

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

# **Präzision und klinische Aspekte verschiedener Methoden der TSH- Bestimmung**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Universitätsmedizin

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Laura Catharina Wellinghoff

aus Mannheim

Mainz, 2020



# Inhaltsverzeichnis

Titelblatt.....	I
Wissenschaftlicher Vorstand, Gutachter und Promotionstermin.....	II
Inhaltsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Abkürzungsverzeichnis .....	IX
1 Einleitung.....	1
2 Literaturdiskussion .....	3
2.1 Thyreotroper Regelkreis .....	3
2.1.1 Physiologie.....	3
2.1.2 Funktionszustände der Schilddrüse .....	4
2.1.2.1 Euthyreose .....	4
2.1.2.2 Hypothyreose.....	5
2.1.2.3 Hyperthyreose .....	6
2.2 Schilddrüsenhormone .....	8
2.2.1 TSH.....	8
2.2.2 T <sub>3</sub> und T <sub>4</sub> .....	9
2.3 Autoimmunthyreopathien .....	12
2.3.1 Hashimoto-Thyreoiditis.....	12
2.3.2 Morbus Basedow.....	14
2.3.3 Sonstige autoimmun bedingte Formen der Thyreoiditis .....	16
2.3.4 Mono- und polyglanduläre Autoimmunität .....	17
2.4 TSH-Messung .....	18
2.4.1 Präanalytik: Einfluss- bzw. Störgrößen.....	18
2.4.2 Analytik: Messverfahren .....	20
2.4.2.1 Grundlagen .....	20
2.4.2.2 Kompetitive Immunoassays .....	21
2.4.2.3 Nicht-kompetitive Immunoassays/Sandwich-Assays .....	24
2.4.3 Postanalytik: Befundung und Beurteilung.....	27
2.4.4 Qualitätsmerkmale .....	28
3 Material und Methoden.....	31
3.1 Studiendesign .....	31

3.2 Untersuchungskollektiv .....	31
3.2.1 Gesamtkollektiv TSH-Messung .....	31
3.2.1.1 Gesundes Kontrollkollektiv .....	32
3.2.1.2 Erkranktes Probenkollektiv .....	33
3.2.2 Blutproben für die Präzisionsbestimmung .....	35
3.3 Material .....	36
3.3.1 Blutentnahme und Verarbeitung .....	36
3.3.2 Materialien und Chemikalien .....	37
3.3.3 Laborgeräte .....	38
3.3.4 Software .....	39
3.4 Methoden der TSH-Bestimmung .....	39
3.4.1 Verwendete Standardmethoden .....	39
3.4.1.1 Architect TSH assay i 2000SR (Abbott) .....	40
3.4.1.2 Cobas e411 (Roche) .....	40
3.4.2 Schnelltests .....	41
3.4.2.1 TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	41
3.4.2.2 TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	43
3.5 Statistische Methoden .....	44
3.5.1 Präzisionsbestimmungen .....	44
3.5.2 Klinische Daten .....	44
4 Ergebnisse .....	46
4.1 Handhabung der Schnelltests .....	46
4.1.1 TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	46
4.1.2 TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	48
4.2 Präzision der Geräte .....	50
4.2.1 Intra-Assay-Variabilität .....	50
4.2.1.1 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	50
4.2.1.2 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	50
4.2.2 Inter-Assay-Variabilität .....	50
4.2.2.1 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	50
4.2.2.2 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	51

4.2.3 TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) Serum vs. Plasma.....	51
4.2.4 TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) Serum vs. Vollblut.....	51
4.3 Statistische Auswertung der klinischen Daten .....	52
4.3.1 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	52
4.3.2 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	55
4.3.3 Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	55
4.3.4 Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	57
5 Ergebnisdiskussion .....	59
5.1 Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse .....	59
5.2 Vergleich der Ergebnisse zu anderen Studien .....	61
5.3 Rationalisierung der Ergebnisse .....	62
5.3.1 Studiendesign .....	62
5.3.2 Analyse der Messmethoden .....	63
5.3.2.1 Präanalytik .....	63
5.3.2.2 Analytik .....	65
5.3.2.3 Postanalytik .....	68
5.4 Fazit .....	68
6 Zusammenfassung .....	71
7 Literaturverzeichnis .....	XII
Danksagung .....	XIX
Lebenslauf.....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Thyreotroper Regelkreis (7, 8, 16, 17).....	3
Abbildung 2: Darstellung eines kompetitiven Immunoassays und typische Standardkurve (83).....	21
Abbildung 3: Darstellung eines Sandwich-Assays und typische Standardkurve (83)	25
Abbildung 4: Geschlechts- und Altersverteilung Gesamtkollektiv.....	32
Abbildung 5: Geschlechts- und Altersverteilung gesundes Kontrollkollektiv.....	33
Abbildung 6: Geschlechts- und Altersverteilung erkranktes Patientenkollektiv .....	33
Abbildung 7: Verteilung der mono- und polyglandulären Autoimmunität im erkrankten Probenkollektiv .....	34
Abbildung 8: Verteilung der für die mono- und polyglandulären Autoimmunität charakteristischen Erkrankungen im erkrankten Probenkollektiv .....	35
Abbildung 9: Geschlechts- und Altersverteilung Blutproben für die Präzisionsbestimmungen .....	35
Abbildung 10: Verteilung der Schilddrüsenfunktionszustände Blutproben für die Präzisionsbestimmung .....	36
Abbildung 11: Testprinzip Elecsys® (97).....	41
Abbildung 12: Teststreifen TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) – Foto und schematische Zeichnung.....	41
Abbildung 13: Easy Reader (Veda.Lab) (103).....	42
Abbildung 14: Teststreifen TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) – Foto und schematische Zeichnung.....	43
Abbildung 15: Arbeitsablauf TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab).....	46
Abbildung 16: Inbetriebnahme-Bildschirm, Easy Reader, TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) (102).....	46
Abbildung 17: Bildschirm "Measurement >> in progress", Easy Reader, TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) (102) .....	47
Abbildung 18: Bildschirm "Measurement >> Result", Easy Reader, TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) (102) .....	47
Abbildung 19: TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) - Beispielmessreihe mit eigener Zeitmessung.....	48
Abbildung 20: Arbeitsablauf TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab).....	48
Abbildung 21: Positiver und negativer Teststreifen TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) – schematische Zeichnung.....	49
Abbildung 22: TSH-check-1 TSH-adult - Beispielmessreihe .....	49
Abbildung 23: Streudiagramm mit Regressionsgerade - TSH-Werte Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) .....	53
Abbildung 24: Streudiagramm mit limitierter X-Achse und Regressionsgerade - TSH-Werte Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab).....	53
Abbildung 25: ROC-Kurve – TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) vs. Architect TSH assay (Abbott) .....	54
Abbildung 26: Streudiagramm mit Regressionsgerade - TSH-Werte Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab).....	56

Abbildung 27: ROC-Kurve – TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) vs. Cobas e411 (Roche) .....57

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Symptome der Hypo- und Hyperthyreose (Quelle jeweils hinter dem Symptom).....	11
Tabelle 2: Übersicht autoimmune mono- und polyglanduläre Syndrome (6, 49, 75-79) .....	17
Tabelle 3: Sensibilität der Assay-Generationen (10, 14) .....	20
Tabelle 4: Qualitätskriterien für TSH-Assays (13) .....	30
Tabelle 5: Verteilung der mono- und polyglandulären Autoimmunität im erkrankten Probenkollektiv .....	34
Tabelle 6: Verteilung der für die mono- und polyglandulären Autoimmunität charakteristischen Erkrankungen im erkrankten Probenkollektiv .....	34
Tabelle 7: Herkunft des gesunden Kontrollkollektivs und erkrankten Probenkollektivs .....	36
Tabelle 8: Verwendete Test-Kits .....	37
Tabelle 9: Verwendete Einwegmaterialien .....	38
Tabelle 10: Verwendete Laborgeräte .....	38
Tabelle 11: Verwendete Software .....	39
Tabelle 12: Übersicht und technische Daten der verwendeten Methoden der TSH-Bestimmung (10, 96-100).....	39
Tabelle 13: Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)...	52
Tabelle 14: Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check 1 TSH-adult (Veda.Lab)...	55
Tabelle 15: Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab).....	55
Tabelle 16: Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) .....	57
Tabelle 17: TSH-check-1 TSH-Ultra und TSH-check-1 TSH adult (Veda.Lab) - Ergebnisse der Präzisionsbestimmungen .....	59
Tabelle 18: TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) - Vergleich von Sensitivität, Spezifität, positivem Prädiktionswert und negativem Prädiktionswert mit den beiden Standardmethoden als Referenz.....	60
Tabelle 19: TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) - Vergleich von Sensitivität, Spezifität, positivem Prädiktionswert und negativem Prädiktionswert mit den beiden Standardmethoden als Referenz.....	60

## Abkürzungsverzeichnis

AUC	area under the curve, Fläche unter der Kurve
C	Carbon, Kohlenstoff
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CLIA	Chemilumineszenzimmunoassay
Co	Cobalt, Kobalt
CRP	C-reaktives Protein, Capsel-reaktives Protein
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
Fe	Ferrum, Eisen
FIA	Fluoreszenzimmunoassay
FSH	follikelstimulierendes Hormon, Follitropin
fT <sub>3</sub>	freies Trijodthyronin
fT <sub>4</sub>	freies Tetrajodthyronin, freies Thyroxin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HAMA	humaner Anti-Maus-Antikörper
HCG	humanes Choriongonadotropin
HLA	human leukocyte antigen, humanes Leukozytenantigen
HRP	horseradish peroxidase, Meerrettichperoxidase
I	Iodine, Jod
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
IPEX	Immundysregulation-Polyendokrinopathie-Enteropathie-X-chromosomal

K <sup>+</sup>	Kalium
LH	luteinisierendes Hormon, Lutropin
LoD	limit of detection, Nachweisgrenze
LoQ	limit of quantitation, Bestimmungsgrenze, Quantifizierungsgrenze
MGA	monoglanduläre Autoimmunität
mIU/l	milli international units pro Liter
Na <sup>+</sup>	Natrium
NaOH	Natriumhydroxid
P	Phosphor
PBS	phosphate buffered saline, phosphatgepufferte Salzlösung
PGA	polyglanduläre Autoimmunität
Pit-1	pituitary specific transcription factor 1
PPT	Postpartum-Thyreoiditis
RIA	Radioimmunoassay, Radioimmuntest
ROC	receiver operating characteristic
S	Schwefel
Se	Selen
T <sub>3</sub>	Trijodthyronin
T <sub>4</sub>	Tetraiodthyronin, Thyroxin
Tc	Technetium
TPO	Thyreozyten-spezifische Peroxidase
TRE	thyroid hormone response elements

TRH	thyrotropin releasing hormone, Thyreoliberin
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon, Thyreotropin
WHO	World Health Organization, Weltgesundheitsorganisation

# 1 Einleitung

Die Schilddrüse spielt eine wichtige Rolle im menschlichen Hormonhaushalt (1). Sie produziert und speichert die Schilddrüsenhormone, die für die Regulierung von Stoffwechselprozessen im Körper aber auch für die frühkindliche Entwicklung verantwortlich sind (2). Die häufigste Funktionsstörung ist die Unterfunktion der Schilddrüse (Hypothyreose), bei der die Schilddrüse zu wenige Schilddrüsenhormone produziert (3, 4). Die erworbene Hypothyreose ist mit einer Prävalenz von ca. 1 - 2 % in der erwachsenen Bevölkerung eine häufige Erkrankung (4). Im Kindesalter kommt dagegen die angeborene Hypothyreose häufiger vor. Sie hat eine Prävalenz von 0,025 % (4). Insgesamt sind Frauen häufiger betroffen als Männer (4-6). Da die Symptome meist sehr allgemein sind, schleichend beginnen oder sogar ganz fehlen können, wird die Erkrankung oft erst spät oder gar nicht entdeckt (1). Bei Verdacht auf eine Schilddrüsenfehlfunktion ist die Messung der Konzentration des Thyroidea-stimulierenden Hormons (TSH) der erste Schritt in der Diagnostik (4, 7-13). Der TSH-Wert ist ein sensitiver und zuverlässiger Anhaltspunkt, um die Funktionsfähigkeit der Schilddrüse zu beurteilen und gegebenenfalls weitere Diagnostik anzuschließen (9, 14). Liegt der gemessene TSH-Wert oberhalb des Normbereichs, ist also erhöht, spricht dies für eine Hypothyreose (13). Der TSH-Wert kann auch unterhalb des Normbereiches liegen. In diesem Fall leidet der Patient an einer Überfunktion der Schilddrüse, einer sogenannten Hyperthyreose (11, 13).

Das Augenmerk dieser Studie liegt auf der Diagnostik der Hypothyreose mit Hilfe der Bestimmung des TSH-Wertes. Hierfür werden zwei neu entwickelte Messmethoden getestet, die weniger Zeit und vor allem weniger Ausrüstung benötigen als die herkömmlichen Methoden. Der Patient erfährt noch am selben Tag sein Ergebnis, da die Messung der Probe direkt vor Ort durchgeführt werden kann und diese nicht in ein Labor gesendet werden muss. Diese neuen Messmethoden sollen in Ländern mit einer schlechten Infrastruktur angewendet werden, in denen Patienten oft mehrere Stunden bis Tage Weg zurücklegen müssen, um ärztliche Versorgung in Anspruch nehmen zu können. Mit Hilfe der neuen Messmethoden können diese Patienten innerhalb kurzer Zeit ein Ergebnis erhalten, um eine eventuell notwendige Therapie unmittelbar beginnen zu können, sofern medizinisch impliziert.

Das Ziel dieser Dissertation besteht in der Evaluation dieser zwei neuen Messmethoden hinsichtlich ihrer Präzision, Zuverlässigkeit und Sensitivität im Vergleich zu bereits etablierten Standardmethoden. Da in erster Linie bereits zur Forschung eingefrorene Proben verwendet wurden, handelt es sich um ein retrospektives Studiendesign. Kann mittels der vorliegenden Studie verifiziert werden, dass die neuen Messmethoden in ihrer Qualität vergleichbar mit den etablierten Standardmethoden sind, kann das Vorhaben, die Geräte in Ländern mit schlechter Infrastruktur einzusetzen, weiterverfolgt werden.

Da zur Zeit nur eine Studie existiert, die eine der beiden neuen Messmethoden, den TSH-check-1 TSH-adult von Veda.Lab, verwendet, wobei das Augenmerk hierbei eher auf Patienten liegt, die eine Anti-Tuberkulose-Therapie erhalten (15), sollte eine Prüfung der beiden neuen Messmethoden TSH-check-1 TSH-Ultra und TSH-check-1 TSH-adult durchgeführt werden, bevor es zum klinischen Einsatz kommen kann.

In der ersten Hälfte der Literaturdiskussion werden die Funktionsweise und die verschiedenen Funktionsstörungen der Schilddrüse auf Basis des gegenwärtigen Wissenschaftsstandes detailliert beschrieben. Außerdem wird auf die Wirkung der Schilddrüsenhormone und die Ätiologie einer Funktionsstörung eingegangen. Aufgrund ihrer Häufigkeit und ihres Stellenwertes werden die Autoimmunthyreopathien gesondert in einem eigenen Unterkapitel diskutiert. Die zweite Hälfte der Literaturdiskussion fokussiert das Konzept der TSH-Messung und die verschiedenen hierfür eingesetzten Messmethoden. Im darauffolgenden Kapitel zu Material und Methoden werden der Studienaufbau erörtert, die beiden etablierten Standardmethoden sowie die beiden neuen schnellen Messmethoden beschrieben und die verwendeten statistischen Auswertungsverfahren dargestellt. Unter Verwendung dieser Auswertungsverfahren werden die Ergebnisse im folgenden Ergebnisteil präsentiert. In der Ergebnisdiskussion wird die Bedeutung der Ergebnisse diskutiert und mit der bereits erwähnten Studie sowie den vom Hersteller angegebenen Gütekriterien verglichen.

## 2 Literaturdiskussion

### 2.1 Thyreotroper Regelkreis

#### 2.1.1 Physiologie

Die Bildung und Freisetzung der Schilddrüsenhormone Trijodthyronin ( $T_3$ ) und Tetrajodthyronin ( $T_4$ ) steht unter der Kontrolle des thyreotropen Regelkreises (Astwood-Hoskins-Regelkreis), der aus Hypothalamus, Hypophyse und Schilddrüse besteht. Diese endokrine Achse hält die Konzentration der Schilddrüsenhormone im Plasma weitgehend konstant. Sie ist außerdem in der Lage, den Schilddrüsenhormonspiegel im Plasma an verschiedene Situationen und Anforderungen, anzupassen. (8, 16).

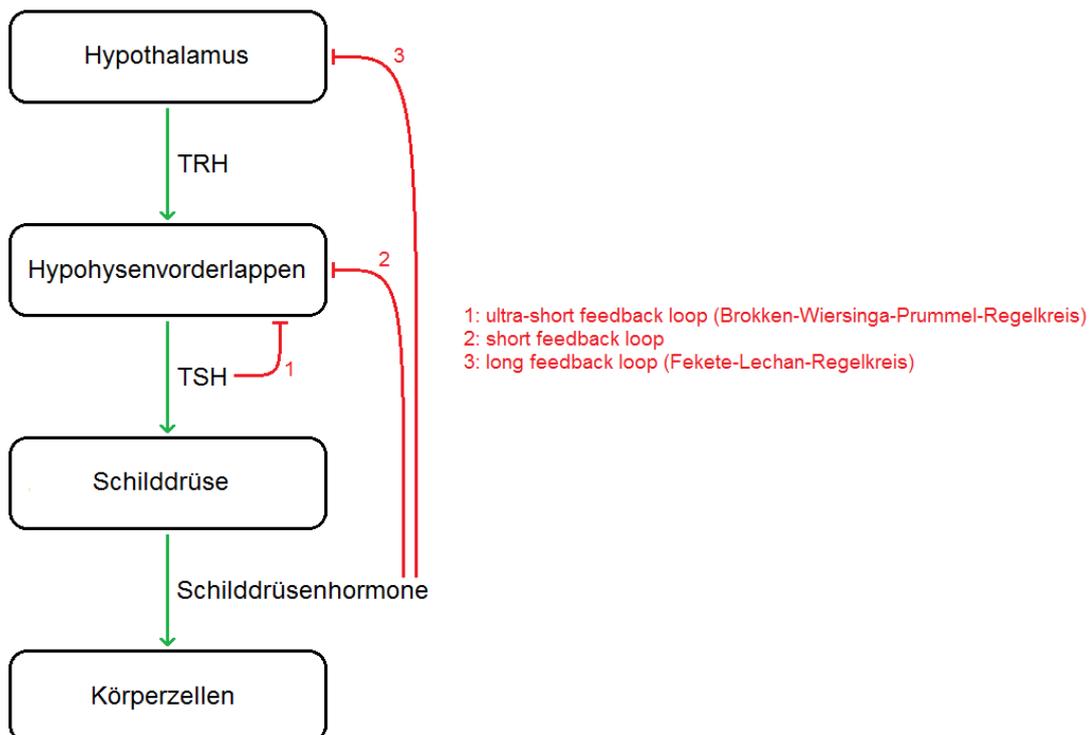


Abbildung 1: Thyreotroper Regelkreis (7, 8, 16, 17)

Das Tripeptid thyrotropin releasing hormone (TRH) gibt den Sollwert des thyreotropen Regelkreises vor (8). Es wird im Hypothalamus in Neuronen des Nucleus paraventricularis gebildet und besteht zunächst als Vorstufe (pre-pro TRH), von dem das TRH abgespalten wird. Über die media eminens wird es in das Portalsystem der Hypophyse transportiert und dort sezerniert (16). Am TRH-Gen befinden sich Bindungsstellen für Schilddrüsenhormone, die thyroid hormone response elements (TRE). Bindet ein Schilddrüsenhormon-Rezeptor-Komplex an die

TRE, wird die Transkription des TRH-Gens inhibiert (16). Daneben hemmen auch Kortikosteroide und Zytokine die TRH-Freisetzung (8). Adrenalin hingegen stimuliert über Bindung an  $\alpha$ 2-Rezeptoren die TRH-Bildung. Auf diese Weise haben Stress und Kälte einen Einfluss auf die Bildung und Sekretion von TRH (16).

Im Hypophysenvorderlappen stimuliert das TRH die Synthese und Sekretion von TSH. Außerdem stimuliert TRH die Sekretion von Prolaktin und Wachstumshormon. Das TSH wirkt wiederum auf die Schilddrüse und stimuliert dort unter anderem die Bildung und Sekretion von Schilddrüsenhormonen (16).

Es gibt mehrere negative Feedback-Mechanismen, die diesen Regelkreis steuern. Der long feedback loop (Fekete-Lechan-Regelkreis) verknüpft die Schilddrüsenhormonkonzentration im Plasma und die TRH-Freisetzung im Hypothalamus.  $T_4$  wirkt in diesem Falle hemmend auf die TRH-Freisetzung (8).  $T_3$  hemmt die TRH-Expression auf genetischer Ebene und stimuliert TRH-abbauende Enzyme (16). Der short feedback loop wirkt über  $T_4$ , das hemmend auf die TSH-Freisetzung in der Hypophyse wirkt (7, 8).  $T_3$  hemmt die TSH-Freisetzung indirekt über eine Senkung der Zahl der TRH-Rezeptoren an der Hypophysenzelle (16). Beim ultra-short feedback loop (Brokken-Wiersinga-Prummel-Regelkreis) wirkt TSH autokrin auf seine eigene Freisetzung über nicht-endokrine Zellen im Hypophysenvorderlappen. Man vermutet, dass dieser Mechanismus extrem erhöhte TSH-Werte verhindert und Einfluss auf die pulsatile Ausschüttung von TSH hat (17).

Durch die dargestellten Feedback-Mechanismen wird der thyreotrope Regelkreis also zu einem dynamischen, adaptiven System, das in der Lage ist, sich einer Krankheits- oder Mangelsituation anzupassen (8). Pathologien im thyreotropen Regelkreis sind meist durch unterbrochene feedback loops oder exogen zugefügte bzw. endogen gebildete Signalsubstanzen bedingt. Eine Unterbrechung kann es an jeder Stelle des Regelkreises geben. Man ist jedoch in der Lage über charakteristische Muster auf den Ort der Störung zu schließen (17).

## 2.1.2 Funktionszustände der Schilddrüse

### *2.1.2.1 Euthyreose*

Funktioniert die Schilddrüse normal, bezeichnet man diesen Zustand als Euthyreose (9, 18).

### 2.1.2.2 Hypothyreose

Unter einer Hypothyreose versteht man einen Mangel an Schilddrüsenhormonen oder deren ungenügende Wirkung im Körper. Im Volksmund wird sie auch als „Schilddrüsenunterfunktion“ bezeichnet. Damit einher geht eine charakteristische Symptomatik (siehe Kapitel 2.2.2) (19). Ein erhöhtes TSH und ein erniedrigtes  $fT_4$  bilden die charakteristische Laborkonstellation. Sie sagt jedoch nichts über die Ätiologie aus. Hierfür sind weitere Untersuchungen notwendig (13).

Man kann die Hypothyreose nach verschiedenen Gesichtspunkten einteilen. Unterteilt man nach dem Ort der Störung, unterscheidet man die primäre, sekundäre und tertiäre Hypothyreose. Die häufigste Form ist die primäre Hypothyreose (4). Der Regelkreis ist an der Schilddrüse teilweise oder vollständig unterbrochen (17). Ursächlich ist eine verminderte Bildung und Sekretion der Schilddrüsenhormone. Es ist also die Schilddrüse selbst betroffen (4, 19). Die Ursache kann autoimmun (z. B. Hashimoto-Thyreoiditis) oder iatrogen (z. B. Schilddrüsenoperation) bedingt sein (17). Die sekundäre bzw. tertiäre Funktionsstörung wird durch die Hypophyse bzw. den Hypothalamus verursacht und hat eine mangelhafte Stimulierung durch TSH der ansonsten gesunden Schilddrüse zur Folge. Beide Formen sind nur durch aufwendige Testverfahren zu unterscheiden und äußerst selten (4, 17, 19).

Außerdem kann man die Hypothyreosen nach ihrer Symptomatik in latent und manifest einteilen. Von einer latenten Hypothyreose spricht man, wenn das TSH im Serum erhöht ist, das  $fT_4$  allerdings noch normal ist. Der Patient hat keine bis milde Symptome. Dies ist die häufigere Variante (4, 19, 20). Ungefähr 5 % der latenten Hypothyreosen entwickeln sich pro Jahr zu manifesten Hypothyreosen. Hier ist auch das  $fT_4$  erniedrigt und der Patient hat eine deutliche Symptomatik (4). Vor allem Patienten mit einem Serum-TSH von über 6 mIU/l und hohen Antikörpern gegen die Thyreozyten-spezifische Peroxidase (TPO) sind von dieser Entwicklung betroffen (5).

Eine weitere Möglichkeit der Einteilung ist die nach dem Zeitpunkt des Auftretens. Angeborene Hypothyreosen können durch Fehlanlage der Schilddrüse, Aplasie, Ektopie, genetische Defekte der Schilddrüsenhormonbiosynthese, Organifikationsdefekte, Entwicklungsstörungen der Hypophyse und intrauterinen Jod- und Selenmangel bedingt sein (4, 19). Mädchen sind häufiger betroffen als Jungen (4). Ein niedriges Geburtsgewicht hat keinen Einfluss auf die Schilddrüsenfunktion (21). Erworbene Hypothyreosen sind deutlich häufiger (19) und

entstehen durch die autoimmune, iatrogene oder entzündliche Destruktion von Schilddrüsengewebe, ausgeprägten Jodmangel, diverse Medikamente und Systemerkrankungen (4). Auch hier tritt die Erkrankung bei Frauen häufiger auf als bei Männern. Mit steigendem Lebensalter steigt die Inzidenz (4, 19).

Von einer passageren bzw. transienten Hypothyreose spricht man bei der postpartalen Thyreoiditis, die etwa 7,5 % der Frauen im ersten Jahr nach der Entbindung betrifft (22), oder bei einer medikamentös herbeigeführten Hypothyreose. Verantwortlich hierfür ist vor allem Amiodaron (8, 23), aber auch Zytokine (24), Perchlorat (8), polyhalogenierte aromatische Kohlenwasserstoffe (8), Bisphenol A (8), Lithium (4, 8) oder ein Jodexzess (4). Auch die subakute Thyreoiditis de Quervain zählt zu den transienten Hypothyreosen. Sie geht einher mit einer schmerzhaften, entzündlich bedingten Zerstörung des Schilddrüsengewebes und heilt meist spontan wieder aus. Das TSH kann zu Beginn der Erkrankung auch erniedrigt sein (22, 25). Die Therapie der meisten Hypothyreosen besteht aus einer Substitution mit Levothyroxin (natürliches T<sub>4</sub>) (3, 4, 26).

Eine Extremform der Hypothyreose ist das Myxödemkoma (3, 27). Es tritt meist bei Patienten mit einer lange unerkannten Hypothyreose auf, nachdem ein zusätzlicher Stressfaktor (z.B. Infektion, Trauma, Operation, emotionaler Stress) aufgetreten ist. Neben den typischen Symptomen einer schweren Hypothyreose treten Hypothermie, Bewusstlosigkeit und Bradykardie auf (27).

### *2.1.2.3 Hyperthyreose*

Die Hyperthyreose geht mit einer gesteigerten Funktion der Schilddrüse einher. Schilddrüsenhormone werden vermehrt produziert und synthetisiert. Im Volksmund wird von einer „Schilddrüsenüberfunktion“ gesprochen (18).

Auch die Hyperthyreose kann man nach verschiedenen Gesichtspunkten einteilen. Teilt man nach dem Ort der Störung ein, unterscheidet man eine primäre, sekundäre und tertiäre Hyperthyreose. Die primäre Hyperthyreose hat ihre Ursache in der Schilddrüse. Diese Hypersekretion der Thyreozyten kann autoimmun (z. B. Morbus Basedow) oder durch uni- oder multifokale Autonomie bedingt sein (11). Die Ursache einer solchen Autonomie liegt in einer somatischen Mutation im TSH-Rezeptor-Gen oder im Gs<sub>α</sub>-Protein (28). Bei der sekundären Hyperthyreose liegt die Störung in der

Hypophyse. Ursachen können ein TSH-produzierendes Adenom oder eine hypophysäre Hormonresistenz, aber auch ein sehr hoher Spiegel an humanem Choriongonadotropin (HCG) in der Schwangerschaft (Gestationshyperthyreose) sein (11). Letzteres findet seine Begründung in der strukturellen Ähnlichkeit von HCG und TSH (8). Ist die TRH-Sekretion im Hypothalamus gesteigert, wird dies als tertiäre Hyperthyreose bezeichnet (18).

Nach der Symptomatik teilt man in die latente und die manifeste Hyperthyreose. Bei der latenten Hyperthyreose liegen die peripheren Schilddrüsenhormone noch im normalen Bereich, während das TSH bereits supprimiert ist (11, 20, 28). Bei der manifesten Hyperthyreose ist zusätzlich die Serumkonzentration an Schilddrüsenhormonen erhöht (13, 28). Der Patient hat Symptome. Es besteht jedoch kein linearer Zusammenhang zwischen der peripheren Schilddrüsenhormonkonzentration und der Schwere der Symptome (28). In ca. 10 % aller Fälle ist nur das T<sub>3</sub> erhöht. Man spricht von einer sogenannten T<sub>3</sub>-Hyperthyreose (13).

Zuletzt besteht die Möglichkeit der Einteilung nach der Ätiologie. Eine Ursache ist, dass vermehrt Schilddrüsenhormon aus zerstörten Thyreozyten freigesetzt wird. Beispiele hierfür sind die subakute Thyreoiditis de Quervain, (22, 25, 29), die silent thyreoiditis (28), die postpartale Thyreoiditis (11, 30), die bakterielle Thyreoiditis (28), die Strahlenthyreoditis (11) und die Amiodaron-induzierte Hyperthyreose Typ 2 (23, 29). Auch eine Therapie mit den Zytokinen, Interferon- $\gamma$ , Interleukin-2 und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  löst in manchen Fällen eine Hyperthyreose aus (24, 25). Eine weitere Möglichkeit ist, dass Schilddrüsenhormone exogen bzw. iatrogen hinzugefügt werden. Amiodaron kann durch den hohen Gehalt an Jod eine vermehrte Schilddrüsenhormonsekretion auslösen (Amiodaron-induzierte Hyperthyreose Typ 1) (8, 11, 23). Weitere mögliche Auslöser sind schilddrüsenhormonkontaminierte Nahrungsmittel (11) oder jodhaltiges Kontrastmittel (8, 28). In beiden Fällen ist eine vorgeschädigte Schilddrüse Voraussetzung. Zuletzt kann es zu einer extrathyroidalen Produktion von Schilddrüsenhormonen kommen (z.B. Karzinometastasen) (11). Zur Therapie der Hyperthyreose gibt es verschiedene Thyreostatika (26, 31).

Die Thyreotoxikose ist die Extremform der Hyperthyreose. Es handelt sich um eine seltene akute, lebensbedrohliche Dekompensation bzw. Exazerbation einer

vorbestehenden, länger nicht erkannten bzw. unbehandelten Hyperthyreose (32, 33). Typisch sind Hyperthermie, ausgeprägte zentralnervöse Symptomatik, Tachykardie und Multiorganversagen. Auslöser können ein Morbus Basedow, eine multifokale Autonomie, ein solitäres Adenom, Unterbrechung einer thyreostatischen Therapie oder die Einnahme von Jod bzw. jodhaltigen Substanzen sein (32). Es ist jedoch meist nicht allein die Wirkung der vermehrten Schilddrüsenhormone ursächlich. Zusätzliche Infektionen, emotionaler Stress, Unfälle, etc. können die Thyreotoxikose auslösen (33).

## **2.2 Schilddrüsenhormone**

### 2.2.1 TSH

TSH reguliert die Synthese der Schilddrüsenhormone und deren Wachstum. Es wird aus dem Hypophysenvorderlappen freigesetzt (34-36). Das Glykoproteinormon besteht aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Untereinheit, die nicht-kovalent verbunden sind. Die  $\beta$ -Untereinheit ist spezifisch für den TSH-Rezeptor, während die  $\alpha$ -Untereinheit auch im follikelstimulierenden Hormon (FSH), luteinisierenden Hormon (LH) und HCG vorkommt (9, 16, 17, 34). Beide Einheiten zusammen wiegen ca. 28 kDa. Die  $\alpha$ -Untereinheit besteht aus 92 Aminosäuren und besitzt zwei Oligosaccharid-Seitenketten, während die  $\beta$ -Untereinheit aus 112 Aminosäuren und einer Oligosaccharid-Seitenkette besteht. Die Gene sind auf Chromosom 6 ( $\alpha$ -Untereinheit) und 1 ( $\beta$ -Untereinheit) lokalisiert (16, 17, 34).

Die Freisetzung und die Proteinbiosynthese der beiden Untereinheiten werden durch TRH stimuliert (16, 17, 34). Durch Aktivierung der Proteinkinase A und C kommt es zur Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors Pit-1. Auch Aktivator-Protein-1 und andere Transkriptionsfaktoren werden benötigt. Hierbei werden stets mehr  $\alpha$ - als  $\beta$ -Untereinheiten gebildet (16).

Das fertige TSH bindet an einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor (17, 34-37), der an der basolateralen Zytoplasmamembran sitzt (35, 36). Das intrazelluläre heptahelikale carboxyterminale Ende besteht aus 346 Aminosäuren. Das extrazelluläre 6-fach glykosilierte aminoternale Ende besteht aus 398 Aminosäuren. Das Gen für den Rezeptor befindet sich auf Chromosom 14 (16, 36) und wird von insgesamt 10 Exons

codiert. Auf einem Thyreozyt befinden sich etwa 1000 TSH-Rezeptoren (36). Daneben wurden auch TSH-Rezeptoren auf Adipozyten, Lymphozyten, Nebennierengewebe und Hodengewebe gefunden (34).

Der Signaltransduktionsweg ist sowohl cAMP- (16, 34-36) als auch IP<sub>3</sub>-vermittelt (16, 34, 35). Die cAMP-Signalkaskade wird bei normalen TSH-Konzentrationen ausgelöst und reguliert die Sekretion und Speicherung der Schilddrüsenhormone. Die IP<sub>3</sub>-Signalkaskade wird nur bei einer TSH-Konzentration ausgelöst, die fünf bis zehn Mal höher als die normale TSH-Konzentration ist. Sie aktiviert die Synthese und Jodierung der Schilddrüsenhormone (36). Dadurch wird aus dem Schilddrüsenkolloid jodiertes Thyreoglobulin über Pinozytose in die Thyreozyten aufgenommen. Es kommt zur Freisetzung von Schilddrüsenhormonen (35).

TSH wird pulsatil freigesetzt (17, 38, 39). Die Angaben zur Häufigkeit variieren zwischen fünf und zwanzig Mal innerhalb von 24 Stunden. Die mittlere Pulsamplitude beträgt 0,6 mIU/l (17, 38, 39). Überlagert wird diese pulsatile Freisetzung von TSH von einem zirkadianen Rhythmus, bei dem nachts am meisten (4, 12, 17, 38, 39) und nachmittags am wenigsten TSH freigesetzt wird (4, 12). Innerhalb von 24 Stunden werden ca. 80 - 150 mIU TSH mit einer Plasmahalbwertszeit von 50-60 Minuten gebildet. Es gibt jedoch verschiedene Faktoren, die diese Menge beeinflussen können (8). Neben TRH stimuliert auch Noradrenalin die TSH-Sekretion (16). Somatostatin (2, 8, 16), Dopamin (8, 16, 39), Glukokortikoide (16), T<sub>3</sub> und T<sub>4</sub> (16, 34, 39) hemmen die Freisetzung. Es wurde außerdem beobachtet, dass das TSH nach langem Fasten, bei Psychiatrie-Patienten und Alkoholikern erniedrigt ist (16).

### 2.2.2 T<sub>3</sub> und T<sub>4</sub>

Die beiden Schilddrüsenhormone sind in jeder Lebensphase des Menschen essenziell. In der Embryonalentwicklung und im Kindesalter sind sie wichtig für das Wachstum und die Entwicklung des Nervensystems. Beim Erwachsenen steuern sie diverse Stoffwechsel, den Grundumsatz und die Körpertemperatur (35).

Die Schilddrüse sezerniert zu etwa 80 % T<sub>4</sub> und nur zu etwa 20 % T<sub>3</sub> (12, 40). Dies entspricht ca. 100 µg T<sub>4</sub> und ca. 30 µg T<sub>3</sub> am Tag. Der Referenzbereich für die beiden Schilddrüsenhormone variiert je nach Alter (12). Man misst hier meist das freie T<sub>3</sub> (fT<sub>3</sub>) und T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>), da die gebundene Form nicht metabolisch aktiv ist (12, 13).

Das Verhältnis von freiem zu gebundenem  $T_3$  bzw.  $T_4$  liegt bei etwa 1:100. Gesteuert wird die Schilddrüsenhormonsekretion durch TSH (14). Im Blut sind sowohl  $T_3$  als auch  $T_4$  zu 99 % an Transportproteine wie Thyroxin-bindendes Globulin (TBG) (2, 8, 12, 14, 35, 41), Thyroxin-bindendes Präalbumin (TBPA) (8, 12, 14, 35, 41), Apolipoprotein B100 (42) und Albumin (8, 14, 35, 41) gebunden. Etwa 1 % liegt in freier Form vor (2). Vor allem dank der Bindung an Transportproteine haben Schilddrüsenhormone sehr lange Halbwertszeiten von etwa einem Tag ( $T_3$ ) bzw. etwa einer Woche ( $T_4$ ) (8). Essenzielle Spurenelemente wie Eisen, Jod und Selen sind wichtig für die Wirkung der Schilddrüsenhormone. (42).

Das stoffwechsellinaktive Prohormon  $T_4$  wird in der Peripherie zum stoffwechselaktiven  $T_3$  dejodiert (4, 12, 28, 40, 41, 43). Die Dejodierung erfolgt je nach momentanem Bedarf (4). Sie reguliert so die Bereitstellung des aktiven Schilddrüsenhormons (35).

Schilddrüsenhormonrezeptoren befinden sich in allen Zellen des Körpers. Über sie wird der Stoffwechsel der Zellen gesteuert (11). Sie binden  $T_3$  mit einer hohen und  $T_4$  mit einer deutlich geringeren Affinität (41). Spezifische Transmembrantransporter transportieren die Schilddrüsenhormone in die Zelle hinein (2, 40-42). Dort passieren sie die Kernmembran und gelangen in den Zellkern, wo sich die Rezeptoren befinden (40, 44). Sie wirken entweder über genspezifische Hemmung, über die Aktivitätssteigerung von Transkriptionsfaktoren oder sie lösen verschiedene Signalkaskaden aus. Die ersten beiden Wirkungen sind sogenannte „langsame Effekte“, während letztere Wirkung deutlich schneller von statten geht (42).

Im Herz-Kreislauf-System haben Schilddrüsenhormone eine positiv chronotrope (8, 11, 19, 44), dromotrope (2, 44), lusitrope (44) und inotrope Wirkung (2, 28, 44). Außerdem steigern sie den Proteinstoffwechsel in den Kardiomyozyten und die Freisetzung von atrialem natriuretischem Peptid (44). In der Niere steigern sie die glomeruläre Filtrationsrate und bewirken eine Vasodilatation. Es wird vermehrt Natrium ( $Na^+$ ) rückresorbiert und Kalium ( $K^+$ ) ausgeschieden (28). Auch der Metabolismus sowohl der peripheren als auch der zentralen Neuronen wird durch Schilddrüsenhormone gesteuert (11). Außerdem sind sie wichtig für die Entwicklung des Gehirns (2). Im Gastrointestinaltrakt steuern sie die Peristaltik des Darms, die enterale Resorption und den Leberstoffwechsel (11). Der Grundumsatz hängt von ihnen ab (4). Knochenstoffwechsel (11), Liponeogenese und Lipolyse (42) und

Hautdurchblutung (11) werden ebenfalls durch Schilddrüsenhormone gesteuert. Sie aktivieren die Osteoblasten (2) und die Osteoklasten (2, 28), beeinflussen das Reproduktionssystem (11) und haben Einfluss auf das Sexualhormon-bindende-Globulin (SHBG) (2). Im blutbildenden System beeinflussen sie die Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und die Erythropoese (2).

Aufgrund dieser Wirkungen kann man auf die Symptomatik einer Hypothyreose bzw. Hyperthyreose schließen, welche in Tabelle 1 zusammengefasst sind.

<b>Hypothyreose</b>	<b>Hyperthyreose</b>
Gewichtszunahme (2, 4, 19, 45)	Gewichtsabnahme, starker Appetit (2, 11)
Bradykardie (2, 4, 19, 44, 45), verlängerte QT-Zeit (4, 19, 44)	Tachykardie, Herzrhythmusstörungen (2, 11, 28, 44)
Myokardinsuffizienz (2, 19)	gesteigertes Durstgefühl (2)
systolische Hypotonie und diastolische Hypertonie (4, 19)	systolische Hypertonie (2, 11, 28)
Intoleranz gegenüber Kälte (4, 19, 45)	Intoleranz gegenüber Hitze (11, 28)
Müdigkeit (4, 19, 45, 46), Lethargie (4)	Schlafstörungen (11, 28)
Konzentrationsschwäche und gestörtes Kurzzeitgedächtnis (2, 4)	Nervosität, innere Unruhe (2, 11, 28)
Depression (2, 4, 8, 19, 45, 46)	Haarausfall (2, 11, 28)
Muskelschwäche (2, 4, 45), -krämpfe (45)	Muskelschwäche (11, 28)
Obstipation (2, 4, 19, 45, 46)	häufiger Stuhldrang bis Diarrhö (2, 11, 28)
trockene und schuppige Haut (4, 19, 45, 46) und Haare (2, 19, 45)	warme und feuchte Haut (2, 11), brüchige und stumpfe Haare (2, 11) und Nägel (11)
Dysphagie (2, 4), Heiserkeit (4, 45)	Strumabildung bei 80% der Patienten (11)
Parästhesien und verlängerte Relaxationszeit der Achillessehne (4, 19)	Tremor (2, 11), Hyperreflexie (11)
Anämie (2, 19), verlängerte Blutungszeit (2)	Osteoporose (2, 11)
Hypercholesterinämie (2, 19, 44)	Pigmentstörungen (2)
Hypoventilation (4)	Juckreiz (2)
♀: Zyklusstörungen, Libidoverlust (2, 4, 19)	♀: Zyklusstörungen, Libidoverlust (2, 11), herabgesetzte Konzeptionsfähigkeit (2)
♂: Potenzstörungen, Libidoverlust (2, 4, 19)	♂: Potenzstörungen, Libidoverlust (2, 11), gelegentlich Gynäkomastie (2)
Kinder: Kleinwuchs (2, 4)	sehr selten Akropachie (2, 11)

**Tabelle 1: Symptome der Hypo- und Hyperthyreose (Quelle jeweils hinter dem Symptom)**

## 2.3 Autoimmunthyreopathien

### 2.3.1 Hashimoto-Thyreoiditis

1912 beschrieb Dr. Hakaru Hashimoto in einer deutschen Fachzeitschrift zum ersten Mal „lymphomatöse Veränderungen der Schilddrüse“ und bezeichnete sie als „Struma lymphomatosa“ (47). Heute spricht man von der Hashimoto-Thyreoiditis oder Autoimmunthyreoiditis (6, 45, 48). Es handelt sich hierbei um eine langsam fortschreitende, chronische, schmerzlose Entzündung der Schilddrüse ohne systemische Entzündungszeichen (22). Durch Schilddrüsenantikörper kommt es zu einer teilweisen oder kompletten Zerstörung des Schilddrüsenparenchyms oder zu einer Hemmung der Synthese der Schilddrüsenhormone (49). Dadurch kommt es bei Fortschreiten der Krankheit zu einer Hypothyreose (22).

Die Hashimoto-Thyreoiditis ist eine der häufigsten Autoimmunerkrankungen (45). Etwa jeder zehnte Deutsche ist betroffen (6). In Regionen mit ausreichender Jodversorgung ist sie mit ca. 20 % (50) die häufigste Ursache für eine erworbene primäre Hypothyreose (3, 4, 45, 48). Die Prävalenz steigt mit dem Alter (45). Am häufigsten tritt sie in der fünften Lebensdekade auf (45, 50). Frauen sind fünf- bis zehnmal häufiger betroffen (6, 22, 45, 50, 51).

Die genaue Ätiologie ist noch unklar. Eine familiäre Häufung liegt vor (22). Es spielen allerdings neben der genetischen Komponente auch Umweltfaktoren eine Rolle (52). Die HLA-Subtypen DR3 (6, 22, 49-51), DR4 (49, 50) und DR5 (6, 22, 49-51) sind mit einer erhöhten Inzidenz der Hashimoto-Thyreoiditis verbunden. Umweltfaktoren, die zum Auftreten der Erkrankung beitragen könnten, sind virale Infektionen (6, 22, 51), negativer Stress (6, 22, 51), Selenmangel (22), Jod in hohen Dosen (6, 22), Nikotin (49), Sexualhormone (6, 22, 45, 51) und immunstimulierende Medikamente wie Interleukin-2 und Interferon- $\alpha$  (6, 22). Sie alle aktivieren die zelluläre und humorale Immunantwort und tragen so zum Auslösen der Krankheit bei (49). Auch bei Patienten mit Vitamin-D-Mangel oder Vitamin-D-Rezeptor-Polymorphismus (22), polyzystischem Ovar-Syndrom, Turner-Syndrom und Down-Syndrom (22, 51) kommt die Hashimoto-Thyreoiditis signifikant häufiger vor.

Zur Pathogenese ist bisher bekannt, dass es sich primär um eine T-Zell-vermittelte Autoimmunreaktion handelt (6, 22), bei der es durch TPO-Antikörper zu einer

Bindung und Destruktion der Thyreozyten kommt (45). Hierbei sind sowohl zelluläre als auch humorale Mechanismen beteiligt (6). Außerdem verstärken die Antikörper sekundär die fortbestehende Autoimmunreaktion des Körpers (49) und können Funktionsstörungen verursachen (22). Man hat eine Expression des Fas-Gens entdeckt, das von gesunden Thyreozyten nicht exprimiert wird (49).

Man kann die Hashimoto-Thyreoiditis nach zwei Gesichtspunkten einteilen. Sie kann nach dem Volumen der Schilddrüse eingeteilt werden und entweder atroph oder hypertroph sein (49, 51) und nach der Stoffwechsellage eingeteilt werden in euthyreot und hypothyreot. Bei der hypothyreoten Hashimoto-Thyreoiditis kann man weiter unterteilen in latent und manifest (6, 22, 49).

Zu Beginn ist die Hashimoto-Thyreoiditis meist asymptomatisch. Bei einem akuten Beginn kann es allerdings zu einer passageren schmerzhaften Schwellung der Schilddrüse mit Hyperthyreose kommen, auf die eine kurz darauf einsetzende Hypothyreose folgt. Man spricht von einer sogenannten Hashitoxikosis (22). Die Symptome der Hypo- und Hyperthyreose sind sehr unspezifisch (siehe Kapitel 2.2.2) (50). Manifestiert sich die Erkrankung im Kindesalter, kommt es anders als im Erwachsenenalter zur Strumabildung (4, 43). Auch Wachstumsstörungen sind häufig (43). Bei Kindern gibt es die Möglichkeit einer spontanen Normalisierung, an die vor einem Therapiebeginn immer gedacht und die deshalb überprüft werden muss (43). Im Erwachsenenalter ist die Schilddrüse meist nur mäßig vergrößert (49). Sie ist derb (47, 50) und atrophiert im Verlauf durch Fibrosierung des entzündeten Gewebes (4).

Zu den Komplikationen der Erkrankung gehört in erster Linie die seltene Hashimoto-Enzephalitis, eine autoimmune Enzephalopathie, deren Pathogenese noch nicht geklärt ist. Da sie mit hohen Antikörper-Titern assoziiert ist, werden diese als Auslöser vermutet (53, 54). Weitere Komplikationen sind eine Mitralklappeninsuffizienz durch myxomatöse Degeneration (44), ein um den Faktor 2,3 erhöhtes Risiko, einen Frühabort zu erleiden (4, 55), und ein erhöhtes Risiko ein Karzinom der Schilddrüse zu entwickeln (48).

Die erste Diagnostik, die gemacht wird, um eine Hashimoto-Thyreoiditis zu diagnostizieren, ist eine Blutanalyse. Hierbei zeigen sich ein erhöhter TSH-Wert und ein erniedrigter  $fT_4$ - bzw.  $T_4$ -Wert oder bei einer latenten Hypothyreose ein erniedrigter TSH-Wert und ein normaler  $fT_4$ - bzw.  $T_4$ -Wert (45, 50). 70 - 90 % (4, 49,

50) der Patienten haben positive TPO-Antikörper (4, 45). 40 - 70 % (4, 49, 50) haben positive TG-Antikörper (4, 45). Eine sehr sensitive und für die differenzialdiagnostische Abklärung wichtige diagnostische Methode ist die Sonographie (4, 19). Hierbei zeigt sich ein für die Hashimoto-Thyreoiditis charakteristisches Bild. Die Schilddrüse ist diffus hypoechogen (4, 19, 49, 51), inhomogen (49, 50) und normal groß, atrophisch oder symmetrisch hypertroph (4, 19, 45). In der Duplex-Sonographie zeigt sich eine gesteigerte Perfusion der Schilddrüse (4, 19). In der Histologie sieht man eine lymphozytäre (4, 6, 22, 45, 47, 48, 51) und plasmazelluläre (4, 6, 22) Infiltration der Schilddrüse, dendritische Zellen (6, 22), diffus veränderte Schilddrüsenfollikel (47), parenchymale Fibrosierungen (45, 47, 48, 50), eine meist intakte Kapsel und oft einen prominenten Pyramidallappen (45).

Eine kausale Therapie der Hashimoto-Thyreoiditis ist zuweilen noch nicht möglich (22, 49, 50). Das derzeitige Ziel ist es, das Defizit an Schilddrüsenhormonen auszugleichen und somit eine Euthyreose zu erreichen (45, 49, 50). Dies erreicht man durch eine meist lebenslange orale Substitution mit L-Thyroxin (4, 45, 49, 50). Die Prognose ist bei richtiger Therapie günstig (47). Allerdings sind viele andere Autoimmunerkrankungen mit der Hashimoto-Thyreoiditis assoziiert (siehe Kapitel 2.3.4) (50).

### 2.3.2 Morbus Basedow

Beschrieben wurde die Erkrankung zum ersten Mal im 1835 vom irischen Arzt Robert James Graves (56). Die deutsche Erstbeschreibung erfolgte 1840 durch den Arzt Carl Adolph von Basedow. Er stellte den Zusammenhang zwischen den sogenannten Merseburger Trias Exophthalmus, Struma und Tachykardie fest (57). Beim Morbus Basedow, auf Englisch auch Grave's Disease, handelt es sich um eine Autoimmunerkrankung (58, 59). Ihre Prävalenz ist je nach Jodversorgung schwankend. In Gebieten mit ausreichender Versorgung liegt sie bei 0,5 - 2 % (11, 58-60). Sie ist für 50 - 80 % aller primären Hyperthyreosen verantwortlich (49, 59, 60) und damit die häufigste Ursache für eine primäre Hyperthyreose (58). Ihre Inzidenz liegt bei 40 - 60/100.000 (11). Frauen sind fünf- bis zehnmal häufiger betroffen als Männer. Die Erkrankung bricht meist zwischen dem 20. und 60. Lebensjahr aus (49, 58, 60). Wie bei der Hashimoto-Thyreoiditis geht man beim Morbus Basedow auch

von einer Kombination von genetischer Prädisposition und Umweltfaktoren aus (58, 61). Diese Umweltfaktoren sind Rauchen (11), Strahlenexposition (58, 62), die Aufnahme hoher Dosen an Jod (49), negativer Stress (58, 60, 62), Infektionen mit *Yersinia enterocolica* und Hepatitis C (58), antiretrovirale Therapie bei HIV (58), die Therapie mit dem humanen CD25-Antikörper Alemtuzumab (58) und Trisomie 21 (58). Auch postpartal ist die Prävalenz von Morbus Basedow erhöht (58, 60). Epigenetische Modifikationen spielen eine Rolle (58).

Die Pathophysiologie ist sehr komplex und noch nicht vollständig geklärt (11). Es kommt zu einer Bildung von im Blut zirkulierenden IgG-Antikörpern, die an den TSH-Rezeptor binden. Durch diese Thyreotropin-Rezeptor-Autoantikörper (TRAK) werden die Thyreozyten cAMP-vermittelt zur vermehrten Produktion von Schilddrüsenhormonen, zur Hypertrophie und zur Hyperplasie stimuliert (6, 11, 12, 17, 36, 58-60, 62).

Zu den Symptomen gehören in erster Linie neben einer diffusen Struma die klassischen Symptome einer Hyperthyreose (siehe Kapitel 2.2.2) (60, 61). Es kommt außerdem zu extrathyroidalen Manifestationen (6). Die endokrine Orbitopathie ist die häufigste und tritt fast ausschließlich beim Morbus Basedow auf (6, 11, 17, 49, 60, 61, 63, 64). Sie tritt je nach Quelle bei 30 - 70 % aller Basedow-Patienten auf (11, 60, 63). Es kommt zum charakteristischen Exophthalmus (49, 64) mit starrem Blick, Lidretraktion (49, 64), Lidschwellung (49, 64), verminderter Augenbeweglichkeit (49, 64), konjunktivaler Reizung (49, 64), periorbitalem Lidödem (49, 64), Schmerzen und Druckgefühl (64), Lichtempfindlichkeit (64), Augentränen (64) und evtl. Visusverschlechterung (49, 64). In seltenen Fällen kann es zur Erblindung kommen (65). Bei <1 - 4 % der Basedow-Patienten (11, 60) kommt es zum prätibialen Myxödem (11, 60, 61). In den seltenen Fällen, dass die Erkrankung im Kindesalter auftritt, fehlt die Augensymptomatik und auch die Struma ist weniger ausgeprägt (43). Zu Komplikationen kommt es vor allem in der Schwangerschaft. Unbehandelt kann es zu Aborten, Tot- oder Frühgeburten, untergewichtigen Säuglingen, Herzfehlern, anderen Missbildungen und zur thyreotoxischen Krise unter der Geburt kommen (49). In 33 % der Fälle (44) kommt es zu einer myxomatös degenerierten Mitralklappe, die zu einem Mitralklappenprolaps führen kann (11). Auch die Thyreotoxikose ist eine ernst zu nehmende Komplikation (59).

Bei der körperlichen Untersuchung fällt neben der Struma und den anderen Hyperthyreosesymptomen bei der Auskultation ein Rauschen über der Schilddrüse auf. Dieses Phänomen tritt nur beim Morbus Basedow auf (11). Im Labor fallen ein erniedrigtes TSH, erhöhte  $fT_3$ - und  $fT_4$ -Werte und bei 90 % (62) positive TRAK-Werte auf (60). Im Ultraschall erkennt man eine für Morbus Basedow spezifische diffuse Hypoechogenität (11, 49) und ein aufgelockertes Muster (49). In der Duplexsonographie erkennt man eine vermehrte Perfusion (11, 60). Histologisch sieht man eine follikuläre Hypertrophie und Hyperplasie (60).

Es gibt mehrere Möglichkeiten, den Morbus Basedow zu therapieren. Einen wissenschaftlichen Konsens dazu gibt es noch nicht (66). Meist wird zunächst konservativ mit einem Thyreostatikum therapiert (11, 49, 60, 66). Das Ziel ist es die Serumkonzentration der Schilddrüsenhormone und des TSH zu normalisieren (60). Ist eine euthyreote Stoffwechsellage erreicht führt man entweder die medikamentöse Therapie fort oder führt eine Radiojodtherapie oder Operation durch (11, 49, 66).

### 2.3.3 Sonstige autoimmun bedingte Formen der Thyreoiditis

Neben den beiden bekannten Autoimmunthyreopathien gibt es noch weitere, meist seltener vorkommende, autoimmun bedingte Thyreoiditiden.

Die Riedel-Thyreoiditis wurde 1896 das erste Mal von dem Chirurg Bernhard Riedel beschrieben (6, 67). Sie ist auch bekannt unter dem Namen invasive sklerosierende Thyreoiditis (22, 68). Es handelt sich hierbei um einen chronischen sklerosierenden Prozess, der die komplette Schilddrüse und deren Nachbarorgane betreffen kann (6, 22, 67, 68). Die Erkrankung ist selten und die Ätiologie ist nicht abschließend geklärt (6, 22, 24, 67-69). Es wird jedoch davon ausgegangen, dass es sich um eine IgG4-assoziierte Autoimmunerkrankung handelt (22, 67, 69, 70).

Die postpartale Thyreoiditis (PTT) ist eine transiente Sonderform der Autoimmunthyreoiditis (49). Ihre Prävalenz liegt bei 1,1 - 16,7 % (6, 22, 30, 71, 72). Typischerweise bricht sie im ersten Jahr nach der Entbindung aus (22, 30, 49, 71, 73). Zunächst kommt es zu einer Hyperthyreose, die mit einer Struma einhergehen kann. Es folgt eine Hypothyreose, die schließlich wieder in eine Euthyreose übergeht (22). Eine Assoziation mit den HLA-DR3- (71), -DR4- (49, 71) und -DR5-Antigenen liegt vor (71). Auch bei Frauen mit familiärer Disposition für Autoimmunthyreopathien

und bei Frauen mit polyglandulärer Autoimmunität kommt die PTT gehäuft vor (49). Des Weiteren wurde eine Verbindung zwischen erhöhten TPO-Antikörpern im ersten Trimenon der Schwangerschaft und dem Auftreten der PTT festgestellt (49, 71). Pathophysiologisch erklärt man die Erkrankung mit einem Rebound-Phänomen, nach der Immunsuppression während der Schwangerschaft (6, 22, 30, 71). Es kommt zu einer Zerstörung des Schilddrüsenparenchyms und zu einer passiven Freisetzung von Schilddrüsenhormonen (6, 22, 30, 49, 73). Viele Frauen sind asymptomatisch (71). Eine kausale Therapie ist nicht nötig, da die Erkrankung selbstlimitierend ist (6, 22, 30). Die Therapie erfolgt rein symptomatisch (22, 49, 71, 73, 74).

Die „silent thyreoiditis“ bzw. auf Deutsch stumme Thyreoiditis ist von der PTT pathophysiologisch nicht zu unterscheiden. Lediglich die Ätiologie ist unterschiedlich, da sie ohne Zusammenhang mit einer Schwangerschaft auftritt (6, 24, 30).

#### 2.3.4 Mono- und polyglanduläre Autoimmunität

Schilddrüsenerkrankungen treten isoliert oder im Zusammenhang mit anderen autoimmunen Erkrankungen auf. Von einer monoglandulären Autoimmunität (MGA) spricht man, wenn ein Patient an nur einer endokrinen Autoimmunerkrankung leidet (75). Von einer polyglandulären Autoimmunität (PGA) spricht man, wenn mindestens zwei endokrine Organe von Autoimmunerkrankungen betroffen sind. Zwischen dem Ausbrechen der einzelnen Autoimmunerkrankungen können mehrere Jahre liegen (49, 75). Die Erstbeschreibung der PGA erfolgte 1926 (76). Seitdem wurden verschiedene Formen beschrieben, die in Tabelle 2 zusammengefasst wurden.

MGA I	Autoimmunerkrankung, die nur ein endokrines Organ betrifft
MGA II	MGA I + weitere nicht-endokrine Autoimmunerkrankung
PGA I	M. Addison, Hypoparathyreoidismus + Candidiasis, juvenil
PGA II	M. Addison + mind. eine weitere Endokrinopathie
PGA III	Autoimmunthyreopathie + mind. eine weitere Endokrinopathie (außer M.Addison)
PGA IV	alle noch nicht genannten Kombinationen aus Endokrinopathien
IPEX	Polyendokrinopathie (Diabetes mellitus Typ 1, Autoimmunthyreopathie) + Enteropathie
NGA	nicht-endokrine Autoimmunerkrankung (nicht-glanduläre Autoimmunität)

**Tabelle 2: Übersicht autoimmune mono- und polyglanduläre Syndrome (6, 49, 75-79)**

## 2.4 TSH-Messung

### 2.4.1 Präanalytik: Einfluss- bzw. Störgrößen

Um die TSH-Konzentration bei einem Patienten bestimmen zu können, benötigt man eine Blutprobe von ihm. Die meisten TSH-Assays benötigen entweder Serum oder Plasma. Ein Sonderfall ist das Neugeborenencreening auf kongenitale Hypothyreose. Hier wird ein Blutropfen verwendet, der auf ein absorbierendes Filterpapier getropft wird (9).

Als Präanalytik bezeichnet man alle Schritte, die stattfinden, bevor eine Probe im Labor von einem Gerät gemessen wird. Hierzu zählen die Bedingungen während der Blutabnahme, die Gewinnung sowie die Beurteilung des Untersuchungsmaterials, der Transport der Blutprobe ins Labor, die Lagerungsbedingungen und eventuell notwendige Vorbereitungen der Probe. Fehler in dieser Phase sind die häufigste Ursache für zweifelhafte Ergebnisse. Es ist daher sehr wichtig, diese Phase zu standardisieren. Auch wenn die anschließende Analytik noch so gut ist, können in der Präanalytik gemachte Fehler nicht wieder gut gemacht werden (80).

Man unterscheidet Einfluss- und Störgrößen. Ihre Kenntnis ist unverzichtbar, um die Messergebnisse diagnostisch verwerten zu können (14, 80). Einflussgrößen sind Variablen, die vom Patienten abhängig sind und bereits zum Zeitpunkt der Blutentnahme (in vivo) feststehen. Sie sind oft gar nicht oder nur sehr schwer änderbar. Beispiele sind Gewicht, Alter, Geschlecht, ethnische Zugehörigkeit, eine bestehende Schwangerschaft, genetische Merkmale, die Körperzusammensetzung und die Jahreszeit. Diese Einflussgrößen müssen bei der späteren Beurteilung der Messergebnisse unbedingt bedacht werden (80). Es wurde zum Beispiel nachgewiesen, dass eine Gewichtszunahme bei Kindern zu einem Anstieg der TSH-Konzentration im Blut führt. Bei einer Gewichtsabnahme sinkt die Konzentration wieder (12, 81). Auch die ethnische Zugehörigkeit spielt bei der TSH-Konzentration eine Rolle. Bei Menschen mit dunkler Hautfarbe ist der TSH-Wert niedriger als bei Menschen mit heller Hautfarbe (12). In der Schwangerschaft ist der TSH-Wert im ersten und dritten Trimenon supprimiert (9). Beeinflussbare Einflussgrößen sind der Ernährungsstatus bzw. die Nahrungskarenz oder -aufnahme, der Abnahmezeitpunkt, die Körperlage, die Umgebungstemperatur, körperliche oder psychische Belastung, der Gesundheitszustand und der Abstand zu Medikamenteneinnahmen. An sie sollte

unbedingt bei der Planung der Blutentnahme gedacht werden (80). Bei Anorexie und langem Hungern kommt es zum Beispiel zu einer Abnahme des TSH-Wertes (9, 12). Außerdem können Ernährungsgewohnheiten des Patienten die Zusammensetzung und Viskosität der Probe verändern und so zu Fehlern bei der Messung führen (82). Auch der Abnahmezeitpunkt ist von großer Bedeutung, da die TSH-Freisetzung einer zirkadianen Rhythmik unterliegt. Den niedrigsten Wert erreicht man zwischen 10:00 Uhr und 16:00 Uhr. Er beträgt etwa 50 % des Maximalwertes, den man während der Nacht zwischen 23:00 Uhr und 04:00 Uhr erreicht. Leidet der Patient unter einer schweren Allgemeinerkrankung, so ist die TSH-Konzentration im Blut erniedrigt. Erholt sich der Patient, erholt sich auch der TSH-Wert wieder (12). Bei einer depressiven Störung sinkt die TSH-Konzentration auch (9, 12). Zudem spielen auch Hormone und Pharmaka eine wichtige Rolle. Bei einem Überschuss an Glukokortikoiden, egal ob endogen (z.B. beim Morbus Cushing) oder exogen herbeigeführt, sinkt der TSH-Wert (12, 14). Bei einem Mangel an Glukokortikoiden, steigt der TSH-Wert an (12). Dopamin (9, 12, 14), Dopaminagonisten (12), Somatostatin (12, 14), Morphin bzw. Opioide, Octreotid und viele weitere Medikamente führen zu einem Absinken des TSH-Wertes. Dopaminantagonisten, hohe Dosen an Jod („Plummer-Effekt“), Valproat, Lithium, Clomifen, Carbamazepin und weitere Medikamente lassen den TSH-Wert ansteigen. Auch nach einer Operation, einer Radiojodtherapie oder einer Änderung der Dosis an Schilddrüsenhormonen muss ein zeitlicher Abstand von vier bis sechs Wochen eingehalten werden. Es ist nämlich äußerst wichtig, dass sich die Stoffwechsellage im Equilibrium befindet (12).

Als Störgrößen bezeichnet man Faktoren, die *in vitro*, also nach der Abnahme, die Probe verändern oder die Messung stören. Beispiele sind die Blutentnahmetechnik (z.B. zu langes Stauen, falsche Reihenfolge der Röhrchen), der Ort, an dem das Blut entnommen wird (z.B. Abnahme direkt hinter einer laufenden Infusion), Antikoagulantienzusätze (z.B. Verwendung des falschen Röhrchens) und Verunreinigungen der Probe. Auch beim Transport und bei der Lagerung können Fehler entstehen. Die Temperatur und die Zeit zwischen der Blutabnahme und der Verarbeitung bzw. Messung der Probe spielen hier eine große Rolle. Auch bei der Verarbeitung der Probe vor der eigentlichen Messung können Fehler entstehen. Häufige Fehlerquellen sind das Einfrieren, die Zentrifugation, die Einhaltung der Kühl- oder Gefrierkette und das eventuell notwendige Hinzufügen von Zusätzen.

Zuletzt können auch anormale Probeneigenschaften wie Hämolyse, Ikterus, Lipämie, in-vitro-Abbau des Analyten oder interferierende Antikörper die Messung stören (80).

#### 2.4.2 Analytik: Messverfahren

Wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben, handelt es sich beim TSH um ein Glykoprotein (12). Die Standardmethoden zur Messung seiner Konzentration sind immunologische Methoden (9, 13, 83). Es wird die Immunreaktivität gemessen, die nicht von der Stoffmenge oder der biologischen Aktivität, sondern von der Glykosylierung abhängt (12). Es gibt vier Generationen an TSH-Assays. Sie unterscheiden sich anhand ihrer Sensibilität (siehe Tabelle 3).

<b>Generation</b>	<b>Sensibilität</b>
I. Generation	1 - 2 mIU/l
II. Generation	0,1 - 0,2 mIU/l
III. Generation	0,01 - 0,02 mIU/l
IV. Generation	< 0,01 mIU/l

**Tabelle 3: Sensibilität der Assay-Generationen (10, 14)**

Es wird empfohlen, nur Testverfahren ab der dritten Generation anzuwenden (9, 14).

##### *2.4.2.1 Grundlagen*

Das Grundprinzip der Immunoassays ist die Antigen-Antikörper-Reaktion (80, 83-85). Ein spezifischer Antikörper bindet mit seinem Paratop selektiv an das passende Epitop des zu bestimmenden Antigens (83, 85, 86). Dieser Antikörper muss mit einer signalgebenden Substanz, einem Marker, konjugiert sein (80, 83-85). Das Signal des Markers kann man messen und das Antigen so quantifizieren (83, 85). Häufig verwendete Marker sind Radionuklide, Enzyme, Fluoreszenzfarbstoffe/Fluorophore und Luminophore (80, 83). Je höher die Affinität eines Paratops zu seinem Epitop, desto stabiler ist die Antigen-Antikörper-Bindung. Handelt es sich jedoch um eine multivalente Bindung, das heißt, dass es nicht eine sondern mehrere Paratop-Epitop-Bindungen zwischen Antigen und Antikörper gibt, ist die Stabilität von der Avidität und nicht von der Affinität abhängig. Je höher die Inkubationstemperatur, desto schneller bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe aus (83). Die Antikörper können

hierbei entweder fixiert, z.B. an einer Mikrotiterplatte oder Beads, oder nicht-fixiert in der Lösung vorliegen (85). Des Weiteren unterscheidet man in kompetitive und nicht kompetitive Immunoassays. Wichtige Qualitätsmerkmale (siehe Kapitel 2.4.4) wie die Sensibilität und die Spezifität sind stark von den Eigenschaften der verwendeten Antikörper abhängig. Bei der Bestimmung von Hormonen wird immer öfter die Chemilumineszenz eingesetzt. Argumente hierfür sind eine hohe Sensitivität und ein großer Messbereich. Außerdem kann man sie sehr gut in automatisierten Systemen verwenden (80).

#### 2.4.2.2 Kompetitive Immunoassays

Bei den kompetitiven Immunoassays konkurrieren das unmarkierte, zu messende Antigen und ein markiertes Antigen um dasselbe Paratop eines Antikörpers (80, 83, 87). Das Lösungsvolumen mit den Antikörpern muss hierbei konstant sein, da die freien Paratope des Antikörpers der limitierende Faktor sind (83, 85). In der Regel ist die Lösung so zusammengesetzt, dass 50 % des markierten Antigens genügen, um alle Paratope der Antikörper zu besetzen (83). Hat man eine hohe Konzentration des zu messenden, unmarkierten Antigens vorliegen, wird mehr markiertes Antigen aus den Paratopen des Antikörpers verdrängt. Das Signal des Markers wird schwächer (80, 83). Das Messsignal ist also umgekehrt proportional zur vorhandenen Hormonmenge in der Probe (80, 85-87). Kompetitive Immunoassays sind vor allem für die Bestimmung kleiner Moleküle geeignet, die in hoher Konzentration vorliegen (83, 86). In den folgenden Absätzen werden die verschiedenen kompetitiven Immunoassays beschrieben.

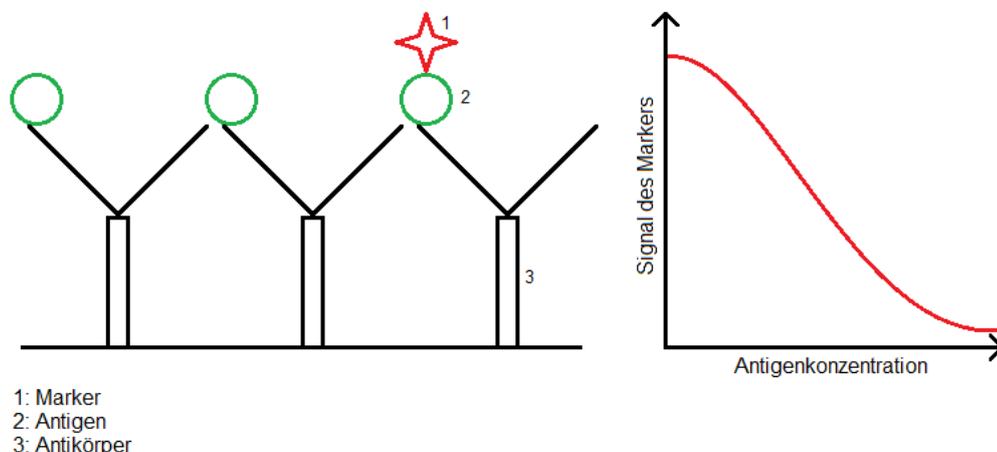


Abbildung 2: Darstellung eines kompetitiven Immunoassays und typische Standardkurve (83)

Der Radioimmunoassay (RIA) ist der älteste Immunoassay (80, 83). Das zugrunde liegende Prinzip wurde in den 1950er und 1960er Jahren von R. S. Yalow und S. A. Berson zufällig entdeckt (83, 88, 89). Heute findet er in der Routine-Analytik nur noch selten Anwendung (80, 83). Das Antigen, das mit dem zu messenden Antigen konkurriert, ist bei dieser Methode mit einem radioaktiven Tracer markiert. Meist werden die  $\gamma$ -Strahler  $^{125}\text{I}$  (80, 83, 84) oder Tritium ( $^3\text{H}$ ) verwendet (83). Eher selten zum Einsatz kommen die  $\gamma$ -Strahler  $^{131}\text{I}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{59}\text{Fe}$  und  $^{75}\text{Se}$  und die  $\beta$ -Strahler  $^{32}\text{P}$ ,  $^{14}\text{C}$  und  $^{35}\text{S}$ . In der Regel beträgt die Markierungsdichte ein Radionuklid pro Antigenmolekül. Diese Dichte ist ausreichend hoch, sodass der Tracer nicht durch Radiolyse vernichtet wird (83). Als nächstes müssen die gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe von den freien markierten und unmarkierten Antigenen getrennt werden. Hierfür gibt es mehrere Methoden. Freie Moleküle können durch Adsorption entfernt werden. Dies funktioniert mit Dextran-umhüllter Aktivkohle, Talkumpulver oder gleichartigen Silikaten und Ionenaustauschergel. Für Peptidhormone wie TSH verwendet man in der Regel Silikate. Eine weitere Methode ist die Festphasentrennung. Die Antikörper sind adsorptiv oder kovalent an einer festen Phase wie dem Reaktionsgefäß oder einem magnetischen Gel fixiert. Nach der Antigen-Antikörper-Reaktion bleiben die freien Antigene im Überstand, während die Antigen-Antikörper-Komplexe am Reaktionsgefäß bleiben. Beim magnetischen Gel stellt man das Reaktionsgefäß auf einen Magnetständer und saugt den Überstand ab. Die Antigen-Antikörper-Komplexe bleiben mit dem magnetischen Gel am Boden des Reaktionsgefäßes. Auch eine Trennung über Elektrophorese oder Gelfiltration ist möglich, allerdings häufig zu aufwendig (83). Nun muss die Radioaktivität gemessen werden. Hierfür benötigt man einen Szintillationszähler. Wenn radioaktive Energie frei wird, wird diese in Photonen umgewandelt. Ein Fotomultiplier erkennt die Signale der Photonen und verstärkt diese zusätzlich. Je höher die bei dem nuklearen Verfall frei werdende Energie, desto höher ist die gemessene Lichtintensität bzw. je mehr nukleare Zerfälle stattfinden, desto höher ist die Anzahl der Photonen. Das gemessene Signal ist also proportional zur Radioaktivität. Hat man einen  $\gamma$ -Strahler als Tracer verwendet, benötigt man einen festen Natriumiodid-Kristall als Szintillator. Hat man einen  $\beta$ -Strahler als Tracer verwendet, benötigt man ein Flüssigkeits-Szintillationsmessgerät. Es enthält eine Mischung aus organischen Lösungsmitteln, einem Emulgator und einem Fluorophor (83). Mit Hilfe einer Kalibrierkurve kann nun bestimmt werden, wie viel zu messendes, unmarkiertes Antigen in der Probe

vorhanden ist. Die gemessene Radioaktivität ist antiproportional zur gesuchten Antigenkonzentration (80).

Der Enzymimmunoassay (EIA) verwendet als Marker keinen radioaktiven Tracer, sondern ein Enzym (80, 83). Zunächst wird ein für das zu messende Antigen spezifischer Antikörper adsorptiv an eine Mikrotiterplatte gebunden, der Messansatz wird gewaschen und freie Proteinbindungsstellen werden abgeblockt (83). Ein genauerer Ablauf dieses Prozederes ist im Kapitel 2.4.2.3 bei der Beschreibung des ELISAs zu finden. Dann werden die Proben mit den zu messenden, unmarkierten Antigenen und die mit einem Enzym markierten Konkurrenz-Antigene hinzugefügt. Die bei dieser Methode am häufigsten verwendeten Enzyme sind die Meerrettich-Peroxidase (HRP), die Alkalische Phosphatase, die  $\beta$ -Galaktosidase oder die Glucoseoxidase (83). Es wird ein Chromogen hinzugefügt, das von dem Enzym umgesetzt wird. Dabei entsteht ein Farbumschlag, den man fotometrisch bei der entsprechenden Wellenlänge messen kann (80, 83). Um den gemessenen Farbumschlag zu quantifizieren, wird eine Kalibration mit einer bekannten Antigenkonzentration vorgenommen. Da es sich um einen kompetitiven Assay handelt, ist der gemessene Farbumschlag antiproportional zur gesuchten Antigenkonzentration (80).

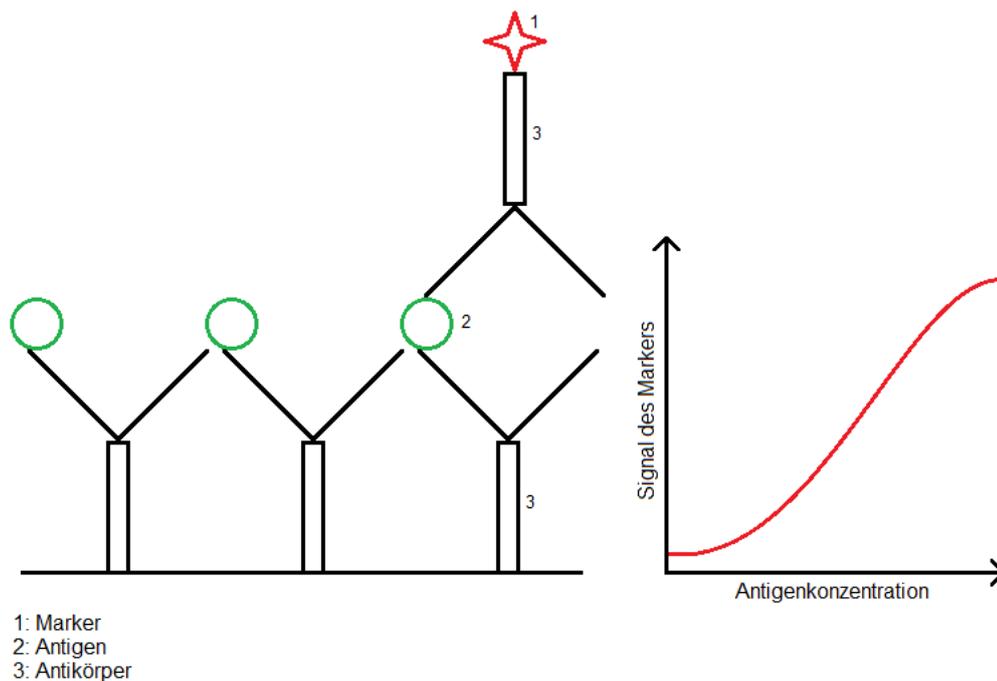
Das Prinzip des Chemilumineszenzimmunoassays (CLIA) ist das Gleiche wie beim RIA und beim EIA. Der verwendete Marker für den Antikörper ist in diesem Fall ein Luminophor. Es findet eine chemische Reaktion statt, bei der ein Molekül angeregt wird. Kehrt es in seinen Grundzustand zurück wird Energie als Licht emittiert. Dieses Licht wird gemessen. Bei einer abgewandelten Variante, ist ein Enzym an den Antikörper gebunden, das eine Substanz in eine chemilumineszierende Substanz umwandelt. Meist wird Luminol verwendet, das durch die HRP zu Aminophthalat umgesetzt wird. Weitere verwendete Substanzen sind Acridiumester und Dioxethane (80).

Auch der Fluoreszenzimmunoassay (FIA) funktioniert nach dem gleichen Prinzip wie die drei schon genannten Verfahren. Der Marker ist ein Fluoreszenzfarbstoff. Die am häufigsten verwendeten Substanzen sind Fluoresceinisothiocyanat, Allophycocyanin, Phycoerythrin und Cyan-Farbstoffe (83). Nachdem der Fluorophor durch Licht einer spezifischen Wellenlänge angeregt wurde, setzt es Fluoreszenzlicht frei, das eine für den Fluorophor spezifische Wellenlänge hat (83, 87). Mit Hilfe von Filtern und

Photodetektoren kann man dieses Fluoreszenzlicht messen (83). Dieser Assay hat gleich zwei Vorteile. Es ist einfacher, einen Antikörper mit einem Fluoreszenzfarbstoff zu konjugieren als mit einem Enzym (87). Außerdem hat diese Methode eine sehr hohe Sensitivität. Dies ist darin begründet, dass von Lanthaniden emittierte Fluoreszenzsignale länger anhalten als das Hintergrundfluoreszenzsignal der Röhren oder der Probenmatrix. Misst man das Fluoreszenzsignal also zeitlich verzögert, blendet man so das Hintergrundfluoreszenzsignal aus. Man bezeichnet dieses Prinzip als zeitaufgelöste Fluoreszenz bzw. time resolved fluorescence (80). Der Nachteil dieses Assays, sind die hohen Anschaffungskosten des Photodetektors (87).

#### *2.4.2.3 Nicht-kompetitive Immunoassays/Sandwich-Assays*

Beim Sandwich-Assay hat man einen an einer Mikrotiterplatte oder an Beads fixierten Antikörper, der möglichst spezifisch das zu messende Antigen bindet und im Überschuss vorhanden ist. Er wird auch als Fang-Antikörper bezeichnet (80, 83, 87). Im nächsten Schritt wird die Lösung gewaschen. Nicht an den Fang-Antikörper gebundene Substanzen werden entfernt (83). Als nächstes wird ein markierter Antikörper zur Lösung hinzugegeben. Auch dieser sogenannte Detektions-Antikörper bindet spezifisch an das zu messende Antigen (80, 83, 87). Hierbei ist wichtig, dass der Detektions-Antikörper an ein anderes Epitop des Antigens als der Fang-Antikörper bindet (83). Dieses Mal ist das gemessene Signal proportional zur Hormonmenge in der Probe (80, 87). Ist wenig Hormon in der Probe, ist das Signal schwach, ist viel Hormon in der Probe, ist es stark (80, 83, 87). Sandwich-Assays sind vor allem für größere Moleküle geeignet. Kleine Moleküle sind meist nicht messbar, da für den Sandwich-Assay zwei Epitope benötigt werden, die weit genug voneinander entfernt liegen müssen, dass sowohl Fang- als auch Detektions-Antikörper binden können, ohne sich gegenseitig zu behindern (83, 86). Der Vorteil der Sandwich-Assays liegt vor allem in der hohen Sensitivität. Auch sehr niedrige Antigenkonzentrationen können gemessen werden (83). In den folgenden Absätzen werden die verschiedenen Sandwich-Assays genauer beschrieben.



**Abbildung 3: Darstellung eines Sandwich-Assays und typische Standardkurve (83)**

Beim immunradiometrischen Assay (IRMA) ist der Detektions-Antikörper wie beim RIA mit einem radioaktiven Tracer markiert. Es wird also auch hier nach Ablauf der Reaktionsschritte, die beim ELISA näher beschrieben werden, die Radioaktivität gemessen. Sie ist proportional zur Konzentration des gesuchten Antigens (80).

Der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ist der am häufigsten verwendete quantitative Immunoassay (83). Er wurde zum ersten Mal 1971 parallel von den Franzosen Avrameas und Guilbert (90) und den Schweden Engvall und Perlmann (91) beschrieben (83). Hier wird ein Enzym als Marker verwendet und anschließend der Substratumsatz gemessen (83-87). Der erste Schritt ist das sogenannte Coaten. So wird das Binden des für das zu messende Antigen spezifischen Antikörpers an eine feste Phase, meist eine 96-Well-Mikrotiterplatte, bezeichnet (80, 83, 86, 87). Diese besteht in der Regel aus Polystyrol (83, 87), sodass der Antikörper über Adsorption an die Platte bindet (83). Da diese Bindung relativ pH-unabhängig ist, ist es gleich, ob man das Coaten in Natriumcarbonat-Puffer (pH = 9,6) oder in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) (pH = 7,4) durchführt. In der Regel gibt man je 50-200 µl Puffer mit Antikörper in eine Auslassung der 96-Well-Mikrotiterplatte und lässt das Ganze 10 - 18 Stunden bei 2 - 8 °C inkubieren (83). Eine weitere Methode des Coatens ist die Aktivierung der Mikrotiterplattenoberfläche durch eine photochemische Reaktion. Dadurch erhält man eine kovalente Bindung der Antikörper an die Platte (83, 92). Bevor man zum nächsten Schritt übergeht, muss

der Messansatz mit PBS, PBS plus Detergenz, Saline oder Leitungswasser gewaschen werden (83). Als nächstes müssen freie Proteinbindestellen abgeblockt werden, um das Hintergrundsignal zu minimieren (83, 87). Hierfür kann man Casein (82, 83, 87), fetales Kälberserum (82, 83), Rinderserumalbumin (82, 83, 87) oder Gelatine verwenden (83, 87). Nun kann die Probe mit dem zu messenden Antigen hinzugegeben werden. Die Antigene binden an die Fang-Antikörper, der Messansatz wird erneut inkubiert und gewaschen und die mit Enzym markierten Detektions-Antikörper werden hinzugefügt und es wird wieder inkubiert und gewaschen (80, 87). Das Enzym kann zum Beispiel über Biotin und Avidin an den Detektions-Antikörper gebunden werden. Der Detektions-Antikörper wird biotinyliert, während das Enzym an Avidin gebunden ist. Avidin und Biotin binden aneinander (87). Bei dem verwendeten Enzym handelt es sich wie beim EIA um die HRP, die Alkalische Phosphatase, die  $\beta$ -Galaktosidase oder die Glucoseoxidase (83). Auch hier wird ein Chromogen hinzugefügt, das vom Enzym umgesetzt wird. Dabei kommt es zu einem Farbumschlag, den man photometrisch messen kann und mit Hilfe einer Kalibrierkurve quantifiziert (80, 86). Der gemessene Substratumsatz ist proportional zur gesuchten Antigenkonzentration (84, 86). Will man einen Antikörper bestimmen, setzt man das indirekte ELISA ein, bei dem nicht der Antikörper, sondern das Antigen an der Mikrotiterplatte fixiert ist (80). Eine leicht abgewandelte Form des ELISA ist der Enzyme-linked Immunospot-Assay (ELISPOT-Assay). Er wird verwendet, um einzelne Zellen in einer Zellpopulation zu ausfindig zu machen, die ein bestimmtes Antigen oder einen bestimmten Antikörper freisetzen (83). Auf die Funktionsweise wird nicht näher eingegangen, da es sich hierbei um keine Methode zur TSH-Messung handelt. Die Methode soll nur der Vollständigkeit halber erwähnt werden.

Wie beim CLIA ist auch beim immunchemiluminometrischen Assay (ICMA) die Chemilumineszenz die zugrunde liegende Funktionsweise dieses Sandwich-Assays. Auch hier ist der Detektions-Antikörper entweder mit einem Luminophor oder mit einem Enzym, das eine Substanz in eine chemilumineszierende Substanz umwandelt, verbunden (80). Der immunfluorometrische Assay (IFMA) funktioniert wie der FIA als Sandwich-Assay. Die zugrunde liegenden Prinzipien sind die gleichen. Der Detektions-Antikörper ist mit einem Fluoreszenzfarbstoff konjugiert (80). Auch chromatographische Methoden kommen zum Einsatz. Sie sind allerdings deutlich

komplizierter und aufwendiger, weshalb sie nur bei speziellen Fragestellungen angewandt werden (80).

Die heutzutage am häufigsten verwendeten Immunoassays zur Hormonbestimmung basieren auf dem Sandwich-Prinzip (14). Die Chemilumineszenz ist hierbei das führende Verfahren (80).

#### 2.4.3 Postanalytik: Befundung und Beurteilung

Laborergebnisse können nur im Zusammenhang mit der Klinik des Patienten und dessen Krankheitsgeschichte interpretiert werden (8, 9). Um die Laborwerte evaluieren zu können, braucht man Vergleichswerte, an denen man sich orientieren kann. Der Zielwert eines Laborparameters ist der therapeutische Idealwert. Bei diesem Wert ist kein Risiko für den Patienten zu erwarten. Würde man nur diesen einen Wert als „gesund“ gelten lassen, wäre jedoch der Großteil der Patienten per Definition „krank“. Deshalb gibt es den Referenzbereich. Um ihn zu bestimmen, hat man den Mittelwert des labormedizinischen Parameters einer Referenzpopulation ermittelt. Addiert bzw. subtrahiert man zwei Standardabweichungen, erhält man den Referenzbereich (18).

Typischerweise liegt der Referenzbereich für TSH zwischen 0,3 - 0,4 und 4 - 4,5 mIU/l (7, 12, 13). Ein echter Gauß-verteilter Normbereich würde jedoch bei 0,4 - 2,5 mIU/l liegen (13). Viele Experten fordern, den oberen Grenzwert auf 2,5 mIU/l herabzusetzen, da man mit einem TSH-Wert in dem Bereich von 2,5 - 4,5 mIU/l ein erhöhtes Risiko hat, eine manifeste Hypothyreose zu entwickeln (7, 17). Allerdings gibt es in diesem oberen Referenzbereich eine starke Überlappung von Schilddrüsengesunden und -kranken (12). Führt man einen oberen Grenzwert von 2,5 mIU/l ein, würde dies zu einer größeren Anzahl an falsch positiven Ergebnissen und damit zu einer Erhöhung der Gesundheitsausgaben führen (7, 17).

Auch für Referenzbereiche gibt es Qualitätsmerkmale. Ein Referenzbereich sollte in großen bevölkerungsbasierten Studien an einer großen Anzahl von gesunden Probanden bestimmt worden sein (80). Diese Probanden dürfen keine nachweisbaren Schilddrüsenautoantikörper haben, in der Familie darf es keine Thyreopathien geben, sie dürfen keine Struma haben und keine Medikamente einnehmen (9). Außerdem ist wichtig zu wissen, dass es für jeden TSH-Assay einen

eigens bestimmten Assay-spezifischen Referenzbereich gibt (14, 80). Der gemessene Unterschied im TSH-Wert zwischen zwei verschiedenen Assays kann bis zu 1 mIU/l betragen (9). Desweiteren besitzt jeder Patient einen individuellen Normwert (12). Deshalb sollte man die oberen und unteren Grenzwerte des Referenzbereichs nicht mit Ziel- oder Cut-off-Werten für Therapieentscheidungen gleichsetzen. Grenzbefunde sollten immer durch wiederholte Messungen überprüft werden (14).

#### 2.4.4 Qualitätsmerkmale

Medizinische Labore sind dazu verpflichtet, eine Qualitätssicherung durchzuführen (80). Die Qualitätssicherung wird durchgeführt, um sicher zu gehen, dass fachliche Standards bekannt sind und eingehalten werden. Man führt Qualitätskontrollen durch, bei denen man die Qualitätsmerkmale eines Messverfahrens kontrolliert (18). Zu den Qualitätsmerkmalen zählen die Sensibilität und die Spezifität, die Validität, die Präzision, die Linearität, die untere Nachweisgrenze, der Messbereich und die Robustheit eines Messverfahrens (93).

Unter der Sensibilität (Sensitivität) versteht man die Eignung eines Messverfahrens eng beieinander liegende Messwerte voneinander zu differenzieren (93). Davon zu unterscheiden ist die diagnostische Sensibilität. Diese bezeichnet die Kompetenz eines Messverfahrens, ein vorher bestimmtes Merkmal als richtig-positiv zu erkennen (18, 93, 94). In der Medizin bedeutet dies, dass ein diagnostisches Messverfahren in der Lage ist, zuverlässig an einer bestimmten Krankheit leidende Patienten als krank zu erkennen (18, 94). In der TSH-Messung gibt die Sensitivität nur an, wie gut eine TSH-Messmethode in der Lage ist, hyperthyreote Patienten von euthyreoten Patienten zu unterscheiden (9). Die Spezifität ist die Fähigkeit eines Messverfahrens, nur das gefragte Antigen zu erkennen (93, 95). Davon abzugrenzen ist die diagnostische Spezifität. Hierbei handelt es sich um die Fähigkeit, ein vorher bestimmtes Merkmal als richtig-negativ zu erkennen (18, 94). Medizinisch ausgedrückt ist die diagnostische Spezifität also die Fähigkeit eines Messverfahrens, nicht an einer bestimmten Krankheit leidende Patienten als gesund zu erkennen. Die Validität bzw. Richtigkeit eines Messverfahrens ist davon abhängig, wie nah die Ergebnisse des Messverfahrens dem „wahren“ Wert sind. Je valider ein Messverfahren ist, desto größer ist die Kongruenz zwischen dem erwarteten,

„wahren“ Wert einer Messung und dem Messergebnis des zu testenden Verfahrens (80, 93, 94). Die Präzision beschreibt die Genauigkeit bzw. Zuverlässigkeit eines Messverfahrens. Man bestimmt die Intra-Assay- und die Inter-Assay-Varianz. Die Intra-Assay-Varianz beschreibt die Volatilität eines Messwertes innerhalb einer Messserie. Die Inter-Assay-Varianz beschreibt die Volatilität eines Messwertes von Messserie zu Messserie (80, 93, 95). Außerdem existiert die Vergleichspräzision, das heißt die Varianz von Labor zu Labor (93). Grob gesagt handelt es sich also um die Kongruenz zwischen wiederholten Messungen (80, 93, 94). Mit Linearität ist gemeint, dass es eine lineare Beziehung zwischen dem Messsignal und der TSH-Konzentration in einem bestimmten Konzentrationsbereich gibt (9, 93). Bei der unteren Nachweisgrenze unterscheidet man in „limit of detection“ (LoD) und „limit of quantitation“ (LoQ) (80). Das LoD beschreibt den ersten statistischen Wert, den man sicher vom Hintergrundrauschen, also dem Signal des Nullwertes, differenzieren kann (80, 83, 93). Dieser Wert muss nicht quantifizierbar sein (93). Das LoQ beschreibt den niedrigsten mit einer sinnvollen Genauigkeit noch quantifizierbaren Wert (80, 93). Der Messbereich ist der Bereich zwischen dem kleinsten und größten Messwert, der mit einer hohen Validität und Präzision gemessen wurde (93). Mit der Robustheit eines Assays ist die Toleranz gegenüber Abweichungen im Testablauf bzw. in den Testbedingungen gemeint. Wird das Messergebnis nicht oder nur geringfügig verfälscht, wenn man zum Beispiel die Temperatur ändert, ist die Messmethode robust (93).

Der oben erwähnte sogenannte „wahre“ Wert wird in der Regel mit einer Referenzmethode bestimmt. Hierbei handelt es sich um Messverfahren, die genau überprüft wurden. Aufgrund ihrer Validität und ihrer Präzision wurden sie als geeignet befunden, um als Referenz für andere Messverfahren zu dienen. Im Fall der TSH-Messung hat man eine sogenannte „Standardpräparation“, deren Hormongehalt man mit der zu untersuchenden Messmethode bestimmt. Solche Referenzpräparate sind ausgesprochen wichtig, werden jedoch meist nur in wenigen einzelnen Kompetenzzentren vorgehalten (80).

Speziell für TSH-Assays sind außerdem die in Tabelle 4 aufgezählten Qualitätskriterien festgelegt.

1. Die niedrigste TSH-Konzentration sollte bei einem Variabilitätskoeffizienten von  $\leq 20\%$  bei 0,1 mIU/l liegen. Bei einer Messung der von der WHO oder vom Medical Research Council festgelegten Standards, darf die Abweichung vom erwarteten Wert nicht mehr als 5% betragen.

2. Bis zu einer TSH-Konzentration von 300 mIU/l darf es nicht zum sogenannten High-Dose-Hook-Effekt kommen.

3. Die Standardkurve und eine Verdünnungskurve der Patientenserien müssen parallel zueinander verlaufen. Eine Abweichung von  $\pm 10\%$  ist erlaubt.

4. Eine Kreuzreaktion mit den anderen Glykoproteinen wie zum Beispiel HCG, FSH und LH sollte unter 0,01 % liegen.

5. Auch im Bereich von niedrigen TSH-Konzentrationen sollte der TSH-Assay zuverlässige Ergebnisse liefern, sodass euthyreote und hyperthyreote Patienten voneinander unterschieden werden können. Die Überlappung sollte unter 1 % liegen.

**Tabelle 4: Qualitätskriterien für TSH-Assays (13)**

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign**

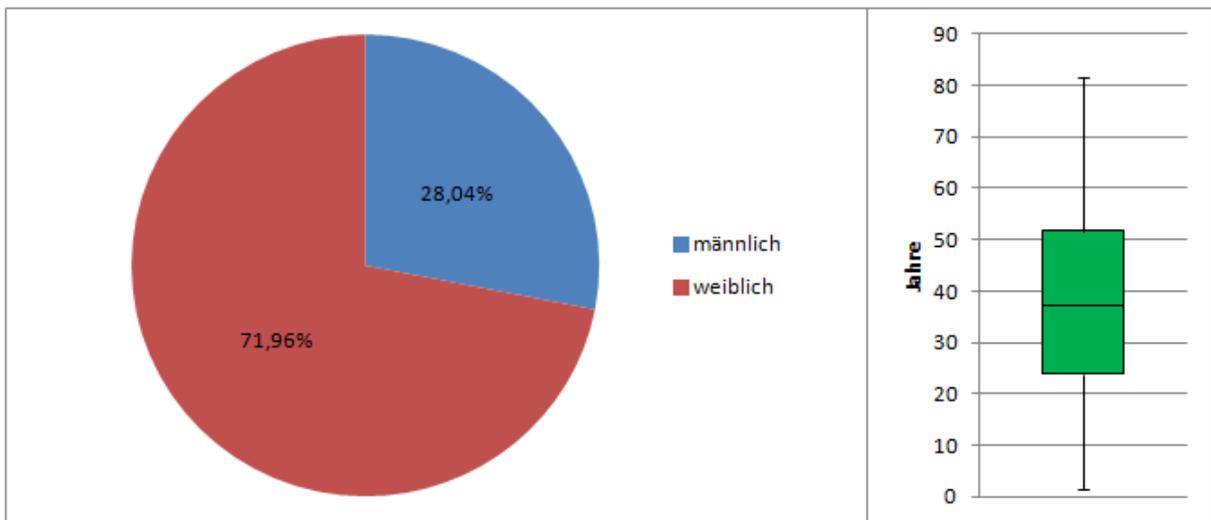
230 Proben von Patienten mit Schilddrüsenerkrankungen und 91 Proben von gesunden Probanden wurden mit den zwei Schnelltests TSH-check-1 TSH-Ultra und TSH-check-1 TSH-adult der französischen Firma Veda.Lab gemessen. Außerdem wurden die Proben mit zwei etablierten Standardmethoden, dem Architect TSH assay i 2000SR der Firma Abbott und dem Cobas e411 der Firma Roche, gemessen. Da die Proben hierfür von Patienten aus den Jahren 2002 bis 2016 stammen, handelt es sich um eine retrospektive Studie.

Zusätzlich wurde die Präzision der Geräte ermittelt. Dies geschah mit Hilfe von Intra- und Inter-Assay-Variabilitätsbestimmungen. Hierfür wurden neben fünf der schon in der Studie eingeschlossenen retrospektiven Proben auch sechs frische Proben verwendet. Alle Messungen wurden standardmäßig mit Serum-Proben durchgeführt. Da die Geräte mit verschiedenen Probenarten (Serum, Plasma, Vollblut) verwendet werden können, wurde zusätzlich verglichen, ob die Qualität der Ergebnisse mit unterschiedlichen Probenarten übereinstimmt. Hierfür wurden die sechs frischen Proben der Variabilitätsbestimmungen und fünf weitere frische Proben verwendet.

### **3.2 Untersuchungskollektiv**

#### 3.2.1 Gesamtkollektiv TSH-Messung

Das untersuchte Probenkollektiv umfasst 321 Proben. Das mediane Alter bei der Probenentnahme lag bei 37,17 Jahren mit einer 25. Perzentile von 23,89 Jahren und einer 75. Perzentile von 51,75 Jahren. Die Proben stammen teilweise von denselben Patienten. 231 Proben (71,96 %) stammen von Frauen und 90 Proben (28,04 %) stammen von Männern.

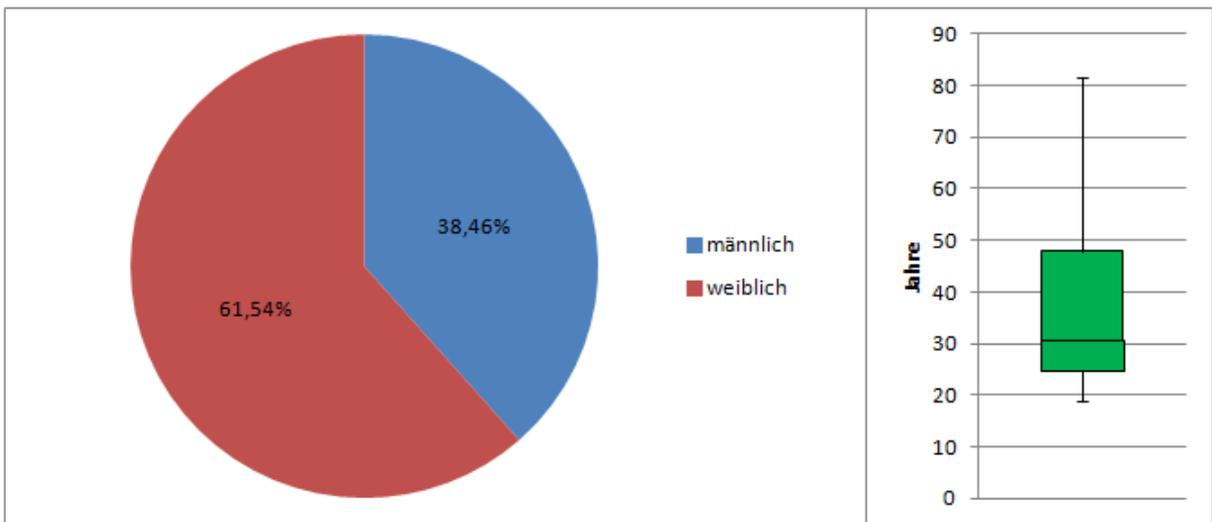


**Abbildung 4: Geschlechts- und Altersverteilung Gesamtkollektiv**

Die Proben stammen von Patienten der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz. Aufgrund der anonymen Analyse der Daten und dem Gebrauch von Überschussmaterial von Blutproben der Routinediagnostik war keine weitere Genehmigung des medizinischen Ethik-Komitees erforderlich. Die Patienten, im Falle Minderjähriger deren Erziehungsberechtigte, hatten zuvor in Übereinstimmung mit dem Ethik-Komitee Rheinland-Pfalz der wissenschaftlichen Verwendung des Überschussmaterials zugestimmt.

### 3.2.1.1 Gesundes Kontrollkollektiv

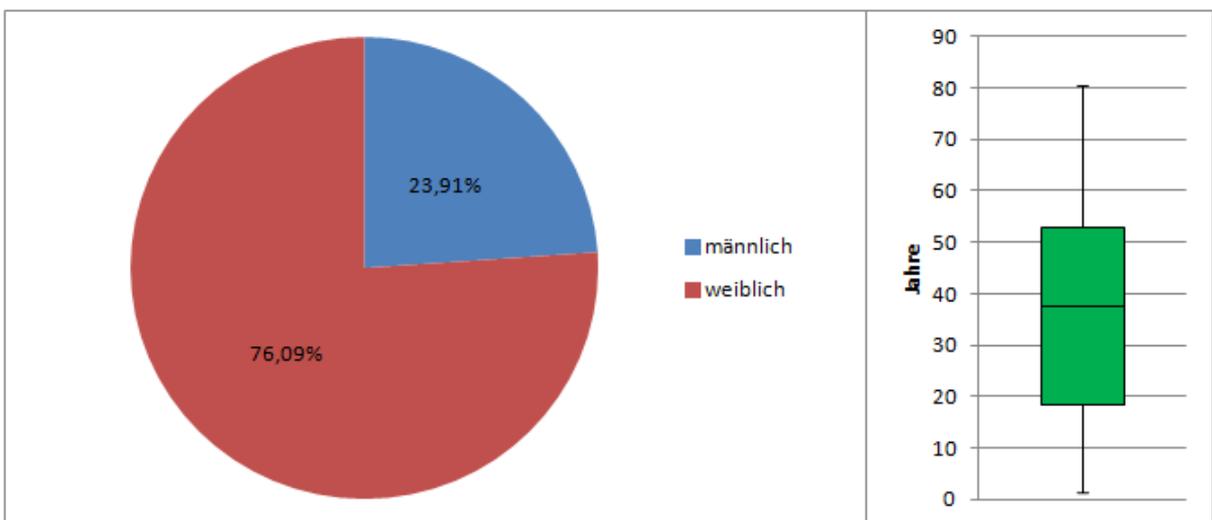
Es wurden 91 Proben von gesunden Patienten zur Kontrolle verwendet. Es handelt sich hierbei um freiwillige, zufällig ausgewählte Patienten aller Altersgruppen und beider Geschlechter, bei denen zum Zeitpunkt der Probenentnahme keinerlei Erkrankung der Schilddrüse nachgewiesen werden konnte. Das mediane Alter der Patienten bei der Probenentnahme lag bei 30,60 Jahren mit einer 25. Perzentile von 24,83 Jahren und einer 75. Perzentile von 47,87 Jahren. 56 Proben (61,54 %) stammen von Frauen und 35 Proben (38,46 %) stammen von Männern.



**Abbildung 5: Geschlechts- und Altersverteilung gesundes Kontrollkollektiv**

### 3.2.1.2 Erkranktes Probenkollektiv

230 Proben stammen von erkrankten Patienten. Bei ihnen lag der Altersmedian bei 37,60 Jahren mit einer 25. Perzentile von 18,45 Jahren und einer 75. Perzentile von 52,87 Jahren. 175 Proben (76,09 %) stammen von Frauen und 55 Proben (23,91 %) stammen von Männern.

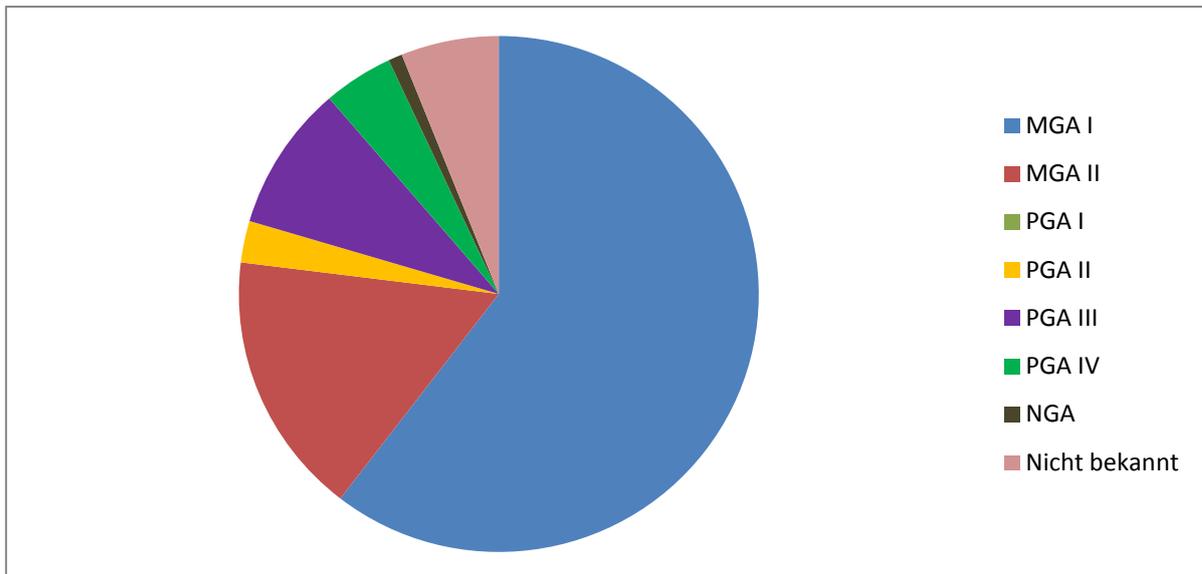


**Abbildung 6: Geschlechts- und Altersverteilung erkranktes Patientenkollektiv**

Die Krankheitsverteilung der mono- und polyglandulären Autoimmunität ist in Tabelle 5 zusammengefasst.

<b>MGA I</b>	139	<b>PGA III</b>	21
<b>MGA II</b>	38	<b>PGA IV</b>	10
<b>PGA I</b>	0	<b>NGA</b>	2
<b>PGA II</b>	6	<b>Nicht bekannt</b>	14

**Tabelle 5: Verteilung der mono- und polyglandulären Autoimmunität im erkrankten Probenkollektiv**

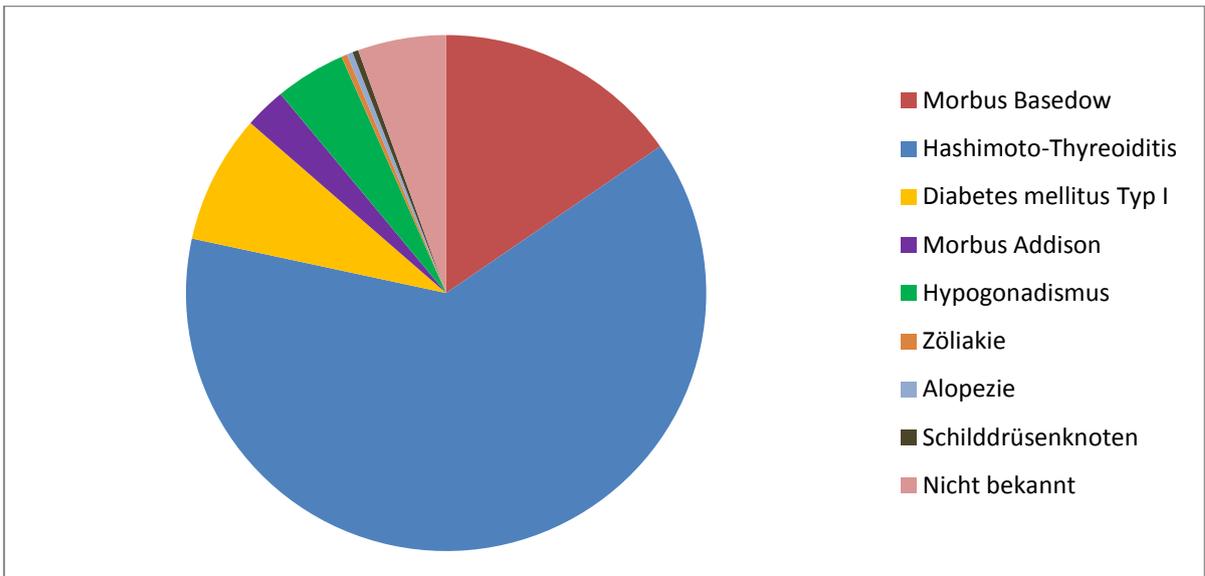


**Abbildung 7: Verteilung der mono- und polyglandulären Autoimmunität im erkrankten Probenkollektiv**

Die Verteilung der für die mono- und polyglandulären Autoimmunität charakteristischen Erkrankungen ist in Tabelle 6 aufgeführt. Da Patienten unter mehreren dieser Erkrankungen leiden können, sind Mehrfachnennungen möglich.

<b>Morbus Basedow</b>	42	<b>Zöliakie</b>	1
<b>Hashimoto-Thyreoiditis</b>	172	<b>Alopezie</b>	1
<b>Diabetes mellitus Typ I</b>	22	<b>Schilddrüsenknoten</b>	1
<b>Morbus Addison</b>	7	<b>Nicht bekannt</b>	15
<b>Hypogonadismus</b>	12		

**Tabelle 6: Verteilung der für die mono- und polyglandulären Autoimmunität charakteristischen Erkrankungen im erkrankten Probenkollektiv**

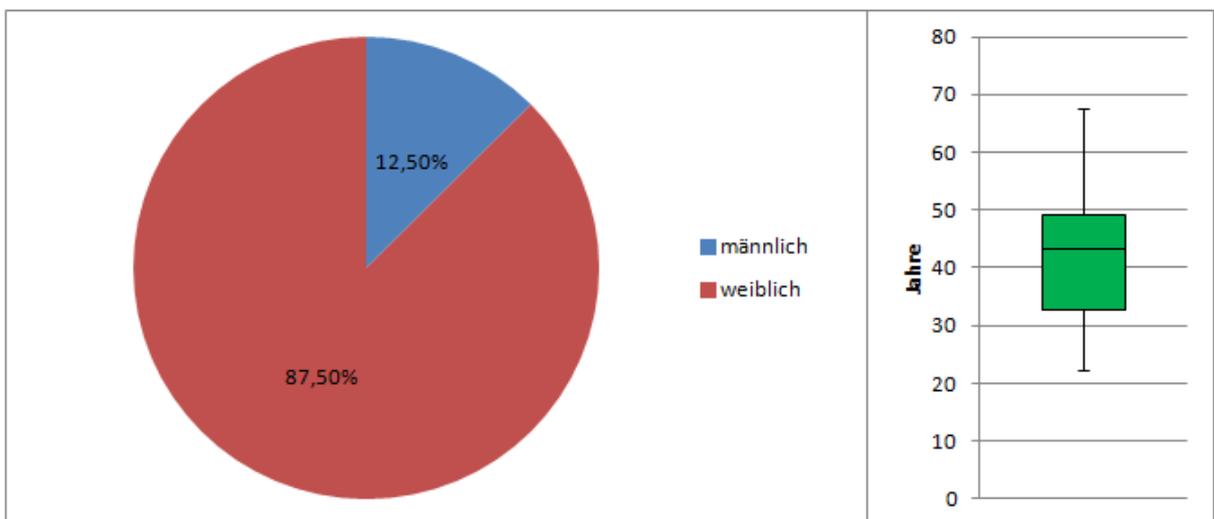


**Abbildung 8: Verteilung der für die mono- und polyglandulären Autoimmunität charakteristischen Erkrankungen im erkrankten Probenkollektiv**

Proben, bei denen die Erkrankung, die für den abnormen TSH-Wert verantwortlich ist, nicht bekannt ist, sind in den beiden Tabellen 5 und 6 mit „nicht bekannt“ gekennzeichnet.

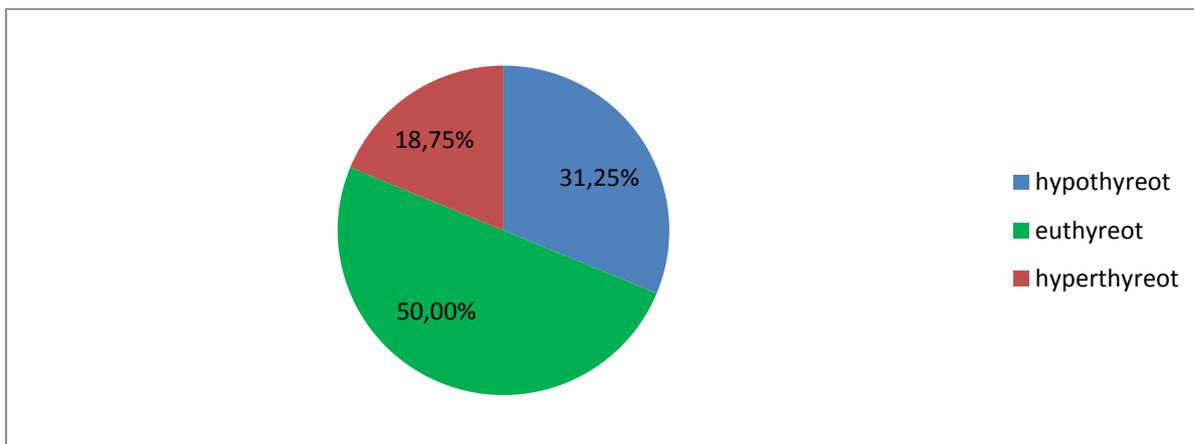
### 3.2.2 Blutproben für die Präzisionsbestimmung

Die Präzisionsbestimmung wurde an insgesamt 16 Proben durchgeführt. Das mediane Alter bei der Probenentnahme lag bei 43,24 Jahren mit einer 25. Perzentile von 32,82 Jahren und einer 75. Perzentile von 49,26 Jahren. Auch diese Proben stammen teilweise von denselben Patienten. 14 Proben (87,50 %) stammen von Frauen und zwei Proben (12,50 %) stammen von Männern.



**Abbildung 9: Geschlechts- und Altersverteilung Blutproben für die Präzisionsbestimmungen**

Drei der Proben stammen von hyperthyreoten Patienten, acht Proben stammen von euthyreoten Patienten und fünf Proben stammen von hypothyreoten Patienten.



**Abbildung 10: Verteilung der Schilddrüsenfunktionszustände Blutproben für die Präzisionsbestimmung**

### 3.3 Material

#### 3.3.1 Blutentnahme und Verarbeitung

Probenanzahl	Abnahmezeitraum	Herkunft
272	2002-20016	I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz, 55101 Mainz, Deutschland
31	2004-2014	██████████, Department of Pediatrics, Endocrinology, Diabetology, with the Cardiology Division, Medical University of Bialystok, 15-089 Bialystok, Poland
17	2008-2012	██████████, Department of Pediatric Endocrinology and Rheumatology, University of Medical Sciences, 61-701 Poznan, Poland
1	2012	██████████, Department of Pediatrics, University La Sapienza, 00185 Rome, Italy

**Tabelle 7: Herkunft des gesunden Kontrollkollektivs und erkrankten Probenkollektivs**

Nach der venösen Blutentnahme einer Serum-Monovette mit 7,5 ml wurde das Vollblut entweder zu Plasma oder zu Serum weiterverarbeitet. Bei Plasma handelt es sich um den flüssigen Anteil des Blutes. Es enthält keine zellulären Bestandteile und ist antikoaguliert, kann also nicht gerinnen (18). Bei Serum handelt es sich um von Fibrin befreites Plasma (18). Im Anschluss wurden die Proben bei -20 °C

eingefroren. Vor Verwendung der Proben für die Messungen im Rahmen dieser Studie wurden die tiefgefrorenen Proben bei 5 °C im Kühlschrank aufgetaut.

Von den 16 Proben, an denen die Präzisionsbestimmungen der Geräte durchgeführt wurden, stammen fünf aus dem eingefrorenen, erkrankten Probenkollektiv. Elf Proben stammen aus frischem Überschussmaterial der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik

der Universitätsmedizin Mainz, Deutschland. Es wurden eine Serum-Monovette mit 7,5 ml und eine EDTA-Monovette mit 2,7 ml abgenommen. Das Blut in den 7,5 ml-Serum-Monovetten wurde nach der Verarbeitung zu Serum oder Plasma im Kühlschrank bei 5 °C gelagert. Das Blut in den 2,7 ml-EDTA-Monovetten wurde nicht weiter verarbeitet, da auch Präzisionsbestimmungen mit Vollblut durchgeführt wurden. Auch das Vollblut wurde bis zur Durchführung der Messungen im Kühlschrank bei 5 °C gelagert.

Vor der Messung wurden alle Proben, falls einige Minuten bei Raumtemperatur aufgewärmt und mit Hilfe eines Vortexmischers gemischt.

### 3.3.2 Materialien und Chemikalien

<b>Test-Kit</b>	<b>Firma</b>	<b>Stadt</b>	<b>Land</b>
Ultra-TSH-check-1 Kit	Veda.Lab	Alençon	Frankreich
Adult-TSH-check-1 Kit	Veda.Lab	Alençon	Frankreich

**Tabelle 8: Verwendete Test-Kits**

<b>Einwegmaterial</b>	<b>Firma</b>	<b>Stadt</b>	<b>Land</b>
S-Monovette 7,5 ml Z-Gel (Serum-Gel)	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht	Deutschland
S-Monovette 2,7 ml K3E (EDTA)	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht	Deutschland
Röhren (5 ml, 75x13mm, PS)	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht	Deutschland
Eindrückstopfen, farblos	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht	Deutschland

Sempercare® Einmahlhandschuhe, Latex, Premium (puderfrei, unsteril, weiß, Größe M)	Semperit AG	Wien	Österreich
Biosphere® Filter Tips 100	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht	Deutschland
Tip One, 1000 µl XL, graduiert, Filter Tip (steril)	Starlab	Hamburg	Deutschland

**Tabelle 9: Verwendete Einwegmaterialien**

### 3.3.3 Laborgeräte

<b>Gerätename</b>	<b>Firma</b>	<b>Stadt</b>	<b>Land</b>
Architect TSH assay i 2000SR	Abbott Laboratories	Chicago, IL	USA
Cobas e411	Roche Diagnostics International AG	Rotkreuz	Schweiz
Easy Reader	Veda.Lab	Alençon	Frankreich
Eppendorf Centrifuge 5416	Eppendorf AG	Hamburg	Deutschland
Liebherr Tiefkühlschrank GG 5210	Liebherr	Bulle	Schweiz
Liebherr Flaschenkühlschrank Standmodell FKS 5000	Liebherr	Bulle	Schweiz
Heidolph Reax 2000 Schüttelmaschine	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG	Schwabach	Deutschland
Pipette Eppendorf Research (100 µl)	Eppendorf AG	Hamburg	Deutschland
Pipette Eppendorf Research (1000 µl)	Eppendorf AG	Hamburg	Deutschland
Dell OptiPlex XE2	Dell Technologies Inc.	Round Rock, TX	USA

**Tabelle 10: Verwendete Laborgeräte**

### 3.3.4 Software

Software	Firma	Stadt	Land
Microsoft Office Excel 2007	Microsoft	Redmond, WA	USA
Microsoft Office Word 2007	Microsoft	Redmond, WA	USA
EndNote X8	Clarivate Analytics	Philadelphia, PA	USA

**Tabelle 11: Verwendete Software**

### 3.4 Methoden der TSH-Bestimmung

Methode	Messbereich	Grenze hyperthyreot	Grenze hypothyreot	Funktionelle Sensibilität
Architect TSH assay i 2000SR	0,01 - 800 mIU/l	0,35 mIU/l	4,94 mIU/l	≤ 0,01 mIU/l
Cobas e411	0,005 - 100 mIU/l	0,27 mIU/l	4,2 mIU/l	0,014 mIU/l
TSH-check-1 TSH-Ultra	0,2 - 50 mIU/l	0,3 mIU/l	5 mIU/l	0,2 mIU/l
TSH-check-1 TSH-adult	-	-	5 mIU/l	± 20% (bei 5 mIU/l)

**Tabelle 12: Übersicht und technische Daten der verwendeten Methoden der TSH-Bestimmung (10, 96-100)**

#### 3.4.1 Verwendete Standardmethoden

Die Standardmethoden dienen als Referenzmethoden für die TSH-Messung mit den zu untersuchenden Schnelltests. Alle Proben wurden mit dem Cobas e411 von Roche gemessen. Die Messung wurde von Mitarbeitern des endokrinologischen Labors der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Die in der Universitätsmedizin Mainz gesammelten Proben wurden mit dem Architect TSH assay i 2000SR von Abbott als zweite Standardmethode gemessen. Die Messung wurde von Mitarbeitern des Zentrallabors der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Die Proben von [REDACTED], [REDACTED] und [REDACTED] wurden mit der Standardmethode der jeweiligen Klinik gemessen.

#### *3.4.1.1 Architect TSH assay i 2000SR (Abbott)*

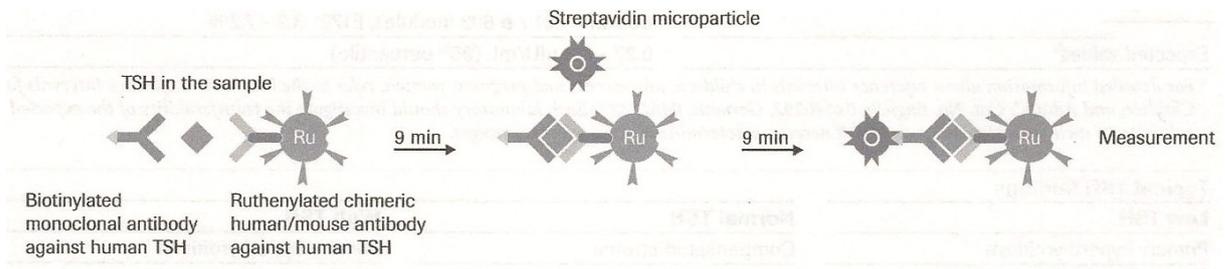
Beim Architect TSH assay i 2000SR von Abbott handelt es sich um ein Chemilumineszenz-Mikropartikel-Immunoassay (CMIA) (9). Abbott bezeichnet dieses System auch als Chemiflex, dessen zugrunde liegendes Prinzip ein zweistufiger Sandwich-Assay ist. Der erste Schritt besteht aus dem Mischen der zu messenden Probe, eines Anti- $\beta$ -TSH-Antikörpers (Fang-Antikörper), der an paramagnetische Mikropartikel gebunden ist, und eines Verdünnungsmittels. Im zweiten Schritt wird die Lösung unter einem Magnetfeld gewaschen und ein Anti- $\alpha$ -TSH-Antikörper, der mit Acridinium markiert ist (Detektions-Antikörper), hinzugefügt. Nun werden eine Vor-Trigger-Lösung mit 1,32 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  und Trigger-Lösung mit 0,35N NaOH hinzugefügt, die eine Chemilumineszenzreaktion auslösen. Das hierbei emittierte Licht kann in relative light units (RLU) gemessen werden, die vom Architect i optical system detektiert und quantifiziert werden. Das gemessene Licht und die TSH-Konzentration in der Probe sind direkt proportional zueinander. Die genaue TSH-Konzentration wird mit Hilfe einer Kalibrationskurve berechnet (98, 99).

Die Messung kann sowohl mit Serum als auch mit Plasma durchgeführt werden (98, 99).

#### *3.4.1.2 Cobas e411 (Roche)*

Beim Cobas® e411 von Roche handelt es sich um ein Elektro-Chemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) aus der 4000 Analyzerserie. Roche bezeichnet sein spezifisches System für die TSH-Messung als Elecsys®. Das zugrundeliegende Prinzip ist das eines dreistufigen Sandwich-Assays. Im ersten Schritt werden 50  $\mu\text{l}$  der Probe, in der der TSH-Wert gemessen werden soll, mit einem biotinylierten monoklonalen TSH-spezifischen Antikörper (Fang-Antikörper) und einem markierten monoklonalen TSH-spezifischen Antikörper (Detektions-Antikörper) für neun Minuten inkubiert. Der Marker beim Elecsys® ist ein Ruthenium-Komplex. Nach dieser ersten Inkubationszeit werden als zweiter Schritt mit Straptavidin beschichtete, paramagnetische Mikropartikel hinzugegeben, um den biotinylierten Fang-Antikörper an die Mikropartikel zu binden. Dieser Vorgang erfordert weitere neun Minuten Inkubationszeit. Im dritten Schritt wird die Lösung in einen Messbehälter gegeben. Nun werden die Immunkomplexe magnetisch an eine Platinelektrode gebunden, während alle anderen losen Bestandteile gewaschen werden. Die Elektrode wird unter Spannung gesetzt, wodurch es zur Emission von Licht kommt, welches durch

einen Photovervielfacher gemessen wird. Das gemessene Signal ist direkt proportional zur TSH-Konzentration in der Probe. Die genaue Konzentration wird mit Hilfe einer Standardkurve berechnet (10, 97, 101).



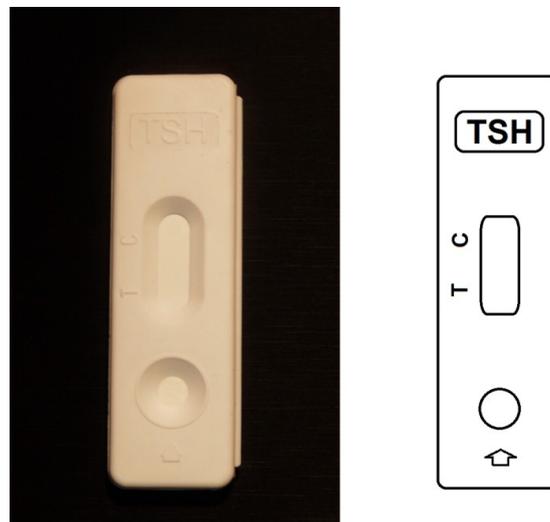
**Abbildung 11: Testprinzip Elecsys® (97)**

Die Messung kann sowohl mit Serum als auch mit Plasma durchgeführt werden (97).

### 3.4.2 Schnelltests

#### 3.4.2.1 TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

Beim TSH-check-1 TSH-Ultra der französischen Firma Veda.Lab handelt es sich um einen quantitativen Schnelltest für die TSH-Bestimmung in Plasma oder Serum. Das Messprinzip ist ein Sandwich-Assay (96).



**Abbildung 12: Teststreifen TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) – Foto und schematische Zeichnung**

Die Probe fließt hierbei aufgrund eines spontanen Kapillareffekts durch eine absorbierende Nitrozellulosemembran und das TSH und ein monoklonaler Farb-Antikörper (Detektions-Antikörper) bilden einen Antikörper-Antigen-Komplex. In der T-Zone befinden sich fixierte polyklonale Anti-TSH-Antikörper (Fang-Antikörper), an die der vorher gebildete Antikörper-Antigen-Komplex bindet. Es entsteht eine pinke

Linie in der T-Zone. Das Gemisch fließt weiter durch die Nitrozellulosemembran und gelangt in die C-Zone. Diese dient zur Kontrolle, ob der Teststreifen und die Reagenzien funktionieren. In der T-Zone noch nicht gebundene Antikörper-Antigen-Komplexe binden an die Reagenzien in der C-Zone und bilden eine zweite pinke Linie. Die in der T-Zone abgelaufene Farbreaktion ist quantifizierbar und mit Hilfe des Easy Readers darstellbar (96, 102). Hierbei handelt es sich um ein Lateral-Flow Immunchromatographie-Analysegerät. Nach 20 Minuten Inkubationszeit strahlt das Gerät mit einem grünen LED-Licht die Nitrozellulosemembran an. Der Kontrast des pinken Farbstreifens wird gesteigert. Eine CMOS-Kamera macht ein Bild, das von einem Bildbearbeitungsprogramm gescannt wird. Dieses berechnet die mittlere Saturation des pinken Farbstreifens. Ein Mikroprozessor scannt die mittlere Saturation und berechnet ein semi-quantitatives Messergebnis (102).



**Abbildung 13: Easy Reader (Veda.Lab) (103)**

Die Messung kann sowohl mit Plasma als auch mit Serum durchgeführt werden. Kann die Messung nicht sofort stattfinden, muss die Probe im Kühlschrank bei 2-4 °C aufbewahrt werden. Kann die Messung nicht innerhalb von 48 Stunden stattfinden, muss die Probe eingefroren werden. Ist die Probe trüb oder in einer anderen Weise optisch verändert, muss sie mit dem gleichen Volumen an Puffer verdünnt werden. Verwendet man mit Heparin antikoaguliertes Blut, kommt es zu starken Abweichungen. Hohe Konzentrationen an Rheumafaktor, humanen Anti-Maus-Antikörpern (HAMA) und C-reaktivem Protein (CRP) können zu falsch positiven Ergebnissen führen. Weitere technische Daten sind in Tabelle 12 aufgeführt (96).

### 3.4.2.2 TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)

Beim TSH-check-1 TSH-adult der französischen Firma Veda.Lab handelt es sich um einen qualitativen Schnelltest für die TSH-Bestimmung in Plasma oder Serum. Das Messprinzip ist das gleiche Sandwich-Assay-Prinzip wie beim TSH-check-1 TSH-Ultra (100).



**Abbildung 14: Teststreifen TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) – Foto und schematische Zeichnung**

Auch hier fließt die Probe durch den Kapillareffekt durch die absorbierende Membran und das TSH bindet an einen monoklonalen Farb-Antikörper (Detektions-Antikörper). Der Unterschied zum TSH-Ultra besteht darin, dass erst ab einer TSH-Konzentration von  $\geq 5$  mIU/l genug Antikörper-Antigen-Komplex an die fixierten polyklonalen Anti-TSH-Körper (Fang-Antikörper) binden, um eine pinke Linie in der Test-Zone zu erzeugen. Auch hier fließt das Gemisch weiter die Membran entlang in die Control-Zone, die zur Kontrolle der Funktionsfähigkeit des Tests dient. Hier binden nun alle noch nicht in der Test-Zone gebundenen Antikörper-Antigen-Komplexe an den Fang-Antikörper und bilden eine weitere pinke Linie. Das Ergebnis ist bei diesem Test jedoch nicht durch ein Gerät quantifizierbar. Es handelt sich um einen rein qualitativen Test, der zum Screening nach hypothyreoten Patienten gedacht ist (100).

Die Messung mit dem TSH-adult kann sowohl mit Vollblut, als auch mit Serum oder Plasma durchgeführt werden. Kann die Messung nicht sofort stattfinden, muss die Probe im Kühlschrank bei 2 - 8 °C gelagert werden. Dies ist bei Vollblut bis zu vier Stunden möglich. Serum und Plasma können bis zu drei Tagen im Kühlschrank gelagert werden. Kann die Messung nicht innerhalb von drei Tagen stattfinden, muss die Probe eingefroren werden. In diesem Fall ist die Messung allerdings nur noch mit Serum oder Plasma möglich. Heparinisiertes Blut führt zu einer Verfälschung des

Ergebnisses und sollte daher nicht verwendet werden. Auch bei diesem Test können hohe Konzentrationen an Rheumafaktor, HAMA und CRP zu falsch positiven Messungen führen. Die weiteren technischen Daten sind Tabelle 12 zu entnehmen (100).

### **3.5 Statistische Methoden**

Die Darstellung der Daten und die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe von Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, Redmond, WA, USA) durchgeführt.

#### 3.5.1 Präzisionsbestimmungen

Für die Präzisionsanalysen wurden sowohl die Intra- als auch die Inter-Assay-Variabilität bestimmt. Die Intra-Assay-Variabilität wurde mit Hilfe mehrerer Messungen derselben Probe innerhalb einer Messserie an einem Tag bestimmt. Für die Bestimmung der Inter-Assay-Variabilität wurden mehrere Messungen derselben Probe an verschiedenen Tagen, also innerhalb verschiedener Messserien bestimmt. Zunächst wurde die Anzahl der qualitativen Abweichungen (hypothyreot oder nicht hypothyreot) der neuen Messmethoden von den Standardmethoden bestimmt. Für die quantitative neue Messmethode (TSH-check-1 TSH-Ultra) wurde zusätzlich ein Variationskoeffizient innerhalb der Intra-Assay-Variabilitätsbestimmung und innerhalb der Inter-Assay-Variabilitätsbestimmung mit Hilfe des Mittelwertes und der Standardabweichung berechnet.

#### 3.5.2 Klinische Daten

Die klinischen Daten wurden mittels Vierfeldertafeln dargestellt. Hieraus wurden die Sensitivität, die Spezifität, der positive Prädiktionwert und der negative Prädiktionwert berechnet. Außerdem ließ sich die Anzahl der qualitativen Abweichungen (hypothyreot oder nicht hypothyreot) der neuen Messmethoden von den Standardmethoden bestimmen.

Für die quantitative neue Messmethode (TSH-check-1 TSH-Ultra) wurden zusätzlich die mediane Abweichung von der jeweils verwendeten Standardmethode und deren

25. und 75. Perzentile bestimmt. Außerdem wurden die Daten mittels eines Streudiagramms und einer Regressionsgeraden dargestellt. Zusätzlich wurden der Korrelationskoeffizient nach Pearson und das Bestimmtheitsmaß berechnet. Um darzustellen, wie gut die Messmethode zwischen hypothyreot und nicht hypothyreot differenzieren kann, wurde zusätzlich eine receiver operating characteristic curve (ROC-Kurve) erstellt und die Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) berechnet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Handhabung der Schnelltests

#### 4.1.1 TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

Vor Beginn der Messung muss der Easy Reader mit einem Schalter auf der Rückseite eingeschaltet werden. Das Gerät benötigt fünf Minuten zum Aufwärmen. Zusätzlich muss vor Beginn der Messungen eine Blindmessung zur Kalibration durchgeführt werden.

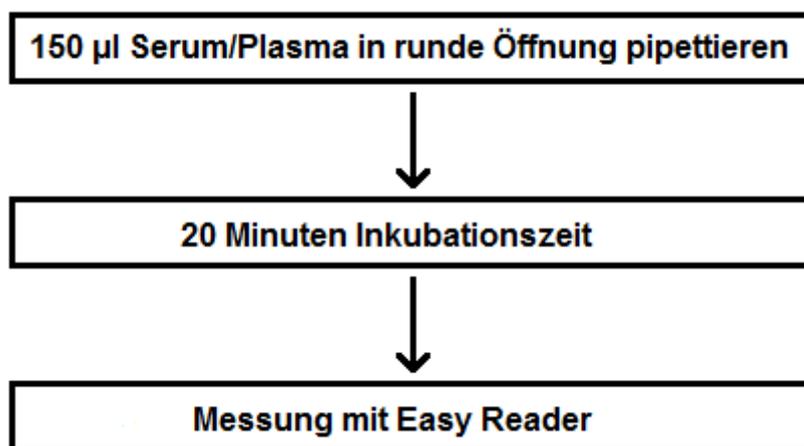


Abbildung 15: Arbeitsablauf TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

Um die Messung durchzuführen müssen 150 µl Serum oder Plasma in die runde Öffnung des Teststreifens (siehe Abbildung 12) pipettiert werden. Der Teststreifen muss in die Messkassette gelegt werden. Diese muss nun in den Easy Reader geschoben werden (siehe Abbildung 12). Um die Messung zu beginnen, muss das Feld „Start“ mit dem Finger gedrückt werden (siehe Abbildung 16).

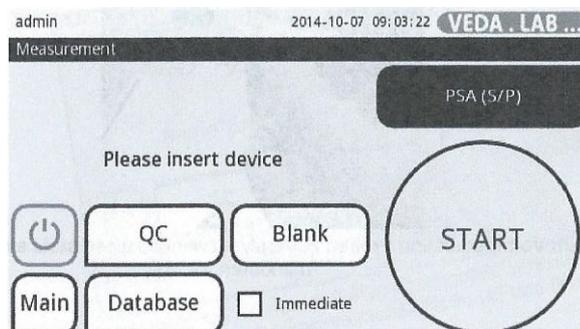
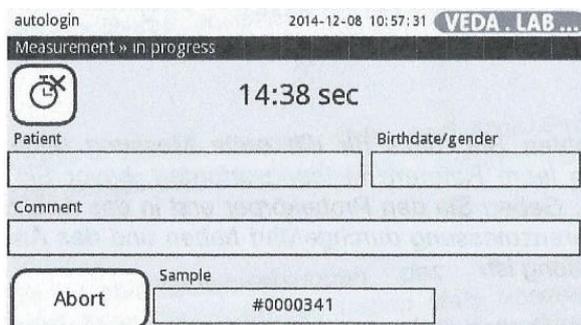


Abbildung 16: Inbetriebnahme-Bildschirm, Easy Reader, TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) (102)

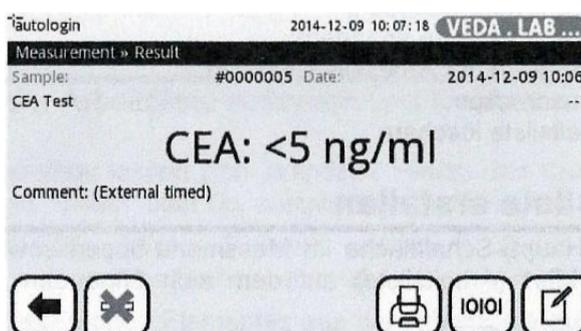
Es beginnt ein Countdown von 20 Minuten. In die vorgegebenen Felder können nun wahlweise der Name des Patienten oder die anonymisierte Serumnummer sowie

Geburtsdatum und Geschlecht eingegeben werden. Gegebenenfalls kann ein Kommentar hinzugefügt werden (siehe Abbildung 17).



**Abbildung 17: Bildschirm "Measurement >> in progress", Easy Reader, TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) (102)**

Nach Ablauf der 20 Minuten wird automatisch die Messung durch den Easy Reader durchgeführt und das Ergebnis wird angezeigt (siehe Abbildung 18). Soll die Messung vor Ablauf des Countdowns durchgeführt werden, kann der Countdown mit dem Feld in der oberen linken Ecke im Bildschirm „Measurement >> in progress“ (siehe Abbildung 17) abgebrochen werden. Die Messung wird sofort durchgeführt.



**Abbildung 18: Bildschirm "Measurement >> Result", Easy Reader, TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) (102)**

Das angezeigte Ergebnis kann nun mit dem Feld "Drucken" (siehe Abbildung 18 rechts unten) ausgedruckt werden. Zudem besteht die Möglichkeit, zu einem späteren Zeitpunkt erneut auf das Messergebnis zuzugreifen. Es ist zu empfehlen, die Patientendaten vollständig und korrekt einzugeben, da dies die Suche im Speicher des Easy Readers erleichtert.

Führt man eine Messung wie in Abbildung 15 dargestellt durch, benötigt man ca. 22 Minuten für die Messung einer Probe. Durch die Möglichkeit, den Countdown abzubrechen und das Gerät die Messung sofort durchführen zu lassen, besteht die Option, mehrere Messungen hintereinander durchzuführen und so die benötigte Zeit pro Probe zu verkürzen. Die Zeit muss nun vom Bediener selbst gestoppt werden.

Wie eine solche Aneinanderreihung mehrerer Messungen aussehen kann, ist in Abbildung 19 dargestellt.

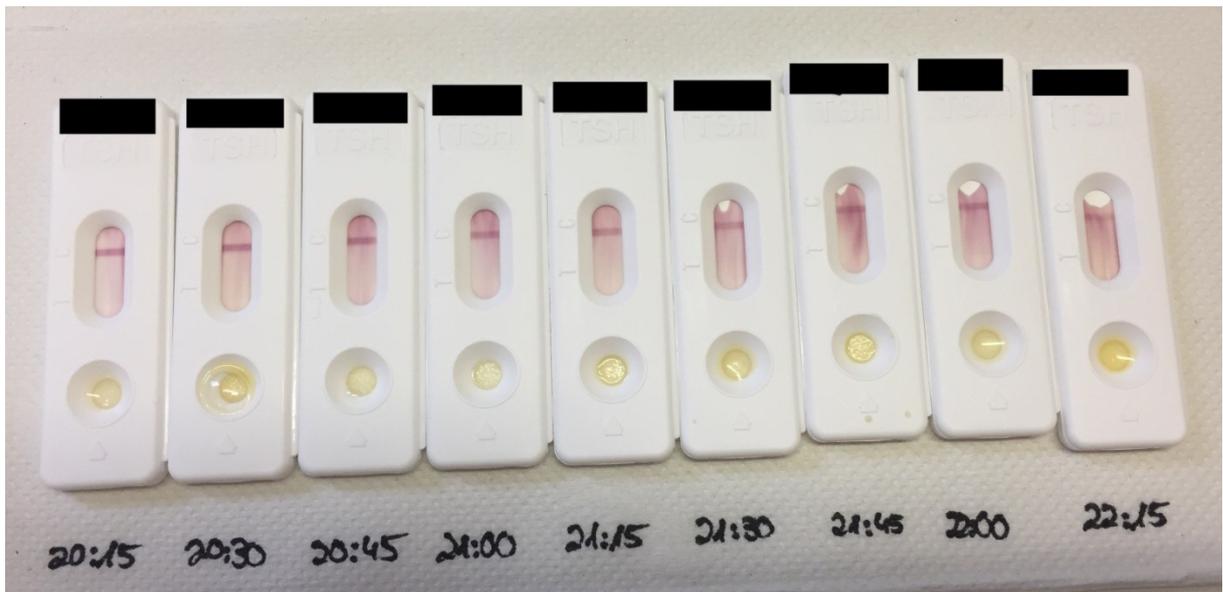


Abbildung 19: TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) - Beispielmessreihe mit eigener Zeitmessung

#### 4.1.2 TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)

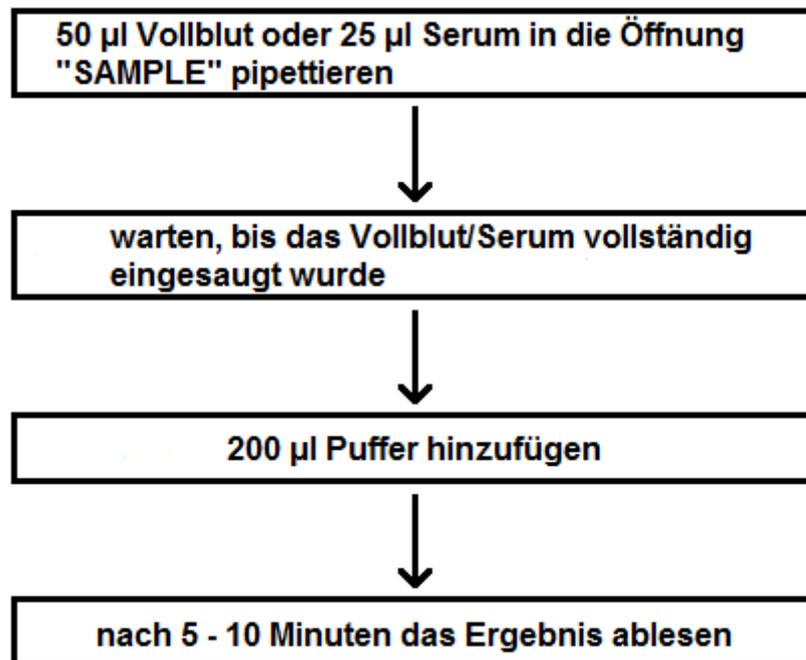
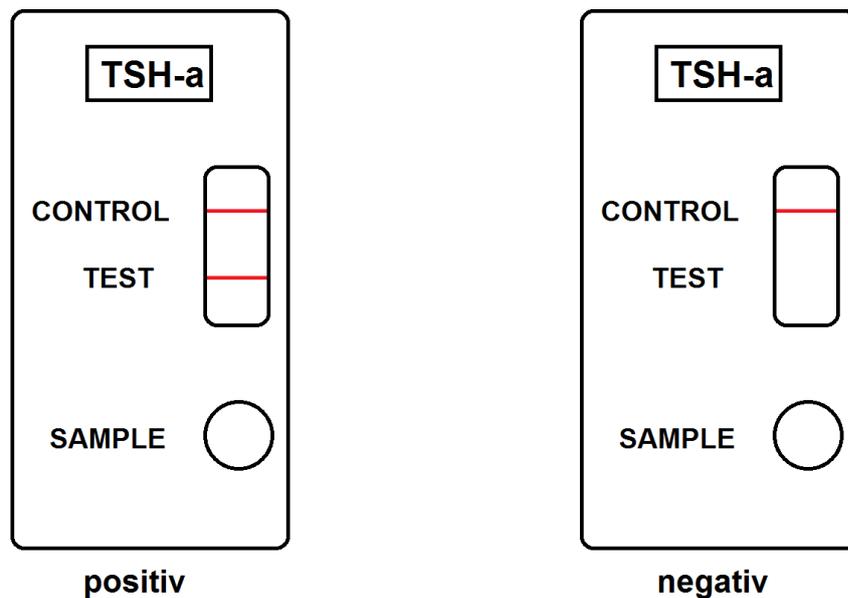


Abbildung 20: Arbeitsablauf TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)

Um die Messung durchzuführen, müssen 50 µl Vollblut oder 25 µl Serum in die mit „SAMPLE“ beschriftete Öffnung (siehe Abbildung 14) pipettiert werden. Nun muss kurz gewartet werden, bis das Vollblut/Serum vollständig von der Membran

eingesaugt wurde. Als nächstes werden 200 µl Puffer hinzugefügt. Nach etwa 5 - 10 Minuten kann das Ergebnis abgelesen werden.



**Abbildung 21: Positiver und negativer Teststreifen TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) – schematische Zeichnung**

Hinter der Beschriftung „CONTROL“ muss immer ein roter Streifen erscheinen. Erscheint er nicht, ist der Teststreifen fehlerhaft. Die Messung muss dann erneut mit einem frischen Teststreifen durchgeführt werden. Erscheint hinter der Beschriftung „TEST“ auch ein roter Streifen, ist der Test positiv (siehe Abbildung 21).

Die Abbildung 22 zeigt eine Beispielmessreihe, wie sie im Rahmen dieser Studie durchgeführt wurde.



**Abbildung 22: TSH-check-1 TSH-adult - Beispielmessreihe**

## **4.2 Präzision der Geräte**

### 4.2.1 Intra-Assay-Variabilität

#### *4.2.1.1 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)*

Um die Intra-Assay-Variabilität des TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab zu bestimmen, wurden innerhalb einer Messreihe elf Proben jeweils viermal mit dem quantitativen Schnelltest gemessen. Als Referenzmethode diente der Architect TSH assay von Abbott. Eine qualitative Abweichung (hypothyreot bzw. nicht hypothyreot) des Schnelltest von der Standardmethode bestand bei zehn der insgesamt 44 durchgeführten Messungen (22,73 %). Innerhalb der 44 durchgeführten Messungen bestand ein mittlerer Variationskoeffizient von 0,29.

#### *4.2.1.2 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)*

Um die Intra-Assay-Variabilität des TSH-check-1 TSH-adult von Veda.Lab zu bestimmen, wurden innerhalb einer Messreihe elf Proben jeweils viermal mit dem qualitativen Schnelltest gemessen. Als Referenzmethode diente der Architect TSH assay von Abbott. Eine qualitative Abweichung (hypothyreot bzw. nicht hypothyreot) des Schnelltest von der Standardmethode bestand bei neun der insgesamt 44 durchgeführten Messungen (20,46 %).

### 4.2.2 Inter-Assay-Variabilität

#### *4.1.2.1 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)*

Um die Inter-Assay-Variabilität des TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab zu bestimmen, wurden innerhalb verschiedener Messreihen an verschiedenen Tagen elf Proben jeweils viermal mit dem quantitativen Schnelltest gemessen. Als Referenzmethode diente der Architect TSH assay von Abbott. Eine qualitative Abweichung (hypothyreot bzw. nicht hypothyreot) des Schnelltest von der Standardmethode bestand bei elf der insgesamt 44 durchgeführten Messungen (25,00 %). Innerhalb der 44 durchgeführten Messungen bestand ein mittlerer Variationskoeffizient von 0,23.

#### *4.2.2.2 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)*

Um die Inter-Assay-Variabilität des TSH-check-1 TSH-adult von Veda.Lab zu bestimmen, wurden innerhalb verschiedener Messreihen an verschiedenen Tagen elf Proben jeweils viermal mit dem qualitativen Schnelltest gemessen. Als Referenzmethode diente der Architect TSH assay von Abbott. Eine qualitative Abweichung (hypothyreot bzw. nicht hypothyreot) des Schnelltest von der Standardmethode bestand bei neun der insgesamt 44 durchgeführten Messungen (20,46 %).

#### 4.2.3 TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) Serum vs. Plasma

Der quantitative Schnelltest TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab kann sowohl mit Serum als auch mit Plasma durchgeführt werden. Es wurden jeweils vier Messungen mit Serum und vier Messungen mit Plasma derselben sechs Proben durchgeführt. Innerhalb der insgesamt 24 durchgeführten Messungen mit Serum bestand ein mittlerer Variationskoeffizient von 0,26. Innerhalb dieser insgesamt 24 durchgeführten Messungen mit Plasma bestand ein mittlerer Variationskoeffizient von 0,46.

#### 4.2.4 TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) Serum vs. Vollblut

Der qualitative Schnelltest TSH-check-1 TSH-adult von Veda.Lab kann sowohl mit Serum als auch mit Vollblut durchgeführt werden. Es wurden jeweils vier Messungen mit Serum und vier Messungen mit Vollblut derselben elf Proben durchgeführt. Bei diesen insgesamt 44 mit Serum durchgeführten Messungen bestand bei vier Messungen (9,09 %) eine qualitative Abweichung (hypothyreot bzw. nicht hypothyreot) von der Standardmethode Architect TSH assay von Abbott. Bei den insgesamt 44 mit Vollblut durchgeführten Messungen bestand bei neun Messungen (20,46%) eine qualitative Abweichung (hypothyreot bzw. nicht hypothyreot) von der Standardmethode Architect TSH assay von Abbott.

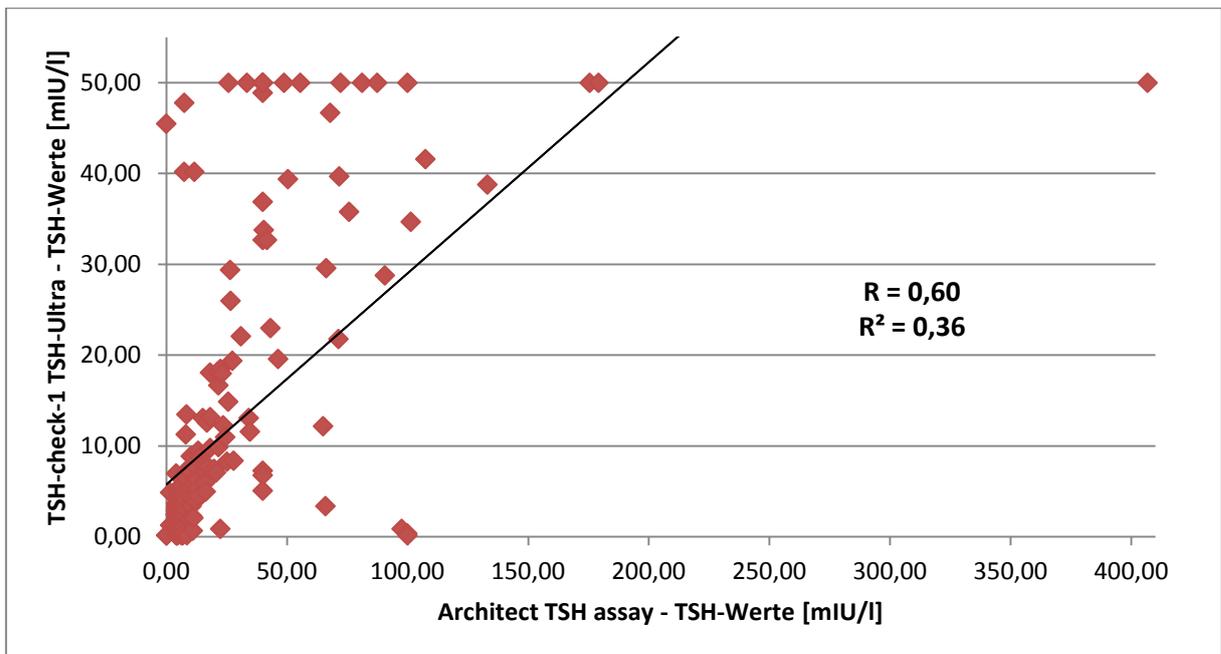
### 4.3 Statistische Auswertung der klinischen Daten

#### 4.3.1 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

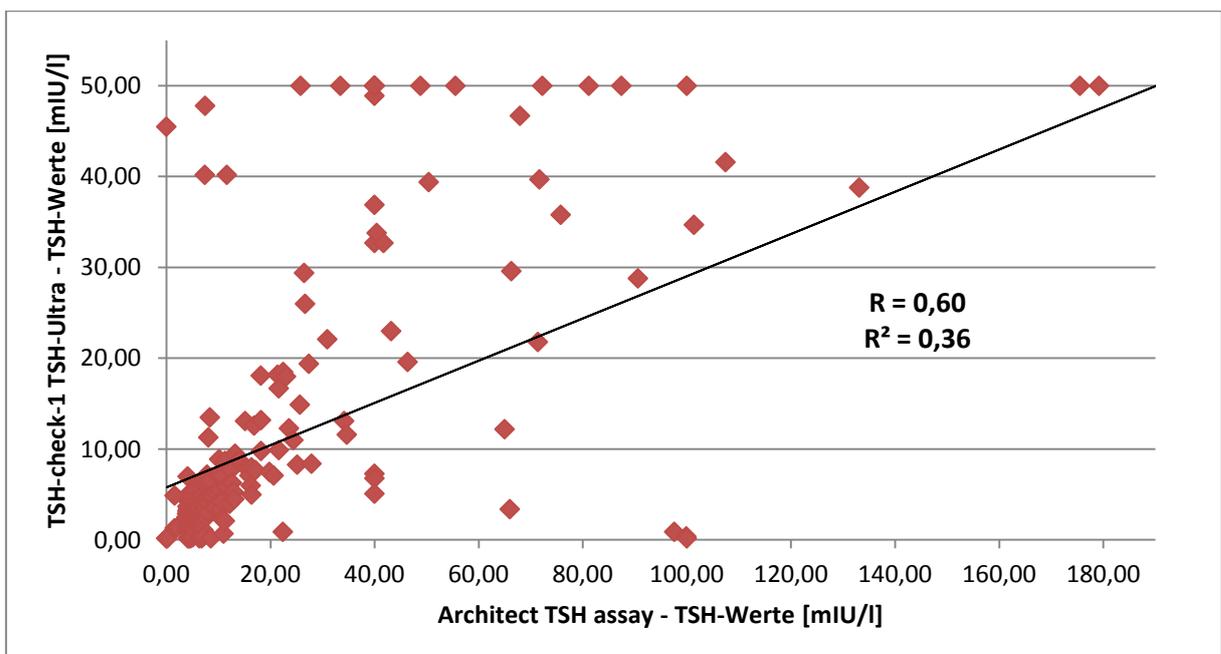
	Architect TSH assay positiv ( $\geq 4,94$ mIU/l)	Architect TSH assay negativ ( $< 4,94$ mIU/l)	Gesamt
TSH-check-1 TSH-Ultra positiv ( $\geq 5,0$ mIU/l)	94	4	98
TSH-check-1 TSH-Ultra negativ ( $< 5,0$ mIU/l)	73	150	223
<b>Gesamt</b>	167	154	321

Tabelle 13: Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

Die Tabelle 13 vergleicht die Ergebnisse der Standardmethode Architect TSH assay von Abbott mit dem quantitativen Schnelltest TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab in Form einer Vierfeldertafel. Eine qualitative Abweichung des Schnelltests von der Standardmethode bestand bei 77 der gemessenen Proben (23,99 %). Die quantitative mediane Abweichung betrug -2,47 mIU/l mit einer 25. Perzentile von -4,70 mIU/l und einer 75. Perzentile von -0,88 mIU/l. Mit Hilfe der Vierfeldertafel ließen sich eine Sensitivität von 56,29 %, eine Spezifität von 97,40 %, ein positiver Prädiktionswert von 95,92 % und ein negativer Prädiktionswert von 67,26 % errechnen.



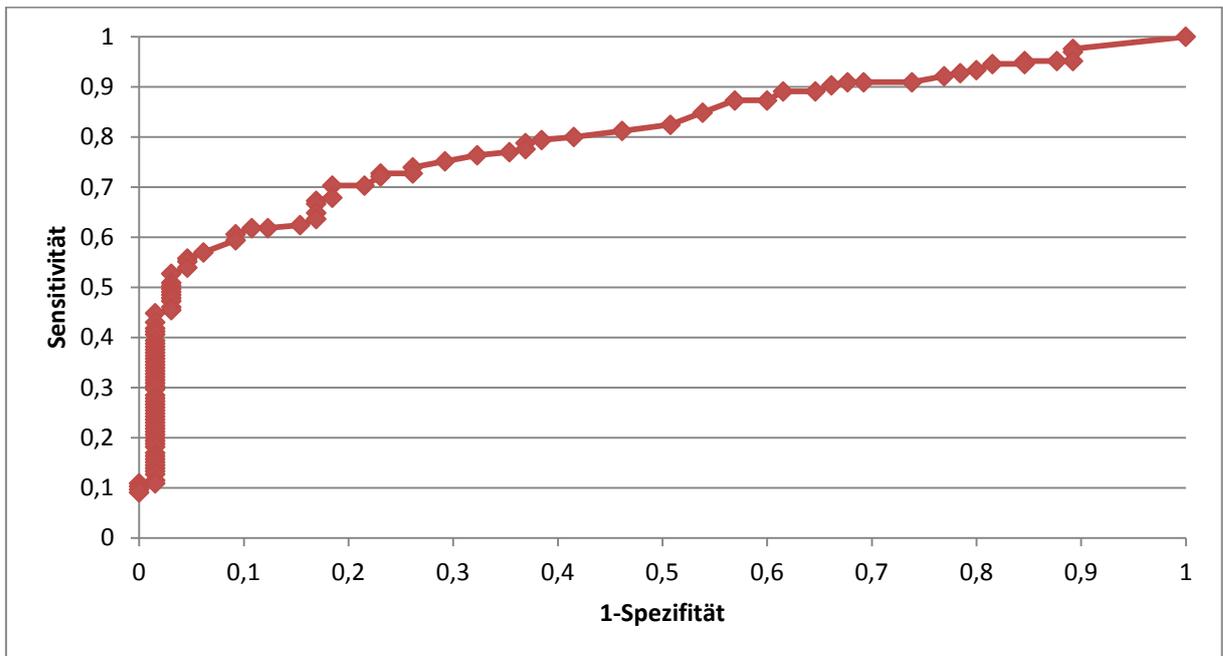
**Abbildung 23: Streudiagramm mit Regressionsgerade - TSH-Werte Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)**



**Abbildung 24: Streudiagramm mit limitierter X-Achse und Regressionsgerade - TSH-Werte Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)**

In den Abbildungen 23 und 24 werden die TSH-Wertepaare vom Architect TSH assay von Abbott und vom TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab grafisch dargestellt. Um die Daten besser zu veranschaulichen, wurde in Abbildung 24 im Gegensatz zu Abbildung 23 die X-Achse bei 190,00 mIU/l limitiert, sodass ein Ausreißerwertepaar rausfällt. Das Ausreißerwertepaar kam dadurch zustande, dass der Architect TSH assay von Abbott TSH-Werte bis 800,00 mIU/l messen kann, während der TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab Werte bis 50,00 mIU/l messen

kann. In dieser Probe lag der durch den Architect TSH assay von Abbott gemessene TSH-Wert bei 406,84 mIU/l. Dieser Wert liegt außerhalb des Messbereiches des TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab, weshalb er von diesem Gerät als 50 mIU/l angezeigt wurde. In allen Berechnungen wurde das Ausreißerwertepaar jedoch mit einbezogen. Es ließen sich ein Korrelationskoeffizient von 0,60 und ein Bestimmtheitsmaß von 0,36 berechnen.



**Abbildung 25: ROC-Kurve – TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) vs. Architect TSH assay (Abbott)**

Die Abbildung 25 zeigt die ROC-Kurve des TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab mit der Standardmethode Architect TSH assay von Abbot als Referenz. Es ließ sich eine AUC von 0,80 berechnen.

#### 4.3.2 Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)

	Architect TSH assay positiv ( $\geq 4,94$ mIU/l)	Architect TSH assay negativ ( $< 4,94$ mIU/l)	Gesamt
TSH-check-1 TSH-adult positiv ( $\geq 5$ mIU/l)	126	11	137
TSH-check-1 TSH-adult negativ ( $< 5$ mIU/l)	41	143	184
<b>Gesamt</b>	167	154	321

Tabelle 14: Architect TSH assay (Abbott) vs. TSH-check 1 TSH-adult (Veda.Lab)

Die Tabelle 14 vergleicht die Ergebnisse der Standardmethode Architect TSH assay von Abbott mit dem qualitativen Schnelltest TSH-check-1 TSH-adult von Veda.Lab in Form einer Vierfeldertafel. Eine Abweichung des Schnelltests von der Standardmethode bestand bei 52 der gemessenen Proben (16,20 %). Mit Hilfe der Vierfeldertafel ließen sich eine Sensitivität von 75,45 %, eine Spezifität von 93,86 %, ein positiver Prädiktionwert von 91,97 % und ein negativer Prädiktionwert von 77,72 % errechnen.

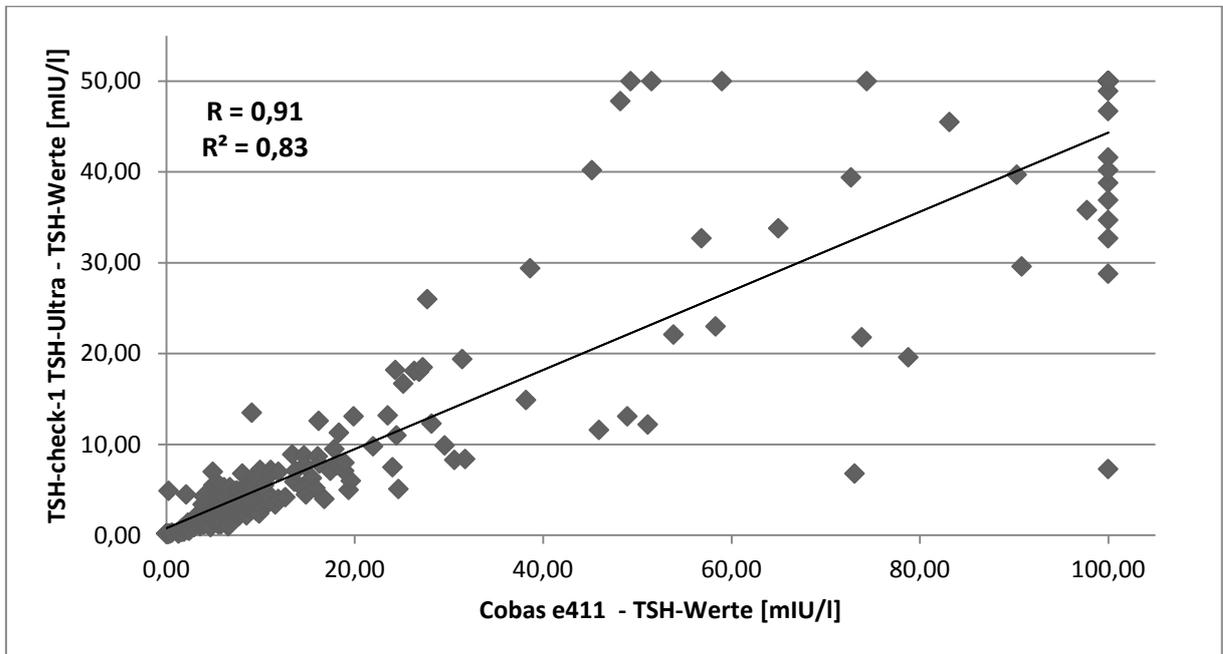
#### 4.3.3 Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

	Cobas e411 positiv ( $\geq 4,2$ mIU/l)	Cobas e411 negativ ( $< 4,2$ mIU/l)	Gesamt
TSH-check-1 TSH-Ultra positiv ( $\geq 5,0$ mIU/l)	98	0	98
TSH-check-1 TSH-Ultra negativ ( $< 5,0$ mIU/l)	96	127	223
<b>Gesamt</b>	194	127	321

Tabelle 15: Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)

Die Tabelle 15 vergleicht die Ergebnisse der Standardmethode Cobas e411 von Roche mit dem quantitativen Schnelltest TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab in Form einer Vierfeldertafel. Eine qualitative Abweichung des Schnelltests von der Standardmethode bestand bei 96 der gemessenen Proben (29,91 %). Die

quantitative mediane Abweichung betrug -2,65 mIU/l mit einer 25. Perzentile von -6,62 mIU/l und einer 75. Perzentile von -1,14 mIU/l. Mit Hilfe der Vierfeldertafel ließen sich eine Sensitivität von 50,52 %, eine Spezifität von 100,00 %, ein positiver Prädiktionswert von 100,00 % und ein negativer Prädiktionswert von 56,95 % errechnen.



**Abbildung 26: Streudiagramm mit Regressionsgerade - TSH-Werte Cobas e411 (Roche) vs. TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)**

In Abbildung 26 werden die TSH-Wertepaare vom Cobas e411 von Roche und vom TSH-check-1 TSH-Ultra von Veda.Lab grafisch dargestellt. Es ließen sich ein Korrelationskoeffizient von 0,91 und ein Bestimmtheitsmaß von 0,83 berechnen.



ein positiver Prädiktionswert von 96,35 % und ein negativer Prädiktionswert von 66,30 % errechnen.

## 5 Ergebnisdiskussion

### 5.1 Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Ziel dieser Studie war es, zu ermitteln, ob die beiden neuen schnellen Messmethoden in ihrer Qualität mit den etablierten Standardmethoden gleichzusetzen und somit für einen klinischen Einsatz geeignet sind. Neben der Handhabung wurden die Präzision sowie die Abweichung der Messergebnisse zu beiden Standardmethoden beurteilt.

Die Handhabung stellte sich als unkompliziert und problemlos dar. Lediglich beim Ablesen des Messergebnisses des qualitativen TSH-check-1 TSH-adults ergaben sich Probleme. Lag der TSH-Wert nur knapp über dem Cut Off des TSH-check-1 TSH-adults von 5 mIU/l, zeigte sich eine sehr dünne und blasse bzw. unvollständige rote Linie neben der Beschriftung „TEST“. Bei manchen Fällen wurde eine weitere Person um eine Interpretation des Ergebnisses, erreichte man oft keinen Konsens. Die Interpretation eines solchen „knappen“ Messergebnisses stellte sich daher bedienerabhängig und somit nicht repräsentativ heraus.

Die Ergebnisse der Präzisionsbestimmungen wurden in Tabelle 17 zusammengefasst.

		<b>TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab)</b>	<b>TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab)</b>
<b>Intra-Assay-Variabilität</b>	<b>Qualitative Abweichung</b>	22,73 %	20,46 %
	<b>Mittlerer Variationskoeffizient</b>	0,29	
<b>Inter-Assay-Variabilität</b>	<b>Qualitative Abweichung</b>	25,00 %	20,46 %
	<b>Mittlerer Variationskoeffizient</b>	0,23	
<b>Zuverlässigere Probenart</b>		Serum	Serum

**Tabelle 17: TSH-check-1 TSH-Ultra und TSH-check-1 TSH adult (Veda.Lab) - Ergebnisse der Präzisionsbestimmungen**

Die Präzisionsbestimmungen erwiesen sich als wegweisend für die Auswertung der klinischen Daten. Die Anzahl der qualitativen Abweichungen ist hoch und die mittleren Variationskoeffizienten des quantitativen Tests TSH-check-1 TSH-Ultra

deuten auf eine breite Streuung in der Intra- und Inter-Assay-Variabilität hin. Beide Messmethoden lieferten die zuverlässigeren Ergebnisse mit Serum, weshalb im Rahmen dieser Studie für die weiteren Messungen ausschließlich Serum verwendet wurde.

Die Tabellen 18 und 19 fassen die wichtigsten Ergebnisse des Hauptteils dieser Studie hinsichtlich der Abweichung zu den Standardmethoden zusammen.

<b>Standardmethode</b>	<b>Architect TSH assay (Abbott)</b>	<b>Cobas e411 (Roche)</b>
<b>Sensitivität</b>	56,29 %	50,52 %
<b>Spezifität</b>	97,40 %	100,00 %
<b>Positiver Prädiktionwert</b>	95,92 %	100,00 %
<b>Negativer Prädiktionwert</b>	67,26 %	56,95 %

**Tabelle 18: TSH-check-1 TSH-Ultra (Veda.Lab) - Vergleich von Sensitivität, Spezifität, positivem Prädiktionwert und negativem Prädiktionwert mit den beiden Standardmethoden als Referenz**

<b>Standardmethode</b>	<b>Architect TSH assay (Abbott)</b>	<b>Cobas e411 (Roche)</b>
<b>Sensitivität</b>	75,45 %	68,04 %
<b>Spezifität</b>	93,86 %	96,06 %
<b>Positiver Prädiktionwert</b>	91,97 %	96,35 %
<b>Negativer Prädiktionwert</b>	77,72 %	66,30 %

**Tabelle 19: TSH-check-1 TSH-adult (Veda.Lab) - Vergleich von Sensitivität, Spezifität, positivem Prädiktionwert und negativem Prädiktionwert mit den beiden Standardmethoden als Referenz**

Vor allem die Sensitivität der beiden neuen Messmethoden stellte sich als mangelhaft heraus. Beim quantitativen TSH-check-1 TSH-Ultra zeigte sich, dass diese Messmethode konstant niedrigere Messwerte gegenüber beiden Standardmethoden lieferte. Der gemessene Unterschied in der TSH-Konzentration kann zwischen zwei unterschiedlichen TSH-Assays bis zu 1 mIU/l betragen (9). Dieser Wert wurde jedoch mit einer medianen Abweichung von -2,47 mIU/l zum Architect TSH assay von Abbott und einer medianen Abweichung von -2,65 mIU/l zum Cobas e411 von Roche um mehr als das Doppelte übertroffen.

Wie man den Ergebnissen eindeutig entnehmen kann, sind die beiden neuen Messmethoden nicht in der Lage, zuverlässige und genaue Messergebnisse zu liefern. Sie sind den beiden Standardmethoden eindeutig unterlegen. In diesem Kapitel werden die in dieser Studie erbrachten Ergebnisse mit den Ergebnissen der wenigen anderen durchgeführten Studien, die die beiden neuen Messmethoden verwendet haben, verglichen und mögliche Ursachen für die mangelhafte Messqualität diskutiert.

## **5.2 Vergleich der Ergebnisse zu anderen Studien**

Sowohl der TSH-check-1 TSH-Ultra als auch der TSH-check-1 TSH-adult sind bisher nur wenig getestet worden. Die Firma Veda.Lab hat für jedes Testverfahren eine kurze Informationsbroschüre mit den wichtigsten Daten herausgegeben. Die Informationen hinsichtlich der Gütekriterien sind jedoch dürftig.

Für den TSH-check-1 TSH-Ultra gibt Veda.Lab einen Korrelationskoeffizienten von 0,99 an. Als Referenzmethode wurde ebenfalls ein Cobas Elecsys® System verwendet (96). Der in dieser Studie ermittelte Korrelationskoeffizient im Vergleich zum Cobas e411 liegt mit 0,91 darunter. Der in dieser Studie ermittelte Korrelationskoeffizient im Vergleich zum Architect TSH assay von Abbott liegt mit 0,60 sogar noch weiter unter dem von Veda.Lab ermittelten Wert. Für die Intra-Assay-Variabilität gibt Veda.Lab einen Variationskoeffizienten von 0,07 - 0,14 an (96), der in dieser Studie nicht bestätigt werden konnte. Im Hinblick auf die Sensibilität und Spezifität macht Veda.Lab keine Angaben.

Für den TSH-check-1 TSH-adult gibt Veda.Lab hingegen Werte für die Sensitivität und die Spezifität an. Als Referenzmethode wurde der AXSYM Analyser der Firma Abbott verwendet, der eine dem in dieser Studie verwendeten Architect TSH assay ähnliche Messmethode verwendet. (104) Die von Veda.Lab angegebene Sensitivität von 81,3 % (100) wurde in dieser Studie mit keiner der beiden Standardmethoden als Referenz erreicht. Auch die von Veda.Lab angegebene Spezifität von 97,3 % (100) wurde nicht erreicht.

Die einzige unabhängige Studie, die mit einer der beiden neuen Messmethoden durchgeführt wurde, stammt aus dem Jahr 2012 von Kosack et al. Hier wurde der

TSH-check-1 TSH-adult verwendet, um hypothyreote Patienten aus einem Patientenkollektiv, das eine Anti-Tuberkulose-Therapie erhalten hat, herauszufiltern, um ihnen die entsprechende Therapie zukommen zu lassen (15). Die Referenzmethode in diesem Fall war das UniCel DXi 800 Immunoassay System von Beckman Coulter, das mit einem vergleichbaren Messprinzip wie der Cobas e411 arbeitet. (105) Kosak et al ermittelten in ihrer Studie eine Sensitivität von 100,0 % und eine Spezifität von 76,6 %. Liest man die Studie genauer, erfährt man, dass in der Studie von Kosack et al mit einem anderen Cut Off gearbeitet wurde. Da das Ziel darin bestand, Patienten herauszufiltern, die eine Therapie mit L-Thyroxin benötigen, wurde dementsprechend ein Cut Off von 10 mIU/l festgelegt. Alle Patienten darüber wurden als therapiebedürftig definiert (15). Im Rahmen dieser Studie wurde jedoch ein Cut Off von 5 mIU/l festgelegt, so wie es auch in der Informationsbroschüre der Firma Veda.Lab angegeben ist (100). Bei der Darstellung der Ergebnisse dieser Studie wurde erläutert, dass das Ablesen der Ergebnisse in einigen Fällen Probleme bereitet hat. Bei diesen Ergebnissen handelte es sich zumeist um nur wenig positive Ergebnisse, also um Ergebnisse, die nur knapp über dem Cut Off von 5 mIU/l lagen. Da Kosack et al für die Ermittlung ihrer Sensitivität und Spezifität jedoch einen höheren Cut Off als in dieser Studie verwendet haben, konnten sie dadurch die Anzahl der nicht eindeutig ablesbaren Ergebnisse deutlich reduzieren und so bessere Werte für die Sensitivität und Spezifität erzielen.

### **5.3 Rationalisierung der Ergebnisse**

#### 5.3.1 Studiendesign

In dieser Studie wurden insgesamt 321 Proben verwendet, davon 230 von Patienten mit einer bekannten Schilddrüsenerkrankung und 91 von Patienten ohne bekannte Schilddrüsenerkrankung. Die Proben wurden mit zwei etablierten Standardmethoden und zwei neuen Messmethoden gemessen, um zu evaluieren, ob diese beiden neuen Messmethoden in ihrer Messgenauigkeit mit den Standardmethoden vergleichbar sind. Die Präzisionsbestimmungen wurden mit elf Proben durchgeführt. Auch der Vergleich der Messergebnisse mit den verschiedenen Probearten wurde mit elf Proben durchgeführt.

Dieses Studiendesign ist vergleichbar mit dem anderer Studien, die einen Vergleich verschiedener Messmethoden vornahmen. Um den TSH-check-1 TSH-Ultra zu testen, verwendete die Firma Veda.Lab lediglich 50 Proben (96), um den TSH-check-1 TSH-adult zu testen immerhin 289 Proben (100). Azaric et al verwendeten 110 Proben für den Vergleich dreier TSH-Messmethoden, unter ihnen ein Gerät der Architect Serie von Abbott sowie der Cobas e411 von Roche (106). Yu et al verglichen sogar sechs Messmethoden, inklusive einem Gerät der Architect Serie von Abbott, und verwendeten hierfür bloß 156 Proben (107). Die bereits erwähnte Studie von Kosack et al arbeitete mit 215 Proben (15). Nur Sarkar verwendete beim Vergleich des Architect TSH assay i 2000SR von Abbott und des Cobas 6000 von Roche, der das gleiche Messsystem wie der in dieser Studie eingesetzte Cobas e411 verwendet, mit 1615 Proben deutlich mehr als in dieser Studie verwendet wurden (10). Je mehr Proben in einer solchen Studie gemessen werden, desto repräsentativer sind ihre Ergebnisse. In dieser Studie wurde jedoch bis auf eine Ausnahme eine größere Anzahl an Proben analysiert als in vergleichbaren Studien, weshalb diese Studie im Hinblick auf die Probenanzahl nicht zu kritisieren ist. Eine Schwachstelle dieser Studie bzw. der für sie verwendeten Proben ist dagegen die Tatsache, dass fast ausschließlich hypothyreote und euthyreote Proben verwendet wurden. Lediglich acht der insgesamt 321 Proben waren hyperthyreot. Mit mehr hyperthyreoten Proben hätte in dieser Studie ein breiteres Spektrum abgebildet werden können. Da die beiden neuen Messmethoden jedoch mit dem Ziel erforscht wurden, hypothyreote Patienten zu erkennen, wurde nicht auf den Aspekt der hyperthyreoten Patienten eingegangen. Es ist durchaus möglich, dass vor allem der quantitative TSH-check-1 TSH-Ultra in diesem Bereich zuverlässigere Messergebnisse liefert. Um dies zu eruieren, sind weitere Studien notwendig.

### 5.3.2 Analyse der Messmethoden

Nachdem das Studiendesign kritisch reflektiert wurde, soll dies auch im Hinblick auf die Messmethoden selbst geschehen.

#### *5.3.2.1 Präanalytik*

Die Präanalytik umfasst alle Schritte, die vor der eigentlichen Messung stattfinden (80). Ein wichtiger Punkt ist hierbei die Art der Probe. Dass es sich bei Serum um die

Probenart handelt, die die zuverlässigsten Messergebnisse mit der geringsten Streuung liefert, wurde in der Interpretation der Ergebnisse bereits dargelegt. Allerdings waren bei dieser retrospektiven Studie sämtliche Serumproben, die für die Messungen des klinischen Teils verwendet wurden, eingefroren. Laut Informationsbroschüre der Firma Veda.Lab können sowohl der TSH-check-1 TSH-Ultra als auch der TSH-check-1 TSH-adult mit wieder aufgetauten Proben durchgeführt werden (96, 100). Es existieren jedoch keine Vergleichsstudien unter der Verwendung von eingefrorenen und frischen Proben. Daher besteht die Möglichkeit, dass eingefrorene und wieder aufgetaute Proben die Messergebnisse beeinflussen. Im Rahmen dieser Studie kann es also durch die Verwendung eingefrorener Proben zu ungenaueren Messergebnissen gekommen sein. Um diese Hypothese zu bestätigen oder zu widerlegen, sollte in weiteren Studien mit den beiden neuen Messmethoden auf diesen Aspekt eingegangen werden. Im vorgesehenen Einsatzgebiet würde ausschließlich mit frischen Proben gearbeitet werden, sodass es bei einer Bestätigung der Hypothese doch zu einem Einsatz der neuen Messmethoden kommen kann.

Weitere Einflussgrößen sind bestimmte Hormone, Proteine und Antikörper im Blut der Patienten. HCG, FSH und LH haben laut Aussage der Firma Veda.Lab keinen Einfluss auf die beiden neuen Messmethoden. Hohe Konzentration an Rheumafaktor, HAMA und CRP hingegen können zu falsch positiven Ergebnissen der neuen Messmethoden führen (96, 100). Die Serumproben wurden im Vorfeld nicht auf die Konzentration dieser Hormone, Proteine und Antikörper getestet. Hohe Konzentrationen haben möglicherweise zu verfälschten Ergebnissen geführt. Auch weitere Faktoren, die Veda.Lab in ihren Informationsbroschüren zu den beiden neuen Messmethoden nicht erwähnt haben, können die Messung beeinflussen. Zu ihnen zählen macro-TSH, Anti-Schilddrüsenhormon-Antikörper, Biotin, Anti-Ruthenium-Antikörper, Anti-Streptavidin-Antikörper und heterophile Antikörper. Einige dieser Erkrankungen haben eine Prävalenz von ca. 1 % (108). Deshalb besteht die Chance, dass auch einige der in dieser Studie gemessenen Proben diese Einflussgrößen beinhalten. Auch sie wurden nicht im Vorfeld bestimmt und können somit zu einer Beeinflussung der Messergebnisse mit den beiden neuen Messmethoden geführt haben.

Eine Störgröße, die die Messung mit den beiden neuen Messmethoden beeinflusst, ist Heparin (96, 100). Im Rahmen dieser Studie wurden jedoch nur Serum-

Monovetten für die Entnahme der Proben verwendet. Ein Hinzufügen von Heparin nach der Blutentnahme kann also ausgeschlossen werden. Allerdings ist nicht bekannt, ob die Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme unter einer Antikoagulation mit Heparin standen, sodass der Einfluss von Heparin auf die Messung dennoch nicht ausgeschlossen werden kann.

Weiterhin wichtig für die Genauigkeit der Messung ist die richtige Verarbeitung der Probe. In der Informationsbroschüre der Firma Veda.Lab zum TSH-check-1 TSH-Ultra wird besonders darauf hingewiesen, dass die eingefrorenen Proben komplett aufgetaut und gut gemischt werden müssen, bevor eine zuverlässige Messung durchgeführt werden kann (96). Im Rahmen dieser Studie wurden alle Proben vollständig aufgetaut und sorgfältig gemischt. Diese Fehlerquelle kann somit ausgeschlossen werden.

#### *5.3.2.2 Analytik*

Die erste mögliche Fehlerquelle der beiden neuen Messmethoden entsteht schon bei der Vorbereitung der Messung. Bei beiden Messmethoden wird eine definierte Menge an Serum in die Öffnung der Messkassette pipettiert. Es wurde jedoch stets darauf geachtet, dass die vorgegebene Menge an Serum eingehalten wird, indem laboreigene Pipetten statt der von Veda.Lab mitgelieferten ungenaueren Pipetten verwendet wurden. Die Ergebnisse dieser Studie sind also trotz einer genauer als vom Hersteller vorgesehenen Durchführung der Messungen schlecht. Dies lässt erwarten, dass die Messergebnisse mit den vom Hersteller mitgelieferten Pipetten noch ungenauer ausfallen würden. In der Praxis ist es jedoch unwahrscheinlich, dass jederzeit hochwertige und genaue Laborpipetten zur Verfügung stehen.

Beim TSH-check-1 TSH-adult ergibt sich ein weiteres Problem mit dem Einhalten einer definierten Menge. Hier muss zusätzlich eine definierte Menge an Pufferlösung in die Messöffnung gegeben werden. Dies erwies sich als schwierig, da die Pufferlösung aus der vom Hersteller gelieferten Pufferflasche direkt in die Öffnung der Messkassette getropft werden musste. Es war also nicht möglich, die vorgegebene Menge an Puffer einzuhalten, auch wenn der Ablauf so weit wie möglich standardisiert wurde, indem fortwährend 5 Tropfen verwendet wurden. Dieser Umstand kann zu den ungenauen Ergebnissen des TSH-check-1 TSH-adult beigetragen haben.

Die Standardmethode, um TSH-Konzentrationen zu messen, ist die immunologische Methode (9, 13, 83). Sowohl die beiden Standardmethoden als auch die beiden neuen Messmethoden arbeiten mit dieser Technik. Es existieren zurzeit vier Generationen an TSH-Assays, die sich in ihrer funktionellen Sensibilität unterscheiden (siehe Tabelle 3) (10, 14). Die aktuelle Empfehlung ist es, nur Testverfahren ab der dritten Generation anzuwenden (9, 14) Sowohl beim Cobas e411 von Roche als auch beim Architect TSH assay i 2000SR handelt es sich um ein Testverfahren der dritten Generation (10) Beim TSH-check-1 TSH-Ultra wird die funktionelle Sensibilität mit 0,2 mIU/l angegeben (96), woraus zu schließen ist, dass es sich um ein Testverfahren der zweiten Generation handelt. Die funktionelle Sensibilität des TSH-check-1 TSH-adult wird mit  $\pm 20\%$  um den Cut Off von 5 mIU/l angegeben (100). Hieraus lässt sich eine funktionelle Sensibilität von 1 mIU/l errechnen. Beim TSH-check-1 TSH-adult handelt es sich also sogar nur um ein Testverfahren der ersten Generation. Beide neuen Messmethoden werden als Testverfahren in der Realität nicht mehr empfohlen.

Nun sollen die verschiedenen Techniken der Messmethoden genauer betrachtet werden. Wie bereits erwähnt, handelt es sich sowohl bei den beiden Standardmethoden als auch bei den beiden neuen Messmethoden um Sandwich-Immunoassays. Beim Architect TSH assay handelt es sich genauer gesagt um ein Chemilumineszenz-Mikropartikel Immunoassay (CMIA) (9). Bei dem verwendeten Fang-Antikörper handelt es sich um einen Anti- $\beta$ -TSH-Antikörper und bei dem Detektions-Antikörper handelt es sich um einen Anti- $\alpha$ -TSH-Antikörper, der mit Acridinium, einem Luminophor, markiert ist. Das bei der durch eine Trigger-Lösung ausgelösten Chemilumineszenzreaktion freiwerdende Licht wird gemessen und ist direkt proportional zu TSH-Konzentration in der Probe (98, 99). Beim Cobas e411 der Firma Roche handelt es sich um ein Elektro-chemilumineszenz-Immunoassay. Beim Fang-Antikörper und beim Detektions-Antikörper handelt es sich jeweils um einen monoklonalen TSH-spezifischen Antikörper. Der Detektions-Antikörper ist mit Ruthenium, ebenfalls einem Luminophor, markiert. Das Reagenz wird zusätzlich mit Hilfe von an den Fang-Antikörper gebundenen paramagnetischen Mikropartikeln und magnetischer Bindung der Immunkomplexe an eine Platinelektrode gewaschen (10, 97, 101). In diesem letzten Schritt der Waschung unterscheidet sich der Cobas e411 vom Architect TSH assay. Die beiden neuen Messmethoden TSH-check-1 TSH-Ultra und TSH-check-1 TSH-adult arbeiten ebenfalls mit einem Anti-TSH-Antikörper als

Fang-Antikörper. Beim Detektions-Antikörper handelt es sich, anders als bei den beiden Standardmethoden, um einen monoklonalen Farb-Antikörper (96, 100, 102). Wichtige Qualitätsmerkmale wie die Sensibilität und die Spezifität sind jedoch stark von den Eigenschaften der verwendeten Antikörper abhängig (80). Die Verwendung anderer Antikörper als bei den Standardmethoden ist eine mögliche Erklärung für die ungenauen Messergebnisse der beiden neuen Messmethoden.

Eine weitere Schwäche der beiden neuen Messmethoden ist die Tatsache, dass die Probe durch eine absorbierende Nitrozellulosemembran fließen muss, um an die Fang-Antikörper zu gelangen (96, 100, 102). Bei diesem Mechanismus könnte es durch nicht sichtbare Verunreinigungen oder Defekte in der Membran dazu kommen, dass nicht alle TSH-Antikörper-Komplexe bis zu den Fang-Antikörpern gelangen.

Ein weiterer fehleranfälliger Faktor ist die Zeit, nach der das Ergebnis abgelesen werden muss. Beim TSH-check-1 TSH-Ultra kann im Easy Reader ein Countdown gestartet werden, der exakt nach den vorgegebenen 20 Minuten die Messung durchführt. Dadurch können Fehler im Bereich der Zeitmessung minimiert werden. Misst man jedoch mehrere Proben hintereinander, so wie es in dieser Studie der Fall war, besteht durch die eigenständige Zeitmessung die Gefahr, die vorgegebene Zeit nicht exakt einhalten zu können. Das Ergebnis des TSH-check-1 TSH-adult muss nach 5-10 Minuten abgelesen werden. Dies birgt das erste Problem, da es keine genau definierte Zeitangabe gibt. Im Rahmen dieser Studie wurde das Ergebnis jeder Messung nach exakt zehn Minuten abgelesen, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Das zweite Problem besteht darin, dass, wie bereits mehrfach erläutert, es zuweilen nicht möglich ist, ein genaues Ergebnis abzulesen. Gerade bei TSH-Werten, die nur knapp über dem Cut Off von 5 mIU/l liegen, ist es häufig nicht möglich, ein eindeutig positives oder ein eindeutig negatives Ergebnis zu erkennen. Die rote Linie, die im Falle eines positiven Ergebnisses erscheint, ist bei diesen TSH-Werten oft unvollständig oder nur sehr schwach zu sehen. In solchen Fällen können die meisten Ablesefehler entstehen.

Das Ergebnis des TSH-check-1 TSH-Ultra muss nicht mit dem bloßen Auge abgelesen werden. Dies übernimmt der Easy Reader. Eine CMOS-Kamera macht ein Bild des Farbstreifens auf der Messkassette und scannt es mit einem Bildbearbeitungsprogramm, das die Saturation der Farbe misst und quantifiziert (102). Der Easy Reader selbst stellt eine Fehlerquelle dar. Er ist sehr klein und

handlich für ein Messgerät, was aber nicht nur Vorteile bringt. Wegen seiner geringen Größe ist es möglich, den Easy Reader leicht zu transportieren, was ihn für seinen Einsatz in Ländern mit einer schwachen Infrastruktur gut geeignet macht. Bei diesem Transport kann es jedoch leicht zu Schäden am Easy Reader kommen, wobei zum Beispiel die Kamera beschädigt werden kann. Bei großen, fest montierten Geräten, wie es bei den beiden Standardmethoden der Fall ist, besteht diese Gefahr nicht. Die Kamera ist auch insofern eine mögliche Fehlerquelle, da durch Staubpartikel oder andere Verschmutzungen im Blickfeld der Kamera oder auf der Linse, die Farbintensität des Bildes herabgesetzt werden und dadurch ein falscher Wert berechnet werden kann. Die hohe Fehleranfälligkeit des Easy Readers kann zu den in dieser Studie ermittelten Ergebnissen beigetragen haben. Diese Theorie wird durch die Tatsache unterstützt, dass die Sensibilität und Spezifität des TSH-check-1 TSH-adult, der kein zusätzliches Gerät für die Messung benötigt, ein wenig besser sind als die Sensitivität und Spezifität des TSH-check-1 TSH-Ultra.

#### *5.3.2.3 Postanalytik*

Die Postanalytik meint die Befundung und Beurteilung der durch die beiden neuen Messmethoden erhaltenen Ergebnisse. Die für beide Messmethoden ermittelten Werte für die Sensitivität und Spezifität zeigen, dass beide Messmethoden nicht in der Lage sind, zuverlässig hypothyreote Patienten herauszufiltern. Es werden nur knapp über 50 % dieser Patienten durch den TSH-check-1 TSH-Ultra und rund 70 % durch den TSH-check-1 TSH-adult erkannt. Mit Hilfe der ROC-Kurven konnte ermittelt werden, dass man die Ergebnisse durch eine Senkung des Cut Offs verbessern könnte. Indem man den Cut Off von 5 mIU/l herabsetzt, erhöht man die Anzahl an als korrekt hypothyreot identifizierten Patienten und verbessert somit die Sensitivität. Im Gegenzug steigt jedoch die Anzahl falsch positiver Ergebnisse an. Alle Ergebnisse positiv getesteter Patienten müssten also zusätzlich mit einer etablierten Messmethode überprüft werden.

## **5.4 Fazit**

Beide neuen Messmethoden sind einfach zu bedienen, liefern innerhalb weniger Stunden das Messergebnis und benötigen weniger Ausrüstung als die

Standardmethoden. In diesen Punkten sind die neuen Messmethoden für einen Einsatz, vor allem in Ländern mit schlechter Infrastruktur und weiten Wegen zur nächstgelegenen medizinischen Einrichtung, geeignet und den beiden Standardmethoden sogar überlegen.

Bezüglich ihrer Präzision liefern die beiden neuen Messmethoden allerdings weniger zufriedenstellende Ergebnisse. Hierbei spielt es keine Rolle, ob die Messungen innerhalb einer Messserie (Intra-Assay-Variabilität) oder in verschiedenen Messserien (Inter-Assay-Variabilität) durchgeführt wurden. Bei beiden Arten der Variabilitätsbestimmung erwies sich die Streuung als annähernd gleich groß. Während beim TSH-check-1 TSH-Ultra in etwa einem Viertel aller Fälle qualitative Abweichungen auftraten, kam es beim TSH-check-1 TSH-adult in etwa einem Fünftel der Fälle zu qualitativen Abweichungen.

In der Auswertung der klinischen Daten setzte sich diese Tendenz fort. Der TSH-check-1 TSH-Ultra lieferte konsequent zu niedrige TSH-Werte im Vergleich zu den beiden Standardmethoden. Ein möglicher Lösungsansatz wäre die Herabsetzung des Cut Offs. In diesem Fall könnten mehr hypothyreote Patienten identifiziert werden. Dies würde jedoch zu einem Anstieg der Anzahl falsch hypothyreot getesteter Patienten führen. Daher wäre es sinnvoll, alle mit dem TSH-check-1 TSH-Ultra als hypothyreot erkannten Proben ein weiteres Mal mit einer der Standardmethoden zu messen, um die falsch positiven Patienten sicher ausschließen zu können. Dies würde sich in der Praxis so gestalten, dass alle Proben mit einem positiven Ergebnis im TSH-check-1 TSH-Ultra zusätzlich an ein Labor versendet werden müssten, um eine weitere Messung mit einer anerkannten Standardmethode durchzuführen. Da der TSH-check-1 TSH-Ultra für den Einsatz in Ländern mit schlechter Infrastruktur vorgesehen ist, ist dies jedoch keine praktikable Lösung. Aufgrund der notwendigen erneuten Messung mit einer etablierten Standardmethode, die nicht vor Ort stattfinden kann, kann den Patienten kein zeitnahes Ergebnis mitgeteilt werden. Der TSH-check-1 TSH-adult zeigte zwar geringfügig bessere Ergebnisse, lieferte jedoch wie der TSH-check-1 TSH-Ultra kein zuverlässiges Ergebnis. Beide Messmethoden sind nicht in der Lage, eine verlässliche Differenzierung von hypothyreoten und nicht hypothyreoten Patienten zu gewährleisten. Aufgrund der unzureichenden Messqualität und der daraus resultierenden Notwendigkeit einer zweiten Kontrollmessung sollten die neuen Messmethoden nicht in infrastrukturell schlecht entwickelten Gebieten eingesetzt

werden. Durch Nutzung der neuen Messverfahren bestünde ein erhöhtes Risiko einer falschen Diagnose und einer daraus resultierenden falschen therapeutischen Entscheidung.

Sollten die neuen Messmethoden trotz der in dieser Studie ermittelten schlechten Ergebnisse Anwendung im klinischen Bereich finden, empfiehlt es sich den TSH-check-1 TSH-Ultra nur mit Serum und nicht mit Plasma durchführen. Auch der TSH-check-1 TSH-adult lieferte bessere Ergebnisse mit Serum. Gerade letzterer ist jedoch als Schnelltest gedacht, der innerhalb kurzer Zeit ein Ergebnis liefert und für dessen Durchführung man möglichst wenig Ausrüstung benötigt. Daher ist es in der Praxis wahrscheinlich nicht möglich, den Test mit Serum durchzuführen, da dies den Zugang zu einer Zentrifuge voraussetzt und die Wartezeit für den Patienten erhöht.

Es existieren zahllose Ansatzpunkte für die Suche nach möglichen Fehlerquellen und damit einer Ursache für die schlechten Messergebnisse. Zu diesem Zweck sind weitere Forschungsvorhaben zu empfehlen. Diese könnten ihr Augenmerk zum einen auf hyperthyreote Proben richten. Auch die Tatsache, ob ein Einfrieren und Wiederauftauen der Proben das Ergebnis verfälscht, sollte im Rahmen weiterer Studien erforscht werden. Außerdem sollte versucht werden, die Messmethoden weiter zu entwickeln und zu verbessern. Der Gedanke, Messmethoden zu entwickeln, die keine voll ausgebaute Infrastruktur benötigen, ist ein wichtiger Schritt in Richtung einer besseren medizinischen Versorgung der Menschen, die in solchen infrastrukturell schwachen Gebieten leben. Diese Idee sollte nicht aufgegeben, sondern weiter verfolgt werden.

## 6 Zusammenfassung

TSH ist ein von der Hypophyse freigesetztes Hormon, das die Schilddrüse steuert und die Bildung der beiden Schilddrüsenhormone  $T_3$  und  $T_4$  in der Schilddrüse anregt.

Zusätzlich existiert ein negativer Feedback-Mechanismus, dessen Wirkungsweise nachfolgend beschrieben wird. Ist die Serumkonzentration an Schilddrüsenhormonen hoch (Hyperthyreose), wird die TSH-Sekretion in der Hypophyse inhibiert. Umgekehrt wird die TSH-Sekretion in der Hypophyse bei niedriger Schilddrüsenhormonkonzentration (Hypothyreose) stimuliert. Aus diesem Grund ist das TSH der ideale Marker, um die Schilddrüsenfunktion zu beurteilen, weshalb die TSH-Messung in der Regel das präferierte erste Verfahren zur Beurteilung der Stoffwechsellage der Schilddrüse ist.

Es existieren bereits viele etablierte Methoden, um den TSH-Wert zu bestimmen, jedoch benötigen all diese Methoden Zeit und ein gut ausgestattetes Labor. Um in Ländern mit schlechter Infrastruktur, in denen die Patienten teilweise einen langen Anreiseweg zur nächstgelegenen medizinischen Versorgungsstation haben, eine schnellere Diagnostik ermöglichen zu können, hat die Firma Veda.Lab zwei neue Messmethoden entwickelt, die den TSH-Wert in kürzerer Zeit im Vergleich zu bisher eingesetzten Verfahren liefern können. Bei den beiden neuen Methoden handelt es sich um den quantitativen Test TSH-check-1 TSH-Ultra und den qualitativen Test TSH-check-1 TSH-adult. Zur Evaluierung der Qualität der Messergebnisse wurden im Rahmen dieser Studie diese neuen Messmethoden mit den etablierten Standardmethoden, dem Architect TSH assay i 2000SR der Firma Abbott und dem Cobas e411 der Firma Roche, verglichen.

Zunächst wurden elf Proben aus frischem Überschussmaterial der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin ausgewählt und um fünf Proben aus dem retrospektiven erkrankten Patientenkollektiv ergänzt, um die Präzision der neuen Methoden mit Hilfe der Intra- und Inter-Assay-Variabilität zu bestimmen und die optimale Probenart herauszufinden.

Im anschließenden Hauptteil dieser retrospektiven Studie wurden 230 Proben von erkrankten Patienten und 91 Proben von gesunden Probanden aufgetaut und

analysiert. Die Proben stammen aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz und wurden im Zeitraum von 2002 bis 2016 zu verschiedenen Forschungszwecken gesammelt und eingefroren. Alle Proben wurden zunächst mit den etablierten Standardmethoden gemessen, um Referenzwerte zu erhalten. Anschließend erfolgte die Messung dieser Proben mittels der beiden neuen Messmethoden und ein qualitativer (richtig-positiv und falsch-positiv bzw. richtig-negativ und falsch-negativ) sowie quantitativer (mediane Abweichung) Vergleich mit den durch die Standardmethoden ermittelten Referenzwerten. In diesem Kontext fand zusätzlich eine Beurteilung der neuen Messmethoden bezüglich Ihrer Handhabung statt.

Bereits im Rahmen der Präzisionsbestimmung zeichnete sich ab, dass die Ergebnisse die Erwartung einer Vergleichbarkeit im Hinblick auf die Zuverlässigkeit mit den etablierten Standardmethoden nicht erfüllen.

Die Messergebnisse zeigten, dass bei einem Viertel bzw. einem Fünftel der getesteten Proben qualitative Abweichungen von den Referenzwerten vorhanden waren. In der quantitativen Messmethode erwies sich die Streuung sowohl bei den Intra-Assay-Messungen als auch bei den Inter-Assay-Messungen als hoch. Diese nicht zufrieden stellenden Ergebnisse setzten sich in der Auswertung der klinischen Daten fort, wobei vor allem im Bereich der Sensitivität mangelhafte Ergebnisse zu verzeichnen waren. In abschließender Betrachtung kann einzig die Handhabung als positiv hervorgehoben werden. Die Messmethoden ließen sich unkompliziert durchführen und lieferten zügig Ergebnisse, ohne dass ein vollständig ausgestattetes Labor benötigt wurde.

Zusammenfassend kann als Ergebnis festgehalten werden, dass die beiden neuen Messmethoden nicht der zuvor definierten Erwartungshaltung gerecht werden konnten. Obwohl die neuen Methoden sich in ihrer Handhabung und Schnelligkeit als vorteilhaft für den Einsatz in infrastrukturell schlecht ausgestatteten Ländern darstellten, kann der angestrebte Einsatz aufgrund der in dieser Studie festgestellten Messungenauigkeiten nicht empfohlen werden. In Zukunft könnte bei einer Verbesserung der Messqualität eine Fortführung des Projekts wiederaufgenommen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Melchert H-U, Görsch B, Thierfelder W. Schilddrüsenhormone und Schilddrüsenmedikamente bei Probanden in den Nationalen Gesundheitssurveys. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 2002.
2. Janssen OE. Kapitel A3: Schilddrüsenhormonwirkung. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 52-67.
3. Carvalho GAd, Paz-Filho G, Junior CM, Graf H. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: Pitfalls on the replacement therapy for primary and central hypothyroidism in adults. 2018;178(6):R231.
4. Gärtner R. Kapitel 21: Hypothyreose. In: Allolio B, Schulte HM, editors. Praktische Endokrinologie. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 178-86.
5. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. The Colorado thyroid disease prevalence study. Archives of internal medicine. 2000;160(4):526-34.
6. Gärtner R. Kapitel B2: Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 92-100.
7. Goede SL, Leow MK, Smit JW, Klein HH, Dietrich JW. Hypothalamus-pituitary-thyroid feedback control: implications of mathematical modeling and consequences for thyrotropin (TSH) and free thyroxine (FT4) reference ranges. Bulletin of mathematical biology. 2014;76(6):1270-87.
8. Chatzitomatis A, Hoermann R, Midgley JE, Hering S, Urban A, Dietrich B, et al. Thyroid Allostasis-Adaptive Responses of Thyrotropic Feedback Control to Conditions of Strain, Stress, and Developmental Programming. Frontiers in endocrinology. 2017;8:163.
9. John R, Christofides N, Spencer CA, Wild D. Chapter 9.2: Thyroid. In: Wild D, editor. The Immunoassay Handbook. 4. Aufl. Amsterdam u.a.: Elsevier; 2013. p. 673-93.
10. Sarkar R. TSH Comparison Between Chemiluminescence (Architect) and Electrochemiluminescence (Cobas) Immunoassays: An Indian Population Perspective. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2014;29(2):189-95.
11. Grußendorf M. Kapitel 19: Hyperthyreose. In: Allolio B, Schulte HM, editors. Praktische Endokrinologie. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 159-69.
12. Luster M, Benker G. Kapitel 15: Diagnostische Methoden bei Schilddrüsenfunktionsstörungen. In: Allolio B, Schulte HM, editors. Praktische Endokrinologie. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 127-39.
13. Rendl J, Reiners C. Kapitel C1: Labordiagnostik und Bildgebung. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 143-58.
14. Brabant G, Luster M, Wallaschofski H, Führer D. Kapitel 3.1: Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen. In: Lehnert H, editor. Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. p. 98-105.
15. Kosack CS, Page AL, Van Hulsteijn LT, Lentjes EG. TSH-CHECK-1 test: diagnostic accuracy and potential application to initiating treatment for hypothyroidism in patients on anti-tuberculosis drugs. PloS one. 2012;7(3):e33704.

16. Gärtner R. Kapitel A4: Regulation der Schilddrüsenfunktion und des - wachstums. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 68-78.
17. Dietrich JW, Landgrafe G, Fotiadou EH. TSH and Thyrotropic Agonists: Key Actors in Thyroid Homeostasis. *Journal of thyroid research*. 2012;2012:351864.
18. Pschyrembel W. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. 264. überarb. Aufl. ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2012.
19. Hintze G. Kapitel C3: Hypothyreose. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Ver.-Ges.; 2004. p. 165-75.
20. Lehnert H, Hintze G. *Endocrinology* 2008. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. 2008;133(25-26):1389-92.
21. Brix TH, Kyvik KO, Hegedus L. Low birth weight is not associated with clinically overt thyroid disease: a population based twin case-control study. *Clinical endocrinology*. 2000;53(2):171-6.
22. Gärtner R. Kapitel 22: Thyreoidits. In: Allolio B, Schulte HM, editors. *Praktische Endokrinologie*. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 187-94.
23. Kahaly GJ, Dietlein M, Gärtner R, Mann K, Dralle H. Amiodaron und Schilddrüsendysfunktion. *Dtsch Arztebl International*. 2007;104(51-52):3550-.
24. Reinhardt W. Kapitel C7: Andere Thyreoiditisformen. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 187-92.
25. Gärtner R. Kapitel C5: Subakute Thyreoiditis. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 181-3.
26. Gärtner R. Kapitel D1: Medikamentöse Therapie. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 237-9.
27. Gärtner R. Kapitel C11: Das Myxödemkoma. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 221-4.
28. Gärtner R. Kapitel C4: Hyperthyreose. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 176-80.
29. Gärtner R. Kapitel B3: Nicht-autoimmun bedingte Schilddrüsenentzündungen. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 101-3.
30. Gärtner R. Kapitel C6: Post partum Thyreoiditis. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 184-6.
31. Burch HB, Cooper DS. Antithyroid drug therapy: 70 years later. *European journal of endocrinology*. 2018;179(5):R261.
32. Bamberger CM. Kapitel 76: Notfälle in der Endokrinologie. In: Allolio B, Schulte HM, editors. *Praktische Endokrinologie*. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 633-42.
33. Gärtner R. Kapitel C10: Thyreotoxische Krise. In: Gärtner R, editor. Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 216-20.
34. Grossmann M, Weintraub BD, Szkudlinski MW. Novel insights into the molecular mechanisms of human thyrotropin action: structural, physiological, and

- therapeutic implications for the glycoprotein hormone family. *Endocrine reviews*. 1997;18(4):476-501.
35. Köhrle J, Schmutzler C. Kapitel A2: Iodstoffwechsel, Schilddrüsenhormonsynthese und -sekretion. In: Gärtner R, editor. *Schilddrüsenerkrankungen: Grundlagen, Diagnostik, Therapie*. 1. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.; 2004. p. 16-51.
36. Vassart G, Dumont JE. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocrine reviews*. 1992;13(3):596-611.
37. Laugwitz KL, Allgeier A, Offermanns S, Spicher K, Van Sande J, Dumont JE, et al. The human thyrotropin receptor: a heptahelical receptor capable of stimulating members of all four G protein families. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93(1):116-20.
38. Brabant G, Prank K, Ranft U, Schuermeyer T, Wagner TO, Hauser H, et al. Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1990;70(2):403-9.
39. Greenspan SL, Klibanski A, Schoenfeld D, Ridgway EC. Pulsatile secretion of thyrotropin in man. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1986;63(3):661-8.
40. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocrine reviews*. 2008;29(7):898-938.
41. Mondal S, Raja K, Schweizer U, Mugesh G. Chemistry and Biology in the Biosynthesis and Action of Thyroid Hormones. *Angewandte Chemie (International ed in English)*. 2016;55(27):7606-30.
42. Köhrle J. Kapitel 3.8: Schilddrüse - physiologische Regulation und Umweltfaktoren. In: Lehnert H, editor. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel*. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. p. 159-69.
43. Krude H, Grüters-Kieslich A. Kapitel 3.2: Schilddrüsenerkrankungen im Kindes- und Jugendalter. In: Lehnert H, editor. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel*. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. p. 105-14.
44. Kahaly GJ, Dillmann WH. Thyroid hormone action in the heart. *Endocrine reviews*. 2005;26(5):704-28.
45. Mincer DL, Jialal I. Hashimoto Thyroiditis. *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC.; 2019.
46. Gottwald-Hostalek U, Uhl W, Wolna P, Kahaly GJ. New levothyroxine formulation meeting 95-105% specification over the whole shelf-life: results from two pharmacokinetic trials. *Current medical research and opinion*. 2016;33(2):169-74.
47. Hashimoto H. Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir*. 1912;97:219-48.
48. Uhliarova B, Hajtman A. Hashimoto's thyroiditis - an independent risk factor for papillary carcinoma. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*. 2017.
49. Kahaly GJ, Dralle H, Luster M, Pitz S. Kapitel 3.3 Autoimmunopathien. In: Lehnert H, editor. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel*. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. p. 114-26.
50. Takami HE, Miyabe R, Kameyama K. Hashimoto's thyroiditis. *World journal of surgery*. 2008;32(5):688-92.
51. Janssen OE, Mehlmauer N, Hahn S, Offner AH, Gartner R. High prevalence of autoimmune thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *European journal of endocrinology*. 2004;150(3):363-9.

52. Brix TH, Kyvik KO, Hegedus L. A population-based study of chronic autoimmune hypothyroidism in Danish twins. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(2):536-9.
53. Gutch M, Bhattacharjee A, Kumar S, Pushkar D. Hashimoto's Encephalitis: Rare Manifestation of Hypothyroidism. *International journal of applied & basic medical research*. 2017;7(3):193-5.
54. Brain L, Jellinek EH, Ball K. Hashimoto's disease and encephalopathy. *Lancet (London, England)*. 1966;2(7462):512-4.
55. Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid autoimmunity and miscarriage. *European journal of endocrinology*. 2004;150(6):751-5.
56. Graves R. New observed affection of the thyroid gland in females. *London Medical and Surgical Journal*. 1835;7:516-7.
57. Basedow C. Exophthalmos durch Hypertrophie des Zellgewebes in der Augenhöhle. *Wochenschrift für die gesammte Heilkunde*. 1840;13:197-204, 20-28.
58. Struja T, Kutz A, Fischli S, Meier C, Mueller B, Recher M, et al. Is Graves' disease a primary immunodeficiency? New immunological perspectives on an endocrine disease. *BMC medicine*. 2017;15(1):174.
59. Genovese BM, Noureldine SI, Gleeson EM, Tufano RP, Kandil E. What is the best definitive treatment for Graves' disease? A systematic review of the existing literature. *Annals of surgical oncology*. 2013;20(2):660-7.
60. Brent GA. Clinical practice. Graves' disease. *The New England journal of medicine*. 2008;358(24):2594-605.
61. Brix TH, Christensen K, Holm NV, Harvald B, Hegedus L. A population-based study of Graves' disease in Danish twins. *Clinical endocrinology*. 1998;48(4):397-400.
62. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A, Fallahi P. Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmunity reviews*. 2015;14(2):174-80.
63. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, Bartalena L, Prummel M, Stahl M, et al. Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *The New England journal of medicine*. 2011;364(20):1920-31.
64. Ponto KA, Kahaly GJ. Kapitel 20: Endokrine Orbitopathie. In: Allolio B, Schulte HM, editors. *Praktische Endokrinologie*. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 170 - 7.
65. Perros P, Hegedus L, Bartalena L, Marcocci C, Kahaly GJ, Baldeschi L, et al. Graves' orbitopathy as a rare disease in Europe: a European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) position statement. *Orphanet journal of rare diseases*. 2017;12(1):72.
66. Conaglen HM, Tamatea JAU, Conaglen JV, Elston MS. Treatment choice, satisfaction and quality of life in patients with Graves' disease. *Clinical endocrinology*. 2018;88(6):977-84.
67. Heufelder AE, Goellner JR, Bahn RS, Gleich GJ, Hay ID. Tissue eosinophilia and eosinophil degranulation in Riedel's invasive fibrous thyroiditis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1996;81(3):977-84.
68. Darouichi M, Constanthin PE. Riedel's thyroiditis. *Radiology case reports*. 2016;11(3):175-7.
69. Falhammar H, Juhlin CC, Barner C, Catrina SB, Karefylakis C, Calissendorff J. Riedel's thyroiditis: clinical presentation, treatment and outcomes. *Endocrine*. 2018;60(1):185-92.
70. Rotondi M, Carbone A, Coperchini F, Fonte R, Chiovato L. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: IgG4-related thyroid autoimmune disease. 2019;180(5):R175-R83.

71. Stagnaro-Green A. Postpartum thyroiditis. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2004;18(2):303-16.
72. Sakaijara M, Yamada H, Kato EH, Ebina Y, Shimada S, Kobashi G, et al. Postpartum thyroid dysfunction in women with normal thyroid function during pregnancy. *Clinical endocrinology*. 2000;53(4):487-92.
73. Mönig H, Harbeck B. Thyreoiditis. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. 2008;133(07):301-4.
74. Abalovich M, Amino N, Barbour LA, Cobin RH, De Groot LJ, Glinoe D, et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(8 Suppl):S1-47.
75. Hansen MP, Kahaly GJ. Autoimmune polyglanduläre Syndrome. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. 2013;138(7):319-30.
76. Husebye ES, Anderson MS, Kampe O. Autoimmune Polyendocrine Syndromes. *The New England journal of medicine*. 2018;378(12):1132-41.
77. Badenhop K. Kapitel 61: Autoimmun polyglanduläre Syndrome. In: Allolio B, Schulte HM, editors. *Praktische Endokrinologie*. 2. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2010. p. 484 - 90.
78. Badenhop K. Kapitel 16.2: Autoimmune polyendokrine Symptome. In: Lehnert H, editor. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel 4 Auflage Stuttgart: Thieme*. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. p. 579-86.
79. Eisenbarth GS, Gottlieb PA. Autoimmune polyendocrine syndromes. *The New England journal of medicine*. 2004;350(20):2068-79.
80. Bidlingmaier M, Schulz C. Kapitel 20: Labordiagnostik in der Endokrinologie. In: Lehnert H, editor. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel*. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. p. 634-40.
81. Reinehr T, de Sousa G, Andler W. Hyperthyrotropinemia in obese children is reversible after weight loss and is not related to lipids. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(8):3088-91.
82. Rauch P, Polifke T. Kapitel 6: Störeffekte bei Immunoassays. In: Raem AM, Rauch P, editors. *Immunoassays*. 1. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag; 2007. p. 243-56.
83. Luttmann W, Bratke K, Küpper M, Myrtek D. *Der Experimentator: Immunologie*. 4. vollst. überarb. u. korr. Aufl. ed. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum; 2014.
84. Raem AM, Goldmann C, Brandt B. Kapitel 1: Einführung in Immunoassays. In: Raem AM, Rauch P, editors. *Immunoassays*. 1. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag; 2007. p. 1-18.
85. Wild D. Chapter 1.2: Immunoassay for Beginners. In: Wild D, editor. *The Immunoassay Handbook*. 4. Aufl. Amsterdam u.a.: Elsevier; 2013. p. 7-10.
86. Schneider P, Meyr M, Schmutzer R, Thamm P. Kapitel 7: Troubleshooting bei der professionellen Entwicklung und Durchführung von ELISAs. In: Raem AM, Rauch P, editors. *Immunoassays*. 1. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag; 2007. p. 257-74.
87. Key G. Kapitel 3: Labormethoden. In: Raem AM, Rauch P, editors. *Immunoassays*. 1. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag; 2007. p. 51-195.
88. Berson SA, Yalow RS, Bauman A, Rothschild MA, Newerly K. Insulin-1131 metabolism in human subjects: demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *The Journal of clinical investigation*. 1956;35(2):170-90.

89. Berson SA, Yalow RS. Quantitative aspects of the reaction between insulin and insulin-binding antibody. *The Journal of clinical investigation*. 1959;38:1996-2016.
90. Avrameas S, Guilbert B. A method for quantitative determination of cellular immunoglobulins by enzyme-labeled antibodies. *European journal of immunology*. 1971;1(5):394-6.
91. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*. 1971;8(9):871-4.
92. Bora U, Chugh L, Nahar P. Covalent immobilization of proteins onto photoactivated polystyrene microtiter plates for enzyme-linked immunosorbent assay procedures. *Journal of immunological methods*. 2002;268(2):171-7.
93. Polifke T, Rauch P. Kapitel 8: Auswertung und Validierung. In: Raem AM, Rauch P, editors. *Immunoassays*. 1. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag; 2007. p. 275-91.
94. Fassl H. *Einführung in die medizinische Statistik Heidelberg, Leipzig: Johann Ambrosius Barth Verlag; 1999.*
95. Davies C. Chapter 1.3: Immunoassay Performance Measures. In: Wild D, editor. *The Immunoassay Handbook*. 4. Aufl. Amsterdam u.a.: Elsevier; 2013. p. 11-26.
96. Veda.Lab. Ultra-TSH-Check-1: Ultra Sensitive Quantitative determination of Thyroid Stimulating Hormone in plasma or serum samples. Alencon: Veda.Lab; 2014.
97. Cobas. Elecsys TSH: Electro-chemiluminescence immunoassay (ECLIA) for the in vitro quantitative determination of thyrotropin in human serum and plasma. Rotkreuz: Roche Diagnostics International AG; 2011.
98. Abbott-Laboratories. Architect TSH. Abbott Park, IL: Abbott-Laboratories; 2015.
99. University of California San Francisco CL. Thyroid Stimulating Hormone on Architect i2000. San Francisco: University of California San Francisco, Clinical Laboratories; 2016.
100. Veda.Lab. TSH-Check-1: Rapid Immunochromatographic test for the determination of Thyroid Stimulating Hormone in whole blood, plasma or serum samples - adult Version. Alencon: Veda.Lab; 2013.
101. AG RDI. Cobas e411: Compendium of Background Information (COBI-CD) Version 1.0. Mannheim: Roche Diagnostics International AG; 2006.
102. Veda.Lab. Easy Reader Lateral-Flow Immunochromatographie-Analysegerät Bedienungshandbuch. Alencon: Veda.Lab; 2015.
103. Veda.Lab. Easy Reader: Useful recommendations for more accurate results during test processing. Alencon: Veda.Lab; 2015.
104. Smith J, Osikowicz G. Abbott AxSYM random and continuous access immunoassay system for improved workflow in the clinical laboratory. *Clinical Chemistry*. 1993;39(10):2063-9.
105. Beckman Coulter I. UniCel DxI Access Immunoassay Systems Brea, California: Beckman Coulter, Inc.; 2018.
106. Mirjanic-Azaric B, Jerin A, Radic Z. Thyroid stimulating hormone values of clinical decisions of hypothyroidism measurement by three different automated immunoassays. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2019;Dec 14:1-5.
107. Yu S, Zhou W, Cheng X, Meng Q, Li H, Hou La, et al. Comparison of Six Automated Immunoassays With Isotope-Diluted Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Total Thyroxine Measurement. *Ann Lab Med*. 2019;39(4):381-7.

108. Favresse J, Burlacu M-C, Maiter D, Gruson D. Interferences With Thyroid Function Immunoassays: Clinical Implications and Detection Algorithm. *Endocrine reviews*. 2018;39(5):830-50.

