

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

“Schnelles TSH-Messverfahren, Wertigkeit und Zuverlässigkeit”
(Rapid TSH-Assay)

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Gernot Ulf Haseloff
aus Kirn

Mainz, 2023

| | |
|------------------------------|-----------------|
| Wissenschaftlicher Vorstand: | XXX |
| 1. Gutachter: | XXX |
| 2. Gutachter: | XXX |
| Tag der Promotion: | 25. August 2023 |

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|------------|
| Abkürzungsverzeichnis | I |
| Tabellenverzeichnis..... | III |
| Abbildungsverzeichnis | V |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 1.1 Thematische Einordnung | 1 |
| 1.2 Zielsetzung..... | 2 |
| 2 Literaturdiskussion..... | 3 |
| 2.1 Schilddrüse und Hormone..... | 3 |
| 2.1.1 Schilddrüse allgemein | 3 |
| 2.1.2 Schilddrüsenhormone T3 & T4 | 3 |
| 2.1.3 TSH..... | 5 |
| 2.2 Thyreotroper Regelkreis..... | 6 |
| 2.3 Schilddrüsenerkrankungen | 9 |
| 2.3.1 Hyper- und Hypothyreose | 9 |
| 2.3.1.1 Hypothyreose | 9 |
| 2.3.1.2 Hyperthyreose | 10 |
| 2.3.2 Morbus Basedow | 12 |
| 2.3.3 Hashimoto Thyreoiditis | 14 |
| 2.4 TSH-Messverfahren..... | 16 |
| 2.4.1 Immunoassay..... | 16 |
| 2.4.1.1 Kompetitiver Immunoassay | 16 |
| 2.4.1.2 Nicht-kompetitiver Immunoassay | 16 |
| 2.4.1.3 Radioimmunoassay (RIA) | 17 |
| 2.4.1.4 Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) | 18 |
| 2.4.1.5 Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA)..... | 18 |
| 2.4.1.6 TSH Neugeborenenenscreening | 19 |
| 2.4.1.7 Qualitätskriterien der TSH-Bestimmung | 20 |
| 2.4.2 Antikörperlabeling | 21 |
| 2.4.2.1 Antikörperkonjugationsmethoden | 22 |
| 2.4.2.2 Streptavidin-Biotin Konjugation | 22 |
| 2.4.2.3 Antibody-drug Conjugates (ADC)..... | 23 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.4.2.4 | Fusionsproteine..... | 23 |
| 2.4.2.5 | Label-freie Biosensoren | 24 |
| 2.4.2.6 | Aptamere..... | 26 |
| 2.5 | Point-of-care-Testing (POCT) | 28 |
| 2.5.1 | Methodik und Testprinzipien verschiedener POCT-Systeme..... | 30 |
| 2.5.1.1 | Immunologische Methoden | 30 |
| 2.5.1.1.1 | Lateral flow Assay..... | 31 |
| 2.5.1.1.2 | Optische Immunoassays..... | 32 |
| 2.5.1.2 | Molekularbiologische Methoden | 33 |
| 2.5.1.2.1 | Polymerase chain reaction (PCR)..... | 33 |
| 2.5.1.2.2 | Isotherme Amplifikation..... | 34 |
| 2.5.1.3 | Blutzuckerbestimmung | 35 |
| 2.5.1.4 | GMR-Biosensoren (gigant magnetoresistance)..... | 36 |
| 3 | Material und Methoden | 38 |
| 3.1 | Methoden | 38 |
| 3.1.1 | Studiendesign | 38 |
| 3.1.2 | Probenkollektive..... | 38 |
| 3.1.2.1 | Retrospektives Kollektiv | 39 |
| 3.1.2.2 | Prospektives Kollektiv | 39 |
| 3.1.2.3 | Kontrollkollektiv | 41 |
| 3.1.3 | Probengewinnung | 41 |
| 3.1.4 | Statistische Auswertung..... | 42 |
| 3.2 | Material | 44 |
| 3.2.1 | Verwendete Geräte..... | 44 |
| 3.2.1.1 | I-calQ-ThyroSpot TSH Assay | 44 |
| 3.2.1.1.1 | Prinzip des i-calQ ThyroSpot TSH Assay | 44 |
| 3.2.1.1.2 | Limitationen und technische Daten des i-calQ ThyroSpot TSH Assays | 45 |
| 3.2.1.1.3 | Anwendung i-calQ ThyroSpot TSH Assay | 45 |
| 3.2.1.2 | Abbott ‚Alinity i‘ | 47 |
| 3.2.1.2.1 | Prinzip des Abbott ‚Alinity i‘ | 48 |
| 3.2.1.2.2 | Limitationen und technische Daten des Abbott ‚Alinity i‘ | 48 |
| 3.2.1.3 | Roche ‚Cobas e411‘ | 49 |
| 3.2.1.3.1 | Prinzip des Roche ‚Cobas E411‘ TSH Assays | 49 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 3.2.1.3.2 | Limitationen und technische Daten des Roche ,Cobas E411' TSH Assays | 49 |
| 3.2.2 | Verwendete Materialien | 50 |
| 3.2.3 | Verwendete Software..... | 50 |
| 4 | Ergebnisse..... | 51 |
| 4.1 | Alinity i TSH Assay (Abbott) vs. Cobas e411(Roche) retrospektives Kollektiv | 51 |
| 4.1.1 | Qualitative Auswertung | 51 |
| 4.1.2 | Quantitative Auswertung..... | 52 |
| 4.2 | Alinity i TSH-Assay (Abbott) vs. Cobas e411(Roche), prospektives Kollektiv | 53 |
| 4.2.1 | Qualitative Auswertung | 53 |
| 4.2.2 | Quantitative Auswertung..... | 53 |
| 4.3 | i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i TSH-Assay (Abbott), retrospektives Kollektiv | 55 |
| 4.3.1 | Qualitative Auswertung | 55 |
| 4.3.2 | Quantitative Auswertung..... | 55 |
| 4.4 | i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i TSH Assay (Abbott), prospektives Kollektiv | 58 |
| 4.4.1 | Qualitative Auswertung | 58 |
| 4.4.2 | Quantitative Auswertung..... | 59 |
| 4.5 | i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv | 62 |
| 4.5.1 | Qualitative Auswertung | 62 |
| 4.5.2 | Quantitative Auswertung..... | 62 |
| 4.6 | i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), prospektives Kollektiv | 66 |
| 4.6.1 | Qualitative Auswertung | 66 |
| 4.6.2 | Quantitative Auswertung..... | 66 |
| 4.7 | I-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), Kontrollkollektiv..... | 70 |
| 4.7.1 | Qualitative Auswertung | 70 |
| 4.7.2 | Quantitative Auswertung..... | 70 |

| | | |
|-----------|---|---|
| 4.8 | i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), Kontrollkollektiv..... | 72 |
| 4.8.1 | Qualitative Auswertung | 72 |
| 4.8.2 | Quantitative Auswertung..... | 72 |
| 4.9 | Interassay-Testung i-calQ | 74 |
| 4.10 | Intraassay-Testung i-calQ | 74 |
| 5 | Ergebnisdiskussion | 76 |
| 5.1 | Einordnung und Vergleich der Messwerte mit anderen Studien | 77 |
| 5.1.1 | Qualitative Auswertung der Messergebnisse..... | 77 |
| 5.1.1.1 | Sensitivität..... | 77 |
| 5.1.1.2 | Spezifität..... | 79 |
| 5.1.1.3 | Positiver prädiktiver und negativ prädiktiver Wert..... | 80 |
| 5.1.2 | Quantitative Auswertung der Messergebnisse..... | 82 |
| 5.1.3 | Präzisionsmessungen..... | 86 |
| 5.2 | Handhabung und Verarbeitung | 87 |
| 5.3 | Fazit | 90 |
| 5.4 | Limitationen der Studienergebnisse..... | 91 |
| 6 | Zusammenfassung | 93 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 95 |
| 8 | Anhang..... | 104 |
| 9 | Danksagung..... | 106 |
| 10 | Lebenslauf | Fehler! Textmarke nicht definiert. |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------------------------|---|
| [Ru(bpy) ₃] ²⁺ | Tris(bipyridine)ruthenium(II) |
| CLSI | Clinical & Laboratory Standards Institute |
| CO ₂ | Kohlenstoffdioxid |
| CTLA | Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4 |
| DIT | Diiodtyrosin |
| DNA | Deoxyribunukleinsäure |
| FAD | Flavin-Adenosin-Dinukleotid |
| FSH | SiFollikelstimulierendes Hormon |
| ft3 | freies Trijodthyronin |
| ft4 | freies Thyroxin |
| GMR | Gigant Magnetoresistance |
| H ₂ O ₂ | Wasserstoffperoxid |
| Hb | Hämoglobin |
| HCG | Humanes Choriogonadotropin |
| INF | Interferon alpha |
| IRMA | Immunradiometrisches Assay |
| LAMP | Loop-Mediated isothermal Amplification |
| LH | Luteinisierendes Hormon |
| MIT | Monoiodtyrosin |
| MRC | Medical Research Council |
| NAD | Nicotinamidadenindinukleotid |
| O ₂ | Sauerstoff |
| PAPP-A | Pregnancy-associated plasma protein A |
| PCR | Polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion) |
| PCSK9 | Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 |
| POCT | Point of care testing |
| PQQ | Pyrrlochinolin-Chinon |
| RIA | Radioimmunoassay |

| | |
|-----------|---|
| RLE | relative Lichteinheiten |
| RNA | Ribonukleinsäure |
| ROC | Receiver operator curve |
| rT3 | reverse Trijodthyronin |
| SARS-CoV2 | severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 |
| SELEX | Systematic evolution of ligands by exponential enrichment |
| ST2 | Suppression Of Tumorigenicity 2 |
| T3 | Trijodthyronin |
| T4 | Thyroxin |
| TBG | Thyroxin-bindendes Globulin |
| TBPA | Thyroxin-bindendes Präalbumin |
| TG | Thyreoglobulin |
| TPA | Tripropylamin |
| TPO | Thyreoperoxidase |
| TRH | Thyreotropin-releasing Hormon |
| TSH | Thyroidea-stimulierendes Hormon, Thyreotropin |
| WHO | World Health Organisation |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Symptome der Hypothyreose | 10 |
| Tabelle 2: Symptome der Hyperthyreose | 11 |
| Tabelle 3: Qualitätskriterien der TSH-Bestimmung (10) | 21 |
| Tabelle 4: Methode der Antikörpermarkierung als Nachweisreaktion in Immunoassays | 26 |
| Tabelle 5: Nachweismethoden ohne markierte Antikörper | 26 |
| Tabelle 6: Unterschiede von Aptameren zu Antikörpern (137) | 28 |
| Tabelle 7: Beispiele für Bereiche in denen POCT-Systeme etabliert sind (138)..... | 30 |
| Tabelle 8: Demographische Daten des retro- und prospektiven Kollektivs | 40 |
| Tabelle 9: schematische Darstellung der 4-Felder-Tabelle | 42 |
| Tabelle 10: verwendete TSH-Messgeräte | 44 |
| Tabelle 11: verwendete Laborgeräte | 44 |
| Tabelle 12: Verwendete Test- und Labormaterialien..... | 50 |
| Tabelle 13: Verwendete Software | 50 |
| Tabelle 14: Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv..... | 51 |
| Tabelle 15: Quantitative Auswertung Cobas e411 (Roche) vs. Alinity i (Abbott), retrospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose..... | 52 |
| Tabelle 16: Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche), prospektives Kollektiv..... | 53 |
| Tabelle 17: Quantitative Auswertung Cobas e411 (Roche) vs. Alinity i (Abbott), prospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose..... | 54 |
| Tabelle 18: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), retrospektives Kollektiv | 55 |
| Tabelle 19: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), retrospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose | 56 |
| Tabelle 20: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i TSH Assay (Abbott), prospektives Kollektiv | 58 |
| Tabelle 21: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), prospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose | 59 |
| Tabelle 22: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, retrospektives Kollektiv . | 62 |
| Tabelle 23: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose | 63 |
| Tabelle 24: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, prospektives Kollektiv.... | 66 |

| | |
|---|----|
| Tabelle 25: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), prospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose | 67 |
| Tabelle 26: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, Kontrollkollektiv | 70 |
| Tabelle 27: quantitative Auswertung, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, Kontrollkollektiv, geordnet nach Diagnosen | 71 |
| Tabelle 28: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, Kontrollkollektiv | 72 |
| Tabelle 29: quantitative Auswertung, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, Kontrollkollektiv, geordnet nach Diagnosen | 73 |
| Tabelle 30: Interassay-Testung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay | 74 |
| Tabelle 31: Intraassay-Testung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay | 75 |
| Tabelle 32: Zusammenfassung der Studienergebnisse im retrospektiven Kollektiv .. | 76 |
| Tabelle 33: Zusammenfassung der Studienergebnisse im prospektiven Kollektiv | 76 |
| Tabelle 34: Zusammenfassung der Studienergebnisse im Kontrollkollektiv | 76 |
| Tabelle 35: Gegenüberstellung der Sensitivitätswerte aus den 4-Feldertafeln und den ROC-Kurven..... | 79 |
| Tabelle 36: angepasste PPW- und NPW-Werte für eine hypothetische Hypothyreoseprävalenz von 5%..... | 81 |
| Tabelle 37: Gesamtzahl an falsche positiven und falsch negativen Messergebnissen der einzelnen Kollektive | 81 |
| Tabelle 38: Gesamtzahl an Proben, die nicht bei der quantitativen Auswertung berücksichtigt werden konnten | 83 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Schilddrüsenhormone T3 und T4 | 4 |
| Abbildung 2: schematische Darstellung des thyrotropen Regelkreises | 7 |
| Abbildung 3: Funktionsweise lateral flow assay | 32 |
| Abbildung 4: Schilddrüsenstatus und Geschlechterverteilung retrospektives Kollektiv | 39 |
| Abbildung 5: Schilddrüsenstatus und Geschlechterverteilung prospektives Kollektiv | 40 |
| Abbildung 6: Geschlechterverteilung retrospektives Kontrollkollektiv | 41 |
| Abbildung 7: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay Einmaltestkassette..... | 47 |
| Abbildung 8: Roche Cobas e411 | 49 |
| Abbildung 9: Streudiagramm mit Regressionsgerade, Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv | 52 |
| Abbildung 10: Streudiagramm mit Regressionsgerade, Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche) prospektives Kollektiv | 54 |
| Abbildung 11: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott) retrospektives Kollektiv | 56 |
| Abbildung 12: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, retrospektives Kollektiv | 57 |
| Abbildung 13: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott) prospektives Kollektiv | 60 |
| Abbildung 14: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, prospektives Kollektiv | 61 |
| Abbildung 15: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, retrospektives Kollektiv | 64 |
| Abbildung 16: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 , retrospektives Kollektiv | 65 |
| Abbildung 17: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSPot TSH-Assay vs. Cobas e411, prospektives Kollektiv | 68 |
| Abbildung 18: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, prospektives Kollektiv | 69 |
| Abbildung 19: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, Kontrollkollektiv | 71 |
| Abbildung 20: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, Kontrollkollektiv | 73 |

Abbildung 21: geschimmelter i-calQ ThyroSpot TSH-Assay Probenpuffer.....89

1 Einleitung

1.1 Thematische Einordnung

Schilddrüsenerkrankungen haben weltweit eine hohe Prävalenz. Nahezu alle Schilddrüsenpathologien können sich dabei auf den Schilddrüsenhormonhaushalt auswirken und somit schwerwiegende Folgen für den Menschen haben. Bezogen auf die Hormonausschüttung wird unterschieden zwischen der Schilddrüsenüberfunktion, der Hyperthyreose, und der Schilddrüsenunterfunktion, der Hypothyreose. Kommt es zur Unterversorgung mit Schilddrüsenhormonen, können beispielsweise in der frühen Kindheit schwere Entwicklungsstörungen (Kretinismus), im späteren Erwachsenenalter Depressionen, langsamer Herzschlag (Bradykardie), Gewichtszunahme und vielseitige, neurologische Störungen entstehen. Eine Überversorgung mit Schilddrüsenhormonen dagegen zeigt sich häufig durch einen schnellen Herzschlag (Tachykardie), Unruhe und erhöhte Reizbarkeit, Erhöhung des Blutdrucks und Gewichtsabnahme. Um diese vielfältigen Folgeerscheinungen adäquat therapieren zu können, ist eine frühzeitige, schnelle und zuverlässige Diagnosestellung in jedem Lebensalter von großer Bedeutung.

Der wichtigste diagnostische Marker für Schilddrüsenfunktionsstörungen ist das Thyreotropin oder Thyroidea-stimulierendes Hormon (TSH). Schon bei geringen Veränderungen der Effektorhormone Thyroxin (T4) und Trijodthyronin (T3) verändert sich das TSH entgegengesetzt überproportional. Es eignet sich daher auch zur Therapiekontrolle bei Schilddrüsenfunktionsstörungen.

Aktuell wird der TSH-Wert meist in großen, medizinischen Laboren aus vorher abgenommenem Patientenblut überregional und relativ kostengünstig bestimmt. Dies ist in dicht besiedelten Ländern wie Deutschland oder den meisten europäischen Staaten auch immer zeitnah möglich, wird aber zum Problem, sobald die nötige Infrastruktur oder die großen Labore in strukturschwächeren Ländern nicht vorhanden sind. Trotzdem ist besonders in diesen Regionen ein Screening auf Schilddrüsenfunktionsstörungen wichtig. Um die Problematik der nichtvorhandenen Infrastruktur zu verbessern, werden fortlaufend neue, sogenannte Point-of-care-Test Methoden (POCT), entwickelt. Diese haben den Vorteil, dass sie direkt beim Patienten, dezentralisiert, Messergebnisse sehr schnell liefern können. Eines dieser

neuen POCT-Geräte soll nun in dieser Doktorarbeit auf seine Zuverlässigkeit geprüft werden, denn trotz des Vorteils der schnellen und lokalen Anwendbarkeit steht die valide Diagnosestellung und somit die Patientensicherheit im Vordergrund.

1.2 Zielsetzung

Das Ziel dieser Doktorarbeit ist es, ein neu entwickeltes, Smartphone-gestütztes TSH-Messverfahren, das ‚i-cal-Q ThyroSpot TSH-Assay‘, auf seine Zuverlässigkeit in der Diagnose von hypothyreoten Schilddrüsenfunktionsstörungen zu untersuchen. Dies soll sowohl qualitativ wie auch quantitativ geschehen. Es werden hierfür die mit diesem Gerät gemessenen TSH-Werte aus Patientenserum mit zwei Standardmethoden der TSH-Bestimmung, dem Cobas e411 von Roche und dem Alinity i von Abbott, verglichen und mit statistischen Methoden ausgewertet. Spezifität, Sensitivität, positive prädiktive und negative prädiktive Werte, wie auch die Inter- und Intraassayvariabilität, sollen die Ergebnisse veranschaulichen. Untersucht werden sowohl Serumproben, die bereits eingefroren vorhanden sind, als auch Proben, die direkt beim Patienten gewonnen werden. Hieraus ergibt sich ein sowohl retro- wie auch ein prospektives Studiendesign.

Des Weiteren soll die praktische Handhabung, bezogen auf die Anwendung außerhalb des Labors unter eventuell wechselnden Bedingungen, kritisch hinterfragt werden.

Anhand der gesammelten Daten und Erkenntnisse soll dann ein Fazit darüber gezogen werden, ob der großflächige Einsatz dieses Gerätes, vor allem in strukturschwächeren Gebieten, empfohlen werden kann.

2 Literaturdiskussion

2.1 Schilddrüse und Hormone

2.1.1 Schilddrüse allgemein

Die Schilddrüse (lat. Glandula thyroidea) ist ein drüsiges Organ, welches sich beim Menschen kaudoverdorsal des Kopfes am Hals befindet. Sie besteht aus zwei miteinander verbundenen Lappen, die beim Mann ein physiologisches Volumen bis 25 ml, bei der Frau bis 18 ml aufweisen (1). Dorsolateral befinden sich an jedem Schilddrüsenlappen mindestens zwei Nebenschilddrüsen, die Glandulae parathyroideae oder Epithelkörperchen. Sie sind eigenständige Organe.

Die Schilddrüse erfüllt im menschlichen Körper die Aufgabe der Schilddrüsenhormonproduktion, deren Speicherung und Abgabe. Da die Schilddrüsenhormone iodhaltig sind, ist die Drüse gleichzeitig der größte Iodspeicher des Menschen. Mithilfe der lebensnotwendigen Hormone hat die Schilddrüse enormen Einfluss unter anderem auf den Stoffwechsel, die Entwicklung und die Homöostase des Organismus. Das ebenfalls in den C-Zellen der Schilddrüse gebildete Calcitonin spielt eine Rolle im Calcium- und Phosphathaushalt. Es sorgt für einen gesteigerten Knochenaufbau indem es Osteoklasten hemmt und reguliert die Calciumrückresorption in der Niere so, dass dieses vermehrt ausgeschieden wird (2).

2.1.2 Schilddrüsenhormone T3 & T4

Die Schilddrüse produziert die beiden Effektorhormone Trijodthyronin (T3) und Thyroxin (T4). Hierfür nehmen die das Kolloid umgebenden Follikelepithelzellen an ihrem basalen Zellpol im Blut transportiertes Iodid mithilfe eines Natrium-Symporters auf. Über einen zweiten Transporter gelangt es apikal in das Follikellumen, in welches auch das Speicherprotein der Schilddrüsenhormone, das Thyreoglobulin (TG), nach dessen Synthese am rauen endoplasmatischen Retikulum der Follikelepithelzelle, abgegeben wird. Das in der äußeren, apikalen Membran der Follikelzelle verankerte Enzym Thyreoperoxidas (TPO) katalysiert nun die weitere Konjunktion zur fertigen Speicherform der Schilddrüsenhormone T3 und T4. Hierzu wird Wasserstoffperoxid (H_2O_2) benötigt, welches in einem vorangegangenen Reaktionsschritt mithilfe des Enzyms Thyrooxidase aus NADPH und O_2 gebildet wird. Dieses H_2O_2 ist nun in der Lage das vorher eingelagerte Jodid zu oxidieren, welches

dann mithilfe der TPO elektrophil an einen Tyrosinrest des TGs gekoppelt werden kann. Es entsteht Monoiodtyrosin (MIT), gebunden an Thyreoglobulin. In einem zweiten Schritt wird erneut unter Zuhilfenahme von H_2O_2 ein Iod-Radikal an MIT gekoppelt, wodurch Diiodtyrosin (DIT) entsteht. In einem abschließenden Reaktionsschritt werden, durch die TPO katalysiert, zwei iodierter Tyrosinreste, nach vorangegangener Oxidation, über eine Etherbindung gekoppelt. Es entstehen Tetraiodthyronyl- und Triiodthyronylreste, wobei das Tetraiodthyronyl den mengenmäßigen Hauptteil darstellt. Die beiden Formen der iodierten Tyrosinreste stellen, an TG gebunden, die Speicherform der Schilddrüsenhormone im menschlichen Körper dar (3).

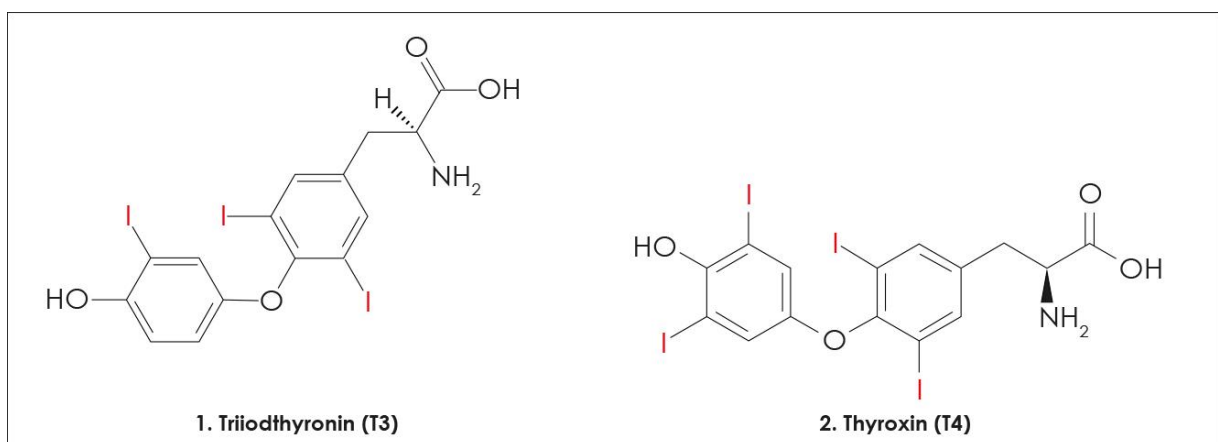


Abbildung 1: Schilddrüsenhormone T3 und T4

Die bedarfsgerechte Freisetzung der Hormone erfolgt über das die schilddrüsenfunktion-steuernde ‚Thyroidea stimulierende Hormon‘ (TSH). Nach Bindung des TSHs an seinen Rezeptor auf den Follikelepithelzellen, kommt es dort zur Endozytose des im Kolloid gespeicherten Thyreoglobulins. Durch Fusion des entstandenen frühen Endosoms mit einem Lysosom werden die Hormone T3 und T4 proteolytisch abgespalten und über Exozytose in die Blutbahn abgegeben. Dort gelangen sie zu >99% gebunden an Trägerproteine an ihren Wirkort (4). Die Hauptvertreter dieser Transportproteine sind das Thyroxin-bindende Globulin (TBG), Thyroxin-bindendes Präalbumin (TBPA), Albumin und Transthyretin. TBG nimmt dabei die wichtigste Stellung ein, da es sowohl T3 als auch T4 binden kann. TBPA und Transthyretin transportieren beide fast ausschließlich T4. Albumin hat dagegen nur eine schwache Bindungsaffinität für beide Hormontypen (5). Circa 0,03 % (T4) und 0,2 % (T3) der Schilddrüsenhormone liegen in freier Form im Blut vor und

werden deshalb als hormonell aktiv bezeichnet (6). Bei der Bestimmung der Schilddrüsenhormone im Labor werden aus diesem Grund meist auch nur die freien Formen fT3 und fT4 bestimmt.

In die Zelle gelangen die Hormone nicht wie lange Zeit vermutet passiv durch Diffusion, sondern aktiv durch Jodthyronintransporter verschiedener Carriertypen, von denen aktuell zehn bekannt sind (7).

Im Blut liegen T4 und T3 im Verhältnis 14:1 (8) bzw. 15:1 (9) vor. An den nukleären Schilddrüsenhormonrezeptoren können aber nur das T3 in seiner nicht gebundenen Form binden und diesen aktivieren. Die Konversion von T4 zu T3 und damit die Aktivierung wird von selenabhängigen Iodthyronin-Deiodasen katalysiert. Durch unterschiedliche Expression dieser aktivierenden Enzyme in verschiedenen Geweben und bei verschiedenen Stoffwechselsituationen, kann eine spezifische Kontrolle der Wirkung von Schilddrüsenhormonen gewährleistet werden. Bisher sind drei Typen dieser Iodthyronin-Deiodasen bekannt, D1, D2 und D3. Sowohl D1 als auch D2 sind hauptsächlich für die Aktivierung von T4 zu T3 zuständig, D3 dagegen hat die Aufgabe der Inaktivierung. Bei dieser Inaktivierung wird ein Iodatom vom Tyrosylrest des T3 entfernt, wodurch entweder reverses Triiodthyronin (rT3) oder 3,3'T2 entsteht. Wird dagegen T4 von D1 oder D2 zu T3 aktiviert, so wird von dessen Phenolring ein Iodatom abgespalten, es entsteht T3 (3).

Neben der variablen Expression der Deiodasen gibt es Unterschiede bei den TR-Rezeptoren selbst, um die Aktivität von T3 zu regulieren. Von diesen Rezeptoren sind beim Menschen bisher fünf verschiedene Typen beschrieben worden. Sie werden aufgeteilt in α und β . Vom β -Typ gibt es TR- β 1 und TR- β 2, vom α -Typ TR- α 1 und TR- α 2, wovon TR- α 2 noch weiter unterteilt werden in TR- α 2-vI und TR- α -vII (4).

2.1.3 TSH

Das Thyroidea-stimulierende Hormon (TSH, Thyreotropin) ist ein von den basophilen Zellen der Adenohypophyse produziertes Glycoproteinormon (10). Es hat eine Gesamtmolmasse von circa 28 kDa und besteht aus zwei Untereinheiten. Die α -Untereinheit, 92 Aminosäuren lang, ist unspezifisch und kommt in dieser Form auch in den Hormonen LH (luteinisierendes Hormon), HCG (humanes Choriogonadotropin) und FSH (Follikelstimulierendes Hormon) vor. Die β -Untereinheit, bestehend aus 112 Aminosäuren, ist dagegen einzig beim TSH zu finden und somit für die spezifische Bindung an den TSH-Rezeptor verantwortlich.

Aus dieser Spezifität ergibt sich labormedizinisch die Möglichkeit der exakten Bestimmung des TSH-Werts im Blut. Die α -Untereinheit ist codiert auf Chromosom 6, die β -Untereinheit auf Chromosom 1. Die Freisetzung von täglich etwa 80 bis 150 mIU TSH (11) aus der Adenohypophyse unterliegt verschiedenen Feedback-Mechanismen (siehe Kapitel 2.2) und verläuft in pulsartigen, circadianen und ultradianen Rhythmen. So konnte gezeigt werden, dass es in den frühen Morgenstunden zur größten TSH-Freisetzung kommt, ein Minimum dagegen am Nachmittag zwischen 16 und 18 Uhr vorherrscht (12–14). Bei der Bestimmung des TSH-Werts von Patienten und der damit verbundenen Diagnostik muss dieser Umstand der intraindividuellen Variabilität bedacht werden (12). Die Halbwertszeit von TSH liegt bei 50 min., die TSH-Probenstabilität von Blutserum oder Blutplasma bei 4 - 8°C 7 Tage, bei -20°C 6 Monate. International wird der TSH-Wert in mIU/L angegeben (10).

Durch Bindung des Hormons an seinen Rezeptor kommt es neben verschiedenen weiteren Signalkaskaden unter anderem zur Aktivierung der Adenylatzyklase, wie auch der Proteinkinase C. Mit Hilfe verschiedener daraus resultierender Genprodukte wird dann in den Follikel epithelzellen das Wachstum der Schilddrüse selbst, die Iodid-Aufnahme, die Produktion, wie auch die Freisetzung der Schilddrüsenhormonen T3 und T4 gesteuert (11).

2.2 Thyreotroper Regelkreis

Den Schilddrüsenhormonhaushalt im Gleichgewicht zu halten, ist eine wichtige Aufgabe des Körpers. Zusätzlich zu den schon beschriebenen Mechanismen der unterschiedlichen Aktivierung der Schilddrüsenhormone und der heterogenen Rezeptorverteilung (siehe Kap. 2.1.3.2), gibt es mehrere positive und negative Feedback-Mechanismen, die in einem Regelkreis (Astwood-Hoskins-Regelkreis) die Ausschüttung von Schilddrüsenhormonen steuern (15,16).

Die Hormonsezernierung von T3 und T4 aus der Schilddrüse steht unter Kontrolle des Thyroidea-Stimulierenden Hormons (TSH) aus der Adenohypophyse. Diese wiederum wird durch das Tripeptid-Hormon ‚Thyreotropin-Releasing Hormon‘ (TRH) aus dem Hypothalamus gesteuert. Alle drei Instanzen bilden die endokrine Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse, in welcher es zur Feinregulierung negative und positive Rückkopplungsmechanismen gibt.

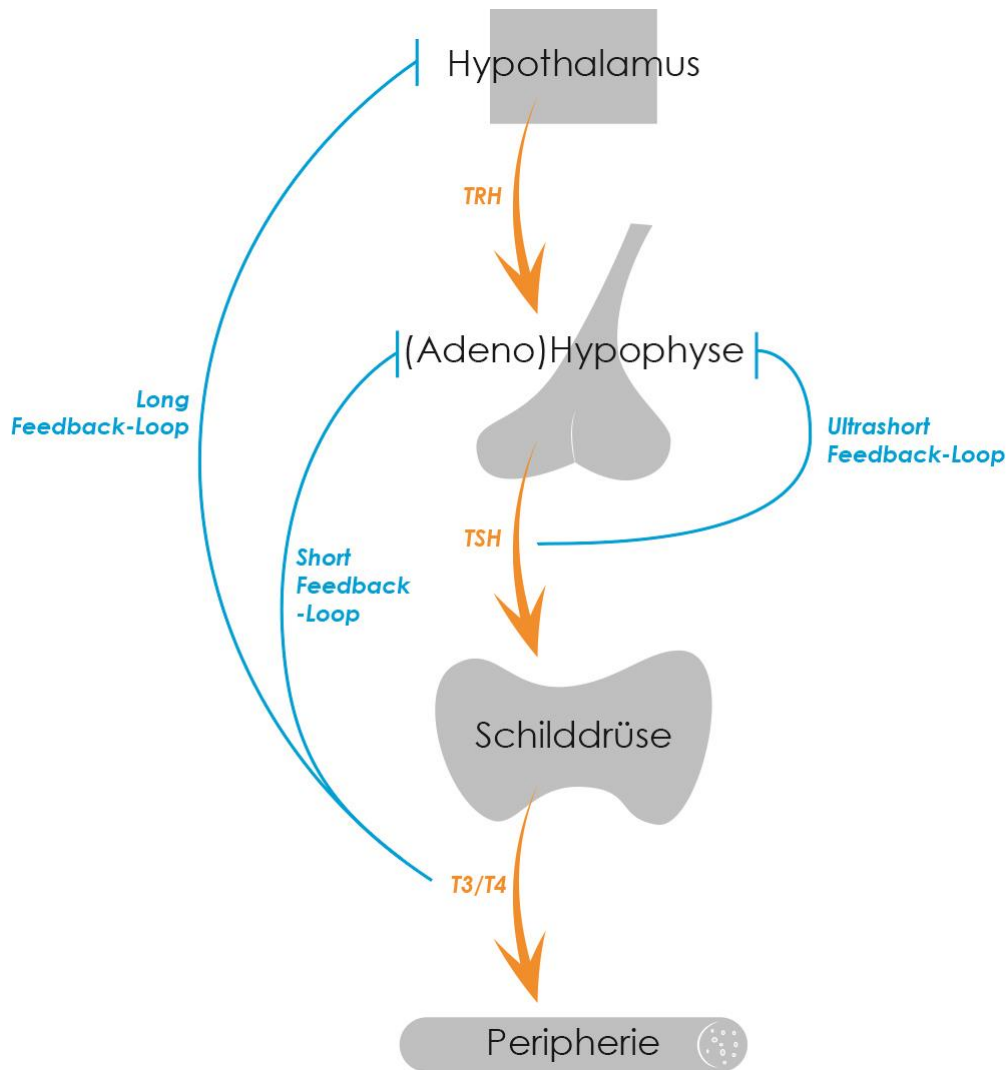


Abbildung 2: schematische Darstellung des thyreotropen Regelkreises

Hohe Level an zirkulierendem T3 und T4 hemmen sowohl die TRH- wie auch die TSH-Ausschüttung auf den jeweiligen Ebenen. Entgegengesetzt stimulieren niedrige Hormonlevel die Sezernierung der beiden Hormone. Die Kopplung zwischen T3 und TRH wird auch als ‚Long-Feedback‘ oder ‚Fekete-Lechan-Loop‘ bezeichnet (17). Gewährleistet wird diese Kontrolle unter anderem über Bindungsstellen von T3-Rezeptoren an ‚thyroid hormone response elements‘ (TRE) auf dem Genabschnitt, welcher für TRH codiert. Bindet dort ein T3-Rezeptorkomplex, so wird die Expression des Hormons gehemmt. Gleiches gilt für die Produktion von TSH in der Hypophyse. Auch dieses Hormon wird durch Bindung von T3-Rezeptorkomplexen an TREs vermindert hergestellt (11). Dieser Feedbackmechanismus wird als ‚Short Feedback Loop‘ bezeichnet (18).

Es konnte von M. Wiersinga, M. Prummel und L. Brokken et al. gezeigt werden, dass auch freies TSH wiederum hemmend auf die eigene Freisetzung, also auto- bzw. parakrin, aus den basophilen Zellen der Adenohypophyse rückwirkt. Diese negative Rückkopplung wird deshalb als ‚Brokken-Wiersinga-Prummel Loop‘ oder ‚Ultrashort-Feedback-Loop‘ bezeichnet. Durch diesen Mechanismus kann eine überschießende TSH-Antwort verhindert werden. Bei Patienten mit Morbus Basedow, einer Erkrankung bei der stimulierende Autoantikörper gegen den TSH-Rezeptor diesen dauerhaft aktivieren, kann es nach erfolgter Behandlung und Wiederherstellung der Euthyreose, durch die para- bzw. autokrine Wirkung der Autoantikörper zu falsch niedrigen TSH-Werten bei gleichzeitig normalen fT4-Werten kommen (19,20).

Neben TRH, TSH, T3 und T4 nehmen auch Medikamente und andere körpereigene Stoffe Einfluss auf die beschriebene Achse. Bei den körpereigenen spielen Glucocorticoide, Somatostatin und Dopamin eine wichtige Rolle. Alle drei hemmen die Ausschüttung von TSH aus der Hypophyse (21). Medikamentös wird dies durch Dopaminagonisten aber auch Metformin induziert (22). Auf Schilddrüsenebene kann durch die Einnahme von Lithium die Freisetzung der Effektorhormone T3 und T4 gehemmt werden. Auch daraus resultiert eine Hypothyreose (23). Eine Hyperthyreose kann hingegen durch die Einnahme des Medikaments Amiodaron ausgelöst werden, welches zu 37% seiner molekularen Masse aus Iod besteht (24).

2.3 Schilddrüsenerkrankungen

2.3.1 Hyper- und Hypothyreose

Eine Hyper- bzw. Hypothyreose bezeichnet, neben dem physiologischen Schilddrüsenfunktionszustand, der Euthyreose, zwei pathologische Schilddrüsenverhältnisse, die sich auf die Hormonproduktion und Sezernierung beziehen. Wird zu viel Schilddrüsenhormon T3 und T4 freigesetzt, so spricht man von einer Hyperthyreose. Als Reaktion darauf sinkt der im Blut gemessene TSH-Wert. Wird zu wenig T3 und T4 ausgeschüttet, so spricht man von einer Hypothyreose, das TSH würde reflektorisch steigen (5).

2.3.1.1 Hypothyreose

Die Hypothyreosen können nach verschiedenen Gesichtspunkten gegliedert werden. Zum einen kann zwischen angeborener (kongenitaler) und erworbener Pathologie differenziert werden. Die angeborene Variante ist in den meisten Fällen auf eine Fehlentwicklung (Dysplasie) oder eine nicht abgeschlossene Entwicklung (Aplasie) der Schilddrüse zurückzuführen (25). Des Weiteren kann in primär, sekundär und tertiär differenziert werden. Die primären Hypothyreosen haben ihren Ursprung in der Schilddrüse selbst, die Sekundären in einer Pathologie der Hypophyse und die Tertiären im Hypothalamus. Zur genaueren Beschreibung des Schweregrades kann zwischen manifester und latenter Hypothyreose unterschieden werden. Bei der manifesten sind sowohl die Effektorhormone T3 und T4 sowie das TSH erniedrigt, bei der latenten nur das TSH (26).

| Organsystem: | Symptome: |
|------------------------------|--|
| Organübergreifend | Kälteintoleranz, Leistungsminderung, Müdigkeit, Gewichtszunahme (25,26) |
| Schilddrüse | Strumabildung, verkleinerte Schilddrüse (26) |
| Herz und Herzkreislaufsystem | Bradycardie, Perikarderguss, Hypotonie (25), Herzinsuffizienz (4,26) |
| Augen | Lidödem (25), Exophthalmus (M. Basedow) (26) |
| Haut | Trockene, kühle Haut, Haarausfall, prätibiales Myxödem (4,26) |
| Lunge | Hyperkapnie (26) |
| Nervensystem | Kind: Kretinismus (4,25) Antriebsarmut (25), Depression (25), Hyporeflexie, Koma, Konzentrationschwierigkeiten (26) |
| Niere | Verminderte Epo-Synthese (4) |
| Muskeln, Skelett, Zähne | Atrophie, Muskelschwäche, hohe CK, verspätetes Zahnen (4,26) |
| Magen-Darm | Obstipation (4,25), Appetitlosigkeit (26) |
| Sexualität | ♂: verminderte Libido (25), Impotenz (4,26) ♀: Infertilität, Zyklusstörungen (25), Menorrhagien (4), Amenorrhagien (26) |

Tabelle 1: Symptome der Hypothyreose

2.3.1.2 Hyperthyreose

Die Hyperthyreose lässt sich anhand ihres Schweregrades oder der zugrundeliegenden Ursachen einteilen. Beim Schweregrad wird unterschieden zwischen subklinischer bzw. latenter und manifester Hyperthyreose sowie der Maximalvariante der thyreotoxischen Krise. Bei der subklinisch/latenten Form ist das TSH erniedrigt und die Effektorhormone noch im Referenzbereich, der Patient ist

meist symptomlos. Die manifeste Hyperthyreose zeichnet sich durch ein niedriges TSH, erhöhte periphere Schilddrüsenhormone fT3 und fT4, sowie dem typischen Beschwerdebild eines Überangebots dieser Hormone, aus. Kommt es darüber hinaus akut-krisenhaft zu einer massiven Freisetzung von Schilddrüsenhormonen, so handelt es sich um eine thyreotoxische Krise. Dies kann aufgrund einer vorbestehenden Autoimmunthyreopathie oder nach Iodexposition auftreten (27). Die Ursache einer Hyperthyreose kann in einer zu hohen Dosierung von Schilddrüsenhormonen (iatrogene Hyperthyreose oder Hyperthyreosis facticia), auslösenden Medikamenten (beispielsweise Amiodaron), entzündlichen sowie autoimmunen Pathologien (M. Basedow), benignen und malignen Autonomien der Schilddrüse sowie paraneoplastischen Veränderungen und hypophysärer Überstimulation liegen (27–29).

| Organsystem: | Symptome: |
|------------------------------|---|
| Organübergreifend | Wärmeintoleranz(28,30), Gewichtsverlust(28,30), subfebrile Temperaturen (30), Schwitzen (27) |
| Schilddrüse | Strumabildung(28,30) |
| Herz und Herzkreislaufsystem | Tachykardie(11,14, 12), Rhythmusstörungen (11,14, 12), gesteigerte Blutdruckamplitude (27,30), systolische Hypertonie(27,30) |
| Augen | Endokrine Orbitopathie + Exophthalmus (M. Basedow)(28,30) |
| Haut | Warme und feuchte Haut, Myxödem (M. Basedow)(28,30) |
| Nervensystem | Feinschlägiger Tremor der Finger (27,30), erhöhte Nervosität(27,30), Gereiztheit(30), Schlafstörungen(30), emotionale Labilität(11, 12) |
| Muskeln, Skelett, Zähne | Myopathie(14,12), Osteoporose (27,30), Akropachie (M. Basedow)(28,30), Alopezie(27) |
| Stoffwechsel | Pathologische Glukosetoleranz(27,30), Fettleber(30), Hunger (27,28) |
| Magen-Darm | Gesteigerte Stuhlfrequenz(27,28,30) |
| Sexualität | Zyklusstörungen(27,30), Infertilität(30) |

Tabelle 2: Symptome der Hyperthyreose

2.3.2 Morbus Basedow

Morbus Basedow, im englischen Sprachgebrauch als Graves' Disease (GD) bezeichnet, ist eine Autoimmunerkrankung der Schilddrüse, die mit einer Hyperthyreose, einer Strumabildung und mit Beteiligung der Augen einhergehen kann (30). Diese markanten Symptome werden in der Merseburg Trias zusammengefasst. Die Hyperthyreose wird dort mit Tachykardie, die Beteiligung der Augen, mit Exophthalmus genauer beschrieben. Morbus Basedow ist der häufigste Grund für eine Hyperthyreose (31). Die Prävalenz liegt in Nicht-Jodmangelgebieten bei etwa 0,5 – 2% der Frauen. Männer sind 10 mal seltener betroffen (32). Die Prävalenz zeigt sich erhöht in Jodmangelgebieten (33). Das mittlere Erkrankungsalter bei Frauen liegt bei 43 Jahren (31). Auch bei Kindern ist der Morbus Basedow zu finden, dort jedoch seltener als bei Erwachsenen. Die in einer schwedischen Studie angegebenen Fallzahlen für Jugendliche reichen von 1 – 5% aller neu diagnostizierten Patienten (34). Für die Erkrankung prädisponierende Faktoren können genetischer-, endogener- oder auch umweltbezogener Herkunft sein (35). Zu den genetischen Faktoren werden die HLA-Gene DR3 und DQA1*0501 gezählt, wobei es auch protektive HLA-Varianten zu geben scheint (36,37). Weiterhin zeigen Träger von Polymorphismen im CTLA-4 Gen in verschiedenen ethnischen Gruppen eine erhöhte Anfälligkeit für die Erkrankung (35). Zigarettenrauchen gilt als Risikofaktor und verschlechtert zudem die Wirksamkeit gängiger Therapieschemata (38). Es besteht darüber hinaus eine starke positive Korrelation zum Auftreten der endokrinen Orbitopathie (EO), einer Manifestation des Morbus Basedow an den Augen (39). Als stärkster prädisponierender, endogener Faktor gilt das weibliche Geschlecht (40).

Die Pathogenese beruht auf einer Aktivierung autoreaktiver T- und B-Zellen gegen den TSH-Rezeptor, welcher sich neben den Schilddrüsenepithelzellen auch auf den Fibroblasten und Präadipozyten des retrobulbären Gewebes der Orbita befindet (41). Die von den aktivierten B-Zellen gebildeten Autoantikörper (TRAK, Thyreotropin-Rezeptor-Autoantikörper) sind in der Lage den TSH-Rezeptor zu stimulieren. Dies führt zu einer gesteigerten Freisetzung von Schilddrüseneffektorhormonen, zum anderen aber auch zur Hyperplasie und Hypertrophie der Schilddrüse mit resultierender Strumabildung (42–44). Neben aktivierenden Autoantikörpern gibt es auch blockierende Autoantikörper, die parallel

vorliegen können und somit das klinische Bild der Hyperthyreose und der Erkrankung selbst stark beeinflussen können (45). Die Diagnose stützt sich auf laborchemische und apparative Verfahren sowie auf klinische Befunde. In der Blutuntersuchung sind typischerweise fT3 und fT4 erhöht, sowie TSH im Zuge des negativen Feedbackloops supprimiert. Positive TRAK-Autoantikörper sind beweisend für die Erkrankung, müssen aber nicht zwingend vorliegen. TPO- und TG-Autoantikörper können ebenfalls positiv sein. In der Bildgebung wird meist eine Ultraschalluntersuchung genutzt um Veränderungen darzustellen. Die Drüse zeigt sich hierbei oft unregelmäßig vergrößert und echoarm. In der Dopplersonografie wird eine Hypervaskularisierung als Zeichen der gesteigerten Stoffwechsellistung der Entzündung sichtbar. In seltenen Fällen kann eine zusätzliche Schilddrüsenszintigrafie induziert sein (46–49). Klinisch präsentieren sich Patienten mit nicht therapiertem Morbus Basedow mit den typischen Zeichen der Hyperthyreose und nicht selten mit vorliegender Beteiligung der Augen in Form einer endokrinen Orbitopathie (47). Die Therapie des Morbus Basedow basiert auf drei Säulen, medikamentös, chirurgisch und radiologisch. Primär wird bei jedem neu diagnostizierten Patienten der euthyreote Funktionszustand der Schilddrüse angestrebt. Dies wird mittels medikamentöser Behandlung versucht. Hierzu finden vor allem Thionamide wie Propylthiouracil oder Thiamazol Anwendung (46,50). Ist eine dauerhafte Einnahme von Thyreostatika nicht gewünscht, sollte eine Schwangerschaft angestrebt sein oder führt die Medikamenteneinnahme zu keinem ausreichenden Ergebnis, so kann chirurgisch eine Thyreoidektomie vorgenommen werden. Zur Risikominimierung sollte dazu Euthyreose vorliegen (50). Bei der chirurgischen Behandlung kann es jedoch, genau wie auch bei der Radioiodtherapie, im Anschluss zur lebenslänglich notwendigen Hormonsubstitution kommen (51). Bei der Radioiodtherapie wird dem Patienten radioaktives Iod (^{131}I) in Kapselform verabreicht. Dieses Iod hat eine kurze Halbwertszeit und zerfällt unter Bildung von β -Strahlung zu stabilen Xenonatonen. Da Iod fast ausschließlich in der Schilddrüse gespeichert wird, kann die DNA-schädigende Wirkung sehr zielgenau angewendet werden. Durch die DNA-Schäden kommt es, neben anderen schädigenden Wirkungen der Strahlung, in weiterer Folge zur Einleitung von Apoptose in den Schilddrüsenzellen (52).

2.3.3 Hashimoto Thyreoiditis

Die Hashimoto Thyreoiditis, auch als chronische lymphozytäre Thyreoiditis bezeichnet, wurde nach ihrem Erstbeschreiber, dem japanischen Arzt Hakaru Hashimoto, benannt (53). Es handelt sich um eine hauptsächlich T-Zell-vermittelte Autoimmunerkrankung der Schilddrüse, die mit einer chronischen Entzündung sowie Hypothyreose einhergeht (54,55). In der Anfangsphase der Erkrankung kann es aufgrund der Zerstörung des Schilddrüsengewebes zu einer vorübergehenden Hyperthyreose kommen (56).

Die Hashimoto Thyreoiditis hat einen hohen medizinischen Stellenwert. Epidemiologische Studien beschreiben sie als die häufigste Autoimmunerkrankung des Menschen und als den Hauptgrund für primäre Hypothyreosen (57,58). Frauen sind wesentlich häufiger betroffen als Männer, das Verhältnis liegt bei mindestens 8:1 (59). Die Inzidenz der Erkrankung liegt bei 1:1000 Personen, die Prävalenz wird angegeben mit Werten von 8:1000 (57) bis hin zu 46:1000 Menschen (60) je nachdem, ob entweder biochemische oder klinische Merkmale zur Definition herangezogen werden. Bei Jugendlichen und Kindern tritt die chronische lymphozytäre Thyreoiditis wesentlich seltener auf, betrifft dort jedoch auch häufiger das weibliche Geschlecht (61).

Die genaue Ätiologie der Erkrankung ist bislang nicht vollständig geklärt. Diverse Studien legen aber nahe, dass es sich um eine Kombination aus genetischer Disposition bzw. Anfälligkeit, epigenetischer Veränderungen und Umwelteinflüssen handeln muss. So wurden beispielsweise Morphismen der HLA-Gene DR3, DR5 sowie HLA-DR β 1, FOXP3, CD25 und CTLA-4 als mögliche Faktoren entdeckt (62–65). Zu den epigenetischen Einflüssen, die zur Entstehung der Krankheit beitragen können, wurde beispielsweise von Stefan et al. 2011 eine durch INF α (Interferon alpha) getriggerte, IRF-1-abhängige (Interferon regulatory factor 1), stark gesteigerte Transkription des TG-Gens (Thyreoglobulin) beschrieben, welches eine entscheidende Rolle im Krankheitsprozess spielt (66). INF α wird im Menschen von Zellen des Immunsystems nach erkannter Infektion mit viralen Erregern produziert (67). Kommt es hierdurch zu einer dauerhaft gesteigerten Expression oder einer Stilllegung von Genen, so spricht dies für eine epigenetische Beteiligung an der Krankheitsentstehung (68). Eine zu hohe Iodversorgung der Bevölkerung wird als einer von vielen Umweltfaktoren, die zu einer erhöhten Inzidenz von Hashimoto Thyroiditis führt, angesehen. Eine Studie aus dem Jahr 2013, die eine italienische

Bevölkerungsgruppe aus einem Jodmangelgebiet über 15 Jahre bei freiwilliger Jodsupplementierung beobachtet hat, konnte zeigen, dass es signifikante Steigerungen sowohl beim Auftreten von Schilddrüsenautoantikörpern sowie der Hashimoto Thyreoiditis selbst gab (69). Bezogen auf das Auftreten der Autoantikörper konnte jedoch auch gezeigt werden, dass es sich eventuell um einen reversiblen Prozess bei Beendigung der Iodsupplementierung handeln könnte (70). Weitere Umwelteinflüsse können die Einnahme von bestimmten, oft immunmodulatorischen Medikamenten sein, hierzu gehören unter anderem INF- α (71) und Alemtuzumab (72), sowie die Infektion mit dem Hepatitis C Virus (73). Diagnostiziert wird die Erkrankung durch laborchemische- sowie apparative Untersuchungen in Kombination mit dem klinischen Bild des Patienten. Es finden sich in 95% der erkrankten Personen Antikörper gegen TPO sowie in etwa 60 – 80% Antikörper gegen Thyreoglobulin im Blut (59). In sehr frühen Stadien der Erkrankung kann es vorübergehend zu Zeichen der Hyperthyreose kommen mit erniedrigten TSH- und erhöhten fT3- und fT4-Werten, dies wendet sich aber ins Gegenteil mit voranschreitender Erkrankungsdauer. Resultierend sind ein erhöhtes TSH und erniedrigte freie Schilddrüsenhormone. Beweisend sind laborchemische Anzeichen für eine Hypothyreose allerdings nicht, da es auch euthyreote Verlaufsformen gibt (74). Die Ultraschalluntersuchung der Schilddrüse stellt ein weiteres wichtiges Standbein in der Diagnostik und Differenzierung von Schilddrüsenerkrankungen dar (75). Es zeigt sich hierbei oft ein inhomogenes, echofreies Bild der Drüse, die sich oft verkleinert darstellt. Ein Struma muss nicht vorliegen (74). Die Erkrankung gilt bis heute als unheilbar, ist jedoch gut therapierbar. Hierbei kommt der Hormonsubstitution bei vorliegender Hypothyreose die Hauptrolle zu (76). Über mögliche Vor- und Nachteile einer Hormonbehandlung bei vorliegender Euthyreose gibt es unterschiedliche Studienlagen (77,78).

2.4 TSH-Messverfahren

2.4.1 Immunoassay

Die Standardmethoden zur diagnostischen Messung von TSH beruhen seit einigen Jahren hauptsächlich auf Immunreaktionsnachweisen in Form von Immunoassays. Hierbei wird die Eigenschaft von Antikörpern genutzt, sehr spezifisch Epitope auf den jeweils gesuchten Analyten zu erkennen und zu binden. Es wird unterschieden zwischen kompetitiven- und nicht-kompetitiven, sowie zwischen direkten und indirekten Immunoassays.

2.4.1.1 Kompetitiver Immunoassay

Das Prinzip der kompetitiven Immunoassays beruht auf einer Konkurrenz um freie Antikörperbindungsstellen für den zu bestimmenden Analyt in Anwesenheit des gleichen, jedoch markierten Analyten (z.B. radioaktive Markierung). Aus einer Verdünnungsreihe bekannter Konzentrationen des markierten Analyten kann somit auf die Konzentration des nachzuweisenden Stoffes geschlossen werden. Ist viel des gesuchten Stoffes in der Probe vorhanden, so wird weniger markierter Analyt gebunden, weshalb das anschließende Messsignal entsprechend schwächer ausfällt. Dieses Assayprinzip eignet sich vor allem für sehr kleine Analyte (bspw. Haptene), bei denen nur eine Antikörperbindungsstelle vorhanden oder bekannt ist (79,80).

2.4.1.2 Nicht-kompetitiver Immunoassay

Das Prinzip der nicht-kompetitiven Immunoassays beruht auf der spezifischen Bindung mindestens zweier unterschiedlicher Antikörper an dem zu messenden Analyten. Der sich in Probe befindende, gesuchte Stoff wird von stationär gebundenen bzw. stationär zu bindenden Antikörpern erkannt und festgehalten. Analog dazu wird mittels eines zweiten, für den Analyten spezifischen und markierten Antikörper, die Nachweisreaktion ermöglicht. Hat dieser zweite Antikörper sein Ziel gebunden, so entsteht ein Komplex aus Antikörper-Antigen-Antikörper. Diese markante Anordnung wird dann auch als Sandwich, der ganze Assay als Sandwich-Immunoassay, bezeichnet. Ist viel gesuchter Stoff in der Probe vorhanden, so wird

viel von diesem Stoff stationär gebunden und über den zweiten Antikörper nachgewiesen. Ein starkes Messsignal ist somit direkt proportional zu einer hohen Stoffkonzentration (81).

Das Prinzip des Sandwich-Immunoassays wird oftmals um einen zweiten Nachweisantikörper erweitert, der dann nur den Fc-Teil des ersten Nachweisantikörpers erkennt. Diese indirekte, mehrschrittige Vorgehensweise trägt zu einer Reduktion der Kosten des Assays bei, da mit einem zweiten Nachweisantikörper viele verschiedene spezifische erste Antikörper nachgewiesen werden können, ohne dass diese selbst, in aufwendigen Prozessen, mit Labelmolekülen konjugiert werden müssen.

Es existieren sehr viele unterschiedliche Immunoassaymethoden, von denen sich jedoch nur wenige auf Grund ihrer relativ einfachen Automatisierbarkeit durchgesetzt haben.

2.4.1.3 Radioimmunoassay (RIA)

Der Radioimmunoassay (RIA) wird zur Gruppe der kompetitiven Immunoassays gezählt. Das gesuchte Antigen wird in Anwesenheit des gleichen, jedoch radioaktiv markierten Antigens in einem Probengefäß inkubiert. Beide Analyte konkurrieren um die freien Antikörperbindungsstellen (82). Nach dem anschließenden Waschschrift kann mit Hilfe einer γ -Kamera die Zerfallsrate bestimmt und somit auf die in der Probe vorhandene Menge an Analyt zurückgeschlossen werden. Das am häufigsten verwendete Radioisotop ist ^{125}I (83). Es besitzt eine Halbwertszeit von 60 Tagen. Weiterhin werden ^3H , ^{57}Co (Cobalt) und ^{14}C genutzt (84). Eine Weiterentwicklung des RIA ist der Immunradiometrische Assay (IRMA). Er ist die nicht-kompetitive Variante des RIAs und funktioniert über einen zweiten, analyten-spezifischen, gelabelten Antikörper, der den am ersten Antikörper gebundenen Analyten markiert (85). Der Nachweis läuft dann analog zum RIA, das Ergebnis ist aber in diesem Fall direkt proportional. Der RIA wurde bereits Ende der fünfziger Jahre von Solomon A. Berson und Rosalyn Yalow beschrieben, wofür R. Yalow 1977 den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin gewann (86). Aufgrund der diversen Schwierigkeiten im Umgang mit radioaktiven Materialien, wie zum Beispiel der Lagerung, des natürlichen Zerfalls oder der Beseitigung von Abfällen, wurden in den darauffolgenden Jahren viele nicht-strahlende Immunoassays entwickelt.

2.4.1.4 Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA)

Das Prinzip der Chemilumineszenzimmunoassays folgt häufig einem Nicht-kompetitiven Immunoassay. Der zu bestimmende Analyt wird mittels erstem, spezifischem Antikörper fixiert und mittels zweitem, spezifischen und markierten Antikörper nachgewiesen. Die namensgebende Chemilumineszenz wird von dem an den zweiten Antikörper gebundenen Enzym oder dem Luminophor ermöglicht. Hierbei gibt es verschiedene Möglichkeiten, welche aber alle die enzymatische Umsetzung eines Ausgangsstoffes (Luminophor) unter Emission von Licht durch den Übergang von Elektronen innerhalb des Moleküls gemein haben. Dieses Licht kann detektiert werden und ist direkt proportional zur gebundenen Enzymmenge (84).

Abzugrenzen ist die Lumineszenz von der Fluoreszenz bzw. der Phosphoreszenz. Bei der Fluoreszenz wird von einem Stoff nach Anregung durch Licht, energieärmeres Licht emittiert (87). Bei der Phosphoreszenz geschieht dies über einen längeren Zeitraum, da sich ein stabilerer Zwischenzustand durch die Anregung des Lichts bildet. Dieses Phänomen wird als ‚Nachleuchten‘ beschrieben (88). Sowohl das Phänomen der Fluoreszenz als auch das der Phosphoreszenz werden bei Immunoassays als Nachweismethode eingesetzt, haben aber im Gegensatz zur Chemilumineszenz den Nachteil, dass ein erhöhter Level an Hintergrundrauschen durch die Bestrahlung mit Licht einhergeht. Ein reines Chemilumineszenzimmunoassay kann in völliger Dunkelheit durchgeführt werden und somit können Messabweichungen durch einfallendes Licht minimiert werden (84).

Die Biolumineszenz beschreibt das Auftreten von Lumineszenz in lebenden Zellen (89). Das hiermit verbundene Nachweisprinzip findet Anwendung im Nachweis von transfizierten Zellen oder als Bioassay (90,91).

2.4.1.5 Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA)

Der Elektrochemilumineszenz-Immunoassay wird zur Gruppe der nicht-kompetitiven Immunoassays gezählt. Über einen ersten Antikörper wird ein gesuchter Analyt spezifisch gebunden. Diese Antikörper sind häufig an paramagnetische Teilchen

gekoppelt, um die gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe im Laufe des Assays an eine Elektrode (Anode) binden zu können. Parallel zum ersten Antikörper wird ein Zweiter zur Inkubation etwas zeitversetzt hinzugegeben. Dieser spezifische Antikörper ist beispielsweise mit Ruthenium (II)-tris(bipyridyl)²⁺ (kurz: [Ru(bpy)₃]²⁺) gelabelt und ist der elektrochemilumineszenz-ermöglichende Stoff. Nach abgeschlossener Inkubation mit beiden Antikörpern, wird der entstandene Komplex mittels eines Magneten unterhalb der (Platin)Anode an dieser fixiert. Hinzugefügtes Tripropylamin (TPA) wird durch Anlegen einer Spannung an der Anode zu einem TPA-Radikal reduziert, es gibt ein Elektron sowie ein Proton ab. Gleichzeitig wird [Ru(bpy)₃]²⁺ zu [Ru(bpy)₃]³⁺ unter Abgabe eines Elektrons an der Anode oxidiert. Daraufhin übernimmt der oxidierte Rutheniumkomplex vom TPA-Radikal ein energiereiches Elektron, was mit dessen Verbrauch einhergeht. Durch den Übergang des Elektrons auf den oxidierten Rutheniumkomplex wird dieser wieder reduziert. Während dieses Übergangs befindet sich [Ru(bpy)₃]²⁺ in einem energiereichen Zustand, der unter Abgabe eines Photons (620 nm) zurück in den stabilen Grundzustand fällt. Diese Emission von Licht kann durch einen Fotomultiplier gemessen werden. TPA wird bei diesem Nachweisverfahren verbraucht, der Rutheniumkomplex dagegen bleibt erhalten.

Vorteile des Verfahrens liegen in einer sehr hohen Sensitivität, einer sehr breiten Einsetzbarkeit, kurzen Inkubationszeiten, einem großen Messbereich (bis 5 Zehnerpotenzen) und einem sehr stabilen Markierungssystem (nicht radioaktiv), das nicht nur an Antikörper, sondern beispielsweise auch an DNA koppelbar ist (92).

2.4.1.6 TSH Neugeborenenenscreening

Das Neugeborenenenscreening auf kongenitale Hypothyreose, welches im Rahmen der Kindervorsorgeuntersuchung (U3) am 3. – 10. Lebenstag durchgeführt wird, basiert auf dem Immunoassay-Prinzip. Einige Tropfen Vollblut des Säuglings werden dazu auf ein Filterpapier getropft, aus welchem dann im Anschluss der Assay durchgeführt wird. Vom getrockneten Vollblutfilterpapier wird eine Stanze genommen und in Reaktionspuffer im Analysegefäß gelöst. Das enthaltene hTSH geht dabei in Lösung. Im Analysegefäß sind die ersten, spezifisch gegen die β -Untereinheit des hTSH-Moleküls gerichteten Antikörper am Gefäßrand immobilisiert. Gleichzeitig werden die zweiten, mit Europium gelabelten Antikörper mitinkubiert. Es bilden sich Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe die im Probengefäß fixiert sind. Nach der

Inkubation wird eine Enhancement-Lösung hinzugegeben, die die gekoppelten Europiumionen vom Antikörper ablösen kann und mit vorliegenden Chelatbildnern fluoreszierende Komplexe bildet. Das Ausmaß der Fluoreszenz ist direkt proportional zum vorhandenen TSH in der Probe. (93,94)

2.4.1.7 Qualitätskriterien der TSH-Bestimmung

Seit vielen Jahrzehnten werden Blutproben mit Immunoassays auf den TSH-Wert untersucht. Anfängliche Assaymethoden in den 1970er Jahren waren nicht in der Lage, sehr genaue Werte zu ermitteln. Anhand der durch Weiterentwicklung gesteigerten analytischen Sensitivität, unterscheidet man heute zwischen vier Generationen dieser Immunoassays. Die erste Generation weist eine funktionelle Sensitivität von unter 1 -2 mIU/L auf. Jede weitere Generation wurde dann um den Faktor 10 in der Sensitivität gesteigert, sodass moderne 4. Generationsassays eine funktionelle Sensitivität von 0,001 – 0,002 mIU/L aufweisen (95,96).

Neben der funktionellen Sensitivität, die mindestens einem 2. Generationsassay entsprechen muss, gibt es noch weitere Qualitätskriterien, die ein Labor vorzuweisen hat, um die TSH-Bestimmung leitliniengerecht durchführen zu dürfen. Dazu gehört, dass es bei der Bestimmung eines WHO- oder MRC-Standards nicht zu abweichenden Ergebnissen von >5% kommt. Des Weiteren muss eine sichere Unterscheidung von euthyreoten zu hyperthyreoten Patienten gewährleistet sein. Hierbei wird ein Fehler bis zu 1% geduldet. Verdünnungskurven von Patientenserum sollten parallel zu gemessenen Standardkurven verlaufen. Toleriert wird hierbei eine Abweichung von +/- 10%. Die Kreuzreaktivität des verwendeten TSH-Assays mit anderen Glykoproteinen wie beispielsweise dem β -HCG, FSH oder dem LH sollten bei < 0,01% liegen. Weiterhin darf es nicht zu einem Highdose-Hook-Effekt bei TSH-Konzentrationen ≥ 300 mIU/L kommen. Dieser Effekt beschreibt einen Interferenzzusammenhang des Immunoassays, welcher sich bei sehr hohen Antigenkonzentrationen in einer zu messenden Probe einstellen kann. Werden gleichzeitig alle Antigenbindungsstellen der immobilisierten wie auch der markierten Nachweisantikörper besetzt, so können sich keine Immunkomplexe bilden. Das Messsignal wird schwächer. Empfohlen wird bei vorbekannten, sehr hohen Antigenkonzentrationen eine Verdünnung der Probe vorzunehmen (10,97,98).

| Qualitätskriterium | Wert |
|---|-------------|
| Funktionelle TSH-Assay-Sensitivität | < 0,1 mIU/L |
| Abweichung von WHO oder MRC Standards | max. +5 % |
| Sicheres Unterscheiden von eu- und hyperthyreoten Patienten | < 1 % |
| Kein Auftreten des Highdose-Hook-Effekts | ≥300 mIU/L |
| Verdünnungskurvenparallelität der Patientenserien zur Standardkurve | +/- 10 % |
| Kreuzreaktivität mit anderen Proteohormonen (HCG, FSH, LH) | < 0,01 % |

Tabelle 3: Qualitätskriterien der TSH-Bestimmung (10)

2.4.2 Antikörperlabeling

Grundlage der meisten Immunoassayvarianten ist das Konjugieren eines spezifischen Antikörpers mit einem Stoff oder Molekül, welches zum Nachweis des gebundenen Analyten verwendet werden kann. Erstmals wurde dies 1969 von S. Avrameas beschrieben. Ihm gelang die Antikörpermarkierung unter Verwendung von Glutaraldehyd. Die Schwierigkeiten lagen hierbei in der Funktionserhaltung und der Stabilität der gebildeten Komplexe (99). Generell müssen (Enzym-)Antikörperlabel verschiedene Anforderungen erfüllen. Hierzu gehören eine hohe spezifische Aktivität des zum Nachweis genutzten Enzyms, gute Verknüpfungsmöglichkeiten, ohne dass sowohl Nachweisenzym als auch Antikörper in ihrer Funktion eingeschränkt werden dürfen sowie stabile Komplexeigenschaften ohne mögliche Wiederabspaltung des Labels. Die Enzyme sollten in sehr reiner, qualitativ hochwertiger und preiswerter Form zu erwerben sein und es sollten keine Interaktionen mit anderen in der Probe vorhandenen Stoffen zustande kommen. Außerdem sollte die Nachweismethode im Idealfall sehr einfach zu handhaben sein und darf keine gesundheitsgefährdenden Eigenschaften besitzen. Ein endogenes Vorhandensein des Enzyms in der zu testenden Probe sollte ebenfalls immer ausgeschlossen werden (100). Einige Nachweismethoden mit entsprechenden Beispielen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

2.4.2.1 Antikörperkonjugationsmethoden

Um ein synthetisch hergestelltes Antikörperkonjugat zu erzeugen, werden reaktive Molekülgruppen der beiden Reaktionspartner benötigt. Diese sollten in freier Form vorliegen und keine entscheidende Rolle in der Funktion oder der Form des Bindungspartners haben. Da es sich bei zumindest einem der beiden Komplexbildnern meistens um ein Enzym handelt, kommen die reaktionsfreudigen Seitenketten der einzelnen Aminosäuren, beispielsweise der Thio-Gruppe im Cystein oder der Amid-Gruppe im Lysin, als Zielstrukturen in Frage. Es kann auch das N-Terminale-Ende einer Aminosäurekette, die Aminogruppe, als Reaktionspartner in Betracht gezogen werden. Da Proteine häufig zusätzlich mit Kohlenhydratseitenketten konjugiert sind, können auch deren reaktive Hydroxygruppen als möglicher Ansatzpunkt für eine Konjugation dienen (101–103). Die Verbindung des Antikörpers mit seinem Markierungspartner kann entweder direkt, also ohne Vermittlermolekül zwischen zwei reaktiven Gruppen der Partner geknüpft werden, oder indirekt mit Hilfe eines Verbindungsmoleküls. Bei der zweiten Möglichkeit wird weiterhin unterschieden zwischen homobifunktionellen (zwei gleichen funktionellen Gruppen) oder heterobifunktionellen (zwei verschiedenen funktionellen Gruppen) Verbindungstypen (104,105). Das direkte Verbinden ist hierbei die fehlerbehaftetste der drei genannten Möglichkeiten. Die Reaktion kann aufgrund der vielen gleichen funktionellen Gruppen in beiden Molekülen nur schwer kontrolliert werden, weshalb es zur Bildung sehr großer Komplexe kommen kann. Des Weiteren ist der Abstand zwischen den Bindungspartnern sehr gering, was sich möglicherweise negativ auf die sterischen Eigenschaften beider auswirkt (101).

2.4.2.2 Streptavidin-Biotin Konjugation

Die (Strept)Avidin-Biotin-Verbindung ist eine der am häufigsten verwendeten Antikörperkonjugationsmethoden in Assaysystemen (106). Das aus dem Hühnereiweiß stammende Avidin und das sowohl funktionell als auch strukturell nahezu gleiche Streptavidin aus Bakterien der Streptomyces-Familie, haben unter natürlichen Bedingungen die Aufgabe, das zum Stoffwechsel unabdingbare Biotin (Vitamin H) zu binden und somit eventuell konkurrierende Organismen zu unterdrücken (107,108). Die Streptavidin-Biotin-Bindung wird als eine der stärksten, bisher bekannten, nicht-kovalenten Protein-Ligand-Bindungen beschrieben. Die

Dissoziationskonstante K_d beträgt 10^{15} M^{-1} (107–109). Biotin ist ein verhältnismäßig kleines Molekül, welches von Bakterien, Pilzen und Pflanzen synthetisiert werden kann (167). Im menschlichen Körper dient das Vitamin H als prosthetische Gruppe bzw. Coenzym bei der Übertragung von Carboxylgruppen in Carboxylierungsreaktionen. Um als Coenzym fungieren zu können, wird es dabei an die ϵ -Aminogruppe eines Lysins in der Peptidkette gebunden (110). Das Wissen um diese Kopplungsmöglichkeit macht man sich bei der Konjugation an Antikörper zunutze, da diese auch Lysinreste präsentieren. Für Streptavidin bzw. Avidin gibt es mittlerweile auch eine Vielzahl an etablierten Konjugationsmethoden, um die Kopplung an Antikörper, Nachweisenzyme oder Nanopartikel zu gewährleisten (111). In einem zweischrittigen Verfahren können also Nachweis- sowie Detektionsmoleküle mit Biotin oder Streptavidin konjugiert werden. Fügt man diese separaten Komplexe anschließend zusammen, so ergeben sich sehr spezifische und starke Bindungen.

2.4.2.3 Antibody-drug Conjugates (ADC)

Die Möglichkeit der Konjugation von Stoffen mit Antikörpern wird neben der Verwendung bei Immunoassays seit einigen Jahren auch zur spezifischen Therapie verschiedenster Krankheiten genutzt. Hierfür wird ein Medikament an einen Antikörper der gegen die Zielstruktur gerichtet ist, gebunden. Nach Applikation kann dieser dann sehr zielgenau seinen Wirkungsort finden. Eine solch gezielte Therapie kann den Vorteil bringen, die vielfältigen Nebenwirkungen einer systemischen, nicht-zielgenauen Anwendung von Medikamenten zu verringern. Das Prinzip der Konjugation von Medikamenten an Antikörper wird als ‚ADC‘, Antibody-drug Conjugate, bezeichnet und gilt als Zukunftshoffnung bei schwer zu therapierenden Krankheiten (112). Bezogen auf onkologische Therapien zur gezielten Applikation von Chemotherapeutika wird auch von ‚ATC‘, Antibody-targeted chemotherapy, gesprochen (113).

2.4.2.4 Fusionsproteine

Schnell voranschreitende Entwicklungen auf dem Gebiet der Gentechnik, des Sequenzierens und der Zellkultur ermöglichen neue Methoden der Produktion von

Nachweisantikörpern unter anderem für Immunoassaysysteme. Hierzu zählen die sogenannten Fusionsproteine. Der hierbei verwendete biotechnologische Ansatz beruht auf der Einbringung eines neu konfigurierten Genabschnitts in einen leicht zu vermehrenden Wirtsorganismus wie Hefen oder Bakterien (114). Diese neue Gensequenz beinhaltet die Information des zum Nachweis verwendeten Enzyms (HRP, GFP) und ein an das Zielobjekt spezifisch bindendes Molekül. Dies können die spezifischen Fab-Antikörperregionen („Fragment antigen-binding“) von entsprechenden Zielepitopen oder beispielsweise Fc-Rezeptoren (Fc: Fragment crystallizable) einiger Staphylococccen- oder Streptococccengattungen sein (115,116). Bedingung ist hierbei jedoch, dass es sich bei den zusammengefügteten Anteilen um Proteine handelt, da nur deren Bauplan auf den Genen gespeichert ist. Eine Kopplung an Nanopartikel oder Elektrochemiluminiforme ist nicht möglich. Die Vorteile dieser neuen Methode, liegen unter anderem in einer konstanten Struktur der Konjugate. So werden bei den herkömmlich, durch chemische Reaktionen erzeugten Konjugaten, immer eine Vielzahl an verschiedenen Endprodukten synthetisiert. Dies ist unter anderem der Tatsache geschuldet, dass die zum Konjugieren verwendeten reaktiven Gruppen der beiden Partner selten nur einmal vorkommen. Somit ergibt sich, dass die Ausbeute richtig konfigurierter Produkte immer etwas divergiert und dass spezielle Trennverfahren nötig sind. Des Weiteren bieten Fusionsproteine eine stabilere Funktionalität in der Assaydurchführung. Bei den klassisch hergestellten Konjugaten kommt es im Zuge der verschiedenen chemischen Reaktionsschritte immer wieder zu einem Funktionsverlust eines oder beider Partner, was in Folge das Ergebnis der Messung beeinflussen kann. Ein weiterer Vorteil der Fusionsproteine liegt in der leichten Reproduzierbarkeit der Konjugate, sofern einmal ein stabiler Produktionsorganismus etabliert ist (115,116).

2.4.2.5 Label-freie Biosensoren

Neuere Ansätze der Immunoassayforschung beruhen auf elektrotechnischen Messmethoden. Die sogenannten Biosensoren bedienen sich dabei vieler verschiedener Ansätze, von denen hier exemplarisch zwei erläutert werden.

Taylor et al. beschrieben 1988 bereits einen Biosensor, der in Form eines fingerartig-verschränkten (interdigitated) Kondensators Veränderungen der Kapazität nach Bindung spezifischer Moleküle an den Elektroden messen konnte (117). Dieses Prinzip beruht auf der physikalischen Beschreibung der Kapazität ,C‘, die als $\epsilon \times A/d$

ausgedrückt werden kann. Hierbei ist ϵ' die dielektrische Konstante des den Kondensator umgebenden Dielektrikums, d' der Abstand der beiden Leiterplatten und A' die Fläche dieser Platten. Wird nun, nach Bindung eines Stoffes an den Kondensatorplatten, das Dielektrikum auch nur minimal verdrängt bzw. entstehen Veränderungen der Leitereigenschaften, so verändert sich folglich auch die Kapazität C' . Taylor et al. gelang dieser Nachweis mit Acetylcholin, welches bis zu einer Konzentration im Nanogrammbereich pro Milliliter, nach Bindung an seinen Rezeptor auf den Leiterplatten in 1 – 5 Sekunden nachgewiesen werden konnte (117).

Ein weiterer, verwirklichter Ansatz bei der Entwicklung von Biosensoren ist die Verwendung von Microcantilevern, also winzigen, exponierten Bauelementen, die nach Bindung der Zielanalyte auf ihrer Oberfläche selbst eine messbare Veränderung erfahren. Dies kann dynamisch, in Form einer Änderung der Schwingungsfrequenz sein oder in einer statischen Verbiegung des Cantilevers. Statische Veränderungen können beispielsweise unter Anwendung des piezoelektronischen Effektes oder optisch, durch Abweichung der Reflektion eines auf den Cantilever gerichteten Lasers, detektiert werden (118). Jiang K. et al. nutzten im Jahr 2017 diesen optischen Nachweis, um Dopamin in einem Testsystem nachweisen zu können (119). Die dabei ermittelte analytische Sensitivität lag bei 5×10^{-11} mol/L und konnte direkt, ohne Inkubationszeit ermittelt werden.

Die Vorteile der neuen ‚label-free‘ Biosensoren liegen zum einen in der enormen Geschwindigkeit der Messung und zum anderen in der Unabhängigkeit von markierten Antikörpern. Der Aspekt der erhöhten Durchführungsgeschwindigkeit, der einer Direktmessung gleichkommt, macht diese Methoden für kommerzielle Labore sehr interessant, das Entfallen der oftmals aufwändigen Produktion markierter Antikörper könnte zusätzlich zu einer Kosteneinsparung führen. Viele Biosensoren sind darüber hinaus sehr lange lagerfähig und wiederverwendbar.

Ein großer Nachteil bei dieser Art von Assay ist die Generierung von Messsignalen auch bei unspezifischer Bindung von Analyten. Sowohl der gesuchte als auch jeder weitere Stoff, der am jeweiligen Biosensor bindet, löst eine detektierbare Veränderung aus. Ein zusätzlicher Nachteil ist die Anfälligkeit der Systeme für Fehler in der Produktion. Alle verwendeten Bauteile erfordern ein Maximum an Präzision und technisch-fortgeschrittener Produktion, da es sonst schnell zu Störungen in der Assaydurchführung kommt (117,120,121).

| Methode/Antikörperlabeling: | Beispiel: |
|------------------------------------|--|
| Radioisotope | ¹²⁵ I(83,84) |
| Enzyme | HRP(84,122) , alkalische Phosphatase(99), Luciferase(84,123) |
| Elektrochemiluminophore | Ruthenium Trisbipyridyl + Tripropylamin (TPA)(84,124) |
| Chemiluminophore | Acridiniumester(125), Isoluminol(84,126) |
| Nanopartikel | Gold(127), Silber, Latex(84,128) |
| Metallkomplexe | Gold-Cluster(84) |
| Biolumineszente Proteine | Aequorin(84,129) |
| Substrat | Galactosyl-Umbelliferon(84) |
| Viren | Bakteriophagen(84) |
| Coenzyme | FAD, NAD(84) |
| Fluorophore | Fluorescein, Rhodamine(84) |

Tabelle 4: Methode der Antikörpermarkierung als Nachweisreaktion in Immunoassays

| Methoden ohne gelabelte Antikörper: | Beispiel: |
|--|-------------------------------------|
| Elektrochemische Sensoren | Field-effekt Transistoren (130,131) |
| Piezoelektronische Sensoren | Microcantilevers (130,132) |

Tabelle 5: Nachweismethoden ohne markierte Antikörper

2.4.2.6 Aptamere

Aptamere stellen Desoxyribonucleinsäure- (DNA) oder Ribonucleinsäuresequenzen (RNA) im Oligonucleotidbereich dar, die synthetisch erzeugt werden und spezifische Zielmoleküle mit einer großen Affinität binden können (133). Die Technik des Erzeugens dieser Moleküle wurde bereits in den 1990 Jahren entwickelt und wird seitdem als SELEX (Systematic evolution of ligands by exponential enrichment) bezeichnet. Mit Hilfe dieser Technik können passende Oligonucleotide zu einer Vielzahl an Zielstrukturen erzeugt werden. Hierzu zählen Proteine jeglicher Art, Ionen, Toxine, ganze Zellen und virale bzw. bakterielle Bestandteile. Nicht zuletzt werden sie deshalb auch als ‚chemische Antikörper‘ bezeichnet (134).

Um mittels SELEX-Verfahren Aptamere erzeugen zu können, wird als erstes eine Zielstruktur benötigt. Dieses Zielmolekül wird zusammen mit einer großen Menge an verschiedenen Nukleinsäuresequenzen inkubiert. Aus der Vielzahl an verschiedenen Nukleinsäuren werden nun einige am Zielmolekül, mit teils sehr unterschiedlicher Affinität, binden. Alle nicht-bindenden Sequenzen werden in einem anschließenden Waschschrift entfernt. Auf diese Selektion folgt die erste Amplifizierung der gebundenen Oligonukleotide. Mit der daraus erhaltenen Menge an passenden Sequenzen, beginnt der zweite Inkubationsschritt. In diesem Zyklus binden dann vor allem Sequenzen mit einer hohen Affinität. Niedrigaffine Moleküle werden verdrängt oder binden seltener. Es folgt eine erneute Trennung der nicht-bindenden Moleküle und die anschließende Amplifizierung. Wird dieser Vorgang, bestehend aus Selektion und Replikation der am besten passenden Sequenzen über viele Zyklen wiederholt, so bleibt am Ende nur das am stärksten bindende Molekül übrig, es wird als Aptamer bezeichnet. Der Vorgang, an dessen Anfang die große Variation an verschiedenen RNA/DNA-Sequenzen steht, wird daher von vielen Autoren auch als ‚Evolution‘ bezeichnet (133).

Die hohe Bindungsstabilität, welche sich in Dissoziationskonstanten (K_d) von 10^{-6} Mol zeigt (135), sowie die einfache und schnell Reproduzierbarkeit der Aptamere, machen sie für viele biotechnologischen Anwendungen interessant. Dazu zählen unter anderem das Gebiet der Biosensorik mit dem Nachweis von Targetstrukturen in Proben, medikamentös-therapeutische Ansätze sowie das Gebiet der Genforschung (136). Die Vorteile gegenüber Antikörpern zum spezifischen Nachweis von Zielmolekülen oder der Anwendung im Bereich der Pharmazie und Therapie sind vielseitig. Im Vergleich zu Antikörpern sind Aptamere wesentlich kleiner. Ihr Molekulargewicht beträgt nur wenige kDa (12- 30 kDa), wohingegen Antikörper mit einem Gewicht von 150-180 kDa entsprechend schwerer sind. Aptamere weisen eine vergleichsweise geringe Immunogenität auf, was für den therapeutischen Einsatz ein großer Vorteil ist. Weiterhin besitzen sie eine lange Haltbarkeit bei gleichzeitig hoher Stabilität gegen Umwelteinflüsse, was im Kontrast zu den meisten Antikörpern zu sehen ist. Antikörper sind mit ihren Paratopen auf die Erkennung von immunogenen Substanzen beschränkt, Aptamere hingegen können eine wesentlich größere Range an Zielmolekülen erkennen (137). Weitere Unterschiede zwischen Antikörpern und Aptameren sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

| Eigenschaft | Aptamere | Antikörper |
|-------------------------------------|----------------------|---|
| Molekulargewicht | Gering (~ 12-30 kDa) | Groß (~ 150-180 kDa) |
| Stabilität | hoch | Anfällig gegenüber Temperatur und pH-Wert |
| Haltbarkeit | Lang | Kurz |
| Zielmoleküle | Sehr viele | Nur immunogene Moleküle |
| Minimale Zielmolekülgröße | ~60 Da | ~600 Da |
| Immunogenität | Niedrig | Hoch |
| Chemische Modifizierbarkeit | Viele Möglichkeiten | Begrenzte Möglichkeiten |
| Produktionszeit | Stunden bis Monate | Mehrere Monate |
| Chargenvariabilität | Gering | Hoch |
| In-vivo Halbwertszeit | Kurz | Lang |
| Anfälligkeit gegenüber Nukleasen | Hoch | Gering |
| Produktions- und Entwicklungskosten | Niedrig | moderat |

Tabelle 6: Unterschiede von Aptameren zu Antikörpern (137)

2.5 Point-of-care-Testing (POCT)

Das Point-of-care-Testing, zu Deutsch ‚patientennahe Direktdiagnostik‘, beschreibt diagnostische Analyseverfahren, die nicht in einem zentralen Labor durchgeführt werden. Unterschiedliche Definitionen des Begriffs sind gängig, beinhalten aber meistens die folgenden, logischen Punkte:

- Durchführung unmittelbar in Patientennähe

- Keine Abhängigkeit von zentralen Laboren
- Keine Probenvorbereitung nötig sowie keine weitere Verarbeitung der Proben
- Verwendung von einzeln portionierten Probenreagenzien in Form von Kassetten, Teststreifen o.Ä.
- Messgeräte für wenige Einzelmessungen, keine Großmengentestung
- Bedienung der Messgeräte ohne fachlich-spezifische Schulung möglich
- Schneller Verfügbarkeit der Messergebnisse
- Schnelleres Stellen der Diagnose bzw. frühzeitigeres Ableiten therapeutischer Maßnahmen

Nicht jedes als POCT-Messgerät bezeichnete diagnostische Tool erfüllt alle genannten Kriterien. So muss beispielsweise bei vielen etablierten Geräten vor der Nutzung ein Pipetierschritt oder eine Zentrifugation der Probe vorgenommen werden (138). Die Bundesärztekammer beschreibt in ihren Richtlinien zur Qualitätssicherung bei laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen, POCT-Messgeräte als patientennahe, ohne Probenvorbereitung, unmittelbar durchführbare Einzelprobenmessungen. Ein wesentliches Kriterium dieser Sofortdiagnostik sei die unmittelbare Ableitung weiterer Diagnostik oder therapeutischer Konsequenzen (139). Das Hauptziel der POCT-Messgeräte ist die Verbesserung der Therapie sowie des Outcomes der Patienten. Dies kann durch eine frühere Diagnosesicherung und somit einen schnelleren Therapiebeginn erzielt werden. Weitere Ziele der vermehrten Bereitstellung von POCT-Geräten ist die Kostenreduktion im Gesundheitswesen, einerseits durch verkürzte Liegezeiten im Krankenhaus selbst, eventuell vermiedene Krankenhausaufenthalte durch Eigenmessung der Patienten im häuslichen Umfeld oder durch Entlastung des Personals aufgrund schnellerer Diagnostik und seltenerer Komplikationen. Alle genannten Punkte führen daraufhin zu einer vermehrten Zufriedenheit aller Partizipanten im Gesundheitswesen (140). Die Entwicklung von POCT-Geräten hat einen rasanten Verlauf in den letzten Jahren gezeigt und wird diesen in den kommenden Jahren vermutlich auch beibehalten. Dies ist zum einen auf die stetig anhaltende Weiterentwicklung technischer Errungenschaften zur Verwirklichung und Produktion neuer Geräte und Ideen zurückzuführen. Zum anderen besteht ein wachsender Bedarf an diesen Technologien. Dies ist nicht nur in Entwicklungs- und Schwellenländern mit mangelnder Infrastruktur der Fall, sondern auch in Industrienationen wie Deutschland. Dort werden solche Geräte zunehmend in Krankenhäusern, bei ambulanten und stationären Pflegeeinrichtungen und im

Rettungsdienst verwendet. Auch die Patienten selbst zeigen ein vermehrtes Interesse an Geräten, mit denen sie ihren Gesundheitsstatus selbstständig überprüfen können (140).

| Funktion / Themengebiet: | Zu bestimmende Analyte: |
|---|--|
| Fertilitätstests | Humanes Choriongonadotropin (hCG) im Urin der Frau Spermienzahl im Ejakulat des Mannes |
| Diabetes mellitus | Glukose, HbA _{1c} |
| Urindiagnostik | Teststreifen auf verschiedene Parameter; Bakterien und Antigene |
| Drogen- und Medikamente | Medikamentenspiegel und Drogen im Blut/Urin |
| Blutgase, Säure-Basen-Haushalt, Elektrolyte | pO ₂ , pCO ₂ , pH, BE, Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺⁺ , Cl ⁻ , Mg ⁺⁺ , Hb |
| Enzyme, Hormone, Vitamine | TSH, VitD., Troponin, Myoglobin |
| Infektiologie | Influenza A/B, HIV, Malaria |

Tabelle 7: Beispiele für Bereiche in denen POCT-Systeme etabliert sind (138)

2.5.1 Methodik und Testprinzipien verschiedener POCT-Systeme

2.5.1.1 Immunologische Methoden

Viele POCT-Systeme nutzen Immunoassaymethoden um Stoffwechselprodukte oder Enzyme nachzuweisen. Einige der verwendeten Assayprinzipien, sowie deren Nachweismethoden wurden bereits in Kap. 2.4.1 näher erläutert. Die Übertragung dieser Immunoassaymethoden in POCT-Systeme stellt eine schwierige Herausforderung dar, da nicht nur die Funktionalität, sondern auch die kostengünstige Herstellung sowie eine lange Lagerfähigkeit erforderlich sind.

2.5.1.1.1 Lateral flow Assay

Ein Ansatz ist die Methode der Lateral-Flow Assays (LFA) bzw. immunchromatographischer Tests (ICT). Bei dieser Übertragung des Sandwich-Immunoassayansatzes werden die genutzten Filter- und Reaktionsstreifen häufig in Form von Einmaltestkassetten verpackt (141).

Die Funktionsweise der Einmaltestkassetten beruht, dem Namen entsprechend, teils auf chromatographischen-, teils auf immunhistochemischen Erkenntnissen. Um eine Messung durchzuführen, wird die zu testende Probe auf einen speziellen Papier- oder Polymerbereich, das ‚sample pad‘, aufgetragen. Die anschließende Zugabe des Puffers bewirkt ein Mitspülen der in der Probe enthaltenen Analyte durch Kapillarkräfte auf einem weiteren Papierstreifen, das ‚conjugate pad‘. In diesem Bereich befinden sich immobilisierte Antikörper, die spezifische Bindungsstellen für das gesuchte Molekül in der Probe haben und die sich erst bei Kontakt mit der Pufferflüssigkeit aus ihrem Verband lösen. Sollte nun der passende Bindungspartner im Analysat vorhanden sein, so ergibt sich eine Antikörper-Antigen-Bindung. Das Puffer-Proben-Gemisch wandert kontinuierlich weiter bis zum ‚Incubation und detection pad‘, wo dann die Anzeige der Ergebnisse stattfindet. Dies geschieht über zwei verschiedene Linien von fest gebundenen Antikörpern. An der ersten Bande befinden sich Antikörper, die ein weiteres, spezifisches Epitop des gesuchten Moleküls erkennen und somit die Antigen-Antikörperkomplexe binden. Die zweite Linie von festgebundenen Antikörpern im detection pad erkennt mobile Antikörper, sodass sich daraus eine Negativkontrolle ergibt. Sollten sich also in der Probe keine gesuchten Moleküle befinden, so würden nur an den zweiten, immobilisierten Antikörpern freie Immunglobuline binden. Sichtbar werden die gebundenen Komplexe durch Nanopartikel, Gold oder Enzyme (141,142). Die erzielten Messergebnisse nach Abschluss des Assays sind primär semiquantitativer Natur, können jedoch, mithilfe weiterer, technischer Auswertung, in quantitative Daten überführt werden. Ein Beispiel für einen etablierten LFA-Test ist der ‚Schwangerschaftstest‘ auf humanes Choriogonadotropin im Urin.

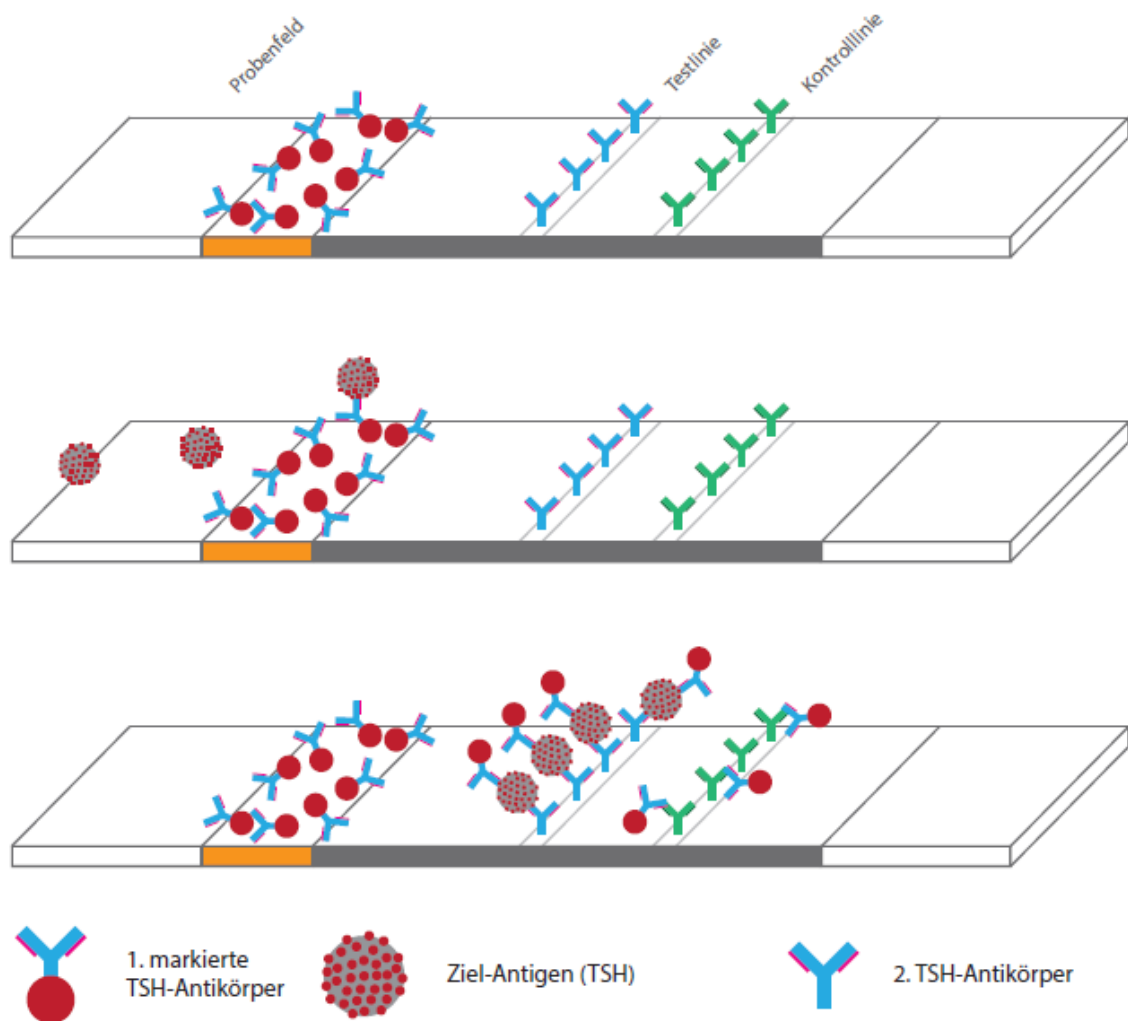


Abbildung 3: Funktionsweise lateral flow assay

2.5.1.1.2 Optische Immunoassays

Ein weiterer, in POCT-Systemen angewandter immunologischer Ansatz sind die optischen Immunoassays. Die Idee besteht darin, das von einer reflektierenden Oberfläche zurückgestrahlte Licht durch Antikörperkomplexbildung so zu verändern, dass es durch das menschliche Auge erkannt werden kann. Die verwendeten, sehr dünnen Filme, werden so beschichtet, dass sie weißes, einfallendes Licht in einer goldenen Farbe reflektieren. Auf dieser Beschichtung befinden sich die ersten, immobilisierten Antikörper, die den gesuchten Analyten in der Probe binden sollen. Nach einem Waschschrift zur Entfernung aller nichtgebundener Bestandteile der

Probe, wird der zweite Nachweisantikörper hinzugegeben. Dieser ist mit HRP konjugiert und erkennt mit seinem Paratop ein weiteres Epitop des Zielantigens. Ist dieses Zielantigen vorhanden, bildet sich ein Immunkomplex-Sandwich. Mithilfe des konjugierten HRPs kann nun das Substrat 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), ein Chromogen, umgesetzt werden. Das Produkt dieser Umsetzung geht eine Verbindung mit der reflektierenden Oberfläche ein, was zu einer Veränderung des von ihr reflektierten Lichts führt. Dieses ist nun nicht mehr golden sondern purpurfarben (143,144). Auch diese Methodik lässt sich in Testkassetten verwirklichen und kann somit unter passenden Bedingungen lange gelagert werden.

2.5.1.2 Molekularbiologische Methoden

2.5.1.2.1 Polymerase chain reaction (PCR)

Die Polymerase chain reaction (PCR), zu Deutsch Polymerase Kettenreaktion, ist seit vielen Jahren ein unersetzliches, molekularbiologisches Werkzeug, welches die Erbinformation, in Form von DNA, verschiedenster Organismen nachweisen kann. Die PCR ist somit auf dem Gebiet der Infektiologie, der Gentechnik oder der Kriminologie weit verbreitet.

Die Funktionsweise der PCR kann als Zyklus beschrieben werden. Dieser Zyklus setzt sich aus drei Schritten zusammen: der Aufspaltung (Denaturierung) der Ziel-DNA, dem Anheften der Primer, und der Verdopplung der Einzelstränge. Am Anfang steht die Denaturierung des nachzuweisenden DNA-Fragments. Hierfür werden Temperaturen von bis zu 95 °C benötigt, um die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Einzelsträngen zu lösen. Nach erfolgter Denaturierung, also Trennung der Doppelstränge, folgt das Anheften (engl. annealing) der für die Verdopplung benötigten Primer. Dieser Schritt benötigt moderate Temperaturen von 50 – 70 °C. Auf das Annealing folgt die Verdopplung (elongation) der beiden Einzelstränge. Hierzu wird das Enzym ‚DNA-Polymerase‘ benötigt, welches die im Puffer enthaltenen Nukleotide anheftet. Dieser Reaktionsschritt erfordert Temperaturen von etwa 70 °C. Im Anschluss beginnt der Zyklus erneut (145). Die erzielte Menge an Kopien berechnet sich aus 2^n , wobei ‚n‘ die Anzahl der durchlaufenen Zyklen ist.

Die Durchführung der PCR erfolgt heutzutage vollautomatisiert in Thermocycler-Geräten, die viele Proben parallel messen können. An der sinnvollen Implementierung dieser Technik in POCT-Systeme, mit relativ kurzer Bearbeitungszeit, wird aber weiterhin gearbeitet. Ein Ansatz ist das von der Firma Roche entworfene ‚LIAT‘ System. LIAT steht für ‚Lab in a tube‘ und beschreibt ein Verfahren, das mit Hilfe vorgefertigter Testgefäße, die mit allen benötigten Enzymen und Puffern in verschiedenen Kammern ausgestattet sind, eine sehr schnelle Durchführung der PCR erlaubt. Hierfür wird durch einfaches Bewegen der Probenflüssigkeitssäule hin zu den verschiedenen warmen Kammern der Reaktionsschritte, eine Zeitspanne von 15 – 20 Minuten bis zum Erhalt der Ergebnisse erreicht (146).

2.5.1.2.2 Isotherme Amplifikation

Ein Problem bei der Vereinfachung der PCR-Technik sind die unterschiedlichen Temperaturschritte im Verlauf der Amplifikation, die zum Beispiel für die Denaturierung der DNA-Doppelstränge benötigt werden. Hieraus ergaben sich bereits vor einigen Jahren neue Ansätze zur gezielten Amplifikation von Nucleotidsequenzen. Diese werden, aufgrund ihrer Unabhängigkeit von verschiedenen Temperaturstufen, auch mit dem Terminus ‚isotherme Amplifikation‘ beschrieben. Ganz verschiedene Techniken zur Umgehung des Denaturierungsschritts der doppelsträngigen Nucleotidsequenz wurden bereits entwickelt. Eine im Jahr 2000 von Tsugunori Notomi et al. beschriebene Methode nutzt hierzu eine ‚strang displacement DNA-Polymerase‘ und eine künstlich erschaffene Loop-Struktur der Zielsequenz (147). Bei der Methode, die aktuell bereits erfolgreich in POCT-Systemen zum schnellen und sensitiven Nachweis des seit 2020 weltweit grassierenden SARS-CoV-2 Virus angewandt wird (148) sind zwei Amplifikationsphasen zu unterscheiden. In der ersten Phase wird aus der Zielsequenz ein Loop-Template hergestellt, welches dann in der zweiten Phase als Matrize für die exponentielle Amplifikation dient. Zur Generierung der Loopstruktur werden vier spezifische Primer benötigt. Auf jedem der beiden gegenläufigen Stränge jeweils einen inner- und outer Backwardprimer (5‘ Ende) bzw. Forwardprimer (3‘-Ende). In der ersten Phase werden alle vier Primer benötigt, bei der anschließenden Amplifikationphase nur noch die inneren Primer. Schritt eins beginnt

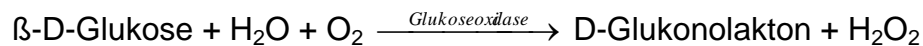
mit der Hybridisierung der inneren Primer und der Synthese eines komplementären DNA-Strangs. Dieser wird durch anschließendes Synthetisieren eines weiteren komplementären Stranges, vom äußeren Primer ausgehend, abgetrennt von seiner ursprünglichen Matrize. Eine mit dem inneren Primer, im ersten Reaktionsschritt eingebrachte Nukleotidsequenz ist nun in der Lage, eine erste Loopstruktur an einem Ende der Zielsequenz zu bilden. Analog zu diesem ersten Loop entsteht am entgegengesetzten Ende der Ziel-DNA durch zeitversetztes Hybridisieren zweier Primer ein zweiter Loop. Die entstehende Doppelloopstruktur weist keinen outer Primer mehr auf und präsentiert die inneren Primer freiliegend im Loop. Diese Doppelloopstruktur ist nun Ausgangspunkt für die Amplifikation in Phase zwei. Es können nun, ausgehend von den Loops, fortlaufend, ohne unterschiedliche Temperatureinstellungen, Kopien der Ziel-DNA hergestellt werden. Dabei entstehen ganz verschiedene DNA-Loopstrukturen, die aber alle die Zielsequenz enthalten(147). Die ‚Loop-mediated isothermal Amplification‘ (LAMP) ist im Vergleich zur herkömmlichen PCR wesentlich schneller, da keine festen Zyklen eingehalten werden müssen. Auch die Sensitivität bezogen auf die Detektion bestimmter viraler RNA-Sequenzen wird als wesentlich höher beschrieben. Speziell im Fall des Nachweises von SARS-CoV2-19 RNA reichen bereits 1-10 Einzelkopien aus, um das Virus nachzuweisen. Dies stellt eine knapp 100fach höhere Sensitivität als beim klassischen Nachweis per PCR dar (148).

Die LAMP-Technik lässt sich problemlos als POCT-System verwirklichen, da zur Durchführung lediglich ein Wärmeblock als größeres Bauteil benötigt wird. Auch bei vielen weiteren Methoden der isothermen Amplifikation ist die Implementierung in POCT-Systeme möglich.

2.5.1.3 Blutzuckerbestimmung

Die Blutzuckermessung mittels POCT-Systemen, sowohl im stationären- wie auch im häuslichen Umfeld, ist schon seit vielen Jahren breit etabliert. Sie bietet vor allem Diabetespatienten eine erhöhte Sicherheit und mehr Lebensqualität aufgrund der einfachen Handhabung. Die verschiedenen Systeme funktionieren nahezu alle auf Basis einer enzymatischen Reaktion und beinhalten zur Messung des Blutglukosewertes einen Detektor. Die Enzyme Glukoseoxidase oder

Glukosedehydrogenase katalysieren hierbei die anfängliche Reaktion. Sie lautet für die Glukoseoxidase:



Für die Glukosedehydrogenase lautet die Reaktionsformel:



Die jeweils genutzten Enzyme sind bis zur Verwendung des Teststreifens in trockener Form immobilisiert und werden von der zu testenden Menge Blut gelöst. In beiden genannten Fällen handelt es sich um Oxidationen, die primären Elektronenakzeptoren können dabei Flavin-Adenosin-Dinukleotid (FAD), Nicotinamidadenindinukleotid (NAD) oder beispielsweise Pyrrolochinolin-Chinon (PQQ) sein. Wird die Detektion der Blutglukose photometrisch durchgeführt, so werden diese primären Akzeptoren selbst oxidiert, indem sie einen zusätzlich enthaltenen Farbstoff reduzieren. Die mittels Photometer gemessene Farbveränderung durch Reduktion ist dann direkt proportional zur enthaltenen Menge Glukose in der Probe. Die Detektion kann jedoch auch elektrochemisch durchgeführt werden. In diesem Fall eignen sich Hexacyanoferrat oder Nitrosoanilin als finale Redoxpartner. Die Messsensoren für diese Art der Messung funktionieren nach dem amperometrischen oder coulometrischen Messprinzip. Es werden die finalen Elektronenakzeptoren an einer Elektrode oxidiert, was zu einem Stromfluss führt. Der gemessene Stromfluss ist proportional zur enthaltenen Menge Glukose in der Blutprobe (149).

2.5.1.4 GMR-Biosensoren (gigant magnetoresistance)

Die ‚Gigant Magnetoresitance‘ (GMR), zu Deutsch ‚Riesenmagnetowiderstand‘, ist ein 1988 entdeckter Effekt der Quantenmechanik bzw. des Magnetismus (151), der unter anderem in Biosensoren zur medizinischen Probenanalytik Verwendung findet. Aufgrund seiner geringen Größe, eignet sich der GMR-Biosensor auch zur Anwendung im POCT-Bereich. Der Aufbau eines GMR-Biosensors basiert auf mindestens zwei ferromagnetischen Leiterplatten, die voneinander durch eine wenige Nanometer dicke, nichtmagnetische Trennschicht getrennt sind. Diese Trennschicht erlaubt das Überspringen von Elektronen, also den Stromfluss zwischen den beiden Leitern. Dieser Stromfluss wird maßgeblich von der

Magnetisierung der beiden ferromagnetischen Bauteile und dem Spin der Elektronen beeinflusst. Ist die magnetische Feldausrichtung der beiden Platten parallel zueinander ausgerichtet, so ist der elektrische Widerstand zwischen den Platten gering und der Elektronenfluss gesteigert. Herrscht eine antiparallele Ausrichtung des Magnetfeldes vor, so resultiert dies in einem hohen elektrischen Widerstand und einem geringen Elektronenfluss. In einem solchen GMR-Sensor ist eine der beiden ferromagnetischen Leiterplatten in ihrer Magnetisierung veränderbar, die entsprechend konträre Platte hat eine fixierte Magnetisierungsrichtung. Um den beschriebenen Aufbau nun als Sensor nutzen zu können, muss die Magnetisierung der veränderbaren Leiterplatte durch einen Analyten beeinflusst werden, was dann wiederum in einem geänderten Elektronenfluss resultiert. Verwirklichen kann man dies mit spezifisch gebundenen Antikörpern, die einen gesuchten Analyten erkennen und binden können. Die Markierung dieses Analyten erfolgt dann mittels eines zweiten Antikörpers (Sandwich-Aufbau), der mit einem paramagnetischen Nanopartikel konjugiert ist. Dieser ‚angeheftete‘ Magnetismus verändert das magnetische Feld der Leiterplatte, sodass die Magnetfelder parallel zueinander ausgerichtet werden und der Widerstand zwischen den Leiterplatten sinkt (152). Der resultierende Stromfluss ist proportional zum enthaltenen Analyten in der Probe, da dieser die Menge an gebundenen Nanopartikeln bestimmt. J. Choi et al. haben diese Technik erfolgreich in ein POCT-System implementiert (153). Sie konnten mit ihrem GMR-Biosensor-Immunoassay IgG und IgM in Bereichen von 10ng/ml bzw. 50ng/ml nachweisen. Dabei kostete ein Einzeltest weniger als 4€ und musste nicht von Fachpersonal ausgeführt werden. Das Ergebnis wurde jeweils in unter 15 Minuten erzielt (153). Ähnliches gelang Yi Wang et al. mit ihrem GMR-Sensor-basierten Assay für die Messung von PAPP-A, PCSK9 und ST2 (154). Bei der ST2-Bestimmung wurde ein unteres Detektionslimit von 40 pg/ml erzielt, bei einer Testlaufzeit von weniger als 15 Minuten (154).

3 Material und Methoden

3.1 Methoden

3.1.1 Studiendesign

Als Grundlage für den Vergleich zwischen dem zu testenden POCT-Gerät ‚i-calQ Thyrospot TSH-assay‘ und den etablierten Referenzmethoden ‚Alinity i‘ von Abbott und ‚Cobas e411‘ von Roche wurden zwei Probenkollektive, ein prospektives und ein retrospektives, definiert und bei beiden mit der zu validierenden Methode der TSH-Wert gemessen. Zusätzlich wurde eine Kontrollgruppe mit schilddrüsengesunden Menschen getestet. Die Messwerte der Referenzmethoden wurden zentral im Labor der Universitätsmedizin Mainz gemessen und liegen zum Vergleich vor. Zu jeder Einzelprobe gibt es nach abgeschlossener Messung drei Messwerte (1x i-calQ, 2x Referenzmethoden), die miteinander verglichen werden können.

3.1.2 Probenkollektive

Das zur Bestimmung des TSH-Werts verwendete Blutserum ist Überschussmaterial und stammt von Patienten aus der endokrinologischen Abteilungen der I. Medizinischen Klinik der Johannes Gutenberg Universitätsmedizin Mainz. Bei den gemessenen Serumproben wird unterschieden zwischen jeweils einem retrospektiven und einem prospektiven Patientenkollektiv sowie einem Kontrollkollektiv bestehend aus Proben von gesunden Personen. Zum retrospektiven Probenkollektiv gehören alle getesteten Patientenproben, die im Zeitraum zwischen dem 22.01.2002 bis 28.11.2017 gewonnen wurden und bei -20 °C in Gefrierschränken gelagert werden. Die zum prospektiven Kollektiv gehörenden Proben wurden direkt nach ihrer Entnahme im Labor getestet, ohne vorher eingefroren gewesen zu sein.

Bei allen drei Kollektiven zusammengefasst wurde bei 670 Serumproben der TSH-Wert mit dem i-calQ ThyroSpot TSH-Assay bestimmt.

3.1.2.1 Retrospektives Kollektiv

Das retrospektive Kollektiv umfasst 450 Seren von 352 Patienten. Bei 69 Patienten wurde mehrfach Blut entnommen und der TSH-Wert bestimmt. Die Geschlechterverteilung liegt bei 81% Frauen und 19% Männer. Dies entspricht ungefähr der Geschlechterverteilung von Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse beim Menschen (155). Es setzt sich aus 285 Frauen und 67 Männern zusammen (Abb. 4). Im Durchschnitt beträgt das Alter 45,46 Jahre und der Altersmedian ist 45 Jahre (25. Perzentile: 32 Jahre, 75. Perzentile: 58 Jahre). Von den 450 gemessenen Proben wurden 203 (45,1%) durch das Zentrallabor als ‚euthyreot‘ diagnostiziert, 204 (45,3%) als hypothyreot und 43 (9,6%) als hyperthyreot.

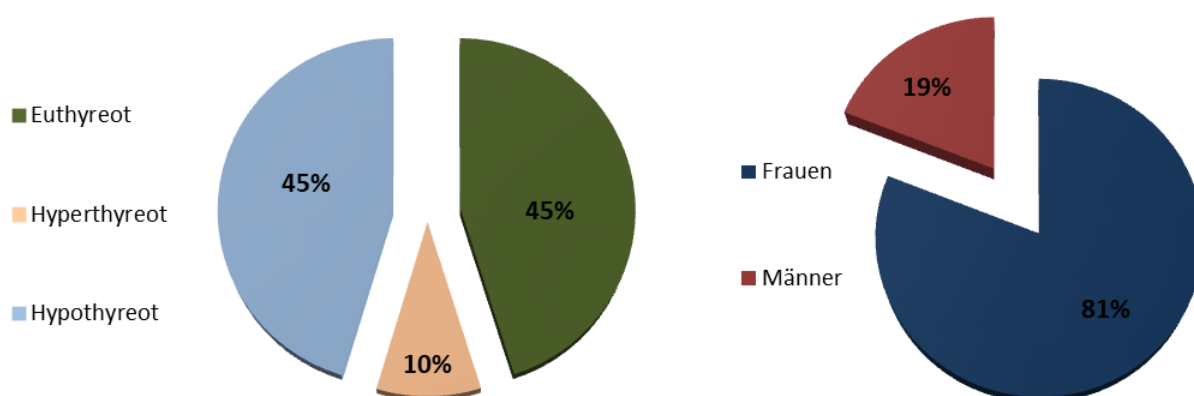


Abbildung 4: Schilddrüsenstatus und Geschlechterverteilung retrospektives Kollektiv

3.1.2.2 Prospektives Kollektiv

Das prospektive Kollektiv umfasst 129 Seren von 99 Patienten. Bei 12 Patienten wurde mehrfach Blut entnommen. Die Proben wurden zwischen dem 03.05.2018 und dem 07.11.2018 abgenommen. Es befinden sich 79 Frauen und 20 Männer in diesem Kollektiv (Abb.5). Der Altersmedian des prospektiven Kollektivs liegt bei 44,8 Jahren (25. Perzentile: 35 Jahre, 75. Perzentile: 54 Jahre), der Altersdurchschnitt bei 46,8 Jahren. Es wurden, aufgrund der TSH-Werte bestimmt durch das Zentrallabor, 69 (53,5%) Proben als ‚euthyreot‘, 37 (28,7%) als ‚hypothyreot‘ und 23 (17,8%) als ‚hyperthyreot‘ diagnostiziert.

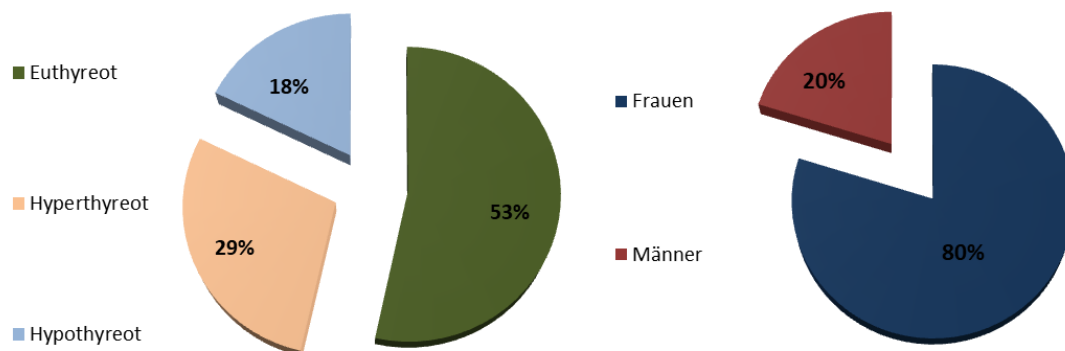


Abbildung 5: Schilddrüsenstatus und Geschlechterverteilung prospektives Kollektiv

| | retrospektives Kollektiv | prospektives Kollektiv |
|--|-------------------------------------|---------------------------------------|
| Anzahl Proben (N) | 450 | 129 |
| Geschlechterverteilung (w/m) | 81% / 19% | 80% / 20% |
| Altersverteilung Median (25. & 75. Perzentile) | Median: 45 Jahre (32 J. & 58 J.) | Median: 44,8 Jahre (35 J. & 54 J.) |
| Schilddrüsenstatus: Euthyreot (TSH: 0,4 – 4,9 mIU/l) | 203 (45,1%) | 69 (53,5%) |
| Schilddrüsenstatus: Hyperthyreot (TSH: <0,4 mIU/l) | 43 (9,6%) | 23 (17,8%) |
| Schilddrüsenstatus: Hypothyreot (TSH: > 4,9 mIU/l) | 204 (45,3%) | 37 (28,7%) |

Tabelle 8: Demographische Daten des retro- und prospektiven Kollektivs

3.1.2.3 Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv besteht aus 91 Serumproben von Personen ohne autoimmune Schilddrüsenerkrankungen. Diese Seren sind, wie auch die der anderen Kollektive, in Kühlschränken bei -20C gelagert. Es befinden sich 34 männliche und 57 weibliche Kontrollpersonen in dieser Gruppe (Abb.6). Die Seren wurden im Zeitraum vom 19.01.2005 bis 22.06.2007 gewonnen, die Patienten waren zu diesem Zeitpunkt im Mittel 37,4 Jahre alt, der Altersmedian betrug 29 Jahre.

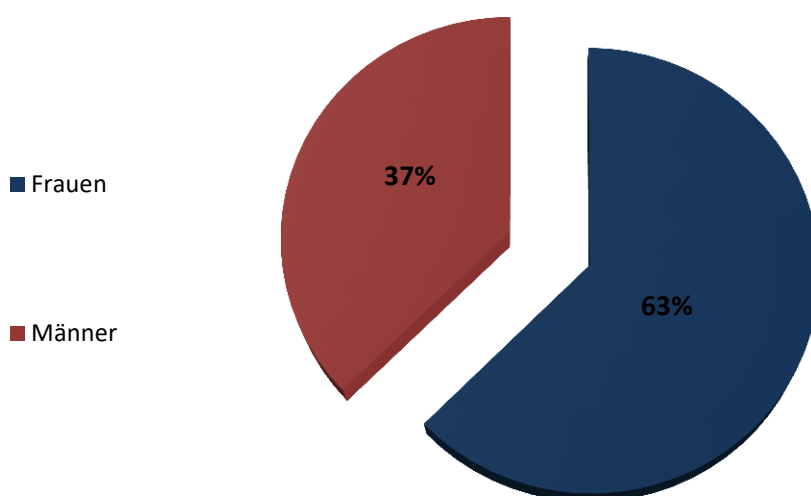


Abbildung 6: Geschlechterverteilung retrospektives Kontrollkollektiv

3.1.3 Probengewinnung

Die Gewinnung der Patientenserum fand jeweils dienstags und donnerstags in der Zeit von 8:00 Uhr bis 12:00 Uhr statt. Die Patienten stimmten vorher einer Verwendung des überschüssigen Serummaterials zu wissenschaftlichen Zwecken, im Sinne der Helsinki Deklaration, zu. Zur Blutentnahme wurden Venenpunktionsbesteck der Firma B.Braun (Venofix Safety, grün) und Blutentnahmemonovetten der Firma Sarstedt (S-Monovette® 9 ml Z-Gel) verwendet. Anschließend wurden die Proben in einem Labor der I. Med. Klinik und Poliklinik der Universität Mainz zentrifugiert (Eppendorf Centrifuge 5416) und das überständige Serum in Röhrchen (Sarstedt, Röhren, 5ml) umgefüllt und mit einem Eindrückstopfen

(Sarstedt, Eindruckstopfen farblos) verschlossen. Nach der direkten Messung der prospektiven Proben wurden diese bei -20 °C eingefroren.

3.1.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Messungen wurde mit den Programmen Microsoft Excel 2016 und SPSS17 (IBM) durchgeführt. Zur Berechnung der Sensitivität, Spezifität, des positiven prädiktiven Werts, sowie des negativen prädiktiven Wertes wurden 4-Feldertafeln erstellt.

| | Zustand: krank | Zustand: gesund |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Testergebnis positiv | Richtig positiv (A) | Falsch positiv (B) |
| Testergebnis negativ | Falsch negativ (C) | Richtig negativ (D) |

Tabelle 9: schematische Darstellung der 4-Felder-Tabelle

Die Sensitivität, also der Anteil an richtig positiv Getesteten von der Gesamtheit aller positiver Proben, berechnet sich aus dieser Tabelle durch $A/(A+C)$. Die Spezifität, also der Anteil an richtig negativ Getesteten von der Gesamtheit aller negativer Proben, berechnet sich aus $D/(D+B)$. Der positive prädiktive Wert ergibt sich aus $A/(A+B)$, der negative prädiktive Wert aus $D/(D+C)$.

Mit Streudiagrammen wurde die berechnete Korrelation nach Pearson graphisch dargestellt. In einem solchen Diagramm werden auf der Abszisse die Messwerte der Referenzmethode dargestellt, auf der Ordinate die zu vergleichende Methode. Zusätzlich wurde im Streudiagramm die Regressionsgerade eingefügt. Messwerte, die die jeweiligen Grenzwerte der Geräte erreichen, wurden aus den Berechnungen ausgeschlossen, um keine Verzerrung der Ergebnisse zu erhalten.

Zur weiteren deskriptiven Beschreibung der durchgeführten Vergleiche wurden jeweils der mittlere relative Fehler sowie die Standardabweichung der relativen Fehler berechnet. Hierbei wurde unterschieden zwischen hypo- und euthyreoten Proben. Hyperthyreote Proben wurden nicht berücksichtigt, da das zu testende i-

calQ-Gerät diese nicht erfassen kann. Die Untergrenze des Messbereichs liegt bei diesem Gerät bei 0,5 mIU/L, was noch über der hier gültigen Grenze zur Hyperthyreose (TSH < 0,4 mIU/L) liegt. Bei der Messung einer solchen Probe zeigt das i-calQ ThyroSpot TSH-Assay dann lediglich „< 0,5 mIU/L“ an, was für eine quantitative Auswertung nicht nutzbar ist.

Zur weiteren graphischen Auswertung des Vergleichs der neuen mit der etablierten Referenzmethode wurden „Receiver Operator Curves“ (ROC) berechnet. Aus diesen Kurven lassen sich Rückschlüsse über Sensitivität und Spezifität ziehen, sowie Optimierungsansätze für entsprechende Cut-Off-Werte der neuen Tests eruieren.

3.2 Material

3.2.1 Verwendete Geräte

| Name: | Hersteller: |
|-----------------------------|--------------------------|
| i-calQ ThyroSpot Reader | LLC, Salt Lake City, USA |
| + Smartphone, XOLO ERA 3 | XOLO, Noida, India |
| Cobas, E411 | Roche, Basel |

Tabelle 10: verwendete TSH-Messgeräte

| Name: | Hersteller: |
|-----------------------------|---|
| Pipette, Research 100 | Eppendorf AG, Hamburg |
| Vortexer, Reax 2000 shaker | Heidolph Instr. GmbH & Co.KG, Schwabach |
| Zentrifuge, Centrifuge 5416 | Eppendorf AG, Hamburg |
| Wasserbad, 3042 | Köttermann, Uetzen/Hänigsen |
| Stoppuhr/Timer | Roth, Karlsruhe |
| Gefrierschrank, Profiline | Liebherr, Biberach an der Riß |

Tabelle 11: verwendete Laborgeräte

3.2.1.1 I-calQ-ThyroSpot TSH Assay

Das i-calQ ThyroSpot TSH-Assay stellt, als neu entwickeltes POCT-System zum Erfassen des TSH-Wertes aus menschlichem Serum, den Gegenstand dieser Studie dar. Es greift zum Auslesen der Ergebnisse des enthaltenen Streifentests (LFA) auf ein handelsübliches Smartphone in Kombination mit einer App zurück.

3.2.1.1.1 Prinzip des i-calQ ThyroSpot TSH Assay

Der i-calQ-ThyroSpot TSH-Test stellt ein Sandwich-Immunoassay (siehe Kapitel 2.4.1) in Form eines POCT-Systems dar. Genutzt werden zwei verschiedene Antikörper gegen Epitope der β -Untereinheit des humanen TSH. Der Nachweisantikörper ist mit kolloidalen Goldnanopartikeln konjugiert. Die

Quantifizierung des TSH-Werts erfolgt optisch über die Kamera eines Smartphones. Der Test wird als ‚Lateral Flow Assay‘ (siehe Kapitel 2.5.1.1.1) in einer Einmalkassette angeboten, die mit Hilfe einer Befestigungsvorrichtung vor der Linse des Smartphones fixiert wird. Mittels App kann dann über die Kamera der Test ausgelesen und gespeichert werden (156).

3.2.1.1.2 Limitationen und technische Daten des i-calQ ThyroSpot TSH Assays

Die Herstellerangaben von i-calQ zum ThyroSpot POCT TSH Assay beschränken die diagnostische Verwendung des Tests auf die Diagnose primärer Hypothyreosen aller Altersgruppen, Einschätzung der Iodversorgung in der Bevölkerung und zur Kontrolle der Therapie bei primären Hypothyreosen. Hyperthyreosen können nicht diagnostiziert werden. Weiterhin wird darauf hingewiesen, dass heterophile Antikörper das Testergebnis beeinflussen können. Gleiches gilt für TSH-Varianten und parallel vorliegende Erkrankungen.

Die Assay Range liegt zwischen 1 – 80 mIU/L, und liefert, laut Herstellerstudie, zwischen 1 – 60 mIU/L äquivalente TSH-Messwerte zu denen gemessen mit einem Abbott Architect immunoassay. Es wurden in selbiger Studie keine Interaktionen des Assays mit Medikamenten oder anderen Substanzen nachgewiesen. Auch Kreuzreaktionen mit anderen Proteohormonen wie LH, hCG oder FSH werden ausgeschlossen. Untersucht wurde darüber hinaus, ob es zu einem High-dose-Hook-Effekt kommt. Dies konnte jedoch ebenfalls, laut Herstellerangaben, ausgeschlossen werden (156).

3.2.1.1.3 Anwendung i-calQ ThyroSpot TSH Assay

Zur Testung mit dem i-calQ ThyroSpot werden die Einmaltestkassetten aus den luftdichten Verpackungen entnommen und mit den jeweiligen Serumnummern der Serumproben eindeutig beschriftet (Abb.3: 1). Tiefgefrorene Proben müssen vorher im Wasserbad bei 37°C schonend erwärmt werden. 15µl der flüssigen Serumprobe werden dann, nach kurzem Vortexen, per Pipette in den unteren Probentrichter (Abb.3: 2) der Testkassette eingebracht. Hierbei ist auf eine korrekte Platzierung der Probe im Trichter zu achten, da die geringe Serummenge leicht am Kunststoffrand anheftet. Die Inkubationszeit des Serums beträgt eine Minute und wird mittels Timer überwacht. Nach dieser Minute werden zwei Tropfen i-calQ-Pufferlösung,

entsprechend einer ungefähren Menge von 65µl, in den oberen Puffertrichter (Abb.3: 3) eingetroppt. Auch hierbei muss darauf geachtet werden, dass die Flüssigkeit nicht am Kunststoffrand kleben bleibt. Gleichzeitig wird der seitliche Klickhebel (Abb.3: 4) runtergedrückt, was den Beginn einer zwanzigminütigen Inkubationszeit markiert. Diese wird erneut mit einem Timer überwacht. Die Testkassette sollte in dieser Zeit nicht gekippt oder zu stark bewegt werden. Nach Ablauf der zwanzig Minuten wird die Einmaltestkassette in die weiße Halterung, die sich an der Rückseite des Smartphones befindet bis zum Anschlag an den rundlichen Stopper (Abb.3: 5) vorgeschoben, sodass das Ergebnisfeld (Abb.3: 6) vor der Kameralinse platziert ist. Idealerweise wurde vorher das Gerät eingeschaltet und die „Thyroid Expert[®]“-TSH-App gestartet, sodass die Messung direkt durchgeführt werden kann. Hierzu wird auf dem Startbildschirm des Programms das zentrale ‚Start‘-feld berührt. Der nun erscheinende blaue Bildschirm wird mit einer weiteren Berührung des Displays quittiert, sodass im nächsten Schritt der Button ‚Read Test‘ betätigt werden kann. Sofort erscheint die Meldung „Taking image x/4“ woraufhin dann der berechnete TSH-Wert angezeigt wird.

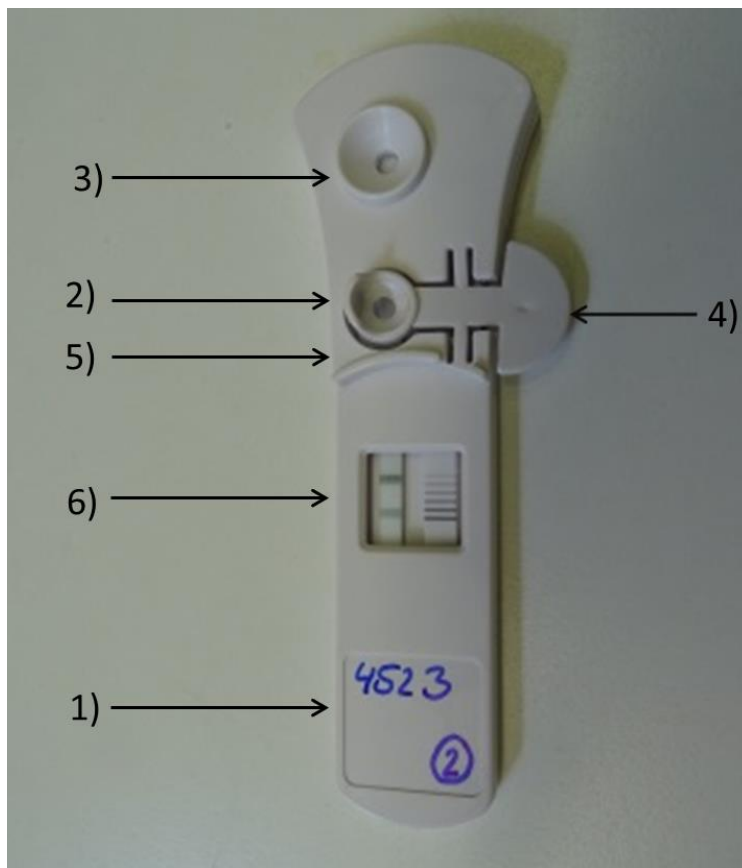


Abbildung 7: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay Einmaltestkassette

- 1) Beschriftungsfeld
- 2) unterer Probentrichter
- 3) oberer Puffertrichter
- 4) seitliche Klickhebel
- 5) Stopper für richtige Einschubtiefe
- 6) Ergebnis- und Auslesefeld

3.2.1.2 Abbott ‚Alinity i‘

Als Referenzwertmessgerät zur quantitativen Bestimmung des TSH-Levels wurde das im Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz genutzte Abbott ‚Architect i‘ bzw. ein Abbott ‚Alinity i‘ verwendet. Eine zentrallaborinterne Geräteumstellung auf das Nachfolgemodell ‚Alinity i‘ von Abbott während der Durchführung der Studie bedingte diesen Wechsel. Beide Geräte arbeiten jedoch laut Herstellerangaben, nach dem exakt gleichen Prinzip (157).

3.2.1.2.1 Prinzip des Abbott ‚Alinity i‘

Das Prinzip des Abbott ‚Architect i‘ bzw. ‚Alinity i‘ beruht auf dem Chemilumineszenz-Mikropartikelassay (siehe Kapitel 2.4.1.4). Zusätzlich zum reinen Chemilumineszenz-Immunoassay wird hier über die Antikörperkonjugation an paramagnetische Mikropartikel ein ‚Festhalten‘ der Antikörperkomplexe durch Magnetismus ermöglicht. Somit müssen die Reaktionsgefäße nicht vor dem Assaydurchlauf mit Antikörpern beschichtet werden, sondern können gezielt vor einem Waschgang fixiert werden. Quantifiziert wird der Assay optisch, das heißt, durch Messung von relativen Lichteinheiten (RLE). Diese RLEs sind direkt proportional zur enthaltenen TSH-Menge in der Probe (157).

3.2.1.2.2 Limitationen und technische Daten des Abbott ‚Alinity i‘

Das Abbott ‚Alinity i‘ TSH Reagent Kit kann sowohl zur Diagnose von hyper- als auch hypothyreoten Patienten aus Blutserum oder Plasma genutzt werden. Der Messbereich liegt zwischen 0,0083 und 100,00 mIU/L. Proben, die vom System mit einem Wert von > 100 mIU/L erkannt werden, werden als solche vermerkt und können automatisch oder manuell verdünnt und erneut gemessen werden. In der nach CLSI Protokoll (Clinical & Laboratory Standards Institute) durchgeführten Studie konnte keine Kreuzreaktivität mit anderen Proteohormonen wie FSH, LH, hCG nachgewiesen werden. Die Konzentrationen der getesteten Hormone lagen bei FSH und LH bei ≤ 500 mIU/L, bei hCG ≤ 200 mIU/L. Auch eine Interferenz mit Hämoglobin, Billirubin, Triglyceriden und Protein lag bei entsprechender Testung bei $\leq 10\%$. Die Hersteller weisen jedoch darauf hin, dass heterophile Antikörper in der Probe das Ergebnis beeinflussen können. Des Weiteren können Patienten, die mit monoklonalen Mausantikörpern behandelt werden, humane Anti-Mausantikörper entwickeln, die dann falsch hohe oder falsch niedrige Werte bei der Durchführung des Assays erzeugen. Der TSH-Cutoff-Level des ‚Alinity i‘ und des ‚Architect i‘ liegen beide bei 0,4 mIU/L bis 4,9 mIU/L (157).

3.2.1.3 Roche ‚Cobas e411‘

Als weitere Referenzmethode zur Messung des TSH-Werts wurde ein ‚Cobas e411‘ der Firma Roche verwendet. Das Gerät befindet sich in einem molekularbiologischen Labor auf dem Gelände der medizinischen Universität Mainz und wird von geschultem, medizintechnischem Personal bedient. Das Roche ‚Cobas e411‘ nutzt für die Messung des TSHs das Prinzip der Elektrochemilumineszenz (158).



Abbildung 8: Roche Cobas e411

3.2.1.3.1 Prinzip des Roche ‚Cobas E411‘ TSH Assays

Die Analyse beruht bei dieser Referenzmethode auf der ‚Elecsys‘ Technologie, einer von Roche patentierten Messtechnik, die über Elektrochemilumineszenz (siehe Kap. 2.4.1.5) in Verbindung mit einem Antikörper-Antigen-Komplex eine quantitative Messung ermöglicht. Es handelt sich um einen nicht kompetitiven Immunoassay. Die Analyse läuft nach Bestückung des Geräts vollständig automatisiert ab (158).

3.2.1.3.2 Limitationen und technische Daten des Roche ‚Cobas E411‘ TSH Assays

Das Anwendungsgebiet des Roche Cobas e 411 TSH Assays ist laut Hersteller die quantitative Bestimmung von TSH in humanem Blutserum und Plasma. Eine Einschränkung bezüglich der Diagnostik wird nicht gegeben. Der Messbereich liegt zwischen 0,005 – 100 mIU/L TSH. Proben, die einen TSH-Wert von ≥ 100 aufweisen,

sollten zur genauen Bestimmung, verdünnt werden. Dies kann manuell oder automatisch geschehen. Proben mit Messwerten unter 0,005 mIU/L werden als < 0,005 mIU/L dargestellt. Die Testdauer liegt beim Roche ‚Cobas e411‘ bei 18 Minuten. Die funktionelle Sensitivität des Tests ist 0,014 mIU/L. Die Testergebnisse werden nicht durch hohe Level an Bilirubin, Hämoglobin, Triglyzeride oder IgG-Antikörper beeinflusst. Lediglich bei Patienten unter Therapie mit hohen Dosen an Biotin, sollte zwischen letzter Einnahme und Probenentnahme ≥ 8 h gewartet werden. Ein High-dose Hook-Effekt konnte bis zu einer TSH-Konzentration von 1000 mIU/L nicht nachgewiesen werden. Bei der Spezifitätstestung konnten keine Kreuzreaktionen zu anderen Proteohormonen wie FSH, LH oder hCG erkannt werden. Der Referenzbereich des Cobas e411 liegt zwischen 0,27 – 4,2 mIU/L. Alle Tests am Cobas e411 wurden gemäß CLSI Protokollen durchgeführt (158).

3.2.2 Verwendete Materialien

| Name: | Hersteller: |
|--|----------------------------------|
| i-calQ Testkassetten | LLC, Salt Lake City, USA |
| i-calQ Puffer (newborn TSH diluent) | LLC, Salt Lake City, USA |
| Pipettenspitzen, Biosphere [®] Filtertips | Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht |
| Monovetten, S-Monovette [®] 9 ml Z-Gel | Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht |
| Serumröhrchen, Röhren, 5ml, PS | Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht |
| Eindrückstopfen, farblos | Sarstedt AG & Co.KG, Nümbrecht |
| Zellstofftupfer, Maicell, 4 x 5 cm | MaiMed GmbH, Neuenkirchen |
| Venenpunktion, Venofix Safety, grün | B. Braun Melsungen AG, Melsungen |
| Handschuhe M, sempercare prem. | Semperit AG, Wien |

Tabelle 12: Verwendete Test- und Labormaterialien

3.2.3 Verwendete Software

| Name: | Hersteller: |
|--------------|-------------------------|
| Excel 2016 | Microsoft, Redmond, USA |
| Word 2016 | Microsoft, Redmond, USA |
| SPSS 17 | IBM, Armonk, USA |

Tabelle 13: Verwendete Software

4 Ergebnisse

4.1 Alinity i TSH Assay (Abbott) vs. Cobas e411(Roche) retrospektives Kollektiv

Die beiden als Referenzmethoden definierten Geräte, Alinity i von Abbott und Cobas e411 von Roche, wurden miteinander in beiden Kollektiven verglichen und die Ergebnisse der TSH-Bestimmung in einer 4-Feldertafel dargestellt. Zur Diskriminierung zwischen hypothyreoten- und nichthyothyreoten Proben, wurde für das Abbott-Gerät ein Cut-Off-Level von TSH > 4,9 mIU/L und für das Roche-Gerät ein Cut-Off von TSH > 4,2 gewählt. Alle Proben mit Ergebnissen unter diesen Werten wurden als ‚eu- und hyperthyreot‘ zusammengefasst. Aus der 4-Feldertafel wurden die Werte Sensitivität, Spezifität, positiv- sowie negativ prädiktiver Wert ermittelt.

4.1.1 Qualitative Auswertung

Der in Tabelle 14 gezeigte Vergleich zwischen Alinity i (Abbott) und Cobas e411 (Roche) zeigt eine Sensitivität von 95,00 % und eine Spezifität von 78,24 %, sowie einen positiven prädiktiven Wert von 78,51% und einen negativen prädiktiven Wert von 94,92%. Insgesamt kam es bei 62 von 439 Messungen zu unterschiedlichen Diagnosen (14,12 %). Elf Messungen wurden als Ausreißer identifiziert.

| | Abbott: hypothyreot | Abbott: eu- & hyperthyreot | |
|--|--------------------------------|---|-----|
| Cobas: hypothyreot | 190 | 52 | 242 |
| Cobas: eu- & hyperthyreot | 10 | 187 | 197 |
| | 200 | 239 | 439 |

Tabelle 14: Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv

4.1.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der als hypothyreot bezeichneten retrospektiven Proben wurde ein mittlerer relativer Fehler von Cobas e411 zu Alinity i von 0,31 berechnet, die Standardabweichung der relativen Fehler beträgt 0,78. Unter den euthyreoten retrospektiven Proben gibt es einen mittleren relativen Fehler von 0,28, die Standardabweichung der relativen Fehler beträgt 0,42.

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|--|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | 0,31 | 0,28 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 0,78 | 0,42 |

Tabelle 15: Quantitative Auswertung Cobas e411 (Roche) vs. Alinity i (Abbott), retrospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose

Der Korrelationskoeffizient (Spearman) zu den Messergebnissen von Abbott Alinity i und Roche Cobas e411 im retrospektiven Kollektiv beträgt $r_s=0,93$. 46 der 450 Messungen (~10%) konnten entweder aufgrund von Messergebnissen außerhalb des Messbereichs der beiden Geräte oder wegen eindeutiger Fehlmessungen nicht berücksichtigt werden.

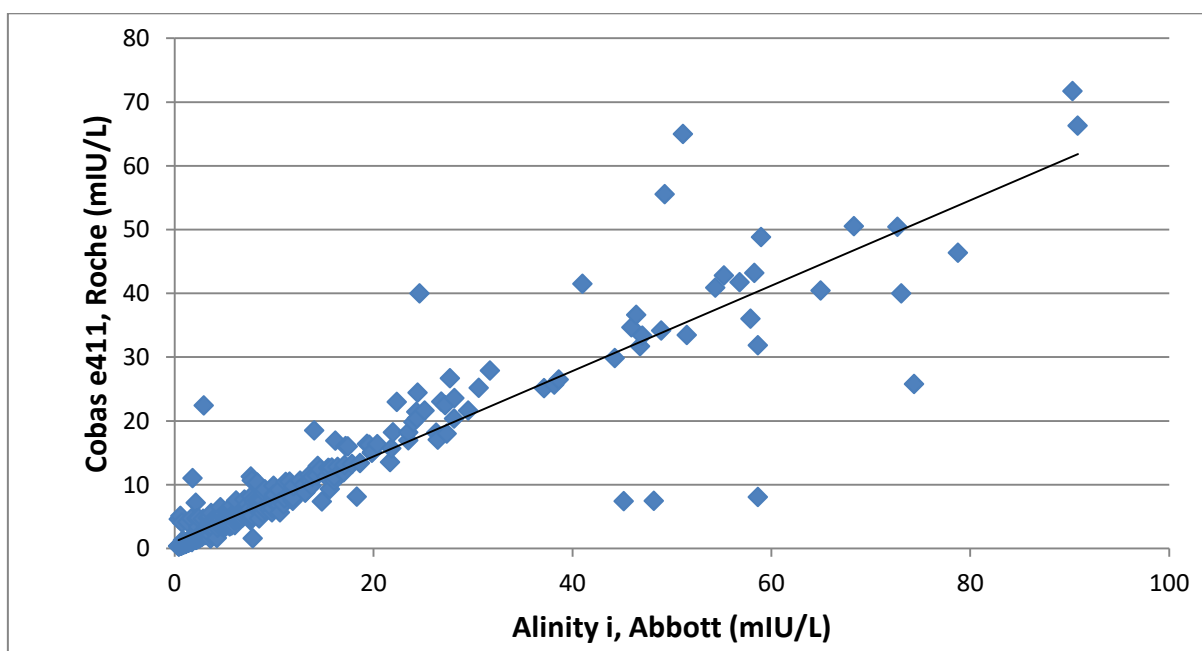


Abbildung 9: Streudiagramm mit Regressionsgerade, Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv

4.2 Alinity i TSH-Assay (Abbott) vs. Cobas e411(Roche), prospektives Kollektiv

4.2.1 Qualitative Auswertung

Bei dem Vergleich zwischen Alinity i (Abbott) und Cobas e411 (Roche) im prospektiven Kollektiv ergaben sich aus der 4-Feldertafelberechnung eine Sensitivität von 100%, eine Spezifität von 84,61%, ein positiv prädiktiver Wert von 72,00% und ein negativ prädiktiver Wert von 100%. Es kam bei der qualitativen Betrachtung der Ergebnisse bei 14 von 127 Messungen zu Abweichungen der Diagnose (11,02%). (siehe Tabelle 16). Zwei Messwerte wurden als Ausreißer identifiziert und nicht in die Berechnung mit eingeschlossen. Der Cut-Off-Wert zu Hypothyreose lag für das Roche Cobas bei TSH > 4,2 mIU/L, bei Abbott Alinity i bei TSH > 4,9 mIU/L.

| | Abbott: hypothyreot | Abbott: eu- & hyperthyreot | |
|--------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|-----|
| Cobas: hypothyreot | 36 | 14 | 50 |
| Cobas: eu- & hyperthyreot | 0 | 77 | 77 |
| | 36 | 91 | 127 |

Tabelle 16: Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche), prospektives Kollektiv

4.2.2 Quantitative Auswertung

Im prospektiven hypothyreoten Kollektiv beträgt der mittlere relative Fehler zwischen Cobas e411 (Roche) und Alinity i (Abbott) 0,97, die Standardabweichung 1,16. Im prospektiven euthyreoten Kollektiv beträgt der mittlere relative Fehler 0,45, die Standardabweichung der relativen Fehler ist 0,37. (siehe Tabelle 17)

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | 0,97 | 0,45 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 1,16 | 0,37 |

Tabelle 17: Quantitative Auswertung Cobas e411 (Roche) vs. Alinity i (Abbott), prospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose

Die Korrelation nach Spearman zwischen den TSH-Messwerten von Cobas e411 (Roche) und Alinity i (Abbott) im prospektiven Kollektiv beträgt $r_s = 0,98$. 23 der 129 Messungen (~18%) wurden aufgrund des Erreichens der Messgrenzen beider Geräte oder wegen eindeutiger Fehlmessungen nicht berücksichtigt.

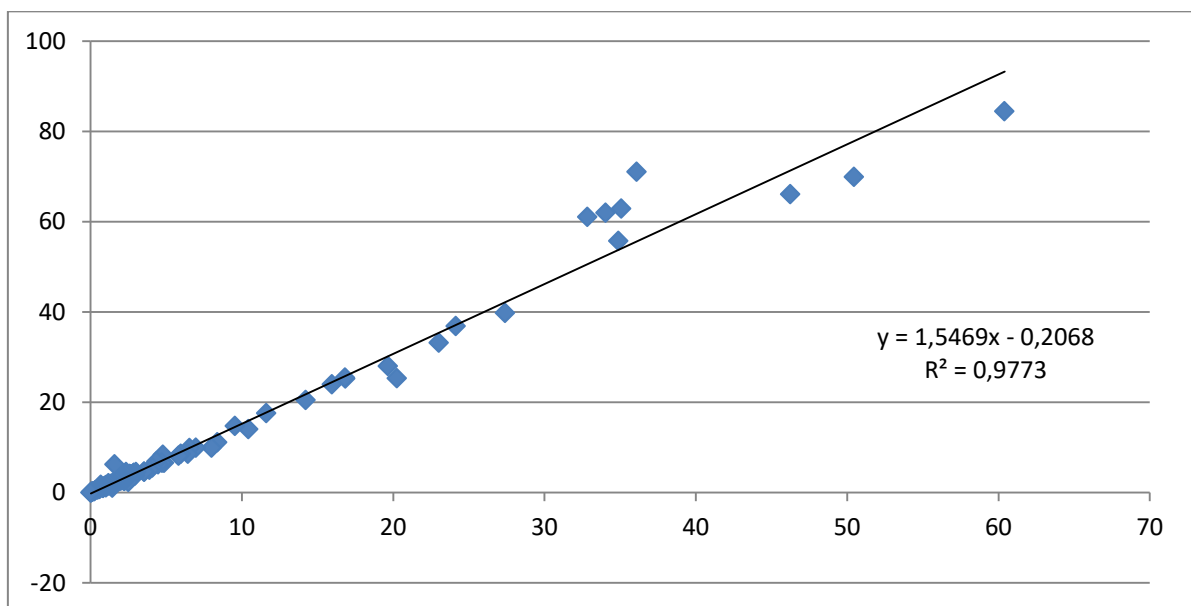


Abbildung 10: Streudiagramm mit Regressionsgerade, Alinity i (Abbott) vs. Cobas e411 (Roche) prospektives Kollektiv

4.3 i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i TSH-Assay (Abbott), retrospektives Kollektiv

4.3.1 Qualitative Auswertung

Der Vergleich zwischen i-cal-Q ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i (Abbott) ergab im retrospektiven Kollektiv eine Sensitivität von 53,43%, eine Spezifität von 98,37%, einen positiven prädiktiven Wert von 96,46% und einen negativen prädiktiven Wert von 71,10%. Bei insgesamt 99 der 450 Proben kam es zu unterschiedlichen Diagnosen (21,3%). Der Cut-Off zur Hypothyreose ist TSH >4,9 mIU/l. (siehe Tabelle 18)

| | Abbott Hypothyreot | Abbott eu- & hyperthyreot | |
|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|-----|
| i-calQ hypothyreot | 109 | 4 | 113 |
| i-calQ eu- & hyperthyreot | 95 | 242 | 337 |
| | 204 | 246 | 450 |

Tabelle 18: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), retrospektives Kollektiv

4.3.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der hypothyreoten retrospektiven Proben wurde im Vergleich zur Referenzmethode Alinity i von Abbott ein mittlerer relativer Fehler von -0,45 berechnet. Die Standardabweichung der relativen Fehler ist 0,51. In der Gruppe der euthyreoten retrospektiven Proben wurden ein mittlerer relativer Fehler von -0,42 und eine Standardabweichung der relativen Fehler von 0,65 errechnet (siehe Tabelle 19).

Sowohl die hypo- als auch die euthyreoten Proben wurden mit dem i-calQ ThyroSpot TSH-Assay im Vergleich zur Referenzmethode zu niedrig gemessen. Werte außerhalb der Messgrenzen des Gerätes wurden von der Berechnung ausgeschlossen.

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | -0,45 | -0,42 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 0,51 | 0,65 |

Tabelle 19: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), retrospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose

Die Korrelation nach Spearman zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i von Abbott im retrospektiven Kollektiv ergab einen Wert von $r_s = 0,79$. 118 Werte wurden nicht berücksichtigt, da sie entweder als Ausreißer identifiziert wurden oder außerhalb der Messgrenzen der Geräte lagen. Von den 118 Proben lagen 73 laut Referenzmethode innerhalb der Messgrenzen des i-calQ ThyroSpot TSH-Assays (0,5 – 100 mIU/L), wurden von diesem jedoch als außerhalb liegend erkannt (~62%). Bezogen auf das Gesamtkollektiv entspricht dies 16,22 %. Im Streudiagramm (siehe Abb. 11) ist zu erkennen, dass bei höheren TSH-Werten die Streuung zunimmt.

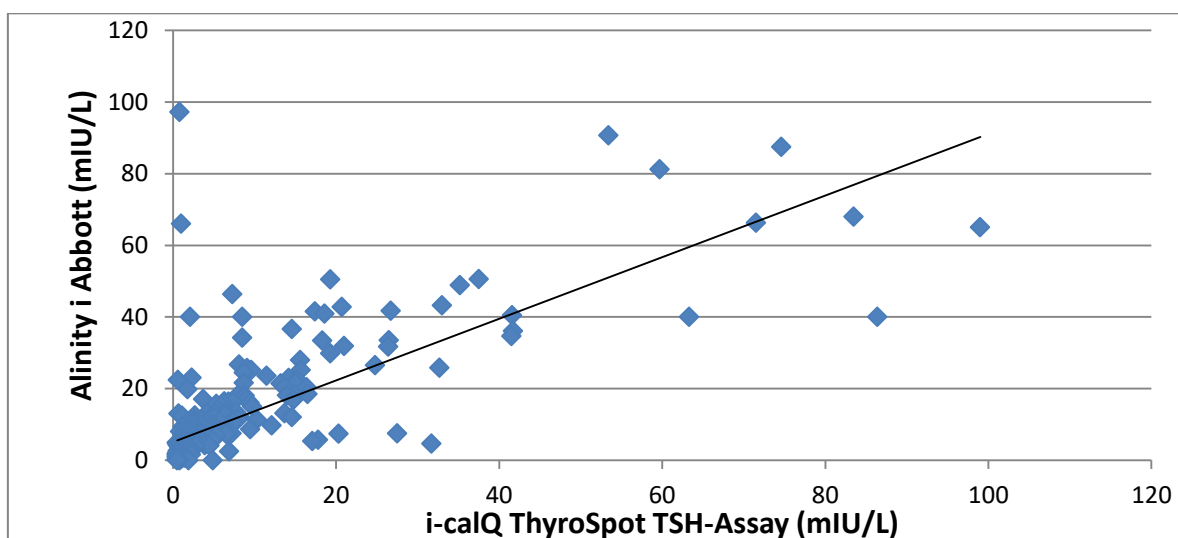


Abbildung 11: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott) retrospektives Kollektiv

Die berechnete ROC-Kurve des Vergleichs zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i (Abbott) im retrospektiven Kollektiv ergibt eine „area under curve“ (AUC) von 0,883 bei 318 von 450 eingeschlossenen Messungen. Aus den zugrundeliegenden Koordinatenpunkten ergeben sich eine Sensitivität von 48% und eine Spezifität von 98,6% für die Cut-Off-Werte des Alinity i (Abbott) zur Diskriminierung zwischen hypo- und euthyreoten Proben (TSH > 4,9 mIU/L). Zum Erreichen einer Sensitivität von $\geq 90\%$ wäre für das i-calQ ThyroSpot TSH-Assay ein Cut-Off-Wert von TSH > 1,25 mIU/L als Hypothyreosekriterium zu wählen.

Vergleich i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), ROC-Kurve

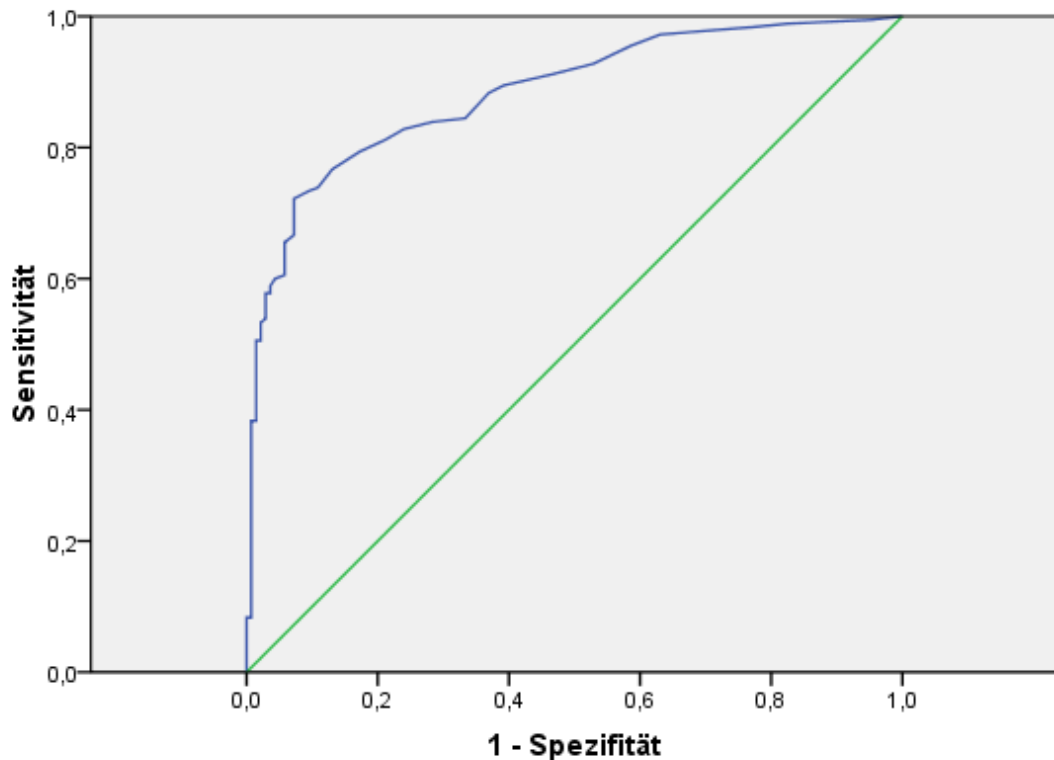


Abbildung 12: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, retrospektives Kollektiv

4.4 i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i TSH Assay (Abbott), prospektives Kollektiv

4.4.1 Qualitative Auswertung

Der Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i (Abbott) zeigt im prospektiven Kollektiv eine Sensitivität von 75,68% und eine Spezifität von 95,65%. Der positiv prädiktive Wert ist 87,5%, der negativ prädiktive Wert 90,72%. Insgesamt wurde in 13 von 129 Fällen eine abweichende Diagnose gestellt (10,08%). Der Cut-Off zur Hypothyreose ist TSH >4,9 mIU/l.

| | Abbott: hypothyreot | Abbott: eu- & hyperthyreot | |
|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|-----|
| i-calQ: hypothyreot | 28 | 4 | 32 |
| i-calQ: eu- & hyperthyreot | 9 | 88 | 97 |
| | 37 | 92 | 129 |

Tabelle 20: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i TSH Assay (Abbott), prospektives Kollektiv

4.4.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der hypothyreoten prospektiven Proben wurden beim Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Abbott Alinity i ein mittlerer relativer Fehler von -0,05 und eine Standardabweichung der relativen Fehler von 0,56 errechnet. Bei den als euthyreot definierten Proben wurden ein mittlerer relativer Fehler von -0,07 und eine Standardabweichung von 0,65 berechnet. Sowohl bei den hypo- wie auch bei den euthyreoten Proben wurden mit dem i-calQ ThyroSpot im Vergleich zur Referenzmethode geringere TSH-Werte gemessen. Werte außerhalb der Messgrenzen wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen.

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | -0,05 | -0,07 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 0,56 | 0,65 |

Tabelle 21: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), prospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose

Die Korrelation nach Spearman zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i (Abbott) im prospektiven Kollektiv beträgt $r_s = 0,76$. 43 der 129 Messungen konnten für die Berechnung nicht berücksichtigt werden, da die Ergebnisse außerhalb der Messgrenzen des jeweiligen Gerätes lagen oder als Ausreißer identifiziert werden konnten. Bei 19 der 43 nicht berücksichtigten Messungen (~44%) zeigte die Referenzmethode einen TSH-Wert innerhalb der Nachweisgrenzen des i-calQ ThyroSpot TSH-Assays (0,5 – 100 mIU/L). Dies entspricht einer Gesamtfehlerquote von etwa 14,73% im prospektiven Kollektiv. Im Streudiagramm (siehe Abbildung 13) ist eine zunehmende Streuung der Messwerte bei steigendem TSH-Wert zu erkennen.

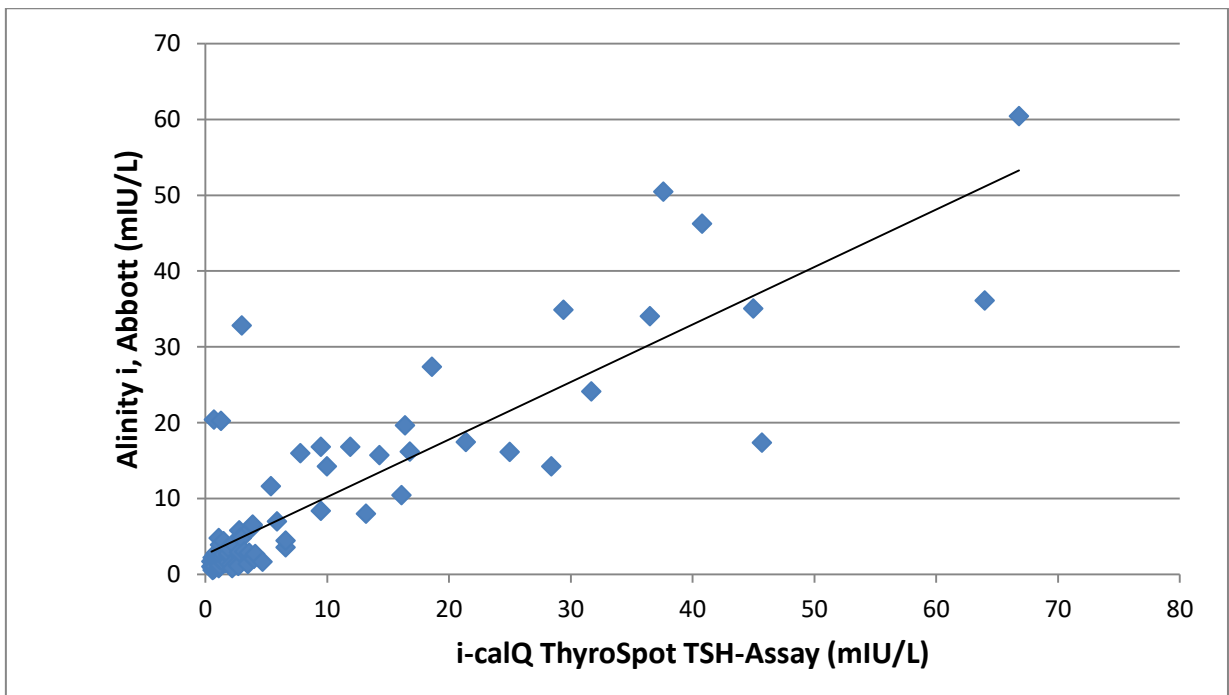


Abbildung 13: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott) prospektives Kollektiv

Die berechnete ROC-Kurve des Vergleichs zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i (Abbott) im prospektiven Kollektiv ergibt eine „area under curve“ (AUC) von 0,93 bei 85 von 129 eingeschlossenen Messungen. Aus den zugrundeliegenden Koordinatenpunkten ergeben sich eine Sensitivität von 78,1% und eine Spezifität von 97% für die Cut-Off-Werte des Alinity i (Abbott) zur Diskriminierung zwischen hypo- und euthyreoten Proben (TSH > 4,9 mIU/L). Zum Erreichen einer Sensitivität von $\geq 90\%$ wäre für das i-calQ ThyroSpot TSH-Assay ein Cut-Off-Wert von TSH > 2,85 mIU/L als Hypothyreosekriterium zu wählen.

Vergleich i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs Alinity i (Abbott), ROC-Kurve

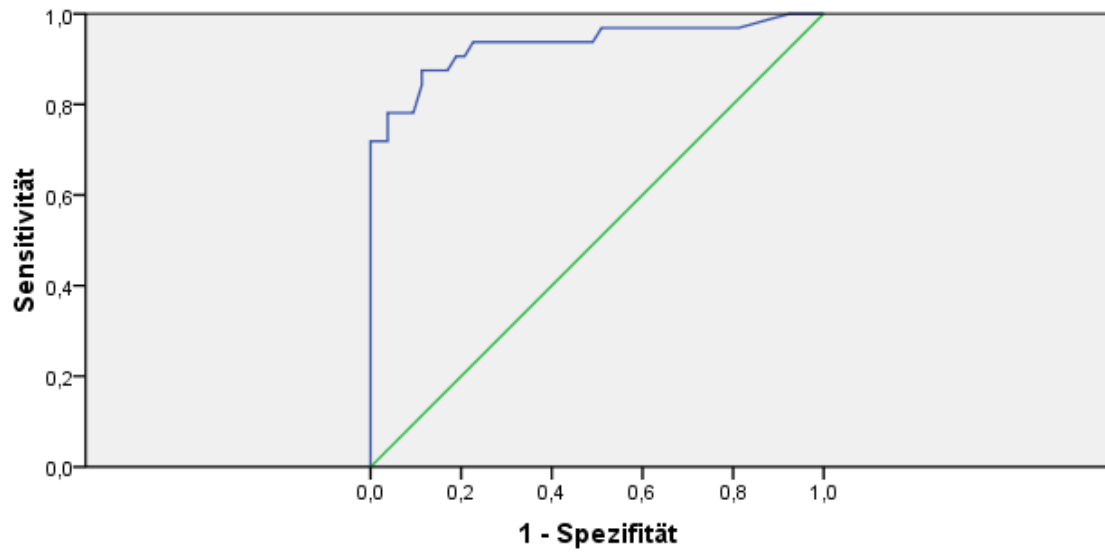


Abbildung 14: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, prospektives Kollektiv

4.5 i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv

4.5.1 Qualitative Auswertung

Der Vergleich des i-calQ ThyroSpot TSH-Assays mit dem Cobas e411 (Roche) zeigt im retrospektiven Kollektiv eine Sensitivität von 44,67 % und eine Spezifität von 98,06%. Der positive prädiktive Wert ist 96,46%, der negativ prädiktive Wert 59,94%. Es kam bei insgesamt 139 von 450 Proben zu unterschiedlichen Diagnosestellungen (30,8%). Der Cut-Off zur Hypothyreose ist TSH >4,2 mIU/l.

| | Cobas hypothyreot | Cobas eu- &hyperthyreot | |
|-------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|-----|
| i-calQ hypothyreot | 109 | 4 | 113 |
| i-calQ eu- &hyperthyreot | 135 | 202 | 337 |
| | 244 | 206 | 450 |

Tabelle 22: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, retrospektives Kollektiv

4.5.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der hypothyreoten retrospektiven Proben wurden beim Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH Assay und Roche Cobas e411 ein mittlerer relativer Fehler von -0,61 und eine Standardabweichung der relativen Fehler von 0,34 berechnet. In der Gruppe der euthyreoten retrospektiven Proben lagen der mittlere, relative Fehler bei -0,27, die Standardabweichung der relativen Fehler bei 1,34. Sowohl hypo- als auch euthyreote Proben wurden mit dem i-calQ ThyroSpot TSH-

Assay im Vergleich zu Referenzmethode (Cobas e411) niedriger gemessen. Werte außerhalb der Messgrenzen des Gerätes wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt.

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|--|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | -0,61 | -0,27 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 0,34 | 1,34 |

Tabelle 23: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), retrospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose

Die Korrelation nach Spearman im retrospektiven Kollektiv zwischen ical-Q ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) beträgt $r_s = 0,83$. 127 Messergebnisse konnten nicht in die Berechnung einfließen, da die Ergebnisse außerhalb der Messgrenzen des jeweiligen Gerätes lagen oder als Ausreißer identifiziert wurden. 116 der nicht berücksichtigten Werte wurden von ical-Q ThyroSpot TSH-Assay als außerhalb der Messgrenzen (0,5 – 100 mIU/L) liegend bewertet. 65 dieser 116 Messungen (~56%) zeigten laut Referenzmethode (Cobas e411) einen TSH-Wert zwischen 0,5 und 100 mIU/L. Dies entspricht einem Anteil von 14,4% fehlerhafter Messungen im Gesamtkollektiv.

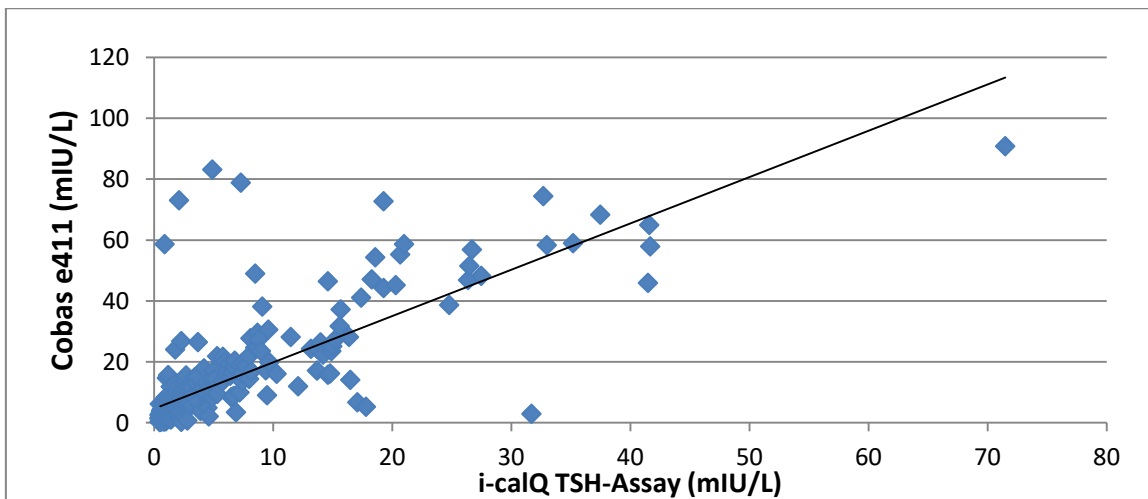


Abbildung 15: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, retrospektives Kollektiv

Die berechnete ROC-Kurve des Vergleichs zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) im retrospektiven Kollektiv ergibt eine „area under curve“ (AUC) von 0,904 bei 317 von 450 eingeschlossenen Messungen. Aus den zugrundeliegenden Koordinatenpunkten ergeben sich eine Sensitivität von 40,6% und eine Spezifität von 97% unter Verwendung der Cut-Off-Werte des Roche Cobas e411 für die Diskriminierung zwischen Hypo- und Euthyreose (TSH > 4,2 mIU/L). Um eine Sensitivität von 90% zu erreichen, wäre ein Cut-Off-Wert zur Hypothyreose von 1,15 mIU/L nötig.

Vergleich i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), ROC-Kurve

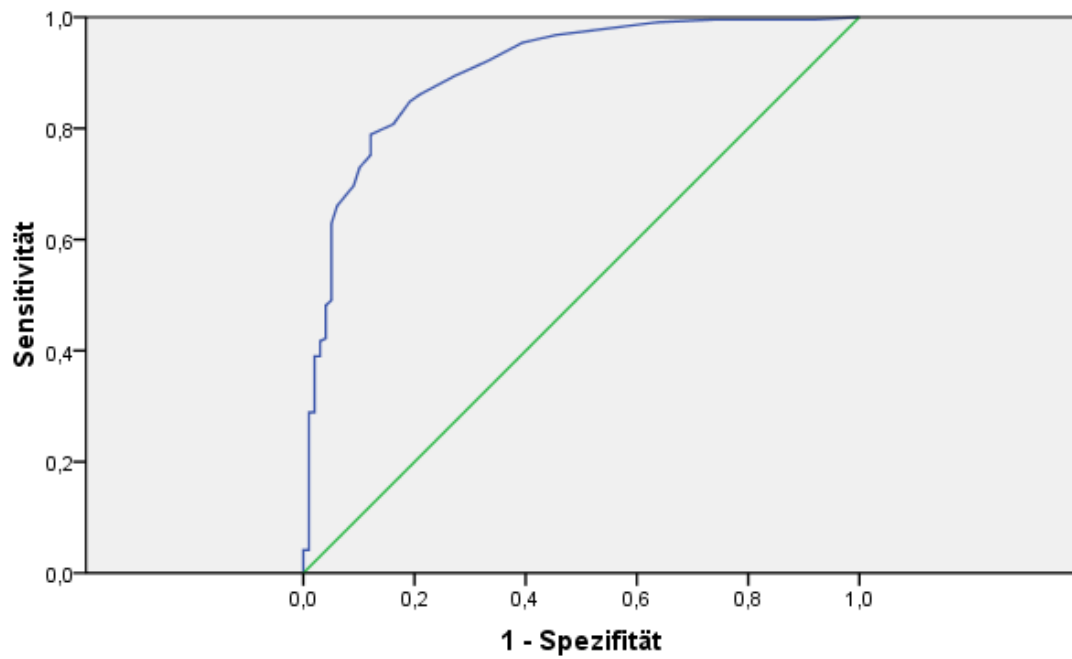


Abbildung 16: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 , retrospektives Kollektiv

4.6 i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), prospektives Kollektiv

4.6.1 Qualitative Auswertung

Der Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) zeigt im prospektiven Kollektiv eine Sensitivität von 60,78% und eine Spezifität von 98,72%. Der positive prädiktive Wert ist 96,87%, der negative prädiktive Wert ist 79,38%. Insgesamt kommt es bei 21 von 129 Proben zu falschen Diagnosestellungen (16,28%). Der Cut-Off zur Hypothyreose ist TSH >4,2 mIU/l.

| | Cobas hypothyreot | Cobas eu- & hyperthyreot | |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|-----|
| i-calQ hypothyreot | 31 | 1 | 32 |
| i-calQ eu- & hyperthyreot | 20 | 77 | 97 |
| | 51 | 78 | 129 |

Tabelle 24: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, prospektives Kollektiv

4.6.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der hypothyreoten prospektiven Proben wurden beim Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) ein mittlerer relativer Fehler von -0,48 und eine Standardabweichung des relativen Fehlers von 0,31 berechnet. In der Gruppe der euthyreoten Proben wurden ein mittlerer relativer Fehler von -0,25 und eine Standardabweichung des relativen Fehlers von 0,57 berechnet. Sowohl im hypo- als auch im euthyreoten Kollektiv lieferte die Messung

mit dem i-calQ ThyroSpot TSH-Assay niedrigere Messerergebnisse als die Referenzmethode. Messwerte außerhalb der Messgrenzen sowie Ausreißer wurden nicht in die Berechnung miteinbezogen.

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|--|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | -0,48 | -0,25 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 0,31 | 0,57 |

Tabelle 25: Quantitative Auswertung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), prospektives Kollektiv, geordnet nach Diagnose

Die Korrelation nach Spearman zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) beträgt im prospektiven Kollektiv $r_s = 0,78$. 41 der 129 Messungen konnten nicht in die Auswertung eingeschlossen werden, da sie als Ausreißer identifiziert werden konnten oder das Messergebnis außerhalb der Messgrenzen des Gerätes lag. Bei 38 der 41 nicht berücksichtigten Messungen (~93%) lag das Ergebnis nicht innerhalb der Messgrenzen des i-calQ TSH Assays (0,5 – 100 mIU/L). Von diesen 38 hatten 18 (~47%) einen Referenz-TSH-Wert (Cobas) innerhalb der möglichen Messgrenzen des i-calQ ThyroSpot TSH-Assays. Auf das Gesamtkollektiv gerechnet, entspricht dies einem Anteil von 13,59% fehlerhaften Messungen.

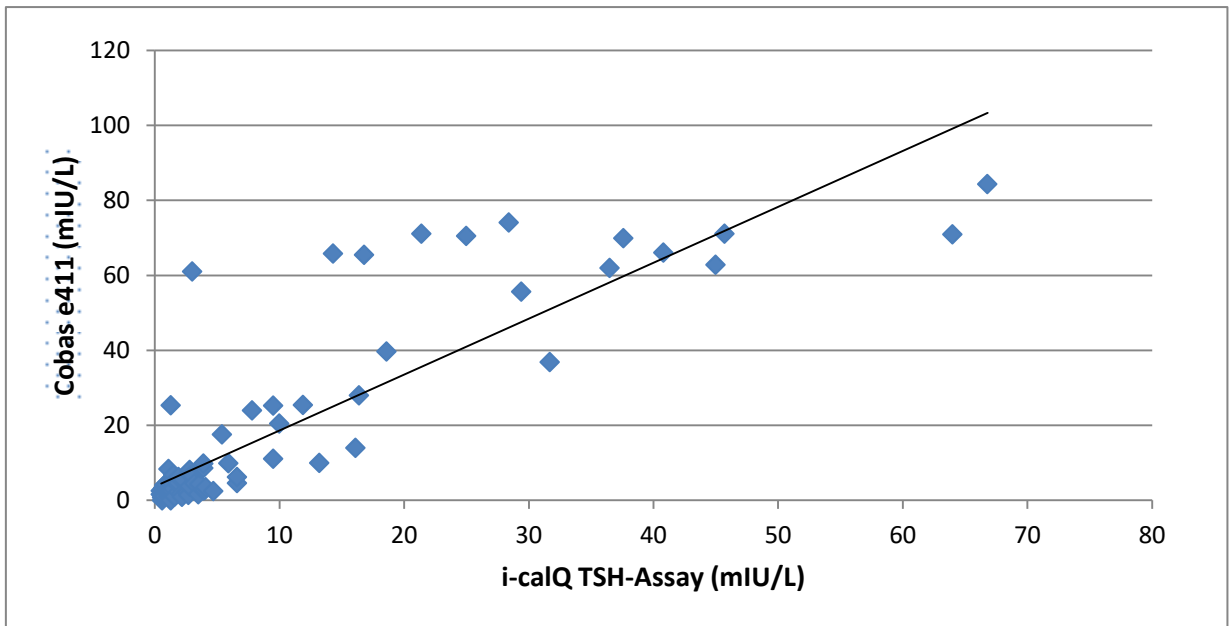


Abbildung 17: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, prospektives Kollektiv

Die berechnete ROC-Kurve des Vergleichs zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) ergibt eine „area under curve“ (AUC) von 0,906 bei 88 von 129 eingeschlossenen Messungen. Aus den zugrundeliegenden Koordinatenpunkten ergeben sich eine Sensitivität von 60% und eine Spezifität von 95% für die Cut-Off-Werte des Cobas e411 zur Diskriminierung zwischen hypo- und euthyreoten Proben. Zum Erreichen einer Sensitivität von $\geq 90\%$ wäre für das i-calQ ThyroSpot TSH-Assay ein Cut-Off-Wert von $TSH > 1,45$ mIU/L als Hypothyreosekriterium zu wählen. Die Spezifität läge bei diesem Wert bei 67,4%.

Vergleich i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), ROC-Kurve

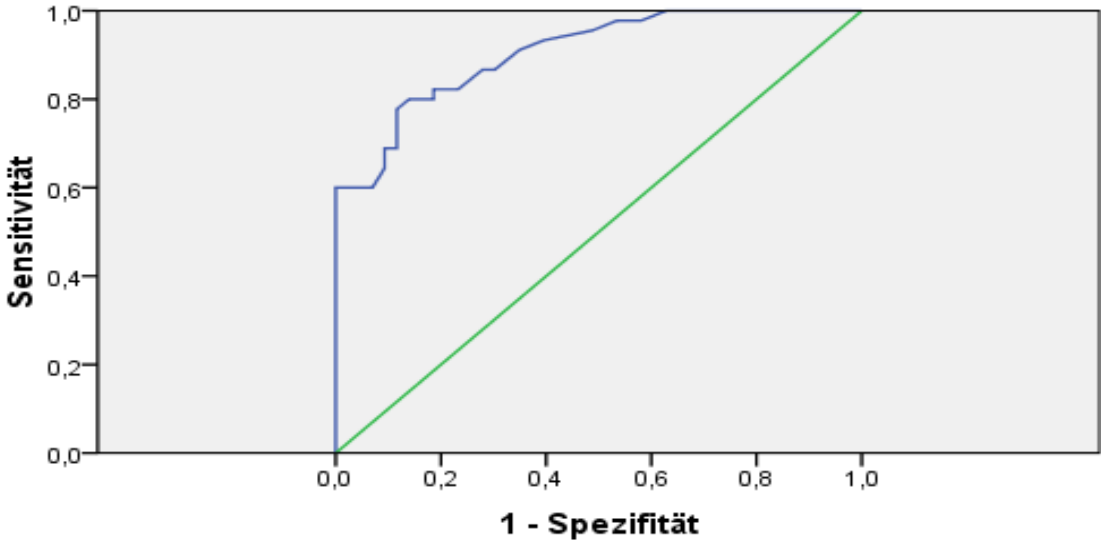


Abbildung 18: ROC-Kurve, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, prospektives Kollektiv

4.7 I-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411 (Roche), Kontrollkollektiv

4.7.1 Qualitative Auswertung

Der Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und der Referenzmethode Cobas e411 (Roche) ergab im Kontrollkollektiv mit gesunden Probanden eine Sensitivität von 100%, eine Spezifität von 90,7%, einen positiven prädiktiven Wert von 38,46% und einen negativen prädiktiven Wert von 100%. Es kam bei insgesamt 8 von 91 Proben (8,8%) zu unterschiedlichen Diagnosestellungen

| | Cobas hypothyreot | Cobas eu- & hyperthyreot | |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|----|
| i-calQ hypothyreot | 5 | 8 | 13 |
| i-calQ eu- & hyperthyreot | 0 | 78 | 78 |
| | 5 | 86 | 91 |

Tabelle 26: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, Kontrollkollektiv

4.7.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der hypothyreoten Proben des Kontrollkollektivs betragen der mittlere relative Fehler 0,04, die Standardabweichung der relativen Fehler beträgt 0,13. In der Gruppe der euthyreoten Proben beträgt der mittlere relative Fehler 0,49, die Standardabweichung der relativen Fehler beträgt 1,54. Messwerte außerhalb der Messgrenzen der verglichenen Geräte wurden in die Berechnung nicht eingeschlossen

| | Hypothyreote Proben | Euthyreote Proben |
|---|---------------------|-------------------|
| Mittlerer relativer Fehler | 0,04 | 0,49 |
| Standardabweichung relative Fehler | 0,13 | 1,54 |

Tabelle 27: quantitative Auswertung, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, Kontrollkollektiv, geordnet nach Diagnosen

Die Korrelation nach Spearman zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Cobas e411 (Roche) beträgt im Kontrollkollektiv $r_s = 0,26$. 22 der 91 Messungen sind nicht in die Berechnung eingeflossen, da sie entweder als Ausreißer identifiziert werden konnten oder außerhalb der Messgrenzen des i-calQ-Gerätes lagen (0,5 – 100 mIU/L). 19 der 22 nicht berücksichtigten Messungen (86,36%) lagen außerhalb dieser Messgrenzen. Von diesen 19 hatten 16 laut Referenzmethode (Cobas e411) einen TSH-Wert zwischen 0,5 und 100 mIU/L. Auf das Gesamtkollektiv bezogen, ist dies ein Anteil an fehlerhaften Messungen von 17,58%.

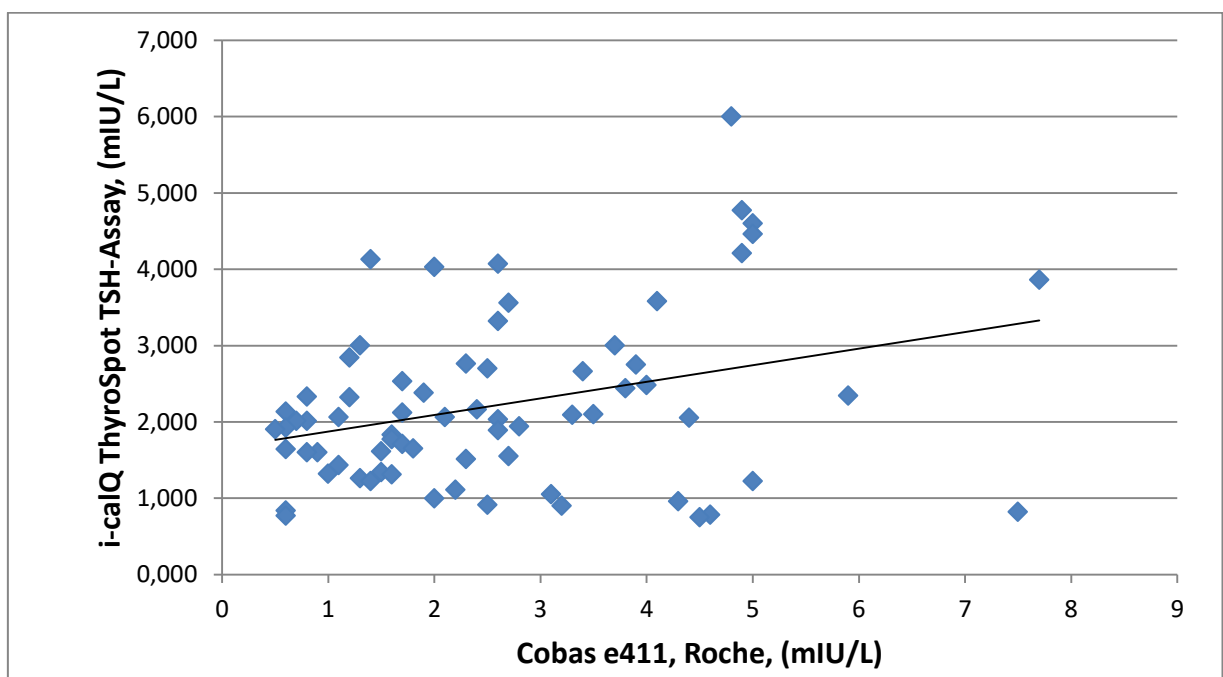


Abbildung 19: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Cobas e411, Kontrollkollektiv

4.8 i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i (Abbott), Kontrollkollektiv

4.8.1 Qualitative Auswertung

Der Vergleich zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und der Referenzmethode Alinity i (Abbott) ergab im Kontrollkollektiv der gesunden Probanden eine Sensitivität von 0%, eine Spezifität von 93,26%, einen positiven prädiktiven Wert von 0% und einen negativen prädiktiven Wert von 97,65%. Die zwei als hypothyreot definierten Proben wurden nicht erkannt, bei insgesamt 8 von 91 Proben (8,8%) kam es zu unterschiedlichen Diagnosestellungen.

| | Abbott hypothyreot | Abbott eu- & hyperthyreot | |
|---------------------------|--------------------|---------------------------|----|
| i-calQ hypothyreot | 0 | 6 | 6 |
| i-calQ eu- & hyperthyreot | 2 | 83 | 85 |
| | 2 | 89 | 91 |

Tabelle 28: i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, Kontrollkollektiv

4.8.2 Quantitative Auswertung

In der Gruppe der hypothyreoten Proben des Kontrollkollektivs beträgt der mittlere relative Fehler -0,14, die Standardabweichung der relativen Fehler beträgt 0,1. In der Gruppe der euthyreoten Proben des Kontrollkollektivs beträgt der mittlere relative Fehler 0,46, die Standardabweichung der relativen Fehler liegt bei 1,45. Messwerte außerhalb der Messgrenzen des getesteten Gerätes wurden nicht berücksichtigt.

| | hypothyreote Proben | euthyreote Proben |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------|
| mittlerer relativer Fehler | -0,14 | 0,46 |
| Standardabweichung relativer Fehler | 0,1 | 1,45 |

Tabelle 29: quantitative Auswertung, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, Kontrollkollektiv, geordnet nach Diagnosen

Die Korrelation nach Spearman zwischen i-calQ ThyroSpot TSH-Assay und Alinity i (Abbott) beträgt im Kontrollkollektiv $r_s = 0,29$. 22 der 91 Messungen konnten nicht in die Berechnung mit einfließen, da die Ergebnisse entweder außerhalb der Messgrenzen des neuen Gerätes lagen (0,5 – 100 mIU/L) oder als Ausreißer identifiziert werden konnten. 20 der 22 nicht berücksichtigten Messwerte lagen außerhalb der Messgrenzen des i-calQ ThyroSpot TSH-Assays. Von diesen 20 lag bei 16 der tatsächliche TSH in den Grenzen von 0,5 – 100 mIU/L. Dies entspricht auf das Gesamtkollektiv bezogen einem Anteil von 17,85% nicht auswertbarer Messungen.

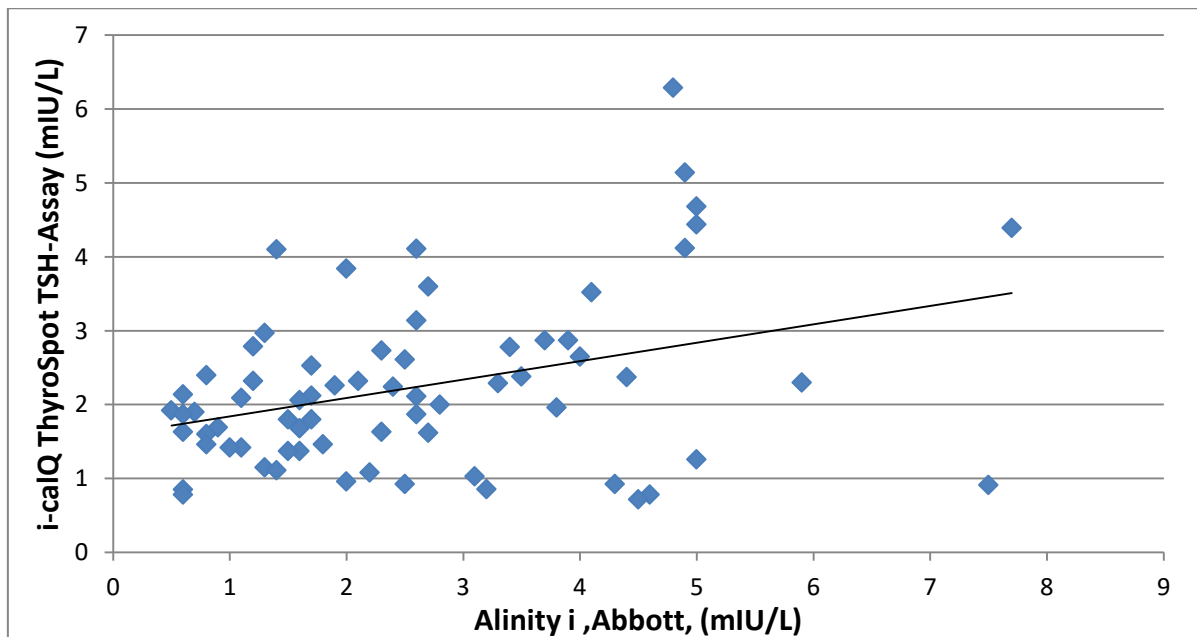


Abbildung 20: Streudiagramm mit Regressionsgerade, i-calQ ThyroSpot TSH-Assay vs. Alinity i, Kontrollkollektiv

4.9 Interassay-Testung i-calQ

Die Interassay-Testung beschreibt die Messung von verschiedenen Proben, mit demselben Gerät an fünf aufeinanderfolgenden Tagen und wird zur Bestimmung der Präzision eines Testverfahrens genutzt. Die ausgesuchten Serumproben wurden zwischen den Messungen eingefroren. Alle drei Proben wurden an allen fünf Tagen korrekt diagnostiziert (15/15). Zwei der drei Proben waren hypothyreot (TSH > 4,9 mIU/l), eine Probe war euthyreot (TSH 0,4 – 4,9 mIU/l). Der Variationskoeffizient hat bei Probe 5954 ein Minimum von 0,17, bei Probe 4514 einen Maximalwert von 0,64. Bei Probe 4523 wurde in drei der fünf Messungen das Maximum des detektierbaren TSH-Wertes von 100 mIU/l erreicht. Der Mittelwert der Abweichungen des i-calQ-Tests von der Referenzmethode beträgt 14,16 mIU/l.

| | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 | Abbott (Referenz): | Variationskoef: |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------|-----------------|
| Probe 4514 | 10,3 | 88,4 | 56 | 15,1 | 58,8 | 96,54 | 0,64 |
| Probe 5954 | 1,5 | 2,2 | 2 | 1,7 | 1,4 | 4,24 | 0,17 |
| Probe 4523 | 62,1 | >100 | >100 | 70,8 | >100 | 75,78 | 0,19 |

Tabelle 30: Interassay-Testung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay

4.10 Intraassay-Testung i-calQ

Die Intraassay-Testung beschreibt die Testung von jeweils identischen Proben an einem Tag durch mehrere User mit demselben Gerät. Die Testung dient der Präzisionsbestimmung. Es wurden fünf Proben ausgewählt, die von vier verschiedenen Testern gemessen wurden. Die Ergebnisse wurden anschließend mit der Referenzmethode Alinity i TSH Assay (Abbott) verglichen. In 7 von 20 Messungen wurde die Probe falsch diagnostiziert (35%). In allen diesen Fällen wurde eine euthyreote (TSH zwischen 0,4 und 4,9 mIU/l) Serumprobe mit falsch-hohen Werten gemessen und somit als hypothyreot (TSH > 4,9 mIU/l) eingestuft. Der Variationskoeffizient hat bei Probe 7303 einen Minimumwert von 0,06 und bei Probe 6915 einen Maximalwert von 0,63. Probe 6916 hat bei allen vier Usern einen

hypothyreoten TSH-Wert ergeben, bei einem von der Referenzmethode gemessenen euthyreoten TSH-Wert. Bei Probe 6915 war dies bei drei von vier Usern der Fall. Die Mittelwerte der einzelnen Messungen für alle vier User waren bei jeder Serumprobe höher als der mit der Referenzmethode bestimmte TSH-Wert. Der Mittelwert der Abweichungen des i-calQ-Tests von der Referenzmethode (Abbott) beträgt 2,98 mIU/l.

| | User 1 | User 2 | User 3 | User 4 | Abbott (Referenz): | Variationskoef. |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|-----------------------|-----------------|
| Probe 7394 | 10,3 | 10,7 | 10,9 | 9,1 | 8,39 | 0,07 |
| Probe 7304 | 15,4 | 15,4 | 20,6 | 12,8 | 11,62 | 0,18 |
| Probe 7303 | 12,4 | 11,8 | 10,5 | 12,2 | 9,54 | 0,06 |
| Probe 6916 | 5,9 | 8,2 | 5 | 9,6 | 2,47 | 0,25 |
| Probe 6915 | 11,3 | 8,3 | 5,3 | 0,5 | 4,62 | 0,63 |

Tabelle 31: Intraassay-Testung i-calQ ThyroSpot TSH-Assay

5 Ergebnisdiskussion

Die durchgeführte Studie hat zum Ziel, das neuentwickelte, Smartphone-gestützte TSH-Messverfahren ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ auf seine Funktion als Screeningmethode für Hypothyreosen zu untersuchen und zu bewerten.

Die Gesamtzahl der untersuchten Proben wurde in drei Kollektive unterteilt, ein retrospektives, ein prospektives und ein Kontrollkollektiv. Die Ergebnisse der durchgeführten Messungen wurden mit zwei etablierten Standardmethoden, dem „Alinity i“ der Firma Abbott und dem „Cobas e411“ der Firma Roche, verglichen. Die wichtigsten Parameter sind in den Tabellen 32 – 34 zusammengefasst.

| Retrospektives Kollektiv | i-calQ vs. Alinity i (Abbott) | i-calQ vs. Cobas e411 (Roche) |
|---|--|--|
| Sensitivität: | 53,43% | 44,67% |
| Spezifität: | 98,37% | 98,06% |
| Korrelationskoeffizient nach Pearson: | 0,76 | 0,78 |
| Errechneter Cut-Off-Wert für 90% Sensitivität: | 1,25 mIU/L | 1,15 mIU/L |

Tabelle 32: Zusammenfassung der Studienergebnisse im retrospektiven Kollektiv

| Prospektives Kollektiv | i-calQ vs. Alinity i (Abbott) | i-calQ vs. Cobas e411 (Roche) |
|---|--|--|
| Sensitivität: | 75,68% | 60,78% |
| Spezifität: | 95,65% | 98,72% |
| Korrelationskoeffizient nach Pearson: | 0,86 | 0,87 |
| Errechneter Cut-Off-Wert für 90% Sensitivität: | 2,85 mIU/L | 1,45 mIU/L |

Tabelle 33: Zusammenfassung der Studienergebnisse im prospektiven Kollektiv

| Kontrollkollektiv | i-calQ vs. Alinity i (Abbott) | i-calQ vs. Cobas e411 (Roche) |
|--|--|--|
| Sensitivität: | 0% | 100% |
| Spezifität: | 93,26% | 90,7% |
| Korrelationskoeffizient nach Pearson: | 0,35 | 0,32 |

Tabelle 34: Zusammenfassung der Studienergebnisse im Kontrollkollektiv

5.1 Einordnung und Vergleich der Messwerte mit anderen Studien

5.1.1 Qualitative Auswertung der Messergebnisse

Initial wurden die beiden Referenzmethoden, ‚Abbott Alinity i‘ und ‚Roche Cobas e411‘, sowohl im retrospektiven als auch im prospektiven Kollektiv miteinander verglichen. Hierfür wurden aus 4-Felder-Tafeln die entsprechenden Werten für Sensitivität, Spezifität sowie positive und negative prädiktive Werte und die Korrelation nach Spearman berechnet. Die Ergebnisse aller genannten Punkte zeigen, dass beide Geräte sehr gut korrelierende Messergebnisse produzieren. Der Rangkorrelationskoeffizient beträgt im retrospektiven Kollektiv $r_s = 0,93$, im prospektiven Kollektiv $r_s = 0,98$ und ist damit in beiden Fällen als sehr gut zu bezeichnen. Gleiches gilt für die Betrachtung der Sensitivität, auch diese ist mit 95% und 100% exzellent. Die moderaten Werte der Spezifität und des PPW (72% - 84%) lassen sich durch die zwei unterschiedlichen Cut-Off-Werte des ‚Cobas e411‘ und des ‚Alinity i‘ aufdecken. Gilt eine Probe bei der Referenzmethode ‚Cobas‘ ab einem Messwert von 4,2 mIU/L TSH als hypothyreot, so ist dieselbe durch einen höheren Grenzwert beim ‚Alinity i‘ noch als euthyreot zu bezeichnen. Dies erklärt, warum viele mit dem Abbott-Gerät in der 4-Felder-Tafel als euthyreot bezeichneten Proben, bei der Messung mit dem Roche-Gerät schon als hypothyreot gelten und somit zu den falsch-negativen gerechnet werden. Bei den Vergleichen des getesteten ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assays‘ mit den Referenzmethoden wird dagegen immer nur ein Cut-Off-Wert verwendet, weshalb diese Problematik dort nicht auftritt.

5.1.1.1 Sensitivität

Besonderes Augenmerk wurde auf die diagnostische Sensitivität des neuen POCT-Gerätes gelegt, da es als Screeninginstrument dienen soll. Sowohl im retrospektiven als auch im prospektiven Kollektiv wird, bezogen auf beide Referenzmethoden, jeweils keine ausreichend gute diagnostische Sensitivität erzielt. Der Bestwert liegt hierbei im Vergleich zwischen ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ und ‚Abbott Alinity i‘ im prospektiven Kollektiv bei 75,68%, die schlechteste Sensitivität wurde im

retrospektiven Kollektiv zwischen ‚i-calQ‘ und ‚Roche Cobas e411‘ mit 44,67% festgestellt. Im Kontrollkollektiv wurde im Vergleich zum Abbott-Gerät eine Sensitivität von 0%, im selben Kollektiv im Vergleich zum Roche-Gerät eine Sensitivität von 100% gemessen. Dies ist auf die sehr geringe Anzahl an positiven (hypothyreoten) Proben im Kontrollkollektiv zurückzuführen (5,4% Cobas, 2,2% Abbott). Trotzdem bleibt festzuhalten, dass beide hypothyreoten Proben (TSH > 4,9 mIU/L) im Kontrollkollektiv beim Vergleich zum Abbott-Gerät nicht als solche erkannt wurden. Kosak et al. hatten demgegenüber bei der Validierung eines anderen POCT-Systems zur Messung von TSH-Werten eine sehr gute diagnostische Sensitivität von 100% festgestellt. Insgesamt betrachtet lag bei dieser Studie eine wesentlich kleinere Studienpopulation vor (n=215) und der Cut-Off-Wert zur Hypothyreose wurde mit 10 mIU/L wesentlich höher angesetzt als in der vorliegenden Untersuchung (159). In der Studie von Leung et al. wurde bei der Testung eines POCT-Systems für hsCRP, welches ein vergleichbares Lateral-Flow-(immuno)Assay-Prinzip verwendet wie das hier getestete System, eine Sensitivität von 88,7% errechnet. Das Patientenkollektiv umfasste in dieser Studie 500 Personen, darunter ein großer Anteil gesunder Menschen sowie viele nachweislich erkrankte Personen (160).

Bei der weiteren quantitativen Auswertung der Messergebnisse wurden die jeweils durchgeführten Vergleiche zwischen den Referenzmethoden und der neuen i-calQ-Methode mittels ROC-Kurven ausgewertet. Hierbei wird die ‚area under curve‘ berechnet und eine Koordinatentabelle zu verschiedenen Sensitivitäts- und Spezifitätswerten ausgegeben. Mithilfe der Tabelle kann ein theoretischer Sensitivitätswert für einen bestimmten Cut-Off-Wert abgelesen werden oder der Cut-Off-Wert für eine gewünschte Sensitivität ermittelt werden. Die berechneten Sensitivitätswerte bei den gegebenen Cut-Off-Werten der zwei Referenzmethoden für die einzelnen Kollektive decken sich in großen Teilen mit den berechneten Werten aus den erhobenen klinischen Daten. Die einzelnen Werte sind in Tabelle 35 zusammengefasst.

| | Sensitivität i-calQ vs. Alinity i, retrospektiv | Sensitivität i-calQ vs. Alinity i, prospektiv | Sensitivität i-calQ vs. Cobas e411, retrospektiv | Sensitivität i-calQ vs. Cobas e411, prospektiv |
|---|---|---|--|--|
| Direkt gemessen mit klinischen Daten | 53,43% | 75,68% | 44,67% | 60,78% |
| Theoretisch berechnet aus ROC-Kurven | 48% | 78,1% | 40,6 | 60% |

Tabelle 35: Gegenüberstellung der Sensitivitätswerte aus den 4-Feldertafeln und den ROC-Kurven

Abweichungen der Sensitivitätswerte können auf den Ausschluss einzelner Werte aus der Berechnung der ROC-Kurven zurückgeführt werden, da diese nicht mit Angaben wie „<“ oder „>“ berechnet werden können, diese jedoch von dem i-calQ-Gerät ab einem bestimmten TSH-Wert angezeigt werden.

Unter Zuhilfenahme der Koordinatentabellen der ROC-Kurven lassen sich, wie im Text weiter oben bereits erwähnt, auch theoretische Cut-Off-Werte für gewünschte Sensitivitäten ablesen. Diese lägen, bei einer gewünschten minimalen Sensitivität von 90% für eine Screeningmethode, laut der Berechnung für die verschiedenen Kollektive zwischen 1,15 mIU/L und 2,85 mIU/L (siehe Tabelle 32,33 und 34) zur Diskriminierung zwischen Eu- und Hypothyreose. Verglichen mit den aktuell geltenden Cut-Off-Werten, sind diese theoretisch berechneten Werte viel zu niedrig und würden somit viele gesunde Menschen als krank definieren. Die AWMF-Leitlinie „Erhöhter TSH-Wert in der Hausarztpraxis“ verwendet in ihrer Ausführung einen Cut-Off-Wert von $TSH > 4$ mIU/L als hypothyreosesuspekt und weiter abklärungsbedürftig (161).

5.1.1.2 Spezifität

Betrachtet man die gemessene und berechnete Spezifität des getesteten i-calQ ThyroSpot TSH Assays, so zeigt sich ein gegensätzliches Bild. Über alle drei

Kollektive hinweg werden zu beiden Referenzmethoden sehr gute Spezifitätswerte erzielt. Der geringste Wert zeigt sich im Kontrollkollektiv bezogen auf die Ergebnisse des ‚Roche Cobas e411‘. Hier wurde eine Spezifität von 90,7 % ermittelt. Der höchste Wert (98,72%) wurde im Vergleich zum ‚Roche Cobas e411‘ im prospektiven Kollektiv festgestellt. Wie auch bei der Betrachtung der Sensitivitätswerte wurden mit Hilfe von ROC-Kurven und deren Koordinatentabellen theoretische Spezifitätswerte ermittelt. Diese decken sich, wie bei der Sensitivitätsbetrachtung auch, sehr genau mit den gemessenen Werten bei den vorliegenden Cut-Off-Werten der Referenzmethoden. Die Anzahl an falsch positiven Testergebnissen ist demnach in den meisten Fällen sehr gering. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch die Autoren einer chinesischen Studie aus dem Jahr 2016. Wang et al. ermitteln in dieser Studie eine Spezifität von 99,38% bei der Validierung eines TSH-POCT-Messgerätes (162). Das dort getestete Kollektiv war mit 283 Personen wesentlich kleiner und die Messungen wurden nicht mit Serum, sondern mit Vollblut durchgeführt. Die bereits erwähnte Vergleichsstudie von Kosack et al. erzielt bei ihrer Testung eines POCT TSH Messsystems nur eine Spezifität von 76,6% (159).

5.1.1.3 Positiver prädiktiver und negativ prädiktiver Wert

Sowohl der positive als auch der negative prädiktive Wert sind gekoppelt an die Prävalenz des zu betrachtenden Ereignisses in der Testpopulation. In der durchgeführten Studie wurde ein Testverfahren zum Screening auf Hypothyreose in der Bevölkerung untersucht. Die Hypothyreose hat, je nach herangezogener Literatur, eine Prävalenz von 0,5% – 1% (163). Die Häufigkeit der hypothyreoten Proben in der untersuchten Studienpopulation ist dagegen aus studientheoretischen Gründen wesentlich höher. Sie liegt beispielsweise im prospektiven Kollektiv bei 28,7%. Die berechneten Werte, zwischen 97,65% und 87,5% für den positiven prädiktiven Wert, sind unter den gegebenen Studienbedingungen deshalb alle als zu hoch anzusehen, die Werte des negativ prädiktiven Wertes als zu niedrig. Passt man die errechneten Werte der realistischen Prävalenz von Hypothyreosen in der Bevölkerung an, so erhält man die in Tabelle 36 dargestellten Werte.

| | i-calQ ThyroSpot vs. Alinity i | i-calQ ThyroSpot vs. Cobas e411 |
|---------------------------------|---|--|
| Retrospektives Kollektiv | PPW: 63,7% NPW: 97,6% | PPW: 55,3% NPW: 97,1% |
| Prospektives Kollektiv | PPW: 48,1% NPW: 98,7% | PPW: 70,9% NPW: 97,9% |

Tabelle 36: angepasste PPW- und NPW-Werte für eine hypothetische Hypothyreoseprävalenz von 5%

Alle der oben gezeigten positiven prädiktiven Werte sind nicht ausreichend hoch, um als akzeptabel gelten zu können. Bei einem PPW von 48,1% wären von allen positiv getesteten Personen nur 48,1% wirklich krank. Umgekehrt verhält es sich beim NPW. Hier zeigen alle korrigierten Werte einen ausreichend hohen Wert, was für wenig falsch negative Testungen spricht.

Die abschließend aus den 4-Felder-Tafeln berechnete Gesamtzahl an falschen Diagnosen (falsch positive + falsch negative Messungen) pro Kollektiv und Vergleichsmethode untermauert das bis dato nicht überzeugende Abschneiden des POCT-Gerätes „i-calQ ThyroSpot TSH-Assay“. Die genauen Werte sind in Tabelle 37 zusammengefasst.

| | Falsche Diagnosen / Gesamtprobenzahl des Kollektivs | Prozentualer Anteil der falschen Proben am Gesamtkollektiv |
|---|--|---|
| Retrosp. Kollektiv: Abbot vs. I-calQ | 99/450 | 22% |
| Retrosp. Kollektiv: Roche vs. I-calQ | 139/450 | 30,8% |
| Prosp. Kollektiv: Abbot vs. I-calQ | 13/129 | 10,1% |
| Prosp. Kollektiv: Roche vs. I-calQ | 21/129 | 16,3% |

Tabelle 37: Gesamtzahl an falsch positiven und falsch negativen Messergebnissen der einzelnen Kollektive

Beim Vergleich zwischen ‚Roche Cobas e411‘ und ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ wurde fast jede dritte Probe des retrospektiven Kollektivs nicht richtig diagnostiziert. Auffällig ist in diesem Zusammenhang, dass das prospektive Kollektiv über beide Referenzmethoden weniger falsch-positive sowie falsch-negative Messergebnisse durch das neue POCT-System liefert. Diese Beobachtungen können jedoch nicht durch die berechneten Korrelationen nach Spearman gestützt werden. Hierbei lagen im prospektiven Kollektiv die Korrelationswerte jeweils niedriger.

5.1.2 Quantitative Auswertung der Messergebnisse

Bei allen durchgeführten quantitativen Berechnungen zur Beschreibung der Messergebnisse, mussten viele Werte aus der Gesamtpopulation gestrichen werden. Dies hat unter anderem zur Ursache, dass Messergebnisse außerhalb des Messbereiches (i-calQ ThyroSpot TSH-Assay 0,5 mIU/L – 100 mIU/L) mit einem „<“ oder „>“ dargestellt werden. Diese Werte dürfen aber nicht einfach ohne diese Vorzeichen in die Berechnung miteinfließen. Gleichzeitig kann ein statistisches Rechenprogramm nicht unter Beibehaltung dieser Präfixe arbeiten. Ein Ausschluss solcher Datenpaare ist also unumgänglich und sogar völlig richtig, solange der Referenzwert (Alinity i oder Cobas e411) auch außerhalb des Messbereiches des i-calQ ThyroSpot TSH-Assays liegt. Problematisch wird es jedoch, sobald der Referenzwert zum ausgeschlossenen Messergebnis innerhalb der Messgrenzen des zu testenden Gerätes liegt. Hierbei zeigt sich, dass extrem unpräzise Messungen aus den quantitativen Berechnungen ausgeschlossen werden und somit die Beurteilung verbessert wird. Ein Überblick über die Anzahl an ausgeschlossenen Messergebnissen je Kollektiv und Referenzmethode ermöglicht Tabelle 38.

| | Nicht inkludierte Proben: | Laut Referenzmethode tatsächlich innerhalb der Messgrenzen des i-calQ ThyroSpots (Anteil an allen nichtinkludierten Proben): | Prozentanteil am Gesamtkollektiv: |
|---|----------------------------------|---|--|
| Retrospektiv, Vergleich i-calQ vs. Alinity i | 118 | 73 (61,9%) | 16,22% |
| Retrospektiv, Vergleich i-calQ vs. Cobas e411 | 127 | 65 (51,2%) | 14,4% |
| Prospektiv, Vergleich i-calQ vs. Alinity i | 43 | 19 (44,2%) | 14,73% |
| Prospektiv, Vergleich i-calQ vs. Cobas e411 | 41 | 18 (43,9%) | 13,59% |
| Kontrollkollektiv, Vergleich i-calQ vs. Alinity i | 22 | 16 (72,72%) | 17,58% |
| Kontrollkollektiv, Vergleich i-calQ vs. Cobas e411 | 22 | 16 (72,72%) | 17,58% |

Tabelle 38: Gesamtzahl an Proben, die nicht bei der quantitativen Auswertung berücksichtigt werden konnten

Der dargestellte Überblick in Tabelle 38 verdeutlicht, dass bis zu einem Anteil von 17,58% der Messwerte eines Kollektivs als außerhalb der Messgrenzen des getesteten Geräts bezeichnet werden, obwohl die als wahre Werte angesehenen Referenzdaten jene als messbar definieren. Festzuhalten ist aber auch, dass besonders im Bereich nahe des Cut-Off-Wertes keine hohe Unpräzision vorliegen muss. Trotzdem ist der Prozentsatz an nicht berechenbaren Messwerten hoch und sollte bei einer Bewertung des Gerätes nicht außer Acht gelassen werden. Werte, die auch mit der jeweiligen Referenzmethode außerhalb der Messgrenzen des ‚i-calQ ThyroSpots‘ liegen, sollten folglich aber auch von diesem als solche erkannt werden und richtigerweise mit „<“ oder „>“ beschrieben werden. Dies ist beispielsweise im

retrospektiven Kollektiv im Vergleich zum ‚Abbott Alinity i‘ bei 45 von 118 (38,1%) Proben der Fall.

Der mittlere relative Fehler wurde jeweils für die Gruppe der euthyreoten und hypothyreoten Proben in den jeweiligen Kollektiven getrennt berechnet. Hyperthyreote Proben wurden bei dieser Betrachtung nicht berücksichtigt, da das ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ solche Messwerte nicht quantitativ erfassen kann. Unabhängig von der Referenzmethode wurden sowohl im retrospektiven als auch im prospektiven Kollektiv negative mittlere relative Fehler gemessen. Dies bedeutet, dass die Messergebnisse im Mittel in diesen Kollektiven niedriger gemessen wurden als im Vergleich zu den Referenzmethoden. Der größte mittlere relative Fehler wurde im retrospektiven Kollektiv der hypothyreoten Proben im Vergleich zum ‚Cobas e411‘, mit -0,61, berechnet. Der Vergleich der mittleren relativen Fehler zwischen retrospektivem und prospektivem Kollektiv zeigt, dass die Abweichungen im prospektiven Kollektiv im Mittel kleiner ausfallen als bei den vorher eingefrorenen Proben. Hinzu kommt, dass die mittleren relativen Fehler unter den hypothyreoten Proben im Schnitt größer sind als die der euthyreoten Proben. Eine Ausnahme bildet hierbei das prospektive Kollektiv im Vergleich zur Referenzmethode ‚Cobas e411‘. Hier ist nur ein sehr geringer Unterschied zwischen hypo- und euthyreoten Proben festzustellen, welcher allerdings bei den euthyreoten größer ist. Eine mögliche Erklärung für die größere Ungenauigkeit bei den hypothyreoten Proben ist der viel größere Wertebereich, der sich beim ‚Abbott Alinity i‘ von 4,9 mIU/L bis 100 mIU/L erstreckt. Die Zunahme der Streuung der Messergebnisse bei höheren TSH-Werten wird auch in den angefertigten Streudiagrammen (Abb. 11,13,15,17) deutlich.

Die Betrachtung der mittleren relativen Fehler im Kontrollkollektiv muss gesondert erwähnt werden. In diesem Kollektiv wurden insgesamt nur 2 (Abbott) bzw. 5 (Cobas) Proben als hypothyreot in die Berechnung eingeschlossen. Der Anteil an euthyreoten Referenzmesswerten ist dagegen wesentlich höher. Ein Vergleich der beiden Gruppen erscheint deshalb als wenig zielführend. Bemerkenswert ist jedoch, dass in der Gruppe der euthyreoten Proben die Messergebnisse des neuen POCT Gerätes im Gegensatz zu denen des retro- und prospektiven Kollektivs im Schnitt höher ausfallen. Dies widerspricht der These, dass mit zunehmender Lagerdauer der gefrorenen Proben, ein falsch-niedriger TSH-Wert gemessen wird, da die Proben des Kontrollkollektivs die ältesten dieser Studie darstellen.

Zur Korrelation der Messergebnisse zwischen den Referenzmethoden und dem getesteten Schnelltestgerät wurden die Korrelationskoeffizienten nach Spearman berechnet. Auch hier konnten nur Proben inkludiert werden, deren Messergebnisse innerhalb des Messbereichs des ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assays‘ gemessen wurden. Viele unpräzise Messungen wurden damit ausgeschlossen. Die bereits zitierte Studie von Wang et al. hat bei ihrem Vergleich zwischen etablierter Referenzmethode und zu testendem POCT TSH-Assay einen Spearman Rangkorrelationskoeffizienten von $r_s = 0,91$ berechnet (162). Im Vergleich zur hier durchgeführten Studie gab es bei Wang et al. nur ein prospektives Kollektiv und es wurden keine zwei Referenzmethoden verwendet. Daraus ergibt sich, dass in der hier durchgeführten Studie nicht nur ein Spearman Rangkorrelationskoeffizient berechnet werden kann, sondern sechs verschiedene. Keine dieser sechs berechneten Korrelationen ist jedoch größer als $r_s = 0,9$. Die höchste errechnete Korrelation nach Spearman liegt beim retrospektiven Kollektiv zur Referenzmethode ‚Cobas e411‘ bei $r_s = 0,83$. Werte zwischen $r_s = 0,8 - 1$ gelten dabei als hoch korrelierend bzw. stark zusammenhängend. Alle übrigen fünf Spearman Korrelationen haben Werte zwischen $r_s = 0,26$ und $r_s = 0,79$. Besonders die Korrelationswerte des Kontrollkollektivs zu beiden Referenzmethoden ($r_s = 0,26$ und $0,29$) müssen als schwacher Zusammenhang interpretiert werden. Alle übrigen Werte sind jedoch auch in ihrer Übereinstimmung nicht ausreichend hoch, um ein positives Bild des getesteten Gerätes zu erzeugen. Zur Verdeutlichung dessen liegt die berechnete Korrelation zwischen den beiden Referenzmethoden Abbott und Roche in beiden Kollektiven über $r_s = 0,9$ (retrospektiv: $r_s = 0,93$; prospektiv: $r_s = 0,97$) und ist somit als sehr gut zu bezeichnen.

Die bereits bei der Betrachtung der Sensitivität erwähnten ROC-Kurven liefern nicht nur Anhaltspunkte über passende Cut-Off-Werte eines zu bewertenden Systems, sondern zeigen auch auf, wie gut ein Test im Vergleich zu einer Referenzmethode zwischen krank und gesund diskriminieren kann. Hierfür wird ein „Area-under-curve-Wert“ (AUC) berechnet. Ist dieser Wert $AUC = 0,5$, so kann der Test nicht zwischen positivem und negativem Ergebnis unterscheiden. Zwischen $AUC = 0,7 - 0,8$ gilt der Test als akzeptabel und ab einem Wert von $AUC = 0,8$ und höher gilt der Test als gut bis sehr gut (164). Die in dieser Studie berechneten AUC-Werte liegen in beiden Kollektiven (pro- und retrospektiv) und verglichen mit beiden Referenzmethoden (Abbott und Roche) über dem geforderten Wert von $AUC = 0,8$. Im prospektiven

Kollektiv, bei dem Vergleich von ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ zu ‚Alinity i (Abbott)‘ wird sogar ein Wert von $AUC = 0,93$ erreicht. Einen noch höheren Wert geben Wang et al. in ihrer Studie mit $AUC = 0,99$ an (162). Bei der Interpretation der Werte und damit auch des neuen POCT-Systems muss jedoch bedacht werden, dass beispielsweise im retrospektiven Kollektiv im Vergleich zu beiden Referenzmethoden 132 bzw 133 Werte ($\approx \sim 29\%$ des gesamten Kollektivs) nicht eingeschlossen werden konnten. Dies ist auf eine größtenteils nicht korrekte Zuordnung der Messergebnisse auf Werte außerhalb der Messgrenzen des ‚i-calQ ThyroSpot Systems‘ (TSH 0,5 – 100 mIU/L) zurückzuführen. Bei einem rein hypothetischen Einschluss aller gemessenen Werte in die Berechnung würde es wahrscheinlich zu einer Verschlechterung der AUC-Werte kommen.

5.1.3 Präzisionsmessungen

Die Präzision des ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ wurde mittels Inter- und Intraassay ermittelt. Hierbei wird ermittelt, wie stark die Messwerte einer mehrmals durch verschiedene User (Intraassay) oder an verschiedenen Tagen (Interassay) gemessenen Probe voneinander abweichen. Berechnet wird hierzu der Variationskoeffizient (VK). Dieser sollte ein Maximum von 0,2 (20%) nicht überschreiten.

Bei der Interassay-Durchführung wurden drei verschiedene Proben an fünf aufeinanderfolgenden Tagen unter den gleichen Bedingungen gemessen. Zwei der drei Proben waren hypothyreat, eine Probe war euthyreot. In allen 15 Messungen wurde qualitativ die richtige Diagnose, bezogen auf die Referenzmethode ‚Abbott Alinity i‘, gestellt. Die Variationskoeffizienten der einzelnen Probenreihen liegen im Bereich zwischen 17% und 64% und haben einen Mittelwert von 33%. Dieses Ergebnis ist nicht ausreichend gut und wird sogar noch durch die Tatsache ins Positive verfälscht, dass bei einer der drei Proben (Referenzwert Abbott: TSH 75,78 mIU/L) an drei der fünf Tage ein Messwert von TSH >100 mIU/L erzielt wurde. Hätte das POCT-Gerät eine größere Messrange, so wäre der VK durch diese Probe noch höher ausgefallen.

I-calQ selbst geben in ihrer Gebrauchsanweisung einen maximalen VK von 17% bei Proben mit niedrigem TSH-Wert an und für Proben mit hohem TSH-Wert einen VK von etwa 6% (156). Diese Werte konnten in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Die VK-Werte des ‚Roche Cobas e411‘ liegen laut Herstellerangaben alle $<$

10% und haben ein Minimum im Bereich von etwa 10 mIU/L (158). Gleiches gilt für das Abbott-Gerät. Hier werden sogar in keiner der Testreihen VK-Werte von über 5% erreicht (157).

Bei der Intraassaytestung wurden fünf Proben unter gleichen Bedingungen von vier verschiedenen Usern zur selben Uhrzeit getestet. In 7 von 20 Messungen (35%) wurde eine falsche Diagnoseentscheidung durch das ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ getroffen. Alle diese Fehlmessungen wurden bei den beiden euthyreoten Proben gemessen. Diese wurden konstant als hypothyreot mit TSH-Werten von > 5mIU/L detektiert. Aus diesen Unterschieden ergeben sich auch bei der Intraassaytestung teils große VK-Unterschiede. Der Maximalwert ist mit 63% in etwa so hoch wie der Maximalwert der Interassaytestung (64%), der Minimalwert mit 6% ist in einem vergleichbar guten Bereich. Der Mittelwert der VK-Werte ist mit 23,8% geringer als bei der Interassaytestung, liegt jedoch immer noch über den geforderten 20%. Wang et al. berechnen in ihrer Studie zur Validierung eines TSH-POCT-Gerätes für verschiedene TSH-Level VK-Werte von grenzwertigen 20,19% bis hin zu 8,76%. Hierbei wurde der höchste VK-Wert bei niedrigen TSH-Werten erreicht und folgt damit einem reproduzierbaren Schema (162). Ein solches Schema konnte in der vorliegenden Studie nicht erkannt werden. Einige hypothyreote Proben zeigten sehr hohe VK-Werte, wohingegen einige euthyreote Proben mit moderat-niedrigen TSH-Werten auch mit hohen VK-Werten assoziiert waren.

5.2 Handhabung und Verarbeitung

Augenmerk wurde bei der Durchführung der Studie auch auf die Verarbeitung der Materialien und die Handhabung des Gerätes gelegt. Bei der Verarbeitung fielen bereits nach wenigen Minuten des Gebrauchs erste Schwachstellen auf. So konnte das Smartphone mitsamt der Haltevorrichtung für die Testkassette nur unter großem Kraftaufwand in die schwarze Messbox eingeschoben werden. Dieses Problem wurde bei allen sechs zur Verfügung gestellten Testsystemen beobachtet und führte nach wenigen Tagen der Nutzung zu ersten Defekten an den Messboxen. Hierbei brachen unter anderem Teile in der Größe eines Zwei-Euro-Stücks der Box ab, was folglich zu einer erhöhten Hintergrundbeleuchtung beim Auslesen des Tests und somit zur Verfälschung der Ergebnisse führen könnte. Defekte Messboxen wurden deshalb nicht mehr weiter verwendet. Zurückzuführen ist dieses Problem auf eine

Verkantung des Kameravorbaus in der Aussparung der Messbox. Ein möglicher Lösungsansatz hierfür wäre ein verändertes Design der Box selbst oder ein stabilerer Aufbau des Kameravorbaus, um zu verhindern, dass dieser sich beim Einschieben in die Auslesevorrichtung verbiegt und somit verkantet.

Ein weiterer Kritikpunkt ist die Qualität der Testkassetten selbst. Einige dieser einzeln abgepackten Kassetten waren direkt nach der Entnahme aus der sterilen Verpackung vergilbt oder zeigten bereits gefärbte Testbanden im Auslesefeld. Die Verwendung der optisch einwandfreien Tests zeigte weitere Schwachstellen des Systems. Dies sind zum einen die Trichter über den Einfüllöffnungen für die Probe und den Puffer. Durch die sehr geringe Dimensionierung und durch Verwendung eines stark adhärenen Materials wird die aufgebrachte Flüssigkeit oft am Rand des Trichters zurückgehalten und kann nicht weiter auf das saugende Papier des Tests geleitet werden. Da die aufgebrachte Menge (15µl Serum) sehr gering ist, wird das „Zurückhalten“ im Trichter oft gar nicht bemerkt und der Test somit verfälscht. Bei der Durchführung des Tests ist laut Herstelleranleitung nach einer anfänglichen Inkubationszeit von einer Minute der seitlich an der Testkassette befindliche Hebel zu betätigen. Dieser Hebel bzw. Schalter stellt eine weitere Unsicherheit im Gebrauch des Tests dar. In vielen Fällen war das deutliche „Klicken“ des Hebels nicht zu hören oder nicht auslösbar. Durch das richtige Betätigen des Hebels soll aber die Funktionalität des Teststreifens erst ermöglicht werden. Eine Veränderung des Kassettendesigns könnte hier ein möglicher Lösungsansatz sein, um keine falschen Testergebnisse zu generieren.

Neben den Testkassetten wurden zu jeder Verpackungseinheit zwei Kunststofftropfflaschen des i-calQ-Testpuffers mitgeliefert. Trotz eingehaltener Lagerbedingungen (max. 4 – 30°C) und noch nicht erreichter Mindesthaltbarkeitsgrenzen, wurde bei zwei der verwendeten Tropfflaschen bereits im ungeöffneten Zustand Schimmelbildung beobachtet.



Abbildung 21: geschimmelter i-calQ ThyroSpot TSH-Assay Probenpuffer

Die Qualität des im Testsystem enthaltenen Smartphones ist nur punktuell zu beurteilen, da die Benutzung sich lediglich auf die vorinstallierte Applikation zur Berechnung des TSH-Werts erstreckt. Positiv muss dabei die Applikation selbst bewertet werden, da sie einfach und intuitiv gestaltet ist und darüber hinaus die Möglichkeit bietet, die zuletzt gemessenen TSH-Werte erneut aufzurufen. Bei der Benutzung der App kam es zu keinen größeren Störungen. Das Smartphone an sich zeigte jedoch bei häufiger Messung mit der Messbox und der Testkassettenhalterung ein sich im Verlauf häufendes ‚Aufplatzen‘ zwischen der oberen Displayseite und der Rückseite des Telefons. Für die dauerhafte Nutzung des Smartphones als Auslesevorrichtung müsste die Testkassettenhalterung unbedingt neu konzipiert werden.

5.3 Fazit

Die bereits diskutierten Ergebnisse der Studie legen eine skeptische Bewertung des ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assays‘ nahe. Beginnend mit der Verarbeitung wie auch dem Konzept der Verbindung zwischen Smartphone und Testvorrichtung selbst kommen bereits nach kurzem Gebrauch erste Zweifel an einer dauerhaften Nutzung des POCT-Gerätes auf. Besonders in Gebieten mit schlechter Infrastruktur ist die Langlebigkeit des Materials und der benötigten Komponenten extrem wichtig, da evtl. benötigte Ersatzteile auch nur schwer zu beschaffen sind. Des Weiteren ist die Verderblichkeit von temperaturkritischen Testutensilien aufgrund der Beobachtungen unter Laborbedingung schon zu hoch. Hinzu kommt der Umstand, dass das getestete Gerät nur für das Messen von Serumproben zugelassen ist und somit einen Widerspruch zur eigentlichen POCT-Idee darstellt. Ein schnelles Durchführen der Messung, ohne vorheriges Prozessieren der Probe, hier in Form von Abzentrifugieren, wäre wünschenswert. Eine Vollblutmessung ist bei dem ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ jedoch nicht zugelassen.

Entscheidend für eine faktenbasierte Bewertung des getesteten POCT-Verfahrens ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ sind jedoch die Ergebnisse der durchgeführten Messungen und deren statistische Auswertung. Da die Nutzungsintention des Systems vorrangig die eines Screeninginstrumentes für Hypothyreosen ist, fallen besonders die teilweise sehr niedrigen Sensitivitätswerte ins Gewicht. Die Sensitivität, die aussagt, wie viele der tatsächlich positiven (hypothyreoten) Proben auch als solche erkannt werden, sollte für ein zuverlässiges Screening so hoch wie möglich sein, um falsch negative Ergebnisse zu vermeiden. Dies ist bei der vorliegenden Untersuchung in keinem der drei Kollektive und bei keinem der getätigten Vergleiche mit den Referenzmethoden gegeben. Die Spezifität, die besagt wie viele der tatsächlich negativen (nicht hypothyreoten) Proben auch negativ gemessen werden, ist über alle durchgeführten Testdurchläufe konstant hoch. Das getestete POCT-System ist also nicht ausreichend geeignet aus einer Population die tatsächlich kranken Individuen herauszufiltern, stellt aber bei den tatsächlich gesunden Patienten, bei entsprechender Prävalenz der Erkrankung, nur selten eine falsch-positive Diagnose.

Die Betrachtung der verschiedenen Korrelationen nach Spearman und die Präzisionstestungen verstärken den gewonnenen Eindruck, dass das POCT-Testgerät ‚i-cal ThyroSpot TSH-Assay‘ nicht für einen zuverlässigen,

flächendeckenden Einsatz zum Screening auf Hypothyreosen verwendet werden sollte.

5.4 Limitationen der Studienergebnisse

Bei der durchgeführten Studie war es aufgrund des Studiendesigns unumgänglich, auf gefrorene Proben zurückzugreifen. Alle Proben des retrospektiven Kollektivs sowie des Kontrollkollektivs waren dauerhaft bei -20°C gelagert. Die Lagerfähigkeit und Stabilität von solchen TSH-Serumproben wird in der Literatur mit 6 Monaten bei -20°C angegeben (10). Dieser Zeitraum wurde jedoch bei vielen Proben zum Zeitpunkt der Messung überschritten. Daraus ableitbare, gerichtete Veränderungen konnten bei den Messwerten nicht beobachtet werden. Über alle drei untersuchten Kollektive gab es Ausreißer und Abweichungen in beide Richtungen.

Die Testung von gefrorenen Serumproben an sich ist jedoch kritisch zu hinterfragen, da sie eine der Grundideen des POCTs, nämlich des direkten Messens von möglichst unprozessierten Proben, kaum ermöglicht. Ein Einfrieren und Lagern der Proben widerspricht dem. Da die Studie jedoch an einem umfangreichen Kollektiv durchgeführt werden sollte und es nicht ausgeschlossen werden kann, dass auch in der täglichen Anwendung des Gerätes ein Einfrieren der Proben nötig ist, lässt sich ein Zurückgreifen auf tiefgefrorene Proben rechtfertigen.

Die zur Auswertung der Ergebnisse verwendeten TSH-Cut-Off-Werte zur Hypo- und Hyperthyreose entsprechen bei beiden genutzten Standardmethoden (Alinity i – Abbott und Cobas e411 – Roche) in etwa den in Deutschland momentan angewandten Cut-Off-Werten (Hypothyreose: $\sim \text{TSH} > 4,5 \text{ mIU/L}$; Hyperthyreose: $\sim \text{TSH} < 0,4 \text{ mIU/L}$) (165,166). Die von i-calQ empfohlenen Cut-Off-Werte, aus dem i-calQ ThyroSpot TSH-Assay Manual, liegen dagegen alle über diesen Werten und sind zusätzlich in fünf Altersklassen aufgeteilt. Das physiologische Intervall für den TSH-Wert ist laut i-calQ zwischen $0,52$ und $7,55 \text{ mIU/L}$ über alle Altersstufen anzusehen (156). Ob und inwieweit die TSH-Grenzwerte angepasst werden sollen, ist aktuell Stand vieler Diskussionen (165). Eine Erhöhung des Cut-Off-Wertes zur Diagnosestellung der Hypothyreose ab einem Alter von über 80 Jahren ist dagegen schon weit etabliert (163).

In der vorliegenden Studie wurde eine Testung auf Kreuzreaktivität mit anderen Hormonen der Glykoproteinfamilie (FSH, hCG, LH) sowie endogene Störfaktoren (Bilirubin, Triglyceride, Hämoglobin, Protein) nicht durchgeführt. Die dazu benötigten serologischen Parameter wurden bei der Messung mittels Referenzmethoden nicht erfasst. Eine mögliche Beeinflussung einiger weniger Ausreißer kann somit nicht ausgeschlossen werden. Weiterhin konnte durch den gegebenen TSH-Maximalwert von 100 mIU/L des ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assays‘ keine Testung zum Ausschluss des ‚High-dose-Hook-Effekts‘ vorgenommen werden.

6 Zusammenfassung

Die Schilddrüse hat als hormonproduzierendes Organ eine wichtige Stellung in der Entwicklung und der Aufrechterhaltung vieler Stoffwechselfvorgänge im menschlichen Körper. Sie produziert die Effektorhormone T3 und T4 und wird selbst über das Thyroidea-stimulierende Hormon (TSH) aus der Hypophyse reguliert. Eine Vielzahl von Faktoren sowie Feedbackmechanismen hält das Hormonsystem in Balance und kann es an bestimmte Herausforderungen anpassen. Aufgrund des bedeutenden Einflusses der Schilddrüse auf die Homöostase des Körpers, ist es wichtig, Erkrankungen oder krankhafte Veränderungen frühzeitig zu erkennen. Hierfür wird in erster Linie der serologische Parameter TSH herangezogen. Dieser ist ein sensibler Indikator für Veränderungen auf Schilddrüsenebene, denn schon kleine Abweichungen der Schilddrüsenhormonwerte im Blut sorgen für eine vielfach höhere Anpassung des TSH-Wertes.

Es existieren bereits viele Verfahren zur sehr genauen Bestimmung des TSH-Wertes im Blut. Seit einigen Jahren drängen nun auch „Point-of-care-testing“ (POCT) Geräte, die idealerweise unter minimalem Aufwand, ohne eine Vielzahl zusätzlich benötigter Materialien und in kurzer Zeit den TSH-Wert messen, auf den Markt. Diese Geräte stellen vor allem für abgeschiedene Regionen, für die ambulante Testung oder für die Notfalldiagnostik in Krankenhäusern eine Alternative dar.

Die Lösungsansätze zur Implementierung der Technik in POCT-Geräten, sowie die Testprinzipien selbst werden beständig weiterentwickelt. Die am häufigsten verwendeten Ansätze hierbei sind aber nach wie vor immunologisch-basierte Technologien in Form von chromatographischen Streifentests, sogenannte „lateral flow (immuno)Assays“.

Ein solches POCT-System wurde in dieser Dissertation auf seine klinische Validität und die praktische Handhabung untersucht. Das in den USA entwickelte ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assay‘ ist ein immunchromatographischer Test (LFA), welcher zur Quantifizierung auf ein Smartphone zurückgreift und für das Erkennen von Hypothyreosen entwickelt wurde.

Zur Validierung wurden drei Kollektive, bestehend aus insgesamt 670 Proben, mit dem neuen POCT-Gerät gemessen und anschließend mit zwei Referenzmethoden, die den neuesten und sensitivsten Stand der Labormesstechnik widerspiegeln, verglichen.

Die so gesammelten Daten zeigen, dass die für ein Screening-Verfahren sehr wichtige diagnostische Sensitivität nicht ausreichend hoch ist. Sie befindet sich über die verschiedenen Kollektive in einem Bereich zwischen 44% und 75%. Dies würde eine große Anzahl an falsch-negativen Ergebnissen bedeuten, was für die Betroffenen große gesundheitliche Folgen haben könnte. Auch die errechneten Spezifitätswerte können nicht überzeugen. Würde das Gerät eingesetzt werden, käme es unter den getesteten Proben zu einer großen Zahl von falsch-positiven Ergebnissen.

Die weitere statistische Auswertung ergab teils niedrige Korrelationswerte der erhobenen Messungen verglichen mit denen der Referenzmethoden, trotz des Ausschlusses der mitunter stark abweichenden Messwerte. Bei einer Gesamtzahl von bis zu 30% Fehldiagnosen in den einzelnen Kollektiven kann kein Einsatz des neuen ‚i-calQ ThyroSpot TSH-Assays‘ für diagnostische Zwecke empfohlen werden.

Die abschließende Betrachtung der Handhabung des getesteten Messsystems untermauert den schon negativen Eindruck der untersuchten Messdaten. Die Haltbarkeit der verbauten Komponenten sowie das Konzept der Auslesevorrichtung am Smartphone selbst, lassen keine dauerhafte Nutzung des Gerätes zu. Die hinzukommende leichte Verderblichkeit der Testutensilien bereits unter Laborbedingungen kann für eine Anwendung unter klimatisch herausfordernderen Bedingungen nicht als realistisch eingeschätzt werden.

Zusammenfassend konnte das POCT-Gerät „i-calQ ThyroSpot TSH-Assay“ in keinem der untersuchten Bereiche als praxistauglich überzeugen. Eine Empfehlung zur Anwendung kann ohne vorherige Überarbeitung nicht ausgesprochen werden.

7 Literaturverzeichnis

1. van der Loo I, Harbeck B. Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen. In: van der Loo I, Harbeck B, Herausgeber. Facharztwissen Endokrinologie und Diabetologie. 1. Aufl. Springer Verlag; 2020. S. 74–5.
2. Lang F. Kalzium-, Magnesium- und Phosphathaushalt. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, Herausgeber. Physiologie des Menschen. 32. Aufl. Springer Verlag; 2019. S. 445–56.
3. Köhrle J, Schmutzler C. Iodstoffwechsel, Schilddrüsenhormonsynthese und -sekretion. In: Gärtner R, Herausgeber. Schilddrüsenerkrankungen Grundlagen - Diagnostik - Therapie. 1. Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 2004. S. 16–47.
4. Janssen OE. Schilddrüsenhormonwirkung. In: Gärtner R, Herausgeber. Schilddrüsenerkrankungen Grundlagen - Diagnostik - Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 2004. S. 335.
5. Reiners JRC. Labordiagnostik und Bildgebung. In: Gärtner R, Herausgeber. Schilddrüsenerkrankungen Grundlagen - Diagnostik - Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.; 2004. S. 335.
6. Hubl W. Thyroxin, freies. In: Gressner A, Herausgeber. Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 2. Aufl. Springer Verlag; 2013. S. 1455.
7. Dietrich JW, Brisseau K, Boehm BO. Absorption, transport and bio-availability of iodothyronines. Deutsche Medizinische Wochenschrift. 2008.
8. Luongo C, Dentice M, Salvatore D. Deiodinases and their intricate role in thyroid hormone homeostasis. Nat Rev Endocrinol. 2019;15(8):479–88.
9. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. Endocr Rev. 2002;23(1):38–89.
10. Hubl W. Thyreotropin. In: Gressner A, Herausgeber. Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 2. Aufl. Springer Verlag; 2013. S. 1304–6.
11. Gärtner R. Regulation der Schilddrüsenfunktion und des Wachstums. In: Gärtner R, Herausgeber. Schilddrüsenerkrankungen Grundlagen - Diagnostik - Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 2004. S. 335.
12. Hoermann R, Midgley JEM, Larisch R, Dietrich JW. Homeostatic control of the thyroid-pituitary axis: Perspectives for diagnosis and treatment. Front Endocrinol (Lausanne). 2015;6(NOV):1–17.
13. Brabant G, Prank K, Schuermeyer T, Wagner T. Thyrotropin Secretion in Normal Man and Woman *. J Endocrinol Metab. 1990;70(2):403–9.
14. Loche S, Cherubini V, Bartolotta E, Lampis A, Carta D, Tomasi P, u. a. Pulsatile secretion of thyrotropin in children. J Endocrinol Invest. 1994;17(3):189–93.
15. Astwood ED. Mechanism of action of antithyroid compounds. Brookhaven Symp Biol. 1955;7:61–72.
16. Hoskins RG. THE THYROID-PITUITARY APPARATUS AS A SERVO (FEED-BACK) MECHANISM. J Clin Endocrinol. 1949;225(14):1429–31.
17. Lechan RM, Fekete C. Feedback regulation of thyrotropin-releasing hormone (TRH): mechanisms for the non-thyroidal illness syndrome. Journal of endocrinological investigation. 2004.
18. Chatzitomatis A, Hoermann R, Midgley JE, Hering S, Urban A, Dietrich B, u. a.

- Thyroid allostasis-adaptive responses of thyrotropic feedback control to conditions of strain, stress, and developmental programming. Bd. 8, *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A.; 2017.
19. Brokken LJS, Wiersinga WM, Prummel MF. Thyrotropin receptor autoantibodies are associated with continued thyrotropin suppression in treated euthyroid Graves' disease patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;
 20. Prummel MF, Brokken LJS, Meduri G, Misrahi M, Bakker O, Wiersinga WM. Expression of the thyroid-stimulating hormone receptor in the folliculo-stellate cells of the human anterior pituitary. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;
 21. Beck-Peccoz P, Rodari G, Giavoli C, Lania A. Central hypothyroidism - a neglected thyroid disorder. Bd. 13, *Nature Reviews Endocrinology*. Nature Publishing Group; 2017. S. 588–98.
 22. Lupoli R, Di Minno A, Tortora A, Ambrosino P, Arianna Lupoli G, Nicola Dario Di Minno M. Effects of Treatment With Metformin on TSH Levels: A Meta-analysis of Literature Studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;
 23. Perrild H, Hegedus L, Baastrup PC, Kayser L, Kastberg S. Thyroid function and ultrasonically determined thyroid size in patients receiving long-term lithium treatment. *Am J Psychiatry*. 1990;147(11):1518–21.
 24. Ross DS, Burch HB, Cooper DS, Carol Greenlee M, Laurberg P, Luiza Maia A, u. a. 2016 American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis.
 25. Schumm-Draeger P-M. Hypothyreose. In: Allolio, Herausgeber. *Praktische Endokrinologie*. Urban & Schwarzenberg; 1996.
 26. Hörmann R. *Schilddrüsenerkrankungen Leitfaden für praxis und Klinik Vol. 4*. ABW Wissenschaftsverlag; 2005. 86–91 S.
 27. van der Loo I, Harbeck B. Hyperthyreose. In: van der Loo I, Harbeck B, Herausgeber. *Facharztwissen Endokrinologie und Diabetologie*. 1. Aufl. Springer Verlag; 2020. S. 80–3.
 28. Kravets I. Hyperthyroidism: Diagnosis and Treatment. Bd. 93, *American Family Physician*. 2016 März.
 29. Chiovato L, Martino E, Tonacchera M, Santini F, Lapi P, Mammoli C, u. a. Studies on the in vitro cytotoxic effect of amiodarone. *Endocrinology*. 1994;134(5):2277–82.
 30. Herold G. Hyperthyreose. In: Herold G, Herausgeber. *Innere Medizin*. Herold, G.; 2020. S. 759–63.
 31. Goichot B, Caron P, Landron F, Bouée S. Clinical presentation of hyperthyroidism in a large representative sample of outpatients in France: Relationships with age, aetiology and hormonal parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1. März 2016;84(3):445–51.
 32. Vanderpump MPJ. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull*. 1. September 2011;99(1):39–51.
 33. Aghini-Lombardi F, Antonangeli L, Martino E, Vitti P, Maccherini D, Leoli F, u. a. The Spectrum of Thyroid Disorders in an Iodine-Deficient Community: The Pescopagano Survey*. 1999.
 34. Abraham-Nordling M, Byström K, Törring O, Lantz M, Berg G, Calissendorff J, u. a. Incidence of hyperthyroidism in Sweden. *Eur J Endocrinol*. Dezember 2011;165(6):899–905.
 35. Brix TH, Kyvik KO, Hegedüs L. What is the evidence of genetic factors in the etiology of Graves' disease? A brief review. Bd. 8, *Thyroid*. Mary Ann Liebert Inc.; 1998. S. 727–34.
 36. Linkage Disequilibrium between the Human Leukocyte Antigen Class II Region of the Major Histocompatibility Complex and Graves' Disease: Replication

- Using a Population Case Control and Family-Based Study*. Bd. 83, J Clin Endocrinol Metab. 1998.
37. Chen Q-Y, Huang W, She J-X, Baxter F, Volpe R, Maclaren NK. HLA-DRB1*08, DRB1*03/DRB3*0101, and DRB3*0202 Are Susceptibility Genes for Graves' Disease in North American Caucasians, Whereas DRB1*07 Is Protective*. 1999.
 38. Kahaly GJ, Pitz S, Hommel G, Dittmar M. Randomized, single blind trial of intravenous versus oral steroid monotherapy in graves' orbitopathy. J Clin Endocrinol Metab. September 2005;90(9):5234–40.
 39. Bartalena L, Piantanida E. Cigarette smoking: Number one enemy for Graves ophthalmopathy. Bd. 126, Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej. Medycyna Praktyczna; 2016. S. 725–6.
 40. Weetman AP. Graves' Disease. N Engl J Med. 26. Oktober 2000;343(17):1236–48.
 41. Bahn RS, Dutton CM, Natt N, Joba W, Spitzweg C, Heufelder AE. Thyrotropin Receptor Expression in Graves' Orbital Adipose/Connective Tissues: Potential Autoantigen in Graves' Ophthalmopathy 1 . J Clin Endocrinol Metab. März 1998;83(3):998–1002.
 42. Martin A, Nakashima M, Zhou A, Aronson D, Werner AJ, Davies TF. Detection of Major T Cell Epitopes on Human Thyroid Stimulating Hormone Receptor by Overriding Immune Heterogeneity in Patients with Graves' Disease 1 . J Clin Endocrinol Metab. Oktober 1997;82(10):3361–6.
 43. Smith BR, McLachlan SM, Furmaniak J. Autoantibodies to the thyrotropin receptor. Endocr Rev. 1988;9(1):106–21.
 44. Di Paola R, Menzaghi C, De Filippis V, Corda D, Di Cerbo A. Cyclooxygenase-Dependent Thyroid Cell Proliferation Induced by Immunoglobulins from Patients with Graves' Disease 1 . J Clin Endocrinol Metab. Februar 1997;82(2):670–3.
 45. Morshed SA, Davies TF. Graves' Disease Mechanisms: The Role of Stimulating, Blocking, and Cleavage Region TSH Receptor Antibodies. Horm Metab Res. 14. September 2015;47(10):727–34.
 46. Kahaly GJ, Bartalena L, Hegedüs L, Leenhardt L, Poppe K, Pearce SH. 2018 European thyroid association guideline for the management of graves' hyperthyroidism. Bd. 7, European Thyroid Journal. S. Karger AG; 2018. S. 167–86.
 47. Goichot B, Leenhardt L, Massart C, Raverot V, Tramalloni J, Iraqi H. Diagnostic procedure in suspected Graves' disease. Ann Endocrinol (Paris). 1. Dezember 2018;79(6):608–17.
 48. Weetman A, DeGroot LJ. Autoimmunity to the Thyroid Gland. Endotext. 2000.
 49. Latrofa F, Ricci D, Grasso L, Vitti P, Masserini L, Basolo F, u. a. Characterization of thyroglobulin epitopes in patients with autoimmune and non-autoimmune thyroid diseases using recombinant human monoclonal thyroglobulin autoantibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(2):591–6.
 50. Antonelli A, Fallahi P, Elia G, Ragusa F, Paparo SR, Ruffilli I, u. a. Graves' disease: Clinical manifestations, immune pathogenesis (cytokines and chemokines) and therapy. Bd. 34, Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism. Bailliere Tindall Ltd; 2020.
 51. Smith TJ, Hegedüs L. Graves' Disease. Longo DL, Herausgeber. N Engl J Med. 20. Oktober 2016;375(16):1552–65.
 52. Wyszomirska A. Iodine-131 for therapy of thyroid diseases . Physical and biological basis. Nucl Med Rev. 2012;31:120–3.
 53. Hashimoto H. Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse

- (Struma lymphomatosa). Arch für Klin Chir. 1912;97:219 – 248.
54. Roitt IM, Doniach D, Campbell PN, Hudson RV. Auto-antibodies in Hashimoto's disease (lymphadenoid goitre). Lancet. 1956;286(6947):820–1.
 55. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: What do we know so far? Bd. 2015, Journal of Immunology Research. Hindawi Publishing Corporation; 2015.
 56. van der Loo I, Harbeck B. Autoimmunthyreoiditis Hashimoto (AIT). In: Facharztwissen Endokrinologie und Diabetologie. 2020. S. 91–3.
 57. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NMH. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. Clinical Immunology and Immunopathology. 1997.
 58. Delemer B, Aubert JP, Nys P, Landron F, Bouée S. An observational study of the initial management of hypothyroidism in France: The ORCHIDÉE study. Eur J Endocrinol. Dezember 2012;167(6):817–23.
 59. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria. Bd. 13, Autoimmunity Reviews. Elsevier; 2014. S. 391–7.
 60. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, u. a. Serum TSH, T4, and Thyroid Antibodies in the United States Population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). J Clin Endocrinol Metab. 1. Februar 2002;87(2):489–99.
 61. Demirbilek H, Kandemir N, Gonc EN, Ozon A, Alikasifoglu A, Yordam N. Hashimoto's thyroiditis in children and adolescents: A retrospective study on clinical, epidemiological and laboratory properties of the disease. J Pediatr Endocrinol Metab. 2007;20(11):1199–205.
 62. Hu Y, Xu K, Jiang L, Zhang L, Shi H, Cui D. Associations between Three CTLA-4 Polymorphisms and Hashimoto's Thyroiditis Risk: An Updated Meta-Analysis with Trial Sequential Analysis. Genet Test Mol Biomarkers. 1. April 2018;22(4):224–36.
 63. Xue H, Yu X, Ma L, Song S, Li Y, Zhang L, u. a. The possible role of CD4+CD25highFoxp3+/CD4+IL-17A+ cell imbalance in the autoimmunity of patients with Hashimoto thyroiditis. Endocrine. 1. Dezember 2015;50(3):665–73.
 64. Tendon N, Zhang L, Weetman AP. HLA Associations with Hashimoto's thyroiditis. Clin Endocrinol (Oxf). 1991;34(5):383–6.
 65. Hodge SE, Ban Y, Strug LJ, Greenberg DA, Davies TF, Concepcion ES, u. a. Possible interaction between HLA-DRβ1 and thyroglobulin variants in Graves' disease. Thyroid. April 2006;16(4):351–5.
 66. Stefan M, Jacobson EM, Huber AK, Greenberg DA, Li CW, Skrabanek L, u. a. Novel variant of thyroglobulin promoter triggers thyroid autoimmunity through an epigenetic interferon α-modulated mechanism. J Biol Chem. 9. September 2011;286(36):31168–79.
 67. Murphy K, Weaver C. Die induzierten Reaktionen der angeborenen Immunität. In: Murphy K, Weaver C, Herausgeber. Janeway Immunologie. 9. Aufl. Springer Verlag; 2018. S. 95–173.
 68. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. Bd. 429, Nature. Nature; 2004. S. 457–63.
 69. Lombardi FA, Fiore E, Tonacchera M, Antonangeli L, Rago T, Frigeri M, u. a. The effect of voluntary iodine prophylaxis in a small rural community: The pescopagano survey 15 years later. J Clin Endocrinol Metab. März 2013;98(3):1031–9.
 70. Kahaly GJ, Dienes HP, Beyer J, Hommel G. Iodide induces thyroid autoimmunity in patients with endemic goitre: A randomised, double-blind,

- placebo-controlled trial. *Eur J Endocrinol*. September 1998;139(3):290–7.
71. Faustino LC, Lombardi A, Madrigal-Matute J, Owen RP, Libutti SK, Tomer Y. Interferon- α triggers autoimmune thyroid diseases via lysosomal-dependent degradation of thyroglobulin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1. Oktober 2018;103(10):3678–87.
 72. Scappaticcio L, Castellana M, Virili C, Bellastella G, Centanni M, Cannavò S, u. a. Alemtuzumab-induced thyroid events in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest*. 1. Februar 2020;43(2):219–29.
 73. Vallee JCD, Johanet C, Trinchet JC, Deny P, Laurent MF, Duron F, u. a. High prevalence of serum antibodies to hepatitis C virus in patients with Hashimoto's thyroiditis. *BMJ*. 1. Oktober 1994;309(6958):846.
 74. Radetti G. Clinical aspects of Hashimoto's thyroiditis. *Endocr Dev*. 2014;26:158–70.
 75. Lee JH, Anzai Y. Imaging of Thyroid and Parathyroid Glands. *Semin Roentgenol*. 1. Januar 2013;48(1):87–104.
 76. Herold G. Chronische lymphozytäre Thyreoiditis (Hashimoto) = Autoimmunthyreoiditis (AIT). In: Herold G, Herausgeber. *Innere Medizin*. 2020. S. 766.
 77. Krysiak R, Okopien B. Haemostatic effects of levothyroxine and selenomethionine in euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis. *Thromb Haemost*. September 2012;108(5):973–80.
 78. Djurovic M, Pereira AM, Smit JWA, Vasovic O, Damjanovic S, Jemuovic Z, u. a. Cognitive functioning and quality of life in patients with Hashimoto thyroiditis on long-term levothyroxine replacement. *Endocrine*. 1. Oktober 2018;62(1):136–43.
 79. Yorde DE, Sasse EA, Wang TY, Hussa RO, Garancis JC. Competitive enzyme-linked immunoassay with use of soluble enzyme/antibody immune complexes for labeling. I. Measurement of human choriogonadotropin. *Clin Chem*. 1967;22(8):1372–7.
 80. Töpfer G. Immunoassay, heterogener. In: Gressner A, Herausgeber. *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2. Aufl. Springer Verlag; 2013. S. 709–10.
 81. Wild D. Immunoassays for Beginners. In: Wild D, Herausgeber. *The Immunoassay Handbook*. 4. Aufl. Elsevier; 2013. S. 7–10.
 82. Parker CW. Radioimmunoassay. *Ann rev Pharmacol Toxicol*. 1981;21(Figure 1):113–32.
 83. Berson SA, Yalow RS. General Principles of Radioimmunoassay. *Clin Chim Acta*. 1986;22:51–69.
 84. Weeks I, Kricka LJ, Wild D. Signal Generation and Detection Systems. In: Wild D, Herausgeber. *The Immunoassay Handbook*. 4. Aufl. Elsevier; 2013. S. 267–85.
 85. Miles LEM, Hales CN. Labelled Antibodies and Immunological Assay Systems. *Nature*. 1968;219(13):186–9.
 86. Yalow RS. Radioimmunoassay : A Probe for Fine Structure of Biologic Systems. *Nobel Lect*. 1977;(December).
 87. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group. *Exp Biol Med*. 1. Juni 1941;47(2):200–2.
 88. Hölsä J. Persistent luminescence beats the afterglow: 400 Years of persistent luminescence. *Electrochem Soc Interface*. Dezember 2009;18(4):42–5.
 89. Conference P, Inquiry I, Section TB, Dictionary IO, Committee I, Museum B, u. a. *Nature* 423. 1948;(4115):423–4.
 90. Ogris M. Nanotechnology for Nucleic Acid Delivery. 1943.

91. Ly PHM, Leeuwen MVAN. Response of Aequorin Bioluminescence to Rapid Changes. 1969;222:1967–70.
92. Myers BM. Elecsys® Immunoassay System. In: Wild D, Herausgeber. The Immunoassay Handbook. 4. Aufl. Elsevier; 2013. S. 603–7.
93. Hoffmann GF, Langhans CD, Schulze A. TSH-Bestimmung aus Trockenblut. In: Gressner A, Herausgeber. Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 2. Aufl. Springer Verlag; 2013. S. 1348.
94. Torresani TE, Scherz R. Thyroid screening of neonates without use of radioactivity: Evaluation of time-resolved fluoroimmunoassay of thyrotropin. Clin Chem. 1986;
95. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. Clin Chem. 1996;42(1):140–5.
96. Spencer CA, Lopresti JS, Schwarzbein D, Nicoloff JT, Guttler RB. Thyrotropin (TSH)-Releasing Hormone Stimulation Test Responses Employing Third and Fourth generation TSH Assays. Clin Endocrinol Metab. 1993;76(2):494–8.
97. St-Jean E, Blain F, Comtois R. High prolactin levels may be missed by immunoradiometric assay in patients with macroprolactinomas. Clin Endocrinol (Oxf). 1996;44(3):305–9.
98. Tate J, Ward G. 5-3 Interferences in immunoassay - Google Scholar. Clin Biochem Rev. 2004;25(May):105–20.
99. Avrameas S. Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. Immunochemistry. 1969;
100. O'Sullivan MJ, Bridges JW, Marks V. Enzyme immunoassay: A review. Ann Clin Biochem. 1979;16(5):221–39.
101. Alastair HD. Conjugation Methods. In: Wild D, Herausgeber. The Immunoassay Handbook. 4. Aufl. Elsevier; 2013. S. 301–13.
102. Berg JM, Tymoczko JL, Gatto GJ, Stryer L. Zusammensetzung und Struktur der Proteine. In: Berg JM, Tymoczko JL, Gatto GJ, Stryer L, Herausgeber. Stryer Biochemie. 8. Aufl. Springer Verlag; 2018. S. 31–41.
103. Hermanson GT. Functional Targets for Bioconjugation. In: Hermanson GT, Herausgeber. Bioconjugate Techniques. 3. Aufl. Elsevier; 2013. S. 127–228.
104. Hermanson GT, Herausgeber. Heterobifunctional Crosslinker. In: Bioconjugate-Techniques. 3. Aufl. Elsevir; 2013. S. 299–339.
105. Hermanson GT. Homobifunctional Crosslinkers. In: Hermanson GT, Herausgeber. Bioconjugate Techniques. 3. Aufl. Elsevier; 2013. S. 275–97.
106. Hermanson GT. (Strpt)avidin-Biotin Systems. In: Hermanson GT, Herausgeber. Bioconjugate Techniques. 3. Aufl. Elsevier; 2013. S. 465–505.
107. Livnah O, Bayer EA, Wilchek M, Sussman JL. Three-dimensional structures of avidin and the avidin-biotin complex. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Proc Natl Acad Sci U S A; 1993. S. 5076–80.
108. Michael Green N. Avidin and Streptavidin. Methods Enzymol. 1. Januar 1990;184(C):51–67.
109. Weber PC, Ohlendorf DH, Wendoloski JJ, Salemme FR. Structural origins of high-affinity biotin binding to streptavidin. Science (80-). 1989;243(4887):85–8.
110. Löffler G. Vitamine und Spurenelemente. In: Löffler G, Herausgeber. Basiswissen Biochemie. 7. Aufl. Springer Verlag; 2008. S. 404–7.
111. Haugland RP, Bhalgat MK. Preparation of Avidin Conjugates. In: Avidin-Biotin Interactions. Humana Press; 2008. S. 1–12.
112. Alley SC, Benjamin DR, Jeffrey SC, Okeley NM, Meyer DL, Sanderson RJ, u. a. Contribution of Linker Stability to the Activities of Anticancer

- Immunoconjugates. *Bioconjug Chem.* 2008;19:759–65.
113. Damle NK. Tumour-targeted chemotherapy with immunoconjugates of calicheamicin. Bd. 4, *Expert Opinion on Biological Therapy. Expert Opin Biol Ther*; 2004. S. 1445–52.
 114. Tang JB, Zhu P, Yang HM, Sun LM, Song SL, Ji AG. Expression and secretion of recombinant ZZ-EGFP fusion protein by the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Biotechnol Lett.* 16. August 2008;30(8):1409–14.
 115. Krainer FW, Darnhofer B, Birner-Gruenberger R, Glieder A. Recombinant production of a peroxidase-protein G fusion protein in *Pichia pastoris*. *J Biotechnol.* 10. Februar 2016;219:24–7.
 116. Koliashnikov O V, Grigorenko VG, Egorov AM, Lange S, Schmid RD. Recombinant Production of Horseradish Peroxidase Conjugates with Fab Antibodies in *Pichia pastoris* for Analytical Applications. *Acta Naturae.* 15. September 2011;3(3):85–92.
 117. Taylor RF, Marenchic IG, Cook EJ. An acetylcholine receptor-based biosensor for the detection of cholinergic agents. *Anal Chim Acta.* 1. Januar 1988;213(C):131–8.
 118. Basu AK, Basu A, Bhattacharya S. Micro/Nano fabricated cantilever based biosensor platform: A review and recent progress. Bd. 139, *Enzyme and Microbial Technology.* Elsevier Inc.; 2020.
 119. Jiang K, Wang Y, Thakur G, Kotsuchibashi Y, Naicker S, Narain R, u. a. Rapid and Highly Sensitive Detection of Dopamine Using Conjugated Oxaborole-Based Polymer and Glycopolymer Systems. *ACS Appl Mater Interfaces.* 10. Mai 2017;9(18):15225–31.
 120. Berggren C, Bjarnason B, Johansson G. Capacitive Biosensors. *Electroanalysis.* 2001;13(3):173–80.
 121. Berney H. Capacitance Affinity Biosensors. In: V.M. M, Herausgeber. *Ultrathin Electrochemical Chemo- and Biosensors Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors (Methods and Applications).* Berlin: Springer Verlag; 2004. S. 44–64.
 122. Nakane PK, Pierce GB. Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J Cell Biol.* 1967;
 123. Jablonski E. The preparation of bacterial luciferase conjugates for immunoassay and application to rubella antibody detection. *Anal Biochem.* 1985;148(1):199–206.
 124. Gressner A, Herausgeber. *Elektrochemilumineszenz-Immunoassay.* In: *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik.* 2. Aufl. Springer Verlag; 2013. S. 434.
 125. Weeks I, Beheshti I, McCapra F, Campbell AK, Woodhead JS. Acridinium esters as high-specific-activity labels in immunoassay. *Clin Chem.* 1983;
 126. Kohen F, Pazzagli M, Kim JB, Lindner HR, Boguslaski RC. An assay procedure for plasma progesterone based on antibody-enhanced chemiluminescence. *FEBS Lett.* 1979;104(1):201–5.
 127. Ackerson CJ, Jadzinsky PD, Jensen GJ, Kornberg RD. Rigid , Specific , and Discrete Gold Nanoparticle / Antibody Conjugates. *J Am Chem Soc.* 2006;(17):2635–40.
 128. Singer MJ, Plotz CM. The Latex Fixation Test. *Am J Med.* 1956;21(6):888–92.
 129. Erikaku T, Zenno S, Inouye S. Bioluminescent immunoassay using a monomeric Fab'-photoprotein aequorin conjugate. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;174(3):1331–6.
 130. Moina C, Ybarra G. Label-Free Technologies. In: Wang J, Herausgeber. *Advanced Techniques in Immunoassays.* Calisto Reference; 2015. S. 65–80.

131. Reyes PI, Ku CJ, Duan Z, Lu Y, Solanki A, Lee KB. ZnO thin film transistor immunosensor with high sensitivity and selectivity. *Appl Phys Lett*. 2011;
132. Janshoff A, Galla HJ, Steinem C. Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors - An alternative to optical biosensors? *Angewandte Chemie - International Edition*. 2000.
133. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science (80-)*. 3. August 1990;249(4968):505–10.
134. Zhou J, Rossi J. Aptamers as targeted therapeutics: Current potential and challenges. Bd. 16, *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group; 2017. S. 181–202.
135. Win MN, Klein JS, Smolke CD. Codeine-binding RNA aptamers and rapid determination of their binding constants using a direct coupling surface plasmon resonance assay. *Nucleic Acids Res*. November 2006;34(19):5670–82.
136. Luppä P, Junker R, Schimke I, Stürenburg E. Immunologische Verfahren. In: Luppä P, Junker R, Herausgeber. *POCT Patientennahe Labordiagnostik*. 3. Aufl. Springer Verlag; 2017. S. 74–83.
137. Ali MH, Elsherbiny ME, Emara M. Updates on aptamer research. Bd. 20, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2019.
138. Luppä P, Junker R, Langer C. Definition und Anwendungsgebiete. In: Luppä P, Junker R, Herausgeber. *POCT Patientennahe Labordiagnostik*. 3. Aufl. Springer Verlag; 2017. S. 4–8.
139. Bundesärztekammer. Neufassung der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – Rili-BÄK“. 2019.
140. Junker R, Luppä P, Petersmann A. Relevanz von POCT im Gesundheitswesen. In: Luppä P, Junker R, Herausgeber. *POCT Patientennahe Labordiagnostik*. 3. Aufl. Springer Verlag; 2017. S. 10–7.
141. Koczula KM, Gallotta A. Lateral flow assays. *Essays Biochem*. 30. Juni 2016;60(1):111–20.
142. Birnbaum S, Udén C, Magnusson CGM, Nilsson S. Latex-based thin-layer immunoaffinity chromatography for quantitation of protein analytes. *Anal Biochem*. 1992;206(1):168–71.
143. Jenison R, Rihaneck M, Polisky B. Use of a thin film biosensor for rapid visual detection of PCR products in a multiplex format. In: *Biosensors and Bioelectronics*. Biosens Bioelectron; 2001. S. 757–63.
144. Ganapathy R, Padmanabhan S, Eric YPG, Mochhala S, Lionel LKH, Ponnampalam G. Rapid detection of botulinum neurotoxins A, B, E, and F by optical immunoassay. *Front Biosci*. 1. Mai 2008;13(14):5432–40.
145. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1986;51(1):263–73.
146. Melchers WJG, Kuijpers J, Sickler JJ, Rahamat-Langendoen J. Lab-in-a-tube: Real-time molecular point-of-care diagnostics for influenza A and B using the cobas® Liat® system. *J Med Virol*. 1. August 2017;89(8):1382–6.
147. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, u. a. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Bd. 28, *Nucleic Acids Research*. 2000.
148. Kashir J, Yaqinuddin A. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays as a rapid diagnostic for COVID-19. *Med Hypotheses*. 1. August 2020;141:109786.

149. Wahl HG, Koschinsky T. Diabetesdiagnostik einschließlich analytischer Verfahren zur Glukosebestimmung. In: Luppä P, Junker R, Herausgeber. POCT Patientennahe Labordiagnostik. 3. Aufl. Springer Verlag; 2017. S. 108–22.
150. Tonyushkina K, Nichols JH. Glucose Meters: A Review of Technical Challenges to Obtaining Accurate Results CLINICAL APPLICATIONS 972 Glucose Meters: A Review of Technical Challenges to Obtaining Accurate Results Tonyushkina. Bd. 3, J Diabetes Sci Technol. 2009.
151. Binasch G, Grünberg P, Saurenbach F, Zinn W. Enhanced magnetoresistance in layered magnetic structures with antiferromagnetic interlayer exchange. Phys Rev B. 1. März 1989;39(7):4828–30.
152. Wu K, Su D, Liu J, Saha R, Wang JP. Magnetic nanoparticles in nanomedicine: A review of recent advances. Nanotechnology. 27. September 2019;30(50).
153. Choi J, Gani AW, Bechstein DJB, Lee JR, Utz PJ, Wang SX. Portable, one-step, and rapid GMR biosensor platform with smartphone interface. Biosens Bioelectron. 15. November 2016;85:1–7.
154. Wang Y, Wang W, Yu L, Tu L, Feng Y, Klein T, u. a. Giant magnetoresistive-based biosensing probe station system for multiplex protein assays. Biosens Bioelectron. 5. August 2015;70:61–8.
155. Ngo ST, Steyn FJ, McCombe PA. Gender differences in autoimmune disease. Bd. 35, Frontiers in Neuroendocrinology. Academic Press Inc.; 2014. S. 347–69.
156. i-calQ. ThyroSpot© Point-of-Care TSH Assay System - Bedienungsanleitung. 2018.
157. Abbott. Alinity i - TSH Reagent Kit - Bedienungsanleitung. 2018.
158. Diagnostics GmbH Roche. Cobas e411 - TSH - Bedienungsanleitung. 2013.
159. Kosack CS, Page AL, van Hulsteijn LT, Lentjes EGWM. TSH-CHECK-1 test: Diagnostic accuracy and potential application to initiating treatment for hypothyroidism in patients on anti-tuberculosis drugs. PLoS One. 19. März 2012;7(3).
160. Leung W, Chan CP, Rainer TH, Ip M, Cautherley GWH, Renneberg R. InfectCheck CRP barcode-style lateral flow assay for semi-quantitative detection of C-reactive protein in distinguishing between bacterial and viral infections. J Immunol Methods. 20. Juli 2008;336(1):30–6.
161. Schübel J, Voigt K, Bründel K, Bergmann A. AWMF Leitlinie: Erhöhter TSH-Wert in der Hausarztpraxis [Internet]. 2016 [zitiert 17. Februar 2021]. Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/053-046.html>
162. Wang T, Sheng S, Ruan M, Yan J. Clinical Evaluation of the Immune Colloidal Gold Method for Rapid Qualitative and Quantitative Measurement of Thyroid-Stimulating Hormone as an Assay for Hypothyroidism. Adv Ther. 2016;
163. Hansen MP, Kahaly GJ. Managing hypothyroidism in general practice. Bd. 160, MMW-Fortschritte der Medizin. Springer Medizin; 2018. S. 42–6.
164. Mandrekar JN. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. Bd. 5, Journal of Thoracic Oncology. 2010.
165. Raza S, Mahmood N. Subclinical hypothyroidism: Controversies to consensus. Indian J Endocrinol Metab. 2013;17(9):636.
166. Biondi B, Bartalena L, Cooper DS, Hegedüs L, Laurberg P, Kahaly GJ. The 2015 European Thyroid Association Guidelines on Diagnosis and Treatment of Endogenous Subclinical Hyperthyroidism. Eur Thyroid J. 2015;4(3):149–63.
167. McMahan R., Biotin in metabolism and molecular biology, Annual Review of Nutrition 2002;(22); S. 221-239

8 Anhang

Pat.-Nr.: _____ Fam.-Nr.: _____ Serum-Nr.: _____

(Patientenaufkleber)

JG|U UNIVERSITÄTSmedizin. MAINZ

Prof. Dr. G. J. Kahaly
 1. Medizinische Klinik, Bau 402
 Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz
 Tel.: 06131/17-6950 / - 3768
 Fax: 06131/17-3460
 Wiss.Sekr.: Fr. Schmidt:06131/17-2290

Tel. Patient: _____

- männl. Hauptpatient **gesund** **NGA** **MGA**
 weibl. Angehöriger _____ **MGA2** **PGA**
(Verwandschaftsverhältnis/ Name d. Hauptpatienten)

Alter: _____ Jahre
Gewicht: _____ kg **Größe:** _____ cm **BMI:** _____ **RR:** ____/____ mmHg **Puls:** ____ Schläge/min

| Endokrine Autoimmunität | Therapie |
|--|--|
| Morbus Basedow hyperthyreot <input type="checkbox"/> seit ____ / euthyreot <input type="checkbox"/> seit ____ | Methimazol / Carbimazol <input type="checkbox"/> _____ Lithium / Perchlorat / PTU <input type="checkbox"/> _____ L-T4 / T3-T4 <input type="checkbox"/> _____ |
| Hashimoto Thyreoiditis hypothyreot <input type="checkbox"/> seit ____ / euthyreot <input type="checkbox"/> seit ____ | Iodid <input type="checkbox"/> _____ SD-OP <input type="checkbox"/> am _____ Radiojodtherapie <input type="checkbox"/> am _____ |
| Endokrine Orbitopathie <input type="checkbox"/> ja seit _____ DON: <input type="checkbox"/> keine <input type="checkbox"/> gesichert <input type="checkbox"/> Z. n. ED: _____ | Steroide <input type="checkbox"/> _____ Nicht-Steroidale Immunsuppr. <input type="checkbox"/> _____ |
| Diabetes mellitus Typ 1 <input type="checkbox"/> seit ____ | Insulin- <input type="checkbox"/> -pumpe _____ <input type="checkbox"/> Schema s. Rückseite |
| Morbus Addison <input type="checkbox"/> seit ____ | <input type="checkbox"/> s.c. Basis: _____ <input type="checkbox"/> Bolus ____/____ BE |
| Hypopara. <input type="checkbox"/> seit ____ Hypogona. <input type="checkbox"/> seit ____ | Corticoid-Substitution <input type="checkbox"/> _____ |
| Andere Autoimmunerkrankungen | Medikamente (Wirkstoff/Dosierung) |
| Typ A Gastritis <input type="checkbox"/> seit ____ / Perniziosa <input type="checkbox"/> seit ____ | β-Blocker: <input type="checkbox"/> _____ |
| Zöliakie <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| Immunhepatitis <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| Neurodermitis <input type="checkbox"/> seit ____ Urtikaria <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| Alopecia/Psoriasis vulgaris/Vitiligo <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| Sicca-/Sjögren-Syndrom <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| Rheumatoide Arthritis <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| System. Lupus erythematodes <input type="checkbox"/> seit ____ | |
| Weitere Erkrankungen / OP: | Letzter stationärer Aufenthalt: |
| Multiple Sklerose <input type="checkbox"/> seit _____ | Station: _____ <input type="checkbox"/> am _____ |
| OP: _____ <input type="checkbox"/> am _____ | |
| Allergie: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein gg.: _____ Unverträglichkeiten: _____ | Nikotin: <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ≤ 5 Zig./d <input type="checkbox"/> 6-19 Zig./d <input type="checkbox"/> > 20 Zig./d <input type="checkbox"/> abstinent seit _____ Jahren Pac/years |
| Blutentnahme/Labor: | |
| <input type="checkbox"/> 3x / <input type="checkbox"/> 5x 7,5 ml Serum-Monovetten | <input type="checkbox"/> TSI <input type="checkbox"/> TBI |
| <input type="checkbox"/> 3 x EDTA-Monovetten/Labor Prof. Kahaly | <input type="checkbox"/> 1 x Serum TSH-Projekt |

Datum: _____ **Unterschrift:** _____

Bitte wenden 1/2 ↵

Anamnese: (Patientendaten, bekannte. Autoimmunerkr., weitere Erkrankungen, Op's; Allergien, Symptome)

Allgemein

- | | | | |
|--|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> Schwitzen | <input type="checkbox"/> Exophthalmus | <input type="checkbox"/> Kälteintoleranz | <input type="checkbox"/> ständ.Durst |
| <input type="checkbox"/> Kaltschweißigkeit | <input type="checkbox"/> Sehstörung | <input type="checkbox"/> Raynaud-Phänomen | <input type="checkbox"/> Polyurie |
| <input type="checkbox"/> Leistungsminderung | <input type="checkbox"/> Doppelbilder | <input type="checkbox"/> Magenbeschw./Sodbrennen | <input type="checkbox"/> Austrocknung (Exsikkose) |
| <input type="checkbox"/> Müdigkeit | <input type="checkbox"/> Schwindel | <input type="checkbox"/> Übelkeit/Erbrechen | <input type="checkbox"/> Muskelschwäche |
| <input type="checkbox"/> Abgeschlagenheit | <input type="checkbox"/> Kollapsneigung. | <input type="checkbox"/> Salzhunger | <input type="checkbox"/> Muskelkrämpfe |
| <input type="checkbox"/> Schwäche | <input type="checkbox"/> Prät.Myxödem | <input type="checkbox"/> Appetitlosigkeit | <input type="checkbox"/> Pruritus genitalis(Juckreiz) |
| <input type="checkbox"/> Vergesslichkeit | <input type="checkbox"/> Struma | <input type="checkbox"/> Gewichtszunahme | <input type="checkbox"/> Lichtscheu |
| <input type="checkbox"/> Kopfschmerzen | <input type="checkbox"/> Haarausfall | <input type="checkbox"/> Gewichtsverlust | <input type="checkbox"/> Angstzustände |
| <input type="checkbox"/> Lymphknotenschwellung | <input type="checkbox"/> Trockene Augen | <input type="checkbox"/> Leber, Gallenblase, Nieren | <input type="checkbox"/> Depressionen |
| <input type="checkbox"/> Fieber | <input type="checkbox"/> Trockener Mund | <input type="checkbox"/> GIT (Obstipation, Diarrhö) | <input type="checkbox"/> Sport |
| <input type="checkbox"/> Herzrasen | <input type="checkbox"/> Trockene Haut | <input type="checkbox"/> Hypoglykämien | <input type="checkbox"/> Rauchen/Alkohol |
| <input type="checkbox"/> Unruhe | <input type="checkbox"/> Haut (Exantheme, Schuppen) | <input type="checkbox"/> Menopause/Menarche_____ | <input type="checkbox"/> Pubertas praecox/tarda |
| <input type="checkbox"/> Fingertremor | <input type="checkbox"/> Gerötete Haut | <input type="checkbox"/> Gelenkbeschwerden | |
| | <input type="checkbox"/> Schmetterlingserythem | <input type="checkbox"/> Osteoporose | |
| | <input type="checkbox"/> Hyperpigmentation (Braunfärb. der Haut) | <input type="checkbox"/> Polyarthrits | |

Sonstiges:

Beruf:

| Familien-anamnese: | Name | Erkrankung | Telefonnr. |
|-----------------------------|-------------|-------------------|-------------------|
| Eltern: | _____ | _____ | _____ |
| | _____ | _____ | _____ |
| Großeltern | _____ | _____ | _____ |
| | _____ | _____ | _____ |
| Geschwister Anzahl: ____ | _____ | _____ | _____ |
| | _____ | _____ | _____ |
| Kinder Anzahl: ____ | _____ | _____ | _____ |
| | _____ | _____ | _____ |

Vorgehen:

WV:

9 Danksagung

Bedanken möchte ich mich in erster Linie bei ---- für die entgegenkommende Bereitstellung des Dissertationsthemas, für die lehrreiche Zeit im Labor und die vielseitige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin allen liebgewonnenen Menschen des Laborteams. Hierbei besonders ---, Frau ---, Frau ---, Herr --- und Herr ---.

Auch danke ich meinen vielen guten Freund*innen für die jeweils ganz unterschiedliche Unterstützung. -- & ---, --, -- & --, meinen Nachbarn -- und -- und Familie --.

Mein Dank gilt auch meiner Großtante ----.

Zu guter Letzt möchte ich meinen besonderen Dank meiner Familie aussprechen. Durch ihre liebevolle Unterstützung konnte ich das Studium sowie alle größeren und kleineren Projekte, die ich mir in den Kopf gesetzt hatte, mit der nötigen Freiheit angehen.

