra L, Rinaldo C, Iacovelli S, Gurtner A, Gasbarri A, Ulivieri A, Del Prete F, Trovato M, Piaggio G, Bartolazzi A, Soddu S, Sciacchitano S. Repression of the antiapoptotic molecule galectin-3 by homeodomain-interacting protein kinase 2-activated p53 is required for p53-induced apoptosis. *Molecular and cellular biology* 2006; **26**(12): 4746-4757 [PMID: 16738336 PMCID: PMC1489111 DOI: 10.1128/mcb.00959-05]
- 81 Carpi A, Rossi G, Coscio GD, Iervasi G, Nicolini A, Carpi F, Mechanick JI, Bartolazzi A. Galectin-3 detection on large-needle aspiration biopsy improves preoperative selection of thyroid nodules: a prospective cohort study. *Annals of medicine* 2010; **42**(1): 70-78 [PMID: 20001505 DOI: 10.3109/07853890903439778]
- 82 Kovacs RB, Foldes J, Winkler G, Bodo M, Sapi Z. The investigation of galectin-3 in diseases of the thyroid gland. *European journal of endocrinology* 2003; **149**(5): 449-453 [PMID: 14585093]
- 83 Nucera C, Mazzon E, Caillou B, Violi MA, Moleti M, Priolo C, Sturniolo G, Puzzolo D, Cavallari V, Trimarchi F, Vermiglio F. Human galectin-3 immunoexpression in thyroid follicular adenomas with cell atypia. *Journal of endocrinological investigation* 2005; **28**(2): 106-112 [PMID: 15887854]
- 84 Cvejic DS, Savin SB, Petrovic IM, Paunovic IR, Tatic SB, Havelka MJ. Galectin-3 expression in papillary thyroid carcinoma: relation to histomorphologic growth pattern, lymph node metastasis, extrathyroid invasion, and tumor size. *Head & neck* 2005; **27**(12): 1049-1055 [PMID: 16155918 DOI: 10.1002/hed.20276]

- 85 Takenaka Y, Fukumori T, Raz A. Galectin-3 and metastasis. *Glycoconjugate journal* 2002; **19**(7-9): 543-549 [PMID: 14758078 DOI: 10.1023/b:Glyc.0000014084.01324.15]
- 86 Tang W, Huang C, Tang C, Xu J, Wang H. Galectin-3 may serve as a potential marker for diagnosis and prognosis in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *OncoTargets and therapy* 2016; **9**: 455-460 [PMID: 26858526 PMCID: PMC4730995 DOI: 10.2147/ott.S94514]
- 87 Saggiorato E, Cappia S, De Giuli P, Mussa A, Pancani G, Caraci P, Angeli A, Orlandi F. Galectin-3 as a presurgical immunocyto-diagnostic marker of minimally invasive follicular thyroid carcinoma. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2001; **86**(11): 5152-5158 [PMID: 11701669 DOI: 10.1210/jcem.86.11.8043]
- 88 Gasbarri A, Martegani MP, Del Prete F, Lucante T, Natali PG, Bartolazzi A. Galectin-3 and CD44v6 isoforms in the preoperative evaluation of thyroid nodules. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1999; **17**(11): 3494-3502 [PMID: 10550147 DOI: 10.1200/jco.1999.17.11.3494]
- 89 Cvejic D, Savin S, Paunovic I, Tatic S, Havelka M, Sinadinovic J. Immunohistochemical localization of galectin-3 in malignant and benign human thyroid tissue. *Anticancer research* 1998; **18**(4a): 2637-2641 [PMID: 9703921]
- 90 Kashima K, Yokoyama S, Daa T, Nakayama I, Nickerson PA, Noguchi S. Cytoplasmic biotin-like activity interferes with immunohistochemical analysis of thyroid lesions: a comparison of antigen retrieval methods. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 1997; **10**(5): 515-519 [PMID: 9160320]
- 91 Bojunga J, Zeuzem S. Molecular detection of thyroid cancer: an update. *Clinical endocrinology* 2004; **61**(5): 523-530 [PMID: 15521953 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2004.02131.x]
- 92 Volante M, Bozzalla-Cassione F, DePompa R, Saggiorato E, Bartolazzi A, Orlandi F, Papotti M. Galectin-3 and HBME-1 expression in oncocytic cell tumors of the thyroid. *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 2004; **445**(2): 183-188 [PMID: 15252732 DOI: 10.1007/s00428-004-1074-5]
- 93 Barut F, Onak Kandemir N, Bektas S, Bahadir B, Keser S, Ozdamar SO. Universal markers of thyroid malignancies: galectin-3, HBME-1, and cytokeratin-19. *Endocrine pathology* 2010; **21**(2): 80-89 [PMID: 20198455 DOI: 10.1007/s12022-010-9114-y]

## **8 Danksagung**

Mein Dank gilt dem Team des Labors Pathologie Essen, welches mir die Schnitte zur Verfügung gestellt haben.

Herrn PD Dr. med. Matthias Kapischke danke ich für die erstklassige Betreuung, Geduld und Engagement sowie den Tipps für die Fertigstellung meiner Arbeit. Er hat mich in das wissenschaftliche Denken eingeführt und mir methodisch viel beigebracht.

Herrn Dipl-Math. Jürgen Hedderich danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung und Interpretation der Ergebnisse.

Besonders danken möchte ich meinem Ehemann Markus Berger für seine Unterstützung während des Studiums und auch natürlich bei der Fertigstellung der Arbeit.

Einen Dank meinen Töchtern Malvina und Melina Berger für ihr Dasein und die Zeit, die sie mir schenkten, um die Arbeit fertig zu stellen.

Einen herzlichen Dank auch an meine Eltern, die es mir ermöglicht haben, diesen Weg zu gehen.

## 9 Lebenslauf

Name: Berger, Edelgard  
Anschrift: Erlenweg 23, 33428 Harsewinkel



Geburtsdatum 18.04.1975  
Geburtsort: Arad/Rumänien  
Familienstand: verheiratet, 2 Kinder

### **Schulische Ausbildung:**

1995 Heisenberg Gymnasium Dortmund  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### **Berufliche Ausbildung:**

08/1995 – Berufsausbildung zur Arzthelferin  
01/1998 Dr. med. Jürgen Kuhnhenh (Internist) in Dortmund  
02/1998 – Arzthelferin  
09/1998 Dr. med. Jürgen Kuhnhenh in Dortmund

### **Hochschulausbildung**

10/1998 – Studium der Medizin an der Ruhr-Universität, Bochum  
03/2001  
• Ärztliche Vorprüfung  
04/2001 – Studium der Medizin an der Universität Duisburg-Essen  
04/2005  
• Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (03/2002)  
• Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (04/2004)

- Praktisches Jahr (04/2004 – 03/2005)
- 1. Tertiär Universitätsspital Zürich, Schweiz
  - Viszeral und Transplantationschirurgie, Prof. Dr. med. Clavien
  - Gefäßchirurgie, Prof. Dr. med. Turina
- 2. Tertiär Uniklinik Essen
  - Innere Medizin, Prof. Dr. med. Mann
  - Gastroenterologie, Prof. Dr. med. Gerken
- 3. Tertiär Uniklinik Essen
  - Gynäkologie, Prof. Dr. med. Kimmig
- Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (04/2005)

### **Ärztliche Laufbahn:**

05/2005 –	Weiterbildungsassistentin für allgemeine Chirurgie
04/2009	Krankenhaus Spremberg, CA DM U. Zillich
04/2009 –	Anästhesie und Intensivmedizin
03/2010	Krankenhaus Spremberg, CA Dr. med. C. Wolf
04/2010 -05/2011	Weiterbildungsassistentin Viszeralchirurgie Krankenhaus Spremberg, CA Dr. med. M. Frackowiak
06/2011-07/2011	Weiterbildungsassistentin Viszeralchirurgie Carl-Thiem-Klinikum Cottbus, CA Priv. -Doz. Dr. med. habil R. Kube
08/2011-05/2014	Weiterbildungsassistentin Allgemein Chirurgie Klinikum Gütersloh, CA Prof. Dr. med. M. Varney
10/2012	Facharztprüfung Allgemein Chirurgie
06/2014-02/2018	Weiterbildungsassistentin Gefäßchirurgie Klinikum Gütersloh, CA Dr. med. M. Marinka
03/2018-dato	Weiterbildungsassistentin Viszeralchirurgie Klinikum, Gütersloh, CA PD Dr. med. M. Kapischke