

Aus der Klinik für Allgemeine Innere Medizin
(Direktor: Prof. Dr. med. S. Schreiber)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts Universität zu Kiel

**MUTATIONEN IN GENEN VON PROTEINEN DER APOPTOSE UND DEREN
EINFLUSS AUF DEN KRANKHEITSVERLAUF UND DAS
THERAPIEANSPRECHEN BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HEPATITIS C**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
GREGOR TOBIAS RUSCHEMEIER
aus Oelde

Kiel 2009

Aus der Klinik für Allgemeine Innere Medizin
(Direktor: Prof. Dr. med. S. Schreiber)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts Universität zu Kiel

**MUTATIONEN IN GENEN VON PROTEINEN DER APOPTOSE UND DEREN
EINFLUSS AUF DEN KRANKHEITSVERLAUF UND DAS
THERAPIEANSPRECHEN BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HEPATITIS C**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
GREGOR TOBIAS RUSCHEMEIER
aus Oelde

Kiel 2009

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Hinrichsen

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Fändrich

Tag der mündlichen Prüfung: 8. September 2009

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 8. September 2009

gez: Prof. Dr. med. Gerber

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1. Einleitung..... | 1 |
| 1.1. Das Hepatitis-C-Virus (HCV) und seine Varianten..... | 1 |
| 1.2. Übertragungswege des Hepatitis-C-Virus..... | 2 |
| 1.3. Klinik der HCV-Infektion/Erkrankung..... | 3 |
| 1.4. Diagnostik der Hepatitis-C-Infektion..... | 4 |
| 1.5. Therapie der Hepatitis-C-Virus Infektion..... | 5 |
| 1.6. Untersuchte Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)..... | 6 |
| 1.7 Fragestellung..... | 9 |
| 2. Material und Methoden..... | 10 |
| 2.1. Material..... | 10 |
| 2.1.1. Verlauf der Krankheit..... | 11 |
| 2.1.2. Definition der Spontanheilung..... | 12 |
| 2.1.3. Fibroestadium..... | 12 |
| 2.1.4. Therapieansprechen..... | 12 |
| 2.1.5. Kontraindikationen für die Therapie..... | 14 |
| 2.2. Methoden..... | 15 |
| 2.2.1. Isolation der DNA und Untersuchungsmethoden..... | 15 |
| 3. Ergebnisse..... | 17 |
| 3.1. Spontanheilung und chronische Infektion..... | 17 |
| 3.2. Fibroestadium..... | 17 |
| 3.3. Therapieansprechen..... | 18 |
| 4. Diskussion..... | 19 |
| 4.1. Die HCV-Population..... | 19 |
| 4.2. Methoden..... | 19 |
| 4.3. FAS-Rezeptor..... | 20 |
| 4.3.1. Der FAS-Rezeptor und seine Charakteristika..... | 20 |
| 4.3.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe..... | 21 |
| 4.4. Interleukin 4 (IL4) | 22 |
| 4.4.1. Die Charakteristika des Zytokins..... | 22 |
| 4.4.2. Verteilung der Polymorphismen in der Untersuchungsgruppe..... | 23 |

| | |
|--|----|
| 4.5. Interleukin 6 (IL6)..... | 24 |
| 4.5.1. Charakteristika des Zytokins..... | 24 |
| 4.5.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe..... | 25 |
| 4.6. NFKB2, NFKBIA, NFKBIL1..... | 26 |
| 4.6.1. Charakteristika von NFKB2, NFKBIA und NFKBIL1..... | 26 |
| 4.6.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe..... | 29 |
| 4.7. MAPK13, MAPK14..... | 30 |
| 4.7.1. Charakteristika von MAPK13 und MAPK14..... | 30 |
| 4.7.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe..... | 31 |
| 5. Zusammenfassung..... | 33 |
| 6. Literaturverzeichnis..... | 34 |
| 7. Anhang..... | 41 |
| 8. Danksagung..... | 48 |
| 9. Lebenslauf..... | 49 |

Verzeichnis und Erläuterung der verwendeten Abkürzungen

| | |
|---------|---|
| ALT | Alanin Aminotransferase |
| APAF1 | apoptotic peptidase activating factor 1 |
| BID | BH3 interacting domain death agonist |
| CTL | cytotoxic T lymphozyt |
| DNA | desoxyribonucleic acid |
| EDTA | Ethyldiamintetraacetat |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay |
| ERK | extracellular signal-regulated kinases |
| FADD | FAS-associated protein with death domain |
| FAS-L | FAS Ligand |
| gp | Glykoprotein |
| HAV | Hepatitis-A-Virus |
| HBV | Hepatitis-B-Virus |
| HCV | Hepatitis-C-Virus |
| HIV | Humanes Immundefizienzvirus |
| IFN | Interferon |
| IL4 | Interleukin 4 |
| IL6 | Interleukin 6 |
| IU | international units |
| JAK | Janus kinase |
| kD | kilo Dalton |
| MAPK | mitogen activated protein kinase |
| MHC | major histocompatibility complex |
| NFKB | nuclear factor kappa B |
| NFKBIA | nuclear factor kappa B cell inhibitor alpha |
| NFKBIB | nuclear factor kappa B cell inhibitor beta |
| NFKBIE | nuclear factor kappa B cell inhibitor epsilon |
| NFKBIL1 | nuclear factor kappa B cell inhibitor like 1 |
| P | P-Wert |
| PCR | polymerase chain reaction |

| | |
|----------|--------------------------------|
| PEG | pegyliert |
| Riba | Ribavirin |
| RNA | ribonucleic acid |
| SNP | single nucleotide polymorphism |
| TNFalpha | tumor necrosis factor alpha |
| UTR | untranslated region |

1. Einleitung

1.1. Das Hepatitis-C-Virus (HCV) und seine Varianten

Die HCV-Infektion ist ein globales Gesundheitsproblem. Weltweit wird geschätzt, dass 170 Millionen Menschen chronisch infiziert sind, von denen ungefähr fünf Millionen in Westeuropa leben (Vrolijk et al. 2004).

1989 wurde das Virus erstmals durch molekularbiologische Methoden identifiziert (Choo et al. 1989). Zuvor wurde das durch das Hepatitis-C-Virus hervorgerufene Krankheitsbild als Non-A, Non-B-Hepatitis bezeichnet. Die Ätiologie dieser Leberentzündung konnte nicht eindeutig geklärt werden, während der Nachweis des Hepatitis-A (HAV) und des Hepatitis-B-Virus (HBV) bereits viele Jahre zuvor gelungen war. Das Virus ist ein einzelsträngiges RNA-Virus von positiver Polarität mit einer Länge von etwa 9400 Nukleotiden (Kato et al. 1990). Nach proteolytischer Spaltung des Vorläuferpolyproteins erhält man drei strukturbildende Proteine, Protein C (Core), Protein E1 und E2 (Envelope) und sieben Nicht-Strukturproteine (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) (Combet et al. 2007).

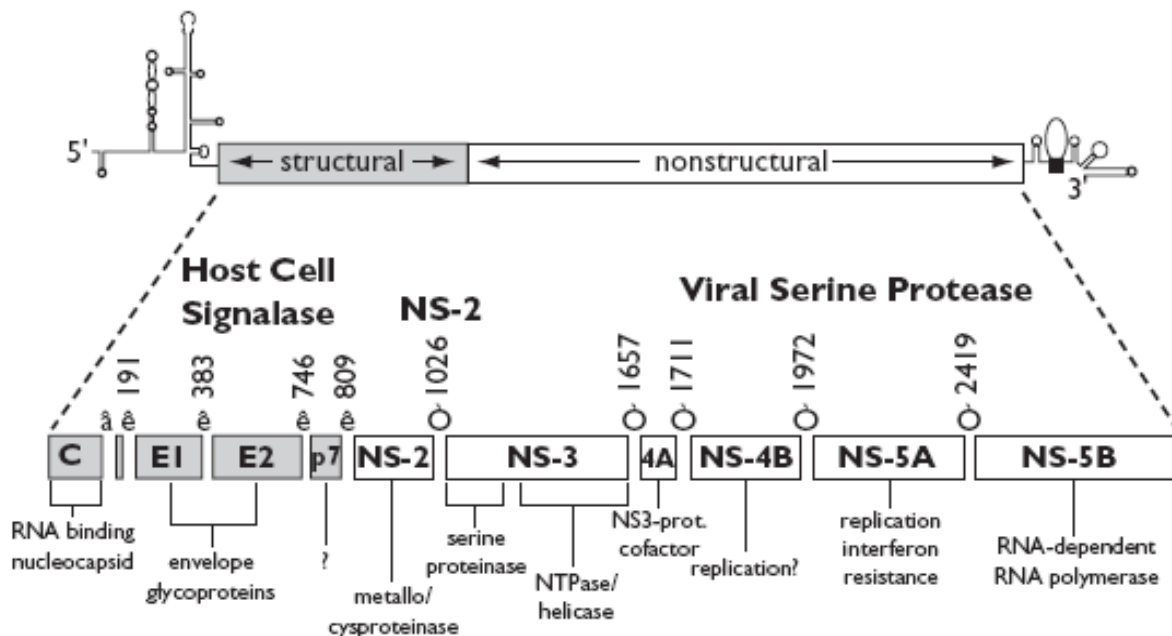


Abbildung 1. Hepatitis-C-Virus Genom (McHutchison 2004)

Das Virus repliziert hauptsächlich in der Leber und wurde wegen seiner Ähnlichkeit der Familie der Flaviviren zugeordnet (Hoofnagle 2002). Derzeit unterscheidet man sechs Genotypen mit zahlreichen Subtypen. Die Nukleotidsequenz der sechs Genotypen unterscheidet sich zum Teil um mehr als 30%, wohingegen die Subtypen typischerweise um 20-25% voneinander abweichen (Simmonds et al. 1993). Als „Quasispezies“ bezeichnet man die Viruspopulation in einem Individuum. Aufgrund von Replikationsfehlern der RNA-abhängigen RNA-Polymerase kommt es dazu, dass sich die Hepatitis-C-Viren in einer Person um bis zu 5% voneinander unterscheiden (Davis 1999). Die Genotypen 1a, 1b, 2 und 3a sind mit regional unterschiedlicher Prävalenz weltweit verbreitet. In Deutschland findet man hauptsächlich den Genotyp 1 (1a, 1b). Genotyp 4 trifft man vornehmlich in Ägypten an, Genotyp 5 in Südafrika und Genotyp 6 in Hongkong (McOmish et al. 1994).

1.2 Übertragungswege des Hepatitis-C-Virus

Die Prävalenz der HCV-Infektion ist geographisch und in verschiedenen Personengruppen unterschiedlich. Die meisten Hepatitis-C-Patienten trifft man in Asien und im östlichen Mittelmeerraum an. In Ägypten und Japan zum Beispiel ist die HCV-Prävalenz viel höher als in Westeuropa (McHutchison 2004).

Epidemiologische Studien zeigen, dass das Hepatitis-C-Virus am häufigsten auf parenteralem Weg übertragen wird. Dabei stellen die intravenös Drogenabhängigen heute die Gruppe mit dem höchsten Risiko einer HCV-Infektion. Eine aktuelle Studie, die in zehn europäischen Großstädten durchgeführt wurde, zeigte, dass mehr als 50% der intravenös Drogenabhängigen HCV infiziert sind. Dabei erhöht sich das Risiko bei längerer Drogeneinnahme, Nadeltausch (needle sharing) und Drogeneinnahme im Gefängnis. Koinfektionen mit Tuberkulose, HBV und HIV stellen ebenfalls ein erhöhtes Risiko für eine HCV-Infektion dar (March et al. 2007). Viele HCV-Infektionen finden sich auch bei Personen, die vor 1990 Bluttransfusionen erhalten haben (z.B. bei Operationen, Hämophilie, Hämodialyse, Geburtskomplikationen) (Alter et al. 1990). Damals war die routinemäßige Testung auf das Virus noch nicht möglich, heute hingegen ist es Pflicht das Vorliegen von HCV-RNA auszuschließen. Man hat das Risiko einer HCV-Infektion durch eine Bluttransfusion in Deutschland heute auf etwa 1:4400000 errechnet (Offergeld et al. 2005).

HCV-Infektionen werden mit geringerer Häufigkeit auch bei sexuellem Kontakt zu Infizierten, durch Exposition im Haushalt und bei Personen, die im Gesundheitswesen arbeiten und so in Kontakt mit Patientenblut kommen, festgestellt (Alter et al. 1990). Die

Übertragung der HCV-Infektion einer Schwangeren auf ihr Kind wird mit etwa 6% angegeben (Gibb et al. 2000). Schon 1992 wurde nachgewiesen, dass sich trotz nachweisbarer Virämie im Serum keine Viren in anderen Körperflüssigkeiten wie Speichel oder Sperma befinden. Das Risiko einer Übertragung über Körperflüssigkeiten ist daher als extrem gering anzusehen (Fried et al. 1992).

Im individuellen Fall ist es bei Ausschluß einer Bluttransfusionshepatitis vor 1990 oder einem intravenösen Drogenkonsum in der Anamnese fast unmöglich den Risikofaktor für eine Infektion zu identifizieren. Insbesondere da viele Hepatitis-C-Erkrankungen über Jahre hinweg klinisch inapparent verlaufen, wodurch es schwierig ist, nachträglich die Ursache zu identifizieren. Weiterhin unterscheiden sich die Häufigkeiten der Übertragungswege, in Westeuropa und der USA hauptsächlich durch intravenösen Drogenkonsum, in anderen Ländern häufiger durch Krankenhausaufenthalte (Chlabicz et al. 2006).

1.3. Klinik der HCV-Infektion/Erkrankung

Der früheste Nachweis einer HCV-Infektion ist bereits ein bis zwei Wochen nach der Infektion möglich. Zu diesem Zeitpunkt ist die Virus-RNA mittels PCR nachweisbar (Farci et al. 1991). Der Nachweis von HCV-Antikörpern ist in der Regel erst nach mehreren Wochen möglich. Die Serokonversion findet nach zwei bis acht Wochen statt, wobei in einigen Fällen auch kürzere bzw. längere Zeiten festgestellt wurden (Tremolada et al. 1991). Anders als bei der Hepatitis-A oder der Hepatitis-B-Virusinfektion bewirken HCV-Antikörper keinen Schutz vor einer Infektion (Immunität). Allerdings konnte gezeigt werden, dass das Risiko einer HCV-Virämie bei Personen mit ausgeheilter HCV-Infektion geringer ist als bei Personen, die noch keinen Kontakt mit dem Virus hatten. So kann man annehmen, dass Hepatitis-C-Antikörper einen minimalen Schutz vor einer neuen Infektion bieten (Mehta et al. 2002).

Im Vergleich zu anderen Hepatitiden verläuft der größte Teil (>70%) der Hepatitis-C-Infektionen chronisch (McHutchison 2004). In der akuten Phase der Infektion zeigt nur ein geringer Teil (ca. 30%) der Betroffenen das klinische Krankheitsbild einer akuten Hepatitis, die meisten akuten Infektionen verlaufen klinisch inapparent, so dass die Krankheit in der Regel über viele Jahre unerkannt bleibt. Deshalb kommt dem Screening von Risikopersonen eine große Bedeutung zu (Villano et al. 1999).

Die Hauptkomplikationen der Hepatitis-C-Erkrankung sind die fortlaufende Fibrosierung bis zur Zirrhose und das hepatozelluläre Karzinom. So entwickeln fast alle Patienten, die eine deutliche Entzündung mit Fibrose aufweisen, innerhalb von zehn Jahren eine Zirrhose.

Hingegen entsteht nur bei einem geringen Teil der Patienten mit leichter Fibrose und geringer entzündlicher Aktivität nach über zehn Jahren eine Zirrhose. Dies verdeutlicht die Bedeutung der Leberbiopsie, um den individuellen Krankheitsverlauf einschätzen zu können. Allerdings ist ein milder Verlauf einer HCV-Infektion häufiger (etwa 80%) als ein schwerer Verlauf (etwa 20%) (Yano et al. 1996, McHutchison 2004). Während eine kompensierte Leberzirrhose zum Teil jahrelang stabil bleiben kann, weist die dekomensierte Zirrhose und besonders das hepatozelluläre Karzinom eine extrem hohe Mortalität auf. Eine Untersuchung bei HCV infizierten Patienten mit kompensierter Leberzirrhose ergab ein Risiko von 7% innerhalb von fünf Jahren an einem hepatozellulären Karzinom zu erkranken und ein Risiko von 18% für die Entwicklung einer dekomensierten Leberzirrhose (Fattovich et al. 1997). Weitere Faktoren, die sich negativ auf den natürlichen Verlauf der Erkrankung auswirken, sind ein hohes Alter zum Zeitpunkt der Infektion, täglicher Alkoholkonsum von 50g oder mehr und das männliche Geschlecht (Poynard et al. 1997).

1.4. Diagnostik der Hepatitis-C-Infektion

Bevor 1989 der Nachweis von HCV-Antikörpern möglich wurde, war die Untersuchung der Alanin Aminotransferase (ALT) Mittel der Wahl zur Bestimmung infizierter Blutprodukte. Durch die Treffsicherheit des neuen routinemäßigen Antikörpersuchtestes wurde die Bestimmung der ALT zur Prävention der Posttransfusionshepatitis überflüssig (Sankary 1994).

Seit Mitte der neunziger Jahre ist ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) der dritten Generation im Einsatz, der mit großer Zuverlässigkeit HCV-Antikörper feststellt. Er unterscheidet sich vom ELISA der ersten Generation hauptsächlich dadurch, dass er mehr Genregionen nachweist. Dabei sind sowohl Antigene vom Corebereich als auch von einigen Nicht-Strukturproteinen eingeschlossen. Bei Verdacht auf HCV-Infektion ist der Antikörpersuchtest Mittel der Wahl (Uyttendaele et al. 1994).

Um falsch-negative Befunde des Antikörpersuchtestes auszuschließen oder um eine HCV-Infektion bereits vor dem Auftreten von Antikörpern aufzudecken, verwendet man die Polymerase Chain Reaction (PCR) (Hu et al. 1993). Obwohl es bei der Vermehrung des Hepatitis-C-Virus schnell zu Veränderungen des RNA Genoms kommt, ist die Bestimmung mittels PCR trotzdem möglich. Einige Regionen der RNA sind sehr stabil, wie etwa die 5' untranslated region (UTR), Teile der Kerngene und einige andere Nicht-Strukturproteine. Diese Regionen werden auch zum Nachweis des Genotyps untersucht (Davis 1999).

Neben der qualitativen PCR ist derzeit eine quantitative PCR zur Bestimmung der Viruslast Standard in der Diagnostik der HCV-Infektion. Sie dient der Beurteilung von Infektiosität, Therapieindikation und -verlauf und wird in internationalen Einheiten (IU/ml) angegeben (Pawlotsky et al. 2000).

Die histologische Untersuchung einer Leberbiopsie ist noch der Goldstandard, um das Ausmaß der Leberfibrose und die entzündliche Aktivität zu bestimmen. Für eine standardisierte Klassifikation verwendet man heute vergleichbare Stadieneinteilungen wie unter anderem den METAVIR-Score, den Desmet-Score oder den Knodell-Score. Der METAVIR-Score beurteilt den Grad der Fibrosierung auf einer fünf Punkte Skala von F0 = keine Fibrose bis F4 = Zirrhose. Der Grad der Entzündung wird auf einer vier Punkte Skala von A0 = keine Entzündung bis A3 = schwere Entzündung spezifiziert (Poynard et al. 1997).

1.5. Therapie der Hepatitis-C-Virus Infektion

Ziel der Therapie der HCV-Infektion ist das dauerhafte Therapieansprechen, die „sustained virological response (SVR)“: Dieses Ziel ist definiert als eine nicht nachweisbare HCV-RNA im Serum mehr als 24 Wochen nach Beendigung einer antiviralen Therapie, wobei hochsensitive molekularbiologische Testverfahren (real time PCR; TaqMan) verwendet werden sollten. Kommt es bereits während der Therapie nicht zu einem Abfall der Viruslast um mehr als 99% (2 Logarithmusstufen) spricht man von einer „non response“. Liegt zum Ende der Therapie ein Therapieansprechen in Form eines negativen Virusnachweises vor und es kommt in den folgenden 24 Wochen zu einem erneuten Virusnachweis spricht man von einem „Relapse“. Als „Break through“ bezeichnet man einen Abfall der HCV-RNA unter die Nachweisgrenze während der antiviralen Therapie mit einem darauf folgenden Wiederanstieg der HCV-RNA im weiteren Verlauf der Therapie (Yen et al. 2005, National Institutes of Health 2002).

Bereits 1986, drei Jahre bevor das Hepatitis-C-Virus entdeckt wurde, führten Hoofnagle et al. eine „low-dose“ interferon-alpha (IFN-a) Therapie zur Behandlung der Non-A, Non-B-Hepatitis durch (Hoofnagle et al. 1986). Obwohl bei der Hälfte der Patienten einer Interferon Monotherapie eine Therapieantwort in Form einer Normalisierung des ALT-Wertes im Serum erreicht wurde, lag das dauerhafte Ansprechen (definiert als dauerhafte Normalisierung der ALT) bei nur 6 bis 18%. Nach Entdeckung des Hepatitis-C-Virus war auffallend, dass die Genotypen 2 und 3 (16 bis 23%) ein besseres Therapieansprechen gegenüber dem Genotyp 1 (2 bis 9 %) aufwiesen (McHutchinson et al. 1998; Reichard et al. 1998). Der Therapieerfolg

für den Genotyp 1 ließ sich durch eine Verlängerung der Therapie auf 48 Wochen verbessern (McHutchinson et al. 1998; Poynard et al. 1998).

Die Kombination von Ribavirin mit IFN-alpha-Therapie hat sich als effektiver erwiesen, als eine Monotherapie mit IFN-alpha. Ribavirin in der Monotherapie senkt den ALT-Spiegel im Serum, ohne aber einen signifikanten Effekt auf die Hepatitis-C-Viruslast zu haben (Di Bisceglie et al. 1995; Dusheiko et al. 1996). In Kombination mit IFN-alpha erhöht Ribavirin die Ansprechrate und senkt die Relapserate (Reichard et al. 1998). Mehrere große Studien belegten den positiven Effekt des Ribavirins. So ergab die Kombinationstherapie bei Patienten mit Genotyp 1 bei einer Behandlungsdauer von 48 Wochen eine sustained virological response in 28 bis 31% der Fälle. Die anderen Genotypen erzielten Erfolgsraten von 65%, sowohl für 24 Wochen als auch 48 Wochen Therapie (McHutchinson et al. 1998; Reichard et al. 1998; Poynard et al. 1998). Deshalb wurde empfohlen, dass der Genotyp 1 für 48 Wochen behandelt wird und die Genotypen 2 und 3 für 24 Wochen.

Einen weiteren Schritt in der HCV-Behandlung brachte die Einführung von pegyliertem Interferon. Hier ist an das Interferon ein Polyethylenglykol (PEG)-Molekül gebunden, wodurch die Halbwertszeit verlängert wird und somit die Wirkung länger und gleichmäßiger anhält. Untersuchungen zeigten, dass eine 24 Wochen andauernde Therapie der Genotypen 2 und 3 mit pegyliertem Interferon plus Ribavirin eine sustained virological response von 75-80% erbrachte. Bei Genotyp 1 führte die 48 Wochen dauernde Therapie mit der gleichen Kombination zu einem Erfolg bei etwa 50% der Patienten (Manns et al. 2001; Fried et al. 2002).

Leider sind die Nebenwirkungen der Kombinationstherapie teilweise so gravierend, dass eine Dosisreduktion oder ein Abbruch der Therapie erwogen werden muss. Grippale Symptome, gastrointestinale Beschwerden, Müdigkeit, psychiatrische Erkrankungen wie Depression, Anämie und Knochenmarkssuppression sind die häufigsten Nebenwirkungen (Younossi et al. 2007).

1.6. Untersuchte Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

In dieser Arbeit wurden 14 bekannte SNPs bezüglich ihres Einflusses auf den Krankheitsverlauf und das Therapieansprechen der HCV-Infektion untersucht. Die SNPs liegen in den Genen von verschiedenen Proteinen, die in der Regulation der Apoptose eingebunden sind.

Die Induktion der Apoptose in einer infizierten Zelle muss man als

Verteidigungsmechanismus des Körpers verstehen, um die virale Replikation zu stoppen, wobei die Zerstörung von Gewebe in Kauf genommen wird. Dabei können verschiedene Signalwege ablaufen, zum Beispiel der des FAS-Systems (Schinoni et al. 2006). Das FAS-Antigen ist ein Rezeptor an der Zelloberfläche, der durch den Kontakt mit dem FAS-Liganden (FAS-L) oder einem FAS-Antikörper eine Signalkaskade auslöst, die in der Apoptose der Zelle endet. Eine Untersuchung an HCV positiven Patienten zeigte, dass die Apoptose und

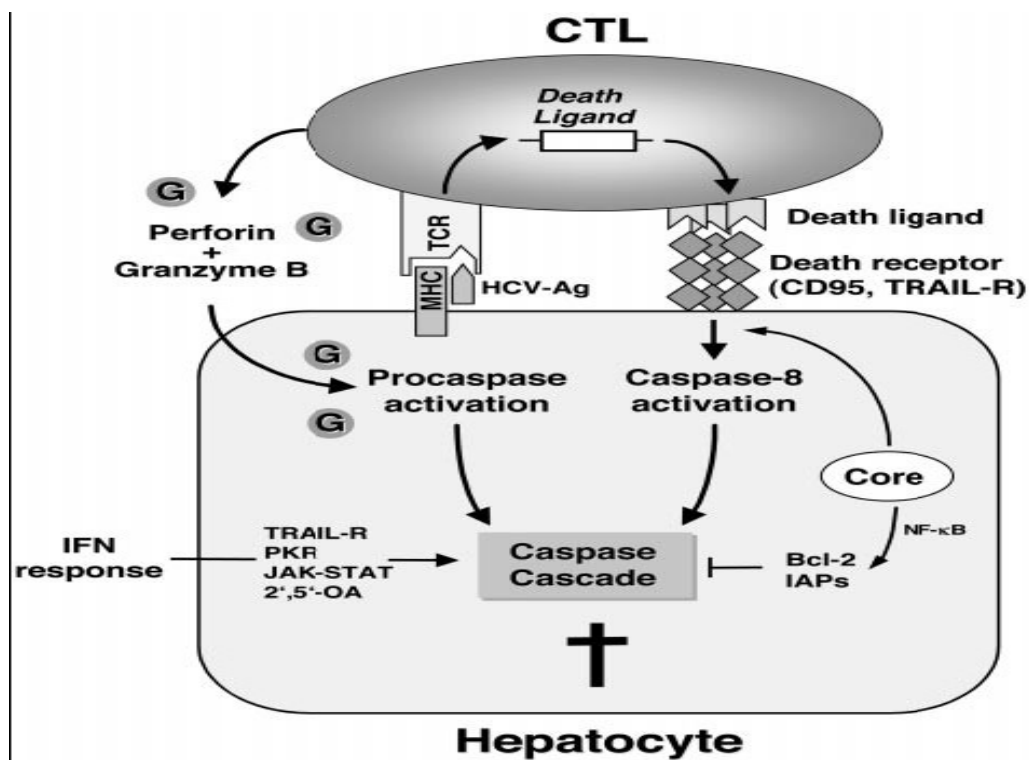


Abbildung 2. Zytotoxischer T-Lymphozyt (CTL) vermittelt Apoptose im Hepatozyten (Bantel und Schulze-Osthoff 2003)

FAS-Antigen-Expression in Hepatozyten stark mit der entzündlichen Aktivität der Infektion korreliert (Kiyici et al. 2003). Abbildung 2 zeigt wie zytotoxische T-Lymphozyten virale Antigene mittels ihrer MHC-Moleküle erkennen und dann über ihren FAS-Liganden das FAS-Molekül (CD95) auf einem Hepatozyten zur Aktivierung einer Caspasen-Kaskade anregen (Kanto und Hayashi 2006). Bantel et al. zeigten in einer Studie, dass die Aktivität

von Caspasen in den Leberzellen von HCV-Infizierten deutlich erhöht ist und mit dem Grad der Erkrankung korreliert (Bantel et al. 2001).

Neben FAS wurde in dieser Arbeit auch ein SNP vom Interleukin 4 (IL4) untersucht. Aoudjehane et al. zeigten, dass IL4 in Hepatozyten die Apoptose durch einen FAS-unabhängigen Signalweg auslösen kann. Dabei werden direkt die zur Apoptose führenden Caspasen angereichert (Aoudjehane et al. 2007).

Durch eine experimentelle Blockade von FAS-associated protein with death domain (FADD) lässt sich die Apoptosefrequenz senken. Ein weiteres Ergebnis dieses Versuches war, dass eine Aktivierung von Nuklear Faktor kappa B (NFkB) eintrat (Seine et al. 2001). NFkB repräsentiert eine Gruppe von Transkriptionsfaktoren, die die Apoptose verhindern. Dies geschieht durch das Zusammenspiel mit Tumor-Suppressor-Proteinen wie p53 oder durch ein Ungleichgewicht in der Expression von proapoptotischen und antiapoptotischen Proteinen (Bernal-Mizrachi et al. 2006; Qing et al. 2005).

Jedoch kann es nur zur Aktivierung von NFkB kommen, wenn zuvor seine Inhibitoren ausgeschaltet wurden. Diese Inhibitoren sind im Zytoplasma an NFkB gebunden und verhindern, dass NFkB in den Zellkern eindringt, um dort seine antiapoptotische Wirkung zu entfalten. In der vorliegenden Arbeit werden daher auch SNPs von Inhibitoren von NFkB untersucht. Zum einen Nuklear Faktor kappa B Inhibitor alpha (NFkBIA, auch IKBA) (Truhlar et al. 2006, Ross et al. 2004) und Nuklear Faktor kappa B Inhibitor-Like 1 (NFkBIL1, auch IKBL), die beide zur Gruppe der NFkB-Inhibitoren gehören (Mitserski et al. 2002).

Das Interleukin 6 (IL6) ist ein weiterer Faktor, der Einfluß auf die Apoptose nimmt und im Zusammenhang mit den Funktionen der zuvor genannten Faktoren und Kaskaden steht. IL6 kann zum Beispiel die durch FAS induzierte Apoptose verhindern. Außerdem ist das Vorhandensein von NFkB Voraussetzung für die Expression von IL6. Die Hemmung von NFkB führt auch zu einer deutlichen Hemmung von IL6 (Zampetaki et al. 2005; Xiao et al. 2004).

Außerdem wurden zwei Subtypen der p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) auf SNPs hin untersucht. p38 MAPK ist essentiell für die Expression von FAS-L und führt bei Überexpression zur verstärkten Induktion von FAS-L in T-Zellen. FAS kann p38 MAPK aktivieren, während die Inhibition von p38 MAPK hingegen keine Auswirkung auf die FAS-assoziierte Apoptose hat (Hsu et al. 1999).

Die Wirkung vom Hepatitis-C-Virus auf die Apoptose ist komplex und noch nicht hinreichend untersucht. So gibt es Studien, die dem Core-Protein des Virus eine apoptotische

Wirkung zusprechen, da es den durch FADD vermittelten Zelltod verstärkt (Zhu et al. 2001). Andere Studien berichten von gegenteiligen Ergebnissen. So wurde beobachtet wie das Hepatitis-C-Core-Protein das anitapoptotisch wirksame p53 und p21 verstärkte bzw. aktivierte (Lu et al. 1999).

1.7 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit soll eine Assoziation zwischen bekannten SNPs in Genen, die im Rahmen der HCV-Erkrankung an der Apoptose und dem Verlauf der Infektion beteiligt sind, untersucht werden. Ein SNP kann je nach Stellung im Codon und im Genabschnitt zu einer veränderten Transkription oder Translation führen. Andererseits führen viele SNPs nicht zu einer veränderten Funktion. Manchmal führen SNPs zu keiner Funktionsänderung, sind aber diese SNPs in einem sog. Linkage mit anderen nicht bekannten SNPs, kann es dann wieder zu einer Funktionsänderung kommen. Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, Assoziationen zwischen genetischen Polymorphismen und dem natürlichen Verlauf der Hepatitis-C-Virusinfektion (spontane Ausheilung versus chronischer Krankheitsverlauf bzw. milde oder schwere Fibrose) und dem Therapieansprechen (IFN-alpha Monotherapie, IFN-alpha/Ribavirin-Kombinationstherapie und pegyliertes IFN-alpha/Ribavirin-Kombinationstherapie) zu finden. Dazu wurden SNPs von FAS, NFKB2, NFKBIA, IKBL, IL4, IL6, p38MAPKalpha und p38MAPKdelta mit der TaqMan Technologie genotypisiert.

2. Material und Methoden

2.1. Material

In die Untersuchung wurden 465 mit Hepatitis C infizierte Patienten eingeschlossen (Tabelle 1). Diese Patienten wurden in den hepatologischen Ambulanzen der I. Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel und des Universitätsklinikums Eppendorf in Hamburg rekrutiert. Diese Studie wurde im Rahmen eines mehrjährigen Forschungsvorhabens im Rahmen des Kompetenznetz Hepatitis (gefördert vom BmBF) durchgeführt. Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität Kiel und die zentrale Ethikkommission des Kompetenznetz Hepatitis (Ethikkommission der Ärztekammer Bayern) stimmten dem Studienprotokoll zu. Jeder Patient erhielt eine schriftliche Aufklärung und gab sein Einverständnis. Die Blutentnahmen für die Untersuchungen fanden zwischen November 1999 und August 2000 statt. Die Patienten waren zum größten Teil deutschen Ursprungs (mehr als 95% Kaukasier). Patienten mit Hepatitis B oder HIV-Koinfektion wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen. Zusätzlich wurden 370 gesunde Kontrollpersonen genotypisiert, wobei es sich um Blutspender mit kaukasischem Ursprung handelte. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 44 Jahre. Der jüngste Patient war 18 und der älteste Patient 82 Jahre alt (Tabelle 2.)

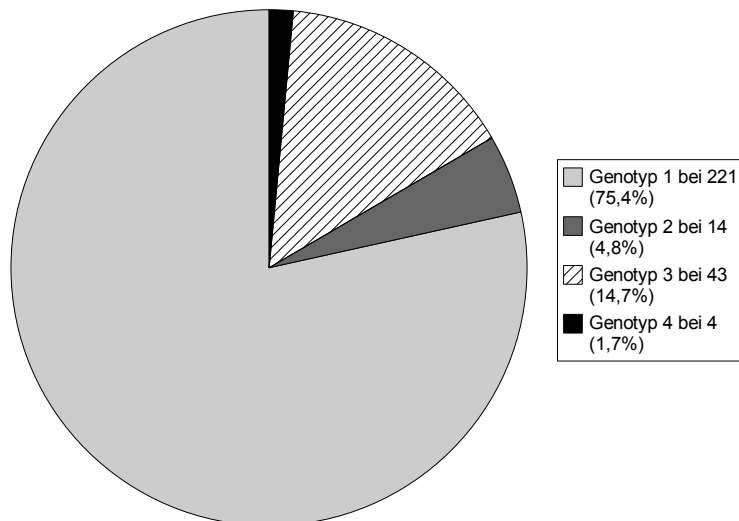
Tabelle 1. Anzahl und Geschlechtsverteilung der eingeschlossenen Hepatitis-C-Patienten

| Anzahl | Geschlecht | | |
|--------|------------|----------|-----------|
| | männlich | weiblich | insgesamt |
| n | 265 | 200 | 465 |
| % | 57,0 | 43,0 | 100 |

Tabelle 2. Alter der untersuchten Hepatitis-C-Patienten

| Alter | Geschlecht | | |
|--------------|------------|----------|-----------|
| | männlich | weiblich | insgesamt |
| Durchschnitt | 43,9 | 45,0 | 44,3 |
| Median | 43 | 43 | 43 |
| Minimum | 18 | 21 | 18 |
| Maximum | 82 | 81 | 82 |

Bei 293 Patienten wurde der virale Genotyp identifiziert. Die Mehrheit dieser Patienten (75,4%) wiesen den viralen Genotyp 1 auf (Abbildung 3).

**Abbildung 3.** Verteilung der Hepatitis-C-Genotypen in den untersuchten Patienten

2.1.1. Verlauf der Krankheit

Bei 22 Patienten konnten wir eine spontane Ausheilung nachweisen. 372 der von uns untersuchten Patienten hatten jedoch einen chronischen Krankheitsverlauf. Bei 71 Patienten war aufgrund der dokumentierten Infektionsdauer noch keine Entscheidung über einen chronischen Krankheitsverlauf (Nachweis der Infektion über mehr als 6 Monate) möglich.

2.1.2. Definition der spontanen Ausheilung

Es gibt zwei Möglichkeiten eine spontane Ausheilung aufzudecken:

Im ersten Fall wird eine akute HCV-Infektion diagnostiziert, wobei sowohl virale RNA als auch erhöhte Leberwerte nachweisbar sind. In der Folgezeit normalisieren sich die Leberwerte wieder und in einem Zeitraum von zwölf Monaten fallen mindestens zwei Untersuchungen auf HCV-RNA negativ aus.

Im zweiten Fall findet man HCV-Antikörper im Blut, es liegt aber bei negativer HCV-RNA im Serum keine akute Infektion vor. Die Patienten müssen anamnestisch jedoch eindeutige Risikofaktoren für den Erwerb einer Hepatitis-C-Virusinfektion in der Vorgeschichte aufweisen. Das gilt zum Beispiel für eine Posttransfusionshepatitis vor Testung der Blutprodukte auf Hepatitis C vor 1990 oder einen zurückliegenden intravenösen Drogenmissbrauch. Im weiteren Verlauf bleiben die Leberwerte normal. Außerdem müssen in einem Zeitraum von zwölf Monaten mindestens zwei Untersuchungen auf HCV-RNA negativ ausfallen.

2.1.3. Fibrorestadium

Von insgesamt 329 Patienten lag das Ergebnis einer Leberbiopsie vor. Bei Patienten, denen im Verlauf ihrer Erkrankung mehrere Leberbiopsien entnommen wurden, ließen wir die Ergebnisse der aktuellsten Histologie in die Auswertungen einfließen. 256 Patienten hatten eine leichte Fibrose (Grad 0, 1 und 2), 73 Patienten eine schwere Fibrose (Grad 3 und 4).

2.1.4. Therapieansprechen

Die von uns untersuchten Patienten wurden mit den folgenden drei Therapieverfahren behandelt:

- Interferon Monotherapie (IFN-Mono): Interferon alpha (5-6 Millionen Einheiten dreimal pro Woche für 6-12 Monate)
- Kombinationstherapie aus Interferon und Ribavirin (IFN+Riba) : Interferon alpha (3-6 Millionen Einheiten dreimal pro Woche) und Ribavirin (800-1200mg pro Tag) für 6-12 Monate
- Kombinationstherapie aus pegyliertem Interferon und Ribavirin (PEG-IFN+Riba):

pegyliertes Interferon alpha 2a (180 µg pro Woche) oder pegyliertes Interferon alpha 2b (1,5 µg pro kg Körpergewicht pro Woche) zusammen mit Ribavirin (800-1200 mg) für 6-12 Monate

Insgesamt wurden 298 Therapien durchgeführt (Abbildung 4). Davon gingen 107 Therapien mit einer dauerhaften Virusfreiheit (sustained response), die einer definitiven Ausheilung der Hepatitis-C-Virusinfektion entspricht, einher. 191 Therapien führten nicht zur Heilung, das heißt entweder lag ein Rückfall nach primärem Ansprechen (Relapse) oder primär bereits ein fehlendes virologisches Ansprechen (Non-Response) vor.

Bei der Interferon-Monotherapie war das Therapieansprechen am schlechtesten. Bei nur 22 Patienten kam es zur „sustained response“, bei 100 Patienten zu einem fehlenden dauerhaften virologischen Ansprechen.

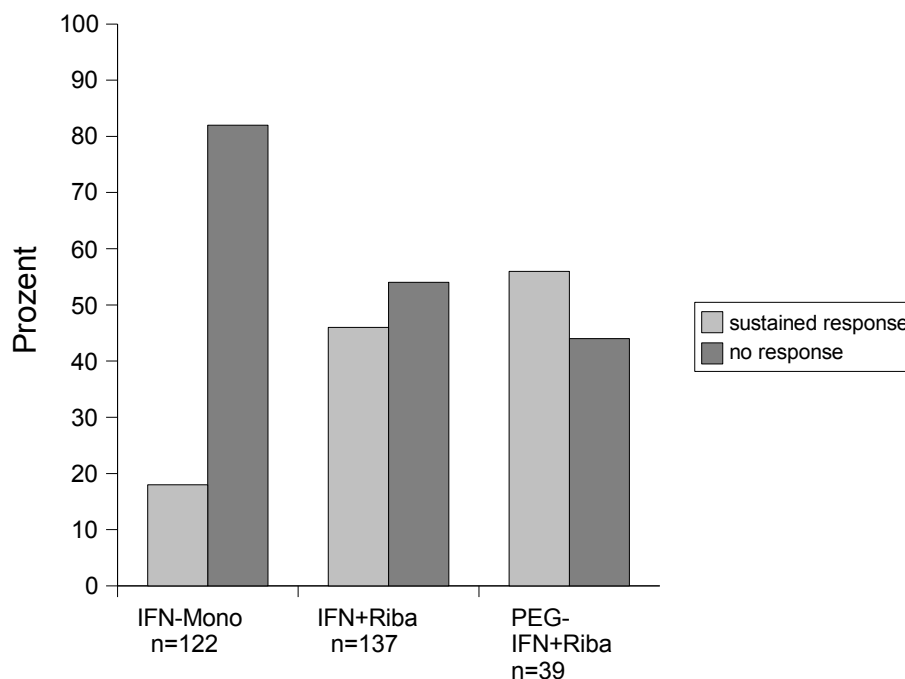


Abbildung 4. Prozentuale Verteilung des dauerhaften virologischen Ansprechens (sustained virological response; SVR) der HCV-Patienten auf die verschiedenen Therapieregime

Bessere Therapieergebnisse brachte die Behandlung mit Interferon und Ribavirin. 63 Patienten erreichten eine „sustained response“, 74 Patienten konnten nicht geheilt werden. Das beste Therapieansprechen konnte bei der Behandlung mit pegyliertem Interferon und Ribavirin festgestellt werden. 22 Patienten erreichten eine „sustained response“, nur 17 Patienten wurden nicht geheilt.

2.1.5. Kontraindikationen für die Therapie

Patienten mit Kontraindikationen erhielten keine Therapie und wurden aus den Untersuchungen ausgeschlossen.

Kontraindikationen für die Gabe von Interferon sind Schwangerschaft und Stillzeit, nicht kontrollierbare psychiatrische Erkrankungen wie eine aktuell behandlungsbedürftige Depressionen, Herzerkrankungen, schwere Nierenerkrankungen, Autoimmunerkrankungen, schwere Leberfunktionsstörungen, Epilepsie und Schilddrüsenerkrankungen. Kontraindikationen für die Einnahme von Ribavirin stellen hämatologische Erkrankungen wie die Sichelzellanämie und die Thalassämie aber auch eine terminale Niereninsuffizienz dar.

Da Ribavirin teratogen wirkt, dürfen Patientinnen bis 6 Monate nach der Therapie nicht schwanger werden und männliche Patienten dürfen bis sieben Monate nach Therapieende keine Kinder zeugen.

2.2. Methoden

2.2.1. Isolation der DNA und Untersuchungsmethoden

Von jedem Patienten wurden 9 ml EDTA Blut entnommen und bis zur weiteren Untersuchung bei -80°C gelagert. Die DNA-Extraktion wurde durch ein Standardverfahren basierend auf DNAzol®-Reagenz durchgeführt. Nachdem die zu untersuchende Probe in DNAzol® gelöst ist, kann durch Waschungen mit Ethanol und Natriumhydroxid die DNA für weitere Untersuchungsschritte gereinigt und isoliert werden (Chomczynski et al. 1997).

Für unsere Untersuchungen wurden 20 ng Patienten-DNA auf 96 Mikrotiterplatten gegeben und getrocknet. Die SNPs wurden mit dem TaqMan®-Verfahren (ABI 7700, Applied Biosystems, Foster City, CA) auf ihre Allelkonstellationen hin untersucht. Die Primer und Sonden wurden mit Primer Express (PE Biosystems) erstellt und durch Eurogentec (Liege, Belgien) synthetisiert.

Das TaqMan®-Verfahren ist eine Form der real time quantitativen PCR. Das Verfahren beruht auf der herkömmlichen Polymerase-Kettenreaktion und ermöglicht zusätzlich eine Quantifizierung der Genkopien. Dies wird durch die Anwendung von DNA-Sonden, die mit Fluoreszenzfarbstoff markiert sind, ermöglicht. So kann man während der PCR-Zyklen die Intensität der Fluoreszenz messen, die proportional mit der Menge der PCR-Produkte zunimmt. Dieses Verfahren macht eine weitere Aufbereitung der Produkte nach den PCR-Zyklen überflüssig, wodurch die Laborarbeit und die Möglichkeit einer Kontamination verringert werden (Heid et al. 1996).

Für das Verfahren benötigt man neben dem PCR-Primer zwei TaqMan-Sonden, die komplementär zu der zu untersuchenden Genregion sind und sich nur an der polymorphen Stelle der SNPs unterscheiden. Dabei ist die eine TaqMan-Sonde komplementär zum Wildtyp und die andere komplementär zur Mutation. Für die Untersuchung werden die TaqMan-Sonden mit unterschiedlichen „reporter-dyes“ am 5'-Ende ausgestattet. An das 3'-Ende fügt man eine „quencher-dye“, auch als Löschesubstanz bezeichnet, ein, die durch ihre Nähe die Fluoreszenz unterdrückt. Der Vorgang läuft so ab, dass die TaqMan-Sonde an der Stelle an den DNA-Strang hybridisiert, die von dem Primer bereits vorgegeben wurde. Während der PCR wird die 5' reporter-dye durch die Taq-Polymerase gespalten, was zu der charakteristischen Fluoreszenz der reporter-dye führt, weil die quencher-dye die Fluoreszenz jetzt nicht mehr verhindern kann. Die verschiedenen Fluoreszenzen ermöglichen eine graphische Auftragung (x-Achse: Allel 1, y-Achse: Allel 2), wobei sich die Punkte in

unterschiedlichen Bereichen des Koordinatensystems wie Wolken akkumulieren (Abbildung 5). So wird es möglich Heterozygote Allelträger von Homozygoten Allelträgern des Wildtyps bzw. des Mutationstyps zu unterscheiden (Shi et al. 1999).

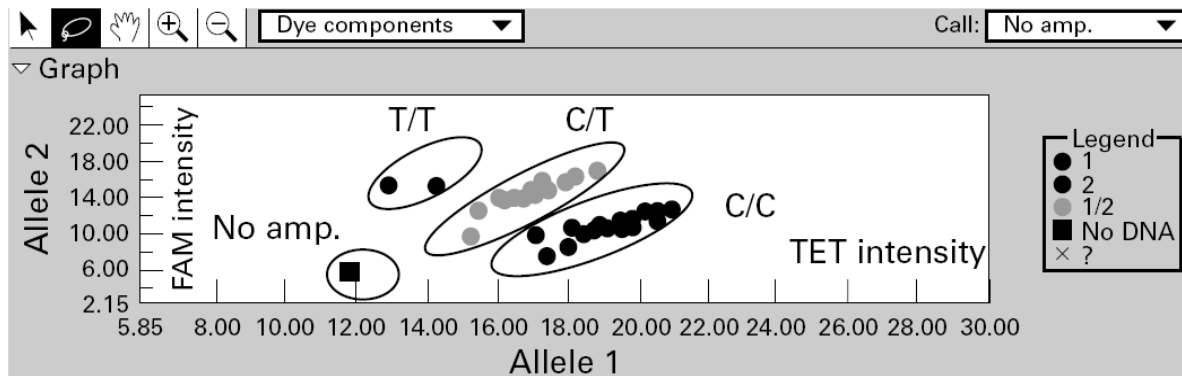


Abbildung 5. Graphische Auftragung der Fluoreszenzintensität verschiedener Allelkonstellationen bei einer TaqMan Untersuchung (Shi et al. 1999)

Des Weiteren untersuchten wir einige SNPs durch direktes Sequenzieren bevor die TaqMan Untersuchung folgte. Nach der DNA-Amplifikation wurden die Produkte aufgereinigt und nach dem ABI PRISM[®] Sequenzierprotokoll (PE applied Biosystems, Foster City, CA) sequenziert. Das Analysieren erfolgte mit ABI 310 und ABI 3700 automatischen Sequenzierern. Die Sequenzanalysen wurden mit Sequencher[®] 4.0 (Gene Codes Corporation) durchgeführt.

3. Ergebnisse

Zur Berechnung unserer Ergebnisse verwendeten wir den Chi-Quadrat Test. Ergebnisse erreichten die statistische Signifikanz, wenn $P < 0,05$ war.

3.1. Spontanheilung und chronische Infektion

Es wurden keine statistisch signifikanten Zusammenhänge bei den untersuchten SNPs in Bezug auf Spontanheilung und chronischer Infektion gefunden. Homozygoter Trägerstatus von FAS-691 (T/T) tritt häufiger bei Patienten mit Spontanheilung auf, erreicht aber keine statistische Signifikanz ($P=0,052$) (Tabelle 3). Heterozygoter Trägerstatus von NFKBIA+1080 (G/G) ist in der Gruppe mit Spontanheilung mehr vertreten, erreicht aber auch keine statistische Signifikanz ($P=0,072$) (Tabelle 4).

Tabelle 3. Genotypenverteilung und Häufigkeit der Allele bei FAS-691

| | Häufigkeit der Genotypen | | | Häufigkeit der Allele | |
|--------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | -691T/-691T | -691T/-691C | -691C/-691C | -691T | -691C |
| Spontanheilung (n=20) | 2 (0,10) | 4 (0,20) | 14 (0,70) | 8 (0,20) | 32 (0,80) |
| chronisch (n=288) | 5 (0,017) | 52 (0,181) | 231 (0,802) | 62 (0,108) | 514 (0,892) |

Tabelle 4. Genotypverteilung und Häufigkeit der Allele bei NFKBIA+1080

| | Häufigkeit der Genotypen | | | Häufigkeit der Allele | |
|--------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | 1080T/1080T | 1080T/1080C | 1080C/1080C | 1080T | 1080C |
| Spontanheilung (n=21) | 0 (0,0) | 6 (0,286) | 15 (0,714) | 6 (0,143) | 36 (0,857) |
| chronisch (n=363) | 8 (0,022) | 143 (0,394) | 212 (0,584) | 159 (0,219) | 567 (0,781) |

3.2. Fibroestadium

Eine geringe Fibrose (Stadium 0, 1, 2) wurde mit fortgeschrittener Fibrose (Stadium 3, 4) verglichen. Keines der untersuchten SNPs war in einer der Patientengruppen signifikant

häufiger anzutreffen. Ein homozygoter Trägerstatus von IL4-589 (C/C) scheint in der Patientengruppe mit fortgeschrittener Fibrose gehäuft vorzukommen, erreicht jedoch keine statistische Signifikanz ($P=0,11$) (Tabelle 5).

Tabelle 5. Genotypverteilung und Häufigkeit der Allele bei IL4-589

| | Häufigkeit der Genotypen | | | Häufigkeit der Allele | |
|----------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-----------------------|------------|
| | -598T/-598T | -598T/-598C | -598C/-598C | -598T | -598C |
| schwere Fibrose (n=49) | 33 (0,673) | 12 (0,245) | 4 (0,082) | 78 (0,796) | 20 (0,204) |
| leichte Fibrose (n=150) | 114 (0,760) | 33 (0,220) | 3 (0,020) | 251 (0,875) | 36 (0,125) |

3.3. Therapieansprechen

Eine dauerhafte Virusfreiheit (sustained response) wurde mit einem fehlenden dauerhaften Therapieansprechen (no response fasst primäres Therapieversagen, Relapse und Break through zusammen) in Bezug auf die IFN-Mono-, die IFN + Ribavirin- und PEG-IFN + Ribavirintherapie verglichen. Ein heterozygoter Trägerstatus von IL4-589 (T/C) wird signifikant häufiger bei Patienten mit sustained response nach PEG-IFN + Riba Therapie ($P=0.0498$) (Tabelle 6) beobachtet.

Die Untersuchungen zu den anderen SNPs und in den anderen Therapiegruppen ergaben keine signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 6. Genotypverteilung und Häufigkeit der Allele bei IL4-589

| | Häufigkeit der Genotypen | | | Häufigkeit der Allele | |
|------------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-----------------------|-----------|
| | -589T/-598T | -598T/-598C | -598C/-598C | -598T | -598T |
| sustained response (n=16) | 10 (0,625) | 6 (0,375) | 0 (0,0) | 26 (0,813) | 6 (0,187) |
| no response (n=14) | 13 (0,929) | 1 (0,071) | 0 (0,0) | 27 (0,964) | 1 (0,036) |

4. Diskussion

4.1. Die HCV-Population

In der von uns untersuchten Kohorte wurden alle Patienten eingeschlossen, die zwischen November 1999 und August 2000 die Ambulanzen der I. Medizinischen Klinik in Kiel und des Universitätsklinikums Eppendorf in Hamburg für die Behandlung und Kontrolle ihrer Hepatitis-C-Infektion besuchten und ihr Einverständnis zur Teilnahme an diesem Projekt gaben. Bei dem Sammeln der Blutproben wurde keine Auswahl oder Kategorisierung nach definierten Kriterien vorgenommen. Die verschiedenen Charakteristika der Patientenkohorte wie Alter, Geschlecht, viraler Genotyp, Fibroestadium und Therapieansprechen entsprechen der Häufigkeit dieser Charakteristika in der Gesamtpopulation der HCV-Patienten in Deutschland. Nach der Blutentnahme wurden die Patientendaten anonymisiert.

Da wir die Patienten nicht nach definierten Kriterien ausgewählt haben, ist die Anzahl der Patienten in einigen Untergruppen zum Teil niedrig und die statistische Aussagekraft muss kritisch betrachtet werden. Dies betrifft insbesondere die Gruppe mit Spontanheilung (22 Patienten). Die Definition der spontanen Ausheilung erklärt auch die Schwierigkeit, Patienten in dieser Gruppe eindeutig zu klassifizieren. Dieses Charakteristikum ist selten und wird in der Regel nur zufällig entdeckt. Oft findet keine Vorstellung dieser Patienten in einem Universitätsklinikum statt, da keine Behandlungsindikation vorliegt.

Die Einteilung der Patienten in Untergruppen erfolgte nach international etablierten Definitionen (Spontanheilung, chronische Infektion, Therapieansprechen) und histologischen Klassifizierungssystemen (METAVIR). Die Leberbiopsien wurden in den Instituten für Pathologie der Universitäten Kiel und Hamburg nach international etablierten Methoden untersucht. Der virale Genotyp wurde in den Laboren der beiden Universitäten nach akzeptierten Standards bestimmt.

4.2. Methoden

Die verwendeten Untersuchungsmethoden, wie das TaqMan-Verfahren und die Sequenzierung, sind international etabliert. Ein Labor-Informationen-Management-System kam zum Einsatz, das eine flexible Handhabung von Herkunft, Phänotyp und Genotyp erlaubte. Es ermöglicht den Datenimport von TaqMan-Typisierungsergebnissen, Überprüfung

von Mendel'schen Vererbungsfehlern, Datenexport, Speicherung von Herkunfts- und Phänotypinformationen sowie die Speicherung von Marker-, Mikrotiterplatten- und Probeninformationen (Hampe et al. 2001).

Obwohl die TaqMan-Technologie sehr genau arbeitet, kann es manchmal schwierig sein, die Allele zu unterscheiden, wenn die Akkumulationen der Signale sehr nah beieinander liegen. Dieses Problem wurde durch die Wiederholung des Versuchs gelöst, bis eindeutige Ergebnisse vorlagen. Die Genauigkeit der TaqMan-Untersuchungen wurde randomisiert und durch Sequenzieren getestet. Alle Methoden wurden entsprechend allgemein akzeptierter Protokolle durchgeführt.

4.3. FAS-Rezeptor

4.3.1. Der FAS-Rezeptor und seine Charakteristika

FAS ist ein Protein der Zelloberfläche mit einem Molekulargewicht von 42-52 kD. Wenn FAS an den FAS-Liganden (FAS-L) bindet, treibt es die Apoptose voran, um zum Beispiel viral infizierte Zellen zu entfernen. FAS-L ist ein transmembranöses Protein, das auf der Zelloberfläche von aktivierten T-Lymphozyten und Natural-Killer-Zellen (NK-Zellen) exprimiert wird. Die Unterfunktion vom FAS-System führt zur Hyperplasie von lymphatischen Organen und der Leber, was Autoimmunerkrankungen und Tumorentstehung begünstigt, während eine Exazerbation dieses Systems zur Gewebeerstörung führt (Kountouras et al. 2003, Schimoni et al. 2006).

Immunhistochemische Studien zeigten, dass die FAS-Expression in HCV infizierten Hepatozyten erhöht ist. Der Grad der Erhöhung korreliert gut mit der entzündlichen Aktivität der chronischen oder akuten Hepatitis (Hiramatsu et al. 1994). Auch findet sich eine Erhöhung des löslichen FAS und FAS-L, deren Konzentrationen als Indikatoren für die Apoptoserate genutzt werden können (Lapinski et al. 2006).

T-Lymphozyten erkennen mit ihren Rezeptoren virale Antigene, die an der Zellmembran der Hepatozyten durch MHC-Moleküle präsentiert sind und werden dadurch zur Synthese von proapoptotischen Molekülen wie FAS-L angeregt. Wird FAS durch FAS-L aktiviert, kommt es zur Aktivierung von Caspase-8, die zwei zur Apoptose führende Signalwege triggern kann. Der erste Signalweg führt über die Spaltung vom proapoptotischen Molekül BID zur Freisetzung von Cytochrom c aus Mitochondrien in das Zytoplasma. Cytochrom c bindet dann an APAF1, was Caspase-9 aktiviert und über eine Signalkaskade von Caspase-3, -6 und

-7 zum Zelltod führt. Der zweite Signalweg setzt eine große Menge von Caspase-8 voraus, was über die direkte Aktivierung der zuvor genannten Caspasen zur Apoptose führt (Kanto und Hayashi 2006, Bantel et al. 2001).

Das für FAS kodierende Gen liegt auf dem langen Arm von Chromosom 10q24, es besteht aus neun Exons und acht Introns und umfasst 26 Kb DNA. Die Grenzen von Exon zwei bis fünf kodieren die extrazelluläre Region, Exon 6 die transmembranöse Region und Exon 9 die „death domain“ (Behrmann et al. 1994). Es wurde beobachtet, dass FAS in löslicher Form bei Autoimmunerkrankungen wie Systemischer Lupus erythematoses erhöht ist (Liu et al. 1995). Das von uns untersuchte SNP FAS-671 wurde bereits in Bezug auf andere Krankheiten erforscht. So stellte man fest, dass das FAS-671A gehäuft bei Nierenspendern vorkommt, deren Nieren nach der Transplantation eine akute Abstoßung erfahren, während FAS-671G selten mit einer Abstoßung einhergeht (Cappellesso et al. 2004). Bolstad et al. zeigten in einer anderen Studie, dass die Häufigkeit von FAS-671G bei Patienten mit Sjögren Syndrom im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen erhöht ist (Bolstad et al. 2000).

4.3.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe

Spontanheilung

Wir konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den SNPs FAS-1378, FAS-671 und FAS-691 in Bezug auf Spontanheilung oder chronischen Krankheitsverlauf finden. Lediglich das FAS-691T tritt tendenziell häufiger bei Patienten mit Spontanheilung auf, erreicht aber keine statistische Signifikanz ($P=0,052$). Aufgrund der verhältnismäßig geringen Personenzahl ($n=22$) in der Gruppe mit Spontanheilung ist die Aussagekraft dieses Ergebnisses jedoch limitiert.

Fibrosestadium

Für die oben genannten SNPs von FAS konnten wir keine signifikanten Zusammenhänge zu dem Stadium der Fibrose finden.

Aguilar-Reina et al. untersuchten in einer Studie den FAS-670A>G Polymorphismus im Zusammenhang mit dem Fibrosestadium bei HCV-Patienten. FAS-670 liegt neben dem von uns untersuchten SNP FAS-671 im Promoter des Gens. Sie konnten nachweisen, dass dieses SNP mit verstärkter Fibrose und entzündlicher Aktivität assoziiert ist (Aguilar-Reina et al.

2005). Obwohl es sich hierbei nur um ein benachbartes SNP handelt zeigt diese Studie, dass zumindest andere Polymorphismen im FAS-Gen Auswirkungen auf den Verlauf der HCV-Infektion haben. In einer weiteren Studie wurden die drei SNPs FAS-1377, FAS-690 und FAS-670 in Bezug auf das Stadium der Fibrose bei HCV untersucht. Auch bei diesen SNPs in der Promoter Region konnten Zusammenhänge zum Fibrosegrad hergestellt werden. Diese erreichten allerdings keine statistische Signifikanz (McIlroy et al. 2005).

Therapieantwort

Für die oben genannten SNPs von FAS konnten wir keine signifikanten Zusammenhänge bezüglich des Ansprechens auf eine Interferon Monotherapie und Kombinationstherapie mit Ribavirin und Interferon bzw. pegyliertem Interferon feststellen.

Die Ergebnisse der bereits erwähnten Studie von McIlroy et al. decken sich hier mit unseren Daten. So scheinen die verschiedenen FAS Genotypen keinen Einfluss auf das Ergebnis einer Interferontherapie zu haben (McIlroy et al. 2005).

4.4. Interleukin 4 (IL4)

4.4.1. Die Charakteristika des Zytokins

Mehrere Studien beschreiben eine vermehrte IL4 Produktion bei chronisch infizierten HCV-Patienten. Bei schwerer entzündlicher Aktivität der infizierten Leber ist IL4 besonders hoch reguliert (Fukuda et al. 1995, Dharancy et al. 2007). Eine Untersuchung von Chen et al. an 72 HCV-Infizierten und 180 gesunden Kontrollpersonen ergab, dass das von uns untersuchte SNP IL4-589 im Serum der HCV-Patienten in einer signifikant höheren Konzentration vorlag (Chen et al. 2007).

IL4 hat die Fähigkeit eine Apoptose einzuleiten, wobei es die Expression von FAS und FAS-L inhibiert, aber die proapoptotischen Faktoren, die im Verlauf der FAS assoziierten Apoptose eine Rolle spielen, verstärkt. Dazu gehören zum Beispiel das Protein BID und die Caspasen-3, -8 und -9 (Doseff et al. 2003, Rautajoki et al. 2007). Das Th2 Zytokin IL4 entfaltet seine Wirkung über die Bindung an den IL4 Rezeptor, einem Protein mit einer alpha- und einer gamma-Untereinheit. Die alpha-Untereinheit hat eine starke Affinität zu IL4 und determiniert, welche biochemischen Signale ausgelöst werden. Die gamma-Untereinheit ist für die Induktion dieser Signale verantwortlich (Paul 1997). Bei Bindung an die alpha-

Untereinheit wird über Janus-Kinasen (JAK1, JAK3) die Phosphorylierung von STAT6 getriggert, dieses transloziert in den Nukleus und induziert die Expression von GATA-3, einem Th2 spezifischen Transkriptionsfaktor. Zusammen mit anderen Transkriptionsfaktoren und Kofaktoren verstärkt GATA-3 wiederum das IL4/STAT6 Signal (Duran et al. 2004, Ho und Glimcher 2002).

Das Gen vom IL4 liegt auf Chromosom 5q31.1. Polymorphismen im Gen von IL4 können sowohl die Produktion als auch die Wirkungsweise dieses Zytokins beeinflussen. So ist der IL4-589 (C/T) Polymorphismus mit einer erhöhten Produktion von IL4 assoziiert (Babula et al. 2005).

In einer Studie von Nakayama et al. wurde das SNP von IL4 in Bezug auf den Krankheitsverlauf von HIV untersucht. Man stellte fest, dass der IL4-589T Polymorphismus durch eine Reduktion der Viruslast die Progression der Krankheit verlangsamt (Nakayama et al. 2002). In einer anderen Untersuchung fand man heraus, dass der IL4-589T Polymorphismus häufig mit Atopien assoziiert ist (Zhu et al. 2000).

4.4.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe

Spontanheilung

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen dem untersuchten SNP im IL4-589 und der Spontanheilung bzw. dem chronischem Krankheitsverlauf finden.

Eine Studie von Saito et al. untersuchte Zusammenhänge zwischen dem Verlauf der HCV-Infektion und individuellen genetischen Faktoren. Dabei wurde jedoch eine Korrelation zwischen persistierender Virämie und SNPs von IL4 aufgedeckt (Saito et al. 2004).

Fibrosestadium

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen dem SNP von IL4 und dem Stadium der Fibrose feststellen. Eine Studie an der Medizinischen Hochschule Hannover fand bei der Untersuchung eines anderen SNPs von IL4 (intron3 VNTR) in Bezug auf die Progression zur Leberfibrose auch keinen Zusammenhang (Bahr et al. 2003).

Therapieantwort

Wir konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem SNP-589 (T/C) von IL4 und dem Ansprechen auf die Kombinationstherapie mit pegyliertem Interferon + Ribavirin feststellen. Ein heterozygoter Trägerstatus von IL4-589 (T/C) ist statistisch signifikant häufiger bei Patienten mit sustained response nach PEG-IFN + Riba Therapie (P=0.0498). Allerdings muss man die Aussage dieses Ergebnisses aufgrund der geringen Patientenzahl kritisch betrachten und eine prospektive Studie zur Bestätigung dieser Beobachtung abwarten. Bei den anderen SNPs lagen bezüglich der Therapie keine Zusammenhänge vor.

Eine Untersuchung von Sobchak et al. kam zu dem Ergebnis, dass eine niedrige IL4-Konzentration im Serum mit einem besseren Therapieergebnis auf die Interferontherapie bei HCV einhergeht (Sobchak et al. 2005). Eine andere Studie berichtet ähnliches, die Zahl der IL4 produzierenden Th2-Zellen wurde durch die Applikation von Interferon reduziert. Dies fiel insbesondere bei der Patientengruppe mit einer sustained response in Folge der Interferontherapie auf (Kobayashi et al. 1998).

4.5. Interleukin 6 (IL6)

4.5.1. Charakteristika des Zytokins

IL6 ist ein wichtiges Zytokin bei der Regeneration der Leber, erhöhte Werte lassen sich bei Patienten mit chronischer HCV-Infektion messen. So korreliert die Konzentration von IL6 und seinem löslichen Rezeptor im Serum mit dem Leberfunktionsverlust und dem Grad der Leberfibrose (Migita et al. 2006). IL6 ist ein Zytokin mit pro- und antiinflammatorischen Eigenschaften. Der zellständige Rezeptorkomplex von IL6 besteht aus zwei Glykoproteinen, einer 80 kDa (IL6R) Untereinheit, die sich auf den Zellen fast aller Organen befindet und einer 130 kDa (gp130) Untereinheit, die man nur auf Hepatozyten und Leukozyten antrifft (Jones et al. 2001). Normalerweise aktiviert IL6 eine Zelle durch die Bindung an IL6R, der dann mit gp130 dimerisiert, wodurch das Signal intrazellulär weiterleitet wird. Es ist auch möglich, dass IL6 an einen löslichen IL6 Rezeptor (sIL6R) bindet und so die Signalübertragung durch die direkte Bindung an gp130 geschieht. Intrazellulär wird das Signal über Janus-Kinasen (JAK1/JAK2) und weitere Faktoren wie STAT1/STAT3 weiterleitet, was schließlich zur Genexpression im Zellkern führt (Jones 2005).

IL6 vermindert die hepatische Apoptose, indem es eine ausreichende Konzentration von anti-

apoptotisch wirkenden Proteinen wie FLIP, Bcl-2 und Bcl-xl aufrecht erhält und so die FAS-induzierte Apoptosekaskade unterbricht. FLIP ist ein wichtiger Inhibitor von Caspase 8 in der FAS assoziierten Signalkaskade und sorgt auch für die Hemmung der Regulatoren von Bcl-2 und Bcl-xl (Kovalovich et al. 2001).

IL6 wird auf Chromosom 7p21 kodiert. Die von uns untersuchten SNPs IL6-174 und IL6-572 liegen beide in der Promotorregion des Gens. Diese beiden Polymorphismen wurden von Park et al. in einer Studie bei HBV infizierten Patienten untersucht. Es wurden keine signifikanten Assoziationen zwischen den Promotorvarianten von IL6 und dem Krankheitsverlauf gefunden (Park et al. 2003).

4.5.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe

Spontalheilung

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen den untersuchten SNPs von IL6-174 und IL6-572 in Bezug auf Spontanheilung bzw. chronischen Krankheitsverlauf finden.

In einer Studie von Minton et al. wurden verschiedene Interleukine auf ihren Einfluss auf die Spontanheilung untersucht, auch das von uns untersuchte IL6-174. Von den 606 Patienten waren 190 beständig negativ für HCV-RNA und hatten das Virus somit erfolgreich eliminiert. Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit der Genotypen zwischen der spontan geheilten und der chronisch infizierten Gruppe gefunden (Minton et al. 2005). Das Ergebnis dieser Untersuchung deckt sich mit unserem Ergebnis und lässt uns schlussfolgern, dass das untersuchte SNP keinen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit einer Spontanheilung hat.

In einer anderen Untersuchung wurden HCV-Patienten auf der Basis von SNPs genotypisiert, ob sie viel oder wenig IL6 produzieren. Ein signifikanter Anteil der spontan geheilten Patienten wies eine geringe Produktion von IL6 auf, während Patienten mit einem ausgeprägten Produktionsprofil häufiger chronisch infiziert waren (Barrett et al. 2003).

Fibrosestadium

Wir konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den untersuchten SNPs von IL6 und dem Stadium der Fibrose herstellen.

Therapieantwort

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen den SNPs von IL6 und der Therapieantwort auf die Interferon Monotherapie und Kombinationstherapie mit Ribavirin und Interferon bzw. pegyliertem Interferon feststellen.

Eine Studie von Nattermann et al. untersuchte den Einfluss von IL6-174 auf das Ergebnis der Therapie mit pegyliertem Interferon bei HCV/HIV koinfizierten Patienten. Patienten, die aufgrund ihres Genotyps viel IL6 produzierten, hatten einen signifikant höheren Anteil mit anhaltendem Therapieansprechen als Patienten mit gering produzierendem Genotyp (Nattermann et al. 2007).

4.6. NFKB2, NFKBIA, NFKBIL1

4.6.1. Charakteristika von NFKB2, NFKBIA und NFKBIL1

Es gibt vielfältige Signalwege, in denen NFKB mit einer Reihe anderer Faktoren involviert ist und die Expression von Genen reguliert. Dabei geht es um verschiedene Prozesse im Organismus wie zum Beispiel Zellproliferation, Apoptose, Entzündungen und die angeborene Immunität. Infolgedessen ist die Fehlregulation von Faktoren der NFKB-Gruppe, zum Beispiel durch Mutationen, bei vielen Krankheiten anzutreffen, insbesondere bei chronischen Entzündungen, Immunschwäche und Karzinomen (Courtois und Gilmore 2006).

Das auf Chromosom 10q24 liegende NFKB2 gehört zur NFKB-Gruppe und ist ein zentraler Regulator bei Immunantworten. Im Zuge anderer Untersuchungen stellte man fest, dass der Polymorphismus NFKB2 1867 (G/G) bei inflammatorischen Prozessen eine wichtige Rolle spielt (Shinohara et al. 2001). Dieses SNP wurde auch von uns untersucht.

In Bezug auf die Pathogenese der HCV-Infektion wurde beschrieben, dass virale Proteine durch die Aktivierung von NFKB die Apoptose von Hepatozyten unterdrücken und so den chronischen Verlauf der Erkrankung ermöglichen (Shimotohno 2000). Eine Studie von Nguyen et al. zeigte, dass das HCV-Core Protein die Expression einer Vielzahl von Genen erhöhte, die zum Teil über NFKB ihre Wirkung entfalten. Als Resultat werden die infizierten Hepatozyten durch die Unterdrückung der Apoptose geschützt, was die virale Persistenz fördert (Nguyen et al. 2006). Untersuchungen bei Patienten mit HCV induziertem hepatozellulärem Karzinom führten zu dem Ergebnis, dass eine pharmakologische Inhibition von NFKB in der Leber selektiv die malignen Zellen auslöschte und dabei die normale

Leberhomöostase nicht gestört wurde (Arsura und Cavin 2005). Diese Ergebnisse unterstreichen die Rolle von NF κ B in der HCV-Pathogenese.

NF κ B repräsentiert eine Gruppe von fünf Transkriptionsfaktoren: RelA (p65), RelB, c-Rel, NF κ B1 p50 und NF κ B2 p52. Das von uns untersuchte NF κ B2 entsteht aus dem Vorläuferprotein p100, das proteolytisch zum aktiven p52 gespalten wird und mit Rel-B, einem anderen Transkriptionsfaktor aus der NF κ B-Gruppe, dimerisiert, um so in den Zellkern einzuwandern. Dort bindet das Dimer an die spezifische Ziel-DNA und aktiviert die Transkription von Genen, die für verschiedene Effektorproteine kodieren. Eine wichtige Funktion der NF κ B-Gruppe ist die Verhinderung der Apoptose. Dies geschieht durch direkte Interaktion mit Tumor-Suppressor-Proteinen wie p53 oder einem Ungleichgewicht in der Expression von proapoptotischen und antiapoptotischen Proteinen (Bernal-Mizrachi et al. 2006; Qing et al. 2005).

Auch bei der HBV-Infektion spielt NF κ B2 eine wichtige Rolle. Hier liegen ebenfalls erhöhte Spiegel von NF κ B2 vor, von denen man annimmt, dass sie die Progression der Fibrose und die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinomes begünstigen (Park et al. 2006).

NF κ BIA liegt auf Chromosom 14q13 und wird in der Literatur auch häufig als IKBA bezeichnet. Es ist ein Inhibitor des oben beschriebenen NF κ B, das die Apoptose hemmt. Die Proteine der NF κ B-Gruppe tragen alle einen stark konservierten N-terminalen Bereich, der neben der DNA-Bindung und der Dimerisierung auch zur Bindung von NF κ BIA als Inhibitor dient. In Zellen, die gerade keine Transkription von entsprechenden Proteinen betreiben, wird NF κ B von einem seiner Inhibitoren, zum Beispiel NF κ BIA, im Zytoplasma gebunden. Die Stimulation des NF κ B/NF κ BIA-Komplexes ist durch eine Vielzahl von Mechanismen möglich (Viren, Wachstumsfaktoren, Antigene) und triggert die Phosphorylierung des Inhibitors. Eine Signalkaskade setzt daraufhin ein, die im Abbau von NF κ BIA durch Proteasomen endet. Dieser Abbau ermöglicht das Einwandern von NF κ B in den Zellkern (Truhlar et al. 2006, Ross et al. 2004).

Kim et al. führten bei HBV-Patienten eine Studie an drei SNPs der NF κ BIA 3'UTR Region durch, in der auch unser SNP NF κ BIA +1080 liegt. Man konnte allerdings keine signifikanten Zusammenhänge für die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms aufdecken (Kim et al. 2003).

Polymorphismen im NF κ BIA-Gen spielen aber durchaus eine Rolle bei anderen Erkrankungen. Bei der Untersuchung eines Polymorphismus von NF κ BIA (NF κ BIA 2758G/A) in einer kaukasischen Population in Deutschland stellte sich eine Prädisposition für

Morbus Crohn heraus (Hong et al. 2007). In einer anderen Studie fand man, dass die Aminosäurenvariation A/G in der 3'UTR-Region von NFKBIA gehäuft bei Patienten mit Kolorektalen Karzinomen vorkommt und auch mit einer schlechteren Überlebensrate bei dieser Erkrankung einhergeht (Gao et al. 2007).

Einige seltene NFKBIA Mutationen verursachen nachweislich einen Zustand der Immunschwäche mit schweren Infektionskrankheiten als Folge. Hier stellt sich nun die Frage, ob häufigere Polymorphismen dieses Inhibitors die Anfälligkeit für Infektionskrankheiten ebenfalls erhöhen. Chapman et al. zeigten in einer Studie, dass SNPs der Promotor Region (NFKBIA +301) mit einem signifikanten Schutz vor einer Infektion mit Pneumokokken assoziiert sind (Chapman et al. 2007).

NFKBIL1, auch IKBL genannt, ist wie NFKBIA auch ein Inhibitor von NFkB und befindet sich auf Chromosom 6q21. Wir untersuchten das SNP NFKBIL1 +738 bezüglich seiner Einflüsse auf den Krankheitsverlauf der HCV-Infektion. Neben den beiden Inhibitoren in unserer Studie gibt es noch einige andere Faktoren, die durch Dimerisierung hemmend auf NFkB wirken. In diese funktionell verwandte IKB-Gruppe gehören ebenfalls NFKBIB und NFKBIE. Des Weiteren haben auch die Vorläuferproteine von NFkB1 und NFkB2, also p105 und p100, einen inhibierenden Effekt auf ihre jeweiligen Endstufen (Mitschke et al. 2002).

NFkB stimuliert auch die Transkription von TNF α und verwandten Zytokinen. So muss man annehmen, dass Polymorphismen von NFKBIL1 das Potential haben, verschiedene immunologische Reaktionen, in denen Akute-Phase-Proteine bekanntlich eine Rolle spielen, zu beeinflussen (Roulston et al. 1995). Die Faktoren der IKB-Gruppe spielen bei entzündlichen Reaktionen eine wichtige Rolle und sind für die immunologische Kontrolle bei vielen Infektionen essentiell. Eine Studie über die Anfälligkeit für eine Infektion mit Tuberkulose ergab jedoch keine Assoziationen zum NFKBIL1 +738 Polymorphismus (Gomez et al. 2006).

Des Weiteren wird eine Beteiligung von NFKBIL1 bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen diskutiert. So nehmen Allcock et al. eine Assoziation zwischen NFKBIL1 +738 und der Anfälligkeit für Multiple Sklerose an (Allcock et al. 1999). Ein anderes SNP, nämlich NFKBIL1 +421, ging zum Beispiel mit einer erhöhten Empfänglichkeit für Rheumatoide Arthritis einher. Das von uns untersuchte NFKBIL1 +738 zeigte in derselben Untersuchungsreihe jedoch keine Auffälligkeiten (Lin et al. 2006). Bei der chronisch-entzündlichen Darmerkrankung Colitis ulcerosa imponiert das SNP NFKBIL1 +738 mit einer

Neigung zu ausgedehnten und schweren Krankheitsverläufen (de la Concha et al. 2000).

4.6.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe

Spontanheilung

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen den untersuchten SNPs von NFKB2 -1867, NFKBIA +1080, NFKBIA -420 und NFKBIL -738 in Bezug auf Spontanheilung bzw. chronischen Krankheitsverlauf finden.

Lediglich bei dem SNP von NFKBIA +1080 findet sich ein häufigeres Vorkommen in der Gruppe mit Spontanheilung. Es liegt aber keine statistische Signifikanz vor ($P=0,072$). Die Aussagekraft dieser Beobachtung wird durch die relativ geringe Anzahl von Patienten mit Spontanheilung noch geschmälert.

Fibrosestadium

Wir konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den untersuchten SNPs und dem Stadium der Fibrose herstellen.

Eine verstärkte Expression von NFKB bei chronischer HCV-Infektion ist assoziiert mit einer Progression der Leberfibrose (Guido et al. 2006). Allerdings wird dieser Zusammenhang durchaus kontrovers diskutiert. Boya et al. zeigten, dass NFKB auf die Progression der Leberfibrose protektiv wirkt (Boya et al. 2001).

Therapieantwort

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen den SNPs und der Therapieantwort auf die Interferon Monotherapie und Kombinationstherapie mit Ribavirin und Interferon bzw. pegyliertem Interferon feststellen.

Eine Untersuchung von Guido et al. konnte zeigen, dass die Interferon + Ribavirin Therapie die Expression von NFKB in der Leber reduziert. Zum Teil wurde nach Ablauf der Kombinationstherapie eine Erhöhung der NFKB-Expression beobachtet, dies traf aber insbesondere auf Patienten mit gleich bleibender oder sich verschlechternder Fibrose zu (Guido et al. 2006).

4.7. MAPK13, MAPK14

4.7.1. Charakteristika von MAPK13 und MAPK14

MAPK13 wird in der Literatur oft als p38(MAPK)delta und MAPK14 als p38(MAPK)alpha bezeichnet. Diese Faktoren spielen eine wichtige Rolle in der Regulation von vielen verschiedenen Prozessen wie Entzündungen, Zelldifferenzierung, Zellwachstum und Zelltod (Ono und Han 2000). In die Übergruppe der MAPK-Signalkaskaden gehören mehrere Untergruppen, unter anderem die von uns untersuchten p38-Signalwege. Hier kennt man neben den von uns untersuchten p38alpha und p38delta noch die beiden Isoformen p38beta und p38gamma. Das p38alpha wird praktisch ubiquitär exprimiert, während sich p38delta nur in einigen Organen finden lässt (Eckert et al. 2003). Beide liegen auf Chromosom 6q21. In der p38-Subgruppe beträgt die genetische Übereinstimmung etwa 60%. In der MAPK Gruppe beträgt sie nur 40% (Jiang et al. 1997).

Die Aktivierung von p38 erfolgt durch verschiedene extrazelluläre und intrazelluläre Stimuli wie Ultraviolettstrahlung, reaktive Sauerstoffspezies, osmotischer Schock und chemische wie biologische Wirkstoffe einschließlich Viren. Die HCV-Expression verursacht in infizierten Zellen oxidativen Stress. Die p38MAPK-Signalkaskade ist ein wichtiger Initiator für die Produktion von antioxidativen Enzymen wie Superoxiddismutase, deren Aktivierung als Schutzreaktion dient (Qadri et al. 2004).

Untersuchungen von Zhao et al. zeigten, dass Bestandteile des HCV-Virus, wie das Hüllprotein E2, zu einer effektiven Aktivierung des MAPK-Signalweges führen (Zhao et al. 2007). Des Weiteren ist die Aktivierung dieses Signalweges bei Menschen mit der Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms assoziiert. Die Fähigkeit des HCV-Core-Proteins, infizierte Hepatozyten vor der Apoptose zu schützen und gleichzeitig die MAPK-Signalkaskade zu aktivieren, kann im Zusammenwirken mit genetischer Disposition und Umweltfaktoren die neoplastische Transformation der Leberzellen triggern (Giambartolomei et al. 2001).

Auch das HCV-Core Protein aktiviert einige MAPK-Signalwege, was zur Pathogenese der Lebererkrankung beiträgt. Durch einen zusätzlichen Alkoholkonsum wird dieser Effekt noch verstärkt (Tsutsumi et al. 2003). Man geht davon aus, dass die Interferenz von HCV-Proteinen mit den MAPK-Signalkaskaden eine wichtige Rolle in der Chronifizierung der HCV-Infektion, der Leberfibrosierung und der Resistenz gegenüber Interferon spielt (Zhao et al. 2006). Unter anderem wird der p38 MAPK-Signalweg durch das Hüllprotein E2 von HCV

verstärkt. Eine Inhibition der relevanten Zellrezeptoren reduzierte hingegen die Aktivierung von p38 MAPK durch E2. Darüber hinaus wurde beobachtet, wie eine durch E2 getriggerte Zellproliferation mit der Phosphorylierung von p38 assoziiert ist. Somit ist dieser Signalweg vielleicht ein potentiell Ziel, um mit entsprechenden Inhibitoren eine HCV-Infektion zu verhindern (Zhao et al. 2007).

Die Nichtstrukturproteine NS3/4A des HCV-Genoms schützen die Hepatozyten vor Schäden durch andere Faktoren wie zum Beispiel TNFalpha. Diese Resistenz gegen TNFalpha kann durch die Behandlung mit p38MAPK-Inhibitor aufgehoben werden (Frelin et al. 2006).

Es wird berichtet, dass die MAPK in der Lage ist die Telomerase zu aktivieren (Panteva et al. 2003). Die Aktivierung der Telomerase ist eng mit der Onkogenese und der Immortalisierung von Zellen verbunden. Während man in normalem Lebergewebe kaum Telomeraseaktivität findet, gibt es Beobachtungen, dass in hepatozellulären Karzinomen in 86% eine Aktivierung vorliegt (Feng et al. 2002).

Die Komplexität der verschiedenen MAPK-Signalkaskaden spiegelt sich auch in ihrem zum Teil gegensätzlichen Verhalten wieder. Während die Aktivierung von p38 mit Apoptose assoziiert ist, ist die Aktivierung von ERK mit dem Überleben der Zellen verbunden (Kim et al. 2002).

4.7.2. Verteilung der Polymorphismen in unserer Untersuchungsgruppe

Spontalheilung

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen den untersuchten SNPs von MAPK13 -401, MAPK14 +401 und MAPK +809 in Bezug auf Spontanheilung bzw. chronischen Krankheitsverlauf finden.

Fibrosestadium

Wir konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den untersuchten SNPs und dem Stadium der Fibrose herstellen.

Untersuchungen von Parsons et al. zeigten allerdings, dass p38 durchaus an der Entstehung einer Leberfibrose beteiligt ist. p38 reguliert die Expression vom Kollagentyp alpha1, der den größten Teil des Fibrorevolumens in der Leber ausmacht. Außerdem erhöht p38 die mRNA

Stabilität vom Kollagen, was zu vermehrter Produktion und Ablagerung führt (Parsons et al. 2007).

Therapieantwort

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen den SNPs und der Therapieantwort auf die Interferon Monotherapie und Kombinationstherapie mit Ribavirin und Interferon bzw. pegyliertem Interferon feststellen.

Eine Untersuchung von Ishida et al. zeigt, wie die p38-Signalkaskade bei der durch Interferon-alpha vermittelten Aktivität gegen HCV eine Rolle spielt. Man beobachtete, dass der suppressive Effekt von Interferon-alpha bei Zugabe von p38-Inhibitor abnahm. Derselbe Effekt trat auch bei der Inhibition einer Vorstufe von p38 ein (Ishida et al. 2004). Folglich spielt p38 wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der antiviralen Wirkung von Interferon-alpha.

5. Zusammenfassung

Die Hepatitis C Infektion betrifft weltweit etwa 170 Millionen Menschen und ist ein wichtiger Faktor für die Entwicklung einer chronischen Hepatitis und einer Leberzirrhose. Etwa 85% der Infektionen verlaufen chronisch, nur 15% der Infizierten erreichen eine Spontanheilung, was häufig unbemerkt bleibt. Während 80% der Patienten einen milden Krankheitsverlauf erleben, geht die HCV-Infektion bei 20% mit starker Fibrosierung einher, was zu Leberzirrhose, Leberversagen oder hepatozellulärem Karzinom führen kann. Die anfänglichen Therapien mit Interferon bzw. Interferon + Ribavirin sind seit einigen Jahren durch die Kombinationstherapie mit pegyliertem Interferon + Ribavirin abgelöst. Mit der aktuellen Therapie ließen sich je nach Genotyp die Ansprechraten auf 50-80% steigern. Genetische Faktoren können im Verlauf der Erkrankung die spontane Viruselimination, die Progression zur Fibrose und das Therapieansprechen beeinflussen. Bei 14 bekannten Mutationen in Faktoren, die unter anderem an der Regulation des Apoptoseprozesses beteiligt sind, wurde der Einfluss von genetischen Variationen auf den Krankheitsverlauf der HCV-Infektion untersucht.

Es wurden 465 mit Hepatitis C infizierte Patienten in die Studie eingeschlossen, die meisten sind Träger des viralen Genotyps 1 (75,4%). Als Kontrollpopulation dienten 370 gesunde Blutspender. 14 bekannte SNPs in den Genen für FAS, IL-4, IL-6, NFKB2, NFKBIA, NFKBIL1, MAPK13 und MAPK14 wurden durch das TaqMan-Verfahren und direktes Sequenzieren typisiert. Die Häufigkeiten der einzelnen Mutationen werteten wir in Bezug auf Spontanheilung, Stadium der Fibrose und Therapieansprechen (IFN-Mono, IFN+Riba, PEG-IFN+ Riba) aus.

Ein heterozygoter Trägerstatus von IL4-589 (T/C) ist statistisch signifikant häufiger bei Patienten mit sustained response nach PEG-IFN + Ribavirin-Therapie zu beobachten ($P=0.0498$). Die Aussagekraft dieses Ergebnisses muss man aber kritisch betrachten, da die Patientengruppe, die mit PEG-IFN + Ribavirin behandelt wurde, relativ klein ist. Bei keinem der anderen untersuchten Polymorphismen fanden wir statistisch signifikante Zusammenhänge.

Diese Untersuchung zeigt, dass genetische Polymorphismen zum Teil einen geringen Einfluss auf den Verlauf und das Therapieansprechen der HCV-Infektion haben können. Weitere Studien in einer anderen Patientenkohorte werden das Potential haben, diese Ergebnisse zu verifizieren.

6. Literaturverzeichnis

- Aguilar-Reina, J., M. Ruiz-Ferrer, et al. (2005). „The -670A > G polymorphism in the promoter region of the FAS gene is associated with necrosis in periportal areas in patients with chronic hepatitis C.“ *J Viral Hepat* 12(6):568-73.
- Allcock, R. J., F. T. Christiansen, et al. (1999). „The central MHC gene IKBL carries a structural polymorphism that is associated with HLA-A3,B7,DR15.“ *Immunogenetics* 49(7-8):660-5.
- Alter, M. J., S. C. Hadler, et al. (1990). „Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection.“ *JAMA* 264(17):2231-5.
- Aoudjehane, L., P. Podevin, et al. (2007). „Interleukin-4 induces human hepatocyte apoptosis through a Fas-independent pathway.“ *FASEB J* 21(7):1433-44.
- Arsura, M. und L. G. Cavin (2005). „Nuclear factor-kappaB and liver carcinogenesis.“ *Cancer Lett* 229(2):157-69.
- Babula, O., G. Lazadane, et al. (2005). „Frequency of interleukin-4 (IL-4) -589 gene polymorphism and vaginal concentrations of IL-4, nitric oxide, and mannose-binding lectin in women with recurrent vulvovaginal candidiasis.“ *Clin Infect Dis* 40(9):1258-62.
- Bahr, M. J., M. el Menuawy, et al. (2003). „Cytokine gene polymorphisms and the susceptibility to liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.“ *Liver Int* 23(6):420-5.
- Bantel, H., A. Lügering, et al. (2001). „Caspase activation correlates with the degree of inflammatory liver injury in chronic hepatitis C virus infection.“ *Hepatology* 34(4 Pt 1):758-67.
- Bantel, H., K. Schulze-Osthoff (2002). „Apoptosis in hepatitis C virus infection.“ *Cell Death Differ* 10 Suppl 1:S48-58.
- Barrett, S., M. Collins, et al. (2003). „Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection.“ *J Med Virol* 71(2):212-8.
- Behrmann, I., H. Walczak, et al. (1994). „Structure of the human APO-1 gene.“ *Eur J Immunol* 24(12):3057-62.
- Bernal-Mizrachi, L., C. M. Lovly, et al. (2006). „The role of NF- κ B-1 and NF- κ B-2-mediated resistance to apoptosis in lymphomas.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(24):9220-5.
- Bertoletti, A. und C. Ferrari (2003). „Kinetics of the immune response during HBV and HCV infection.“ *Hepatology* 38(1):4-13.
- Bolstad, A. I., A. Wargelius, et al. (2000). „Fas and Fas ligand gene polymorphisms in primary Sjögren's syndrome.“ *J Rheumatol* 27(10):2397-405.
- Boya, P., E. Larrea, et al. (2001). „Nuclear factor-kappa B in the liver of patients with chronic hepatitis C: decreased RelA expression is associated with enhanced fibrosis progression.“ *Hepatology* 34(5):1041-8.
- Brillanti, S., J. Garson, et al. (1994). „A pilot study of combination therapy with ribavirin plus interferon alfa for interferon alfa-resistant chronic hepatitis C.“ *Gastroenterology* 107(3):812-7.
- Cappellesso, S., J. F. Valentin, et al. (2004). „Association of donor TNFRSF6 (FAS) gene polymorphism with acute rejection in renal transplant patients: a case-control study.“ *Nephrol Dial Transplant* 19(2):439-43.
- Chapman, S. J., C. C. Khor, et al. (2007). „IkappaB genetic polymorphisms and invasive

- pneumococcal disease.“ *Am J Respir Crit Care Med* 15;176(2):181-7.
- Chen, T. Y., Y. S. Hsieh, et al. (2007). „Impact of serum levels and gene polymorphism of cytokines on chronic hepatitis C infection.“ *Transl Res* 150(2):116-21.
- Chlabicz, S., R. Flisiak, et al. (2006). „Known and probable risk factors for hepatitis C infection: a case series in north-eastern Poland.“ *World J Gastroenterol* 12(1):141-5.
- Chomczynski, P., K. Mackey, et al. (1997). „DNAzol: a reagent for the rapid isolation of genomic DNA.“ *Biotechniques* 22(3):550-3.
- Choo, Q. L., G. Kuo, et al. (1989). „Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome.“ *Science* 244(4902):359-62.
- Combet, C., N. Garnier, et al. (2007). „euHCVdb: the European hepatitis C virus database.“ *Nucleic Acids Res* 35(Database issue):D363-6.
- Courtois, G. und T. D. Gilmore (2006). „Mutations in the NF-kappaB signaling pathway: implications for human disease.“ *Oncogene* 25(51):6831-43.
- Davis, G. L. (1999). „Hepatitis C virus genotypes and quasispecies.“ *Am J Med* 107(6B):21-26.
- de la Concha, E. G., M. Fernandez-Arguero, et al. (2000). „Susceptibility to severe ulcerative colitis is associated with polymorphism in the central MHC gene IKBL.“ *Gastroenterology* 119(6):1491-5.
- Dharancy, S., P. Podevin, et al. (2007). „Elevated interleukin-4 expression in severe recurrent hepatitis C virus after liver transplantation.“ *Transplantation* 83(7):906-11.
- Di Bisceglie, A. M., H. S. Conjeevaram, et al. (1995). „Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial.“ *Ann Intern Med* 123(12):897-903.
- Doseff, A. I., J. H. Baker, et al. (2003). „Interleukin-4-induced apoptosis entails caspase activation and suppression of extracellular signal-regulated kinase phosphorylation.“ *Am J Respir Cell Mol Biol* 29(3 Pt 1):367-74.
- Duran, A., A. Rodriguez, et al. (2004). „Crosstalk between PKCzeta and the IL4/Stat6 pathway during T-cell-mediated hepatitis.“ *EMBO J* 23(23):4595-605.
- Dusheiko, G., J. Main, et al. (1996). „Ribavirin treatment for patients with chronic hepatitis C: results of a placebo-controlled study.“ *J Hepatol* 25(5):591-8.
- Eckert, R. L., T. Efimova (2003). „p38 Mitogen-activated protein kinases on the body surface-a function for p38 delta.“ *J Invest Dermatol* 120(5):823-8.
- Farci, P., H. J. Alter, et al. (1991). „A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis.“ *N Engl J Med* 325(2):98-104.
- Fattovich, G., G. Giustina, et al. (1997). „Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients.“ *Gastroenterology* 112(2):463-72.
- Feng, D., R. Cheng, et al. (2002). „Hepatitis C virus nonstructural protein NS(3) and telomerase activity.“ *Chin Med J (Engl)* 115(4):597-602.
- Frelin, L., E. D. Brenndörfer, et al. (2006). „The hepatitis C virus and immune evasion: non-structural 3/4A transgenic mice are resistant to lethal tumour necrosis factor alpha mediated liver disease.“ *Gut* 55(10):1475-83.
- Fried, M. W., M. C. Shiffman, et al. (2002). „Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection.“ *N Engl J Med* 347(13):975-82.
- Fried, M. W., M. Shindo, et al. (1992). „Absence of hepatitis C viral RNA from saliva and semen of patients with chronic hepatitis C.“ *Gastroenterology* 102(4 Pt 1):1306-8.
- Fukuda, R., S. Satoh, et al. (1995). „Expression rate of cytokine mRNA in the liver of chronic hepatitis C: comparison with chronic hepatitis B.“ *J Gastroenterol* 30(1):41-7.
- Gao, J., D. Pfeifer, et al. (2007). „Association of NFKBIA polymorphism with colorectal cancer risk and prognosis in Swedish and Chinese populations.“ *Scand J Gastroenterol*

- 42(3):345-50.
- Giambartolomei, S., F. Covone, et al. (2001). „Sustained activation of the Raf/MEK/Erk pathway in response to EGF in stable cell lines expressing the Hepatitis C Virus (HCV) core protein.“ *Oncogene* 20(20):2606-10.
- Gibb, D. M., R. L. Goodall, et al. (2000). „Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission.“ *Lancet* 356(9233):904-7.
- Gomez, L. M., J. F. Camargo, et al. (2006). „Analysis of IL1B, TAP1, TAP2 and IKBL polymorphisms on susceptibility to tuberculosis.“ *Tissue Antigens* 67(4):290-6.
- Guido, M., L. De Franceschi, et al. (2006). „Effects of interferon plus ribavirin treatment on NF-kappaB, TGF-beta1, and metalloproteinase activity in chronic hepatitis C.“ *Mod Pathol* 19(8):1047-54.
- Hampe, J., A. Wollstein, et al. (2001). „An integrated system for high throughput TaqMan based SNP genotyping.“ *Bioinformatics* 17(7):654-5.
- Heid, C. A., J. Stevens, et al. (1996). „Real time quantitative PCR.“ *Genome Res* 6(10):986-94.
- Hiramatsu, N., N. Hayashi, et al. (1994). „Immunohistochemical detection of Fas antigen in liver tissue of patients with chronic hepatitis C.“ *Hepatology* 19(6):1354-9.
- Ho, I. C. und L. H. Glimcher (2002). „Transcription: tantalizing times for T cells.“ *Cell* 109 Suppl:S109-20.
- Hong, J., E. Leung, et al. (2007). „Polymorphisms in NFKBIA and ICAM-1 genes in New Zealand Caucasian Crohn's disease patients.“ *J Gastroenterol Hepatol* 22(10):1666-70.
- Hoofnagle, J. H. (2002). „Course and outcome of hepatitis C.“ *Hepatology* 36(5 Suppl 1):S21-9.
- Hoofnagle, J. H., K. D. Mullen, et al. (1986). „Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report.“ *N Engl J Med* 315(25):1575-8.
- Hsu, S. C., M. A. Gavrilin, et al. (1999). „p38 mitogen-activated protein kinase is involved in Fas ligand expression.“ *J Biol Chem* 274(36):25769-76.
- Hu, K. Q., C. H. Yu, et al. (1993). „One-step RNA polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus RNA.“ *Hepatology* 18(2):270-4.
- Ishida, H., K. Ohkawa, et al. (2004). „Involvement of p38 signaling pathway in interferon-alpha-mediated antiviral activity toward hepatitis C virus.“ *Biochem Biophys Res Commun* 321(3):722-7.
- Jiang, Y., H. Gram, et al. (1997). „Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38delta.“ *J Biol Chem* 272(48):30122-8.
- Jones, S. A. (2005). „Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6.“ *J Immunol* 175(6):3463-8.
- Jones, S. A., S. Horiuchi, et al. (2001). „The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease.“ *FASEB J* 15(1):43-58.
- Kanto, T. und N. Hayashi (2006). „Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection: multifaceted strategies subverting innate and adaptive immunity.“ *Intern Med* 45(4):183-91.
- Kato, N., M. Hijikata, et al. (1990). „Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(24):9524-8.
- Kim, S. J., J. W. Ju, et al. (2002). „ERK-1/2 and p38 kinase oppositely regulate nitric oxide-induced apoptosis of chondrocytes in association with p53, caspase-3, and differentiation status.“ *J Biol Chem* 277(2):1332-9.
- Kim, L. H., H. D. Shin, et al. (2003). „Identification of variants in NFKBIA and association

- analysis with hepatocellular carcinoma risk among chronic HBV patients.“ *Hum Mutat* 21(6):652-3.
- Kiyici, M., S. Gurel, et al. (2003). „Fas antigen (CD95) expression and apoptosis in hepatocytes of patients with chronic viral hepatitis.“ *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15(10):1079-84.
- Klein, W., A. Tromm, et al. (2004). „A polymorphism of the NFKBIA gene is associated with Crohn's disease patients lacking a predisposing allele of the CARD15 gene.“ *Int J Colorectal Dis* 19(2):153-6.
- Kobayashi, K., M. Ishii, et al. (1998). „Profiles of cytokines produced by CD4-positive T lymphocytes stimulated by anti-CD3 antibody in patients with chronic hepatitis C.“ *J Gastroenterol* 33(4):500-7.
- Kountouras, J., C. Zavos, et al. (2003). „Apoptosis in hepatitis C.“ *J Viral Hepat* 10(5):335-42.
- Kovalovich, K, W. Li, et al. (2001). „Interleukin-6 protects against Fas-mediated death by establishing a critical level of anti-apoptotic hepatic proteins FLIP, Bcl-2, and Bcl-xL.“ *J Biol Chem* 276(28):26605-13.
- Lapinski, T. W., J. Jaroszewicz, et al. (2006). „Concentrations of soluble Fas and soluble Fas ligand as indicators of programmed cell death among patients coinfectd with Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus.“ *Viral Immunol* 19(3):570-5.
- Lin, C. H., C. L. Cho, et al. (2006). „Inhibitors of kB-like gene polymorphisms in rheumatoid arthritis.“ *Immunol Lett* 105(2):193-7.
- Liu, C., J. Cheng, et al. (1995). „Differential expression of human Fas mRNA species upon peripheral blood mononuclear cell activation.“ *Biochem J* 15;310 (Pt 3):957-63.
- Lu, W., S. Y. Lo, et al. (1999). „Activation of p53 tumor suppressor by hepatitis C virus core protein.“ *Virology* 264(1):134-41.
- Manns, M. P., J. G. McHutchison, et al. (2001). „Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial.“ *Lancet* 358(9286):958-65.
- March, J. C., E. Oviedo-Joekes, et al. (2007). „Factors associated with reported hepatitis C and HIV among injecting drug users in ten European cities.“ *Enferm Infecc Microbiol Clin* 25(2):91-7.
- McHutchison, J. G. (2004). „Understanding hepatitis C.“ *Am J Manag Care* 10(2 Suppl): S21-9.
- McHutchison, J. G., S. C. Gordon, et al. (1998). „Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group.“ *N Engl J Med* 339(21):1485-92.
- McIlroy, D., I. Theodorou, et al. (2005). „FAS promoter polymorphisms correlate with activity grade in hepatitis C patients.“ *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17(10):1081-8.
- McOmish, F., P. L. Yap, et al. (1994). „Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey.“ *J Clin Microbiol* 32(4):884-92.
- Mehta, S. H., A. Cox, et al. (2002). „Protection against persistence of hepatitis C.“ *Lancet* 359(9316):1478-83.
- Migita, K., S. Abiru, et al. (2006). „Serum levels of interleukin-6 and its soluble receptors in patients with hepatitis C virus infection.“ *Hum Immunol* 67(1-2):27-32.
- Minton, E. J., D. Smillie, et al. (2005). „Clearance of hepatitis C virus is not associated with single nucleotide polymorphisms in the IL-1, -6, or -10 genes.“ *Hum Immunol* 66(2):127-32.
- Miterski, B., S. Böhringer, et al. (2002). „Inhibitors in the NFkappaB cascade comprise prime candidate genes predisposing to multiple sclerosis, especially in selected

- combinations.“ *Genes Immun* 3(4):211-9.
- Nakayama, E. E., L. Meyer, et al. (2002). „Protective effect of interleukin-4 -589T polymorphism on human immunodeficiency virus type 1 disease progression: relationship with virus load.“ *J Infect Dis* 185(8):1183-6.
- National Institutes of Health (2002). „National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002--June 10-12, 2002.“ *Hepatology* 36(5 Suppl 1):S3-20.
- Nattermann, J., M. Vogel, et al. (2007). „Effect of the interleukin-6 C174G gene polymorphism on treatment of acute and chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus coinfecting patients.“ *Hepatology* 46(4):1016-25.
- Nguyen, H., S. Sankaran, et al. (2006). „Hepatitis C virus core protein induces expression of genes regulating immune evasion and anti-apoptosis in hepatocytes.“ *Virology* 354(1):58-68.
- Offergeld, R., D. Faensen, et al. (2005). „Human immunodeficiency virus, hepatitis C and hepatitis B infections among blood donors in Germany 2000-2002: risk of virus transmission and the impact of nucleic acid amplification testing.“ *Euro Surveill* 10(2):8-11.
- Ono, K. und J. Han (2000). „The p38 signal transduction pathway: activation and function.“ *Cell Signal* 12(1):1-13.
- Panteva, M., H. Korkaya, et al. (2003). „Hepatitis viruses and the MAPK pathway: is this a survival strategy?“ *Virus Res* 92(2):131-40.
- Park, S. G., C. Chung, et al. (2006). „Up-regulation of cyclin D1 by HBx is mediated by NF-kappaB2/BCL3 complex through kappaB site of cyclin D1 promoter.“ *J Biol Chem* 281(42):31770-7.
- Park, B. L., H. S. Lee, et al. (2003). „Association between interleukin 6 promoter variants and chronic hepatitis B progression.“ *Exp Mol Med* 35(2):76-82.
- Parsons, C. J., M. Takashima, et al. (2007). „Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis.“ *J Gastroenterol Hepatol* ;22 Suppl 1:S79-84.
- Paul, W. E. (1997). „Interleukin 4: signalling mechanisms and control of T cell differentiation.“ *Ciba Found Symp* 204:208-16.
- Pawlotsky, J. M., M. Bouvier-Alias, et al. (2000). „Standardization of hepatitis C virus RNA quantification.“ *Hepatology* 32(3):654-9.
- Poynard, T., P. Bedossa, et al. (1997). „Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups.“ *Lancet* 349(9055):825-32.
- Poynard, T., P. Marcellin, et al. (1998). „Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT).“ *Lancet* 352(9138):1426-32.
- Qadri, I., M. Iwahashi, et al. (2004). „Induced oxidative stress and activated expression of manganese superoxide dismutase during hepatitis C virus replication: role of JNK, p38 MAPK and AP-1.“ *Biochem J* 378(Pt 3):919-28.
- Qing, G., Z. Qu, et al. (2005). „Stabilization of basally translated NF-kappaB-inducing kinase (NIK) protein functions as a molecular switch of processing of NF-kappaB2 p100.“ *J Biol Chem* 280(49):40578-82.
- Rautajoki, K. J., E. M. Marttila, et al. (2007). „Interleukin-4 inhibits caspase-3 by regulating several proteins in the Fas pathway during initial stages of human T helper 2 cell differentiation.“ *Mol Cell Proteomics* 6(2):238-51.
- Reichard, O., G. Norkrans, et al. (1998). „Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. The Swedish

- Study Group.“ *Lancet* 351(9096):83-7.
- Ross, S. R., B. V. Kallakruy, et al. (2004). „Expression of nuclear factor-kappa B and I kappa B alpha proteins in prostatic adenocarcinomas: correlation of nuclear factor-kappa B immunoreactivity with disease recurrence.“ *Clin Cancer Res* 10(7):2466-72.
- Roulston, A., R. Lin, et al. (1995). „Regulation of human immunodeficiency virus type 1 and cytokine gene expression in myeloid cells by NF-kappa B/Rel transcription factors.“ *Microbiol Rev* 59(3):481-505.
- Saito, T., G. Ji, et al. (2004). „Genetic variations in humans associated with differences in the course of hepatitis C.“ *Biochem Biophys Res Commun* 317(2):335-41.
- Sankary, T. M., G. Yang, et al. (1994). „Rare detection of hepatitis B and hepatitis C virus genomes by polymerase chain reaction in seronegative donors with elevated alanine aminotransferase.“ *Transfusion* 34(8):656-60.
- Schimoni, M. I., R. Parana, et al. (2006). „Apoptosis and progression of hepatic fibrosis in hepatitis C patients.“ *Braz J Infect Dis* 10(2): 117-21.
- Shi, M. M., S. P. Myrand, et al. (1999). „High throughput genotyping for the detection of a single nucleotide polymorphism in NAD(P)H quinone oxidoreductase (DT diaphorase) using TaqMan probes.“ *Mol Pathol* 52(5):295-9.
- Shimotohno, K. (2000). „Hepatitis C virus and its pathogenesis.“ *Semin Cancer Biol* 10(3):233-40.
- Shinohara, Y., H. Iwasaki, et al. (2001). „Novel single nucleotide polymorphisms of the human nuclear factor kappa-B 2 gene identified by sequencing the entire gene.“ *J Hum Genet* 46(1):50-1.
- Seino, K., Y. Setoguchi, et al. (2001). „Protection against Fas-mediated and tumor necrosis factor receptor 1-mediated liver injury by blockade of FADD without loss of nuclear factor-kappaB activation.“ *Ann Surg* 234(5):681-8.
- Simmonds, P., E. C. Holmes, et al. (1993). „Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region.“ *J Gen Virol* 74 (Pt 11):2391-9.
- Sobchak, D. M., O. V. Korochkina, et al. (2005). „Cytokine spectrum in patients with chronic hepatitis C in the treatment with interferon-alpha drugs.“ *Ter Arkh* 77(2):70-2.
- Tremolada, F., C. Casarin, et al. (1991). „Antibody to hepatitis C virus in post-transfusion hepatitis.“ *Ann Intern Med* 114(4):277-81.
- Truhlar, S. M., J. W. Torpey, et al. (2006). „Regions of IkappaBalpha that are critical for its inhibition of NF-kappaB.DNA interaction fold upon binding to NF-kappaB.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(50):18951-6.
- Tsutsui, T., T. Suzuki, et al. (2003). „Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice.“ *Hepatology* 38(4):820-8.
- Uyttendaele, S., H. Claeys, et al. (1994). „Evaluation of third-generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies.“ *Vox Sang* 66(2):122-9.
- Villano, S. A., D. Vlahov, et al. (1999). „Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection.“ *Hepatology* 29(3):908-14.
- Vrolijk, J. M., R. J. de Knegt, et al. (2004). „The treatment of hepatitis C: history, presence and future.“ *Neth J Med* 62(3):76-82.
- Xiao, W., D. R. Hodge, et al. (2004). „NF-kappaB activates IL-6 expression through cooperation with c-Jun and IL6-AP1 site, but is independent of its IL6-NFkappaB regulatory site in autocrine human multiple myeloma cells.“ *Cancer Biol Ther* 3(10):1007-17.
- Yano, M., H. Kumada, et al. (1996). „The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C.“ *Hepatology* 23(6):1334-40.
- Yen, C. L., J. J. Chang, et al. (2005). „Ribavirin monotherapy increases sustained response

- rate in relapsers of end treatment virologic responders.“ *World J Gastroenterol* 11(11):1663-7.
- Younossi, Z., J. Kallman, et al. (2007). „The effects of HCV infection and management on health-related quality of life.“ *Hepatology* 45(3):806-16.
- Zampetaki, A., Z. Zhang, et al. (2005). „Biomechanical stress induces IL-6 expression in smooth muscle cells via Ras/Rac1-p38 MAPK-NF-kappaB signaling pathways.“ *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288(6):H2946-54.
- Zhao, L. J., X. L. Zhang, et al. (2006). „Up-regulation of ERK and p38 MAPK signaling pathways by hepatitis C virus E2 envelope protein in human T lymphoma cell line.“ *J Leukoc Biol* 80(2):424-32.
- Zhao, L. J., P. Zhao, et al. (2007). „Mitogen-activated protein kinase signalling pathways triggered by the hepatitis C virus envelope protein E2: implications for the prevention of infection.“ *Cell Prolif* 40(4):508-21.
- Zhu, S., M. Chan-Yeung, et al. (2000). „Polymorphisms of the IL-4, TNF-alpha, and Fcepsilon RIbeta genes and the risk of allergic disorders in at-risk infants.“ *Am J Respir Crit Care Med* 161(5):1655-9.
- Zhu, N., C. F. Ware, et al. (2001). „Hepatitis C virus core protein enhances FADD-mediated apoptosis and suppresses TRADD signaling of tumor necrosis factor receptor.“ *Virology* 283(2):178-87.

7. Anhang

Tabelle 7. Sequenzen der TaqMan-Sonden und Primer von FAS, IKBL, IL4 und IL6 und Untersuchungsbedingungen

| SNP | Sonden/Primer | Konz. | Temp. | Sequenz |
|-------------|---------------|--------|-------|--|
| FAS -1378 | FAM Sonde (G) | 100 nM | 62°C | 5'GGCACGCCCAGGGTCTTCCTC3' |
| | TET Sonde (A) | 100 nM | | 5'AGGCTGGCACACCCAGGGTCTT3' |
| | F Primer | 300 nM | | 5'ATACAGAGAATGCCCATATAACCATCCT3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'CACACCTGTGTTTTGCATCTGTC3' |
| FAS -691 | FAM Sonde (T) | 100 nM | 62°C | 5'CATCTGTACTTTTTTCATATGGTTAACTGTCCATTCCA3' |
| | TET Sonde (C) | 100 nM | | 5'GCAACATCTGTACTTTTTTCATACGGTTAACTCTGGAT3' |
| | F Primer | 300 nM | | 5'GGGCTATGCGATTTGGCTTA3' |
| | R Primer | 900 nM | | 5'GAGGTCCTGCCTGGGTACAG3' |
| FAS -671 | FAM Sonde (A) | 100 nM | 62°C | 5'CCATTCCAGAAACGTCTGTGAGCCTCT3' |
| | TET Sonde (G) | 100 nM | | 5'CCATTCCAGGAACGTCTGTGAGCCT3' |
| | F Primer | 900 nM | | 5'GGCTATGCGATTTGGCTTAA3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'GAGGTCCTGCCTGGGTACAG3' |
| NFKBIL +738 | FAM Sonde (G) | 100 nM | 62°C | 5'TCGACGGGATCCCTCTGCTTCTC3' |
| | TET Sonde (A) | 100 nM | | 5'TCGACAGGATCCCTCTGCTTCTCG3' |
| | F Primer | 900 nM | | 5'CGGGAACATGCCCAGAAGT3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'GGCTGGAGCCCTCAGCA3' |
| IL4 -589 | FAM Sonde (T) | 100 nM | 62°C | 5'AGAACATTGTTCCTCCAGTGCTGGG3' |
| | TET Sonde (C) | 100 nM | | 5'AGAACATTGTTCCTCCAGTGCTGG3' |
| | F Primer | 300 nM | | 5'GATACGACCTGTCCTTCTCAA3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'TGTTGTAATGCAGTCCTCCTG3' |
| IL6 -174 | FAM Sonde (C) | 100 nM | 60°C | 5'CCCCCTAGTTGTGTCTTGCCATGCTAA3' |
| | TET Sonde (G) | 100 nM | | 5'CCCCCTAGTTGTGTCTTGCGATGCTAA3' |
| | F Primer | 50 nM | | 5'ACTTCGTGCATGACTTCAGC3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'AAATCTTTGGAGGGTGAG3' |
| IL6 -572 | FAM Sonde (G) | 100 nM | 62°C | 5'TCTACAACAGCCGCTCACAGGGAG3' |
| | TET Sonde (C) | 100 nM | | 5'TCTACAACAGCCCCTCACAGGGAGA3' |
| | F Primer | 300 nM | | 5'CAGAAGCCACGCGGTG3' |
| | R Primer | 900 nM | | 5'GCACGAAGTTTTACAAAGAGAAA3' |

Tabelle 8. Sequenzen der TaqMan-Sonden und Primer von NFKB2, NFKBIA, p38MAPKalpha und p38MAPKdelta und Untersuchungsbedingungen

| SNP | Sonden/Primer | Konz. | Temp. | Sequenz |
|--------------|---------------|--------|-------|--|
| NFKB2 +1867 | FAM Sonde (G) | 100 nM | 62°C | 5'CTTCTCTCCGCGCCCGACCCACCT3' |
| | TET Sonde (G) | 100 nM | | 5'CTTCTCTCGCGCCCGACCCACCTG3' |
| | F Primer | 400 nM | | 5'AGGGCTGACGCACGGAAAC3' |
| | R Primer | 400 nM | | 5'TGTCGACGTGGATCCGAGTGT3' |
| NFKBIA +1080 | FAM Sonde (G) | 100nM | 62°C | 5'ACTGCACACTGCCTGGCCAAAAC3' |
| | TET Sonde (A) | 100 nM | | 5'ACTGCACACTGCCTAGCCAAAACGTC3' |
| | F Primer | 400 nM | | 5'AAGAAAAAATTTAAAGGGTGTACTTATATCCA3' |
| | R Primer | 400 nM | | 5'TCGTCCCCTACAAAAGTTCACA3' |
| NFKBIA -420 | FAM Sonde (C) | 100 nM | 62°C | 5'CCCCAGGGAAAGAAGCGTCACTTGCA3' |
| | TET Sonde (T) | 100 nM | | 5'CCCCAGGGAAAGAAGGTTCACTTGCAGA3' |
| | F Primer | 50 nM | | 5'AAAGAGGGACCGCCCATCAG3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'GCGCCCTATAAACGCTGGCT3' |
| MAPK13 -401 | FAM Sonde (T) | 100 nM | 60°C | 5'CCAGGCAAGCACTCCACAAAGTCCTT3' |
| | TET Sonde (C) | 100 nM | | 5'CAGGCAAGCACCCACAAAAGTCCT3' |
| | F Primer | 50 nM | | 5'CTGTGAGGACTGGCAGATGTG3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'GCCTTTGCCTGTCAAGTGTG3' |
| MAPK14 +401 | FAM Sonde (A) | 100 nM | 62°C | 5'TTCCTTCCTGTCTATGGTACTGATAGCTGTCGACTT3' |
| | TET Sonde (C) | 100 nM | | 5'TCCTTCCTGTCTCTGGTACTGATAGCTGTCGAC3' |
| | F Primer | 300 nM | | 5'GGAGAAGAGGGCTAATATATCCTAGAGTAG3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'GGCCGCTGTAATTCTCTTATCTG3' |
| MAPK14 +401 | FAM Sonde (C) | 100 nM | 62°C | 5'AAGGCCTTTTCACGGAACTCTCCAAA3' |
| | TET Sonde (T) | 100 nM | | 5'AAGGCCTTTTCATGGAACTCTCCAAATATTC3' |
| | F Primer | 50 nM | | 5'GAAGTCATCAGCTTTGTGCCAC3' |
| | R Primer | 900 nM | | 5'ACCATGGAGGAAATCTCTGCA3' |
| MAPK14 +809 | FAM Sonde (A) | 100 nM | 62°C | 5'TGAGTAAATTTTTTGCATTTGCCTTCCTGGTCTA3' |
| | TET Sonde (G) | 100 nM | | 5'TGAGTAAATTTTTTGCCTTTGCCTTCCTGG3' |
| | F Primer | 50 nM | | 5'CAGGTGATTGGTCTGTTGGACG3' |
| | R Primer | 300 nM | | 5'CCCAAAAAGAGGTGCATGATAGG3' |

Tabelle 9. Genotypverteilung in der Patientenkohorte in Bezug auf Spontanheilung und chronischen Krankheitsverlauf

| SNP | Genotyp | Krankheitsverlauf | |
|--------------|---------|-------------------|---------------------|
| | | Spontanheilung | chronischer Verlauf |
| FAS -1378 | GG | 0 | 3 |
| | GA | 3 | 68 |
| | AA | 19 | 301 |
| FAS -671 | TT | 4 | 85 |
| | TC | 8 | 185 |
| | CC | 10 | 102 |
| FAS -691 | AA | 2 | 5 |
| | AG | 4 | 52 |
| | GG | 14 | 231 |
| NFKBIL +738 | GG | 0 | 1 |
| | GA | 1 | 29 |
| | AA | 18 | 257 |
| IL4 -589 | TT | 11 | 154 |
| | TC | 0 | 49 |
| | CC | 0 | 7 |
| IL6 -174 | CC | 8 | 124 |
| | CG | 8 | 182 |
| | GG | 5 | 65 |
| IL6 -572 | GG | 0 | 2 |
| | GC | 0 | 29 |
| | CC | 13 | 276 |
| NFKB2 +1867 | GG | 0 | 8 |
| | GG | 6 | 143 |
| | GG | 15 | 212 |
| NFKBIA +1080 | GG | 5 | 111 |
| | GA | 13 | 123 |
| | AA | 1 | 55 |
| NFKBIA -420 | CC | 2 | 13 |
| | CT | 7 | 130 |
| | TT | 11 | 226 |
| MAPK13 -401 | TT | 6 | 109 |
| | TC | 9 | 131 |
| | CC | 4 | 43 |
| MAPK14 +401 | AA | 3 | 53 |
| | AC | 6 | 226 |
| | CC | 7 | 279 |
| MAPK14 +401 | CC | 0 | 18 |
| | CT | 3 | 33 |
| | TT | 15 | 212 |
| MAPK14 -809 | AA | 0 | 0 |
| | AG | 4 | 53 |
| | GG | 14 | 226 |

Tabelle 10. Genotypverteilung in der Patientenkohorte in Bezug auf geringe (Stadium 0,1,2) und fortgeschrittene Fibrose (Stadium 3 und 4)

| SNP | Genotyp | Fibrosestadium | |
|--------------|---------|-----------------|-----------------|
| | | geringe Fibrose | schwere Fibrose |
| FAS -1378 | GG | 0 | 2 |
| | GA | 15 | 40 |
| | AA | 57 | 214 |
| FAS -671 | TT | 19 | 56 |
| | TC | 34 | 126 |
| | CC | 18 | 74 |
| FAS -691 | AA | 1 | 6 |
| | AG | 8 | 35 |
| | GG | 39 | 157 |
| NFKBIL +738 | GG | 0 | 1 |
| | GA | 5 | 21 |
| | AA | 59 | 177 |
| IL4 -589 | TT | 33 | 114 |
| | TC | 12 | 33 |
| | CC | 4 | 3 |
| IL6 -174 | CC | 22 | 78 |
| | CG | 36 | 132 |
| | GG | 15 | 43 |
| IL6 -572 | GG | 1 | 1 |
| | GC | 7 | 19 |
| | CC | 48 | 188 |
| NFKB2 +1867 | GG | 2 | 4 |
| | GG | 27 | 96 |
| | GG | 44 | 145 |
| NFKBIA +1080 | GG | 21 | 72 |
| | GA | 20 | 86 |
| | AA | 7 | 39 |
| NFKBIA -420 | CC | 2 | 8 |
| | CT | 28 | 85 |
| | TT | 39 | 161 |
| MAPK13 -401 | TT | 30 | 68 |
| | TC | 26 | 91 |
| | CC | 8 | 34 |
| MAPK14 +401 | AA | 3 | 8 |
| | AC | 10 | 43 |
| | CC | 25 | 88 |
| MAPK14 +401 | CC | 3 | 11 |
| | CT | 10 | 20 |
| | TT | 44 | 150 |
| MAPK14 -809 | AA | 0 | 0 |
| | AG | 12 | 34 |
| | GG | 48 | 156 |

Tabelle 11. Genotypverteilung in der Patientenkohorte in Bezug auf sustained und no response auf Interferon Monotherapie

| SNP | Genotyp | IFN-Mono | |
|--------------|---------|-----------|-------------|
| | | sustained | no response |
| FAS -1378 | GG | | |
| | GA | | |
| | AA | | |
| FAS -671 | TT | 5 | 26 |
| | TC | 11 | 46 |
| | CC | 6 | 24 |
| FAS -691 | AA | 0 | 1 |
| | AG | 3 | 15 |
| | GG | 12 | 61 |
| NFKBIL +738 | GG | | |
| | GA | | |
| | AA | | |
| IL4 -589 | TT | 8 | 42 |
| | TC | 3 | 14 |
| | CC | 0 | 1 |
| IL6 -174 | CC | 4 | 29 |
| | CG | 13 | 53 |
| | GG | 3 | 18 |
| IL6 -572 | GG | | |
| | GC | | |
| | CC | | |
| NFKB2 +1867 | GG | 0 | 2 |
| | GG | 9 | 32 |
| | GG | 12 | 62 |
| NFKBIA +1080 | GG | 3 | 38 |
| | GA | 9 | 27 |
| | AA | 3 | 12 |
| NFKBIA -420 | CC | 1 | 3 |
| | CT | 9 | 32 |
| | TT | 12 | 60 |
| MAPK13 -401 | TT | 4 | 29 |
| | TC | 9 | 29 |
| | CC | 2 | 14 |
| MAPK14 +401 | AA | 1 | 3 |
| | AC | 1 | 16 |
| | CC | 6 | 35 |
| MAPK14 +401 | CC | 0 | 8 |
| | CT | 3 | 6 |
| | TT | 9 | 52 |
| MAPK14 -809 | AA | 0 | 0 |
| | AG | 2 | 17 |
| | GG | 12 | 57 |

Tabelle 12. Genotypverteilung in der Patientenkohorte in Bezug auf sustained und no response auf Interferon plus Ribavirin

| SNP | Genotyp | IFN+Riba | |
|--------------|---------|-----------|-------------|
| | | sustained | no response |
| FAS -1378 | GG | 1 | 0 |
| | GA | 14 | 15 |
| | AA | 48 | 59 |
| FAS -671 | TT | 16 | 14 |
| | TC | 34 | 39 |
| | CC | 12 | 21 |
| FAS -691 | AA | 0 | 1 |
| | AG | 10 | 13 |
| | GG | 30 | 37 |
| NFKBIL +738 | GG | 0 | 0 |
| | GA | 4 | 6 |
| | AA | 47 | 53 |
| IL4 -589 | TT | 31 | 36 |
| | TC | 13 | 9 |
| | CC | 2 | 0 |
| IL6 -174 | CC | 21 | 22 |
| | CG | 31 | 38 |
| | GG | 10 | 14 |
| IL6 -572 | GG | 0 | 1 |
| | GC | 5 | 4 |
| | CC | 49 | 54 |
| NFKB2 +1867 | GG | 1 | 2 |
| | GG | 26 | 32 |
| | GG | 34 | 39 |
| NFKBIA +1080 | GG | 11 | 20 |
| | GA | 21 | 19 |
| | AA | 8 | 13 |
| NFKBIA -420 | CC | 2 | 1 |
| | CT | 23 | 25 |
| | TT | 36 | 46 |
| MAPK13 -401 | TT | 15 | 24 |
| | TC | 24 | 22 |
| | CC | 10 | 10 |
| MAPK14 +401 | AA | 2 | 3 |
| | AC | 4 | 10 |
| | CC | 23 | 23 |
| MAPK14 +401 | CC | 2 | 3 |
| | CT | 3 | 8 |
| | TT | 37 | 39 |
| MAPK14 -809 | AA | 0 | 0 |
| | AG | 7 | 13 |
| | GG | 42 | 42 |

Tabelle 13. Genotypverteilung in der Patientenkohorte in Bezug auf sustained und no response auf pegyliertes Interferon plus Ribavirin

| SNP | Genotyp | PEG-IFN+Riba | |
|--------------|---------|--------------|-------------|
| | | sustained | no response |
| FAS -1378 | GG | 0 | 0 |
| | GA | 5 | 3 |
| | AA | 17 | 13 |
| FAS -671 | TT | 3 | 2 |
| | TC | 12 | 8 |
| | CC | 7 | 6 |
| FAS -691 | AA | 0 | 0 |
| | AG | 1 | 1 |
| | GG | 13 | 7 |
| NFKBIL +738 | GG | 1 | 0 |
| | GA | 2 | 0 |
| | AA | 18 | 16 |
| IL4 -589 | TT | 10 | 13 |
| | TC | 6 | 1 |
| | CC | 0 | 0 |
| IL6 -174 | CC | 6 | 5 |
| | CG | 9 | 10 |
| | GG | 7 | 2 |
| IL6 -572 | GG | 0 | 0 |
| | GC | 0 | 1 |
| | CC | 13 | 10 |
| NFKB2 +1867 | GG | 1 | 0 |
| | GG | 7 | 4 |
| | GG | 14 | 13 |
| NFKBIA +1080 | GG | 6 | 2 |
| | GA | 5 | 4 |
| | AA | 3 | 3 |
| NFKBIA -420 | CC | 2 | 1 |
| | CT | 6 | 7 |
| | TT | 13 | 9 |
| MAPK13 -401 | TT | 8 | 3 |
| | TC | 10 | 9 |
| | CC | 2 | 3 |
| MAPK14 +401 | AA | 0 | 1 |
| | AC | 9 | 4 |
| | CC | 4 | 2 |
| MAPK14 +401 | CC | 0 | 1 |
| | CT | 7 | 1 |
| | TT | 13 | 11 |
| MAPK14 -809 | AA | 0 | 0 |
| | AG | 7 | 2 |
| | GG | 14 | 12 |

8. Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. S. Schreiber, Direktor der Klinik für Allgemeine Innere Medizin an der I. Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, für die Möglichkeit bedanken, dass ich an der I. Medizinischen Klinik in Kiel diese Arbeit durchführen konnte.

Sehr verbunden bin ich Herrn PD Dr. med. H. Hinrichsen für die Erteilung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Des Weiteren danke ich Frau Dr. med. Susanne Ross, die mir bei der Erarbeitung der Thematik mit ihrem fachlichen Rat zur Seite stand und mit ihrer konstruktiven Hilfe zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Zuletzt möchte ich mich auch bei meinen Eltern bedanken, die mich im Verlauf meines Studiums stets unterstützt haben.

9. Lebenslauf

Name: Gregor Tobias Ruschemeier
 Geburtsdatum: 11.07.1982
 Geburtsort: Oelde
 Eltern: Brigitta Ruschemeier, Lehrerin
 Ulrich Ruschemeier, Diplom-Sozialarbeiter

Schule und Universität

1989-1993 Stephanus Grundschule, Paderborn
 1993-2002 Gymnasium Theodorianum, Paderborn
 Schulabschluss: Allgemeine Hochschulreife
 1999-2000 High School Jahr, Colorado (USA)

 2002-2003 Zivildienst in der Jugendhilfeeinrichtung Salesianum,
 Paderborn

 April 2003 Beginn des Medizinstudiums
 2003-2005 Georg-August-Universität, Göttingen
 März 2005 Physikum
 2005-2009 Christian-Albrechts Universität, Kiel
 2006-2008 Erstellung der Dissertation bei
 PD Dr. med. H. Hinrichsen
 Mai 2009 2. Staatsexamen